

Tiedustelu/Omatko — Fakultet/Sektion — Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen		Laitos — Institution — Department Biotieteiden laitos Biokemian osasto	
Tekijä — Författare — Author Marju Orho			
Työn nimi — Arbets titel — Title Ihmissen luurankoliuksen glykogeenisyntaasi: geenin eristys ja karakterisointi			
Oppiaine — Läroämne — Subject Biokemia			
Työn tyyppi — Arbetsansordning — Level Pro gradu		Aika — Datum — Month and year tammikuu 1995	Sivumäärä — Sidantal — Number of pages 45
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Glykogeenisyntaasi katalysoi viimeistä, nopeutta rajoittavaa reaktiota glykogeenisynteesissä. Useissa eri tutkimuksissa on havaittu glykogeenin hidastuneen muodostumisnopeuden sekä glykogeenisyntaasientsyymien heikentyneen aktivoitumisen olevan varhaisia ja periytyviä piirteitä aikuistyyppin diabeteksessa. Tämän vuoksi luurankoliuksen glykogeenisyntaasigeeniä onkin pidetty yhtenä vahvimista ehdokkaista etsittäessä sairauden aiheuttavaa geenivikaa. Tässä tutkielmassa ihmisen lihaksen glykogeenisyntaasigeeni eristettiin genomisesta kirjastosta ja sen rakenne määritettiin. Koko geenin proteiinia koodaavat osat, sen 5'-pääta reunustava alue sekä kaikki eksoni-introni-rajakohdat sekvenssoitiin. Geenin havaittiin koostuvan 16 eksonista, kattavan noin 27 kiloemäksen alueen kromosomia 19 ja esiintyvän ihmisen genomissa yhtenä kopiona. Entsyymien erityisen negatiivisesti varautuneiden osien, joissa kaikki tunnetut entsyymiaktiiviteetin säätelyn kannalta tärkeät fosforylaatiokohdat sijaitsevat, havaittiin koodautuvan geenin ensimmäisessä ja viimeisessä eksonissa. Proteiinin eksonien 5 ja 12 koodaamat osat osoittautuivat huomattavan konservoituneiksi verrattuna muiden selkärankaisten ja jopa hiivan glykogeenisyntaaseihin. Transkription määritettiin alkavan 167 nukleotidia ylävirtaan translaation aloituskodonista. Glykogeenisyntaasin 5'-alueelta ei löytynyt "TATA"-konsensussekvenssiä, mutta sensijaan siitä löytyi muita promoottorialueille tyypillisiä elementtejä. Kaikki geenin koodaavat alueet sekä todennäköinen promoottorialue analysoitiin yksijuosteisen DNA:n konformaatiopolymorfismi-tekniikalla (SSCP), joka perustuu yksijuosteisen DNA:n emäskoostumuksesta ja koosta riippuvaiseen kulkeutumiseen eidenaturoivassa polyakryyliamidigeelissä ja jota käytetään pistemutaatioiden, polymorfismien sekä pienten deletioiden ja insertioiden etsinnässä. Analysoitaessa 30 insuliiniresistentin suomalaisen aikuistyyppin diabeetikon DNA:ta, löydettiin geenistä kolme polymorfista kohtaa. Lisäksi yhdeltä analysoiduista potilaista löytyi pistemutaatio, joka muutti kodonin 464 glysiinin seriiniksi. Kun 228 aikuistyyppin diabeetikkoa sekä 154 tervettä kontrollihenkilöä analysoitiin ko-mutaation suhteen, se löydettiin ainoastaan kahdelta erittäin insuliiniresistentiltä aikuistyyppin diabeetikolta, jotka sairastavat ennenaikaista valtimoiden kovettumatautia. Ihmissen lihaksen glykogeenisyntaasigeenin rakenteen selvitys teki mahdolliseksi geenin koodaavien osien sekä todennäköisen promoottorialueen analysoinnin ryhmässä suomalaisia aikuistyyppin diabeetikkoja, joiden luurankoliuksen glykogeenisynteesi oli vakavasti heikentynyt. Tutkimus luo lisäksi taustaa tämän sokeriaineenvaihdunnan keskeisen entsyymien evoluution, transkriptionaalisen säätelyn sekä rakenteellisten ja toiminnallisten suhteiden ymmärtämiselle.</p> <p>Tutkielman kirjallisessa osassa kuvataan keskeiset osat glykogeeniaineenvaihduntaa sekä glykogeenisyntaasientsyymien rakennetta ja säätelyä tämänhetkisen tuntemuksen pohjalta. Kirjallisen osan lopussa on lyhyt kuvaus periytyvästä insuliiniresistenssistä, katsaus insuliiniregulaatioon ja mahdollisiin insuliiniresistenssiä aiheuttaviin geneihin. Pohjustuksena työn kokeelliselle osalle esitetään kuvaus tutkimuksista, jotka ovat nostaneet lihaksen glykogeenisyntaasigeenin yhdeksi vahvoista ehdokkaista etsittäessä insuliiniresistenssiä ja aikuistyyppin diabetesta aiheuttavia geenivirheitä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Glykogeenisyntaasi, genominen rakenne, promoottori, aikuistyyppin diabetes			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter — Additional information			