

Tiedekunta/Osasto - Fakultet/Sektion - Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos - Institution - Department Biotieteiden laitos
Tekijä - Författare - Author Kempainen, Minna		
Työn nimi - Arbets titel - Title <i>Schizophyllum commune</i> -sienen hiililähteen säätelemät proteiinit: tunnistus aminohapposekvensoinnin avulla		
Oppiaine - Läroämne - Subject Fysiologinen kasvitiede		
Työn laji - Arbets art - Level Pro gradu	Aika - Datum - Month and year marraskuu 2000	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 113
Tiivistelmä - Referat - Abstract		
<p>Tässä työssä pyrittiin tunnistamaan N-terminaalisen sekvensoinnin avulla homobasidiomyketeihin kuuluvan valkolahottajasienen, <i>Schizophyllum commune</i>, laktoosilla ja karboksymetyloidulla selluloosalla (CMC) ilmenevä solunulkoisen proteiini. Proteiinia ei esiinny glukoosikasvatuksissa ja sen hiilenlähtesäätely muistuttaa näin rihmasienten sellulaasien säätelyä. Kohdeproteiini on ilmennettävissä <i>S. commune</i> nestekasvatusalustasta teollisuudessa laajamittaisesti käytetyn kotelosienen, <i>T. reesei</i>, monoklonaalisella CBH II:n vasta-aineella CII-8. N-terminaalinen sekvenssi antaisi tietoa proteiinin luonteesta ja voisi johtaa proteiinia koodaavan geenin tunnistamiseen <i>S. commune</i> genomisesta kirjastosta. Geenin kloonauksen avulla saataisiin välttämätön "työkalu", hiililähteen säätelemä promoottori, <i>S. commune</i> transformaatiokokeisiin.</p> <p><i>S. commune</i> -sienen kannan 4-40 solunulkoisia proteiineja tuotettiin rihmastohomogenaatilla inokuloidussa laktoosi-nestekasvatusalustassa. Geelipylväsuodatuksella puhdistetut kasvatusalustan proteiinit eroteltiin elektroforeettisesti ja kohdeproteiini tunnistettiin CII-8 vasta-ainekäsittelyllä. Elektroforeettiset erottelut osoittivat indusoituvien proteiinien 40-44 kDa:n kohdealueen koostuvan useasta molekyylikooltaan läheisestä polypeptidistä. CII-8 vasta-aine tunnistaa näistä kaksi. Polypeptidien eri kasvatusten välisestä kokovaihtelusta huolimatta N-terminaalisisessa sekvensoinnissa saatiin toistuvasti aminohapposekvenssi, joka sekvenssivertailussa antoi yhtäläisyyksiä herkkusienen, <i>Agaricus bisporuksen</i>, hemisellulaaseihin kuuluvan mannanaasin, Cel4:n, kanssa. <i>T. reesei</i> CBH II:n monoklonaalisen vasta-aineen CII-8 tunnistama kohdeproteiini onkin todennäköisesti <i>S. commune</i> mannanaasihomologi, joka esiintyy indusoivissa olosuhteissa kahdessa mahdollisesti erilaisella glykosyloidussa tai C-terminaalisesti muunnellussa muodossa.</p> <p>Saatujen N-terminaalisten sekvenssitietojen perusteella suunniteltujen PCR-alukkeiden avulla pyrittiin myös monistamaan kohdeproteiinin cDNA:ta RT-PCR:lla. Monistus tuotti <i>S. commune</i> enolaasi-cDNA:n. Tämä johtui käytetyn PCR-alukkeen ja enolaasi-cDNA:n välisestä samankaltaisuudesta.</p> <p>Tässä työssä saadut N-terminaaliset sekvenssitiedot mahdollistavat jatkossa uusien PCR-alukkeiden suunnittelun ja näin <i>S. commune</i> mannanaasin tunnistamisen sienen cDNA:sta ja genomisesta kirjastosta.</p>		
Avainsanat - Nyckelord - Keywords <i>Schizophyllum commune</i> , glykoproteiinit, hiilenlähtesäätely, N-terminaalinen sekvensointi		
Säilytyspaikka - Förvaringsställe - Where deposited		
Muita tietoja - Övriga uppgifter - Additional information		