

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen		Laitos – Institution biotieteiden laitos, biokemian osasto	
Tekijä – Författare Netta Fatal			
Työn nimi – Arbetets titel Hiivan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> YET1-geenin kloonauus			
Oppiaine – Läroämne biokemia			
Työn laji – Arbetets art pro gradu		Aika – Datum 29.9.1997	Sivumäärä – Sidoantal 60
Tiivistelmä – Referat			
<p><i>BAP31</i> on aiemmin kloonattu sekä hiirestä että ihmisestä. Se on integraalinen kalvoproteiini, jolla on sytoplasmisessa karboksiterminaalissaan tuplalysiinimotiivi. Motiivi löytyy useilta endoplasmisen kalvoston (ER) kalvoproteiineilta ja sen avulla eritysureille karanneet proteiinit palautetaan takaisin ER:ään. <i>BAP31</i>-proteiinista on aiemmin julkaistu artikkeleita, joissa on tutkittu sekä proteiinin mahdollista funktiota että lokalisaatiota soluissa. Proteiinin on näytetty sitoutuvan membraani-IgD:hen ja ehdotettu, että <i>BAP31</i> sijaitsisi solukalvolla. Toisaalta se on myös identifioitu spesifisenä solun pinnan antigeenina tietyille syöpäsoluille. Omien tutkimustemme perusteella <i>BAP31</i> kuitenkin sijaitsee ER:ssä ja sen toiminta saattaa liittyä ER:n ja Golgin laitteen väliseen proteiinikuljetukseen.</p> <p>Tässä työssä on esitetty <i>BAP31</i>:lle homologisen proteiinin, <i>Yet1p</i>:n kloonauus <i>Saccharomyces cerevisiae</i> –hiivasta. Tarkoituksena oli hiivahomologin avulla varmistaa, että <i>BAP31</i>:stä saamamme tulokset pitävät paikkansa. Proteiinien rakenteellisen samankaltaisuuden selvittämiseksi käytettiin hyväksi sekvenssianalyysiohjelmiä. Hiivageenin välttämättömyyttä solujen kasvulle tutkittiin poistamalla geeni haploidista hiivakannasta. Lokalisaatio-tutkimuksissa käytettiin hyväksi spesifistä <i>Yet1p</i> –vasta-ainetta. Lokalisaatiota tutkittiin sekä solukalvojen fraktioinnilla että immunofluoresenssimikroskopiolla.</p> <p><i>Yet1p</i> on integraalinen kalvoproteiini, jolla on todennäköisesti kolme lipidikalvon läpäisevää aluetta. Se on rakenteellisesti hyvin samankaltainen <i>BAP31</i>:n kanssa. <i>Yet1p</i>:n karboksiterminaalissa on tuplalysiinimotiivi. <i>YET1</i> ei ole välttämätön hiivasolujen kasvulle. Kahdella eri tekniikalla osoitimme, että <i>Yet1p</i> lokalisoituu ER:ään. Nämä tulokset viittaavat vahvasti siihen, että <i>Yet1p</i> voisi olla <i>BAP31</i>:n homologi. Asian varmistamiseksi voitaisiin katsoa, suppressoiko <i>Yet1p</i>:n ekspressio <i>BAP31</i>-proteiinin puutteen aiheuttaman fenotyypin lisäksi kässoluissa. Tätä varten on jo olemassa stabiili solulinja, jossa <i>BAP31</i>-geeni on säädeltävän promoottorin alla.</p>			
Avainsanat – Nyckelord <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , tuplalysiinimotiivi, endoplasminen kalvosto			
Säilytyspaikka – Förvaringställe biokemian osaston kirjasto			
Muita tietoja			