

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matematiske-naturvetenskapliga		Genetiska institutionen	
Tekijä — Författare Wahlström Gudrun			
Työn nimi — Arbetets titel YAC-kloner i positional cloning: orientering av YAC-kloner från INCL-locuset i 1p32.			
Oppiaine — Läroämne Genetik			
Työn laji — Arbetets art Pro gradu		Aika — Datum 14.12 1993	Sivumäärä — Sidoantal 92
Tiivistelmä — Referat <p>Neuronala ceroidlipofuscinoser — NCL — är en grupp av sjukdomar som har fått sitt namn av det material som upplagras i bl.a. nervceller. Den biokemiska defekten är okänd. Infantil neuronal ceroidlipofuscinos — INCL — är den mest aggressiva formen. INCL förekommer nästan enbart i Finland och räknas sålunda till det finska sjukdomsarvet. Genen för INCL har med hjälp av kopplingsanalys lokaliserats i kromosomregionen 1p32. Följande steg är att uppgöra en fysisk karta över INCL-regionen. Fyra YAC-kloner (artificiella jästkromosomer) har isolerats genom PCR-screeningar. Tre av klonerna borde enligt resultaten av dessa screeningar bilda en contig. Avsikten med detta arbete har varit att orientera klonerna i förhållande till varandra och att placera in dem på den storskaliga restriktionskartan över regionen. Detta gjordes genom hybridiseringar, där YAC-klonernas ändfragment användes som prober. Ändfragmenten isolerades med hjälp av <i>capture</i> PCR-metoden. Ändfragmentens riktighet kontrollerades genom sekvensering. Kromosomblot-hybridiseringar gjordes för att kontrollera från vilken kromosom ändfragmenten (och klonerna) härstammade. Orienteringen av klonerna i förhållande till varandra skedde genom hybridiseringar med ändfragmenten till Southern blot-filter med jäst-DNA från de olika YAC-klonerna. Lokaliseringen på restriktionskartan skedde genom hybridiseringar till PFGE-filter (pulsfältsgelelektrofores) med humant DNA. Av sekvenseringarna framgick att två av YAC-klonerna hade identiska ändar, trots en storleksskillnad om 10 kb. Åtminstone den ena klonen hade alltså råkat ut för en omorganisering, vilket är mycket vanligt hos YAC-kloner. Hybridiseringarna till jästfiltren visade att endast de två klonerna med identiska ändar överlappade varandra. Detta tyder på att något av de inledande PCR-resultaten har varit felaktigt. Resultaten av hybridiseringarna till PFGE-filtren var inte tillräckliga för att lokalisera klonerna eller för att med säkerhet säga huruvida klonerna härstammar från INCL-regionen. Även kromosomblot-hybridiseringarna gav något osäkra resultat angående ändfragmentens (eller klonernas) kromosomala ursprung. För att klonerna skall vara användbara i fortsättningen, krävs flera hybridiseringar för att fastställa deras lokalisering samt för att klargöra på vilket sätt omorganiseringarna har skett.</p> <p>Litteraturdelen behandlar de olika skedena i <i>positional cloning</i> av sjukdomsgener: kopplingsanalys, fysisk kartering med betoning på PFGE och YAC-kloner samt isolering av den muterade genen. <i>Positional cloning</i> tillämpas då den biokemiska defekten bakom en ärftlig sjukdom är okänd, vilket alltså är fallet för alla former av NCL, trots att det upplagrade materialet har analyserats noggrant. Kopplingsanalyser har visat att de tre huvudtyperna orsakas av mutationer i åtminstone tre olika gener. I avsnittet om det finska sjukdomsarvet beskrivs hur den långvariga nationella isoleringen har gett upphov till dagens mycket speciella populationsstruktur, som är gynnsam med tanke på genetiska undersökningar.</p>			
Avainsanat — Nyckelord YAC-ändfragment, capture PCR, PFGE, hybridisering, chimäriska YAC			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe Genetiska institutionens bibliotek			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			