

Tiedekunta/ Osasto — Fakultet/ Sektion Mat.-Luonnontiet. Biokemia		Laitos — Institution Biokemian laitos	
Tekijä — Författare Reini Hurme			
Työn nimi — Arbets titel Kierteiskiarteiset proteiinit- S.typhimuriumin TlpA proteiini deletiosarjan valmistus ja kokeellinen käyttö			
Oppiaine — Läroämne Biokemia			
Työn laji — Arbets art Pro Gradu- tutkielma		Aika — Datum 19.3.1993	Sivumäärä — Sidoantal 37
Tiivistelmä — Referat			
<p>Ns. kierteiskiarteinen (coiled-coil) laskos on tyypillinen eukaryoottien säieproteiineille. Kierteiskiarteessa kaksi alfa-helikaalista polypeptidisäiettä muodostaa dimeerin, jossa järjestelmällisesti esiintyvät hydrofobiset aminohappotähteet "piiloutuvat" rakenteen sisälle, kun taas hydrofiiliset aminohappotähteet ovat kosketuksissa ympäristön kanssa. Tätä säikeistä rakennetta käyttävät hyväksi useat proteiinit. Lihassupistuskoneistossa, mm. myosiini, joka muodostaa paksut säikeet, ja tropomyosiini, joka on supistuskoneiston säätely- yksikön komponentti. Tropomyosiini on täysin alfa- helikaalinen ja tästä johtuen se on kierteiskiarteisen konformaation malliproteiini. Tropomyosiinin avulla voidaan helposti tutkia eri tekijöiden (pääasiassa aminohappokoostumus) vaikutusta laskostusominaisuuksiin. Välikokoiset filamentit ovat tärkeä osa solun tukirankaa; niiden laskostusmuoto ja sen välittämät rakenteelliset ominaisuudet perustuvat juuri kierteiskiarteiseen konformaatioon. Eukaryooteilla on myös lukuisia muita kierteiskiarteisiä proteiineja; mm. leusiinivetoketju proteiiniperhe, joka kierteiskiarteisen laskoksen ansiosta pystyy sitomaan DNA: ta ja säätelämään eri geenejä.</p> <p>Prokaryooteilla kierteiskiarteinen rakenne on kuvattu vain muutamalle proteiinille. Tämän työn kokeellinen osa selvittelee <u>Salmonella typhimurium tlpA</u>- geeniin, koodaman TlpA- proteiinin rakennetta ja lämpöstabiilisuusominaisuuksia. Työssä valmistettiin molekyylibiologisin keinoin sarja TlpA- proteiinin johdannaisia, joista vuoroin puuttui vaihtelevia osia TlpA:sta. TlpA:n varianttien avulla pyrittiin selvittämään mitkä alueet proteiinista vaikuttavat sen rakenteellisiin ominaisuuksiin, lämpöstabiilisuuteen ja immunologisiin ristireaktioihin myosiinin kanssa.</p> <p>Havaintoni viittaavat siihen, että TlpA- molekyyli on lähes täydellisesti alfa- helikaalisessa rakenteessa ja, että sen lämpöstabiilisuus johtuu monomeerien tehokkaasta dissosiaatio- reassosiaatio taipumuksesta. Havaintojeni perusteella valmistin fuusioproteiinin, jossa proteiinin alkupää (330 ah.) koostuu TlpA:sta ja loppupää (147 ah.) bakteerien M- veriryhmäagglutiniinistä. Myös, tämä proteiini oli keittoresistentti. Löydöstä voidaan soveltaa vaikeasti puhdistettavien proteiinien eristämisessä lämpöresistentteinä fuusioproteiineina</p>			
Avainsanat — Nyckelord kierteiskiarteinen konformaatio, alfa-helikaalisuus, TlpA-proteiini			
Säilytyspaikka — Förvarningsställe			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			