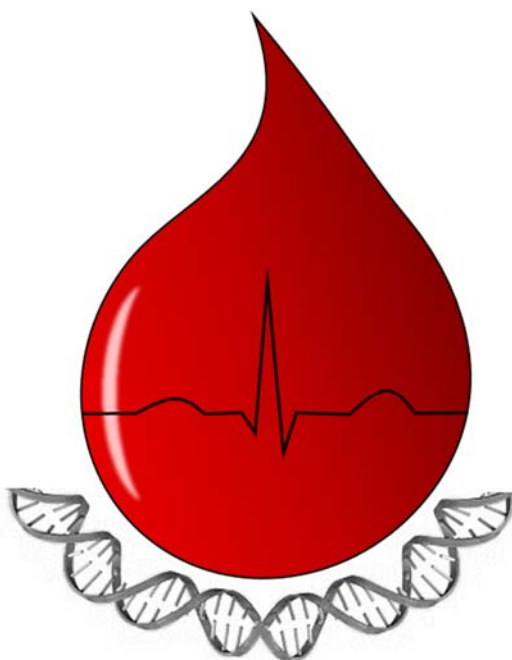




UMEÅ UNIVERSITET



BIOMICINSK
ANALYTIKERPROGRAMMET

Etablering av fluorescens- baserad western blot detektion av virus i cellkultur

Rebecca Ebeling

Examensarbete, 15 hp
Biomedicinsk analytikerprogrammet, 180 hp
VT 2019



Examensarbetets engelska titel

Establishment of Fluorescence-based Western Blot Detection of Virus in Cell Culture

Handledare

Emma Nilsson, Umeå Universitet, Institutionen för mikrobiologi, avdelning Virologi

Läroproponent: Ylva Hedberg Fransson

Examinator: Mari Norgren

Datum för godkännande: 2019 06 18

Abstrakt

Uukuniemi virus (UUK) och *Tick Borne Encephalitis Virus* (TBEV) är höljeförsedda fästingburna virus. Vanliga verktyg vid virusforskning är så kallade Virus-likartade partiklar (VLPs). De består av virala membranassocierade strukturella proteiner men saknar genom, detta gör dem icke-infektiösa men fullt fungerande för studier av exempelvis bindning och virusstruktur. Western blot används ofta vid denna typ av studier för detektion av virala proteiner. En vanlig laddningskontroll är tubulin, dock anses totalproteininfärgning med exempelvis Quickstain vara säkrare. Syftet var att etablera en fluorescensbaserad western blot metod för detektion av virusproteiner och VLPs samt optimera och jämföra detektionen av tubulin med totalproteinmärkning. Ett antal cellinjer, virusproteiner och laddningskontroller utvärderades. Fluorescensbaserad western blot utfördes på proteinextrakt och VLPs från cellerna. Bästa proteinuttryck erhöles från HEK293 celler med primärantikroppen Goliat under icke-reducerande förhållanden. VLPs kunde detekteras med Goliat och visade minskad produktion vid närvaro av golgicide. Housekeepingproteinet tubulin kunde användas med två olika blocklösningar och fluorescensmärka sekundärantikroppar kunde återanvändas. Tubulin visade sig i dessutom vara känsligare än Quickstain för detektion av celltoxicitet i detta fall. Konklusionen var att en fluorescensbaserad western blot metod etablerades för Uukuniemi-proteiner, TBEV proteiner och VLPs samt att tubulin i detta fall anses vara den bättre laddningskontrollen.

Nyckelord

Western blot, Fluorescens, Uukuniemi, TBEV, NS1, Tubulin