

Emilia Leskelä

**NENÄSUMUTEMUOTOISEN ROKOTTEEN KEHITTÄMISPROSESSI SARS-COV  
2: TA VASTAAN – MENETELMÄSUUNNITTELU JA TESTAAMINEN**

Toiminnallinen opinnäytetyö

**NENÄSUMUTEMUOTOISEN ROKOTTEEN KEHITTÄMISPROSESSI SARS-COV  
2: TA VASTAAN – MENETELMÄSUUNNITTELU JA TESTAAMINEN**

Toiminnallinen opinnäytetyö

Emilia Leskelä

Opinnäytetyö

Kevät 2022

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma, Ei suuntautumisvaihtoehtoa

---

Tekijä(t): Emilia Leskelä

Opinnäytetyön nimi: Nenäsumutemuotoisen rokotteen kehittämisprosessi SARS-CoV-2: ta vastaan – menetelmäsuunnittelu ja testaaminen

Työn ohjaaja: Paula Reponen, Simo Rasi, Jaana Holappa-Girginkaya

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2022 Sivumäärä: 23+2

---

Tämä opinnäytetyö on saanut alkunsa tarpeesta kehittää helposti annettavaa rokotetta COVID-19-virusta vastaan. Työ on projekti, jossa testataan, voidaanko SARS-CoV-2 viruksen piikkiproteiinin rakenteeseen sisältyvälle peptidille tuottaa vasta-aineita konstruktioilla, jossa peptidi on sidottu eikovalenttisesti kantajaproteiiniin. Käyttämämme peptidi on rakennettu niin, että se sisältää SARS-CoV-2:ssa esiintyvän neljän kodonin (12 nukleotidin) mutaation. Mutaatio voi auttaa piikin tiukkaa sitoutumista ACE2 -reseptoreihin soluissa, joita esiintyy erityisesti ihmisen hengitysteissä. Mutaation kodonit ovat ccu-cgg-cgg-gca vastaten aminohappoja PRRA eli proliini-arginiini-arginiini-alaniini. Peptidin kumpaankin päähän kiinnitetään biotiini. Reaktiota ja siinä muodostunutta immuunogeenia karakterisoidaan geelielektroforeesilla (SDS-PAGE).

Opinnäytetyössä on hyödynnetty alan aiempia tutkimuksia liittyen streptavidiinin ominaisuuksiin ja käyttöön kantajaproteiinina, sekä ajantasaista tutkimustietoa koskien SARS-CoV-2 viruksen tartuntamekanismeja.

Toivottu tulos saavutettiin olosuhteissa, missä peptidi/streptavidiini suhde oli noin 0,4: 1. Tällöin yksiketjuinen biotinyloitu peptidi muodostaa silmukan (loop), jonka keskellä oleva mutatoitunut kohta voi aiheuttaa vasta-aineen muodostumisen sen rakennetta kohtaan. Vasta-aine voisi siten tunnistaa myös SARS-CoV-2 viruksen piikkiproteiinin ja sitoutua siihen. Tämä puolestaan estäisi piikkiproteiinin sitoutumisen ACE2 reseptoriin ja viruksen pääsyn solun sisään käynnistämään viruksen tuotannon.

Projektin menetelmää ja konstruktioita voi hyödyntää tulevaisuuden pandemioiden rokotekehityksessä nopean rokotteen mallina, mahdollisesti nenäsumutemuotoisen rokotteen muodossa. Tällä hetkellä keskustelua on käyty ainakin jo yhden ulkomaisen bioalan yrityksen kanssa liittyen projektin jatkokehitykseen sisältäen menetelmän testauksen rotilla.

---

Asiasanat: COVID-19, streptavidiini, biotiini, nenäsumuterokote, piikkiproteiini

## ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences  
Bachelor's degree in Biomedical laboratory science, no option

---

Author(s): Emilia Leskelä

Title of thesis: The development process of nasal vaccination for SARS-CoV-2 - method planning and testing

Supervisor(s): Paula Reponen, Simo Rasi, Jaana Holappa-Girginkaya

Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2022 Number of pages: 23+2

---

This thesis originated from the need for a nasal vaccine for SARS-CoV2. It's a project that started from the idea of producing antibodies against the spike protein of the SARS-CoV-2 structural peptide with the construction of a non-covalent bond between the peptide and membrane transport protein. Our peptide has been built to include four codons (12 nucleotides) of mutation of SARS-CoV-2. That mutation can strengthen the binding between spike protein and ACE2-receptor in the cells expressed in human airways. Codons of the mutation are ccu-cgg-cgg-gca corresponding amino acids PRRA i.e., proline-arginine-arginine-alanine. Biotin is bound to both ends of the peptide. Reaction and the formed immunogen are characterized by gel electrophoresis (SDS-PAGE).

Earlier research due to characteristics and use of streptavidin as a membrane transport protein has been used in this project, as well as up-to-date research data from SARS-CoV-2 infection mechanisms.

The sought-after result was achieved in the conditions where the peptide/streptavidin ratio was approximately 0,4:1. Therefore single-rope biotinylated peptide forms a loop, in the middle of which the mutated part can inflict the formation of antibodies against its structure. Hereby antibodies could recognize the spike protein of SARS-CoV-2 and attach to it. This would prevent the attachment of spike protein to the ACE2 receptor and infection of the cell.

The method and the construct of this project can be utilized in developing vaccines for future pandemics as a pattern for a fast vaccine, possibly in the form of nasal vaccination. To this day, there has been conversation with a foreign company from the field of biology regarding further development of the project, including testing the method with rats.

---

Keywords: COVID-19, streptavidin, biotin, nasal vaccine, spike protein

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	6
2	SARS-COV-2 VIRUS JA COVID-19 PANDEMIA.....	7
3	SARS-COV-2 VIRUKSEN TARTUNTAMEKANISMI .....	9
3.1	S-proteiini eli piikkiproteiini .....	10
3.2	ACE2-reseptori.....	10
4	PROJEKTIN TAVOITTEET JA TOTEUTUS .....	12
4.1	Tutkimuskysymykset .....	13
4.2	Opinnäytetyön toteutus .....	13
5	MENETELMÄN PERIAATE .....	14
5.1	SDS-PAGE.....	15
5.2	Nenäsumutemuotoinen rokote .....	15
6	MENETELMÄN TESTAAMINEN .....	16
7	TULOKSET.....	19
8	JOHTOPÄÄTÖKSET JA JATKOKEHITTELY .....	23
	LÄHTEET.....	24
	LIITTEET .....	29

# 1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö on saanut alkunsa tarpeesta kehittää helposti annettavaa rokotetta COVID-19-virusta vastaan. Hengitysteitse leviäviä tauteja ja taudinaiheuttajia on ollut jo kauan ja niitä ilmenee varmasti lisää tulevaisuudessa. SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) ja MERS (Middle East Respiratory Syndrome) olivat ensimmäiset koronavirukset ennen SARS-CoV-2 virusta, ja lisäksi ihmisillä esiintyy hyvin yleisesti 229E, HKU1, NL63 ja OC43 -koronaviruksia vuosittain flunssausina (THL.fi 2021.)

SARS-CoV eli edellä mainittu SARS ja SARS-CoV-2 virukset ovat keskenään hyvin samankaltaisia. Tämän vuoksi rokotesuunnittelussa ja siihen käytettävien menetelmien kehittämisessä voidaan hyödyntää myös SARS-viruksesta olemassa olevaa tietoa. (Uusi-Mäkelä ym. 2020.)

Opinnäytetyö toteutetaan projektimuotoisena. Projektin tarkoituksena on selvittää, voidaanko SARS-CoV-2 viruksen piikkiproteiinin (spike protein) rakenteeseen sisältyvälle peptidille tuottaa vasta-aineita konstruktioilla, jossa peptidi on sidottu ei-kovalenttisesti kantajaproteiiniin. Peptidi sisältää mutaation, joka voi tutkimusten perusteella auttaa piikin tiukkaa sitoutumista ACE2-reseptoreihin ihmisen hengitysteissä esiintyvissä soluissa (Corum & Zimmer, 2020). Reaktiota ja siinä muodostunutta immunogeenia karakterisoidaan geelielektroforeesilla (SDS-PAGE).

Onnistuessaan projektin tekniikkaa ja konstruktioita voisi hyödyntää tulevaisuuden pandemioiden rokotekehityksessä nopean rokotteen mallina, mahdollisesti nenäsumutemuotoisen rokotteen muodossa.

## 2 SARS-COV-2 VIRUS JA COVID-19 PANDEMIA

Uuden koronaviruksen SARS-COV-2:n aiheuttama COVID-19-tauti on vakavin pandemia yli sataan vuoteen. Se sai alkunsa oletetusti vuoden 2019 joulukuussa Kiinan Wuhanissa, mistä se levisi nopeasti muualle maailmaan. Varmaa tietoa viruksen alkuperästä ei ole, joskin ehdotuksia ja teorioita on ilmennyt salaliittoteorioihin asti. Selkein tautipiikki tilastoissa näkyy seuraavan vuoden tammi-kuun puolen välin jälkeen, ja viralliseksi pandemiaksi tauti nimettiin maailman terveysjärjestö WHO:n toimesta 11.3.2020. Marraskuun 2022 alussa varmistettuja tautitapauksia maailmalla on yli 600 000 000, jonka lisäksi koronaan liittyviä kuolemantapauksia on rekisteröity yli 6,5 miljoonaa. Kuolleisuus on täten maailmanlaajuisesti noin prosentin luokkaa. Suomessa vastaavat luvut ovat 1,3 miljoonaa tartuntaa ja 6700 koronaan liittyvää kuolemaa, kuolleisuuden ollessa n.0.5 %. (Anttila 2022; WHO 2022; Hovi 2020). Tässä vaiheessa pandemiaa läheskään kaikki tapaukset eivät enää tallennu viralliseen rekisteriin, sillä virallinen testaus on vähentynyt sekä omailmoitus-sairaspoissa-olokäytännöt ja kotitestaus lisääntyneet. On myös hyvin mahdollista, että virus on muuttunut endemiseksi, ja SARS-CoV-2-viruksen aiheuttamia infektioita tulee esiintymään tulevana vuosina eri maissa kausittain (Anttila 2022).

COVID-19 aiheuttaa pääosin hengitystieinfektioita, johon kuuluu usein kuitenkin myös suolikana- van oireilua kuten ripulia. Itämisaika taudilla on 1–14 vuorokautta tartunnasta oireiden tai jatkotar- tuttavuuden alkuun. Keskimääräinen itämisaika on noin 4–5 päivää. Pelkkien oireiden perusteella ei ole mahdollista päätellä taudin aiheuttajaa, vaan se varmistetaan tarvittaessa laboratoriotestien avulla. Oireiden vakavuus vaihtelee yksilöittäin, ja tauti voi myös olla oireeton. Vakavassa tautimuodossa voi ilmetä akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä (ARDS), keuhkokuume tai muita komplikaatioita. Usein vakavaan tautimuotoon sairastuneella on ollut jokin riskitekijä, kuten korkea ikä, sydän- ja verisuonitauti tai puolustuskykyä heikentävä perussairaus. (Anttila 2022; THL 2022a&c.)

COVID-19-taudin vakavaa tautimuotoa vastaan on kehitetty lukuisia rokotteita useissa eri maissa, ja Suomessakin rokotusohjelmaan on otettu rokotteita usealta eri valmistajalta. Rokotteita on an- nettu maailmalla marraskuun 2022 alussa lähes 12,9 miljardia annosta, Suomessa rokotuskatta- vuuden ollessa 1. ja 2. annoksen osalta lähes 80 %. Kolmannen rokotteen on saanut Suomessa päälle 54 % väestöstä. (WHO 2022; THL 2022d.)

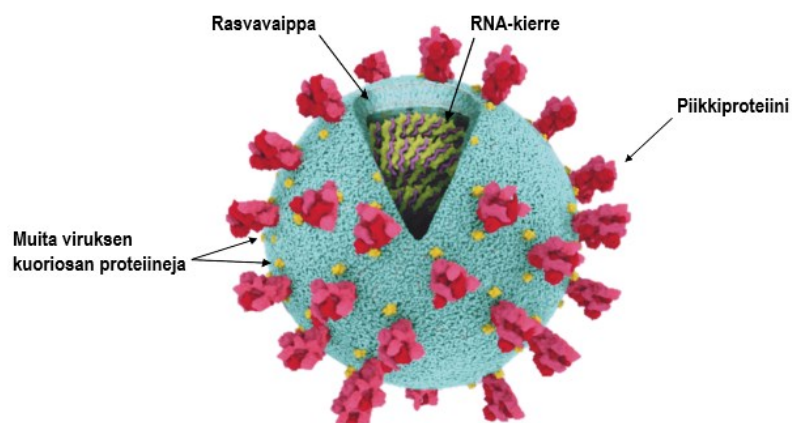
Kuten monet virukset, myös SARS-CoV-2 on muuntautunut pandemian aikana useita kertoja, ja eri variaatioilla on eroavaisuuksia keskenään taudinkuvan ja leviämisenopeuden osalta. Esimerkkejä varianteista ovat UK-, delta- ja omikronvariantit. Näistä ainakin kahta jälkimmäistä on todettu myös rokotetuilla, joskin rokotteet ovat ehkäisseet vakavan tautimuodon esiintymistä. (Anttila 2022.)

### 3 SARS-COV-2 VIRUKSEN TARTUNTAMEKANISMI

Virusten täytyy infektoida elävä solu voidakseen lisääntyä ja levitä. Se tapahtuu sitoutumalla vastaanottavan solun pintakalvolla olevaan reseptoriin. Koronavirus tartuttaa solun sitoutuessaan pis-tämällä koko genominsa sisältävän, vajaan 30 000 nukleotidin pituisen RNA-juosteen sen sisälle. Vertailuna: ihmisen genomissa on yhteensä yli 3 biljoonaa nukleotidiä. RNA sisältää kaiken tarvit-tavan tiedon uusien virusten valmistamiseen ja kokoamiseen. Infektoitu solu lukee tämän informaa-tion ja alkaa valmistaa virusta sen pohjalta. (Corum & Zimmer, 2020; Parkkila ym. 2021).

SARS-CoV-2 leviää pääasiallisesti hengitysteitse pisara- ja aerosolitartuntana, mutta sen voi saada myös kosketustartuntana pinnoilta tai esimerkiksi ulosteesta. Moni tekijä vaikuttaa leviämiseen ja tartuttavuuteen, kuten ympäristön tilan ominaisuudet, kantajan viruseritys, altistumisen kesto ja mahdolliset virusvariantit (Parkkila ym. 2021; THL 2022a).

Vuonna 2020 tiedemiehet olivat saaneet identifioitua koronaviruksen genomista geenit jopa 29 eri proteiinille, joiden tehtävistä osa on yhä pimennossa mutta osa on pystytty määrittämään. Näistä perehdymme tarkemmin tunnetuimpaan, S- eli piikkiproteiiniin. (Corum & Zimmer, 2020).



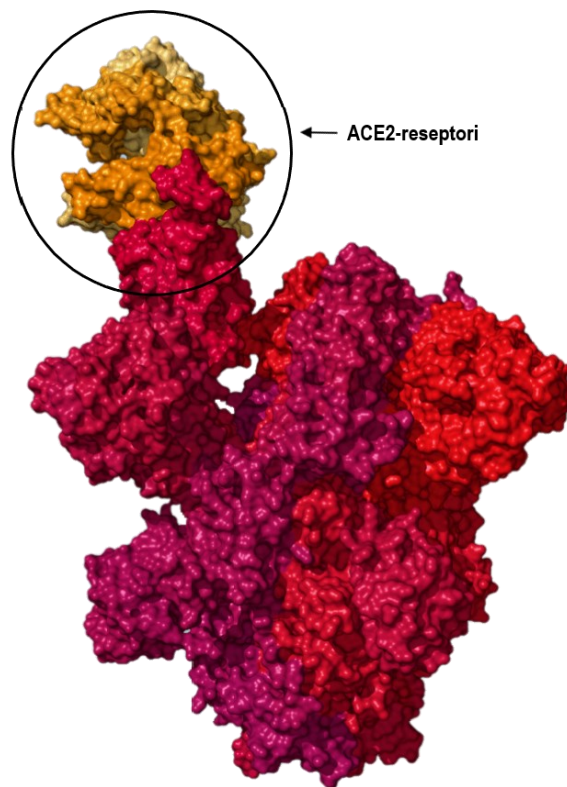
Kuva 1 Koronaviruksen rakenne. Mukailten, Corum ym. 2020.

### 3.1 S-proteiini eli piikkiproteiini

Koronaviruksen pinta rakentuu neljästä rakenneproteiinista: S, E, M ja N. Uloimman pintarakenteen muodostamisen lisäksi ne myös auttavat virusta kerääntymään ja lisääntymään. SARS-CoV ja SARS-CoV-2 virukset käyttävät S-proteiinia, *eng. Spike protein*, eli piikkiproteiinia apunaan tunkeutuessaan kohdesoluun. S-proteiinit muodostavat nimensä mukaisesti piikkejä viruksen pinnalle kerääntymällä kolmen ryppäisiin. Tästä muodostuva kruunumainen rakenne onkin antanut koronavirukselle nimensä, sillä korona tarkoittaa kruunua. Piikkimäinen rakenne ankkuroituu ihmisen hengitysteissä esiintyvään ACE2-reseptoriin, joka toimii lukituslaitteena ja näin virus pääsee tunkeutumaan soluun. Rokotekehittelyssä onkin pyritty estämään tätä piikin sitoutumista ihmissoluihin luomalla elimistöön vasta-aineita, jotka sitoutuvat piikkiproteiiniin estäen sen sitoutumisen reseptoriin ja näin ollen pääsyn solun sisään. (Corum & Zimmer, 2020).

### 3.2 ACE2-reseptori

Angiotensiinikonvertaasi 2 eli ACE2 on eri puolilla ihmisen elimistöä, mukaan lukien hengitysteissä ilmentyvä entsyymi, joka tunnistaa koronaviruksen piikkiproteiinin reseptoriin sitoutuvan osan (binding domain, RBD). Koronaviruksen piikkiproteiinin liittyessä ACE2:hen se lukkiutuu, jonka jälkeen seriiniproteaasi (TMPRSS2) ja furiini auttavat piikkiproteiinia muokkautumaan ja virus pääsee infektoimaan solun. (Parkkila ym. 2021; Hovi 2020). Furiini on proproteiinikonvertaasi, joka taas on ryhmä entsyymejä, jotka katalysoivat muun muassa reseptorien aktivaatiota soluissa (Duodecim). On myös tutkittu, että neuropiliini -niminen proteiini voi olla yhtenä lisätekijänä vauhdittamassa SARS-CoV-2:n tunkeutumista soluun. (Parkkila ym. 2021; Hovi 2020). SARS-CoV-2 on todettu kiinnittyvän edeltäjäänsä merkittävästi vahvemmin ACE2-reseptoriin (Medina-Enríquez ym. 2020.)



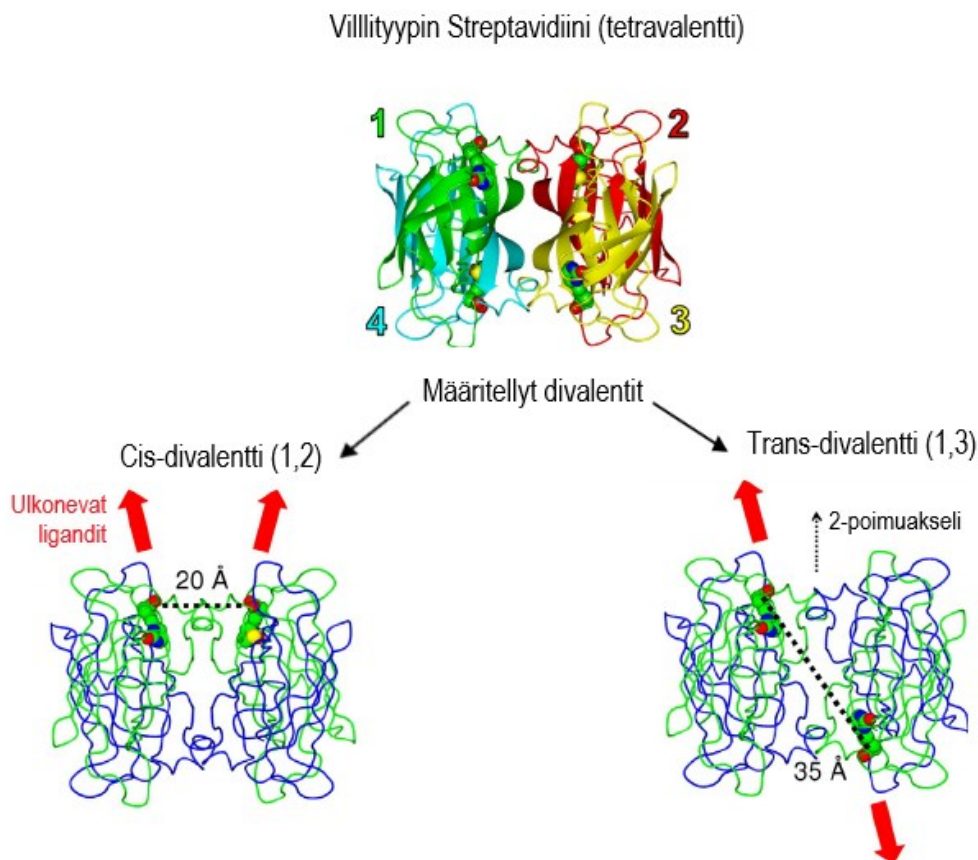
*Kuva 2 Koronaviruksen piikkiproteiini sitoutuneena ACE2-reseptoriin. Mukailleen: Corum ym. 2020.*

ACE2 on osa valtimopainetta säätelevää reniini-angiotensiinijärjestelmää (RAS), jossa se toimii antagonistina ACElle. RAS-järjestelmä huolehtii näiden kahden tasapainosta, ja onkin epäilty, että viruksen tunkeutuessa isäntäsoluun ACE2-molekyylit kuluvat, joka johtaa epätasapainoon ACE/ACE2 välillä. Tämä olisi mahdollisesti osaltaan kytköksissä vakavan tautimuodon oireiston, kuten ARDS:n syntyyn. (Medina-Enríquez ym. 2020; Tseng ym. 2020). ACE2lla on lukuisia muita tehtäviä reseptorina toimimisen lisäksi ja sitä esiintyy peräti 72 eri solutyypissä, ja itse asiassa hengitysteissä sitä esiintyy suhteessa vähiten. Vaikka COVID-19 tarttuukin pääosin hengitysteitse, se voi täten vaikuttaa muuallakin elimistössä. ACE2:ta esiintyy runsaiten suolen pintaepiteelisoluissa, jonka vuoksi yksi koronan mahdollisista oireista on ripuli. (Barker & Parkkila 2020; Medina-Enríquez ym. 2020).

## 4 PROJEKTIN TAVOITTEET JA TOTEUTUS

Tämä opinnäytetyö on osaprojekti, missä valmistetaan immunogeeni, joka rakentuu peptidistä ja kantajaproteiinista siten, että molekyylien sitoutumiseen käytetään hyväksi molekyylien kykyä sitoutua lähes kovalenttisesti.

Kantajaproteiinina projektissa käytetään Streptavidiniä. Kantajaproteiinin tehtävänä rokotekehittelyssä on esitellä antigeeni elimistön puolustusjärjestelmälle, jotta pitkäkestoinen immunologinen muisti heräisi sitä taudinaiheuttajaa vastaan, jota rokotteella on tarkoitus estää (THL 2022b). Streptavidini on biotiinia sitova proteiini, joka on peräisin *Streptomyces avidiini* -bakteerista. Se sitoo neljä moolia biotiinia yhtä proteiinimoolia kohti hyvin suurella affiniteetilla (dissosiatiovakio  $K_d$  on noin  $10^{-14}$ ). Streptavidini-biotiini kompleksi on hyvin pysyvä laajalla pH- ja lämpötila-alueella. (Rockland).



Kuva 3 Streptavidinin sitoutumiskohdat biotiiniin. Mukailten: Michael Fairhead 2013.

Kuvassa 3 nähtävillä streptavidiinien periaate. Ylimpänä alayksiköiden numerointi streptavidiinitetrameerissa, kukin monomeeri omalla värillään ja biotiini avaruusrakenteena (proteiinidatabankki PDB ID: 3RY2). Alempana on esitetty biotiinin sitoutumiskohdat 1,2 ja 1,3 (biotiniin sitoutuneet monomeerit vihreällä, ei-sitoutuneet monomeerit sinisellä) joista käy ilmi biotiinikarboksyyliryhmän hiilien suhteellinen suuntautuminen ja etäisyydet. (Fairhead 2013.)

#### 4.1 Tutkimuskysymykset

Projektin tavoitteina on:

1. Selvittää, voidaanko SARS-CoV-2 viruksen piikkiproteiinin (spike protein) rakenteeseen sisältyvälle peptidille tuottaa vasta-aineita konstruktiolla, jossa peptidi on sidottu ei-kovalenttisesti kantajaproteiiniin.
2. Selvittää, liittyykö peptidi streptavidiiniin halutunlaisesti
3. Jos liittyy, niin mikä on optimaalinen suhde näiden välillä
4. Saada karakterisoitua reaktiota ja siinä muodostunutta immunogeenia geelielektroforeesilla (SDS-PAGE), eli saada reaktiot näkymään luettavaan muotoon geelille.
5. Tulosten perusteella testata jatkohankkeessa immunogeenia *in vivo*

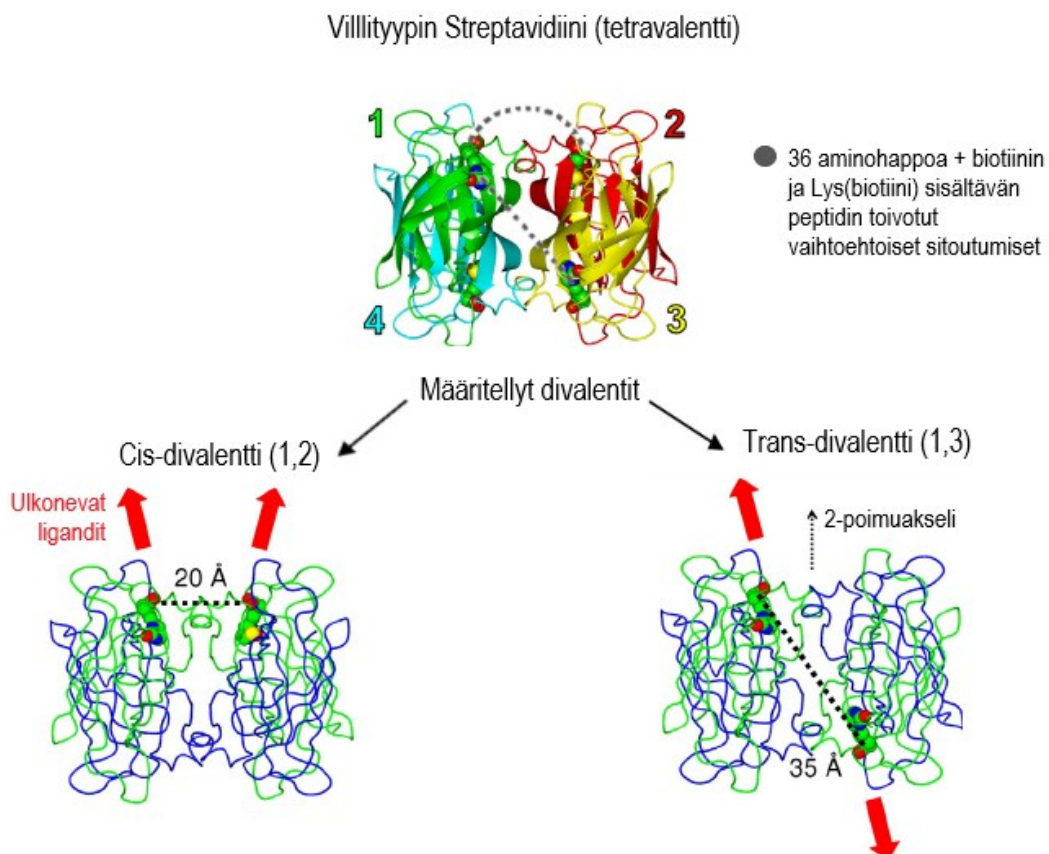
#### 4.2 Opinnäytetyön toteutus

Projekti toteutettiin opinnäytetyönä Oulun ammattikorkeakoulussa. Opinnäytetyö koostui menetelmän suunnittelusta, laboratoriotyöskentelystä sekä tulosten raportoinnista. Opinnäytetyöprosessiin osallistuivat ohjaavat opettajat sekä projektin tilaaja BioOption toimitusjohtaja, sairaalakemisti Simo Rasi (FL).

## 5 MENETELMÄN PERIAATE

Käyttämämme peptidi on rakennettu niin, että se sisältää SARS-CoV-2:ssa esiintyvän neljän kodonin (12 nukleotidin) mutaation. Mutaatio voi auttaa piikin tiukkaa sitoutumista ACE2 -reseptoreihin soluissa, joita esiintyy erityisesti ihmisen hengitysteissä. Mutaation kodonit ovat ccu-cgg-cgg-gca vastaten aminohappoja PRRA eli proliini-arginiini-arginiini-alaniini. (Corum & Zimmer, 2020). Peptidin kokonaispituudeksi oli alun perin valittu 69 aminohappoa, joista 19 ah on ennen mutaatiota ja 36 ah mutaation jälkeen. Peptidiä jouduttiin kuitenkin lyhentämään tuotantoteknisten syiden vuoksi 36 aminohappoon, niin että 16 ah on ennen mutaatiota ja 16 ah mutaation jälkeen. Peptidin kumpaankin päähän kiinnitetään biotiini. Lopullinen muoto on siis:

Biotin-GGGGGICASYQTQTNS**PRRARS**SVASQSIAYGGGGG-Lys (Biotin).



Kuva 4 Tavoittelemamme sitoutumiset. Peptidin pituus; 35 kpl C-N sidoksia ( $a' 1,32\text{\AA}$ ) + Biotin ja Lys (Biotin) on noin 47 Å, joka mahdollistaisi kummatkin sitoutumisen vaihtoehdot. Mukaillen, Michael Fairhead 2013.

## 5.1 SDS-PAGE

SDS-PAGE (natriumdodekyylisulfaattipolyakryliamidigeelielektroforeesi) on geelielektroforeesiin perustuva proteiinien erottelu- ja analyysimenetelmä, jossa suoritetaan proteiinien erotteluajo kaksiosaisessa polyakryliamidigeelissä elektroforeesin avulla, joka erottelee proteiinit niiden koon perusteella. Proteiinit värjätään tulosten visuaalisen tarkastelun mahdollistamiseksi. (Solunetti, 2006a).

## 5.2 Nenäsumutemuotoinen rokote

Nenäsumutemuotoisen rokotteen ideana on annostella rokote suoraan sinne, missä sitä tarvitaan ja missä mahdollinen tartuntakin tapahtuisi: suoraan hengitysteihin. (Waltz 2022.) Nenäsumutemuotoiset rokotteet ovat myös helpompia antaa kuin injektoidavat rokotteet: niiden antoon ei välttämättä vaadita koulutettua henkilökuntaa (Ekholm 2022).

Niin kuin injektoidavien rokotteidenkin kohdalla, myös nenäsumuterokotteiden toimintaperiaatteissa ja menetelmissä on eroja. Tällä hetkellä Suomessa on käytössä lapsille (2–18 v) annettava influenssarokote Fluenz Tetra, jossa käytetään heikennettyjä influenssaviruksia (THL 2022a). Tämän lisäksi Rokote Laboratories Finland Oy on kehittämässä COVID-19 tautia vastaan nenäsumutemuotoista rokotetta FINCoVac (Ekholm 2022). Maailmalla on useita tutkimuksia käynnissä, ja joissakin maissa on yksittäisiä nenäsumutemuotoisia koronarokotteita otettu testaukseen.

## 6 MENETELMÄN TESTAAMINEN

Menetelmää testattiin neljällä eri sekoitussuhteella streptavidiinin ja peptidin välillä *in vitro* ja reaktiot karakterisoitiin geelielektroforeesilla (SDS-PAGE).

Ensin valmistimme laimennokset streptavidiinista ja peptidistä jokaista neljää haluttua reaktiota kohden. Emme olleet varmoja, miten streptavidiini reagoisi keittämiseen, joten teimme sekä keitetyt että keittämättömät versiot. Nämä oli liuotettu eri päivinä.

Streptavidiini (2,5 mg/putki) liuotettiin 100 µl:aan vettä ja siirrettiin putkeen, jossa 900 µl fosfaattipuskuria. Tästä tehtiin laimennos 1:10 jolloin saadaan pitoisuus 0,25 mg / ml. Tätä pitoisuutta käytettiin kaikissa reaktioissa.

Peptidi (1 mg) liuotettiin millilitraan fosfaattipuskuria, josta tehtiin laimennokset fosfaattipuskuriin taulukon mukaisesti (taulukko 1).

*Taulukko 1: Peptidin laimennokset*

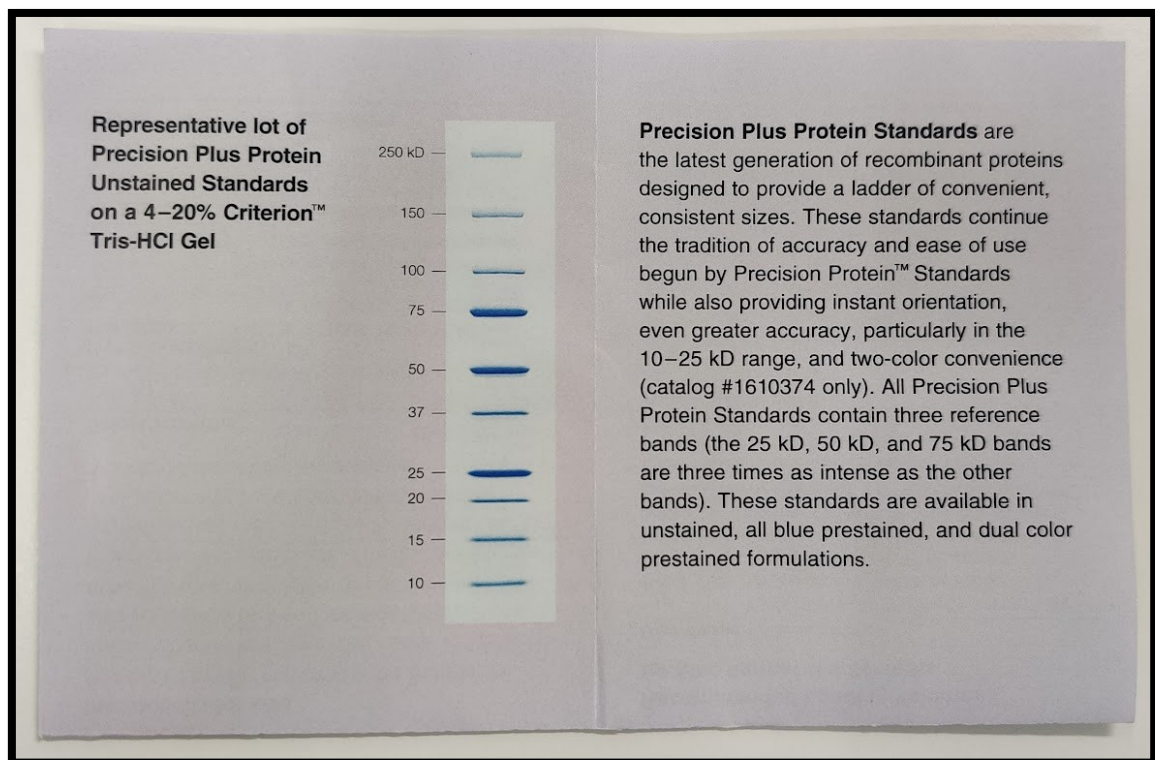
Reaktio	Laimennossuhde	Peptidi + fosfaattipuskuri	Pitoisuus
I	1:100	10 µl + 990 µl	0,010 mg/ml
II	1:40	25 µl + 975 µl	0,025 mg/ml
III	1:20	50 µl + 950 µl	0,050 mg/ml
IV	1:10	100 µl + 900 µl	0,100 mg/ml

Näistä tehtiin reaktioliuokset seuraavan taulukon mukaisesti (taulukko 2).

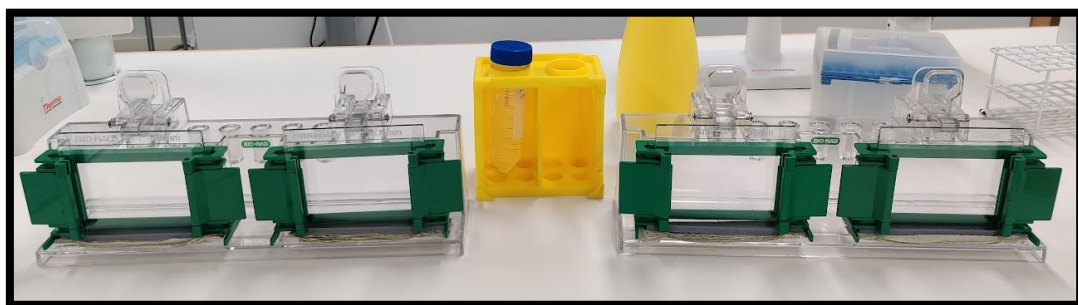
*Taulukko 2: Reaktioliuokset*

Reaktio	Streptavidiini (025 mg/ml)	Peptidi mg/ml	Liuos
I	200 µl	0,010	200 µl
II	200 µl	0,025	200 µl
III	200 µl	0,050	200 µl
IV	200 µl	0,100	200 µl

Näistä reaktioliuoksista pipetoimme 50 µl reaktioliuosta ja 50 µl näytekuskuria. Puskurina käytimme Laemmliin näytekuskuria, joka sisältää 62.5mM Tris-HCL, pH 6.8, 25 % glyserolia, 2 % SDS ja 0.01 % Bromophenolin sinistä. Käytimme proteiinistandardina BioRadin Precision Plus Proteiinistandardeja (kuva 1).



Kuva 5: Proteiinistandardit, BioRad laboratories.



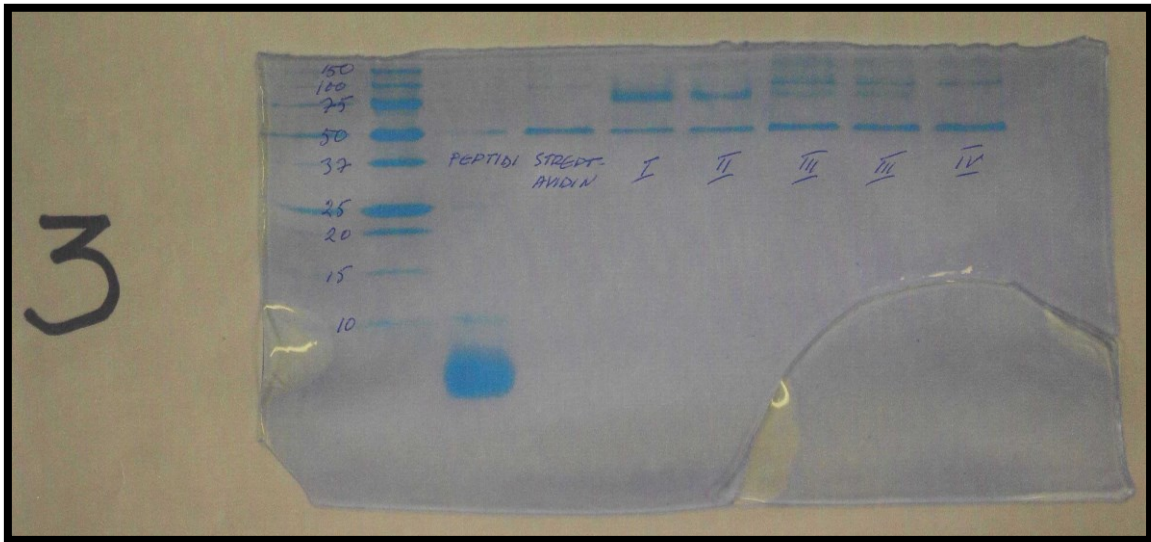
Kuva 6: Geelit Bio Radin valutelineissä

Teimme neljä geeliä, jotta saisimme myös harjoitusgeelejä. Valmiiden geelien laadun perusteella valitsimme käytettävät kaivot ja testattavat reaktiot, ja näytteet pipetoitiin kaivoihin. Käyttöön valikoituivat geelit 2, 3 ja 4. Varsinaisten geelien pipetointikaaviot ovat nähtävillä tulosraportissa.

Ajoimme geelejä 170V noin 45 minuuttia. Ajon jälkeen geelit värjättiin 30 min Coomassie brilliant blue -liuoksessa, jonka jälkeen ne siirrettiin värinpoistoliuokseen. Tässä vaiheessa vyöhykkeet eivät juuri erottuneet, ja jätimme geelit liuoksen vaihdon jälkeen vielä yön yli värinpoistoon. Aamulla vyöhykkeet erottuivatkin oikein selvästi, ja geelit saatiin kuvattua.

## 7 TULOKSET

Varsinaisiksi geeleiksi valikoituivat geelit 3 ja 4. Geeli 4 näytteet keitettiin, ja geeli 3:sen näytteet jätettiin keittämättä. Täten saatiin vertailtua keittämisen vaikutusta ja termostabiiliutta biotinyloidun peptidin ja streptavidiinin välillä, sillä aiemman tiedon perusteella streptavidiini ei yksinään kestä yli 70 asteen lämpötilaa (Fairhead ym. 2014).



Kuva 5: Geeli 3

Geeli 3: Näytteitä ei ole keitetty. Tulokset pipetointijärjestyksen mukaisesti:

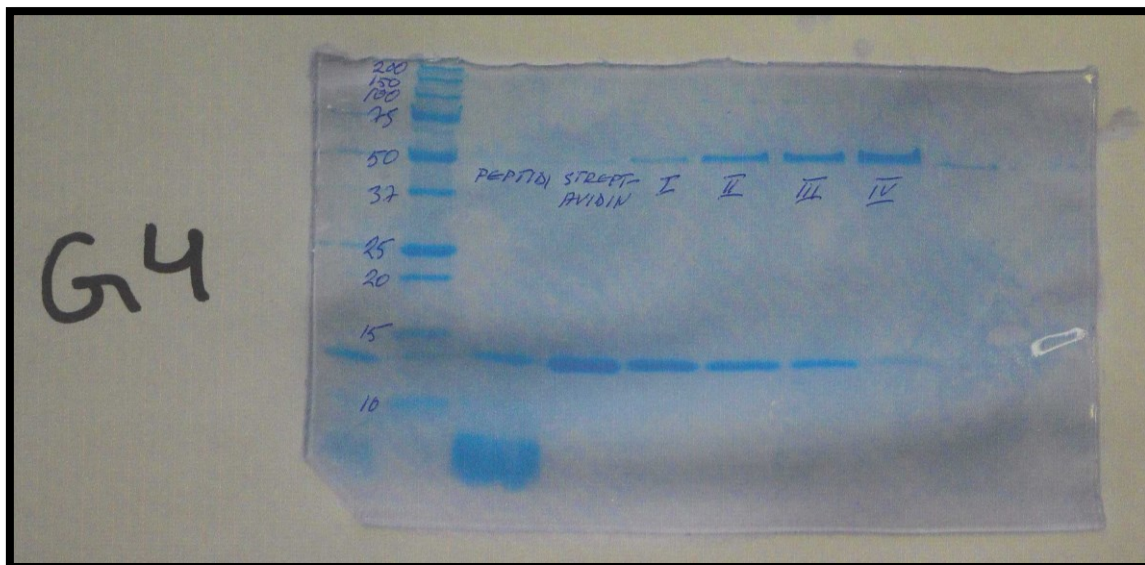
Standardi	Precision Plus Standardi.
Peptidi, liuotettu 18.5.	Molekyylipaino noin 6kDa. Yksi paksu viiva, koska näyte otettiin pitoisuudesta 1mg/ml.
Streptavidiini	Molekyylipaino noin 66 kDa. Yksi viiva.
I	Reaktio I. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 0,4:1. Kaksi viivaa, joista alempi streptavidiini ja ylempi streptavidiini + yksi peptidimolekyyli.
II	Reaktio II. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 1:1. Lähes ekvivalenttinen suhde. Kaksi selvää ja kaksi heikkoa viivaa. Alin selvä viiva streptavidiini,

toinen selvä viiva streptavidiini + yksi peptidi molekyyli, alempi heikko viiva streptavidiini + kaksi peptidimolekyyliä, ylin hyvin heikko viiva streptavidiini + kaksi peptidimolekyyliä, joista toinen on lisäksi kiinnittynyt toiseen streptavidiiniin.

III Sama kuin seuraava.

III Reaktio III. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 2:1. Yksi selvä ja kolme heikompa viivaa. Selvä viiva streptavidiini, alin heikko viiva streptavidiini + yksi peptidi molekyyli, toinen heikko viiva streptavidiini + kaksi peptidimolekyyliä, ylin heikko viiva streptavidiini + kaksi peptidimolekyyliä, joista toinen peptidi on lisäksi kiinnittynyt toiseen streptavidiiniin.

IV Reaktio IV. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 4:1. Yksi selvä ja kaksi heikompa viivaa. Selvä viiva streptavidiini, alempi heikko viiva streptavidiini + kaksi peptidimolekyyliä, ylin heikko viiva streptavidiini + kaksi peptidimolekyyliä, joista toinen peptidi on lisäksi kiinnittynyt toiseen streptavidiiniin.



Kuva 7: Geeli 4

Geeli 4: Keitetyt näytteet. Tulokset pipetointijärjestyksen mukaisesti:

Standardi vasemmassa reunassa

Precision Plus Standardi, ks. kuva 1.

Peptidi, liuotettu 19.5

Näyte otettu pitoisuudesta 1mg/ml. Yksi paksu viiva ja toinen ohut, joka ilmeisesti kontaminaatio viereisestä kaivosta.

I

Reaktio I. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 0,4:1. Kaksi viivaa, joista alempi streptavidiinin hajoamistuote ja ylempi heikko viiva streptavidiini + peptidi molekyyli.

II

Reaktio II. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 1:1. Lähes ekvivalenttinen suhde. Kaksi viivaa, joista alempi streptavidiinin hajoamistuote ja ylempi viiva streptavidiini + peptidi molekyyli.

III

Reaktio III. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 2:1. Kaksi viivaa, joista alempi (heikompi, kuin edellä)

streptavidiinin hajoamistuote ja ylempi viiva (vahvempi kuin edellä) streptavidiini + peptidi molekyyli.

IV

Reaktio IV. Peptidi/streptavidiini -suhde noin 4:1. Kaksi viivaa, joista alempi (hyvin heikko) streptavidiinin hajoamistuote ja ylempi viiva (hyvin vahva) streptavidiini + peptidi molekyyli.

Tulokset näyttävät, että streptavidiini kestää yhdessä biotinyloidun peptidin kanssa ainakin 5 minuutin keittämisen. Tämän selittää hyvin Michael Fairheadin ym. (2014) artikkeli, jossa kerrottiin, että Streptavidiinin thermostabiilisuus Tm 73 astetta C apo-SA:lle ja 112 astetta C biotin-SA:lle.

Täten selvisi myös vastaukset tutkimuskysymyksiimme:

1. SARS-CoV-2 viruksen piikkiproteiinin rakenteeseen sisältyvälle peptidille voidaan tuottaa vasta-aineita konstruktiolla, jossa peptidi on sidottu ei-kovalenttisesti kantajaproteiiniin.
2. Peptidi liittyy streptavidiiniin.
3. Optimaalinen peptidi/streptavidiini suhde oli noin 0,4: 1.
4. Reaktio ja siinä muodostunut immunogeeni saatiin karakterisoitua geelielektroforeesilla niin, että optimaalisessa suhteessa geelillä tuli näkyviin kaksi viivaa.
5. Projektin tulosten perusteella on mahdollista testata jatkohankkeessa immunogeenia *in vivo*

## 8 JOHTOPÄÄTÖKSET JA JATKOKEHITTELY

Geelillä 3 on luettavissa selkeitä sidoksia streptavidiinin ja biotinyloidun peptidin välillä. Toivottu tulos saavutettiin reaktio yhden olosuhteissa, missä peptidi/streptavidiini suhde oli noin 0,4: 1. Geelillä havaintaan kaksi viivaa, joista alempi streptavidiini ja ylempi streptavidiini + yksi peptidi molekyyli. Tällä lähtöaineiden suhteella on todennäköisesti paras mahdollisuus saada aikaan molekyyli-rakenne, missä biotinyloitu peptidi on molemmista päistä kiinni streptavidiinissa. Tällöin yksiketuinen biotinyloitu peptidi muodostaa silmukan (loop), jonka keskellä oleva mutatoitunut kohta voi aiheuttaa vasta-aineen muodostumisen sen rakennetta kohtaan. Vasta-aine voisi siten tunnistaa myös SARS-CoV-2 viruksen piikkiproteiinin ja sitoutua siihen. Tämä puolestaan estäisi piikkiproteiinin sitoutumisen ACE2 reseptoriin ja viruksen pääsyn solun sisään käynnistämään viruksen tuotannon.

Tarkasteltaessa geeliä 4 voidaan todeta, että oletetusti streptavidiini ei ole yksistään kestänyt keittämistä. Vastaavasti, kuten geelillä 3, myös geelillä 4 on luettavissa selkeitä sidoksia streptavidiinin ja biotinyloidun peptidin välillä. Kun vertaa peptidi/streptavidiini -sidosten ja streptavidiinin hajoamistuotteiden viivoja keskenään, voidaan huomata, että niiden suhde on kääntäen verrannollinen toisiinsa nähden. Mitä enemmän peptidin määrä reaktiossa kasvaa, sitä vähemmän muodostuu streptavidiinin hajoamistuotteita eli sitä paremmin streptavidiini kestää keittämisen.

Tulosten perusteella aikaan saatua konstruktia olisi mahdollista hyödyntää nopean rokotteen mallina. Tällä hetkellä keskustelua on käyty ainakin jo yhden ulkomaisen bioalan yrityksen kanssa liittyen projektin jatkokehitykseen sisältäen sumutteen valmistamisen ja testaukseen rotilla. Julkaisemme tämän projektin vapaaseen jatkokehittelyyn tuleville tiimeille.

## LÄHTEET

Anttila, Veli-Jukka. Koronavirus (SARS-CoV-2, COVID-19). Duodecim. Hakupäivä 8.11.2022. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01257>

Barker H, Parkkila S (2020). Bioinformatic characterization of angiotensin-converting enzyme 2, the entry receptor for SARS-CoV-2. PLoS ONE 15(10): e0240647. Hakupäivä 1.11.2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240647>

Corum Jonathan, Zimmer Carl. 2020. Bad News Wrapped in Protein: Inside the Coronavirus Genome. The New York Times. Hakupäivä 19.07.2022. <https://www.nytimes.com/interactive/2020/04/03/science/coronavirus-genome-bad-news-wrapped-in-protein.html>

Duodecim a. Lääketieteen termit: Affiniteetti. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/affiniteetti>

Duodecim b. Lääketieteen termit: Aminohappo. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/aminohappo>

Duodecim c. Lääketieteen termit: Antigeeni. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 21.09.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/antigeeni>

Duodecim d. Lääketieteen termit: Biotiini. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/biotiini>

Duodecim e. Lääketieteen termit: Elektroforeesi. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 19.05.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/lte04432>

Duodecim f. Lääketieteen termit: Hapteeni. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/hapteeni>

Duodecim g. Lääketieteen termit: Immunogeeni. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/immunogeeni>

Duodecim h. Lääketieteen termit: Kantajaproteiini. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/105980/kantajaproteiini>

Duodecim i. Lääketieteen termit: Kodoni. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/codon>

Duodecim j. Lääketieteen termit: Kovalenttinen sidos. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/kovalenttinen%20sidos>

Duodecim k. Lääketieteen termit: Mutaatio. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/mutaatio>

Duodecim l. Lääketieteen termit: Nukleosidi. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 19.07.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/nukleosidi>

Duodecim m. Lääketieteen termit: Nukleotidi. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 19.07.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/lte15724>

Duodecim n. Lääketieteen termit: Peptidi. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 21.09.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/peptidi>

Duodecim o. Lääketieteen termit: Proteiini. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/lte18479>

Duodecim p. Lääketieteen termit: Reseptori. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/reseptori>

Duodecim q. Lääketieteen termit: RNA. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/RNA>

Duodecim r. Lääketieteen termit: Vasta-aine. Duodecim Terveysportti Sanakirjat. Hakupäivä 08.09.2021. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/vasta-aine>

Duodecim s. Lääketieteen termit: Prooteiinikonvertaasi. Hakupäivä 23.11.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/lte30731>

Duodecim t. Lääketieteen termit: Endeeminen. Hakupäivä 23.11.2022. <https://www.terveysportti.fi/apps/sanakirjat/0/endeeminen>

Ekholm, Virpi 2022. Suojaisiko nenäsumuterokote paremmin? Apteekkari. Hakupäivä 22.09.2022. <https://www.apteekkari.fi/uutiset/suojaisiko-nenasumute-paremmiin>

Fairhead Michael, Krndija Denis, Lowe Ed D, Howarth Mark 2014. Plug-and-Play Pairing via Defined Divalent Streptavidins. *Journal of Molecular Biology*. Jan 9; 426(1):199–214. Hakupäivä 11.11.2022 <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.09.016>

Fairhead, Michael 2013. Principle of defined streptavidins. ResearchGate. Hakupäivä 19.07.2022 [https://www.researchgate.net/figure/Principle-of-defined-divalent-streptavidins-Numbering-of-subunits-in-the-streptavidin\\_fig1\\_256929963](https://www.researchgate.net/figure/Principle-of-defined-divalent-streptavidins-Numbering-of-subunits-in-the-streptavidin_fig1_256929963)

Hovi, Tapani 2020. Koronavirus SARS-CoV-2 - yllätyksellinen vuoden tulokas. *Duodecim* 2020;136(24):2759–64. Hakupäivä 7.11.2022. <https://www.duodecimlehti.fi/duo15971#s1>

Medina-Enríquez, M.M., Lopez-León, S., Carlos-Escalante, J.A. et al. ACE2: the molecular doorway to SARS-CoV-2. *Cell Biosci* 10, 148 (2020). Hakupäivä 7.11.2022. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00519-8>

Parkkila Seppo, Saari Sampo, Sormunen Piia, Silander Heidi, Nenonen Suvi, Kakko Leila & Nuorti Pekka. 2021. SARS-CoV-2:n tartunta ja leviäminen. *Duodecim*. 2021;137(17):1743–9. Hakupäivä 21.09.2022. <https://www.duodecimlehti.fi/duo16328>

Rockland antibodies & assays. Streptavidin Properties and Characterization. Hakupäivä 19.07.2022. <https://rckdwebimagesa.blob.core.windows.net/protocols/Streptavidin---S000-01.pdf>

Solunetti. 2006a. PROTEIINIEN SDS-PAGE. Hakupäivä 24.05.2021. [https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/proteiinien\\_sds-page/2/](https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/proteiinien_sds-page/2/)

Solunetti. 2006b. Nukleiinihappojen rakenne. Hakupäivä 19.07.2022. <https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/nukleiinihapot/2/>

THL.fi 2021. Koronavirukset. Hakupäivä 24.05.2021. <https://thl.fi/fi/web/infektioaudit-ja-rokotukset/audit-ja-torjunta/audit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/koronavirukset>

THL.fi 2022a. Nenäsumutteena annettava influenssarokote lapsille. Hakupäivä 22.09.2022. <https://thl.fi/fi/web/infektioaudit-ja-rokotukset/rokotteet-a-o/influenssarokote/nenasumutteena-annettava-influenssarokote-lapsille>

THL.fi 2022b. Mitä rokotteet sisältävät? Hakupäivä 5.11.2022. <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/tietoa-rokotuksista/usein-kysyttya-rokotuksista/mita-rokotteet-sisaltavat>

THL.fi 2022d. Koronarokotusten edistyminen. Hakupäivä 8.11.2022. [https://www.thl.fi/episeuranta/rokotukset/koronarokotusten\\_edistyminen.html](https://www.thl.fi/episeuranta/rokotukset/koronarokotusten_edistyminen.html) [https://www.thl.fi/episeuranta/rokotukset/koronarokotusten\\_edistyminen.html](https://www.thl.fi/episeuranta/rokotukset/koronarokotusten_edistyminen.html)

THL.fi. 2022c. Ajankohtaista koronaviruksesta: Oireet ja hoito. Hakupäivä 8.11.2022. <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/ajankohtaista/ajankohtaista-koronaviruksesta-covid-19/oireet-ja-hoito-koronavirus>

Tseng YH, Yang RC, Lu TS. Two hits to the renin-angiotensin system may play a key role in severe COVID-19. *Kaohsiung J Med Sci.* 2020 Jun;36(6):389-392. Epub 2020 Jun 3. PMID: 32492292; PMCID: PMC7300771. Hakupäivä 23.11.2022. Doi: 10.1002/kjm2.12237.

Uusi-Mäkelä Meri, Hankaniemi Minna, Heinimäki Suvi, Blazevic Vesna, Hytönen Vesa & Rämetsä Mika. 2020. Kilpa COVID-19-rokotteen kehittämiseksi - syntyykö uusi rokotekehityksen maailmanennätys? *Duodecim* 136 (12), 1427–35. Hakupäivä 24.5.2021. <https://www.duodecimlehti.fi/duo15608>

Waltz, Emily 2022. How nasal-spray vaccines could change the pandemic. *Nature*. Hakupäivä 22.09.2022. <https://www.nature.com/articles/d41586-022-02824-3>

WHO 2022. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Hakupäivä 08.11.2022. <https://covid19.who.int/>

## LIITTEET

Keskeistä käsitteistöä - Liite 1

Affiniteetti (*affinity*): Immun. antigeeni-vasta-ainesidoksen voimakkuus / reseptorin ja sen ligandin taipumus sitoutua toinen toiseensa (Duodecim a).

Aminohappo (*amino acid*): Peptidiketjujen ja proteiinien rakenneosina esiintyviä orgaanisia molekyyliä (Duodecim b).

Antigeeni (*antigen*): Aiheuttaa elimistössä vasta-aineiden eli immunoglobuliinien muodostumisen tai soluvälitteisen immuunivasteen (Duodecim c).

Biotiini (*biotin*): B-vitamiiniryhmään kuuluva, kaikissa elävissä soluissa esiintyvä, aineenvaihdunnassa tärkeisiin karboksylaatioreaktioihin osallistuva koentsyymi eli orgaaninen yhdiste (Duodecim d). Tässä projektissa biotiini liitetään peptidin päihin, jotta kantajaproteiini voisi siihen sitoutua.

Endeeminen (*endemic*): Paikallisesti jatkuvasti esiintyvä, jollekin alueelle ominainen (tauti). (Duodecim t).

Geelielektroforeesi: Elektroforeesi on menetelmä, jolla sähköisesti varautuneita molekyyliä erotetaan toisistaan niiden erilaisen sähkökentässä liikkumisen perusteella. Menetelmällä on useita alalajeja, ja tässä työssä käytämme geelielektroforeesia. Siinä eroteltavat molekyylit liikkuvat eräänlaisessa hyytelössä eli geelissä sähkövirran avulla. (Duodecim d)

Hapteeni (*hapten*): Tavallisesti pienimolekyylinen orgaaninen yhdiste, joka toimii immunogeeninä vain liittyneenä suurempaan molekyyliin eli kantajaproteiiniin. Pystyy kuitenkin yksin reagoimaan syntyneen vasta-aineen kanssa (Duodecim f).

Immunogeeni (*immunogen*): Antigeeni, joka stimuloi suoraan vasta-ainemuodostusta (Duodecim g).

Kantajaproteiini (*carrier protein*): Proteiini, johon liittynyt hapteeni pystyy toimimaan immunogeeninä. (Duodecim h). Tässä projektissa kantajaproteiinina toimii streptavidini.

Kodoni (*codon*): Geneettisen informaation pienin yksikkö, DNA-molekyyllissä (ja lähetti-RNA-molekyyllissä) oleva kolmen peräkkäisen nukleotidin ryhmä, jonka mukaan tietty aminohappo liittyy muodostuvaan peptidiketjuun translaatioissa. (Duodecim i). Kodoneita on erityyppisiä sen mukaan, missä kohden peptidiketju ne toimivat ja mikä on niiden tehtävä (aloituskodoni, lopetuskodoni).

Kovalenttisisidos (*covalent bond*): Kovalenttinen sidos on kahden atomin välinen voimakas sidos, joka perustuu kahden, neljän tai kuuden elektronin jakautumiseen atomien välillä siten, että niistä tulee kummankin atomin yhteisiä (Duodecim j).

Mutaatio (*mutation*): Yhdessä tai useammassa geenissä tapahtunut rakenteellinen muutos, joka voi sukusolussa ollessaan siirtyä jälkeläisille (Duodecim k).

Nukleosidi (*nucleoside*): Nukleinihapon rakenneyksikkö, sisältää puriini- tai pyrimidiiniemäksen ja pentoosisokerin. (Duodecim l; Solunetti 2006b.)

Nukleotidi (*nucleotide*): Nukleosidi, johon on liittynyt lisäksi fosfaattiryhmä. (Duodecim m; Solunetti 2006b.)

Peptidi (*peptide*): Peptididoksilla toisiinsa liittyneiden aminohappojen ketju (Duodecim n).

Proteiini (*protein*): Yhdestä tai useammasta peptidiketjusta muodostunut suurimolekyylinen yhdiste eli makromolekyyl, valkuaisaine (Duodecim o).

Reseptori (*receptor*): Tässä työssä: virusreseptori. Solun pinnan makromolekyyl, joka sitoo viruksen spesifisellä tavalla (solun infektoitumisen edellytys) (Duodecim p.)

RNA (*ribonucleic acid*): Ribonukleinihapot ovat proteiinisynteesissä toimivia, neljästä ribonukleotidista (AMP, CMP, GMP, UMP) rakentuvia polymeerejä. Monien virusten perinnöllinen aines on RNA:ta, kuten myös työssämme käsiteltävän SARS-CoV-2:n. (Duodecim q).

Streptavidini: Biotiinia sitova proteiini, joka on peräisin *Streptomyces avidiini* bakteerista. Toimii tässä projektissa kantajaproteiinina.

Vasta-aine (*antibody*): Immuunijärjestelmän tietyn antigeenin vaikutuksesta tuottama proteiini, joka reagoi spesifisesti juuri tämän antigeenin kanssa (ja tekee sen usein tehottomaksi) (Duodecim r). Tässä projektissa halutaan tuottaa vasta-aineita SARS-CoV-2 piikkiproteiinin rakenteeseen sisältyvälle peptidille.