

Tieteellinen/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontiet. osasto		Perinnöllisyystieteen laitos	
Tekijä — Författare Päivi Aho			
Työn nimi — Arbets titel Immunoglobuliinin raskaan ketjun klonaliteetin osoittaminen polymeraasi ketjureaktion (PCR) avulla			
Opetusaine — Läroämne Perinnöllisyystiede			
Työn laji — Arbets art pro Gradu		Aika — Önskt Huhtikuu 1993	Sivumäärä — Sidoantal 43
Tiivistelmä — Referat <p>Luuytimessä tapahtuu B-solulinjan solujen hyvin varhaisessa kypsymissvaiheessa immunoglobuliinigeenien (Ig-geenien) uudelleenjärjestymisen. Tällöin määräytyy kunkin solun ja sen jälkeläisen Ig-geenien vaihtelevan alueen sekvenssi. Koska uudelleenjärjestymisen käsittää useita suunnaton diversiteettiä luovaa mekanismia, terveen henkilön B-solupopulaatio koostuu soluista, joissa kussakin tapahtunut uudelleenjärjestymisen on sekvenssiltään ainutlaatuinen. Erittymisen runsaasti vaihtelua esiintyy raskaan ketjun D-alueella, ns. CDR III-alueella. Akuutti leukemia on maligni sairaus, joka johtuu transformoituneesta hematopoieettisesta solusta. B-solu akuutissa lymfaattisessa leukemiassa (ALL) transformaatio on tapahtunut B-solulinjan solussa, jolloin potilaan luuytimessä tuotetaan ylenmäärin B-soluja. Monoklonalisessa ALL:ssa malignit B-solut ovat lähtöisin yhdestä ainoasta malignista solusta. Tämä tarkoittaa, että immunoglobuliinin raskaan ketjun uudelleenjärjestymisen on kussakin tytärsolussa hyvin samanlainen. Arviot siitä, kuinka yleistä ainoastaan yhden tai kahden kloonin esiintymisen ALL-tapauksissa on, vaihtelevat. Yleisimmän oli arvioitu, että valtaosa B-solu ALL-tapauksista olisi monoklonaalisia. CDR-III-alue monistettiin PCR-tekniikan avulla. Diagnoosi- ja relapsivaiheen näytteistä saatiin yksi tai kaksi juovaa elektroforeesijonon jälkeen agarosigeelille. Relapsivaiheessa sekä terveeltä henkilöltä eritetyistä näytteistä juovia ei saatu. Diagnoosivaiheen fragmentti eristettiin ja leimattiin non-radioaktiivisella digoxigeniinimenetelmällä käytettäväksi koettimena saman potilaan seurantanäytteille. Hybridisaatio koettimella ei kuitenkaan lisännyt herkkyyttä verrattuna PCR-tekniikalla saatuihin tuloksiin. Lisäksi ilmeni, että koettimesta ei tällä menetelmällä saatu potilasspesifistä, vaan koetin hybridisoitui kaikkien potilaiden diagnoosi- ja relapsivaiheen PCR-monistettuihin näytteisiin. Epäspesifisen sitoutumisen aiheuttavat todennäköisesti koettimen päissä olevat alukkeet sekä CDR III-alueella olevat konservoituneet emäkset. Spesifisyyttä saattaisi parantaa se, että alukkeet valitaisiin siten, että alukkeiden päissä olisi restriktioentsyymien katkaisukohdat. Tällöin olisi mahdollista katkaista koettimesta alukkeet pois. Spesifinen koetin saattaisi olla mahdollista valmistaa myös siten, että sekvenoitaisiin PCR-fragmentti ensin. Tällöin olisi mahdollista valmistaa lyhyempi oligonukleotidikoetin, joka olisi mahdollisimman hypervarioivalta alueelta. Menetelmän käyttöä seurantamenetelmänä rajoittaa lisäksi se, että ALL:n klonaalinen evoluutio (esim. VH-alueen korvautuminen) saattaa aiheuttaa PCR-monistamisessa vääriä negatiivisia tuloksia. Lisäksi oligoklonalisuutta pidetään uusimpien tutkimistulosten perusteella aiemmin arvioitua yleisempänä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord B-solu ALL, Ig raskas ketju klonaliteetti, PCR			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe Perinnöllisyystieteen laitos			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			