

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontiet. osasto		Perinnöllisyystieteen laitos	
Tekijä — Författare			
Jaana Toikkanen			
Työn nimi — Arbets titel			
Proteiinin erityksen tehostaminen erityskoneiston komponenttien määrää nostamalla <u>Saccharomyces cerevisiae</u> -hiivassa			
Oppiaine — Läroämne			
Perinnöllisyystiede			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
pro gradu		Helmiäkuu 1994	90
Tiivistelmä — Referat			
<p>Työssä tutkittiin erityskoneiston komponenttien määrän noston proteiinin eritystä tehostavaa vaikutusta <u>Saccharomyces cerevisiae</u> -hiivassa. Merkkiproteiinina kokeissa käytettiin yleensä Bacilluksen alfa-amylaasia. Työssä tutkittiin kasvatusolosuhteiden vaikutusta proteiinin erityksen tehostamiseen ja pyrittiin selvittämään, millä tasolla <u>SSO</u> -geenien aiemmin todettu eritystä tehostava vaikutus tulee ilmi. Tuotettiin myös polyklonaalisia vasta-aineita kaneissa Sso2 proteiinia vastaan.</p> <p>Tehtyjen kasvatusten perusteella todettiin sekä <u>SSO1</u>:n että <u>SSO2</u>:n yliexpression tehostavan alfa-amylaasin eritystä hiivasoluista. Tehostus oli usein 3-4ertainen kontrollikannan eritykseen verrattuna. Villityyppisillä hiivasoluilla tehostusvaikutus oli samankaltainen +24°C:ssa ja +30°C:ssa. <u>SSO2</u>:n yliexpression osoitettiin tehostavan hiivan oman, solun periplasmiseen tilaan erittyvän, proteiinin eritystä selvästi. <u>SSO2</u> tehostaa lievästi myös <u>Trichoderma reesei</u> endoglukanaasi I -entsyymin eritystä hiivasoluista.</p> <p>Alustavan Northern analyysin perusteella transkription tehostuminen on epätodennäköinen syy proteiinin erityksen tehostumiseen, joten tehostusvaikutus tulee vasta translaatiotasolla tai sen jälkeen. Kasvatuksissa käytetyllä ravintoliuoksella ei todettu olevan suurta vaikutusta tehostusilmiöön. ADH I promootorin lyhennetty muoto teki mahdolliseksi hieman tehokkaamman sekä hieman pidempään kestävän <u>SSO2</u>:n ekspression kuin promootorin alkuperäinen muoto ja nosti siten tehostusvaikutusta.</p> <p>Vasta-aineet tunnistavat molemmat Sso proteiinit. Vasta-aine on erittäin tehokas ja voidaan käyttää suurina laimennoksina, jolloin spesifisyys nousee. Tehdyissä kokeissa varmistettiin myös aiemmin tehty havainto, että <u>SEC1</u> -geeni tehostaa proteiinin eritystä hiivasoluista.</p> <p>Hiivan erityskoneiston komponenttien määrän nosto on potentiaalinen keino tehostaa proteiinien eritystä yleisesti. Koska tehostusilmiötä ei ole saatu aikaan mutaatiolla vaan geenin kopiomäärää nostamalla, voidaan menetelmää mahdollisesti soveltaa teollisiin fermentorikasvatuksiin, joissa käytetään polyploidisia hiivakantoja.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Proteiinin erityks, <u>SSO1</u> , <u>SSO2</u> , <u>SEC1</u>			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Helsingin yliopiston Perinnöllisyystieteen laitos			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			