

Tutkija/Opiskelija — Eksaktit tieteiden		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Genetiikan laitos	
Tekijä — Författare Soile Vanamo Elisabet Keränen			
Työn nimi — Arbets titel Geenipyssyn ja lipofektion vertailu hiiren sikiön hampaiden transfektiomenetelminä			
Oppiaine — Läroämne			
Työn laji — Arbets art	Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal	
Pro gradu	8.5.1995	97 s. + liitteet	
Tiivistelmä — Sammanfattning			
<p>Työn tarkoituksena oli tutkia voitaisiinko kokonaisia hiiren hampaita transfektoida geenipyssyllä sekä verrata geenipyssyä transfektiomenetelmänä lipofektioon, josta jo alustavien tutkimusten jälkeen tiedettiin, ettei se toimi menetelmänä.</p> <p>Tutkimuskohteena olleet hiiren 13 d 1. molaarit (alaleuan) preparoitiin erilleen normaalisti ja niitä kasvatettiin sekä ennen että jälkeen transfektion inkubaattorikaapissa. Transfektio tapahtui kationisten liposomien (lipofektio) tai DNA:lla päällystettyjen partikkeleiden avulla (geenipyssy).</p> <p>Työssä käytettiin useita eri plasmidikonstrukteja, joiden avulla katsottiin eri promoottorien ja reportterigeenien tehokkuutta ja transfektioon soveltuvuutta. Plasmidit testattiin aina ennen hampaiden transfektioyrityksiä samanikäisistä hampaista tehdyissä primaarisoluviljelmissä.</p> <p>Työn edistyessä kävi ilmi, että hampaiden transfektion optimointi ei olisi mahdollista ennenkuin beta-galaktosidaasi-detektion yhteydessä esiintyvistä vääristä positiivisista oltaisiin päästy eroon, sillä hampaissa mahdollisesti esiintyvät aidotkin positiiviset jäivät niiden aiheuttaman taustan alle. Väärin positiivisten määrä riippui hampaiden kasvatukseen käytetystä ajasta ja hampaiden fiksointimenetelmästä. Se ei riipunut käytetystä plasmidista.</p> <p>Kaikki oikeinrakennetut plasmidikonstruktit toimivat hammassoluista tehdyissä primaariviljelmissä. Niissä kävi ilmi, että CMV-promoottori on voimakkaampi kuin syndekaani-promoottorin osa, että positiivisia soluja esiintyy vain soluviljelmien monolayer-osissa, että myös tekemäni lusiferaasi-konstruktit antavat luotettavia tuloksia, joita ei voida sotka beta-galaktosidaasi-detektiossa ilmeneviin väärin positiivisiin hampaissakaan ja että soluviljelmissä ei jostakin syystä esiinny vääriä positiivisia.</p> <p>Kun lusiferaasi-konstruktia kokeiltiin hampaisiin, positiiviset kontrollit antoivat nolla-tuloksen, eli hampaiden transfektio ei onnistunut geenipyssyllä sen enempää kuin lipofektiollakaan. Koska DNA menee soluviljelmiin ammuttaesakin, vaikkakaan ei yhtä suurella transfektiofrekvenssillä (johtuen esimerkiksi solujen tuhoutumisesta ampumispaheen ja vakuumin ansiosta), uskon, että plasmidit pääsevät sisälle hampaidenkin soluihin.</p> <p>Lopputulokseni on siis, että DNA ei jostain syystä toimi kokonaisessa hammaskudoksessa ja että ennen kokeilujen jatkamisesta pitäisi rakentaa uudet plamidikonstruktit.</p>			
Avainsanat — Nyckelord Transfektio, hammas, geenipyssy, lipofektio			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			