

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontiet. osasto		Yleisen mikrobiologian laitos	
Tekijä — Författare			
Hännikäinen, Ulla-Maija Helena			
Työn nimi — Arbets titel			
Transposonimutageneesimenetelmän kehittäminen <u>Erwinia carotovora</u> subsp. <u>carotovora</u> lla ja <u>Enterobacter agglomerans</u> illa			
Oppiaine — Läroämne			
Yleinen mikrobiologia			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu -työ		Maaliskuu 1993	30 s.
Tiivistelmä — Referat			
<p>Fimbriat ovat bakteerisolun pinnalla sijaitsevia 0.2 - 20 µm mittaisia filamentteja, jotka rakentuvat pääasiassa proteiineista. Niiden ainoa tunnettu tehtävä on välittää bakteerin kiinnittymistä erilaisille pinnoille. Fimbrioiden kiinnittymiskohtina toimivat erilaiset hiilihydraattirakenteet.</p> <p>Koska monet sekä kasvipatogeeniset että symbionttiset bakteerit tuottavat fimbrioita, on esitetty, että fimbriat toimisivat välittämällä näiden bakteerien kiinnittymistä kasvipinnoille. Jotta fimbrioiden merkitystä patogeenisissä sekä assosiatiivisen typensitojabakteerin kiinnittymisessä isäntäkasvin juuriin voitaisiin selvittää, on pyritty saamaan aikaan fimbriattomia mutanteja <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>sta (Ecc) sekä <i>Enterobacter agglomerans</i>ista (Ea).</p> <p>Ecc on taloudellisesti merkittävä kasvipatogeeni, joka hajottaa kasvisolukkoja tuottamiensa pektinolyyttisten entsyymien avulla. Ecc aiheuttaa perunalle märkämätää sekä tyvimätää. Ea voidaan usein eristää kasveista, vedestä tai maasta. Eräiden tyyppiä sitovien kantojen on osoitettu elävän assosiatiivisina typensitojina heinä- ja viljakasvien ritsosfäärissä.</p> <p>Tässä työssä kehiteltiin transposonimutageneesimenetelmää, jolla voi saada aikaan fimbriattomia mutanteja Ecc:stä ja Ea:sta. Transposoni on liikkuva geneettinen elementti, joka voi siirtyä sattumanvaraiseen kohtaan bakteerisolun kromosomia ja aiheuttaa kyseisessä kohdassa sijaitsevan geenin inaktivoitumisen. Transposoni Tn5 tuotiin soluihin konjugoituvassa plasmidivektorissa pGS9. Kun soluun tämän jälkeen tuotiin elektroporoimalla plasmidi pACYC184, joka ei ole yhteensopiva plasmidin pGS9 kanssa, toinen plasmideista poistui solusta. Antibiootteja käyttämällä voitiin selektoida ne solut, joista pGS9 oli poistunut, mutta joihin oli jäänyt Tn5.</p> <p>Menetelmän havaittiin soveltuvan Ecc:lle. Ea:lle se ei sopinut, koska käytetty kanta tuli spontaanisti resistentiksi selektiossa käytetylle antibiootille eikä halutunlaisia mutanteja voitu selektoida. Menetelmän tehokkuuden havaittiin riippuvan elektroporaation tehokkuudesta. Paras tulos saatiin käyttämällä elektroporaatiossa samasta kannasta peräisin olevaa plasmidi-DNA:ta.</p> <p>Tässä työssä saatujen mutanttien joukosta on mahdollista etsiä fimbriattomia kantoja, joita voidaan käyttää tutkimuksessa verrattaessa fimbriattomien ja fimbriallisten kantojen eroja kiinnittymisessä kasviin sekä taudinaiheuttamiskyvyssä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord <u>Erwinia carotovora</u> subsp. <u>carotovora</u> , <u>Enterobacter agglomerans</u> , fimbriat, transposonimutageneesi			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Yleisen mikrobiologian laitoksen käsikirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			