

| | | | |
|--|--|---|--|
| Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta | | Laitos — Institution — Department Biotieteiden laitos | |
| Tekijä — Författare — Author Ulla Saarela | | | |
| Työn nimi — Arbets titel — Title Maanäyteistä eristettyjen <i>Bacillus thuringiensis</i>-kantojen tuottamien kideproteiinien karakterisointi ja biotestaus | | | |
| Oppiaine — Läroämne — Subject yleinen mikrobiologia | | | |
| Työn laji — Arbets art — Level Pro gradu | | Aika — Datum — Month and year Kesäkuu 1997 | Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 56 |
| Tiivistelmä — Referat — Abstract | | | |
| <p><i>Bacillus thuringiensis</i> on gram-positiivinen, yleinen maaperäbakteeri, joka itiöinnin yhteydessä tuottaa hyönteismyrkyllisiä proteiinikiteitä. Toksiinien rakennegeenit sijaitsevat suurissa (40-150 MDa) plasmideissa ja niiden koodaamat proteiinit on jaettu useaan luokkaan rakenteellisten yhtäläisyyksien ja hyönteisspesifisyyden perusteella.</p> <p>CryI-luokkaan kuuluvat Lepidoptera-spesifiset proteiinit, jotka kasaantuvat kaksoispyramidin muotoisiksi kiteiksi. Nämä, kooltaan 130-140 KDa:n protoksiinit, pilkkoutuvat toukan suolen proteaasien toimesta 60-70 KDa:n toksisiksi kappaleiksi.</p> <p>CryII-luokkaan kuuluu sekä Lepidoptera-että Diptera-spesifisiä proteiineja, jotka ovat kooltaan 65 KDa ja muodostavat kuution muotoisia rakenteita.</p> <p>CryIII-luokka käsittää Coleoptera-spesifiset proteiinit, jotka ovat kooltaan 72 KDa ja muodostavat vinoneliön muotoisia kiteitä.</p> <p>CryIV-luokka koostuu melko heterogeenisestä ryhmästä Diptera-spesifisiä kideproteiineja, jotka ovat kooltaan 130, 78 ja 72 KDa.</p> <p>CryV-luokan 81,2 KDa:n proteiini on Coleoptera- ja Lepidoptera-aktiivinen.</p> <p>Näiden lisäksi on olemassa <i>Bacillus thuringiensis thompsoni</i>-kanta, jonka tuottamien 40 ja 45 KDa:n kideproteiinien hyönteistoksisia vaikutuksia ei ole julkaistu.</p> <p>Tässä työssä aineistona oli eri puolilta Suomea kerätyistä maanäyteistä eristettyjä <i>Bacillus thuringiensis</i> -kantoja, joista 35 tuotti kaksoispyramidin muotoisia, 21 amorfisia ja neljä kuution muotoisia kiteitä. Kannat oli tarkoitettu luokitella niiden tuottamien kideproteiinien perusteella. Osalle kannoista määritettiin myös hyönteistoksinen aktiivisuus.</p> <p>Työn tavoitteena oli kartoittaa <i>Bacillus thuringiensis</i>-kantojen yleisyyttä Suomen maaperässä, vertailla sen esiintymistä erilaisissa maastotyypeissä, määrittää tutkimuksessa mukana olleiden kantojen kideproteiinikoostumus sekä löytää <i>Pieris brassicae</i>-toukkia vastaan tehokkaita kantoja.</p> <p>Muut paitsi amorfiset kiteet puhdistettiin kontaminoivista itiöistä nestemäisellä kaksoisfaasisysteemillä, joka sisältää PEG 6000 ja NaDS tasapainotilassa toisiinsa sekoittumattomina pitoisuuksina ja kykenee erottelemaan itiöt ja kiteet toisistaan.</p> <p>Kiteiden proteiinikoostumus analysoitiin 10 % SDS-PAGE-geeleissä. Selkeimmät tulokset saatiin kaksoispyramidikiteellisistä kannoista, jotka voitiin luokitella CryI-luokkaan kuuluviksi. Amorfisia kiteitä tuottavat kannat jäivät kokonaan luokittelematta, sillä SDS-PAGE-geelien tarkastelua vaikeutti huonolaatuinen molekyylikomarkkeri, itiöiden aiheuttama kontaminaatio ja kontrollikantojen puuttuminen.</p> <p>Hyönteistestejä varten kaksoispyramidikiteellisten kantojen proteiinikonsentraatiot määritettiin SDS-PAGElla käyttäen standardina tiettyjä konsentraatioita BSA:ta. Tulosten tulkinta perustui toukkien painossa testin kuluessa tapahtuneeseen muutokseen. <i>Pieris brassicae</i> (kaaliperhonen) toukkia vastaan tehokkaiksi osoittautui 19 kantaa. Lisätestit eri hyönteislajeilla ovat kuitenkin tarpeen kaikkein tehokkaimpien kantojen selektointiseksi.</p> | | | |
| Avainsanat — Nyckelord — Keywords <i>Bacillus thuringiensis</i>, kideproteiini, kaksoisfaasipuhdistus, hyönteistoksinisuus | | | |
| Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Yleisen mikrobiologian osaston käsikirjasto | | | |
| Muita tietoja — Övriga uppgifter — Additional information Työ tehtiin Kasvintuotantotieteen laitoksen bioteknologia-ryhmässä. | | | |