

Bachelor-Abschlussarbeit

Thema: Charakterisierung der CEA Familienmitglieder der Kamele und Erarbeitung einer Expressionsmethode des CEACAM-Proteins

Zusammenfassung:

Das Ziel dieser Arbeit ist die Bestätigung der Sequenzen der vorhergesagten mRNAs des CEACAM1 und des CEACAM33 in den Kameliden und die Charakterisierung und Lokalisierung der Expressionsorte der CEACAM1 Paraloge und ihrer Spleißvarianten in verschiedenen Alpakageweben mittels RT-PCR. Weiterhin wurde versucht eine Methode der rekombinanten Proteinherstellung für die CEACAMs des Alpakas zu etablieren, um zukünftige Funktionsstudien durch die Arbeitsgruppe von Dr. Kammerer vorzubereiten. Für die Erarbeitung dieser Methode wurde ein bereits hergestelltes und geprüftes Konstrukt der N-Domäne vom CEACAM1 des Rindes verwendet.

Es konnte bestätigt werden, dass CEACAM1 und CEACAM33 die einzigen CEACAM1 ähnlichen CEACAMs in den Kameliden sind. Weiterhin wurde die Genstruktur dieser beiden Gene identifiziert. Die Sequenz von CEACAM1 und CEACAM33 konnte verifiziert und bestimmt werden. Dabei wurde ersichtlich gemacht, dass die CEACAM33-Sequenz deutlich von den in der Datenbank vorhandenen Sequenz abweicht. Es wurde herausgefunden, dass CEACAM1 und CEACAM33 in den Tonsillen, der Lunge, den Lymphknoten der Lunge, der Milz, die Pankreas, der Niere, dem Hoden, dem Knochenmark, den Lymphknoten des Darms, dem Darm, den Granulozyten und den Lymphozyten exprimiert werden. Für das CEACAM1 konnten die CEACAM1-S Spleißvariante und eine weitere Spleißvariante des CEACAM1 ohne A2-Domäne in den untersuchten Gewebeproben des Alpakas gefunden werden. Es wurden Hinweise gefunden, dass das CEACAM33 nicht differenziell gespleißt wird. Das Verhältnis zwischen CEACAM1 und das CEACAM1-S wurde in den untersuchten Geweben bestimmt. Der pFUSE-hIgG1-Fc2 Vektor wurde für das CEACAM-Fc-Fusionsprotein überprüft. Dabei wurden Schwächen in der Proteinherstellung identifiziert, die es in Zukunft zu vermeiden gilt.