

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta/Yleisen mikrobiologian osasto		Laitos – Institution Biotieteiden laitos	
Tekijä – Författare Elina Hienonen			
Työn nimi – Arbetets titel <i>Borrelia burgdorferi</i> geenin p37 ja sen koodaama proteiini P37			
Oppiaine – Läroämne Yleinen mikrobiologia			
Työn laji – Arbetets art Pro gradu –tutkielma	Aika – Datum 28.9.2000	Sivumäärä – Sidoantal 48 (+liitteet 10)	
<p>Tiivistelmä – Referat</p> <p>Työssä tutkittiin suomalaisten <i>B. burgdorferi</i> sensu lato -lajien, <i>B. burgdorferi</i> sensu stricton, <i>B. afzelii</i> ja <i>B. garinii</i>, geenin p37 ja geenin koodaamaa proteiinia P37. <i>E. colissa</i> tuotetusta rekombinantti-P37:stä toivotaan olevan tulevaisuudessa hyötyä Lymen taudin serodiagnostiikassa. P37 valittiin työn aiheeksi, koska kirjallisuudessa proteiini mainitaan immunogeeniseksi ja sitä vastaan on löydetty vasta-aineita Lymen tauti -potilaiden seerumista.</p> <p><i>B. burgdorferi</i> sensu lato –spirokeetat siirtyvät ihmiseen puutiaisen puremasta ja aiheuttavat Lymen tautia. Lymen taudin diagnosointi voi olla oireiden monimuotoisuuden vuoksi vaikeaa, jos potilas ei muista puutiaisen puremaa. Serologiset testit kuten ELISA-koe ja immunoblottaus ovatkin tärkeitä taudin tunnistamisessa. Lymen taudin diagnostiikassa käytetyt testit eivät kuitenkaan ole vielä tarpeeksi sensitiivisiä ja spesifisiä. Tällä hetkellä Lymen taudin diagnostiikan tutkimus keskittyy eri <i>B. burgdorferi</i> sensu lato –lajien proteiinien tuottamiseen rekombinanttiproteiineina ja niiden diagnostisen käyttökelpoisuuden testaamiseen.</p> <p><i>B. burgdorferi</i> sensu lato –lajit ovat hyvin läheistä sukua toisilleen ja niiden geenit ovat useimmiten melko homologisia. Homologia-aste kuitenkin vaihtelee suuresti geenistä toiseen. Usein proteiinit ovat <i>B. burgdorferi</i> sensu lato –lajien välillä kuitenkin niin samankaltaisia, että potilasseerumin vasta-aineet tunnistavat kaikkien näiden lajien antigeenina käytetyt proteiinit, jolloin vain yksi niistä on diagnostiikassa tarpeen.</p> <p>Histidiinihäntäistä rekombinanttiproteiinia P37 tuotettiin ja sen jatkopuhdistusmenetelmää kehitettiin. Proteiinin puhdistamiseen käytettiin nikkelisefarosipylvästä ja hydrofobista interaktiokromatografiaa. P37 vaikuttaa alustavien immunoblottokokeiden perusteella hyvältä antigeenikandidaalilta Lymen taudin serodiagnostiikkaan, mutta lisäkokeita asian varmistamiseksi tarvitaan. <i>B. afzelii</i> ja <i>B. garinii</i> P37 voisivat olla <i>B. burgdorferi</i> sensu stricton rekombinantti-P37:n lisäksi tulevaisuudessa tärkeitä antigeeneja Lymen taudin diagnostiikassa.</p> <p>Borreliaita kasvatettiin maljaviljelmänä sekä agarin pinnalla että kahden agarkerroksen välissä. Maljaviljelyä, jos sitä kehitettäisiin nykyistä luotettavammaksi, voitaisiin osaltaan käyttää borreliadiagnostiikassa. Sitä käyttäen olisi myös mahdollista eristää uusia borreliakantoja potilasnäytteistä ja puutiaisista.</p> <p>Suomalaisen <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto –kannan Ia geenin p37 sekvenssi on täysin identtinen yhdysvaltalaisesta <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto –kannasta B31 peräisin olevan geenin sekvenssien kanssa. Suomalaisista <i>B. afzelii</i> ja <i>B. gariniista</i> ei PCR:llä löydetty geenin p37. Southern blotista, immunosorbenssiin yhdistetystä immunoblottista ja potilasnäytteiden immunobloteista saadut tulokset kuitenkin viittaavat siihen, että näilläkin lajeilla voi kyseinen geeni olla p37:n sekvenssissä on joko <i>B. burgdorferi</i> -lajien välillä suurta vaihtelua, geeni on vain <i>B. burgdorferi</i> sensu strictolla tai geeni sijaitsee <i>B. afzelii</i> ja <i>B. gariniilla</i> plasmidissa, joka häviää borrelioista viljelyn aikana.</p>			
Avainsanat – Nyckelord <i>Borrelia burgdorferi</i> , P37, immunoblot			
Säilytyspaikka – Förvaringställe Yleisen mikrobiologian osaston kirjasto			
<p>Muita tietoja</p> <p>Työ tehtiin Helsingin yliopiston Haartman instituutissa, bakteriologian ja immunologian osastolla. Työn ohjaajina toimivat dosentti, LKT Ilkka Seppälä, Haartman instituutin bakteriologian ja immunologian osasto ja HYKS-Laboratoriadiagnostiikka sekä LKT Pekka Lahdenne, Helsingin yliopiston Lasten ja nuorten klinikka ja HUS:n Lasten ja nuorten sairaala.</p>			