

Tiedeyksikö, Osa-alue — Faculty/Section		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen os.		Perinnöllisyystieteen laitos	
Tekijä — Forfatter			
Anneli Kangas			
Työn nimi — Arbets titel			
Tyrosiinikinaasien ja -fosfataasien vaikutus proIL-1 β -geenin ekspressioon myeloisissa leukemiasoluissa			
Oppiaine — Läroämne			
Perinnöllisyystiede			
Työn tyyli — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu		26.3.1993	64 s.
Tiivistelmä — Resumé			
<p>Tyrosiinikinaasien ja -fosfataasien on havaittu olevan tärkeitä signaalitransduktioon osallistuvia tekijöitä. Niiden toiminnan seurauksena solun ulkopuolinen signaali välittyy proteiinien fosforylaatioasteen muuttumisen avulla solun muuttuneeksi geeniekspressioksi. Viimeisessä vaiheessa em. entsyymikaskadin aiheuttama transkriptiofaktorin muuttunut sijainti solussa, kyky sitoutua DNA:han tai transaktivaatiokyky aiheuttavat kohdegeenin muuttuneen transkription ja ekspression. Transkription tasolla tapahtuvan säätelyn lisäksi tyrosiinikinaasit ja -fosfataasit voivat vaikuttaa geeniekspressioon myös posttranskriptionaalisesti esim. säätelemällä mRNA:n stabiilisuutta säätelevien tekijöiden aktiivisuutta vaikuttamalla niiden fosforylaatioasteeseen.</p> <p>Tässä pro gradu -tutkielmassa selvitettiin tyrosiinikinaasien ja -fosfataasien vaikutusta pro-interleukiini-1β:n (proIL-1β) ekspressioon ihmisen akuutissa myeloisessa leukemiasolulinjassa (THP-1). Solujen kinaasi- tai fosfataasiaktiivisuus inhiboitiin kemiallisilla agenseilla (genistein, vanadaatti, H7, HA1004), minkä jälkeen tutkittiin ko. inhibiittoreiden vaikutusta proIL-1β-geenin mRNA-tasoon ja transkriptioon sekä kahden mahdollisesti proIL-1β-geenin ekspression säätelyyn osallistuvan transkriptiofaktorin (AP-1 ja Oct-1) kykyyn sitoutua enhancereihinsa. Tuotetun mRNA:n määrä selvitettiin Northern blot-tekniikalla. Transkription säätelyä tutkittiin elektroporoimalla soluihin plasmidikonstrukteja, joissa proIL-1β-geenin eri alueita on kytketty reportterigeeniin. Transkriptiofaktorien sitoutumista enhancereihinsa tutkittiin EMSA-menetelmällä (Electrophoretic Mobility Shift Assay).</p> <p>Suoritettujen kokeiden perusteella saatiin selville, että mahdollisen mRNA-tason säätelyn lisäksi tyrosiinikinaasit vaikuttavat proIL-1β-geenin ekspressioon transkription tasolla: geenin yläjuosteen alue -512 - -132 välittää jonkin tai joidenkin fosforyloituneina geenin konstitutiivista ekspressiota lisäävien tekijöiden vaikutuksen THP-1 -soluissa. Geenialueen -132 - + 548 ei havaittu osallistuvan tyrosiinikinaasien tai -fosfataasien avulla säädellyn transkription välittymiseen. ProIL-1β-geenin kohdissa -233 ja -217 sijaitsee kaksi enhanceria, jotka sitovat Oct-1 -transkriptiofaktorin. Siksi selvitettiin, voisiko Oct-1 olla transkriptiofaktori, jonka fosforylaation avulla säädellään proIL-1β-geenin transkriptiota. Tulosten mukaan Oct-1:n sitoutuminen enhanceriinsa ei muutu tyrosiinikinaasien tai -fosfataasien toiminnan seurauksena.</p> <p>Lisäksi selvitettiin tyrosiinikinaasien ja -fosfataasien sekä PKC:n ja PKA:n merkitystä AP-1 -transkriptiofaktorin aktiivisuuteen. Tulosten perusteella AP-1:n sitoutumista enhanceriinsa ei säädellä tyrosiinikinaasien tai -fosfataasien avulla. PKA:n ei havaittu vaikuttavan AP-1:n transaktivaatiokykyyn. Sen sijaan PKC-aktiivisuus on tulosten mukaan oleellinen AP-1:n aktiivisuutta lisäävä tekijä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
tyrosiinikinaasit, tyrosiinifosfataasit, THP-1, AP-1, Oct-1			
Säilytyspaikka — Varförställe			
Perinnöllisyystieteen laitoksen kirjasto			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			