

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Biokemian laitos	
Tekijä — Författare			
Lehti Kaisa			
Työn nimi — Arbets titel			
Pertussistoksiini ja filamenttinen hemaglutiniini asellulaarisen hinkuuskärokkotteen komponentteina			
Oppiaine — Läroämne			
Biokemia			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu		1.3.1995	67
Tiivistelmä — Referat			
<p>Bordetella pertussis aiheuttaa pienille lapsille vaarallisen hinkuuskän. Spesifisistä komponenteista koostuvan asellulaarisen hinkuuskärokkotteen kehittämisessä suurin mielenkiinto on kohdistunut bakteerin tärkeimpiin virulenssitekijöihin, pertussistoksiiniin (PT) ja filamenttiseen hemaglutiniiniin (FHA). PT:n ja FHA:n on ositettu toimivan suojaavina antigeeneinä eläinkokeissa ja alustavissa kliinisissä kokeissa.</p> <p>Työssä kehitettiin menetelmä PT:n ja FHA:n puhdistamiseen B. pertussis-bakteerin kasvusupernatantista. Menetelmässä käytettiin hydroksiapatiitti(HA)-, fetuiini-Sepharose- ja butyyli-Sepharose-kromatografioita sovitettuina yhteen siten, ettei työläitä puskurinvaihto- tai konsentroitivaihteita tarvita.</p> <p>PT:n ja FHA:n erottamiseen käytettiin HA-kromatografiaa. HA sitoo tehokkaasti FHA:a suhteellisen korkeassa NaCl-konsentraatiossa, jossa PT ja suurin osa muusta proteiinista menee pylvään läpi. HA-pylvästä eluoitu FHA-fraktio sitoutuu ammoniumsulfaattilyäksen jälkeen hydrofobiseen butyyli-Sepharoseen ja eluoituu siitä alhaisemmassa suolakonsentraatiossa. Menetelmällä saadaan yli 98% puhdasta FHA:a 40% saannolla.</p> <p>PT:npuhdistukseen käytettiin fetuiini-Sepharose-kromatografiaa, jossa PT sitoutuu spesifisesti vasikan seerumin glykoproteiiniin, fetuiiniin. Sitoutuminen on erittäin voimakasta ja PT:n eluoituminen vaatii korkean pH:n. Eluoitu PT-fraktio voidaan nopeasti konsentroida ja vaihtaa sopivampaan puskuriin sitomalla se alhaisessa suolakonsentraatiossa HA-pylväaseen ja eluoimallakorkeammalla suolakonsentraatiolla. Menetelmällä saadaan 99% puhdasta PT:a 43% saannolla.</p> <p>Rokotteen komponenttina käytettävä PT voidaan inaktivoida formaldehydillä tai glutaraldehydillä. CHO-solukokeen perusteella toksittomampi tuote saadaan glutaraldehydillä. Toisaalta formaldehydillä inaktivoitu PT oli huomattavasti immunogeenisempi hiiri-immunisaatiossa</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Säilytyspaikka — Förvaringställe			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			