

Tieteellinen/Osasto — Fakultet/Sektion Matemaattis-Luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution Perinnöllisyystieteen laitos	
Tekijä — Författare Sirpa Pietilä			
Työn nimi — Arbets titel Rotavirus C:n kasvatus, genomisen RNA segmentin 6 käänteiskopiointi, polymeraasiketjureaktio, kloonaus ja sekvensointi			
Oppiaine — Läroämne Perinnöllisyystiede			
Työn tyyppi — Arbets slag Pro gradu -tutkielma		Aika — Datum tammikuu 1993	Sivumäärä — Sidoantal 64
Tiivistelmä — Referat <p>Työn tarkoituksena oli kasvattaa C ryhmän rotavirusta soluviljelmässä ja eristää viruksen RNA:ta cDNA:n valmistukseen. Tarkoitus oli selvittää geenisegmentin 6 emäsjärjestys ja verrata sitä muiden C ryhmän rotavirusten vastaavien geenien emäsjärjestykseen mahdollisten geenitasolla olevien erojen löytämiseksi. Työssä käytetty viruskanta poikkeaa alkuperäisestä, siasta eristetyistä, viruksesta, sillä se kasvaa suhteellisen hyvin soluviljelmässä eikä pysty enää infektoimaan alkuperäistä isäntäänsä.</p> <p>Reovirusten ryhmään kuuluvat rotavirukset ovat tärkeitä ripulitaudin aiheuttajia sekä eläimillä että ihmisillä. Rotavirusten ominaispiirteitä ovat muun muassa 11:sta kaksijuosteisesta RNA segmentistä koostuva genomi, kaksiosainen proteiiniuori ja virionin erikoinen (ratasta muistuttava) ulkonäkö. Rotaviruksilla on virionissa oma RNA polymeraasi ja niiden replikaatio tapahtuu solun sytoplasmassa.</p> <p>Rotavirukset luokitellaan seroryhmiin virionin sisäkuoreen liittyvien antigeenisten erojen perusteella. Toistaiseksi on tavattu seitsemän immunologisesti erilaista seroryhmää (A-G). 1980-luvun alussa löydettiin C ryhmän rotavirus, joka on tähän mennessä tavattu vain ihmisellä, sialla ja naudoilla. C ryhmän rotavirusten välillä on suuri nukleotidisekvenssihomologia ja niiden epäillään kehittyneen samasta kantamuodosta. Rotavirus C poikkeaa geenitasolla muiden seroryhmien rotaviruksista. Tosin uusimpien tutkimusten mukaan ryhmien A ja C välistä ristireaktiota serologisissa testeissä tapahtuu.</p> <p>Tässä työssä rotavirus C:tä kasvatettiin sian testissoluviljelmässä ja viruksen geenisegmentti 6 käänteiskopioitiin cDNA:ksi, jota monistettiin PCR:n avulla. Geenisegmentin 6 cDNA kloonattiin eri plasmidivektoreihin ja osittain sekvensoitiin käyttäen sekä yksi- että kaksijuosteisen DNA:n sekvensointimenetelmiä.</p> <p>Saadun emäsjärjestyksen (noin 700 emästä) vertailu tiedossa olleeseen sian rotavirus C:n geenin 6 emäsjärjestykseen osoitti, että kyseiset kannat ovat geenitasolla täysin homologisia sekvensoidun alueen osalta. Sekvensoitu alue kattoi noin puolet koko geenisegmentistä (1349 emästä). Koska eroa tiedossa olleeseen geenisegmentin 6 emäsjärjestykseen ei havaittu, ei viruksessa tapahtunutta muutosta koskien sen infektointikykyä ja kasvua soluviljelmässä voida tämän tuloksen perusteella selittää. Viruksessa mahdollisesti tapahtuneet geneettiset muutokset ovat ilmeisesti jossakin muussa geenisegmentissä kuin segmentissä 6.</p>			
Avainsanat — Nyckelord rotavirus C, segmentoitu RNA genomi, PCR, sekvensointi			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe Perinnöllisyystieteen laitos			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			