

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty		Laitos — Institution — Department	
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Biotieteiden laitos/Yleisen mikrobiologian osasto	
Tekijä — Författare — Author			
Rajamäki, Minna			
Työn nimi — Arbetets titel — Title			
Perunan A-viruksen kuoriproteiinissa ja genomien 3'-pään proteiinia koodaamattomalla alueella esiintyvä vaihtelu			
Oppiaine — Läroämne — Subject			
Yleinen mikrobiologia			
Työn laji — Arbetets art — Level		Aika — Datum — Month and year	Sivunäärä — Sidoantal — Number of pages
Pro gradu -tutkielma		toukokuu 1997	65 (+ 2 liitettä)
Tiivistelmä — Referat — Abstract			
<p>Perunan A-virus (PVA) kuuluu potyvirusryhmään (heimo <i>Potyviridae</i>), joka on laajin ja eniten taloudellisia menetyksiä aiheuttava kasvivirusryhmä. PVA:n tärkein isäntäkasvi on viljelty peruna (<i>Solanum tuberosum</i> L., <i>Solanaceae</i>). PVA:n aiheuttamat sadonmenetykset voivat olla jopa 40 %, mutta PVA:n ja perunan X-viruksen yhteistartunta johtaa vielä pahempiin sato tappioihin.</p> <p>Potyvirususten viruspartikkelit ovat lankamaisia ja niiden kuorirakenne on järjestynyt helikaalisesti. Genomi muodostuu yhdestä yksijuosteisesta (ss) RNA-molekyylistä, joka toimii lähetti-RNA:na. Se transloidaan yhtenä suurena polyproteiinina. Kuoriproteiini tuotetaan polyproteiinin C-päästä. Kuoriproteiini koostuu kolmesta eri alueesta: vaihtelevasta N-päästä, konservoituneista ydinalueesta ja C-päästä. Kuoriproteiinin N- ja C-pää sijaitsevat viruspartikkelin pinnalla ja N-pää sisältää useimmat vasta-aineiden tunnistamat virusspesifiset rakenteet. Kuoriproteiini osallistuu virus-RNA:n pakkaamiseen. Sen N-päässä sijaitsevaa DAG-aminohappotriplettiä on osoitettu tarvittavan potyvirususten kirvaleyvinnässä.</p> <p>Tämän työn tarkoituksena oli selvittää maantieteellisesti eri alueilta ja eri isäntäkasveista peräisin olevien PVA-isolaattien kuoriproteiinialueella ja genomien 3'-pään proteiinia koodaamattomalla alueella (3'NTR) esiintyvää vaihtelua; tutkia isolaattien kirvaleyvinteisyydestä olevan tiedon perusteella kuoriproteiinin DAG-aminohappotriplettin ja kirvaleyvinteisyyden välistä korrelaatiota; tutkia PVA-isolaattien tunnistumista yhdellä polyklonaalisella (PAb) ja yhdellä monoklonaalisella PVA-vasta-aineella (MAb) sekä testata saatujen kuoriproteiinin aminohapposekvenssitulosten perusteella ja kohdennetun mutageneesin avulla, oliko kuoriproteiinialueella havaittu tietty systemaattinen aminohappomuutos syynä siihen, että MAb tunnisti vain osan PVA-isolaateista.</p> <p>Työssä määritettiin 13 PVA-isolaatin kuoriproteiinin ja 3'NTR:n nukleotidisekvenssit. Sekvensointia varten kyseiset alueet monistettiin käänteiskopionti-PCR:llä virusisolaattien ssRNA-genomista ja kloonattiin plasmidiin. Tarkasteluihin otettiin mukaan myös kahdeksan aiemmin julkaistun PVA-isolaatin kuoriproteiini- ja 3'NTR-sekvenssit. Kuoriproteiinien aminohapposekvenssihomologia oli ≥ 92.9 % ja 3'NTR:n nukleotidisekvenssihomologia oli ≥ 93.4 %. Viiden tupakassa pitkään ylläpidetyn PVA-isolaatin kuoriproteiinit olivat hyvin samanlaisia, ja ne erosivat perunassa ylläpidettyjen isolaattien kuoriproteiineista, jotka olivat vaihtelevampia. Tämä viittaa siihen, että kuoriproteiinin aminohapposekvenssillä olisi yhteyttä PVA:n isäntäkasviin sopeutumiseen. Kaikilla kirvojen avulla leviävillä PVA-isolaateilla oli kuoriproteiinissa DAG-aminohappotripletti, kun taas kirvojen avulla leviämättömillä isolaateilla se oli lähes aina muuttunut. PAb tunnisti kaikki PVA-isolaatit. MAb tunnisti kaikki muut PVA-isolaatit, paitsi kolme suomalaista. Kuoriproteiinien aminohapposekvenssien vertailun perusteella MAb:lla tunnistumattomien isolaattien 34. aminohappo oli arginiini, kun se kaikilla muilla oli lysiini. Kun arginiini vaihdettiin lysiiniksi (R34K) kohdennetulla pistemutageneesillä, MAb tunnisti <i>E. colissa</i> tuotetut mutatoituneet kuoriproteiinit, joten kyseinen aminohappo on osa MAb:n tunnistamaa epitooppia.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords			
Perunan A-virus, potyvirus, kuoriproteiini, 3'NTR			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
Yleisen mikrobiologian osaston kirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Additional information			