



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Identification and characterization of the t(w73) candidate gene *Ortc3*

Verhaagh, S.F.M.J.

Publication date
2001

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Verhaagh, S. F. M. J. (2001). *Identification and characterization of the t(w73) candidate gene Ortc3*. [Thesis, externally prepared, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Nederlandse samenvatting

De placenta is een essentieel orgaan tijdens de ontwikkeling van het embryo in zoogdieren. Het verzorgt de uitwisseling van voedingsstoffen, gassen en afvalstoffen tussen moeder en embryo. De trophoblast, het belangrijkste celtype in de placenta, heeft aanvullende taken, zoals het bewerkstelligen van invasieve groei, het induceren van de vorming van nieuwe bloedvaten en het voorkomen van een immunologische afstoting van het embryo door de moeder. De processen die zich afspelen in de placenta zijn zeer vergelijkbaar met die van tumorcellen tijdens periodes van explosieve groei en metastasering. Deze processen worden zorgvuldig gereguleerd door expressie van bepaalde genen. Meer inzicht in de genen die deze processen reguleren, zou inzicht kunnen verschaffen in zwangerschapscomplicaties bij de mens, maar ook in de processen betrokken bij groei en metastasering van tumoren. In hoofdstuk 1 wordt een overzicht gegeven van genen, die bij verandering of afwezigheid in de muis, afwijkingen veroorzaken in de ontwikkeling en/of het functioneren van de placenta

Om meer gericht genen op te sporen die een belangrijke rol spelen in bovenstaande processen, hebben wij gebruik gemaakt van een muis, genaamd t^{w73} , met een afwijking in de trophoblast cel. Als gevolg van deze afwijking, veroorzaakt door een mutatie, vindt er slechts beperkte invasie van het embryo in de baarmoeder plaats en als gevolg daarvan sterft het embryo vroeg in de ontwikkeling. De kritische regio, het gebied waarin dit gen gelegen is, is nauwkeurig bepaald en omvat 500 kilobases van chromosoom 17 in de muis. In dit gebied hebben wij een nieuw gen geïdentificeerd (Hoofdstuk 2). Dit gen, genaamd *Orct3*, codeert voor een organische cation transporter en ligt gegroepeerd met twee andere organische cation transporters, *Orct1* en *Orct2*. Om te bepalen of *Orct3* een belangrijke kandidaat voor de mutatie zou kunnen zijn, hebben we de expressie van dit gen bekeken. Tijdens de ontwikkeling komt *Orct3* alleen tot expressie in de placenta en niet in het embryo zelf. De expressie in de placenta is hoog vroeg in de ontwikkeling en neemt af naar het eind van de zwangerschap, hetgeen erop zou kunnen duiden dat het gen een belangrijke functie heeft in de placenta. Verder hebben we een verandering in dit gen aangetroffen in de t^{w73} mutant muis (Hoofdstuk 3). Om te testen of deze inderdaad leidt tot de bovengenoemde afwijking, hebben we een muis gegenereerd die geen *Orct3* meer maakt, een zogenaamde knockout muis. Deze muis blijkt echter een normale ontwikkeling door te maken, hetgeen impliceert dat dit gen niet verantwoordelijk is voor de afwijking in de mutant muis (Hoofdstuk 3). Behalve *Orct3*, komt ook *Orct2* tot expressie tijdens de vroege ontwikkeling. Om de kandidatuur van *Orct2* verder te onderzoeken, is er gebruik gemaakt van transgene muizen. In deze muizen is een extra kopie ingebracht van 300 kilobases van de kritische regio, waarop o.a. het *Orct2* gen gelegen is. Omdat de t^{w73} muizen met een extra kopie van het *Orct2* gen nog steeds de afwijking vertonen, is ook *Orct2* uitgesloten als kandidaat. Met behulp van deze transgene muizen is de kritische regio echter verkleind tot 200 kb (Hoofdstuk 3).

In het tweede deel van dit proefschrift hebben we de rol van *Orct3* in de placenta verder bestudeerd. Een mogelijke functie van *Orct3* is het transport van catecholamines. Catecholamines functioneren in de signaal overdracht tussen zenuwen en als hormoon in de regulatie van onder meer de bloeddruk. Na hun functie te hebben vervuld, moeten deze catecholamines vervolgens worden afgebroken. Er zijn twee systemen beschreven die de opname van catecholamines in de cel verzorgen, waarna intracellulaire afbraak kan plaatsvinden. Het eerste systeem bevindt zich in de pre-synaptische zenuwuiteinden en is verantwoordelijk voor

Nederlandse samenvatting

de afbraak van catecholamines in het zenuwstelsel. De genen voor deze transporters zijn reeds geïdentificeerd. Het tweede opname systeem, uptake₂, is verantwoordelijk voor de opname van catecholamines buiten het zenuwstelsel en het gen hiervoor is nog onbekend. Op basis van transport studies en het expressiepatroon, is *Orct3* een goede kandidaat voor dit tweede opname systeem. Omdat de rol van catecholamine transport in de placenta niet eerder is uitgezocht, hebben we dit bestudeerd met behulp van expressie studies. De expressie van *Orct3* in placenta is vergeleken met die van de andere catecholamine transporters en de intracellulaire afbraak enzymen. *Orct3* is gevonden in het labyrint, dat gebied van de placenta waar de uitwisseling van voedingsstoffen en afvalstoffen tussen moeder en embryo plaatsvindt. De expressie van *Orct3* vertoont overlap met die van een afbraakenzym voor catecholamines, *Maoa* (Hoofdstuk 4). Dit duidt erop dat de placenta een rol speelt in catecholamine opname voor afbraak.

Transport studies in volwassen muizen hebben aangetoond dat *Orct3* een belangrijke rol speelt in het transport van MPP⁺, een substraat voor uptake₂, in het hart (Hoofdstuk 5). Muizen zonder *Orct3* nemen 72% minder MPP⁺ op in hun hart dan wildtype muizen. Vervolgens hebben we zwangere muizen geïnjecteerd met MPP⁺ en gemeten hoeveel daarvan werd opgenomen door embryo's en placenta's met en zonder *Orct3*. Hieruit bleek dat embryo's zonder *Orct3* 69% minder van dit substraat op konden nemen via hun placenta (Hoofdstuk 5). Hieruit kunnen we dus concluderen dat *Orct3* MPP⁺ transporteert tussen de placenta en het embryo, en mogelijk een rol speelt bij de afbraak van catecholamines uit het embryo.

Ondanks de rol die *Orct3* speelt in het transport van MPP⁺ in hart en placenta, vertonen de *Orct3* knockout muizen geen afwijkingen die duiden op een verstoorde balans in de catecholamine niveau's. Dit is in overeenstemming met het feit dat er geen significant verschillende catecholamine niveau's zijn gemeten in embryo's en placenta's met en zonder *Orct3* (Hoofdstuk 5). Verder onderzoek met behulp van de *Orct3* knockout muis zal moeten aantonen wat de fysiologische rol van *Orct3* is in hart en placenta.