

Abstract

Understanding the regulatory mechanisms of immune cells is a major topic in immunology research today. With high throughput methods like cDNA microarray technology it is possible to collect large amount of data and to gain insights into cellular regulatory mechanisms. T-cells are the major producers of cytokines and they also possess the corresponding cytokine receptors. Class 1 cytokine receptors share the γ chain which is a signal transducing subunit that activates the Janus kinase (JAK). Signal transducer and activator of transcription (STAT) molecules get phosphorylated and act inside the nucleus as transcription factors.

The aim of this study was to perform gene expression studies of cytokine activated T-cells. Class 1 cytokine receptor activating cytokines like IL-2, IL-4, IL-7 and IL-15 were utilized to stimulate the T-cells. Isolated mRNA from unstimulated reference T-cells and from cytokine stimulated T-cells were used for DNA microarray analysis with cDNA slides that have 10.000 genes spotted. The obtained data, after scanning and raw data analysis, was imported in a database management system, where the data was filtered and sorted. Sophisticated clustering software was utilized to group similar gene expression ratios together. Comprehensive public databases for functional analyses like the GO (Gene Ontology) database were used to append additional information to the genes. Immunological methods were used to analyze T-cell purification, activation and proliferation.

It was shown that cytokine stimulation alters gene expression of T-cells, cell-proliferation related genes were identified to be regulated and it was demonstrated that genes with related function cluster together. This study shows the feasibility of using high-throughput technologies for identifying cytokine induced genes in T-cells and opens new paths to analyze regulated but yet uncharacterized genes.

Keywords: immune system, T-cell, γ chain cytokine receptor family, cDNA microarray, gene expression analyses

Kurzfassung

Die regulatorischen Mechanismen von Immunzellen zu verstehen ist ein Hauptthema der heutigen immunologischen Forschung. Mit Hochdurchsatz Methoden wie der cDNA Microarray Technologie ist es möglich viele Daten zu sammeln, auszuwerten und Einblicke in die zellulären Regulationsmechanismen zu gewinnen. T-Zellen sind die Hauptproduzenten von Zytokinen und sie besitzen auch die entsprechenden Rezeptoren. Klasse 1 Zytokinrezeptoren teilen sich die γ Kette, welche eine Signalweiterleitungseinheit darstellt und die Janus Kinase (JAK) aktiviert. Signal transducer and activator of transcription (STAT) Moleküle werden phosphoryliert und agieren innerhalb des Nukleus als Transkriptionsfaktoren.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Durchführung von Genexpressionsstudien von Zytokin aktivierten T-Zellen. Klasse 1 Zytokin Rezeptor aktivierende Zytokine wie IL-2, IL-4, IL-7 und IL-15 wurden zur Stimulierung der T-Zellen verwendet. Isolierte mRNA von unstimulierten Referenz T-Zellen und Zytokin stimulierten T-Zellen wurde für die DNA Microarray Analysen mit cDNA chips, auf denen 10.000 Gene gespottet waren, verwendet. Die erhaltenen Daten wurden nach dem Scannen und der Rohdatenanalyse in ein Datenbank Management System importiert, wo sie gefiltert und sortiert wurden. Spezifische Cluster-Software wurde eingesetzt um ähnliche Genexpressionsverhältnisse zu gruppieren. Umfangreiche öffentliche Datenbanken für funktionelle Analysen, wie die GO (Gene Ontology) Datenbank, wurden benutzt um zusätzliche Informationen der Gene zu erhalten. Zur Untersuchung der T-Zell Reinigung, Aktivierung und Proliferation wurden immunologische Methoden herangezogen.

Es wurde gezeigt, dass eine Zytokinstimulierung die Genexpression von T-Zellen verändert, Gene, die im Zusammenhang mit Proliferation stehen, reguliert werden und Gene mit ähnliche Funktionen zusammenclustern. Diese Studie zeigt, dass mit Hochdurchsatz Technologien Zytokin induzierte Gene in T-Zellen identifiziert werden können und sie eröffnet neue Wege um regulierte aber bisher noch nicht charakterisierte Gene zu analysieren.

Schlüsselwörter: Immunsystem, T-Zelle, γ -c Zytokinrezeptorfamilie, cDNA microarray, Genexpressionsanalysen
