

SAMENVATTING: Structure of lens proteins: a molecular genetic approach

De wateroplosbare eiwitten van de ooglenzen staan bekend onder de naam crystallines. Men neemt aan dat de functie van de crystallines van structurele aard is: de ruimtelijke ordening van deze eiwitten en hun onderlinge interacties bepalen de optische eigenschappen van de ooglenzen. Indien de crystallines nodig zijn voor het genereren van bijvoorbeeld de lichtdoorlaatbaarheid van de ooglenzen, dan zouden mutaties in de genen die voor deze lenseiwitten coderen, een troebeling van de lens kunnen veroorzaken: een zg. cataract. Of anders gezegd, erfelijke vormen van cataract zouden mogelijkserwijs door mutaties in de crystalline genen kunnen worden veroorzaakt. Inderdaad is een erfelijke cataract, bekend onder de naam "Coppock-like" cataract, genetisch nauw gekoppeld aan de γ -crystalline genfamilie, hetgeen een oorzakelijke relatie suggereert tussen een gestoorde functie van een γ -crystalline gen en het cataract fenotype. Om de genetische afwijking van het "Coppock-like" cataract locus moleculair biologisch te karakteriseren, is allereerst de structuur en de expressie van de humane γ -crystalline genfamilie nader geanalyseerd. Uit het onderzoek, zoals beschreven in Hoofdstuk 4, komt naar voren dat deze genfamilie bij de mens bestaat uit zes volledige genen. Daarnaast wordt nog een onvolledig gen, slechts een vierde deel van een normaal gen omvattend, aangetroffen. Slechts twee γ -crystalline genen zijn actief. Gedurende de evolutie van de primaten zijn de vier andere genen geheel of gedeeltelijk uitgeschakeld op het transcriptionele of post-transcriptionele nivo.

Het "Coppock-like" cataract locus kon via moleculair genetische analyse geïdentificeerd worden in een gebied dat twee γ -crystalline genen bevat, een actief gen en een pseudo-gen (Hoofdstuk 5). Klonering van dit gebied, afkomstig van het mutante chromosoom, maakte een meer nauwkeurige localisatie van de mutatie mogelijk. De sequentie veranderingen die mogelijk causaal met de "Coppock-like" cataract zijn verbonden, werden aangetroffen in het promotergebied van het pseudo- γ -crystalline gen. De sequentie veranderingen bleken een tienvoudige verhoging van de activiteit van de pseudo-gen promotor te veroorzaken, hetgeen waarschijnlijk een tienvoudige verhoging tot gevolg heeft van de synthese van het door dit pseudo-gen gecodeerde N-terminale gedeelte van een γ -crystalline. De verhoogde expressie van dit vreemde crystalline produkt zou dan het cataract fenotype verklaren (Hoofdstuk 5).

Andere erfelijke vormen van cataract bij de mens zouden eveneens veroorzaakt kunnen worden door mutaties in een van de genen behorende tot de α -, β - of γ -crystalline genfamilies. Een systematische aanpak om dergelijke vormen van erfelijk cataract op te sporen zou ongetwijfeld vergemakkelijkt worden door een volledige karakterisatie en chromosomale localisatie van alle humane crystalline genen. Twee 123 nieuwe gegevens konden uit ons onderzoek hieraan worden toegevoegd: het α -crystalline gen werd op chromosoom 11 gekarteerd (Hoofdstuk 2) en van het tweede β B2-crystalline gen van de mens werd aangetoond dat het niet actief is en derhalve als een pseudo-gen moet worden aangemerkt (Hoofdstuk 3).

Een speurtocht naar crystalline mutaties binnen de natuurlijke variatie van de humane populatie is niet alleen arbeidsintensief, maar is ook bepaald niet zonder risico en zou kunnen falen. Immers, een mutatie zou geen herkenbaar afwijkend fenotype kunnen veroorzaken of zelfs gewoon niet voorkomen in de populatie. Met behulp van 'reverse genetics' technieken daarentegen, zou theoretisch echter iedere mutatie verkregen kunnen worden. In Hoofdstuk 6 wordt aangetoond dat transgene *Xenopus laevis* larven een geschikt model systeem kunnen zijn voor de manipulatie van de crystalline genen. Immers, wanneer genetische informatie wordt geïntroduceerd in het *Xenopus* ei onder de controle van een knaagdier γ -crystalline promotor, dan blijkt het exogene DNA selectief in de lens van de larve tot expressie te komen. Om te analyseren in welke mate de expressie van geïntroduceerde DNA constructen van invloed zijn op het transparante karakter van de ooglenzen van dit modelsysteem, is een instrument ontwikkeld en getest, waarmee de hoeveelheid licht die door een *Xenopus laevis* lens wordt verstrooid, kwantitatief bepaald kan worden (Hoofdstuk 7).