

Tiedekunta/Osasto Fakultet/Sektion Faculty		Laitos Institution Department	
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Biotieteiden laitos	
Tekijä Författare Author			
Storbjörk, Pernilla			
Työn nimi Arbetets titel Title			
Retikuloplasmiinien, BiP:n ja kalretikuliinin tehtävätupakan (<i>Nicotiana tabacum</i>) siiteputken kehityksessä			
Oppiaine Läroämne Subject			
Fysiologinen kasvitiede			
Työn laji Arbetets art Level	Aika Datum Month and year	Sivumäärä Sidoantal Number of pages	
Pro gradu	joulukuu 1999	98	
Tiivistelmä Referat Abstract			
<p>Tässä työssä on molekyyli- ja solubiologisten tutkimusmenetelmien avulla selvitetty retikuloplasmiinien, kalretikuliinin ja BiP:n (binding protein), ilmenemistä tupakan (<i>N. tabacum</i>) siiteputkessa sekä näiden proteiinien osallistumista siiteputken eritysureittiin ja kalsiumgradientin ylläpitämiseen. ER-merkkiproteiinien puuttumisen johdosta, siiteputken eritysureittia ei ole tutkittu aikaisemmin. Tähän työhön saimme kuitenkin käyttöömmme kalretikuliini ja BiP cDNA-kloonit (lahjoittanut Dr J. Denecke) ja vasta-aineet proteiineille (lahjoittanut Dr J. Denecke ja Dr D. Simpson). Kalretikuliinin ja BiP:n määrää seurattiin ajan funktiona sekä mRNA- että proteiinitasolla. Myös siiteputken solutukirankaproteiinien hajoituksen vaikutusta kalretikuliinin ja BiP:n mRNA:n tuottoon ja proteiinitasoon selvitettiin.</p> <p>Biokemiallisten analyysien mukaan kalretikuliinin transkriptien määrä eri ikäisissä siiteputkissa on korkea ja samanlainen 0 ja 3 h:n välillä, jonka jälkeen transkriptien määrä laskee lähes puoleen alkuperäisestä siiteputkihiukkasessa mitatusta arvosta. BiP:n transkriptien määrä oli hyvin alhainen siiteputken itäessä, mutta 3 h:n ikäisissä siiteputkissa transkriptien määrä oli kaksinkertaistunut alkuperäisestä siiteputkihiukkasessa mitatusta arvosta. Kokeiden perusteella RNA-uuton näytteissä olevien itämättömien siiteputkihiukkasten transkriptien määrä ei vaikuttanut hybridisaatiossa ratkaisevasti kalretikuliinin ja BiP:n signaalien voimakkuuteen eri-ikäisissä siiteputkissa. Proteiinitasolla havaittiin 0-3 h:n välillä sekä kalretikuliinin että BiP:n määrässä pieni nousu, jonka jälkeen aina 24:ään tuntiin niiden signaali pysyi samanlaisena. Siiteputken solutukirankaan vaikuttavat stressitekijät lisäsivät kalretikuliinin ja BiP:n mRNA-määrää, mutta eivät vaikuttaneet näiden määrään proteiinitasolla.</p> <p>Kalretikuliini ja BiP paikallistettiin 6 h <i>In vitro</i> kasvatettuihin siiteputkiin immunolokalisaation avulla. Kalretikuliini paikallistui kärkialueelle ja ER:ään GC:n ja VN:n takaiselle alueelle. Muutamissa putkissa kalretikuliini erottui voimakkaana, pallomaisina rakenteina VN:n ja GC:n ympärille, jolloin voimakas reaktio putken kärkiosasta puuttui. BiP:a oli eniten siiteputkien tyviosassa VN:n ja GC:n takana, todennäköisesti ER:ssä.</p> <p>Tulosten perusteella kalretikuliini osallistuu mahdollisesti kalsiumgradientin ylläpitoon aivan siiteputken kärjessä, sitoo kalsiumia tumien ympärillä, osallistuen putken sisäisen kalsiumvaraston ylläpitoon ja toimii kaitsijaproteiinina tumien takaisella alueella. Sijainnin perusteella BiP toimii mahdollisesti siiteputkessa kaitsijaproteiinina erittyvien proteiinien synteesin yhteydessä, vegetatiivisen tuman ja generatiivisen solun takaisella alueella.</p>			
Avainsanat Nyckelord Keywords			
BiP, kalretikuliini, siiteputki, <i>Nicotiana tabacum</i>			
Säilytyspaikka Förvaringsställe Where deposited			
Muita tietoja Övriga uppgifter Additional information			