

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Yleisen mikrobiol. laitos	
Tekijä — Författare			
Hannimari Kallio-Kokko			
Työn nimi — Arbets titel			
Puumala viruksen nukleokapsidiproteiinia koodaavan S-segmentin ekspressio <i>Escherichia coli</i> ssa			
Oppiaine — Läroämne			
Yleinen mikrobiologia			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumaara — Sidoantal
Pro gradu		kevät 1992	48
Tiivistelmä — Referat			
<p>Puumala virus kuuluu hantaviruksiin ja aiheuttaa munuaisoireisen verenvuotokuumeoireyhtymän (nefropatia epidemica = NE) taudin vakavuusasteen vaihdelta oireettomasta jopa kuolemaan johtavaan (0.2% tapauksista). Puumala virus leviää ihmiseen isäntäjyrsijänsä metsämyyrän (<i>Clethrionomys glareolus</i>) eritteiden kautta.</p> <p>Työni tarkoituksena oli kehittää vaihtoehtoinen antigeenin tuottosysteemi Puumala virus -diagnostiikan tarpeisiin.</p> <p>Polymeraasiketjureaktion avulla mahdollistettiin eri restriktioentsyymien tunnistuskohtien liittäminen Puumala viruksen nukleokapsidia koodaavan S-segmentin cDNA:han ja näin eri S-segmentti konstruktien liittäminen pEX2- tai pEX1-ekspressiovektoreihin. Plasmidit transformoitiin <i>Escherichia coli</i> pop2136-kantaan, ja β-galaktosidaasi-fuusioproteiinien tuotto indusoitiin lämpötilan nostolla. Tuotettujen fuusioproteiinien immunogeenisuus tutkittiin immunoblottauksen avulla käyttäen testattavina seerumeina NE-positiivisia ja NE-negatiivisia potilasseerumeita. Immunoblottauksen perusteella antigeeniseksi osoittautunut fuusioproteiini otettiin massatuotantoon, ja proteiinien puhdistukseen käytettiin preparatiivista agaroosigeelielektroforeesia.</p> <p>Immunoblottauksen perusteella immunogeenisiksi proteiineiksi osoittautuivat koko nukleokapsidiproteiini ja alkua 2/3 nukleokapsidiproteiinista, kun taas loppu 1/3 nukleokapsidi-proteiinista ei antanut mitään reaktiota. Myöskään pelkkä β-galaktosidaasi ei immunoblottauksessa reagoinut. Jatkotöissä nukleokapsidi-fuusioproteiini on osoittautunut toimivaksi antigeeniksi Puumala virus -vasta-aineita mittaavien EIA-testien käyttöön.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Puumala virus, ekspressio, antigeeni			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Yleisen mikrobiologian laitoksen käsikirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			
Työ suoritettiin Virusopin laitoksella (HY) työnohjaajana toimi prof. Antti Vaheri			