

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen		Laitos — Institution Perinnöllisyystiede	
Tekijä — Författare Mika Outola			
Työn nimi — Arbets titel SSO1- ja SSO2- geenien kopiolumun noston vaikutus <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -hiivan heterologisen proteiinin erityskykyyn			
Oppiaine — Läroämne Perinnöllisyystiede			
Työn laji — Arbets art Pro gradu		Aika — Datum 07.12.1993	Sivumäärä — Sidoantal 70
Tivistelmä — Referat <p>SSO1- ja SSO2- geenit ovat lämpöherkän sec1-mutaation komplementoivia geenejä. Ne eroavat varsinaisesta SEC1-geenistä. SSO on lyhennys sanoista "Supressors of Sec One". SEC1 geeni vaikuttaa <i>S. cerevisiae</i> erityksessä vaiheessa Golgi-plasmamembraani.</p> <p>Työn tarkoituksena oli karakterisoida hiivakantoja, joihin oli transformoituna monikopioplasmidissa SSO1- tai SSO2 geeni. Erityisesti oli tarkoitus tutkia johtuuko H573-kannan kohonnut eritystaso transformoidusta SSO-geenistä. Tavoitteena oli selvittää olisiko SSO-geenien avulla mahdollista tehostaa heterologisen /-ten proteiinien tuottoa <i>S. cerevisiae</i> -hiivalla. Tällä olisi suuri tieteellinen mielenkiinto, toisaalta näillä geeneillä on myös suuri tieteellinen mielenkiinto, koska eukaryoottien soluissa tapahtuva vesikkeliliikenne, vesikkelien ohjautuminen kohdemembraaniinsa ja membraanifuusion mekanismi on paljolti selvittämättä.</p> <p>Työhön sisältyi kasvatuksia, joissa eri lämpötiloissa tutkittiin SSO1-geenin tai SSO2-geenin sisältävien transformanttihiivakantojen kykyä erittää <i>Bacillus</i> alfa-amylaasia kasvuliukseen. Myös transformanttikantojen sisältämät plasmidit analysoitiin. Lisäksi tutkittiin ADH1-promoottorin lyhennyksen vaikutus SSO1-geenin sisältävän plasmidikonstruktion kykyyn supressoida sec1-mutaatio. Kyseisellä promoottorilla nimittain tiedetään olevan säätelyalue yläjuoksulla promoottoria, joka inaktivoi promoottorin alaisen geenin ekspansion glukoositasoa laskiessa.</p> <p>Sec1-mutanttihiivakannassa H2 saadut tulokset osoittavat SSO-geenin lisäävän selvästi heterologisen proteiinin eritystä permissiivisessä 24 C-asteen lämpötilassa. Sama ilmiö on havaittavissa myös 30 C-asteessa. Eritys kohosi myös normaalissa hiivakannassa H81, mutta vähemmän.</p> <p>Kannan H573 voimakkaasti kohonnut alfa-amylaasin eritystaso ei johtunut monikopioplasmidissa olleesta SSO-geenistä. Tulokset osoittivat myös, että SSO-transformanttien kohonnut eritystasot eivät johtuneet muita korkeammista alfa-amylaasiplasmidien lukumääristä. ADH1-promoottorin lyhennys ei vaikuttanut kasvun supressioon verrattuna täysipitkään ADH1-promoottoriin. Saadut tulokset osoittavat että, tietyin rajoituksin SSO1- ja SSO2-geenien avulla voidaan mahdollisesti laatia tehokkaampia heterologisen proteiinin tuottosysteemejä <i>Saccharomyces cerevisiae</i> hiivalla.</p>			
Avainsanat — Nyckelord SSO1- ja SSO2-geeni. Heterologinen proteiinien tuotto, Sec1-mutaatio			
Säilyyspaikka — Förvaringsställe Helsingin yliopisto, perinnöllisyystieteen laitoksen kirjasto.			
Muuta tietoja — Övriga uppgifter Työhön liityen haettu patenttia numero 92 4494: Keränen, S., Aalto, M., Outola, M., Ronne, H. ja Penttilä, M. 1992: Increased Production of Secreted Proteins by Recombinant Eucaryotic Cells.			