

Tutkija/Opinto — Fakultet/Enheten		Laitos — Institutionen	
Mat.-luonnont. tdk		Biokemian laitos	
Työnä — Arbetsnamn			
Susanna Virtanen			
Työn nimi — Arbetsnamn			
Trichoderma reesei sellulohydrolyysi II-entsyymin katalyysimekanismin tutkiminen kohdennettua mutageneesiä käyttäen			
Oppiaine — Läroämne			
Biokemia			
Työn tyyppi — Arbetslags art		Aika — Ömses	Sivumäärä — Sidoranta
Pro gradu		marraskuu 1993	67
Yhteystiedot — Adresser			
<p><i>Trichoderma reesei</i> on home, joka tuottaa suuria määriä selluloosaa hydrolysoivia entsyymejä eli sellulaaseja. <i>T. reesei</i> sellulohydrolyysi II (CBH II) oli ensimmäinen sellulaasi, jonka kolmiulotteinen rakenne selvitettiin röntgenkristallografisesti. Rakenteen tuntemus on auttanut entsyymin reaktiomekanismin tutkimisessa.</p> <p>Glykosidisia sidoksia hydrolysoivat entsyymit on jaettu hydrofobisen cluster-analyysin perusteella perheisiin. Saman perheen sisällä konservoituneiden, aktiivisen kohdan tuntumassa sijaitsevien aminohappojen vaikutusta katalyyttiseen aktiivisuuteen on tutkittu kohdennetulla mutageneesillä.</p> <p>Mekanismiltaan sellulaasit ovat joko retentoivia tai invertoivia. CBH II on invertoiva entsyymi. Se katalysoi yksinkertaisella nukleofiilisellä korvausreaktiolla tapahtuvaa glykosidisen sidoksen katkaisua.</p> <p>Työssä transformoitiin sellulaasiprofililtaan muunnettuun <i>T. reesei</i> kantaan <i>cbh2</i>-geeni, jossa entsyymin aktiivisessa kohdassa sijaitseva tyrosiini 169 oli korvattu fenyylialaniinilla. Tämä mutantti-proteiini puhdistettiin ja sillä tehtiin alustavia hydrolyysikokeita. Y169:n voitiin todeta olevan reaktion kannalta tärkeä, muttei välttämätön.</p>			
Asiantuntija — Nyckelord			
Trichoderma reesei, sellulaasit			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Biokemian laitoksen kirjasto			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			