

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty		Laitos – Institution – Department	
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät		Institut für Biowissenschaften	
Tekijä – Författare – Author			
Kärpänen, Terhi			
Työn nimi – Arbetets titel – Title			
Das Onkogen <i>jun</i> und seine Zielgene: Klonierung und Sequenzierung der Hühner- <i>BKJ</i> -cDNA			
Oppiaine – Läroämne – Subject			
Biochemie			
Työn laji – Arbetets art – Level		Aika – Datum – Month and year	
Pro Gradu		Juni 1997	
		Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages	
		118	
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Der zelluläre Vorläufer des viralen <i>v-jun</i> Onkogens, das Proto-Onkogen <i>c-jun</i>, kodiert für die Hauptkomponente des Transkriptionsfaktorkomplexes AP-1. Daher läßt sich vermuten, daß die Onkogenität von <i>v-jun</i> auf veränderter Regulation spezifischer zellulärer Zielgene zurückzuführen ist. Heute weiß man zwar viel über die Struktur von Jun, mögliche Signaltransduktionsketten, die zu seiner Stimulation führen, seine mögliche Regulation durch posttranslationelle Modifizierungen, und die Mutationen, die zur Entstehung des onkogenen <i>v-jun</i> geführt haben. Aber die Ereignisse nach der Stimulation des Jun-Proteins sind noch weitgehend unbekannt. Um die Jun-induzierte Zelltransformation verstehen und die dazu führenden Mechanismen erklären zu können, ist es äußerst wichtig, die spezifischen Zielgene von <i>v-Jun</i> zu identifizieren und deren Regulation in normalen und in <i>v-jun</i>-transformierten Zellen aufzuklären. Dabei gibt es bis jetzt aber kaum Fortschritte. Es sind zwar mehrere Gene identifiziert worden, die eine AP-1-Bindungsstelle enthalten und deren Transkription durch AP-1 -stimulierende Signale aktiviert wird, aber unbekannt ist, ob diese Gene spezifische Zielgene von Jun sind und ob sie eine Bedeutung in der Jun-induzierten Zelltransformation haben.</p> <p>Die Expression von <i>BKJ</i> (<i>β-Keratin in jun-transformed cells</i>) wird dagegen spezifisch in <i>jun</i>-transformierten aviären Fibroblasten aktiviert aber ist in anderen transformierten und untransformierten aviären Zellen nicht zu beobachten. Daher könnte <i>BKJ</i> ein spezifisches, direktes Zielgen von <i>jun</i> sein. <i>BKJ</i> ist ein stark hydrophobes, den aviären <i>β</i>-Keratinen verwandtes Protein, dessen Gen ursprünglich aus <i>jun</i>-transformierten Wachtelembyofibroblasten isoliert wurde. Auf <i>Northern Blots</i> mit RNA aus <i>jun</i>-transformierten Hühnerembryofibroblasten wurden nach Hybridisierung mit einer Wachtel-<i>BKJ</i>-Sonde zwei Banden in den Größen von 0,9 kb und 1,3 kb detektiert. In dieser Diplomarbeit wurden cDNAs, die diesen beiden RNAs entsprechen, kloniert und sequenziert. Dazu wurde eine <i>λgt10</i>-cDNA-Bank aus <i>ASV17</i>-transformierten Hühnerembryofibroblasten mit einer Wachtel-<i>BKJ</i>-cDNA-Sonde gescreent. Die erhaltenen <i>λ</i>-Klone wurden gereinigt und zur Identifizierung der Klone mit längeren Inserts, die der 1,3 kb RNA entsprechen könnten, mit einer Sonde aus der 5'-Bereich der genomischen Wachtel-DNA nachgescreent. Aus isolierter <i>λ</i>-DNA wurden die Inserts in die <i>EcoR I</i> -Schnittstelle des <i>pUC19</i>-Vektors umklontiert. Die Sequenzierung der Inserts erfolgte nach der Didesoxymethode mit Hilfe der <i>pUC19 reverse</i> und <i>forward primers</i>. Nach Ansequenzierung und Homologievergleiche wurden zwei Klone ausgewählt, die mit Hilfe von neun Subklonen durchsequenziert wurden. Der längere dieser Klone war 1030 bp lang und enthält in seiner 3'-Bereich die Sequenz des kürzeren, 645 bp langen Klons. Die Sequenzen dieser Klone wurden vereint und die so erhaltene Sequenz Hühner-<i>BKJ</i> genannt. Die Homologiesuche über <i>e-mail</i> am <i>National Center for Biotechnology Information</i> (USA) ergab, daß die Hühner-<i>BKJ</i>-cDNA größte Homologie zu der cDNA und genomischer DNA des Wachtel-<i>BKJ</i> hat. Das beweist, daß <i>BKJ</i> ein neues, im Huhn bisher unbekanntes Gen ist und kein Wachtelanalogs eines bereits bekannten Hühnergens. Da die kürzere cDNA in der größeren, am 5'-Ende längeren, cDNA enthalten ist und Hybridisierung eines <i>Northern Blots</i> mit einer Sonde aus diesem nichtkodierenden 5'-Bereich ausschließlich zur Detektion der längeren RNA führte, ist anzunehmen, daß die beiden cDNA-Klone und damit die beiden auf den <i>Northern Blots</i> detektierbaren Banden von dem gleichen Gen mit alternativen Transkriptionsstartpunkten abstammen.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords			
<i>BKJ, jun, Onkogen, Zelltransformation, Zielgen</i>			
Säilytyspaikka – Förvaringsställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			