

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Biotieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author Mari Johanna Valkonen 8609			
Työn nimi — Arbetets titel — Title PCR-menetelmän käyttö <u>Schizophyllum commune</u> n eri kantojen β -tubuliinigeenien rakenteen selvittämiseen ja cDNA-kirjaston valmistamiseen sienimateriaalista.			
Oppiaine — Läroämne — Subject Fysiologinen kasvitiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Pro gradu -tutkielma		Aika — Datum — Month and year Maaliskuu 1995	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 76 + vi
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Työn tavoitteena oli selvittää, onko <u>Schizophyllum commune</u>n nokodatsoli-tolerantin NT30-kannan β-tubuliinigeenissä eroavuuksia sensitiivisten kantojen β-tubuliinigeeneihin verrattuna tietyillä alueilla geeniä. Työssä käytettiin PCR-menetelmää kahden eri β-tubuliinigeenialueen monistukseen kolmesta eri <u>S. commune</u>n kannasta (1792-114-10, 684, NT30). Monistukseen käytettiin kahta eri alukeparia, jotka oli alunperin suunniteltu <u>S. commune</u>n 4-40-kannan β-tubuliinigeenin sekvensointiin. Toisella alukeparilla odotettiin n. 900 emäsparin ja toisella n. 650 emäsparin kokoista tuotetta. Alukkeet valittiin siten, että niillä saatiin monistettua ne alueet geeniä, joissa on muissa rihmamaisissa sienissä todettu bentsimidatsolijohdannaisille resistenttisyiden aiheuttavat muutokset.</p> <p>Kolmesta eri kannasta saatiin β-tubuliinialukkeilla monistettua odotetun kokoiset tuotteet. Lisäksi eri kannoista saadut PCR-tuotteet olivat samankokoiset. Molemmilla alukepareilla saatiin ainoastaan yksi PCR-tuote.</p> <p>Saaduista PCR-tuotteista tehtiin sekvensointireaktiot. Kaikista kannoista saatiin sekvensoitua osia toisella alukeparilla tuotetuista DNA-kappaleista. Lisäksi kaikki saadut PCR-tuotteet yritettiin kloonata. Kloonaus on toistaiseksi onnistunut toisella alukeparilla saaduista tuotteista kaikista eri kannoista. Kloonnattujen tuotteiden sekvensoinnissa keskityttiin NT30-kantaan. Tästä saatiin sekvensoitua β-tubuliinigeenin keskiosa kokonaan. Tältä alueelta löytyi yksi aminohappomuutokseen johtava ero emäsekvenssissä nokodatsoli-sensitiiviseen 4-40-kantaan nähden. Lisäksi emäsekvensseistä löytyi kantojen välillä useita muita eroavuuksia, jotka eivät kuitenkaan johtaneet aminohappomuutoksiin.</p> <p>NT30-kannassa havaittu yhden aminohapon muutos vastaa kirjallisuudessa esitettyjä tuloksia bentsimidatsolijohdannaisille, joihin nokodatsoli kuuluu, resistenttisyteen johtavista muutoksista β-tubuliinissa.</p> <p>Lisäksi työssä koetettiin tehdä cDNA-kirjasto useista eri materiaaleista kahta eri PCR-menetelmään perustuvaa menetelmää käyttäen. Lähtömateriaaleina käytettiin <u>S. commune</u>n 1792-114-10- ja NT30-kantojen sekä <u>Suillus bovinus</u>n, männyn ja edellisten välisen mykorritsan totaali-RNA:ta. Lähtömateriaalina käytettiin myös <u>S. commune</u>n molempien kantojen totaali-RNA:sta puhdistettua mRNA:ta.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords β -tubuliini, cDNA, nokodatsoli, PCR, <u>S. commune</u> , sytoskeletoni,			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Kasvitieteen laitoksen kirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Additional information			