

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Biokemian laitos	
Tekijä — Författare Tuula Metso-Karjalainen			
Työn nimi — Arbets titel Sytokromioksidaasin geenit bakteereissa; <i>Bacillus subtilis</i> -bakteerin <i>cta</i> -lokus			
Oppilaine — Läroämne Biokemia			
Työn laji — Arbets art	Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal	
Lisensiaattitutkielma	23.1.1992	49	
Tiivistelmä — Referat			
<p>Työn tarkoituksena oli kloonata <i>Bacillus subtilis</i> -bakteerin hengitysketjun terminaalista sytokromi <i>aa</i>₃-oksidaasia koodaavat geenit ja sekvensoida ne.</p> <p>Bakteereilla on usean tyyppisiä terminaalisia oksidaaseja, joista sytokromi <i>aa</i>₃-oksidaasi muistuttaa eukaryoottisolun entsyymiä parhaiten. Bakteriaaliset oksidaasit ovat kokoelma erityyppisiä hemoproteiineja, jotka sisältävät useita erityyppisiä hemejä ja useimmiten myös kuparia. Kaikkien oksidaasien funktio on kuitenkin sama: hapen pelkistäminen vedeksi yhdistettynä energian tuottoon.</p> <p><i>B. subtilis</i> -bakteerin genomikirjastosta eristettiin <i>caa</i>₃-tyypin sytokromioksidaasia koodaavat rakennegeenit kahdella oligonukleotidikoettimella. Terminaaliset oksidaasit ovat säilyneet evoluutiossa erittäin hyvin, ja koettimet olikin suunniteltu perustuen evoluutiossa erittäin hyvin säilyneisiin ja tunnettuihin oksidaasi-entsyymien proteiinisekvensseihin. Eristetty lokus nimettiin <i>cta</i>-lokukseksi. Se käsitti viisi geeniä (<i>ctaB-F</i>), joista geenit <i>ctaC</i>, <i>ctaD</i> ja <i>ctaE</i> koodaavat mitokondriaalisia alayksiköitä I, II ja III vastaavia proteiineja. Alayksikkö II:n (<i>ctaD</i>-geenin) C-terminaalinen pää sisältää kovalenttisesti sitoutuneen sytokromi c:n, jota aiemmin on löydetty vain termofiilisistä bakteereista. <i>ctaF</i>-geenin tuote (COIVB-alayksikkö) on bakteerispesifinen; alayksikön funktio on vielä epäselvä. <i>ctaB</i>-geeni on hieman erillään muista geneistä. Homologisia <i>ctaB</i>-geenejä on löydetty useista bakteereista, mutta kyseistä geenituotetta ei ole toistaiseksi eristetty. Aiemmin löydetty <i>B. subtilis</i>'n <i>ctaA</i>-geeni paikannettiin myös <i>cta</i>-lokukseen <i>ctaB</i>-geenin eteen.</p> <p><i>B. subtilis</i>'n <i>cta</i>-lokuksen geenituotteita tarkasteltaessa vertailun kohteena käytettiin <i>Paracoccus denitrificans</i>'n ja termofiilisen <i>Bacillus</i>-sukuun kuuluvan PS3:n tunnettuja sytokromioksidaasin alayksikkösekvenssejä sekä <i>Escherichia colin bo</i>-kinolioksidaasin alayksikkösekvenssejä. Vertailu osoitti, että <i>B. subtilis</i>'n <i>caa</i>₃-oksidaasi on rakenteellisesti lähempänä <i>E. colin</i> kinolioksidaasia kuin <i>P. denitrificans</i>'n <i>aa</i>₃-sytokromioksidaasia.</p> <p><i>B. subtilis</i>'n tiedetään ekspressoivan ainakin kahta hemi A:ta sisältävää oksidaasia. Toinen entsyymeistä on <i>aa</i>₃-tyypin kinolioksidaasi, joka ei sisällä kovalenttisesti sitoutunutta sytokromi c:tä; toinen entsyymeistä on sytokromi c:n sisältävä <i>caa</i>₃-tyypin sytokromioksidaasi. Voidaankin olettaa, että tässä työssä eristetty <i>cta</i>-lokus koodaa jälkimmäistä entsyymiä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord sytokromioksidaasi, kinolioksidaasi, <i>Bacillus subtilis</i> , sekvenssihomologia			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Muuta tietoja — Övriga uppgifter			