

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Mat. luonnont. osasto		Perinnöllisyystieteen laitos	
Tekijä — Författare			
Edward Alatalo			
Työn nimi — Arbetets titel			
Kolmen <i>Trichoderma reesei</i> -hometta glukoosialustalla kasvatettaessa voimakkaasti ilmentyvän geenin tarkastelu			
Oppiaine — Läroämne			
Perinnöllisyystiede			
Työn tyyppi — Arbetets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu		31. 1. 1995	89 + liitteet
Tiivistelmä — Referat			
<p>Työssä tutkittiin <i>Trichoderma reesei</i>-homeen kolmea geeniä, jotka ilmentyvät voimakkaasti, kun homeetta kasvatetaan glukoosialustalla. Koska em. homeen aiemmin tunnetut promoottorit ovat transkriptionaalisesti aktiivisia vain kasvatettaessa homeetta monimutkaisemmilla alustoilla, tarkoituksena oli eristää glukoosialustalla tehokkaasti ilmentyvä geeni transkriptioelementteineen, jota voitaisiin sitten hyödyntää muunnellussa geeniekspressiossa. Aiemmin <i>T. reesei</i>llä suoritettua glukoosialustakasvatusta lähetti-RNA:ista valmistetun cDNA-pankin kolmea voimakkaasti tuotettua geeniä vastaavien cDNA-kloonien A10, A12 ja A15 DNA sekvenssoitiin, niitä vastaavat genomiset fragmentit eristettiin Southern-hybridisaation avulla geenipankista ja sekvenssoitiin geenien rakenteen selvittämiseksi. Geenien kromosomaalista kopiomäärää selvitettiin Southern-hybridisaation avulla ja klooneista syntyvien lähetti-RNA:iden 5'-pään sijainti määritettiin "primer extension"-menetelmällä. Geenien transkriptioon vaikuttavia promoottorielementtejä haettiin vertailemalla sekvenssejä "Transcription Factor Database"-tietokantaan. Geenien koodaamien proteiinien toimintojen selvittämiseksi kloonien DNA- ja proteiinisekvenssejä vertailtiin monilla eri ohjelmilla käyttäen useita eri tietokantoja mahdollisten samankaltaisten sekvenssien havaitsemiseksi. Kloonia promoottorialueiden todettiin sisältävän yleisiä transkription initiaatioon liittyviä elementtejä, mutta spesifisempiä transkriptiota edistäviä DNA-konsensussekvenssejä ei havaittu. Samankaltaisuusvertailujen perusteella klooni A10 koodaa hydrofobiinia HFB1 ja klooni A12 koodaa erittäin todennäköisesti transmembraaniproteiinia. Kloonia A15 koodaama proteiini sisältää S-adenosyyylimetioniinin (SAM) sitoutumiskohdat, joiden rakenteen ja sijainnin perusteella geenituote on todennäköisesti SAM-riippuvainen metyyliitransferaasi. Nukleotidisekvenssin ja lähetti-RNA:n ilmentymisen perusteella kloonia A10 promoottoria voidaan todennäköisesti käyttää glukoosialustalla suoritettavaan ekspressioon, mutta sen toimivuus on todettava käytännössä. Kloonia A12 ja A15 promoottorin transkription initiaatioon liittyvät konsensussekvenssit eivät ole yhtä konservoituneita kuin kloonia A10. Kloonia A15 geenituotteen SAM:iin sitoutuminen on varmennettava kokeellisesti ja kloonia A12 geenituotteen tehtävä tulisi selvittää kokeellisesti tai vertailemalla sen proteiinisekvenssiä edelleen tunnettuihin transmembraaniproteiineihin.</p>			
<i>Trichoderma reesei</i> , hydrofobiinit, <i>hfb1</i> , geeniekspression säätely			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Perinnöllisyystieteen laitoksen kirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			