

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty		Laitos — Institution — Department	
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Biotieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author			
Tarkka, Mika			
Työn nimi — Arbetets titel — Title			
Kokonais- ja solutukirankaproteiinien muutokset männyn sienijuuren erilaistuessa			
Oppiaine — Läroämne — Subject			
Fysiologinen kasvitiede			
Työn laji — Arbetets art — Level		Aika — Datum — Month and year	Sivumäärä — Sidoantal— Number of pages
Pro gradu			72
Tiivistelmä — Referat — Abstract			
<p>Tässä työssä tutkittiin proteiinien tuottoa <i>Pinus sylvestris</i> - <i>Suillus bovinus</i>-sienijuuren erilaisuudessa. Lehtipuiden mykorritsassa on todettu muutoksia proteiinisynteessissä sienijuuren kehityksessä ja symbioosille spesifisten proteiinien, ektomykorritsiinien tuottoa. Toisaalta kuusen proteiinisynteessissä ei ole havaittu muutoksia sienijuuren erilaistuessa. Tässä työssä tutkittiin proteiinien tuottoa männyn mykorritsan neljässä morfologisesti toisistaan eroavassa kehitysvaiheessa sen selvittämiseksi, onko havupuiden sienijuuren erilaistumiselle tyypillisempää proteiinisynteessin vähäisemmät muutokset. Sienijuuren erilaistuessa solutukirankaproteiinien järjestyneisyys muuttuu sekä isännässä että symbionttisienessä. Työn toisessa osassa tutkittiin <math>\alpha</math>- ja <math>\beta</math>-tubuliinin sekä aktiinin tuottoa kontrollimateriaalissa ja sienijuuressa. Lisäksi pyrittiin kehittämään sienijuurelle sopiva proteiiniuuton kanssa samanaikainen RNA:n puhdistusmenetelmä, jotta tutkimuksessa voitaisiin siirtyä nukleiinihappotasolle.</p> <p>Sienijuuret kasvatettiin aseptisesti koeputkissa ja proteiinit uutettiin fenoliuutolla. Proteiinit eroteltiin kaksisuuntaisen elektroforeesin avulla toisistaan, ja geelejä käytettiin joko kokonaisproteiinien värjäykseen tai solutukirangan proteiinit siirrettiin nitroselluloosakalvoille ja tunnistettiin vasta-ainein. Sienijuurivaiheiden ja kontrollimateriaalin kokonaisproteiinigeelit siirrettiin pyyhkäisijällä tietokoneelle ja geeleistä tehtyjä tiedostoja vertailtiin toisiinsa. Solutukirankaproteiinien määrä kvantitoitiin densitometrin avulla. RNA:n puhdistamiseen käytettiin fenoliuuttoon yhdistettyä RNA-uuttoa, ja RNA:n määrä ja puhtaus tutkittiin spektrofotometrisesti ja geielektroforeesin avulla.</p> <p>Männyn ja nummitatin sienijuuren erilaistuessa havaittiin sekä isännän että infektoivan sien proteiinimäärissä selkeitä eroja. Mykorritsan erilaistuessa sieniproteiinien määrän todettiin kasvavan suhteessa kasvin proteiineihin ja proteiinimäärissä havaittiin eroja sienijuuren eri vaiheiden välillä. Lisäksi havaittiin 19 ektomykorritsiiniä eli symbioosille spesifistä proteiinia. Solutukirangan proteiinien määrien havaittiin muuttuvan sienijuuren kehittyessä. Kehittyneessä mykorritsassa havaittiin neljä sien ja kolme puun <math>\alpha</math>-tubuliini-isotyyppiä, joista sien <math>\alpha</math>-tubuliini-isotyypit selkeästi dominoivat. Toisaalta myös vapaana kasvavassa sienirihmassa havaittiin runsaasti <math>\alpha</math>-tubuliinia. <math>\beta</math>-tubuliinien erottelu osoittautui hyvin vaikeaksi, sillä eri proteiinien isoelektrinen piste ja molekyylipaino todettiin hyvin samankaltaisiksi. Sieneltä havaittiin kaksi kasvilta kolme <math>\beta</math>-tubuliini-isotyyppiä. Sienijuuressa havaittiin yhteensä neljä <math>\beta</math>-tubuliini-isotyyppiä, joista kaksi todettiin nummitatin ja kaksi männyn isotyypeiksi. Aktiinin isotyyppijä havaittiin sekä sieneltä että kasvilta kaksi, joista yhteensä kolmea tuotetaan sienijuuressa. Vaikka puun toista aktiini-isotyyppiä ei sienijuuressa havaittukaan, todettiin männyn aktiinimäärä selvästi sien aktiinimäärää suuremmaksi. RNA-eristys yhdistettiin proteiinien fenoliuuttoon, ja sienijuuren B-vaiheen RNA todettiin puhtaaksi ja sitä oli melko paljon. RNA-uutto vaatii vielä optiointia, sillä osa näytteistä oli muilla yhdisteillä kontaminoitunutta.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords			
sienijuuri, ektomykorritsiini, solutukiranka, tubuliini, aktiini			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
Biotieteiden laitos, Kasvifysiologian osasto (kirjasto)			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Additional information			