

TURUN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

Biolääketiede

RUMMUKAINEN, PETRI: RSPO1:n rooli osteoblastien erilaistumisessa

Pro gradu –tutkielma, 54 s., 1 liites.

Syyskuu 2015

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck-järjestelmällä.

Wnt-signaalintie on monimutkainen säätelymekanismien verkosto, johon kuuluu useita reseptoreita sekä lukuisia erilaisia solunsisäisiä viestimolekyylejä. Wnt-signaalointi on tärkeä osa alkion solujen erilaistumisen ohjaamista, jakautumista ja liikkumista, sekä kudosten kuten sydämen, lihasten ja luun muodostusta. Wnt-signaalointi on perinteisesti jaettu kahteen eri signaalintiehen: β -kateniini-riippuvaan eli kanoniseen Wnt-signaalintiehen ja β -kateniini-riippumattomaan eli ei-kanoniseen Wnt-signaalintiehen. Molemmat signaalintiet käynnistyvät Wnt-proteiinin sitoutuessa reseptoriinsa, Frizzlediin.

Kanoninen signaalintie sisältää koreseptori LRP5/6:n ja signaalintekijä Dishevelledin sitoutumisen, GSK-3 β /Axin/APC –kompleksin liittymisen, β -kateniinin hajottamisen estämisen ja tumaan siirtymisen sekä TCF/LEF transkriptiotekijävälitteisen kohdegeenien aktivoitumisen. Parhaiten tunnetut ei-kanoniset signaalintiet ovat JNK/JUN välitteinen Wnt/PCP sekä solunsisäisen kalsiumi-pitoisuuden nousun johdosta käynnistyvä Wnt/Ca²⁺. R-spondiinit ovat trombospondiinin kaltaisia Wnt-signaaloinnin vahvistajia. R-spondiinit osallistuvat uudistuvien kudosten säätelyyn, sukupuolen määräytymiseen, raajasilmun syntyyn sekä lihasten muodostukseen. R-spondiini-välitteisen Wnt/signaaloinnin vahvistumisen mekanismi on kiistanalainen.

Tämän pro gradu –tutkielman käytännön osuudessa RSPO1:n vaikutusta osteoblastien kypsymiseen tutkittiin mittaamalla Wnt/ β -kateniini-signaalintia mesenkymaalisilla C3H10T1/2-soluilla sekä HEK293T-soluilla ja alkalista fosfataasia mesenkymaalisilla C3H10T1/2-soluilla. Lisäksi tutkittiin RSPO1:n vaikutusta luunmuodostuksen kohdegeenien ilmentymiseen RT-qPCR:llä.

RSPO1 aktivoi Wnt/ β -kateniini-signaalintiepolkua, mutta ei pystynyt korjaamaan mutatoituneen Wnt1-proteiinin vaikutusta. RSPO1 yksin ei aktivoinut alkalista fosfataasia C3H10T1/2-soluissa. RT-qPCR-tuloksissa RSPO1 sai aikaan samankaltaisia muutoksia kuin Wnt3a, mutta sen teho oli merkittävästi heikompi. RSPO1 osoittautui Wnt/ β -kateniini-signaaloinnin vahvistajaksi, muttei sen aktivoijaksi.

Asiasanat: alkalinen fosfataasi, beta-kateniini, kvantitatiivinen reaaliaikainen PCR, osteoblasti, ihmisen R-spondiini1 proteiini, Wnt-signaalintie