

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution Biotieteiden laitos Biokemian osasto	
Tekijä — Författare Janne Lehtiö			
Työn nimi — Arbets titel Domeenirakenteen merkitys kiinteitä polysakkarideja hydrolysoivissa entsyymeissä			
Oppiaine — Läroämne Biokemia			
Työn laji — Arbets art Pro gradu -tutkielma	Aika — Datum 20.06.1996	Sivumäärä — Sidoantal 72	
Tiivistelmä — Referat <p>Kiinteät polysakkaridit ovat tärkeä ryhmä luonnossa esiintyvistä orgaanisista molekyyleistä. Niiden biosynteesi ja hajotus muodostavat merkittävän osan hiilen kiertokulkua. Sellulaasit, kitinaasit ja amylolyyttiset entsyymit hydrolysoivat sokeripolymeerejä jopa kiteisessä muodossa. Näillä entsyymeillä on samankaltainen domeenirakenne. Ne koostuvat usein kahdesta erillisestä domeenista; katalyyttinen aktiivisuus ja substraattiin sitoutuminen sijaitsevat eri domeeneissa. Katalyyttiset domeenit, jotka hydrolysoivat glukosidista sidosta, ovat muodoltaan yleensä pallomaisia ja katalyyttinen keskus sijaitsee joko tunnelissa tai kuilussa. Katalyyttinen domeeni on kiinnittynyt substraattiin sitoutuvaan domeeniin vaihtelevan pituisella peptidillä. Substraattiin sitoutuva domeeni on usein pieni, tiiviisti pakkautunut, useita rikkisiltoja sisältävä domeeni.</p> <p>Tämän työn kokeellisessa osassa tutkittiin selluloosaan sitoutuvan domeenin spesifisyyttä sekä katalyyttisen domeenin ja selluloosaan sitoutuvan domeenin vuorovaikutusta selluloosan hajotuksessa. Tätä varten tuotettiin fuusioproteiinia jossa <i>Trichoderma reesei</i> homeen sellulaasientsyymien, CBHI:n, katalyyttinen domeeni liitettiin saman organismin toisen entsyymien, EGI:n, selluloosaan sitoutuvaan domeeniin. EGI:n selluloosaan sitoutuvan domeenin liittäminen CBHI katalyyttiseen domeeniin paransi entsyymien affiniteettia selluloosaan. Villityypin CBHI:n ja fuusioproteiinin aktiivisuudessa ei havaittu merkittäviä eroja. Korkeilla entsyymien pitoisuuksilla (>2.0 µM) katalyyttisen domeenin sitoutuminen substraattiin ei vaikuta affiniteettiin vaan selluloosaan sitoutuva domeeni näyttää dominoivan entsyymien kiinnittymistä substraattiin. CBHI:n ja EGI:n selluloosaan sitoutuvien domeenien välillä ei löytynyt spesifisyys eroja.</p>			
Aveinsanat — Nyckelord <i>Trichoderma reesei</i> , domeenirakenne, sellulaasi, kitinaasi, amylaasi			
Säilytyspaikka — Förvaringställe Biokemian osaston kirjasto			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			