

Annotatsioon

Antud töö eesmärgiks oli ekspresseerida potyviiruste CI, VPg ja NIb valke lahustuvalt ning määrata nende aktiivsust.

Katsetes kasutati varem konstrueeritud pET15b ja pET24d ekspressiooni vektoritesse kloneeritud potyviiruse CI, VPg ja NIb valke 6×His-märgisega. Ekspressiooni teostati *E. coli* BL21(DE3)-CodonPlus-RP peremees rakkudes. Antud töö käigus optimeeriti CI ja VPg valkude ekspressiooni tingimused ning testiti erinevaid NIb valgu ekstraheerimis-, lüüsi- ning ekspressiooni tingimusi.

Katsete käigus järeldati, et CI ja VPg valke lahustuval kujul rekombinantsetl saada on lihtsam, kui NIb valku. CI ja VPg valkude piisava koguse saamiseks teostati ekspresseerimine 18°C juures 3 tunni jooksul 0,5 mM IPTG juures. NIb valgu puhul sama temperatuuri juures 2 tunni jooksul 0,1 mM IPTG juures. NIb valk aggregeerub lahustamata valgu kujul inklusiooni kehasse ja indutseeritav ekspressiooni promotor lekkis, mida õnnestus pidurdada 1% glükoosi LB söötmesse lisamisega. Optimeerimisega ei suudetud NIb lahustuvust parandada. Erinev 6×His-märgise lokaliseerimine, indutseerimine erinevate IPTG kontsentratsioonidega (0,1 mM ja 0,5 mM), astmeline elueerimine või erinevad lüüsi tingimused ei parandanud valgu lahustuvust ega puhtust.

Peale seda, testiti NIb valgu võimet nukleotidüleerida VPg valku. Vastavat aktiivsust antud töö käigus ei detekteeritud.