

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontiet. os.		Kasvitieteen laitos	
Tekijä — Författare			
Sorri Outi			
Työn nimi — Arbets titel			
Mikrotubulusten merkitys generatiivisen solun ja vegetatiivisen tuman liikkumiseen siitepölyhiukkasesta siiteputkeen tupakalla (<i>Nicotiana tabacum</i>)			
Oppiaine — Läroämne			
Fysiologinen kasvitiede			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu		Huhtikuu 1993	79 s.
Tiivistelmä — Referat			
<p>Generatiivinen solu (GS) ja vegetatiivinen tuma (VT) liikkuvat siitepölyhiukkasesta siiteputkeen <i>Nicotiana tabacum</i>illa 3-6 tunnin kuluessa itämisen alkamisesta <i>in vitro</i>. Kolmen tunnin ikäisten siiteputkien siirto mikrotubuluksia (MT) depolymerisoivalle alustalle (0.5 μM orytsaliini) 3 ja 6 tunnin väliseksi ajaksi itämisen alkamisesta vähensi 40 % GS:n ja VT:n tai pelkän VT:n kulkeutumista siiteputkeen kontrolliin verrattuna. Pelkän GS:n sisältämien putkien osuus kasvoi 1.7 %. Orytsaliini-käsittely pysäytti GS:n ja VT:n kulkeutumisen siiteputkeen 3 ja 6 tunnin välillä ja IIF-mikroskopia osoitti, että orytsaliini oli depolymerisoinut siiteputken mikrotubulukset; jäljellä oli vain solu- ja tumakelmuihin kiinnittyneitä tubuliinipisteitä.</p> <p>Kontrollisiiteputkissa, jotka siirrettiin vastaavasti 3 tunnin ikäisinä toiselle normaali-alustalle, voitiin 6 tunnin ikäisinä havaita IIF-mikroskopiolla runsaasti kortikaalisia MT:siä kierteisesti asettuneina ja tumavyöhykkeen takana kimppuuntuneina; subapikaalivyöhykkeessä MT:set olivat lyhyinä fragmentteina. GS:n mikrotubuluskimput jatkuivat sukkulamaisen solun häntämäisiin ulokkeisiin asti.</p> <p>Mikrotubulussäikeistössä voitiin havaita eroja ennen ja jälkeen GS:n ja VT:n kulkeutumista siitepölyhiukkasesta siiteputkeen. Kuuden tunnin ikäisissä kontrollisiiteputkissa, joihin GS ja VT eivät olleet kulkeutuneet, MT:set olivat harvemmassa ja yksittäisinä säikeinä. Orytsaliini-käsitellyissä tumattomissa ja soluttomissa siiteputkissa kelmuihin liittyviä tubuliinipisteitä oli vähemmän kuin siiteputkissa, joihin GS ja VT olivat ehtineet kulkeutua.</p> <p>1.5, 3 ja 6 tunnin ikäisten siiteputkien kokonaisproteiinien 2-suuntaisella elektroforeesilla erottuivat 210 polypeptidiä: 98 polypeptidiä > 45 kD:n, 63 polypeptidiä 45-30 kD:n ja 49 polypeptidiä < 30 kD:n molekyylipainoalueilla. Näytteissä oli eroja neljän polypeptidin esiintymisessä ja seitsemän polypeptidin määrissä. 3 tunnin ikäisissä siiteputkissa lisääntyivät 127, 123, 114, 24, 12 ja 10 kD:in polypeptidit ja esiintyi uutena 31 kD:in polypeptidi, joista suuret (127, 123, 114 kD) voisivat vastata eläin- ja sienisolujen kinesinejä tai 125 kD MAP:a. 6 tunnin ikäisissä siiteputkissa uutena esiintyvä 48 kD:in polypeptidi sopisi molekyylipainoltaan tau-proteiineihin (45-80 kD).</p> <p>Käytetty proteiinien uutto- tai erottelumenetelmä ei soveltunut tubuliineille, sillä niitä ei pystytty tunnistamaan immunologisesti 2-suuntaisen erottelun jälkeen. RNA-uuton yhteydessä eristetyistä proteiineista tunnistettiin tubuliinit immunologisesti 1-suuntaisen erottelun jälkeen ja tubuliinin määrässä oli eroja eri ikäisissä siiteputkissa. Tubuliinia oli vähän 1.5 tunnin siiteputkissa ja tubuliinin määrä kasvoi 3 ja 6 tunnin näytteissä, mikä on mielenkiintoista GS:n ja VT:n liikkeen kannalta. 24 tunnin näytteessä ei tubuliinin määrässä tapahtunut muutosta.</p> <p>Totaali-RNA:n Northern-hybridisaatiot kolmella eri tubuliini-koettimella osoittivat, että tubuliinigeenien transkriptio kasvoi 3 tunnin ikäisissä siiteputkissa verrattuna 1.5 tunnin näytteeseen ja transkriptio väheni jo 6 tunnin ikäisissä siiteputkissa ja oli hyvin heikkoa 24 tunnin siiteputkissa. Tämä vahvistaisi tuloksia GS:n ja VT:n liikkumiseen mahdollisesti liittyvästä tubuliinin lisääntymisestä ja MT-säikeistön kehittämisestä.</p> <p><i>In vitro</i> translaatio 1.5, 3, 6 ja 24 h ikäisten siiteputkien totaali-RNA:lla osoitti, että nuorissa siiteputkissa syntetisoituu runsaasti uusia proteiineja ainakin 3 tuntiin asti.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Generatiivinen solu, 2-suuntainen elektroforeesi, mikrotubulukset, orytsaliini, siiteputki, tubuliini			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Kasvitieteen laitos			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			