**Esimerkki 1.6247**

Virus- ja bakteeri-DNA:n osoittaminen nenänielun aspiraateista on nykyään rutiinikäytäntö kuumeisen keuhkokuumeen hätätilanteissa. Tutkimme, voidaanko näissä tapauksissa havaita myös Pneumocystis jirovecii -DNA:ta, tekemällä retrospektiivisen seulonnan 324:stä peräkkäisestä NPA:sta, jotka otettiin vastaan 324 aikuispotilaalta (198:lla eli 61 prosentilla oli heikentynyt immuunijärjestelmä), jotka otettiin vastaan epäiltyjen keuhkoinfektioiden vuoksi influenssaepidemian aikana vuonna 2012, käyttämällä reaaliaikaista kvantitatiivista polymeraasiketjureaktiomääritystä (PjqPCR), joka kohdistuu P. jirovecii mitokondriaalisen ribosomaalisen RNA:n ison alayksikön geeniin. Nämä NPA:t oli jo testattu 22 hengitystiepatogeenin (18 virusta ja 4 bakteeria) osalta, mutta havaitsimme, että 16 NPA:ta (4,9 %) oli PjqPCR-positiivisia, joten P. jirovecii oli neljänneksi yleisin seulan 23 mikro-organismista. Yksitoista 16:sta PjqPCR-positiivisesta potilaasta oli immuunipuutteisia, ja viidellä oli taustalla keuhkosairauksia. Yhdeksän NPA:ta oli positiivinen myös jonkin muun hengitystiepatogeenin suhteen. Kuudella oli PjqPCR-positiivinen indusoitu sputa alle kolme päivää NPA-toimenpiteen jälkeen, ja viidellä diagnosoitiin pneumocystis-pneumonia (neljällä kroonista lymfoproliferatiivista sairautta sairastavalla ja yhdellä AIDS-potilaalla). Kaikissa kuudessa käytettävissä olevassa parissa P. jirovecii -DNA:n kvantifiointi osoitti, että NPA:ssa oli vähemmän kopioita kuin indusoidussa ysköksessä, ja kolme PjqPCR-negatiivista NPA:ta vastasi PjqPCR-positiivista bronkoalveolaarista huuhtelunestettä, mikä korostaa sitä tosiasiaa, että negatiivinen PjqPCR-seulonta ei sulje pois pneumokystoosin diagnoosia.

**Tulos**

Pneumocystis jirovecii -DNA:n osoittamisen lisäämisen hyödyllisyys nenänielun aspiraateissa immuunipuutteisilla aikuispotilailla, joilla on kuumeinen keuhkokuume.

**Esimerkki 1.6248**

Taustaa Uganda panee parhaillaan täytäntöön kansainvälisiä terveyssääntöjä (IHR[2005]) tautien yhdennetyn seurannan ja torjunnan (IDSR) yhteydessä. IHR(2005) edellyttää, että maat arvioivat kansallisten rakenteidensa, valmiuksiensa ja resurssiensa kykyä täyttää seurannan ja reagoinnin vähimmäisvaatimukset. Tässä kertomuksessa kuvataan Ugandassa tehdyn arvioinnin tulokset. Teimme kuvailevan poikkileikkausarvioinnin käyttäen Maailman terveysjärjestön (WHO) kehittämää protokollaa. Tiedonkeruuvälineitä mukautettiin paikallisesti, ja ne annettiin IHR(2005)-ohjelman sidosryhmien mieluisalle otokselle, minkä lisäksi tehtiin frekvenssianalyysejä. Tulokset IHR(2005):n kannalta merkityksellisiä Ugandan kansallisia lakeja oli olemassa, mutta ne eivät tukeneet riittävästi IHR(2005):n täysimääräistä täytäntöönpanoa. Vastaavasti oli nimetty IHR:n kansallinen yhteyspiste, mutta valvontatoimet ja operatiivinen viestintä rajoittuivat terveydenhuoltosektorille. Kaikissa piirikunnissa (13/13) oli nimetty tautien seurantavirasto, useimmilla oli IDSR:n tekniset ohjeet (92 % eli 12/13), ja kaikilla (13/13) oli tapausmäärittelyt tartuntatautien ja zoonoosien seurantaa varten. Seurantaohjeet olivat saatavilla 57 prosentissa (35/61) terveydenhuoltolaitoksista, kun taas tapausmäärittelyt olivat saatavilla 66 prosentissa (40/61) terveydenhuoltolaitoksista. Ensisijaisten tautien luettelo, valvontaohjeet, tapausmäärittelyt ja raportointivälineet perustuivat IDSR-strategiaan, joten niistä puuttui tietoa IHR:stä (2005). Kansallisen ja piirikunnan tason nopean toiminnan ryhmistä puuttui elintarviketurvallisuuden, kemikaalien ja radioaktiivisten aineiden asiantuntijoita. Myöskään elintarvike-, kemiallisten ja radioaktiivisten vaarojen torjuntaohjeita ei ollut laadittu. Kansallisella ja piiritasolla ei ollut kattavia valmiussuunnitelmia, joihin olisi sisällytetty IHR(2005). Kansallinen laboratoriopolitiikka oli olemassa, ja strategista suunnitelmaa laadittiin parhaillaan. Kansallisen laboratorioverkoston tehokasta toimintaa haittasivat kuitenkin kriittiset puutteet. Lisäksi IHR(2005):n täytäntöönpanon yhteyspisteitä ei ollut nimetty. Arvioinnissa tuotiin esiin kriittisiä puutteita, jotka ohjaavat IHR(2005):n suunnitteluprosessia. IHR(2005)-toimintasuunnitelma olisi sen vuoksi laadittava kansallisen ja kansainvälisen kansanterveysturvallisuuden edistämiseksi.

**Tulos**

S9 Uganda. 2 Maailman terveysjärjestön maatoimisto, Plot 60, Prince Charles Drive, P.O. Box 24578, Kampala. 3 Maailman terveysjärjestön alueellinen toimisto.

**Esimerkki 1.6249**

("filovirukset"), jotka aiheuttavat vakavaa verenvuotokuumetta, johon kuolee jopa 90 prosenttia ihmisistä. Filovirusinfektio edellyttää isäntäsolun ja viruksen kalvojen fuusioitumista, jota välittää kuoriglykoproteiini (GP). GP sisältää kaksi alayksikköä, pinta-alayksikön (GP1), joka vastaa soluun kiinnittymisestä, ja transmembraanisen alayksikön (GP2), joka katalysoi kalvofuusion. GP2:n ektodomeeni sisältää kaksi heptad-toistoaluetta, N-terminaalisen ja C-terminaalisen alueen (NHR ja CHR), jotka muodostavat kuuden kierteisen nipun fuusioprosessin aikana. Tämän kuuden kierteisen nipun uudelleen taittuminen muodostaa termodynaamisen käyttövoiman, joka mahdollistaa kalvofuusioon liittyvien esteiden ylittämisen. Tässä raportoidaan MARV:n GP2-ydindomeenin kiderakenne fuusion jälkeisessä konformaatiossa (kuuden kierteisen nipun) 1,9 Å:n resoluutiolla. MARV GP2:n ydindomeenin selkärangan konformaatio on lähes identtinen EBOV GP2:n (raportoitu aiemmin) kanssa, ja se koostuu keskeisestä NHR-ytimen trimeerisestä käämikierteestä, joka on pakattu perifeerisiä CHR α-keliksiä ja väliin jäävää silmukkaa / käämi-käännös-käämi-segmenttiä vasten. Olemme aiemmin raportoineet, että MARV GP2:n fuusion jälkeisen rakenteen stabiilisuus on erittäin pH-riippuvainen, ja stabiilisuus lisääntyy alhaisemmalla pH:lla [Harrison, J.S.; Koellhoffer, J. K.; Chandran, K.; and Lai, J. R. Biochemistry, 2012Biochemistry, , 51, 2515Biochemistry, -2525. Oletimme, että tämä pH-riippuvainen stabiilisuus tarjoaa mekanismin konformaation hallintaan siten, että fuusion jälkeinen kuuden kierteisen nipun muodostuminen edistyy sopivasti kypsyneiden endosomien ympäristöissä. Tässä raportissa kuvataan pH-riippuvaisen stabiilisuuden rakenteellinen perusta, johon liittyy rakenteen keskiosassa oleva tiheä ydinsivuketjujen ja pinnan happamien sivuketjujen joukko, jota kutsutaan "anionikaistaleeksi". Lisäksi monet pintaan paljastuneet suolasillat vaikuttavat todennäköisesti osaltaan fuusion jälkeisen rakenteen vakauttamiseen matalassa pH:ssa. Nämä tulokset antavat rakenteellista tietoa MARV GP2:n välittämän kalvofuusion mekanismista.

**Tulos**

Marburg-viruksen GP2-ydin-domeenin kiderakenne sen fuusion jälkeisessä konformaatiossa †

**Esimerkki 1.6250**

Solunulkoisen matriisin (ECM) hajoamisen estäminen voi olla mekanismi, joka suojaa sydäntä iskemialta. Ekstrasellulaarisen matriksin metalloproteinaasi-induktori (EMMPRIN) ilmentyy voimakkaasti akuutin sydäninfarktin (AMI) yhteydessä, ja se indusoi useiden matriksin metalloproteinaasien (MMP), mukaan lukien gelatinaasit MMP-2 ja MMP-9, aktivoitumista. Kohdistimme EMMPRIN:in paramagneettisilla/fluoresoivilla mikrosellin nanohiukkasilla, jotka oli konjugoitu EMMPRIN:iin sitoutuvalla peptidillä AP-9 (NAP9), tai AP-9:n sekoitetulla peptidillä negatiivisena kontrollina (NAPSC). Havaitsimme, että NAP9 sitoutuu endogeeniseen EMMPRINiin viljellyissä HL1-myosyyteissä ja hiirten sydämissä, joihin on kohdistunut iskemia/reperfuusio (IR). NAP9:n injektio IR:n aikaan tai yhden päivän kuluttua IR:stä riitti vähentämään sydänlihaksen solukuoleman etenemistä verrattuna kontrolli- ja NAPSC-injektoitujen hiirten infarktikokoon (infarktin koko NAP9-injektoitujen hiirten kohdalla: 32 % ± 6,59 vs. kontrolli: 46 % ± 9,04 tai NAPSC-injektoitujen hiirten kohdalla: 48 % ± 7,64). Samoin sydänparametrit palautuivat lähes terveelle tasolle (LVEF NAP9 63 % ± 7,24 vs. kontrolli 42 % ± 4,74 tai NAPSC 39 % ± 6,44), kun taas ECM:n hajoaminen väheni, kuten MMP-2:n ja MMP-9:n aktivaation estyminen osoitti. Sydämen magneettiresonanssikuvauksissa (CMR) on havaittu signaalin voimistumista vasemmassa kammiossa NAP9-injektion saaneissa hiirissä verrattuna hiiriin, joille ei ole annettu injektiota, ja hiiriin, joille on annettu NAPSC-injektio. Laskettiin positiivinen korrelaatio CMR:n tehostumisen ja infarktin kokoa kuvaavan Evans-Blue/TTC-värjäyksen välillä (R:0,65). Yhdessä nämä tulokset viittaavat siihen, että EMMPRIN-kohdennetut nanohiukkaset ovat uusi lähestymistapa iskeemisen/reperfuusiovaurion lieventämiseen.

**Tulos**

EMMPRIN-kohdennetut magneettiset nanohiukkaset akuutin sydäninfarktin in vivo visualisointiin ja regressioon

**Esimerkki 1.6251**

Monien virusproteiinien on osoitettu olevan sumoyloidut, mikä vaikuttaa niiden proteiinien toimintaa säätelevästi, mikä osoittaa, että viruspatogeenit hyödyntävät laajalti tätä isäntäsolun muutosprosessia viruksen aktiivisuuden hallitsemiseksi. Sen lisäksi, että useat viruspatogeenit käyttävät sumoylaatiota omien proteiiniensa säätelyyn, niiden on osoitettu muokkaavan isäntäsolun yleisiä sumoylaatiotasoja. Kun otetaan huomioon SUMO-lisäyksen solukohteiden suuri määrä ja niiden kriittisten soluprosessien laajuus, joita säädellään sumoylaation avulla, virusten suorittama yleisen sumoylaation muokkaaminen muuttaa oletettavasti soluympäristöä varmistaakseen, että se on suotuisa viruksen lisääntymiselle ja/tai pysyvyydelle. Joidenkin virusten tavoin myös tietyt bakteeriperäiset kasvipatogeenit kohdistuvat sumoylaatiojärjestelmään ja vähentävät yleensä sumoylaatiota häiritäkseen isännän patogeenin vastaisia vasteita. Äskettäinen osoitus siitä, että myös Listeria monocytogenes häiritsee isännän sumoylaatiota ja että tätä tarvitaan tehokkaan infektion aikaansaamiseksi, laajentaa kasvipatogeenihavainnot koskemaan myös ihmisen patogeenia ja viittaa siihen, että patogeenien harjoittama isännän sumoylaation muokkaaminen voi olla laajempaa kuin aiemmin on arvioitu. Tässä katsauksessa keskitytään viimeaikaisiin näkökohtiin, jotka koskevat sitä, miten patogeenit muokkaavat isännän sumoylaatiojärjestelmää ja miten patogeeni hyötyy siitä.

**Tulos**

Sumoylaatio isännän ja patogeenin rajapinnassa

**Esimerkki 1.6252**

Taustaa: Akuutti hengitystieinfektio (ARI) on maailmanlaajuisesti johtava lasten sairastuvuuden ja kuolleisuuden syy. Tässä tutkimuksessa pyrittiin selvittämään, mitkä virus- ja epätyypilliset bakteerisyyt aiheuttavat ARI:n eri vaikeusasteet ja kliiniset ilmenemismuodot Koillis-Brasiliassa asuvissa, pienituloisista perheistä tulevissa esikoululaisissa. Menetelmät: Kliiniset/demografiset tiedot ja nenänielun aspiraatit (NPA) kerättiin prospektiivisesti 5-vuotiailta lapsilta, jotka tulivat vuoden aikana lasten päivystysosastolle ARI:n vuoksi. Taudin vaikeusaste ryhmiteltiin alempien hengitysteiden oireiden, sairaalahoidon tarpeen ja hapen tarpeen mukaan. ARI:n kliininen ilmenemismuoto perustui sairaalasta kotiutumisdiagnoosiin, jossa neljä tilaa oli vallitsevana: bronkioliitti, keuhkokuume, episodinen virusperäinen vinkuna/astma ja ylähengitystieinfektio. NPA:ssa käytettiin multipleksi-PCR:ää 17 yleisen hengitystieviruksen ja epätyypillisen bakteerin taudinaiheuttajan osoittamiseksi. Tulokset: Tutkimukseen osallistui 407 lasta, joiden keski-ikä oli kahdeksan kuukautta. Taudinaiheuttajia havaittiin 85?5 prosentissa näytteistä, ja samanaikainen infektio oli erityisen yleinen (39?5 %). Yleisimpiä olivat hengitystieoireyhtymävirus (RSV; 37 %), adenovirukset (AdV; 25 %), rinovirukset (hRV; 19 %), bocavirus (hBoV; 19 %), ihmisen metapneumovirus (hMPV; 10 %) ja Mycoplasma pneumoniae (Mpp; 10 %). Havaitsemis- ja samanaikaisinfektiot olivat samankaltaisia kaikissa ARI:n vaikeusasteissa ja kliinisissä ilmenemismuodoissa lukuun ottamatta RSV:tä, joka liittyi vakavampaan tautiin ja erityisesti vakavampiin keuhkoputkentulehdustapauksiin, ja Mpp:tä, joka liittyi vakavampiin keuhkokuumetapauksiin. Mpp todettiin 17 prosentilla lapsista, jotka otettiin sairaalaan keuhkokuumeen vuoksi. Tulkinta: Tässä tutkimuksessa korostetaan virus- ja epätyypillisten bakteeripatogeenien merkitystä alle kouluikäisten lasten ARI-taudissa ja korostetaan näiden patogeenien monimutkaista epidemiologiaa tässä ikäryhmässä. Viruksia ja epätyypillisiä bakteereja havaittiin yleisesti ottaen kaikissa ARI:n vaikeusasteissa ja kliinisissä ilmenemismuodoissa, mutta RSV ja Mpp liittyivät vakavampiin keuhkoputkentulehdus- ja keuhkokuumetapauksiin.

**Tulos**

Virusten ja epätyypillisten bakteerien toteaminen alle viisivuotiaiden lasten akuutissa hengitystieinfektiossa.

**Esimerkki 1.6253**

Fragmenttipohjainen lääketutkimus (FBDD) koskee pienimolekyylipainoisten yhdisteiden seulontaa kliinisesti merkityksellisiä makromolekyylikohteita vastaan. Nämä yhdisteet toimivat lääkkeiden kehittämisen lähtökohtina. FBDD on kehittynyt ja kasvattanut suosiotaan viimeisten 15 vuoden aikana. Tässä artikkelissa kuvataan röntgenkristallografian käytön perusteita ja teknologiaa fragmenttipohjaisessa seulonnassa (FBS), mukaan lukien fragmenttikirjaston suunnittelu sekä synkrotronisäteilyn ja robotiikan käyttö röntgensäteilytiedon keräämisessä suurella läpimenolla. Joitakin viimeaikaisia FBS-kristallografian käyttökohteita kuvataan yksityiskohtaisesti, mukaan luettuina lääkekohteiden β-sekretaasi, fenyylietanoliamiini-N-metyylitransferaasi, fosfodiesteraasi 4A ja Hsp90 tutkiminen. Nämä esimerkit havainnollistavat hankkeita, joissa kiteytys on suoraviivaista tai vaikeaa ja joissa muut seulontamenetelmät voivat auttaa poistamaan diffraktiolaadun asettamat kiteytyksen rajoitukset.

**Tulos**

Fragmenttipohjainen seulonta proteiinikristallografian avulla: Kristallistiilikristallografia: Onnistumiset ja sudenkuopat

**Esimerkki 1.6254**

Syntetisoitiin erilaisia 5-substituoituja-2-(1-((dietyyliamino)metyyli)-2-oksoindoliini-3-ylideeni)hydratsiinikarbioamidia (4a, b) ja 5-substituoituja-2-(1-((dietyyliamino)metyyli)-2-oksoindoliini-3-ylideeni)-N-(fenyyli-4-substituoitu)hydratsiinikarbioamidi (5a-h) -johdannaisia. Yhdisteiden sytotoksisuutta tutkittiin ihmisen HeLa- ja CEM-T-lymfosyyttejä sekä hiiren L1210-soluja vastaan. Yhdisteistä tutkittiin myös b-laktamaasi-inhibitorinen aktiivisuus, antiviraalinen, antibakteerinen ja sienilääkkeellinen aktiivisuus eri mikro-organismikantoja vastaan. Useilla näistä yhdisteistä oli alhaiset mikromolaariset 50 %:n sytostaattisen pitoisuuden (IC 50 ) arvot, ja jotkin yhdisteet olivat lähes yhtä tehokkaita kuin melfalaani. Tehokkaimmat inhibiittorit hiiren leukemiasoluja (L1210) vastaan olivat myös tehokkaimpia ihmisen T-lymfosyyttikasvainsoluja (CEM) vastaan. Johdannainen 2-(1-((dietyyliamino)metyyli)-2-oksoindoliini-3-ylideeni)-N-(4-metoksifenyyli)hydratsiinikarbotioamidi 5c osoittautui testatuista yhdisteistä voimakkaimmaksi sytostaattiseksi yhdisteeksi. Johdokset 4b, 5a, 5b ja 5d osoittivat antiviraalista aktiivisuutta HEL-soluviljelmiä vastaan (IC 50 11-20 lM). Kaikilla johdannaisilla havaittiin kohtalainen antimikrobinen aktiivisuus. Rohkaisevat tiedot sytostaattisesta ja antiviraalisesta aktiivisuudesta antavat riittävät perusteet näiden molekyylitelineiden muokkaamiselle edelleen.

**Tulos**

2-(5-substituoitujen 1-((dietyyliamino)metyyli)-2-oksoindoliini-3-ylideeni)- N-substituoitujen hydratsiinikarbotiamidien synteesi ja biologinen arviointi

**Esimerkki 1.6255**

Rintakehän tietokonetomografialla oli suuri herkkyys uuden koronaviruksen aiheuttaman keuhkokuumeen (NCP) diagnosoinnissa varhaisessa vaiheessa, mikä antaa sille etulyöntiaseman nukleiinihappomääritykseen verrattuna kriisiaikana. Syväoppimisen raportoitiin löytävän monimutkaisia rakenteita kliinisistä kuvista ja saavuttavan asiantuntijatason suorituskyvyn lääketieteellisessä kuva-analyysissä. Tavoitteena on kehittää ja validoida integroitu syväoppimiskehys rintakehän TT-kuviin NCP:n automaattista tunnistamista varten, keskittyen erityisesti NCP:n erottamiseen influenssapneumoniasta (IP). : 35 vahvistettua NCP-tapausta otettiin peräkkäin harjoitusjoukoksi 1138 epäillystä potilaasta kolmessa NCP:hen nimetyssä sairaalassa yhdessä 361 vahvistetun viruspneumoniapotilaan kanssa ensimmäisestä keskuksesta, mukaan luettuna 156 IP-potilasta, toukokuusta 2015 helmikuuhun 2020 asti. Ulkoiseen validointijoukkoon osallistui 57 NCP-potilasta ja 50 IP-potilasta kahdeksasta keskuksesta. Tulokset: 96,6 % NCP-leesioista oli yli 1 cm:n kokoisia ja 76,8 %:n intensiteetti oli alle -500 Hu, mikä osoittaa, että konsolidaatio oli vähäisempää kuin IP-leesioissa, joiden kyhmyt olivat 5-10 mm:n kokoisia. Luokittelujärjestelmät erottivat NCP- ja IP-leesiot tarkasti toisistaan, ja vastaanottimen käyttöominaiskäyrän alle jäävä pinta-ala (AUC) oli yli 0,93. Trinary-luokitusjärjestelmä oli laiteriippumattomampi ja johdonmukaisempi asiantuntijoiden kanssa kuin Plain-luokitusjärjestelmä, jonka F1-pistemäärä oli 0,847 eli korkeampi kuin Plain-luokitusjärjestelmän (0,774), asiantuntijoiden (0,785) ja asukkaiden (0,644). Tutkimuksemme tarjoaa mahdollisesti tarkan varhaisdiagnoosivälineen rintakehän tietokonetomografiassa NCP:n varhaista diagnosointia varten, joka on hyvin siirrettävissä, ja osoittaa suurta tehokkuutta NCP:n ja IP:n erottamisessa toisistaan, mikä auttaa vähentämään vääriä diagnooseja ja hillitsemään pandemian leviämistä.

**Tulos**

Parannettu syväoppimismalli uuden coronaviruskeuhkokuumeen ja influenssakeuhkokuumeen erottamiseksi Running title: NCP:n ja IP:n erottamiseen syväoppimismalli: Syväoppimismalli NCP:n ja IP:n erottamiseen

**Esimerkki 1.6256**

Coronaviridae-heimoon kuuluva SARS-CoV on tunnistettu SARS-taudin (Severe Acute Respiratory Syndrome, vakava akuutti hengitystieoireyhtymä) aiheuttajaksi, joka on erittäin tarttuva ylähengitystiesairaus, joka saavutti epidemiatason vuonna 2002. SARS-3CL pro , joka on viruksen elinkaaren kannalta välttämätön kysteiiniproteaasi, on tunnistettu yhdeksi tärkeimmistä terapeuttisista kohteista SARSia vastaan. Yhdistetty ligandiin ja rakenteeseen perustuva virtuaalinen seulonta suoritettiin Asinex Platinum -kokoelmaa käyttäen. Etsinnän avulla tunnistettiin useita entsyymin matalan mikromolaarisen tason estäjiä, joista yksi osoitti myös aktiivisuutta SARS-CoV:tä vastaan kokosolujen CPE-määrityksessä. Lisäksi suoritettiin useita nanosekunteja kestäviä eksplisiittisiä liuotinsimulaatioita käyttäen tunnistettujen osumien telakoitumisasentoja, jotta voitiin tutkia sitoutumiskohdan vuorovaikutusten yleistä vakautta ja tunnistaa vuorovaikutusprofiilin tärkeitä muutoksia, jotka eivät käyneet ilmi telakoitumistutkimuksesta. Arvioitujen yhdisteiden kumulatiivinen analyysi ja simulointitutkimukset johtivat tiettyjen proteiini-ligandi-vuorovaikutusmallien tunnistamiseen, jotka olisivat hyödyllisiä rakennepohjaisessa suunnittelussa.

**Tulos**

SARS-3CL pro:n estäjät: virtuaalinen seulonta, biologinen arviointi ja molekyylidynamiikan simulaatiotutkimukset

**Esimerkki 1.6257**

Tutkittiin imeväishamsterien tärkeimpien ekstraneutraalien elinten ja kudosten St. Louis-enkefaliittiviruksen aiheuttaman infektion ultrastrukturaalisia näkökohtia. Virus vaikutti haimassa sekä eksokriiniseen että endokriiniseen osaan yhtä paljon. Flaviviruksille ilmeisesti ominainen piirre oli viruspartikkelien kertyminen kaikenlaisiin erittäviin rakeisiin tässä elimessä. Virushiukkasia havaittiin sydänlihaksen kuiduissa ja sydämen pienten verisuonten sileissä lihassoluissa ja endoteelisoluissa. Suolistossa lamina propria oli pahiten infektoitunut, ja viruspartikkeleita oli kertynyt kaikkiin solutyyppeihin.

**Tulos**

Viskeraaliset kohde-elimet hamstereiden systeemisessä St. Louis-enkefaliittiviruksen aiheuttamassa infektiossa

**Esimerkki 1.6258**

Taustaa: CVL-rokotteen kehittäminen koirien viskeraalista leishmaniaasiaa (CVL) vastaan on vaihtoehtoinen lähestymistapa Leishmania infantum -bakteerin kotimaisen kiertokulun keskeyttämiseksi. Koska hiekkakärpäsen syljen proteiinit ovat tärkeitä voimakkaina immunogeeneinä, jotka ovat pakollisia Leishmania-loisten siirtymisen aikana, niiden sisällyttämistä Leishmania-rokotteeseen on tutkittu viime vuosikymmeninä. Tässä yhteydessä immunisoimme aiemmin koiria rokotteella, joka koostui L. braziliensis -antigeeneistä sekä saponiinista adjuvanttina ja hiekkakärpäsen sylkirauhasuutteesta (LBSapSal-rokote). Tämä rokote sai aikaan sekä sylki- että Leishmania IgG -isotyyppien lisääntymisen, korkeamman spesifisten kiertävien CD8 + T-solujen määrän ja suuren NO-tuotannon. Menetelmät: Tutkimme LBSapSal-rokotteen immunogeenisuutta ja suojavaikutusta sen jälkeen, kun L. infantum -promastigootit olivat saaneet ihon sisäisen haasteen 1 × 10 7 L. infantum -promastigootin myöhäislog-vaiheen promastigootilla Lutzomyia longipalpis -hiekkakärpäsen syljen läsnä ollessa. Koiria seurattiin 885 päivän ajan tartunnan jälkeen. Tulokset: LBSapSal-rokotteella on laaja antigeeninen monimuotoisuus ja pysyvät humoraaliset ja soluvälitteiset immuunivasteet, mikä osoittaa, että vastustuskyky CVL:ää vastaan perustuu korkeaan IgG:n kokonaispitoisuuteen ja sen alatyyppeihin (IgG1 ja IgG2), kiertävien CD5+-, CD4+- ja CD8+-T-lymfosyyttien laajenemiseen, ja se on Leishmania-spesifinen, sekä pernan loiskuormituksen vähenemiseen. Päätelmät: Nämä tulokset kannustavat tutkimaan edelleen rokotusstrategioita, jotka kohdistuvat Leishmania-antigeeneihin yhdessä vektorin syljessä esiintyvien proteiinien kanssa.

**Tulos**

LBSapSal-rokotetuilla koirilla esiintyy lisääntyneitä kiertäviä T-lymfosyyttien alaryhmiä (CD4 + ja CD8 + ) sekä loisviruksen vähenemistä sen jälkeen, kun ne on haastettu Leishmania infantum -bakteerilla ja Lutzomyia longipalpis -bakteerin sylkirauhasella.

**Esimerkki 1.6259**

Veyrier du Lacissa, Ranskassa, ja sen isäntinä toimivat kaksi GVN:n huippuosaamiskeskusta, Mérieux-säätiö ja Hannoverin eläinlääketieteellinen yliopisto (TiHo). Tämän 10. kansainvälisen GVN-kokouksen aiheena oli "Esiintyvien virusten (uudelleen) hävittäminen ja valvonta". Tässä raportissa tuodaan esiin GVN:n tutkijoiden viimeaikaisia saavutuksia useilla tärkeillä lääketieteellisen virologian aloilla, kuten isorokon, tuhkarokon, polion, SARS:n ja vektorivälitteisten tai zoonoottisten infektioiden hävittämisstrategiat, retrovirusten ja arbovirusten ilmaantuvuus ja interventiostrategiat, varautuminen filo- ja muiden hemofiilisten virusten taudinpurkauksiin, hengitystievirusten patogeneesi, vaikutukset ja ennaltaehkäisy sekä keskus- ja ääreishermostoa vahingoittavat virukset. Lisäksi esiteltiin uhkia kriisitilanteissa, kuten pakolaisleireillä.

**Tulos**

Globaalin virusverkoston kansainvälinen kokous 2018

**Esimerkki 1.6260**

Ihmiset saavat tartunnan monista viruksista, ja immuunijärjestelmä poistaa virukset ja tartunnan saaneet solut useimmiten. Tietyt virukset ovat kuitenkin päässeet ihmisen perimään. Ihmisen genomista "45 prosenttia koostuu transponoitavista elementeistä (pitkät hajallaan olevat ydinalueet [LINE:t], lyhyet hajallaan olevat ydinalueet [SINE:t] ja transposonit) ja 5-8 prosenttia on peräisin virussekvensseistä, jotka muistuttavat tarttuvia retroviruksia. Jos retroviruksen integroituminen tapahtuu iturataan, integroituneet virussekvenssit ovat periytyviä. Virussekvenssien kasautuminen on luonut nykyisen ihmisen genomin. Tässä artikkelissa esitetään yhteenveto viimeaikaisista tutkimuksista ihmisissä esiintyvistä retroviruksista, ja se yhdistää kliiniset alat ja evoluutiogenetiikan. Ensin raportoidaan ihmisen infektiivisten retrovirusten repertuaarit. Toiseksi tarkastelemme ihmisen genomissa olevia endogeenisia retroviruksia ja endogeenisiin retroviruksiin liittyviä sairauksia. Kolmanneksi keskustelemme endogeenisten retrovirusten biologisista tehtävistä ja ehdotamme käsitettä ihmisen kiihtyneestä evoluutiosta virusten välityksellä. Lopuksi esitellään virologian näkymiä evoluutiolääketieteen alalla.

**Tulos**

Retrovirusten evoluutiolääketiede ihmisen genomissa

**Esimerkki 1.6261**

Yksinkertaisissa tartuntamalleissa alttiiden osuus s \* on endemiallisessa tasapainossa suhteessa lisääntymisen peruslukuun R 0 seuraavasti: s \* = 1/R 0 . Tutkimme, missä määrin tämä suhde pysyy voimassa realistisemmissa mallinnusoletuksissa. Erityisesti lievennämme biologisesti epätodennäköisiä oletuksia, joiden mukaan yksilöiden elinaika ja tartunta-aika noudattavat eksponentiaalijakaumia, sallimme yleisen rekrytointiprosessin, sallimme useita tartuntavaiheita ja tarkastelemme laajentamista moniryhmäiseen malliin, jossa ryhmät voivat edustaa esimerkiksi alueellista heterogeenisuutta tai superlevittäjien olemassaoloa. Homogeenisen populaation osalta havaitsemme, että: (i) alttiiden osuus on s \* = 1/R e 0 , jossa R e 0 on muunnettu lisääntymisluku, joka on yhtä suuri kuin R 0 vain tietyissä olosuhteissa; ii) kussakin tartuntavaiheessa olevan populaation osuudet ovat verrannollisia odotettavissa olevaan aikaan, jonka tartunnan saanut yksilö viettää kyseisessä vaiheessa ennen toipumista tai kuolemaa. Osoitamme, että kaava s \* = 1/R 0 on vakaa monien ihmisten tartuntojen osalta, ja toteamme olosuhteet, joissa R e 0 on suunnilleen yhtä suuri kuin R 0, ja osoitamme muita olosuhteita, joissa tämä approksimaatio ei toimi. Heterogeenisille populaatioille kaava s \* = 1/R 0 ei yleensä päde, mutta pystymme osoittamaan symmetriaolosuhteet, joissa se pätee.

**Tulos**

Endeemisten esiintyvyyskaavojen yleisyys

**Esimerkki 1.6262**

Ihmisen rinovirusten (HRV) tiedetään aiheuttavan sekä tavallista flunssaa että monimutkaisempia hengitystieinfektioita. HRV-lajit -A, -B ja -C on yhdistetty alempien hengitysteiden infektioihin ja astman pahenemisvaiheisiin. Erilaisiin alempien hengitysteiden sairauksiin liittyvien kantojen tyyppijakaumaa ei kuitenkaan tunneta selvästi. Olemme analysoineet HRV:n esiintymistä ysköksenäytteissä, jotka on saatu armeijan alokkailta, joilla on ja joilla ei ole ennalta diagnosoitua astmaa akuutin hengitystieinfektion aikana (CIAS-tutkimus, 2004. Analyysi tehtiin HRV- ja HEV-reaaliaikaisilla RT-PCR-määrityksillä. Virukset 2009, 1 1179 Tämän jälkeen tutkittiin HRV-kantojen tyyppijakaumaa geneettisellä tyypityksellä VP4/VP2-genomialueella. Yhteensä 146 (38,8 %) näytettä oli HRV-positiivisia ja 36 (9,3 %) HEV-positiivisia. HRV:n havaitsemisessa ei havaittu eroa astmaattisten ja ei-astmaattisten potilaiden välillä. Suurin osa geneettisesti tyypitetyistä kannoista, 18 (62,1 %), kuului HRV-A:han, kun taas HRV-B-kannat muodostivat viisi (17,2 %) HRV-positiivista kantaa. HRV-C-kanta tyypitettiin neljä kertaa HRV-positiivisista tapauksista ja HEV-D-kanta kahdesti. Lisäksi tyypitimme kuusi HEV-positiivista kantaa osittaisen VP1-alueen osalta. Näistä kolme kuului HRV-A:han ja kolme HEV-D:hen. HRV-A-kantoja löydettiin koko tutkimusjakson ajan, kun taas HRV-C-kannat olivat peräisin talvi- ja kevätnäytteistä. Mielenkiintoista on, että neljä viidestä tyypitetystä HRV-B-kannasta oli peräisin kesäkauden näytteistä.

**Tulos**

Kaikki tunnetut ihmisen rinoviruslajit ovat läsnä sotilasrekrytoitujen ysköksenäytteissä hengitystieinfektion aikana.

**Esimerkki 1.6263**

Taustaa: Glycyrrhizin (GA) ja primaarimetaboliitti 18β-glycyrhetiinihappo (GRA) ovat lääkkeellisen lakritsijuuren farmakologisesti aktiivisia komponentteja, ja molemmilla on osoitettu olevan antiviraalisia ja immunomoduloivia ominaisuuksia. Vaikka nämä ominaisuudet on todettu hyvin, vaikutusmekanismeja ei täysin tunneta. Tässä tutkimuksessa testattiin GA:n ja GRA:n kykyä estää rotaviruksen replikaatiota soluviljelmissä, ja pitkän aikavälin tavoitteena on löytää luonnollisia yhdisteitä, jotka voivat täydentää nykyisiä rokotteita. Menetelmät: Epiteelisoluja käsiteltiin GA:lla tai GRA:lla eri aikoina ennen infektiota tai sen jälkeen, ja virustuotos mitattiin immunofluoresenssifokusmäärityksellä. Virusproteiinien VP2, VP6 ja NSP2 tasot GRA:lla käsitellyissä soluissa mitattiin immunoblotilla sen määrittämiseksi, oliko GRA-hoidolla vaikutusta virusproteiinin kertymiseen. Tulokset: GRA-käsittely vähensi rotaviruksen tuottoa 99 prosenttia, kun se lisättiin infektoituihin viljelmiin viruksen adsorption jälkeen, kun taas GA:lla käsitellyissä viljelmissä viruksen tuotto oli samanlainen kuin pilkkokäsitellyissä kontrolleissa. Lisäysajankohdan kokeet osoittivat, että GRA:n välittämä replikaation esto tapahtuu todennäköisesti vaiheessa tai vaiheissa, jotka seuraavat viruksen sisäänpääsyä. VP2:n, VP6:n ja NSP2:n määrät vähenivät huomattavasti, kun GRA:ta lisättiin viljelmiin jopa kaksi tuntia viruksen sisäänpääsyn jälkeen. Päätelmät: GRA:lla, mutta ei GA:lla, on merkittävää antiviraalista aktiivisuutta rotaviruksen replikaatiota vastaan in vitro, ja parhaillaan tehdään tutkimuksia sen määrittämiseksi, heikentääkö GRA rotaviruksen replikaatiota in vivo.

**Tulos**

8β-glycyrrhetiinihappo estää rotaviruksen replikaatiota viljelyssä.

**Esimerkki 1.6264**

Enterotoksigeenisen Escherichia coli -bakteerin (ETEC) aiheuttama suolistoinfektio on merkittävä sikojen sairaus, joka aiheuttaa merkittäviä taloudellisia tappioita. Epidemiologian, diagnostiikan ja valvontamenetelmien tuntemus on olennaisen tärkeää taudin torjumiseksi. Vastasyntyneiden kolibakteerien kolibakteeritaudin aiheuttajat kantavat useimmiten F4 (k88), F5 (k99), F6 (987P) tai F41 -fimbrioita, kun taas vieroituksen jälkeisen ripulin aiheuttajat kantavat F4 (k88) ja F18 -fimbrioita. Nämä fimbriat kiinnittyvät sikojen suoliston harjasreunan epiteelisolujen (enterosyyttien) erityisiin reseptoreihin, mikä käynnistää suolistoinfektioprosessin. Tämän kolonisaation jälkeen bakteerit tuottavat yhtä tai useampaa ripulia aiheuttavaa enterotoksiinia, kuten lämpöstabiilia toksiinia a (STa), lämpöstabiilia toksiinia b (STb) ja lämpöherkkää toksiinia (LT). Näiden toksiinien merkitys taudin patogeneesissä on osoitettu. Suolistoperäisen kolibakilloosin diagnoosi perustuu patogeenisen E.coli-bakteerin eristämiseen ja määrälliseen määrittämiseen sekä virulenssitekijöitä (fimbrioita ja toksiineja) koodaavien geenien osoittamiseen PCR:llä. Suolistoperäisen kolibakilloosin diagnostiikassa on otettava huomioon erotusdiagnostiikka ja mahdolliset eri syyt, jotka voivat liittyä taudinpurkaukseen. Kolibakilloosin torjuntamenetelmistä mikrobilääkkeiden käyttö on laajalti käytössä, ja antibiootteja käytetään pääasiassa kahdella tavalla: ennaltaehkäisevänä tai metafylaktisena hoitona taudin ehkäisemiseksi ja terapeuttisessa tarkoituksessa sairaiden sikojen hoitamiseksi. Suolistoperäisen kolibatsilloosin tarkka diagnoosi edellyttää asianmukaista näytteenottoa, jotta taudinpurkauksen aiheuttanut ETEC voidaan eristää ja määrittää määrällisesti käyttämällä puolikvantitatiivista bakteriologiaa. Lopullinen diagnoosi perustuu tyypillisten vaurioiden esiintymiseen ja bakteriologian tuloksiin sekä asianmukaisten virulenssitekijöiden vahvistamiseen eristetyn E.colibakteerin tunnistamiseksi. On tärkeää vahvistaa diagnoosi ja tehdä mikrobilääkeherkkyystestejä, koska mikrobilääkeherkkyys vaihtelee suuresti E. coli -isolaattien välillä. Kasvava huoli mikrobilääkeresistenssin lisääntymisestä pakottaa antibioottien rationaalisempaan käyttöön, ja tämä voidaan saavuttaa ymmärtämällä oikein antibioottihoitoon ja antibioottien käyttöön liittyvät kysymykset sekä lääkäreiden että viljelijöiden keskuudessa.

**Tulos**

Sian suolistoperäinen kolibakilloosi: diagnoosi, hoito ja mikrobilääkeresistenssi.

**Esimerkki 1.6265**

Taustaa: Neuroinflammaatiolla on ratkaiseva rooli Parkinsonin taudin kaltaisten hermoston rappeutumishäiriöiden puhkeamisessa ja kehittymisessä. Perifeerinen immuunitoiminta vaikuttaa syvällisesti keskushermoston immuunitoimintaan. Immuunitoleranssilla tarkoitetaan immuunijärjestelmän reagoimattomuutta jatkuvaan tai toistuvaan stimulaatioon, jotta vältetään liiallinen tulehdus ja tarpeettomat sivuvammat jatkuvan antigeeniuhan edessä. On osoitettu, että immuunitoleranssi voisi tukahduttaa erilaisten perifeeriseen tulehdukseen liittyvien sairauksien kehittymistä. Immuunitoleranssin rooli neuroinflammaatiossa ja neurodegeneratiivisissa sairauksissa ei kuitenkaan ollut selvä. Menetelmät: Rotille annettiin toistuvasti matala-annoksista lipopolysakkaridia (LPS, 0,3 mg/kg) vatsansisäisesti 4 päivän ajan perifeerisen immuunitoleranssin aikaansaamiseksi. Neuroinflammaatio tuotettiin kallonsisäisellä LPS-injektiolla (15 μg). Tulehdussytokiinit mitattiin entsyymi-immunosorbenttimäärityksellä (ELISA) ja kvantitatiivisella reaaliaikaisella polymeraasiketjureaktiolla (qRT-PCR). Mikroglia-aktivaatio mitattiin Iba-1:n ja ED-1:n immunovärjäyksellä. Dopaminergisten hermosolujen vaurioita arvioitiin immunokemiallisella värjäyksellä ja TH-positiivisten hermosolujen stereologisella laskennalla. Käyttäytymisen heikkenemistä arvioitiin käyttämällä amfetamiinin aiheuttamaa kiertokäyttäytymisen arviointia. Tulokset: Verrattuna eläimiin, jotka eivät olleet immuuni-toleroituja, perifeerisen immuunitoleranssin esikäsittely vähensi merkittävästi tulehduksellisten sytokiinien tuotantoa, tukahdutti mikroglia-aktivaatiota ja lisäsi dopaminergisten neuronien eloonjäämisen määrää substantia nigrassa. Päätelmät: Tuloksemme osoittivat, että perifeerinen immuunitoleranssi vaimensi neuroinflammaatiota ja esti neuroinflammaation aiheuttaman dopaminergisen neuronikuoleman.

**Tulos**

Perifeerinen immuunitoleranssi lievittää kallonsisäisen lipopolysakkaridi-injektion aiheuttamaa neuroinflammatiota ja suojaa dopaminergisiä neuroneja neuroinflammatioon liittyvältä neurotoksisuudelta.

**Esimerkki 1.6266**

Taustaa: Toistuvat hengitystieinfektiot ovat yksi tärkeimmistä lapsuusiän sairastavuuden syistä. Kun immuunitoiminnot ovat vielä suurelta osin kehittymättömiä, hengitysteiden epiteelillä on ensisijainen puolustustehtävä, sillä fyysisen esteen lisäksi se osallistuu myös synnynnäisiin ja adaptiivisiin immuunivasteisiin. Tämän vuoksi suunniteltiin tutkimus, jossa arvioitiin in vitro, voisiko pidotimodi, synteettinen dipeptidi, joka kykenee stimuloimaan tulehdus- ja immuunivaikuttajasoluja, aktivoida keuhkoputkien epiteelisolujen toimintoja, jotka osallistuvat infektiovasteeseen. Menetelmät: BEAS-2B-solulinjaa (ihmisen keuhkoputkien epiteelisoluja, jotka on infektoitu replikaatioviruksen 12-SV40-virushybridillä) kasvatettiin pidotimodin läsnä ollessa, kasvainnaekroositekijän (TNF)-α:n tai zymosaanin kanssa tai ilman, jotta voitiin arvioida: a) solujen välisen adheesiomolekyylin (ICAM)-1 ilmentymistä virtaussytometrialla; b) tollin kaltaisen reseptorin (TLR)-2 ilmentymistä ja tuotantoa immunofluoresenssivirtaussytometrialla ja western blottingilla; d) interleukiini (IL)-8:n vapautuminen entsyymi-immunosorbenttimäärityksellä (ELISA); e) aktivoituneen solunulkoisen signaalin säätelemän kinaasin (ERK1/2) fosforylaatio ja ydintekijä-kappa B:n (NF-kB) aktivaatio Western blotting -menetelmällä. ICAM-1:n konstitutiivinen ilmentyminen ja IL-8:n vapautuminen lisääntyivät merkittävästi TNF-α:lla (ICAM-1) ja TNF-α:lla ja zymosaanilla (IL-8), mutta ei pidotimodilla. Sitä vastoin TLR-2:n ilmentymisen havaittiin lisääntyneen sen jälkeen, kun oli altistuttu pidotimodille 10 ja 100 μg/ml (p < 0,05) ja yhdistelmälle pidotimodi 100 μg/ml + TNF-α (p < 0,05). Western blot -analyysi vahvisti, että konstitutiivinen TLR-2:n ilmentyminen lisääntyi merkittävästi kaikille ärsykkeille altistumisen jälkeen. Lopuksi, vaikka TNF-α -indusoidun ERK1/2-fosforylaation huomattava estyminen havaittiin pidotimodin läsnäollessa, sekä TNF-α että pidotimodi indusoivat tehokkaasti NF-kB-proteiinin ilmentymistä sytoplasmassa ja sen ydintranslokaatiota. Päätelmät: ERK1/2:een ja NF-kB:hen kohdistuvien erilaisten vaikutusten kautta pidotimodi pystyi lisäämään TLR-2-proteiinien, pintamolekyylien, jotka osallistuvat synnynnäisen vasteen käynnistämiseen tarttuviin ärsykkeisiin, ilmentymistä. Vaikutuksen puuttuminen ICAM-1:n, rinoviruksen reseptorin, ilmentymiseen ja IL-8:n vapautumiseen, joka on voimakas kemotaktinen tekijä neutrofiileille (jotka ovat jo läsnä infektiokohdissa), saattaa edustaa suojaavia toimintoja. Jos nämä toiminnot vahvistetaan in vivo, ne voivat ainakin osittain selventää tämän molekyylin vaikutusmekanismia hengitysteiden tasolla.

**Tulos**

Hengitysteiden epiteelisolujen toimintojen modulointi Pidotimodilla: NF-kB:n sytoplasmaattinen ilmentyminen ja sen ydintranslokaatio liittyvät lisääntyneeseen TLR-2:n ilmentymiseen.

**Esimerkki 1.6267**

Katsauksen tarkoitus - Eri taksonien patogeenit, prioneista alkueläimiin, kohdistuvat solujen kolesterolimetaboliaan edistääkseen omaa kehitystään ja heikentääkseen isännän immuunivastetta, mutta aiheuttaen myös metabolisia komplikaatioita, kuten ateroskleroosia. Tässä katsauksessa kuvataan viimeaikaisia havaintoja siitä, miten patogeenit tekevät sen. Viimeaikaiset havainnot - Yhteinen teema taudinaiheuttajien ja isännän kolesteroliaineenvaihdunnan välisessä vuorovaikutuksessa on se, että taudinaiheuttajat pyrkivät isännän plasmakalvon lipidisäiliöihin. Monet solunsisäiset taudinaiheuttajat käyttävät lauttoja sisäänpääsyporttina hyödyntäen endosyyttistä koneistoa ja reseptoreina käytettävien ulospäin suuntautuvien molekyylien suurta määrää. Samaan aikaan raftien toimintakyvyn häiritseminen, jonka patogeenit saavat aikaan monin eri keinoin, heikentää isännän kykyä tuottaa immuunivaste, mikä auttaa patogeenia menestymään. Taudinaiheuttajat eivät pysty syntetisoimaan kolesterolia, ja isännän kolesterolin pelastaminen auttaa taudinaiheuttajia rakentamaan kehittyneitä kolesterolia sisältäviä kalvoja ja kokoonpanoalustoja. Vaikutus kolesteroliaineenvaihduntaan ei rajoitu vain infektoituneisiin soluihin; infektoituneiden solujen erittämät proteiinit ja miRNA:t vaikuttavat rasva-aineenvaihduntaan systeemisesti. Yhteenveto - Koska isännän kolesteroliaineenvaihdunnalla on olennainen rooli patogeenien kehityksessä, tämän vuorovaikutuksen kohdentaminen voi olla käyttökelpoinen strategia infektioiden ja infektioiden metabolisten komplikaatioiden torjumiseksi.

**Tulos**

Taudinaiheuttajien vuorovaikutus isännän kolesteroliaineenvaihdunnan kanssa

**Esimerkki 1.6268**

Vuoden 2019 uuden koronaviruksen (SARS-CoV-2) taudinpurkaus levisi nopeasti Wuhanista, Kiinasta yli 150 maahan, alueelle tai territorioon aiheuttaen huikean määrän tartuntoja ja kuolemantapauksia. SARS-CoV-2:n immunologisen haavoittuvuuden maiseman järjestelmällinen profilointi, joka voi tuoda kriittistä tietoa immuunipuhdistusmekanismista, peptidirokotteen kehittämisestä ja viruksen vastaisten vasta-aineiden kehittämisestä, puuttuu. Tässä tutkimuksessa tutkittiin SARS-CoV-2:n virusproteiinien mahdollisuuksia indusoida luokan I ja II MHC-esiintymistä ja muodostaa lineaarisia vasta-aineepitooppeja. Loimme verkkotietokannan, jonka avulla voimme jakaa ennusteet laajasti tutkimusyhteisön resurssina. Tämän resurssin avulla osoitimme, että SARS-CoV-2:n geneettiset muunnokset, vaikka niitä on toistaiseksi vielä vähän, noudattavat jo nyt sukulaiskoronavirusten mutaatioiden mallia ja voivat muuttaa tämän viruksen immuunijärjestelmän haavoittuvuutta. Tärkeää on, että löysimme todisteita siitä, että SARS-CoV-2 ja siihen liittyvät koronavirukset käyttävät mutaatioita välttääkseen ihmisen immuunijärjestelmän hyökkäyksen. Kaiken kaikkiaan esitämme SARS-CoV-2:n immunologisen resurssin, joka voisi edistää sekä terapeuttista kehitystä että mekanistista tutkimusta. : bioRxiv preprint Chinese and European populations. (c) SARS-CoV-2:n B-solujen epitooppiprofiilit. Y-akselilla on ennustettu B-soluepitooppipistemäärä. Näytetään vain jäännökset, joiden ennustettu epitooppipistemäärä on >0,6. (d) SARS-CoV-2 S-proteiinin ja SARS-CoV S-proteiinin motiivia sitovan domeenin BLAST-analyysi. (e) SARS-CoV:n T- ja B-solujen epitooppiprofiilit. (f) MERS-CoV:n T- ja B-solujen epitooppiprofiilit. Kuva 2 SARS-CoV-2:n geneettiset siirtymät, joihin vaikuttaa isännän immuunipaine. (a-c) Kolmen koronaviruksen: (a) SARS-CoV-2, (b) SARS-CoV ja (c) MERS-CoV suhteelliset mutaatiovauhtiprofiilit. Suhteelliset mutaatioluvut on laskettu kunkin viruksen kaikkien kantojen (n=114 SARS-CoV-2:n osalta, 19 SARS-CoV:n osalta ja 519 MERS-CoV:n osalta) nukleotidien (nts) prosenttiosuutena kussakin 60 nt:n binissä, jotka eroavat referenssigenomista. Puoliksi läpinäkyvät laatikot merkitsevät alueita, joilla mutaatioluvut ovat korkeat, koska sekvensointi on epätäydellistä. Nämä alueet on suojattu immunogeenisuuden lisääntymistä ja vähenemistä koskevilta laskelmilta. (d-f) Kunkin SARS-CoV-2-isolaatin mutaatioiden aiheuttama "menetetty" immunogeenisuus ja "saavutettu" immunogeenisuus verrattuna vertailugenomiin. (d) CD8 + T-epitoopit, (e) CD4 + T-epitoopit ja (f) B-soluepitoopit. Punainen viiva osoittaa B-soluepitooppeja koodaavien ennustettujen aminohappojen kokonaismäärän referenssisekvenssissä. (g-i) Samat immunogeenisuuden muutosanalyysit kuin kohdissa (d-f), mutta SARS-CoV:n osalta. (j-l) Sama analyysi MERS-CoV:lle. Sup. Kuva 1 Eurooppalaisen väestön T-solujen epitooppiprofiilit. (a) SARS-CoV-2, (b) SARS-CoV ja (c) MERS-CoV. Sup. Kuva 2 SARS-CoV-2:n, SARS-CoV:n ja MERS-CoV:n T-solujen epitooppiprofiilien vaihtelu eri väestöissä. Lämpökartta esittää immunogeenisten sitovien epitooppien lukumäärää a) SARS-CoV-2:n, b) SARS-CoV:n ja c) MERS-CoV:n binnoitetuissa genomeissa (500bp) esimerkkeinä esitetyille tärkeimmille HLA-A-alleeleille (alleelien frekvenssi suurempi kuin 1 %) Euroopan amerikkalaisessa (EA) ja Hongkongin kiinalaisessa (HK) väestössä. Nämä tärkeimmät alleelit on väritetty mustalla, sinisellä tai punaisella, jos ne ovat yhteisiä sekä EA- että HK-populaatiolle, ainutlaatuisia EA-populaatiolle tai ainutlaatuisia HK-populaatiolle. Oikealla puolella vahvuuskaista edustaa immunogeenisten peptidien kumulatiivista määrää, ja EA- ja HK-kaistat edustavat EA- ja HK-populaatioiden HLA-alleelien esiintymistiheyttä. Kuva 3 Osa kaikkien SARS-CoV-2-kantojen moninkertaisen kohdistamisen tuloksista. Kuva 4 B-solujen epitooppeja koodaavat aminohapot >10 epitooppia koodaavien aminohappojen vierekkäisissä jaksoissa. (a) SARS-CoV-2, (b) SARS-CoV ja (c) MERS-CoV. Punaiset viivat kuvaavat vertailusekvenssien epitooppia koodaavien aminohappojen kokonaismäärää. Sup. Sup. Kuva 5 SARS-CoV-2:n immunogeenisuuden kehitys ajan myötä. (a) T-solujen immunogeenisuus (luokka I). (b) T-solujen immunogeenisuus (luokka II). (c) Muutokset B-solujen immunogeenisuudessa (kaikki epitooppia koodaavat jäännökset). (d) Muutokset B-solujen immunogeenisuudessa (epitooppia koodaavat jäännökset >10 epitooppia koodaavien jäännösten jaksoissa). Kannat ryhmiteltiin niiden keräysajankohdan mukaan, joka oli

**Tulos**

Vuoden 2019 uuden koronaviruksen, SARS- CoV-2:n, immunologinen haavoittuvuusympäristö.

**Esimerkki 1.6269**

Graafinen tiivistelmä Keskeistä d Yhdistetyt mittaukset isännän ja viruksen välisestä scRNA-seq:sta in vivo -influenssatartunnan aikana d Tartunnan suuri esiintyvyys useissa erilaisissa immuunijärjestelmän solutyypeissä ja muissa solutyypeissä d Tartunnan saaneiden ja sivullissolujen solujen sisällä on laaja solujen heterogeenisuus d Tartunnan saaneiden ja sivullissolujen väliset geneeriset ja solutyyppispesifiset erot TIIVISTELMÄ Influenssavirus on merkittävä sairastuvuus- ja kuolleisuussyynä maailmanlaajuisesti. Silti sekä viruksen solunsisäisen lisääntymisen vaikutus että isännän vasteen vaihtelu eri solutyypeissä ovat vielä tuntemattomia. Tässä tutkimuksessa käytimme yhden solun RNA-sekvensointia tutkiaksemme keuhkokudossolujen vasteen heterogeenisuutta in vivo -influenssatartuntaan. Viruksen ja isännän transkriptomien analyysi samassa yksittäisessä solussa mahdollisti sen, että pystyimme selvittämään sivullisen (altistuneen mutta tartunnan saaneen) solun heterogeenisuuden verrattuna tartunnan saaneisiin soluihin. Osoitamme, että kaikissa tärkeimmissä immuunijärjestelmän solutyypeissä ja muissa solutyypeissä esiintyy huomattavia määriä infektoituneita soluja, vaikkakin alhaisilla virustranskriptomikuormilla suhteessa epiteelisoluihin. Osoitamme, että kaikki solutyypit reagoivat ensisijaisesti voimakkaalla geneerisellä transkriptiovasteella, ja osoitamme uusia merkkiaineita, jotka ovat spesifisiä influenssatartunnan saaneille soluille verrattuna sivullisiin soluihin. Nämä havainnot avaavat uusia mahdollisuuksia kohdennetulle hoidolle, joka kohdistuu yksinomaan infektoituneisiin soluihin.

**Tulos**

Influenssainfektion analysointi in vivo yhden solun RNA-sekvensoinnilla

**Esimerkki 1.6270**

Aloittaaksemme ymmärtämään, miksi IFN:ää tuotetaan infektoituneissa makrofageissa, infektoimme luuytimestä peräisin olevia makrofageja (BMM) ja kontrollina luuytimestä peräisin olevia DC:tä (BMDC) hiiren hepatiittiviruksen (MHV) koronaviruksella. Odotetusti BMM mutta ei BMDC ilmaisi tyypin I IFN:ää. IFN-tuotanto infektoituneessa BMM:ssä oli lähes täysin riippuvainen alfa/beta-interferoni (IFN-␣/␤)-reseptorin (IFNAR) kautta tapahtuvasta signaloinnista. Useat IFN-riippuvaiset sytokiinit ja kemokiinit osoittivat samaa ilmentymismallia, ja niiden tuotanto oli lisääntynyt BMM:ssä verrattuna BMDC:hen ja riippuvainen IFNAR:n kautta tapahtuvasta signaloinnista. Eksogeeninen IFN lisäsi IFN-riippuvaista geeniekspressiota BMM:ssä varhaisessa vaiheessa infektion jälkeen ja BMDC:ssä kaikkina infektion jälkeisinä aikoina, mutta se ei stimuloinut sellaisten molekyylien, jotka signaloivat myelooisen erilaistumistekijä 88:n (MyD88) välityksellä, kuten tuumorinekroositekijän (TNF), ilmentymistä. Tuloksemme osoittavat, että IFN:ää tuotetaan varhaisessa vaiheessa infektion jälkeen (p.i.) MHV-infektoituneessa BMM:ssä, mutta ei BMDC:ssä, ja että se käynnistää IFN:n ja IFN:ään reagoivien geenien ilmentymisen. Tuloksemme osoittavat myös, että BMM on yleisesti ottaen herkempi MHV-infektiolle, koska MyD88-riippuvaiset reitit aktivoituvat myös näissä soluissa suuremmassa määrin kuin BMDC:ssä. Tämä solujen aktivoitumisreitti voi olla hyödyllinen kohde makrofagien toiminnan muokkaamiseksi, jotta voidaan valikoivasti tehostaa virustorjunnan immuunivastetta ja vähentää näiden solujen patogeenista roolia SARS- ja muissa koronavirusinfektioissa. . 2010. Autokriininen interferonipriming makrofageissa mutta ei dendriittisissä soluissa johtaa tehostuneeseen sytokiinien ja kemokiinien tuotantoon koronavirusinfektion jälkeen. mBio 1(4):

**Tulos**

Autokriinisen interferonin käynnistyminen makrofageissa mutta ei dendriittisoluissa johtaa sytokiinien ja kemokiinien tuotannon lisääntymiseen koronavirusinfektion jälkeen.

**Esimerkki 1.6271**

Influenssaan liittyy usein bakteeripatogeeneja, jotka kolonisoivat nenänielun ja tunkeutuvat välikorvan ja/tai keuhkojen epiteeliin. Influenssan ja bakteerien yhteisinfektioiden esiintyvyys ja patogeenisuus ovat monitekijäisiä prosesseja, joihin liittyy erilaisia patogeenisia virulenssitekijöitä ja isännän vasteita, joilla on selviä paikka- ja kantakohtaisia eroja. Eläinmallit ja kineettiset mallit ovat parantaneet käsitystämme siitä, miten influenssavirukset ovat vuorovaikutuksessa bakteerien kanssa ja niihin liittyvistä immuunivasteista. Näistä malleista saadut tiedot osoittavat, että huomattavat muutokset epiteelipinnoissa ja poikkeavat immuunivasteet johtavat vakavaan tulehdukseen, joka on keskeinen tekijä bakteerien tarttumisessa ja infektion vakavuudessa influenssan jälkeen. Kokeelliset ja analyyttiset lisätutkimukset ovat kuitenkin välttämättömiä, jotta voidaan määrittää eri virus- ja bakteerikantojen ja -lajien koko mekanistinen kirjo ja löytää uusia keinoja influenssaan liittyvien bakteerien aiheuttamien samanaikaisten infektioiden ehkäisemiseksi ja hoitamiseksi. Seuraavassa tarkastelemme viimeaikaisia edistysaskeleita influenssaan liittyvien bakteeri-infektioiden tarttuvuuden ja tautipotentiaalin osalta ja keskustelemme nykyisistä tietopuutteista.

**Tulos**

Bakteeri-infektiot influenssavirusinfektion patogeneesissä

**Esimerkki 1.6272**

Suuren läpimenotehon molekyyliteknologian ja siihen liittyvän bioinformatiikan kehitys on muuttanut dramaattisesti tutkijoiden mahdollisuuksia tuottaa, käsitellä ja analysoida suuria määriä genomi-, transkriptomi- ja proteomitietoja. Selkeä esimerkki tästä muutoksesta on se DNA-sekvenssidatan määrä, joka voidaan nyt tuottaa seuraavan sukupolven sekvensointialustoilla (NGS). Vastaavasti proteiinien ja peptidien erotustehokkuuden viimeaikaiset parannukset ja erittäin tarkka massaspektrometria ovat edistäneet proteiinien tunnistamista ja kvantifiointia tietyssä näytteessä. Näitä biotekniikan edistysaskeleita on sovellettu yhä useammin eläinten tartuntatautien tutkimiseen, ja ne alkavat mullistaa tapaa, jolla biologisia ja evoluutioprosesseja voidaan tutkia molekyylitasolla. Tutkimukset ovat osoittaneet NGS-tekniikoiden arvon molekyylien karakterisoinnissa, joka ulottuu tuntemattomien patogeenien tai mikrobiyhteisöjen metagenomisesta karakterisoinnista molekulaariseen epidemiologiaan ja virusten kvasilajien evoluutioon. Lisäksi korkean läpimenon tekniikat mahdollistavat nyt yksityiskohtaiset tutkimukset isännän ja patogeenin vuorovaikutuksesta niiden genomien (genomiikka), transkriptomien (transkriptomiikka) tai proteomien (proteomiikka) tasolla. Viime kädessä patogeenin ja isännän biologisten verkostojen välistä vuorovaikutusta voidaan tarkastella integroimalla nämä tasot analyyttisesti (integratiivinen OMICS ja systeemibiologia). Suuren läpimenon biotekniikka-alustojen soveltaminen näillä aloilla ja niiden tyypillisesti alhaiset kustannukset tietosisältöä kohti ovat mullistaneet resoluution, jolla näitä prosesseja voidaan nyt tutkia. Tämän luvun tavoitteena on tarjota nyky- ja tulevaisuudennäkymä mahdollisuuksista ja haasteista, jotka liittyvät massiivisten rinnakkaisten sekvensointitekniikoiden soveltamiseen eläinlääketieteessä, ja keskittyä erityisesti sovelluksiin, joilla voi olla vaikutusta tautien valvontaan ja hallintaan.

**Tulos**

Luku 30 Seuraavan sukupolven sekvensointi eläinlääketieteessä: Miten korkean läpimenon tekniikoista saatava valtava tietomäärä voi parantaa tartuntatautien diagnosointia, valvontaa ja hoitoa?

**Esimerkki 1.6273**

Erittäin patogeenisten ihmisen koronavirusten (hCoV) ilmaantuminen kahden viime vuosikymmenen aikana on osoittanut, että ne voivat aiheuttaa suurta sairastuvuutta ja kuolleisuutta ihmisväestössä ja aiheuttaa häiriöitä maailmantaloudelle. Maailmanlaajuinen huoli pandemiasta johtuu niiden korkeasta kuolleisuusluvusta, kyvystä levitä ihmisestä ihmiseen hengitysteitse ja hyväksyttyjen terapeuttisten vastatoimien täydellisestä puuttumisesta. Tautien rajoittaminen saattaa edellyttää virukseen ja isäntään kohdistuvien hoitostrategioiden kehittämistä, koska hCoV-infektiot ovat akuutteja. Sen vuoksi sen ymmärtäminen, miten hCoV:n ja isännän vuorovaikutus aiheuttaa patogeenisiä seurauksia, edellyttää nisäkäsmalleja, jotka jäljittelevät tarkasti hCoV:n patogeneesiä ihmisessä. Pragmaattisuus on suurelta osin ollut liikkeellepaneva voima, joka on tukenut hiiriä erittäin tehokkaina nisäkäsmalleina patogeneesiä säätelevien hCoV:n ja isännän vuorovaikutusten selvittämisessä. Erityisesti hiirten helposti käsiteltävissä oleva genetiikka yhdistettynä hCoV:n käänteisgeneettisiin järjestelmiin on mahdollistanut viruksen ja isännän genetiikan samanaikaisen manipuloinnin, jotta voidaan arvioida viruksen ja isännän vuorovaikutusverkostoja tautien yhteydessä. Tunnettujen hCoV-virusten etiologian arvioinnin lisäksi hiirimallit ovat kliinisesti ennustavia välineitä, joiden avulla voidaan arvioida mahdollisia taudin fenotyyppejä, jotka liittyvät ennalta ilmeneviin CoV-viruksiin. Tieto CoV:n patogeenisesta potentiaalista ennen kuin se ylittää lajirajan ja pääsee ihmispopulaatioon, tarjoaa erittäin toivottavan prekliinisen alustan, jonka avulla voidaan käsitellä maailmanlaajuista patogeenivalmiutta, joka on Maailman terveysjärjestön yleistavoitteena. Vaikka myönnämme, että vankoissa hiirimalleissa saadut tulokset on arvioitava kädellisillä, keskitymme tässä katsauksessa hCoV-hiirimallien nykytilaan, niiden käyttöön helposti käsiteltävinä monimutkaisena geneettisenä organismina hCoV:n ja isännän monimutkaisten vuorovaikutussuhteiden selvittämisessä ja patogeneesimalleina uusien terapeuttisten toimenpiteiden prekliinisessä arvioinnissa.

**Tulos**

Ihmisen emergenttien ja pre-emergenttien koronavirusten patogeneesin mallintaminen hiirissä.

**Esimerkki 1.6274**

Tässä tutkimuksessa tutkittiin (-)pineenien anti-IBV (tarttuva keuhkoputkentulehdusvirus) -tehoa MTT-määrityksellä sekä telakointi- ja molekyylidynaamisilla (MD) simulaatioilla. (-)-α-pineenin ja (-)-β-pineenin CC 50 -arvot olivat yli 10 mM. (-)-α-pineenin ja (-)-β-pineenin suurimmiksi ei-sytotoksisiksi pitoisuuksiksi (TD 0 ) määritettiin 7,88 ± 0,06 ja 6,09 ± 0,31 mM. Näiden kahden yhdisteen todettiin estävän IBV:tä IC 50 -arvoilla 0,98 ± 0,25 ja 1,32 ± 0,11 mM. MTT-testi osoitti, että (-)-pineenien esto IBV:tä vastaan näyttää tapahtuvan kohtalaisesti ennen soluun tunkeutumista, mutta se on paljon voimakkaampaa sen jälkeen, kun virus on tunkeutunut soluun. Molekyylisimulaatiot osoittivat, että (-)-α-pineeni ja (-)-β-pineeni ovat spesifisesti vuorovaikutuksessa aktiivisen kohdan kanssa, joka sijaitsee fosforyloituneen nukleokapsidiproteiinin (N) N-päätepisteessä, ja että ensin mainittu on tehokkaampi kuin jälkimmäinen. Niiden sitoutumisenergiat ovat -36,83 ja -35,59 kcal mol -1 . Tässä esitetyt tulokset voivat viitata siihen, että (-)-α-pineenillä ja (-)-β-pineenillä on anti-IBV-ominaisuuksia, ja siksi ne ovat potentiaalinen anti-IBV-ainesosien lähde lääketeollisuudelle.

**Tulos**

molekyylit (-)-pineenin vertaileva tarttuvan keuhkoputkentulehduksen viruksen (IBV) vastainen aktiivisuus: Nukleokapsidi (N)-proteiiniin kohdistuva vaikutus

**Esimerkki 1.6275**

Kawasakin tauti (KD) on akuutti itsestään rajoittuva tulehduksellinen sairaus, johon liittyy vaskuliitti ja joka vaikuttaa pääasiassa keskikokoisiin valtimoihin, erityisesti sepelvaltimoihin. Kehittyneissä maissa KD on yleisin lapsuusiän hankitun sydänsairauden syy. KD:n etiologia on edelleen tuntematon, ja tällä hetkellä uskotaan, että yksi tai useampi toistaiseksi tuntematon tartunnanaiheuttaja saa aikaan voimakkaan tulehdusreaktion geneettisesti alttiissa yksilöissä. Geneettisissä tutkimuksissa on tunnistettu useita alttiusgeenejä KD:lle ja sen seurauksille eri etnisissä väestöissä, kuten FCGR2A, CD40, ITPKC, FAM167A-BLK ja CASP3, sekä geenejä, jotka vaikuttavat vasteeseen laskimonsisäiselle immunoglobuliinille (IVIG) ja aneurysman muodostumiseen, kuten FCGR3B, ja transformoivan kasvutekijän (TGF) β-reitin geenit. IVIG ja aspiriini ovat terapeuttisesti tehokkaita, mutta viimeaikaiset kliiniset tutkimukset ja meta-analyysit ovat osoittaneet, että kortikosteroidien lisääminen IVIG:hen on hyödyllistä sepelvaltimoiden aneurysmien (CAA) ehkäisyssä vaikeissa tapauksissa, joissa IVIG-resistenssin riski on suurin. Japanin ulkopuolella IVIG-resistenssin ennustamiseen käytettävät kliiniset pistemäärät eivät kuitenkaan ole parhaita mahdollisia. Näyttöön perustuvasta aineistosta ei myöskään löydy selkeitä ohjeita siitä, mikä kortikosteroidihoito on tehokkain. Muilla hoidoilla, kuten TNFα-vasta-aineilla, voisi olla merkitystä IVIG-resistentin KD:n hoidossa. Näistä varoituksista huolimatta on selvää, että akuutin KD:n tulehdusta vähentävä hoito parantaa hoitotulosta. Tässä asiakirjassa esitetään yhteenveto viimeaikaisista edistysaskelista KD:n patogeneesin ja terapian ymmärtämisessä ja esitetään lähestymistapa KD-potilaiden hoitoon Yhdistyneessä kuningaskunnassa näiden edistysaskelten valossa.

**Tulos**

Kawasakin taudin hoito

**Esimerkki 1.6276**

Tulehdusreaktiot zoonoottisen patogeenin, kuten lintuinfluenssavirusten, hantavirusten ja joidenkin koronavirusten, aiheuttamaan infektioon ovat selvästi erilaisia niiden luonnollisessa säiliössä ja ihmisisännässä. Vaikka tulehdusta edistävää reaktiota ja viruksen lisääntymistä ei ole tutkittu yhtä hyvin luonnollisissa säiliöissä, ne vaikuttavat kontrolloiduilta eikä niissä esiinny ilmeistä patologiaa. Sitä vastoin infektio ihmisessä johtaa aluksi korkeaan viruskuormaan, jolle on ominaista aggressiivinen pro-inflammatorinen vaste, jota kutsutaan sytokiinimyrskyksi. Keskeinen ero infektion kulussa säiliö- ja ihmisisännän välillä on tulehdusreaktio. Tässä tutkimuksessa sovellamme yksinkertaista kaksikomponenttista differentiaaliyhtälömallia proinflammatorisia ja anti-inflammatorisia vasteita varten sekä yksityiskohtaista matemaattista analyysia, jonka avulla tunnistamme parametriavaruuden tietyt alueet, joilla on yksittäinen vakaa endeeminen tasapaino, bistabiilisuus tai jaksolliset ratkaisut. Deterministisen mallin laajentaminen kahteen stokastiseen malliin ottaa huomioon solu- (paikallinen) tai kudostasolla (globaali) havaitun vasteiden vaihtelun. Stokastisten mallien numeeriset ratkaisut osoittavat tuloksia, jotka ovat tyypillisiä krooniselle infektiolle luonnollisessa säiliössä tai sytokiinimyrskylle ihmisen infektiossa. Kroonisessa infektiossa esiintyy ajoittaista vilkastumista korkeiden ja matalien vasteiden välillä, kun malliparametrit ovat bistabiiliuden tai jaksollisten ratkaisujen alueella. Sytokiinimyrsky, jossa on voimakas pro-inflammatorinen vaste ja vähemmän voimakas anti-inflammatorinen vaste, esiintyy parametrialueella, jolla on yksi vakaa endeeminen tasapaino, jossa on voimakas pro-inflammatorinen vaste. Mallianalyysien ja simulaatioiden tuloksia tulkitaan sytokiinien ja tulehdusreaktioiden funktionaalisen roolin kannalta, joita havaitaan luonnollisen reservoarin tai ihmisisännän infektiossa.

**Tulos**

Sytokiinien dynamiikan mallit virusperäisten zoonoottisten tartuntatautien tulehdusreaktiossa.

**Esimerkki 1.6277**

Eläinten mikrobilääkkeiden käyttö ja kasvatuskäytännöt lisäävät uusien zoonoosien ja antibioottiresistenssin riskiä. Teimme kyselytutkimuksen 700 kotitaloudelle saadaksemme tietoa ihmisten ja eläinten lääkkeiden käytöstä ja kasvatuskäytännöistä. Kotitaloudet, jotka omistivat karjaa (n=265/459, 57,7 %), ilmoittivat käyttäneensä eläinlääkkeitä 630 kertaa edellisen kuuden kuukauden aikana. 57,6 % hankki lääkkeitä, mukaan lukien antibiootteja, lääkemyyjiltä. Valtion eläinlääkärit kävivät harvoin (9,7 %), ja vastaajat hakivat useammin eläinten terveydenhoitoa apteekeista ja kylälääkäreiltä (70,6 % ja 11,9 %), koska nämä kaksi jälkimmäistä olivat halvempia ja menestyksekkäämpiä aiempien tulosten perusteella. Eläintenhoitokäytäntöjä, jotka voivat edistää mikrobien tarttumista eläimistä ihmisiin, olivat muun muassa seuraavat: kanojen ja ihmisten läheisyys (50,1 prosenttia kotitalouksista ilmoitti, että kanat nukkuivat makuuhuoneessa), luonnonvesien yhteiskäyttö ihmisten ja eläinten kylpemiseen (78,3 prosenttia), karjanjätteen käyttö lannoitteena (60,9 prosenttia) ja sukupuoliroolit, joiden mukaan naiset ovat siipikarjan ja lasten ensisijaisia hoitajia (62,8 prosenttia). Tehokkaan eläinten terveydenhoitojärjestelmän puuttuessa kyläläisten on oltava riippuvaisia eläintensä hoidossa paikallisista eläinlääkäreistä. Mikrobilääkkeiden epätarkoituksenmukainen käyttö yhdistettynä epähygieenisiin eläintenpitokäytäntöihin ovat merkittäviä riskitekijöitä zoonoosien ja resistenttien patogeenien kehittymiselle.

**Tulos**

Kotitalouksien eläinten ja ihmisten lääkkeiden käyttö ja eläintenhoitokäytännöt Bangladeshin maaseudulla: uusien zoonoositautien ja antibioottiresistenssin riskitekijät HHS Julkinen saatavuus

**Esimerkki 1.6278**

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on tutkia viiden fenolihapon (neoklorogeenihappo, klorogeenihappo, kryptoklorogeenihappo, 3,5-dikafeoyylikiinihappo ja 3,4-dikafeoyylikiinihappo) farmakokineettistä tutkimusta Flos Lonicerae -valmisteiden oraalisen annon jälkeen rotilla. Kehitettiin nopea ja herkkä ultrasuorituskykyinen nestekromatografia-tandemmassaspektrometriamenetelmä (UPLC-MS/MS) viiden fenolihapon samanaikaista määrittämistä varten rottien plasmasta. Kun plasmanäytteet oli sekoitettu sisäisen standardin (IS) tinidatsolin kanssa, ne esikäsiteltiin neste-nesteuutolla etyyliasetaatilla/n-heksaanilla (9:1, v/v). Erottelu suoritettiin Acquity UPLC BEH C18 -kolonnilla (100 mm × 2,1 mm, 1,7 m) virtausnopeudella 0,4 ml min -1 , ja liikkuvana faasina käytettiin asetonitriiliä/metanolia (4:1, v/v)-0,4 % muurahaishappoa. Detektointi suoritettiin kolmoiskvadrupoli-tandem-massaspektrometrillä monireaktioseurannalla (MRM) sähkösuihkuionisaatiolähteen (ESI) avulla positiivisessa ionisaatiotilassa. Kaikilla kalibrointikäyrillä oli hyvä lineaarisuus (r > 0,991) pitoisuusalueilla 0,74-378 ng ml -1 neoklorogeenihapolle, 0,50-1030 ng ml -1 klorogeenihapolle, 1,9-250 ng ml -1 kryptoklorogeenihapolle, 0,74-380 ng ml -1 3,5-dikfeoyylikiinihapolle ja 5,1-328 ng ml -1 3,4-dikfeoyylikiinihapolle. Päivän sisäinen ja päivän välinen tarkkuus oli 15 prosentin sisällä ja tarkkuus vaihteli 86,2 prosentista 114,1 prosenttiin.

**Tulos**

Fenolihappojen samanaikainen määritys UPLC-MS/MS:llä rotan plasmasta ja sen soveltaminen farmakokineettiseen tutkimukseen Flos Lonicerae -valmisteiden oraalisen annon jälkeen.

**Esimerkki 1.6279**

Proteiinien pilkkoutumiskohtien tunnistamiseksi nopeasti otettiin käyttöön kloramfenikoliasetyylitransferaasia (CAT) reportterina käyttävä valintamenettely, jolla etsittiin taitettuja proteiinifragmentteja kohdegeenin satunnaisella pilkkomisella ja uudelleenkokoamisella syntyneistä kirjastoista, joista saatiin runsaasti DNA-fragmentteja, joiden pituus oli hallittavissa. Tryptofaanisyntaasin alfa-alayksikön (TSa) ja TEM-1 b-laktamaasin kokeelliset tulokset vastasivat hyvin kirjallisuudessa raportoituja tuloksia. Näiden fragmenttien liukoisuus korreloi suunnilleen CAT-fuusioiden inhiboivien vähimmäispitoisuuksien kanssa. Tämän paloitteluprotokollan soveltamista proteiinifragmenttien komplementtimääritykseen (PCA) arvioitiin käyttämällä malliproteiinina aminoglykosidi-3 0 -fosfotransferaasi I:tä (APH(3 0 )-I). Kolme lähes kahtiajakautumiskohtaa ja useita mahdollisia jakautumiskohtia tunnistettiin, ja tämän tuloksen perusteella testattiin neljää uutta fragmenttiparia komplementoitavaksi. Kolme neljästä parista palautti APH:n aktiivisuuden osittain leusiinivippien avulla, ja lisäksi löydettiin typistetty mutta aktiivinen APH(3 0 )-I (D1-25). Lopuksi heikosti aktiivista APH(3 0 )-I-(1-253)NZ/CZ (254-271), joka sisälsi lyhyen 18 jäännöksen tunnisteen, parannettiin edelleen virhealttiilla PCR:llä, ja saatiin paras mutantti, joka osoitti nelinkertaista parannusta jo yhden evoluutiokierroksen jälkeen. Nämä tulokset osoittavat, että CAT-valintaan perustuva proteiinien satunnainen pilkkominen voi tarjota tehokkaan proteiinien rikkoutumiskohtien etsimisen ja ohjata fragmenttien suunnittelua proteiinien komplementtimääritystä varten. Lisäksi voidaan saavuttaa aktiivisempia fragmenttipareja klassisella suunnatun evoluution lähestymistavalla.

**Tulos**

Satunnaisleikkaus proteiinien pilkkomiskohtien valitsemiseksi ja sen soveltaminen proteiinifragmenttien komplementointiin

**Esimerkki 1.6280**

Hoitoresistenssi on edelleen akuutin myelooisen leukemian (AML) suurin ongelma. Käytimme vastaanottimen operaattorin ominaiskäyrien alapuolella olevaa pinta-alaa (AUC) määrittämään kykyämme ennustaa terapiaresistenssiä yksittäisillä potilailla, jolloin AUC=1,0 tarkoittaa täydellistä ennustetta ja AUC=0,5 tarkoittaa kolikonheittoa, käyttäen tietoja 4 601 potilaasta, joilla oli äskettäin diagnosoitu AML ja jotka saivat induktiohoitoa 3+7 tai intensiivisemmillä vakiolääkitysmenetelmillä MRC/NCRI-, HOVON-, SWOG- ja MD Anderson Cancer Center -tutkimuksissa. Ikä, suorituskyky, valkosolujen määrä, sekundaarinen tauti, sytogeneettinen riski ja FLT3-ITD/NPM1-mutaatiotilanne liittyivät kukin itsenäisesti siihen, että täydellistä remissiota ei saavutettu, vaikka varhaista kuolemantapausta ei ollutkaan ("primaarinen refraktorisuus"). Bootstrap-korjatun monimuuttujamallin AUC oli kuitenkin vain 0,78, mikä viittaa vain kohtuulliseen ennustuskykyyn. FLT3-ITD- ja NPM1-tietojen poistaminen pienensi AUC-arvoa vain hieman (0,76). Resistenssin ennustaminen, Käyttäjät voivat tarkastella, tulostaa, kopioida ja ladata tekstiä ja tietojen louhintaa tällaisten asiakirjojen sisällöstä akateemista tutkimusta varten, kunhan aina noudatetaan kaikkia käyttöehtoja: määriteltynä primaarisena refraktorisuutena tai lyhyenä relapsivapaana elossaoloaikana (RFS), oli vieläkin vaikeampaa. Kykymme ennustaa resistenssi rutiininomaisesti saatavilla olevien hoitoa edeltävien kovariaattien perusteella antaa perusteet jatkaa satunnaistamista vakiohoitojen ja uusien hoitojen välillä ja tukee geneettisten ja hoidon jälkeisten tietojen jatkotarkastelua resistenssin ennustamisen optimoimiseksi AML:ssä. Akuutti myelooinen leukemia; vastaanottimen operaattorin ominaiskäyrän alapuolinen alue; ennuste; hoitoresistenssi Walter et al. [x10 3 /μL], mediaani (vaihteluväli) 15 (0-559) 19 (1-510) 14 (0-370) 8 (1-340) 15 (0-559) Trombosyytit 1 [x10 3 /μL], mediaani (vaihteluväli) 56 (2-983) 66 (3-998) 54 (2-9 300) 41 (3-1 069) 58 (2-9,300) Luuydinblastit 1 , mediaani% (vaihteluväli) 70 (0-100) 60 (0-98) 67 (3-100) 47 (6-96) 65 (0-100) Suorituskyky 1 , n (%) 0-1 2 081 (80) 1 051 (93) 368 (83) 374 (91) 3 874 (84)

**Tulos**

Resistenssin ennustaminen AML:ssä: MRC/NCRI:n, HOVON/SAKK:n, SWOG:n ja MD Andersonin syöpäkeskuksen 4601 potilaan analyysi HHS Public Access HHS Public Access (julkinen pääsy)

**Esimerkki 1.6281**

DNA-mikrosarjat ovat tehokas tekniikka, joka mahdollistaa bakteerien genomien vertailun koko mittakaavassa. Tämä yhdistettynä uusiin menetelmiin DNA-mikrosirutietojen mallintamiseksi helpottaa vankkojen vertailevien fylogenomiikka-analyysien kehittämistä. Tällaiset tutkimukset ovat lisänneet huomattavasti kykyämme erottaa bakteerit toisistaan, tuoneet esiin aiemmin havaitsemattomia geneettisiä eroja ja populaatiorakenteita ja antaneet uutta tietoa bakteeripatogeenien virulenssista ja evoluutiosta. Tällaisten tutkimusten viimeaikaiset tulokset ovat antaneet tietoa bakteeripatogeenien evoluutiosta, lajin genomin monimuotoisuuden ja plastisuuden tasosta sekä patogeenisten bakteerien virulenssieroista. Patogeenisten bakteerien vertaileva fylogenomiikka mikrosiruanalyysin avulla Dorrell, Hinchliffe ja Wren 621 Kuva 1 DNA-mikrosiruja käyttävän vertailevan fylogenomiikan periaatteet. Lisätietoja on tekstin pääosassa. www.sciencedirect.com Current Opinion in Microbiology 2005, 8:620-626 Comparative phylogenomics of pathogenic bacteria by microarray analysis (Patogeenisten bakteerien vertaileva fylogenomiikka mikroarray-analyysin avulla) Dorrell, Hinchliffe and Wren 625 www.sciencedirect.com Current Opinion in Microbiology 2005, 8:620-626.

**Tulos**

Patogeenisten bakteerien vertaileva fylogenomiikka mikrosiruanalyysin avulla

**Esimerkki 1.6282**

Tausta - Koska moniresistenttejä (MDR) taudinaiheuttajia ilmaantuu jatkuvasti, uusien lääkeaihioiden löytämiseen kohdistuu huomattavia paineita. Karboksyylipolyeetterit, joita kutsutaan myös polyeetteriantibiooteiksi, ovat ainutlaatuinen yhdisteryhmä, jolla on erinomainen teho useita kriittisiä tartuntatautien kohteita, kuten alkueläimiä, bakteereja ja viruksia vastaan. Näiden molekyylien tärkeimpiä ominaisuuksia ovat niiden selektiivisyys ja korkea teho useita MDR-etiologisia tekijöitä vastaan. Tavoite - Vaikka karboksyylipolyeetteriantibiooteista on julkaistu monia tutkimuksia, tästä lääkeryhmästä ei ole olemassa tuoreita katsauksia. Tämän katsauksen tarkoituksena on antaa lukijalle yleiskatsaus polyeetteriantibioottien aktiivisuuden spektriin, niiden vaikutusmekanismiin, myrkyllisyyteen ja mahdollisuuksiin lääkekandidaatteina lääkeresistenttien tartuntatautien torjunnassa. Johtopäätös: Polyeetteri-ionoforit ovat erittäin lupaavia lääkkeille vastustuskykyisten bakteeri- ja loisinfektioiden mahdollisessa torjunnassa. Huolimatta tämän lääkeryhmän pitkästä käyttöhistoriasta on raportoitu hyvin rajallisista lääkekemian ja lääkkeiden optimointitutkimuksista, mikä jättää oven auki näille mahdollisuuksille tulevaisuudessa. Scifinder ja PubMed olivat tärkeimmät hakukoneet, joita käytettiin tässä katsauksessa esitetyn aiheen kannalta merkityksellisten artikkeleiden löytämiseksi. Hakusanoina käytimme kunkin katsauksessa esitellyn 88 yhdisteen spesifisiä nimiä sekä yleisempiä termejä, kuten polyeetterit, ionoforit, karboksyylipolyeetterit ja polyeetteriantibiootit.

**Tulos**

Polyeetteri-ionoforit: laajakirjoiset ja lupaavat biologisesti aktiiviset molekyylit lääkkeille vastustuskykyisten bakteerien ja loisten torjuntaan.

**Esimerkki 1.6283**

Ekologista kapeikkomallinnusta (ENM) käytetään laajalti ekologiassa ennustamaan lajien mahdollisia maantieteellisiä levinneisyysalueita suhteessa niiden ympäristörajoitteisiin, ja siitä on nopeasti tulossa tautiriskien kartoittamisen kultainen standardi. Kun otetaan huomioon tautijärjestelmien biologinen monimutkaisuus, perinteinen ENM-kehys vaatii kuitenkin uudelleenarviointia. Esitämme yleiskatsauksen ENM:n soveltamisesta tautijärjestelmiin ja ehdotamme teoreettista kehystä, joka perustuu sekä isäntien että loisten biologisiin ominaisuuksiin ja jonka avulla voidaan tuottaa luotettavia tuloksia, jotka muistuttavat tautijärjestelmien jakaumia. Lisäksi keskustelemme biologisten näkökohtien välisistä eroista, kun ENM:ää sovelletaan levinneisyysekologiaan ja epidemiologiaan. Tämä uusi kehys auttaa tautiekologian alaa ja biogeografian sovelluksia tartuntatautien epidemiologiassa. Viimeaikainen uusien tartuntatautien (EID) (ks. sanasto) [1] yleistyminen on lisännyt tartuntatautien aiheuttamaa taakkaa ja vaikuttanut kielteisesti maailmantalouteen [2][3][4][5] . Noin 60 prosenttia uusista ihmisillä esiintyvistä taudeista on eläinperäisten patogeenisten loisten (zoonoosien), erityisesti luonnonvaraisten eläinten, aiheuttamia [6] . Ihmisten toiminnan lisääntyessä kontakti villieläimiin ja altistuminen uusille loisille lisääntyvät, mikä saattaa edistää zoonoosien syntymistä [1, 7] . Kun otetaan huomioon EID:n ihmispopulaatioille aiheuttama uhka, loisten maantieteellisen leviämisen ja niiden ihmisiin leviämisen taustalla olevien tekijöiden ymmärtäminen on erityisen tärkeää epidemiologeille, kansanterveysalan ammattilaisille ja poliittisille päättäjille [9] . Ekologinen kapeikkojen mallintaminen (ENM) on osoittautunut hyödylliseksi ennustettaessa lukuisten organismien levinneisyyttä [10-13], ja sitä käytetään yhä useammin loisten paikallisen ja maailmanlaajuisen levinneisyyden ennustamiseen [14] [15] [16] [17] . Huolimatta suurista edistysaskeleista, joita on saavutettu ENM:n toteuttamisessa monimutkaisten biologisten ilmiöiden, kuten tautijärjestelmien, ennustamiseksi [18], perinteiset kehykset voivat tuottaa biologisesti epärealistisia ennusteita, ja siksi niitä on tarkistettava, kuten tässä katsauksessa osoitetaan. Esitämme yleiskatsauksen tautien ENM:n nykytilasta ja ehdotamme sekä loisten että isäntien biologisiin ominaisuuksiin perustuvaa kehystä, jonka avulla voidaan tuottaa luotettavia tuloksia, jotka muistuttavat tautijärjestelmien jakaumia. Teoreettisessa kehyksessämme: i) käsitellään sopivan mallinnusmenetelmän valintaa ja korostetaan biologisesti järkevien ennustemuuttujien sisällyttämisen tärkeyttä; ii) ehdotetaan isännän ominaisuuksien määrittelemän mikrotason loisryhmän käsitettä, jotta voidaan tunnistaa olennaiset loinen-isäntä-yhdyssiteet; ja iii) yhdistetään perinteinen loisten ENM ehdotettuun mikrotason ryhmään, jotta voidaan ymmärtää paremmin maantieteellisiä levinneisyyksiä ja parantaa taudin leviämisriskin hienojakoisia ennusteita. ENM:ssä arvioidaan lajien levinneisyyttä yhdistämällä niiden maantieteellinen esiintyminen niiden ympäristörajoitteisiin, usein käyttäen korrelatiivisia lähestymistapoja (yksityiskohtaiset selitykset [18] ). Keskeistä

**Tulos**

Ekologinen kehys tautien leviämisen maantieteellistä mallintamista varten.

**Esimerkki 1.6284**

Tyypin I interferonit (IFN:t) ovat tunnettuja sytokiineja, jotka tärkeimpien tehtäviensä ohella ovat keskeisiä osia isännän immuunivasteessa virusinfektioita vastaan. Immuunijärjestelmää muokkaavien ominaisuuksiensa vuoksi niitä käytetään yleisesti erilaisten retrovirusinfektioiden, kuten ihmisen immuunikatoviruksen (HIV) ja kissan immuunikatoviruksen (FIV), hoidossa. HIV-infektiossa on osoitettu, että IFN-hoito rajoittaa viruksen varhaista lisääntymistä, mikä on erityisen hyödyllistä altistumisen jälkeisessä profylaksiassa. Eläinlääketieteessä rekombinantti kissan interferoni omega (rFeIFN-ω) oli ensimmäinen interferoni, jolle myönnettiin lupa kissoille. Useat tutkimukset ovat äskettäin osoittaneet, että tämä yhdiste näyttää stimuloivan synnynnäistä immuniteettia ja vähentävän kliinisiä oireita ja samanaikaisia infektioita luonnollisesti FIV-tartunnan saaneilla kissoilla. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto tärkeimmistä päätelmistä, jotka koskevat rFeIFN-ω:n käyttöä kissoilla, ja lisäksi siinä korostetaan IFN-hoidon immuunijärjestelmää muokkaavia ominaisuuksia, jotka avaavat uusia näkymiä sen käytölle retrovirusinfektioissa. Sekä FIV-infektoituneilla kissoilla että HIV-henkilöillä tyypin I IFN:t näyttävät aiheuttavan synnynnäistä immuunimodulaatiota, eikä niitä pitäisi jättää huomiotta terapeuttisena vaihtoehtona retrovirusinfektioissa.

**Tulos**

Rekombinantti-kissan interferoni-omega-hoidon käyttö immuunijärjestelmän modulaattorina kissoilla, jotka ovat saaneet luonnollisen tartunnan kissan immuunikatoviruksesta: Uudet näkökulmat

**Esimerkki 1.6285**

Ihmisen herpesvirus 6 (HHV-6) on ubiikki β-herpesvirus, joka liittyy useisiin kliinisiin sairauksiin. On kuvattu kaksi läheisesti mutta biologisesti erilaista muunnosta. HHV-6:n B-variantti aiheuttaa yleisen lapsuusiän taudin exhanthem subitum, ja vaikka HHV-6:n A-variantin patologiset ominaisuudet eivät ole yhtä hyvin määriteltyjä, HHV-6A:n on ehdotettu olevan neurotrooppisempi. Tutkimme molempien HHV-6-varianttien vaikutusta oligodendrosyyttisolulinjassa (MO3.13). M03.13:n infektiota seurattiin sytopaattisella vaikutuksella (CPE), kvantitatiivisella TaqMan PCR:llä viruksen DNA:n määrittämiseksi soluissa ja supernatantissa, käänteisellä transkriptaasipolymeraasiketjureaktiolla (RT-PCR) viruksen RNA:n havaitsemiseksi ja epäsuoralla immunofluoresenssilla (IFA) virusproteiinien ilmentymisen havaitsemiseksi. HHV-6A-infektio aiheutti huomattavasti enemmän CPE:tä kuin HHV-6B-infektio. HHV-6B aiheutti abortoivan infektion, johon liittyi alkuperäisen viruksen DNA-kuorman väheneminen ajan myötä, varhainen RNA-ekspressio eikä virusantigeenin ilmentyminen. Sitä vastoin HHV-6A:n DNA:n infektio säilyi soluissa vähintään 62 päivää. HHV-6A-infektion akuutin vaiheen aikana solunsisäinen ja solunulkoinen viruskuorma kasvoi ja solut ekspressoivat virusproteiinia IE-2 ja gp116/54/64. HHV-6A:n RNA:ta tai proteiinia ei ilmentynyt 30 päivän kuluttua infektiosta, mikä viittaa siihen, että HHV-6A muodosti latentin infektion. Nämä tutkimukset tukevat in vitro -tutkimuksin hypoteesia, jonka mukaan HHV-6 voi aktiivisesti infektoida oligodendrosyyttejä. Tuloksemme viittaavat siihen, että HHV-6A:lla ja HHV-6B:llä on erilainen tropismi MO3.13-soluissa ja että alun perin aktiivinen HHV-6A-infektio voi kehittyä latenssiksi. Erot HHV-6A- ja -6B-infektion välillä eri hermosolutyypeissä voivat liittyä erilaisiin neurologisiin sairauksiin. Journal of NeuroVirology (2005) 11, 384-394. HHV-6:n tropismi ja latenssi MO3.13-soluissa J Ahlqvist et al 385

**Tulos**

Ihmisen herpesviruksen 6 (HHV-6) varianttien erilainen tropismi ja HHV-6A:n latenssin indusoima latenssi oligodendrosyyteissä.

**Esimerkki 1.6286**

Vuonna 2002 alempien hengitysteiden infektiot aiheuttivat maailmanlaajuisesti noin 4 miljoonaa kuolemantapausta ja 7 prosenttia kaikista kuolemantapauksista kyseisenä vuonna." Ongelman laajuus Akuutti hengitystieinfektio on kehittyneissä maissa imeväisten ja pienten lasten tärkein sairaalahoidon syy ja kehitysmaissa merkittävä kuoleman aiheuttaja. Vuonna 2002 alempien hengitysteiden infektiot aiheuttivat noin 4 miljoonaa kuolemantapausta maailmanlaajuisesti ja 7 prosenttia kaikista kuolemantapauksista kyseisenä vuonna [1]. Tämän vuoksi on valtava tarve uusille diagnostisille välineille, joilla voidaan osoittaa laaja valikoima hengitystiepatogeenejä, erityisesti sellaisia, joita on vaikea tai mahdoton saada tavanomaisilla viljelymenetelmillä.

**Tulos**

Vaikeiden hengitystieinfektioiden multipleksi-PCR-teranostiikka

**Esimerkki 1.6287**

Taustaa: Hengitysilmakondensaattinäytteenottoa on pidetty kekseliäänä ja uudenlaisena menetelmänä hengitystievirusten eristämisessä. Menetelmät: Tutkimuksessamme rekrytoitiin 102 vapaaehtoista, joilla oli ylähengitystieinfektio, talven 2008/2009 talven ja alkukevään aikana sekä talven 2009/2010 ensimmäisen puoliskon aikana. Yhdeksänkymmentäyhdeksän EBC:tä saatiin onnistuneesti ja ne seulottiin 14 yleisesti kiertävän hengitystieviruksen varalta. Virusten eristämisen tehokkuuden tutkimiseksi EBC:stä otettiin samanaikaisesti nenänäytteenäyte osajoukosta vapaaehtoisia. ECoVent-laitteen ja RTube™-laitteen yhdistetty käyttö mahdollisti uloshengitystilavuuden ja hengitystaajuuden rekisteröinnin näytteenoton aikana. Näin voidaan teoriassa arvioida uloshengitettyjen virushiukkasten määrä litraa ilmaa tai minuuttia kohden. Tulokset: Virusseulonnassa havaittiin 4 eri virusta EBC:stä ja/tai nenänäytteistä: Rhinovirus, ihmisen hengitystieoireyhtymävirus B, influenssa A ja influenssa B. Rhinovirus havaittiin 6:ssa EBC:ssä ja 1 EBC oli influenssa B -positiivinen. Raportoimme, että EBC-testien virusten havaitsemisprosentti oli 7 %, mikä on paljon alhaisempi kuin nenänäytteistä otettujen pyyhkäisynäytteiden havaitsemisprosentti, joka oli 46,8 %. Päätelmät: Vaikka EBC-verinäytteiden kerääminen RTube™:n avulla on erittäin lupaavaa, se ei ole luotettavaa hengitystieinfektioiden diagnosoinnissa.

**Tulos**

Uloshengityksen hengityskondensaattinäytteenotto ei ole uusi menetelmä hengitystievirusten havaitsemiseksi.

**Esimerkki 1.6288**

Koska PPAR-reseptorit (peroksisomaaliset proliferaattoriaktivoituneet reseptorit) säätelevät ainutlaatuisella tavalla glukoosi-, rasva- ja kolesteroliaineenvaihduntaa, niihin on kiinnitetty erityistä huomiota kehitettäessä lääkkeitä tyypin 2 diabeteksen hoitoon. Yhdistämällä PPAR-alfa-agonistien (kuten fibraattien) lipidihyöty ja PPAR-gamma-agonistien (kuten tiatsolidiinidionien) glykeemiset edut voidaan PPAR-agonistien kaksoiskäyttöön perustuvalla lähestymistavalla sekä parantaa aineenvaihdunnallisia vaikutuksia että minimoida kumman tahansa aineen yksinään aiheuttamat haittavaikutukset, ja näin ollen siitä on tullut lupaava strategia tehokkaiden lääkkeiden suunnittelemiseksi tyypin 2 diabetesta vastaan. Tässä tutkimuksessa löydettiin tehokkaiden ''core hopping'' ja ''glide docking'' -tekniikoiden avulla uusi PPAR-kaksoisagonistien luokka, joka perustuu yhdisteeseen GW409544, joka on tunnettu kaksoisagonisti sekä PPAR-alfa- että PPARgamma-agonistille ja joka on muunnettu farglitatsarirakenteesta. Molekyylidynamiikkasimulaatioiden avulla havaittiin, että näillä uusilla agonisteilla oli sama tehtävä kuin GW409544:llä PPAR-alfa- ja PPAR-gamma-reseptoreiden aktivoinnissa, mutta niillä oli myös suotuisampi konformaatio molempiin reseptoreihin sitoutumisen kannalta. ADME-ennusteiden (imeytyminen, jakautuminen, aineenvaihdunta ja erittyminen) tulokset vahvistivat lisäksi, että uusilla agonisteilla on suuri potentiaali tulla lääkeaihioiksi. Tai ainakin tässä raportoidut havainnot voivat kannustaa uuteen strategiaan tai tarjota hyödyllisiä näkemyksiä tehokkaampien kaksoisagonistien löytämiseksi tyypin 2 diabeteksen hoitoon. Koska ''core hopping'' -tekniikka mahdollistaa uusien ytimien nopean seulonnan, joka auttaa voittamaan ei-toivotut ominaisuudet tuottamalla uusia johtavia yhdisteitä, joilla on parannetut ydinominaisuudet, ei ole jäänyt huomaamatta, että nykyistä strategiaa yhdessä vastaavien laskentamenetelmien kanssa voidaan hyödyntää myös uusien ja tehokkaampien lääkkeiden löytämiseksi muiden sairauksien hoitoon.

**Tulos**

Suunnitellaan uusia kaksoisagonisteja tyypin 2 diabeteksen hoitoon kohdistamalla peroksisomi proliferaattori-aktivoituja reseptoreita ydinhyppymenetelmällä.

**Esimerkki 1.6289**

Ihmisen rinovirus (HRV)-A ja -B on yleinen ylähengitystieinfektioiden aiheuttaja. Äskettäin luokiteltiin kolmas laji, HRV-C, molekyylityyppitutkimusten perusteella. Tulokset osoittivat, että HRV-C:n genomi oli eronnut HRV-A:n ja -B:n genomista. Huolimatta myöhäisestä tunnistamisesta yhä useammat todisteet viittaavat siihen, että HRV-C aiheuttaa vakavampia patogeenisiä infektioita kuin HRV-A tai -B; tämän yhteyden vahvistamiseksi eri kliinisissä tilanteissa tarvitaan kuitenkin runsaasti epidemiologista tietoa. Tämän vuoksi tarvitaan yksinkertainen ja nopea menetelmä HRV-C:n tunnistamiseksi, jotta tällaisia epidemiologisia tutkimuksia voitaisiin nopeuttaa. Tässä tutkimuksessa suunniteltiin bioinformatiivisten analyysien perusteella kaksi degeneroitunutta alukesarjaa (HEV ja HRVC). HEV-sarja, joka kohdistuu viidenteen IRES-domeenisekvenssiin 5 -UTR:ssä, joka on erittäin konservoitunut enterovirusten keskuudessa, suunniteltiin kaikkien enterovirusten havaitsemiseen, kun taas HRVC-sarja, joka kohdistuu VP2:n koodaavaan alueeseen, suunniteltiin ainoastaan HRV-C:n havaitsemiseen. Molemmat alukesarjat testattiin vakioiduilla enteroviruksilla ja kliinisillä huuhtelunäytteillä. HEV havaitsi kaikki testatut enterovirukset, kun taas HRVC oli spesifinen HRV-C:lle. Vaikka alukkeiden suunnittelustrategia vahvistettiin rajoitetulla määrällä näytteitä, tarvitaan laajoja testejä, jotta niitä voidaan soveltaa kliinisissä ympäristöissä.

**Tulos**

Degeneroidun PCR-alukkeen suunnittelu rinovirus C:n spesifistä tunnistamista varten.

**Esimerkki 1.6290**

Vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS) aiheutti valtavaa vahinkoa monille Aasian maille, erityisesti Kiinalle. SARSin leviämisprosessia ja taudinpurkausmallia ei vieläkään tunneta hyvin. Tässä tutkimuksessa pyritään löytämään yksinkertainen malli SARS-tapausten puhkeamismallin kuvaamiseksi käyttämällä hallitusten yleisesti julkaisemia SARS-tapaustietoja. Kumulatiivisten SARS-tapausten puhkeamismallin odotetaan olevan logistista tyyppiä, koska tartunta hidastuu ihmisten lisääntyvien torjuntaponnistelujen ja/tai alttiiden yksilöiden vähenemisen vuoksi. SARS-tapausten lisääntymisnopeuden odotetaan pienenevän kumulatiivisten SARS-tapausten myötä, kuten perinteinen logistinen malli kuvaa, jota käytetään laajalti populaatiodynaamisissa tutkimuksissa. Hetkellinen lisääntymisnopeus korreloi merkittävästi ja negatiivisesti kumulatiivisten SARS-tapausten kanssa Manner-Kiinassa (mukaan lukien Peking, Hebei, Tianjin, Shanxi, Sisä-Mongolian autonominen alue) ja Singaporessa. Peruslisääntymisluku R o vaihteli Aasiassa 2,0:sta 5,6:een (paitsi Taiwanissa, Kiinassa). Hebein ja Tianjinin R o oli paljon suurempi kuin Singaporen, Hongkongin, Pekingin, Shanxin ja Sisä-Mongolian, mikä osoittaa, että SARS-virus on saattanut saada alkunsa eri tavalla tai uusia mutaatioita on tapahtunut tartunnan aikana. Osoitimme, että logistinen malli kuvasi hyvin SARS-epidemioita monilla Aasian alueilla ja että hallitusten toteuttamat valvontatoimenpiteet ovat tehokkaita. Logistisen mallin avulla laskettiin myös suurin hetkellinen lisääntymisnopeus, perus lisääntymisluku ja suurin kumulatiivinen SARS-tapausten määrä.

**Tulos**

SARS-tapausten esiintymismalli Aasiassa

**Esimerkki 1.6291**

Hengitysteiden bakteeri-infektiot ovat maailmanlaajuisesti merkittävä kuolinsyy. Koska bakteerien antibioottiresistenssi lisääntyy jatkuvasti, hoito epäonnistuu yhä useammin. Tässä yhteydessä tarvitaan kiireellisesti innovatiivisia hoitostrategioita. Hengitysteiden synnynnäisten immuunisolujen stimulointi [Tollin kaltaisten reseptorien (TLR) aktivoimisen kautta] on houkutteleva lähestymistapa, jolla voidaan nopeasti aktivoida elimistön immuunipuolustus monenlaisia mikro-organismeja vastaan. Aiemmat tutkimukset TLR5-agonisti flagellinilla eläinmalleissa osoittivat, että TLR-stimulaatio ei yksinään johda pneumokokki-infektion tehokkaaseen hoitoon, mutta parantaa merkittävästi samanaikaisen antibioottihoidon terapeuttista tulosta. Tässä tutkimme antibakteerista vuorovaikutusta antibiootin ja intranasaalisen flagelliinin välillä hiiren pneumokokki-hengitystieinfektion mallissa. Käyttämällä erilaisia annoksia suun kautta annosteltua amoksisilliinia tai systeemisesti annosteltua kotrimoksatsolia havaitsimme, että flagelliinin intranasaalinen instillaatio (annos, joka edistää maksimaalista keuhkojen pro-inflammatorista vastetta) aiheuttaa pikemminkin synergistisiä kuin additiivisia antibakteerisia vaikutuksia antibiooteille herkkiä pneumokokkeja vastaan. Seuraavaksi laadimme mallin useille antibiooteille resistentin pneumokokin aiheuttamasta infektiosta influenssan superinfektion yhteydessä. Huomionarvoista oli, että amoksisilliinin ja flagelliinin yhdistelmällä hoidettiin tehokkaasti amoksisilliinille resistentin pneumokokin aiheuttama superinfektio, sillä bakteerien puhdistuma lisääntyi yli 100-kertaiseksi verrattuna erillisiin hoitoihin. Tuloksemme osoittivat myös, että vastauksena flagelliiniin keuhkokudos synnytti synnynnäisen immuunivasteen, vaikka se oli vaurioitunut influenssavirus- ja pneumokokki-infektioiden seurauksena. Yhteenvetona osoitimme, että keuhkojen sisäisen immuniteetin valikoiva vahvistaminen on käsitteellisesti edullinen lähestymistapa antibioottihoidon tehokkuuden parantamiseen ja antibiooteille vastustuskykyisten bakteerien torjuntaan.

**Tulos**

Antibioottien ja keuhkojen Toll-Like-reseptorin 5 stimulaation välinen terapeuttinen synergia antibioottiherkässä tai -resistentissä keuhkokuumeessa

**Esimerkki 1.6292**

Yllättävän vähän tiedetään ihmisten sekoittumistottumuksista, joilla on merkitystä lähikontaktitartuntojen, kuten tuhkarokon, influenssan ja meningokokkitautien, leviämisessä. Tässä tutkimuksessa pyritään arvioimaan yksilöiden solmimien kumppanuuksien määrää, niiden pysyvyyttä ja sitä, missä määrin sekoittuminen on assortatiivista iän suhteen. Määrittelimme neljä riskitapahtumien oletettua tasoa satunnaisesta (fyysinen kontakti ilman keskustelua) intiimiin (seksuaalinen kontakti), ja pyysimme vapaaehtoisia yliopisto-opiskelijoita kirjaamaan tietoja niistä henkilöistä, joihin he ottivat yhteyttä näillä tasoilla kolmena eri päivänä. Havaitsimme, että intiimit kontaktit ovat vakaita lyhyiden ajanjaksojen aikana, kun taas satunnaisten kontaktien toistumisesta samojen henkilöiden kanssa ei ollut näyttöä. Yhteydenotot olivat yhä assortatiivisempia läheisyyden lisääntyessä. Tällaiset tiedot auttavat lähikontaktitautien mallien kehittämisessä ja parametroinnissa, ja niitä voidaan käyttää suoraan tautipesäkkeiden tutkimisessa.

**Tulos**

Epidemiologian uudet teemat Sekoittumistavat ja lähikontaktissa esiintyvien tartuntatautien leviäminen.

**Esimerkki 1.6293**

Tämän asiakirjan tavoitteena on arvioida tilastollisia algoritmeja ajallisten taudinpurkausten havaitsemiseksi. Simuloitujen viikoittaisten valvonta-aikasarjojen suuren tietokokonaisuuden perusteella suoritimme järjestelmällisen arvioinnin 21 tilastollisesta algoritmista, joista 19 on toteutettu R-paketissa surveillance ja kaksi muuta menetelmää. Arvioimme väärän positiivisen tuloksen osuuden (FPR), havaitsemisen todennäköisyyden (POD), havaitsemisen todennäköisyyden ensimmäisen viikon aikana, herkkyyden, spesifisyyden, negatiivisen ja positiivisen ennustearvon sekä F 1 -mitan kullekin havaitsemismenetelmälle. Tämän jälkeen suoritimme monimuuttujaisia Poissonin regressiomalleja, jotka oli mukautettu simuloitujen aikasarjojen ominaisuuksiin (suuntaus, kausivaihtelu, hajonta, taudinpurkausten koko jne.), jotta voisimme tunnistaa näihin suorituskykymittareihin liittyvät tekijät. FPR vaihteli 0,7 prosentista 59,9 prosenttiin ja POD 43,3 prosentista 88,7 prosenttiin. Joidenkin menetelmien spesifisyys oli erittäin korkea, jopa 99,4 prosenttia, mutta herkkyys alhainen. Menetelmillä, joiden herkkyys oli korkea (jopa 79,5 %), oli alhainen spesifisyys. Kaikkien menetelmien negatiivinen ennustearvo oli korkea, yli 94 %, kun taas positiivinen ennustearvo vaihteli 6,5 prosentista 68,4 prosenttiin. Monimuuttujaiset Poissonin regressiomallit osoittivat, että aikasarjojen ominaisuudet vaikuttivat voimakkaasti suorituskykymittareihin. Aiempi tai nykyinen taudinpurkauksen koko ja kesto vaikuttivat voimakkaasti havaitsemistuloksiin. Viittaus: Bédubourg G, Le Strat Y (2017) Evaluation and comparison of statistical methods for early temporal detection of outbreaks: Simulointiin perustuva tutkimus. PLoS ONE 12(7): e0181227. https://doi.org/10.

**Tulos**

Tilastollisten menetelmien arviointi ja vertailu tautipesäkkeiden varhaisessa ajallisessa havaitsemisessa: Simulointiin perustuva tutkimus

**Esimerkki 1.6294**

Plasmidi-DNA:n (pDNA) geeninsiirto on erittäin monipuolinen tekniikka, jolla voidaan ratkaista monia tyydyttämättömiä lääketieteellisiä tarpeita. Edistyminen pDNA:n toimittamisessa isäntäkudokseen in vivo -elektroporaation (EP) avulla on johtanut merkittävästi tehostuneeseen geeniekspressioon ja hiljattain osoitettu, että järjestelmä on kliinisesti tehokas. Tässä tutkimuksessa raportoidaan, että lihaskudoksen solunulkoisen matriksin rakenteen entsyymivälitteinen muokkaaminen pDNA:n toimituspaikalla toimii synergistisesti EP:n kanssa tehostaen sekä paikallista että systeemistä geeniekspressiota entisestään. Erityisesti kondroitinaasi-ABC:n (Cho ABC) antaminen pDNA:n lihaksensisäisen annostelupaikkaan johti kondroitiinisulfaattirakennetta muodostavan esteen ohimenevään rikkoutumiseen, mikä mahdollisti geenin lisääntyneen jakautumisen ja ilmentymisen koko kudoksessa. Cho ABC:n käyttö yhdessä CEL-LECTRA Ò:n lihaksensisäisen EP:n kanssa johti geeniekspression lisääntymiseen 5,5-kertaiseksi hiirillä ja 17,98-kertaiseksi kaneilla. Tutkimus osoittaa, miten tätä protokollaa voidaan soveltaa yleisesti aktiiviseen profylaksia-alustaan funktionaalisen immunoglobuliini G:n in vivo -tuotannon lisäämiseksi ja DNA-rokoteprotokolliin lääkeannoksen säästämiseksi. Tiedot osoittavat, että Cho ABC -formulaatiolla on merkittävää arvoa, kun se yhdistetään EP:hen, jotta pDNA:n toimitusprotokollien geeniekspressiotasoja voidaan nostaa.

**Tulos**

Aktiivinen immunoprofylaksia ja rokotteen tehostaminen uudenlaisen plasmidi-DNA-formulaation avulla

**Esimerkki 1.6295**

Mikrobit ja mikrobikomponentit voivat vaikuttaa sikojen suorituskykyyn immuunijärjestelmän stimuloinnin ja muuttuneen aineenvaihdunnan kautta. Näihin immuunijärjestelmää muokkaaviin tekijöihin voi kuulua gramnegatiivisten bakteerien ulkokalvokomponentista peräisin oleva endotoksiini, jota kutsutaan yleisesti lipopolysakkaridiksi (LPS). Tässä tutkimuksessa tavoitteenamme oli tutkia suolistoesteen eheyden, endotoksiinin ja inflammaation yhteyttä rehuhyötysuhteeseen (FE) käyttämällä mallina sikalinjoja, jotka on valittu poikkeavasti jäännösrehun saannin (RFI) suhteen. Käytettiin 12 nuorta poikasta (62 ± 3 kg paino), jotka kuuluivat matalan RFI:n (LRFI, tehokkaampi) ja 12 korkean RFI:n (HRFI, vähemmän tehokas) linjoihin. Yksilölliset suoritustiedot kirjattiin 5 wk:n ajan. Koejakson lopussa LRFI-sikojen ADFI oli pienempi (P < 0,001), ADG ei eronnut kahden linjan välillä (P = 0,72), mutta LRFI-sikojen G:F oli suurempi kuin HRFI-sikojen (P = 0,019). Seerumin endotoksiinipitoisuus (P < 0,01) ja akuutin faasin proteiini haptoglobiini (P < 0,05) olivat suurempia HRFI-sioissa. Ileumin transsepiteliaalinen resistanssi, fl uoresceiini-isotiosyanaattimerkityn dekstraanin ja LPS:n kulkeutuminen ileumissa ja paksusuolessa sekä tiukkojen liittymien proteiinien mRNA:n ilmentyminen ileumissa eivät eronneet linjojen välillä, mikä osoittaa, että nämä kaksi linjaa eivät eronneet toisistaan kuljetusominaisuuksiltaan suoliston tasolla. Ileumin tulehdusmerkkiaineiden, myeloperoksidaasin (P < 0,05) ja IL-8:n (P < 0,10), todettiin olevan suurempia HRFI-sioissa. Alkalisen fosfataasin (ALP) aktiivisuus lisääntyi merkittävästi LRFI-sioissa ileum- ja maksakudoksissa ja korreloi negatiivisesti veren endotoksiinin kanssa (P < 0,05). Maksan lysotsyymiaktiivisuus ei eronnut linjojen välillä; LRFI-sikojen lysotsyymiaktiivisuus oli kuitenkin kaksi kertaa suurempi ileumissa (P < 0,05). Aktiivisuuden erosta huolimatta ALP:n tai lysotsyymin mRNA-ekspressio ei eronnut linjojen välillä kummassakaan kudoksessa. Vähentynyt endotoksiini- ja inflammaatiomarkkereiden määrä ja LRFI-linjan mikrobilääkeentsyymien lisääntynyt aktiivisuus eivät ehkä täysin selitä linjojen välistä eroa FE:ssä, mutta niillä on potentiaalia ehkäistä HRFI-sikojen kasvupotentiaalia. Lisätutkimuksia tarvitaan muiden mekanismien tunnistamiseksi, jotka voivat vaikuttaa HRFI-sikojen suurempaan endotoksiinin ja akuutin faasin proteiinien määrään ja LRFI-sikojen suurempaan FE:hen.

**Tulos**

Suoliston eheys, endotoksiinin kulkeutuminen ja detoksifikaatio sioilla, jotka on valikoitu eri tavoin jäännösrehun syöntiin 1

**Esimerkki 1.6296**

Taustaa: Ilman kautta tarttuvien taudinaiheuttajien tartuntojen sekä ilman hiukkasille ja aerosoleille (ympäristön epäpuhtaudet ja allergeenit) altistumisen ehkäisemistä voidaan helpottaa käyttämällä kertakäyttöisiä kasvonaamioita. Tällaisten naamarien tehokkuus patogeenien ja epäpuhtauksien poissulkemisessa riippuu naamareiden omasta kyvystä vastustaa ilmassa olevien epäpuhtauksien tunkeutumista. Tässä tutkimuksessa arvioitiin maskin, venttiilin ja mikroventilaattorin suhteellista vaikutusta uuden N95-hengityssuojaimen aerosolisuodatustehokkuuteen. Menetelmät: Testinaamari altistettiin standardoituja menetelmiä käyttäen influenssa A:lle ja rinovirus tyyppi 14:lle, bakteriofagi ΦΧ174:lle, Staphylococcus aureukselle (S. aureus) ja mallin epäpuhtauksille. Eri haastemikrobien aiheuttajilla ja eri naamarikonfiguraatioilla (naamarit, joissa on toiminnassa olevat tai ei-toimivat ilmanvaihtopuhaltimet ja naamarit, joissa on suljetut Smart Valves -venttiilit) saatujen tulosten tilastollista merkitsevyyttä arvioitiin. Tulokset: Tulokset osoittavat, että kukin testimaskin kokoonpano on >99,7 % tehokas influenssa A -viruksen, rinovirus 14:n ja S. aureuksen poissulkemisessa ja >99,3 % tehokas parafiiniöljyn ja natriumkloridin (PM 2,5 -hiukkasten korvikkeet) poissulkemisessa. Tilastollisesti merkitseviä eroja eri maskikokoonpanojen tehokkuudessa ei havaittu. Naamarien tehokkuus pienikokoisten (esim. rinovirus ja bakteriofagi ΦΧ174) ja isokokoisten mikrobiperäisten tekijöiden (influenssavirus, S. aureus) poissulkemisessa ei eronnut merkittävästi toisistaan. Päätelmät: Naamarit, mukavuutta parantavilla ominaisuuksilla tai ilman niitä, antavat suojan sekä pieni- että suurikokoisia patogeenejä vastaan. Tärkeää on, että naamari näyttää suodattavan erittäin tehokkaasti patogeenejä, kuten influenssa- ja rinoviruksia, sekä aerosoleissa esiintyviä pienhiukkasia (PM 2,5 ), jotka ovat suurempi haaste monille hammaslääketieteellisille ja kirurgisille naamareille. Tämä tekee tästä yksilölliseen käyttöön tarkoitetusta N95-hengityssuojaimesta parannuksen aiempiin naamarityyppeihin verrattuna, sillä se suojaa useilta ympäristön epäpuhtauksilta, kuten PM 2.5 -hiukkasilta ja patogeeneiltä, kuten influenssa- ja rinoviruksilta.

**Tulos**

Hengityssuojaimen arviointi ilman epäpuhtauksien ja taudinaiheuttajien, mukaan lukien ihmisen influenssa- ja rinovirukset, talteenottoa varten

**Esimerkki 1.6297**

Viimeaikaiset molekyylidiagnostiset menetelmät ovat parantaneet merkittävästi virusperäisen keuhkokuumeen diagnosointia teho-osastoilla. On havaittu, että H1N1pdm09:n HA-geenin 222G/N-muutokset liittyvät lisääntyneeseen alempien hengitysteiden (LRT) replikaatioon ja huonompaan kliiniseen lopputulokseen. Tässä tutkimuksessa arvioitiin hengitystievirusten esiintyvyyttä 88 potilaan hengitystietutkimusnäytteissä, jotka otettiin 16 teho-osastolle talvi-kevätkauden 2014-2015 aikana Lombardiassa. Kuusikymmentäyhdeksän potilasta 88:sta (78,4 %) oli positiivinen hengitystievirusinfektion suhteen sairaalaan tullessaan. Näistä 57/69 (82,6 %) oli positiivisia influenssa A:lle (41 A/H1N1pdm09 ja 15 A/H3N2), 8/69 (11,6 %) HRV:lle, 2/69 (2,9 %) RSV:lle ja 2/69 (2,9 %) influenssa B:lle. 28/41 tehohoitopotilaan ja 21 potilaan, joilla oli lievä hengitysoireyhtymä, joka ei vaatinut sairaalahoitoa, influenssa A/H1N1pdm09-kantojen fylogeneettinen analyysi osoitti, että alaryhmän 6B kannat olivat selvästi hallitsevia. Tehohoitopotilaiden LRT-näytteiden A-influenssakuormituksen mediaani oli korkeampi kuin ylähengitysteissä (URT) havaittu (p<0,05). Kaiken kaikkiaan LRT:stä otetuissa kliinisissä näytteissä havaittiin seuraavan sukupolven sekvensoinnilla osittaisista HA-sekvensseistä (koodonit 180-286) suurempi määrä H1N1pdm09-virusvariantteja kuin URT:ssä. Lisäksi tehohoitopotilaiden LRT-näytteistä 30 prosentissa havaittiin 222G/N/A-mutaatioita. Lopuksi isännänsisäinen evoluutioanalyysi osoitti, että viruspopulaatioiden dynamiikka on erilainen teho-osastolla sairaalahoidossa olleiden potilaiden LRT:ssä, joilla oli vakava influenssainfektio.

**Tulos**

Hengitystievirusinfektioiden esiintyvyys ja influenssa A/H1N1pdm09:n dynamiikan seuraavan sukupolven analyysi teho-osastolle otettujen potilaiden alempien hengitysteiden infektioissa.

**Esimerkki 1.6298**

Kyky pelastaa infektiivinen, rekombinantti, negatiivisjuosteinen RNA-virus cDNA-kloonista on luonut uusia mahdollisuuksia mitata viruksen replikaatiota viruksen ilmentämän reportterigeenin avulla. Tässä tutkimuksessa tehostetun vihreän fluoresoivan proteiinin (EGFP) geeni lisättiin ihmisen parainfluenssaviruksen tyypin 3 (HPIV-3) antigenomiin ja rekombinantti, infektiivinen virus pelastettiin. Fluoresenssilla mitattu EGFP:n maksimaalinen ilmentymistaso havaittiin päivänä 3. Verrattaessa kolmen päivän mittaista, viruksen ilmentämää EGFP:n fluoresenssimääritystä seitsemän päivän mittaukseen neutraalipunaisella punaisella, joka perustuu täydelliseen solujen tuhoutumiseen viruksen infektoimissa MA-104-soluissa, saatiin Z′-kertoimen arvot 0,83 ja 0,70. Kolmen vuorokauden lopun EGFP:hen perustuva viruksenvastainen määritys ja seitsemän vuorokauden lopun neutraalipunaan perustuva viruksenvastainen määritys suoritettiin rinnakkain 23 yhdisteen viruksenvastaisten herkkyysprofiilien laatimiseksi selektiivisen indeksin (SI) arvojen perusteella. Käyttämällä SI-kynnysarvoa 10 EGFP-pohjaisen antiviraalimäärityksen herkkyys oli 100 % ja spesifisyys 54 %. Näin ollen EGFP-pohjaisen antiviraalisen määrityksen käyttö mahdollisten HPIV-3:n vastaisten yhdisteiden testaamiseen korkean läpimenon formaatissa voi olla perusteltua.

**Tulos**

Rekombinantti, tarttuva ihmisen parainfluenssavirus tyyppi 3, joka ilmentää tehostettua vihreää fluoresoivaa proteiinia käytettäväksi korkean läpimenon viruksenvastaisissa määrityksissä.

**Esimerkki 1.6299**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirus 2:n (SARS-CoV-2) aiheuttama koronavirustauti 2019 on julistettu kansainvälisesti merkittäväksi kansanterveydelliseksi hätätilanteeksi. Sydänvaurio oli hallitsevassa asemassa. Ei kuitenkaan tiedetty, ennustiiko N-terminaalinen pro B-tyypin natriureettinen peptidi (NT-proBNP) COVID-19-potilaiden lopputulosta. Tutkimukseen osallistui aluksi 102 potilasta, joilla oli vakava COVID-19-keuhkokuume jatkuvasta otoksesta. Kun kelvottomat tapaukset oli seulottu pois, 54 potilasta analysoitiin tässä tutkimuksessa. Tuloksissa havaittiin, että potilailla, joilla oli korkeampi NT-proBNP-taso (yli 88,64 pg/ml), oli suurempi sairaalakuoleman riski. Sen jälkeen, kun mahdolliset kanssaperustajat oli säädetty erillisissä tiloissa, NT-proBNP esitettiin sairaalakuoleman riippumattomana riskitekijänä potilailla, joilla oli vakava COVID-19. : medRxiv preprint Kuva 1. Potilaat, joilla oli vakava COVID-19. NT-proBNP:n vaikutus sairaalassa tapahtuvaan kuolemaan vuoden 2019 koronavirustautia sairastavilla (COVID-19) vastaanottimen toimintaominaiskäyrillä (ROC). NT-proBNP:n pinta-ala käyrän alla (AUC) oli 0,909. NT-proBNP:n paras raja-arvo sairaalakuoleman ennustamiseen oli 88,64 pg/ml, jonka herkkyys oli 100 % ja spesifisyys 66,67 %. 95 %CI, 95 prosentin luottamusväli. Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ei ole sallittua ilman lupaa. kirjoittajalle/rahoittajalle, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen ikuisesti. Tämän esipainoksen (jota ei ole vertaisarvioitu) tekijänoikeuden haltija on . https://doi.org/10. 1101 Kuva 2. Kaplan-Meierin kaaviot, joista käy ilmi niiden COVID-19-potilaiden kumulatiivinen eloonjäämisaste, jotka ositettiin kahteen ryhmään plasman NT-proBNP:n raja-arvon mukaan lähtötilanteessa (katkoviiva, NT-proBNP ≤88,64 pg/ml, n=24; yhtenäinen viiva, NT-proBNP >88,64 pg/ml, n=30; log-rank-testi trendin osoittamiseksi, P<0,001). Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ei ole sallittua ilman lupaa. kirjoittaja/rahoittaja, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen ikuisesti.

**Tulos**

NT-proBNP:n ennustearvo potilailla, joilla on vaikea COVID-19-oireyhtymä

**Esimerkki 1.6300**

Viruksen aiheuttamia toimintamutaatioita havaitaan yleisesti laboratoriossa, mutta ei tiedetä, kehittyvätkö nämä mutaatiot myös luonnossa. Tunnistimme bakteriofagin l isännän tunnistavasta proteiinista kaksi avainjäännöstä, jotka ovat välttämättömiä uuden reseptorin hyödyntämiseksi; molemmat jäännökset ovat toistuvasti kehittyneet ympäristönäytteistä peräisin olevissa homologeissa. Tuloksemme ovat todisteena laajalle levinneestä isännänsiirtoevoluutiosta luonnossa ja todiste siitä, että kokeet voidaan yhdistää genomiseen epidemiologiaan. Monet virukset voivat laajentaa isäntäaluettaan muutamalla mutaatiolla 1-3, jotka mahdollistavat uusien solureseptorien hyödyntämisen 2,3 . Tällaiset mutaatiot voivat olla ensimmäisiä askeleita kohti epidemian puhkeamista; tämä havainto on johtanut uusien patogeenien, kuten lintuinfluenssan 5-8 , koronavirusten 9,10 , HIV:n 11 ja ebolaviruksen 12 , isäntäalueen siirtymistä koskevien teoreettisten 4 , kokeellisten ja seurantatutkimusten laajentamiseen. Ihannetapauksessa laboratorioevoluutiokokeita voitaisiin käyttää nopeuttamaan ymmärrystä siitä, miten virukset laajentavat isäntäaluettaan. Ei ole kuitenkaan selvää, voiko laboratorion kemiallisissa ja fysikaalisissa ympäristöissä havaittu virusten evoluutio antaa luotettavaa tietoa luonnossa tapahtuvasta virusten evoluutiosta ainakin kahdesta syystä. Ensinnäkin evoluution kulku saattaa olla herkkä ympäristöolosuhteiden eroille laboratorion ja luonnon välillä. Toiseksi laboratoriokokeissa otokseen otettujen evoluutiopolkujen määrä on hyvin pieni verrattuna luonnon virusten monimuotoisuuteen, mikä johtuu virusten valtavasta koosta Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ilman lupaa kielletty.

**Tulos**

Virusperäiset gain-of-function-kokeet paljastavat luonnossa monipuolistuvan valinnan kohteena olevia jäännöksiä.

**Esimerkki 1.6301**

Kaikkien adenovirusvektoreiden onnistunut käyttö edellyttää, että käytetään serotyyppiä, jota kiertävät vasta-aineet eivät neutraloi. Pyrkimyksiä kehittää monipuolista serologisesti erilaisten adenovirusvektoreiden valikoimaa saattaa kuitenkin haitata tarve luoda solulinjoja, jotta olennaisten geenien poistamien vektoreiden onnistunut lisääntyminen olisi mahdollista. Tässä raportoidaan strategia kimeeristen adenovirusten rakentamiseksi, jonka avulla E1-poistetun HAdV-B:stä peräisin olevan adenovirusvektorin pelastaminen ja levittäminen voidaan toteuttaa käyttämällä olemassa olevia solulinjoja, kuten HEK 293 -solulinjaa. Lisäksi osoitetaan, että tätä strategiaa voidaan soveltaa laajemmin.

**Tulos**

Kimeeristen adenovirusvektoreiden pelastaminen serotyyppirepertuaarin laajentamiseksi.

**Esimerkki 1.6302**

Taustaa: Teaflaviinit ovat tärkeimpiä polyfenoleja mustassa teessä, joka on maailman eniten kulutettu tee. Niillä on monenlaisia biologisia vaikutuksia, kuten antioksidanttisia, kasvainten vastaisia, tulehdusta ehkäiseviä ja sydäntä suojaavia vaikutuksia. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli arvioida teaflaviinin suojaavaa vaikutusta glykoproteiinipitoisuuteen ja trikorboksyylihappokierron entsyymeihin runsasrasvaisella ruokavaliolla ja streptotsotosiinin aiheuttamalla diabeettisella rotalla, koska tästä näkökohdasta ei ollut tutkimusta. Urospuolisille albiino Wistar-rotille indusoitiin diabetes syöttämällä niille runsasrasvaista ruokavaliota ja ruiskuttamalla niille vatsansisäisesti streptotsotosiinia (40 mg/kg painokiloa kohti). Tulokset: Eri teaflaviiniannoksia (25, 50 ja 100 mg/kg painokiloa/vrk) annettiin suun kautta runsasrasvaisella ruokavaliolla ja streptotsotosiinilla indusoiduille diabeettisille rotille 30 päivän ajan glukoosia alentavan annoksen vahvistamiseksi. Annos 100 mg/kg painokiloa kohden osoitti kuitenkin merkittävää plasman glukoosipitoisuuden ja insuliiniresistenssin homeostaattisen mallin arvioinnin (Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance) alenemista ja samanaikaista insuliinin nousua verrattuna kahteen muuhun annokseen (25 ja 50 mg/kg painokiloa kohden). Näin ollen 100 mg painokiloa kohti vahvistettiin tehokkaaksi annokseksi ja sitä käytettiin jatkoanalyyseissä. Teaflaviinin anto palautti muuttuneen glykosyloituneen hemoglobiinin, hemoglobiinin ja glykoproteiinien (heksoosi, heksosamiini, fukoosi ja sialiinihappo) ja TCA-syklin entsyymien (isositraattidehydrogenaasi, α-ketoglutaraattidehydrogenaasi, sukkinaattidehydrogenaasi ja malaattidehydrogenaasi) muuttuneet tasot lähelle normaalia tasoa korjaamalla hyperglykemian. Diabeettisten rottien haimassa havaittiin parempia histologisia muutoksia teaflaviinihoidon jälkeen, mikä tuki tutkittuja biokemiallisia tekijöitä. Johtopäätökset: Teaflaviinin vaikutus eri parametreihin oli verrattavissa metformiinin - vertailulääkkeen - vaikutukseen. Nämä havainnot viittaavat siihen, että teaflaviini voi korvata kaupalliset lääkkeet, mikä voisi johtaa myrkyllisyyden ja sivuvaikutusten vähenemiseen sekä vähentää sekundaarisia valmistumisia.

**Tulos**

Teaflaviinin suojaava vaikutus glykoproteiinikomponentteihin ja TCA-syklin entsyymeihin runsasrasvaisella ruokavaliolla ja streptotsototsiinin aiheuttamalla diabeettisella rotalla.

**Esimerkki 1.6303**

Sian lisääntymis- ja hengitystieoireyhtymävirus (PRRSV) on yksi taloudellisesti tuhoisimmista ja pandemisimmista sikojen taudeista, jota nykyisillä menetelmillä on vaikea hallita. Spesifisten geenien estäminen pienellä häiritsevällä RNA:lla (siRNA) on osoittautunut mahdolliseksi hoitostrategiaksi virusinfektiota vastaan. Aiemmat tutkimukset ovat osoittaneet, että PRRSV:n ei-rakenteellisella proteiinilla 1α (nsp1α) voi olla tärkeä rooli PRRSV:n virulenssissa. Tässä työssä tutkittiin nsp1α:aan kohdistuvan siRNA:n vaikutusta PRRSV:n replikaatioon MARC-145-soluissa, ja tulokset osoittivat, että nsp1α:n yliekspressio lisäsi PRRSV:n replikaatiota ja että nsp1α:aan spesifisesti kohdistuvat siRNA:t estivät merkittävästi PRRSV:n replikaatiota MARC-145-soluissa. Yhteenvetona voidaan todeta, että tämä työ osoitti, että nsp1α voi olla PRRSV:n viruspatogeenisuustekijä ja että nimenomaan nsp1α:han kohdistuvat siRNA:t voivat olla uusi strategia PRRSV:n torjumiseksi tulevaisuudessa.

**Tulos**

Sian lisääntymis- ja hengitystieoireyhtymäviruksen (PRRSV) ei-rakenteelliseen proteiiniin 1 α (nsp1α) kohdistuva pieni häiritsevä RNA voi vähentää PRRSV:n lisääntymistä MARC-145-soluissa.

**Esimerkki 1.6304**

14 Zikavirus on yksijuosteinen, positiivisen sensorisen RNA:n sisältävä Flaviviridae-heimoon kuuluva virus, joka on 15 viime aikoina levinnyt nopeasti ihmisten keskuudessa läntisellä pallonpuoliskolla. Tässä raportoimme 16 ribosomiprofiloinnin avulla saadun korkearesoluutioisen kartan Zika-viruksen genomin ribosomaalisesta miehityksestä nisäkäs- ja hyönteissolujen 17 infektion aikana. Toisin kuin joissakin muissa flaviviruksissa 18 kuten Länsi-Niilin viruksessa, emme löydä todisteita huomattavasta frameshift-indusoidusta ribosomipudotuksesta 19 viruksen polyproteiinin translaation aikana, mikä osoittaa, että Zika-viruksen on käytettävä vaihtoehtoisia 20 mekanismeja katalyyttisesti aktiivisen viruspolymeraasin määrän vähentämiseksi. Osoitamme myös, että 21 suuri määrä ribosomilta suojattuja fragmentteja sijoittuu kehyksen sisällä kahteen aiemmin huomiotta jääneeseen ylävirran 22 avoimeen lukukehykseen (uORF), jotka alkavat CUG- ja UUG-kodoneista, millä on todennäköisesti seurauksia 23 polyproteiinin ilmentymisen tehokkuudelle. Zikaviruksen afrikkalaisissa isolaateissa nämä kaksi 24 uORF:ää on kummallista kyllä fuusioitunut kehyksen sisällä yhdeksi uORF:ksi. Rinnakkainen RNA-Seq-analyysi paljastaa, että 5' pää 25 . CC-BY 4.0 Kansainvälinen lisenssi on saatavissa osoitteesta

**Tulos**

Zika-viruksen translaatiomaisema nisäkäs- ja hyönteissolujen infektion aikana 2 3

**Esimerkki 1.6305**

Lasten pitkäaikaishoitolaitoksissa asuvilla lapsilla on monimutkaiset sairaudet ja lisääntynyt riski saada hoitoon liittyviä infektioita. Teimme takautuvan tutkimuksen tammikuun 2010 ja joulukuun 2013 välisenä aikana kolmessa pLTCF:ssä kuvaillaksemme HAI-tapauksia ja niihin liittyviä infektioiden torjuntatoimenpiteitä. Tutkimuksessa oli 62 taudinpurkausta, joihin liittyi 700 tapausta asukkaissa ja 250 tapausta henkilökunnassa. Yleisimpiä toimenpiteitä olivat eristämistoimenpiteet sekä koulutus ja täydennyskoulutus. Jatkotutkimuksissa olisi tarkasteltava toimenpiteitä, joilla rajoitetaan infektioiden leviämistä pLTCF-järjestelmissä.

**Tulos**

Terveydenhuoltoon liittyvien infektioiden puhkeaminen lasten pitkäaikaishoitolaitoksissa.

**Esimerkki 1.6306**

Taustaa: Aminohappojen tiedetään olevan keskeisiä tekijöitä suoliston proteiinien vaihtumisessa. Raportoimme hiljattain, että proteiinien enteraalinen anto stimuloi selvästi globaalia duodenaalista proteiinisynteesiä hiilihydraattiruokituilla terveillä ihmisillä, mutta erityisesti proteiineihin vaikuttaneet proteiinit ovat edelleen tuntemattomia. Tavoite: Tarkoituksenamme oli arvioida enteraalisen proteiinisyötön vaikutusta pohjukaissuolen limakalvon proteomiin hiilihydraattiruokitulla ihmisellä. Suunnittelu: Kuusi tervettä vapaaehtoista sai 5 tunnin ajan kahteen otteeseen ja satunnaisessa järjestyksessä joko pelkkää maltodekstriiniä (0,25 g $ kg 21 $ h 21 ), joka jäljitteli ruokailutilaa, tai maltodekstriiniä ja proteiinijauhetta (0,14 g proteiinia $ kg 21 $ h 21 ). Endoskooppiset pohjukaissuolen koepalanäytteet kerättiin ja pakastettiin analyysiin asti. Tämän jälkeen suoritettiin 2-ulotteinen polyakryyliamidigeelielektroforeesiin perustuva vertaileva proteomiikka-analyysi, ja eri tavoin ilmentyneet proteiinit (vähintään 61,5-kertainen muutos; Studentin t-testi, P , 0,05) tunnistettiin massaspektrometrisesti. Proteiinien ilmentymismuutokset vahvistettiin Western blot -analyysillä. Tulokset: Kolmekymmentäkaksi proteiinipistettä ilmentyi eri tavoin proteiinitoimituksen jälkeen verrattuna pelkkiin maltodekstriineihin: 28 ja 4 pistettä olivat vastaavasti ylös- tai alasreguloituneita. Näistä 22:sta tunnistetusta proteiinista 11 nousseet proteiinit olivat mukana joko sytoskeletissa (ezriini, moesiini, plastiini 1, lamin B1, vimentiini ja b-aktiini) tai proteiinien biosynteesissä (glutamyyliprolyyli-transfer RNA-syntetaasi, glutaminyyli-transfer RNA-syntetaasi, elongaatiotekijä 2, elongaatiotekijä 1d ja eukaryoottinen translaatio- ja initiaatiotekijä 3:n alayksikkö f). Päätelmät: Proteiinien enteraalinen annostelu muutti pohjukaissuolen limakalvon proteomia ja stimuloi pääasiassa sytoskelettiin ja proteiinien biosynteesiin osallistuvien proteiinien ilmentymistä. Nämä tulokset viittaavat siihen, että proteiinitoimitus voi vaikuttaa suolen morfologiaan stimuloimalla aktiinisytoskeletin uudelleenmuokkausta. Tämä tutkimus rekisteröitiin clinicaltrials.gov-sivustolle numerolla NCT01254110. Am J Clin Nutr 2015;102:359-67.

**Tulos**

Proteiinien antaminen suonensisäisesti lisää sytoskelettiin ja proteiinien biosynteesiin osallistuvien proteiinien ilmentymistä ihmisen pohjukaissuolen limakalvolla 1,2.

**Esimerkki 1.6307**

Taustaa. Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) aiheuttaa vakavan hengitystieinfektion, johon liittyy korkea (~35 %) kuolleisuus. MERS-CoV:n piikkiin kohdistuvien neutraloivien vasta-aineiden on osoitettu olevan terapeuttinen vaihtoehto tappavan taudin hoidossa. Menetelmät. Kuvaamme 13 voimakkaan ihmisen monoklonaalisen vasta-aineen (mAb), jotka kohdistuvat MERS-CoV:n piikkiproteiiniin (S), sukulinjan monimuotoisuutta ja neutraloivaa aktiivisuutta. Biologisia toimintoja arvioitiin elävällä MERS-CoV:llä, pseudotyyppihiukkasella ja sen muunnoksilla, ja rakenteellinen perusta määritettiin myös kiteytymisanalyysillä. Tulokset. MERS-CoV:tä vastaan vahvaa neutraloivaa aktiivisuutta osoittavista 13 mAb:stä kahdella immunoglobuliinin raskaan ketjun muuttuvasta alueesta (IGHV)1-69 peräisin olevalla raskaalla ketjulla (nimeltään MERS-GD27 ja MERS-GD33) oli voimakkain neutraloiva aktiivisuus pseudotyyppistä ja elävää MERS-CoV:tä vastaan in vitro. Mutageneesianalyysi osoitti, että MERS-GD27 ja MERS-GD33 tunnistivat eri alueita S-glykoproteiineissa, ja kahden mAb:n yhdistelmä osoitti synergististä neutralisointivaikutusta pseudotyyppistä MERS-CoV:tä vastaan. MERS-GD27:n neutraloinnin ja tunnistamisen rakenteellinen perusta paljasti, että sen epitooppi oli lähes täysin päällekkäinen reseptorin sitoutumiskohdan kanssa. Päätelmät. Tietomme tarjoavat uutta tietoa spesifisistä vasta-ainerepertuaareista ja neutralisaation molekyylitekijöistä luonnollisen MERS-CoV-infektion aikana ihmisillä. Tämä havainto tukee lisäponnisteluja uusien hoitomuotojen suunnittelemiseksi ja kehittämiseksi MERS-CoV-infektioiden torjumiseksi ihmisillä.

**Tulos**

Ultrapotentti ihmisen neutraloiva vasta-aine vastaa Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirusta vastaan toipuneelta potilaalta.

**Esimerkki 1.6308**

Varhaiset synnynnäiset ja solun sisäiset vasteet ovat olennaisen tärkeitä isäntäsolujen suojaamiseksi taudinaiheuttajilta. Virukset puolestaan ovat kehittäneet kehittyneitä mekanismeja tuottavien infektioiden aikaansaamiseksi ja isännän synnynnäisten immuunivasteiden torjumiseksi. Yhä useammat todisteet viittaavat siihen, että näillä viruksenvastaisilla tekijöillä voi olla kaksitahoinen tehtävä, sillä ne voivat estää suoraan viruksen replikaatiota sekä aistia ja välittää signaaleja, jotka indusoivat viruksenvastaisia sytokiineja. Viimeaikaiset tutkimukset ovat osoittaneet, että on olemassa uusia, vielä tuntemattomia mekanismeja, joilla virukset kiertävät isännän synnynnäisiä suojavasteita, mukaan lukien isännän ubikitiinijärjestelmän manipulointi. Virus estää viruksen antiviraalisia tekijöitä hajottamalla niitä ubikitiinistä riippuvaisesti, mikä on nousemassa kriittiseksi viruksenvastaisen vasteen kiertomekanismiksi. Lisäksi viimeaikaiset tutkimukset ovat paljastaneet uusia mekanismeja, joiden avulla viruksen koodaamat proteiinit estävät isännän proteiinien ubikitiini- ja ubikitiinin kaltaista modifikaatiota, jotka osallistuvat synnynnäisen immuunijärjestelmän signaalireitteihin. Tässä käsitellään viimeaikaisia havaintoja ja uusia strategioita, joita virukset ovat kehittäneet torjuakseen näitä varhaisia synnynnäisiä virusvastaisia puolustustoimia. Virusinfektion varhaisiin tapahtumiin kuuluvat kiinnittyminen isäntäsolun kalvoon ja soluun pääsy, viruksen RNA:n, DNA:n ja proteiinikompleksien vapautuminen solun sytoplasmaan ja isännän synnynnäisen immuunijärjestelmän varhainen tunnistaminen. Kussakin näistä vaiheista isäntäsolut ovat kehittäneet mekanismeja virusinfektion rajoittamiseksi. Virukset ovat puolestaan kehittyneet nopeasti torjumaan isännän puolustusta erilaisilla mekanismeilla. Monet viimeaikaiset tutkimukset ovat osoittaneet, että solutyyppi- ja isäntäkohtainen viruksenvastaisten tekijöiden ilmentyminen on tärkeää, koska se on ratkaisevaa

**Tulos**

Varhaisen virusvastuksen viruksen aiheuttamat kiertomekanismit, joihin liittyy ubikitiinireittien säätelyä NIH Public Access (NIH:n julkinen pääsy)

**Esimerkki 1.6309**

S-palmitoylaatio on proteiinien palautuva, entsymaattinen posttranslationaalinen modifikaatio, jossa palmitoyyliketju kiinnittyy kysteiinijäämään tioesterisidoksella. S-palmitoylaatio määrittää proteiinien toimintaa vaikuttamalla niiden assosiaatioon kalvojen kanssa, lokeroitumiseen kalvodomeeneihin, kulkeutumiseen ja vakauteen. Tässä katsauksessa keskitymme proteiinien S-palmitoylaatioon, joka on ratkaisevan tärkeää patogeenisten bakteerien ja virusten vuorovaikutuksessa isännän kanssa. Käsittelemme palmitoyloitujen proteiinien roolia bakteerien ja virusten isäntäsoluihin tunkeutumisessa sekä niitä proteiineja, jotka osallistuvat isännän vasteisiin infektiota vastaan. Tuomme esiin viimeaikaisia tietoja proteiinien S-palmitoyloitumisesta patogeeneissä ja niiden isännissä, jotka on saatu klikkauskemiaan ja asyyli-biotiininvaihtoon perustuvien menetelmien kehittämisen ansiosta, mikä mahdollistaa proteiinien lipidoitumisen proteomisen analyysin. Lisäksi käsitellään bakteerien lipopolysakkaridissa ja lipoproteiineissa esiintyvän palmitoyyliosan roolia, joka vaikuttaa infektiivisyyteen ja bakteerien tunnistamiseen synnynnäisen immuunijärjestelmän reseptoreilla.

**Tulos**

Proteiinien palmitoylaatio ja sen rooli bakteeri- ja virusinfektioissa

**Esimerkki 1.6310**

Pneumokokki-/lobaarinen keuhkokuume ja keuhkolaajentuma vaikuttavat merkittävästi lasten terveyteen maailmanlaajuisesti. Pneumokokki-/lobaaripneumoniaa ja empyseemaa ei ole tutkittu epidemiologisesti Taiwanissa, Aasian keskituloisessa väestössä. Taiwanin kansallisen sairausvakuutustietokannan avulla keräsimme ja analysoimme alle 18-vuotiaiden lasten pneumokokki-/lobaarikeuhkokuumeeseen ja empyeemaan liittyvistä hoitovaatimuksista saatuja tietoja vuosilta 1997-2004. Vuotuisen väestöpohjaisen ilmaantuvuuden havaitsimme kasvaneen merkittävästi vuosi vuodelta, ja alle viisivuotiaiden lasten pneumokokki-/ lobarkeuhkokuumeen ja empyseeman keskimääräiset vuotuiset ilmaantuvuudet olivat 44,9 ja 10,5 tapausta 100 000 lasta kohden vuodessa. Noin 64 prosenttia pneumokokki-/ lobarkeuhkokuumetta ja empyseemaa sairastavista lapsista oli alle 5-vuotiaita. 4-5-vuotiailla lapsilla esiintyi eniten sekä pneumokokki-/lobaaripneumoniaa että empyseemaa. Esiintyvyys oli korkein joka kevät. Empyeemalla komplisoituneen pneumokokki/lobaarisen keuhkokuumeen aiheuttaman kuolemantapauksen odds ratio oli 118 (95 prosentin luottamusväli 28-492). Yhteenvetona voidaan todeta, että pneumokokki-/lobaaripneumonian ja empyseeman esiintyvyys alle viisivuotiaiden lasten keskuudessa Taiwanissa oli 44,9 ja 10,5 tapausta 100 000 lasta kohti vuodessa, ja 4-5-vuotiailla lapsilla oli eniten sekä pneumokokki-/lobaaripneumoniaa että empyseemaa. Tämä väestö saattaisi hyötyä yleisestä pneumokokkirokotusohjelmasta, joka kattaisi noin 70 prosenttia alle 5-vuotiaiden taiwanilaisten lasten invasiivisista pneumokokkitautitapauksista.

**Tulos**

Sairaalahoitoon otettujen lasten pneumokokki-/lobaarikeuhkokuumeen ja keuhkolaajentuman epidemiologia vuosina 1997-2004 Taiwanissa.

**Esimerkki 1.6311**

Callithrix jacchus -marmosetin B-lymfosyytit voidaan immortalisoida infektoimalla ne Epstein-Barr-viruksella (EBV) in vitro (Desgranges ym., 1976). C. jacchus on altis useiden malariaparasiittilajien verivaiheiden tartunnalle, mukaan lukien MVF1-linja (Mitchell ym., 1988), josta se toipuu ja osoittaa immuniteettia uusintatartuntaa vastaan. Näitä kahta ilmiötä hyödyntämällä on tuotettu ja kloonattu EBV:llä muunnettuja marmosettilymfoblastoidisolulinjoja, jotka erittävät vasta-aineita malariaparasiitin antigeeneille. Uskomme, että tämä on ensimmäinen kerta, kun monoklonaalisia vasta-aineita (MAbs) on saatu aikaan tavallisista marmoseteista. Koska lukuisat ja erilaiset ihmisen patogeenit voivat infektoida tämän pienen kädellisen laboratoriossa, nämä menetelmät voivat osoittautua yleisesti sovellettaviksi sellaisten MAbien tuottamiseen, joiden spesifisyys perustuu infektioon liittyviin immuunivasteisiin.

**Tulos**

Epstein-Barr-viruksella transformoitujen marmosettien (Callithrixjacchus) lymfosyyttien monoklonaaliset vasta-aineet, jotka ovat immuuneja malariaa vastaan.

**Esimerkki 1.6312**

Kiinan 11 lajin 489 lepakon joukosta löydettiin kolme uutta paramyxovirusta [Tuhokovirus 1, 2 ja 3 (ThkPV-1, ThkPV-2 ja ThkPV-3)] 15 Leschenault's rousettes -lepakosta. Fylogeneettisesti nämä kolme virusta ovat läheisimmin sukua Menangle- ja Tioman-virukselle. Genomianalyysi osoitti, että niiden 3'-johtosekvenssit ovat ainutlaatuisia, koska niissä on 5. ja 6. kohdassa AG:n sijasta GA. Toisin kuin Menangle- ja Tioman-viruksessa, niissä on rubulavirusten kiinnittymisproteiineille tyypillisiä neuraminidaasiaktiivisuuden kannalta keskeisiä aminohappoja. ThkPV-1:n genomi on suurin rubulavirusgenomi. Näiden kolmen viruksen välisiin ainutlaatuisiin piirteisiin kuuluvat täydellisesti toisiaan täydentävät 5'-trailer- ja 3'-leader-sekvenssit ja ainutlaatuinen kysteiinipari ThkPV-1:n kiinnittymisproteiinissa, G +1-asemassa kaikissa ThkPV-2:n ennustetuissa mRNA-sekvensseissä sekä aminohappojen vaihdot ThkPV-3:n nukleokapsidin konservoituneessa N-terminaalisessa motiivissa. Fosfoproteiinigeenin mRNA-tuotteiden analyysi vahvisti mRNA:n muokkauksen. Virusten vasta-aineita havaittiin 48-60 prosentissa Leschenault'n rousetteista.

**Tulos**

Kolmen uuden paramyxoviruksen, Tuhoko-viruksen 1, 2 ja 3, tunnistaminen ja täydellinen genomin analyysi Kiinan hedelmälepakoissa.

**Esimerkki 1.6313**

Jotta voidaan tyydyttää käyttäjän tarve löytää ja ymmärtää tapahtuman kokonaiskuva tehokkaasti ja vaikuttavasti, tässä asiakirjassa formalisoidaan ajallisen tapahtumahakujen ongelma ja ehdotetaan tapahtumasuhteiden analyysikehystä käyttäjän kyselyihin perustuville tapahtumahakuille. Määrittelemme kolmenlaisia tapahtumasuhteita: ajallisia, sisällöllisiä riippuvuussuhteita ja tapahtumaviittauksia, joiden avulla voidaan tunnistaa, missä määrin komponenttitapahtuma on riippuvainen toisesta kohdetapahtuman (eli kyselytapahtuman) kehityksessä. Hakutulokset järjestetään temporaaliseksi tapahtumakartaksi (TEM), joka toimii kokonaiskuvana tapahtuman kehityksestä tai evoluutiosta osoittamalla tapahtumien väliset riippuvuussuhteet. TEM:ssä olevien tapahtumasuhteiden perusteella ehdotamme lisäksi menetelmää, jolla mitataan tapahtumien tärkeysasteita, jotta löydetään kyselyn kannalta tärkeät osatapahtumat, sekä useita TEM:ään liittyviä algebrallisia operaattoreita, joiden avulla käyttäjät voivat tarkastella kohdetapahtumaa. Todellisella aineistolla tehdyt kokeet osoittavat, että menetelmämme on parempi kuin perusmenetelmä Event Evolution Graph (EEG), ja se voi auttaa löytämään tiettyjä uusia suhteita, joita aiemmat menetelmät ja jopa inhimilliset kommentoijat eivät ole havainneet. ✩ Tämä artikkeli on jatkoversio konferenssijulkaisusta, joka on julkaistu artikkelissa Cai et al. (2013) [1], ja joitakin merkintöjä, määritelmiä, muotoiluja, kuvauksia, kuvia, taulukoita ja niin edelleen käytetään uudelleen, jotta uudet panokset saadaan sujuvasti tässä artikkelissa. Tämän artikkelin uudet kontribuutiot ovat (1) uudet menetelmät tapahtumien luokitteluun ja ajallisen tapahtumakartan rakentamiseen; (2) tapahtumakartan algebralliset operaatiot; (3) enemmän esimerkkejä, tapaustutkimuksia ja metriikoita kokeiluissa; ja (4) kattavampi kirjallisuuskatsaus ja kuvaukset.

**Tulos**

Tapahtumakarttoihin ja -suhteisiin perustuvat ajalliset tapahtumahaut ✩.

**Esimerkki 1.6314**

20 Tässä työssä pyrittiin arvioimaan Brasiliassa viljeltyjen Passiflora-suvun 21 kasvilajien sytotoksista potentiaalia syöpäsoluja vastaan ja tunnistamaan 22 lupaavimman uutteen aiheuttaman sytotoksisuuden mekanismi. Lehtiuutteita 14 Passiflora (P.) -lajista saatiin ASE:tä ja 23 in vitro -sytotoksisuutta arvioitiin syöpäsolulinjoja vastaan MTT-määrityksellä yhdellä . CC-BY 4.0 Kansainvälinen lisenssi kirjoittaja/antaja. Se on saatavissa lisenssillä Tämän esipainoksen (jota ei ole vertaisarvioitu) tekijänoikeuden haltija on . https://doi.org/10.1101/337253 doi: bioRxiv preprint 2 24 pitoisuus 50 μg/ml. Lisäksi P. alata (ELPA) -lehtiuutteiden IC 50 määritettiin 25 sekä kasvainsoluja (HCT-116, SF-295, OVACAR-8 ja HL-60) että ei-kasvainsoluja 26 (PBMC) vastaan. ELPA:n flavonoidit tunnistettiin HPLC-DAD:llä ja UHPLC-MS/MS:llä. 27 Morfologisissa analyyseissä käytettiin valo- ja fluoresenssimikroskopiaa ja solusykli- ja 28 DNA-fragmentaatioanalyyseissä virtaussytometriaa, jotta voitiin määrittää ELPA:n HL-60:ssä aiheuttaman 29 solukuoleman mekanismi. Arvioiduista Passiflora-lehtiuutteista ELPA erottui korkealla 30 sytotoksisella aktiivisuudellaan, ja sen jälkeen tulivat P. capsularis ja P. quadrangulares, joiden sytotoksinen aktiivisuus vaihteli korkealla ja matalalla 31 tasolla. ELPA:lla oli korkea sytotoksinen teho HL-60:ssä (IC 50 19,37 μg/ml), mutta sillä ei ollut 32 sytotoksista vaikutusta PBMC:hen, mikä viittaa selektiivisyyteen kasvainsoluja kohtaan. ELPA:n sytotoksinen 33 aktiivisuus saattaa hyvinkin liittyä kymmenen tunnistetun flavonoidin läsnäoloon. ELPA:lla käsitellyissä 34 soluissa esiintyi apoptoosille ja nekroosille tyypillisiä tunnusmerkkejä, ja solusykli pysähtyi 35 G2/M-vaiheeseen. Päätelmät: Tutkituista lajeista ELPA:lla oli suurempi 36 sytotoksinen aktiivisuus, mikä on mahdollisesti seurausta flavonoidien synergistisestä vaikutuksesta, joka aiheuttaa solukuoleman 37 apoptoosin ja nekroosin kautta.

**Tulos**

Brasiliassa viljeltyjen Passiflora 2 -suvun uutteiden sytotoksisen potentiaalin arviointi syöpäsoluja vastaan.

**Esimerkki 1.6315**

Onkosyyttinen viroterapia on lupaava syövän geeniterapian muoto, jossa käytetään luonnon omia aineita pahanlaatuisten solujen löytämiseen ja tuhoamiseen. Tämän katsauksen tarkoituksena on esitellä tätä hyvin ajankohtaista tutkimusalaa ja tuoda esiin joitakin kirjallisuudessa liikkuvia nykyisiä havaintoja, oivalluksia ja ajatuksia. Olemme pyrkineet mainitsemaan mahdollisimman monta erilaista onkolyyttistä virusta, jotta saisimme laajemman kuvan syövän torjunnasta virusten avulla. Uusimpia lisäyksiä onkolyyttisten virusten paneeliin ovat muun muassa lintujen adenovirus, foamy-virus, myksoomavirus, yaba-like-taudin virus, echovirus tyyppi 1, naudan herpesvirus 4, Saimiri-virus, kissan panleukopenia-virus, Sendai-virus ja koronavirukset, jotka eivät kuulu ihmisiin. Vaikka viroterapia on lupaavaa, sen tiellä on vielä monia esteitä, jotka on ratkaistava, kuten viruksille vastustuskykyisten kasvainsolujen syntyminen.

**Tulos**

Minikatsaus Onkolyyttiset virukset syövän hoidossa

**Esimerkki 1.6316**

Perinteisiä kiinalaisia lääkkeitä koskevia tietoja sisältäviä tietokantoja tarkastellaan niiden sisällön ja hyödyllisyyden kannalta kiinalaisia kasviperäisiä lääkkeitä koskevassa in silico -tutkimuksessa, samoin kuin erilaisia proteiinitietokantoja ja tällaisissa tutkimuksissa käytettäviä ohjelmistoja. Kiinalaisten kasviperäisten lääkeaineiden bioinformatiikan ja "omics"-tutkimuksiin käytettävissä olevista ohjelmistoista tehdään yhteenveto, ja kiinalaisten kasviperäisten lääkeaineiden seulonnassa käytetyistä erilaisista in silico -menetelmistä, kuten luokittelupuista, neuroverkoista, tukivektorikoneista, telakointi- ja käänteis-telakointialgoritmeista, annetaan kriittinen arvio. Lisäksi annetaan suosituksia kiinalaisten kasviperäisten lääkkeiden tulevista in silico -tutkimuksista. (D.J. Barlow). On elintärkeää, että kaikkien kiinalaisten kasvirohdosvalmisteiden in-silico-tutkimusten kannalta niihin liittyvät fytokemialliset tiedot ovat saatavilla virtuaaliseulontaan tai muihin tietotekniikkasovelluksiin soveltuvassa muodossa. Viime vuosina kiinalaisista yrteistä saatavilla olevat tiedot ovat lisääntyneet 0378-8741

**Tulos**

In-silico-tutkimukset kiinalaisten kasviperäisten lääkkeiden tutkimuksessa: in-silico -menetelmien ja fytokemiallisten tietolähteiden arviointi sekä katsaus tähänastiseen tutkimukseen.

**Esimerkki 1.6317**

Tämän hankkeen tavoitteena oli määritellä paremmin hiiren hepatiittiviruksen (MHV) Nsp15:n (mNsp15) endoribonukleaasiaktiivisuuden ja sen roolin välinen suhde virusinfektiossa. Molekyylimallinnus osoitti, että mNsp15:n katalyyttiset jäännökset ovat päällekkäisiä sen vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen ortologin kanssa. Alaniinisubstituutiot mNsp15:n katalyyttisen taskun kolmessa keskeisessä jäännöksessä (H262, H277 ja G275) sekä kaksoismutantti (H262P ja H277A) tuottivat proteiineja, joiden endoribonukleaasiaktiivisuus oli huomattavasti vähentynyt mutta havaittavissa. Lisäksi nämä mutanttivalkuaiset osoittivat alhaisempaa uridylaatin pilkkomisspesifisyyttä kuin villityypin (WT) mNsp15. Nämä mutaatiot sisällytettiin onnistuneesti viruksiin, joiden nimet olivat vH262A, vH277A, vG275A ja vH262P؉H277A. Kaikki neljä mutanttivirusta muodostivat läpimitaltaan samanlaisia plakkeja kuin MHV-A59 1000 (WT-virus) useissa eri solulinjoissa. Mielenkiintoista oli, että viruksia, joissa oli mutaatio ei-katalyyttisessä jäännöksessä, D324A, ei saatu talteen toistuvista yrityksistä huolimatta, ja D324A-mutaatiota sisältävän mNsp15:n ilmentäminen Escherichia coli -bakteerissa johti liukenemattomaan proteiiniin. VH262A:sta saadut plakit tuottivat noin 6-13-kertaisesti vähemmän PFU:ta kuin WT-viruksesta saadut plakit. Solut, jotka infektoitiin mNsp15-mutaatioviruksilla, keräsivät vähemmän plus- ja miinussense-subgenomista RNA:ta ja piikkiproteiinia kuin WT-virus. mNsp15:n ilmentäminen trans-ulkoisesti transienttisella transfektiolla palautti osittain vH262A:n RNA-synteesin. Nämä tulokset osoittavat, että mNsp15:tä tarvitaan MHV:n optimaaliseen infektioon.

**Tulos**

Biokemialliset ja geneettiset analyysit hiiren hepatiittiviruksen Nsp15-endoribonukleaasi ᰔ Ladattu osoitteesta

**Esimerkki 1.6318**

Elintarvikevälitteisten tautitapausten tutkimuksista saatujen tietojen perusteella kuluttajia voidaan valistaa riskikäyttäytymisen vähentämisestä, jotta voidaan vähentää riskiä sairastua elintarvikevälitteisiin tauteihin. Elintarviketurvallisuutta valvovat viranomaiset tarvitsevat myös yhteenvetoa tautitapauksia koskevista tiedoista, koska nämä tiedot osoittavat, missä nykyistä elintarvikehuoltojärjestelmää olisi parannettava. Jotta saataisiin tietoa elintarvikeperäisten tartuntatautien epidemiologiasta Kiinassa, Kiinan kansalliseen elintarvikeperäisten tartuntatautien seurantaverkostoon ilmoitetuista elintarvikeperäisistä tartuntataudeista tehtiin yhteenveto 12 valvontaprovinssista, joihin kuuluu 43 prosenttia Kiinan väestöstä. Vuosina 2003-2008 ilmoitettiin 2795 FBDO-tapausta, jotka johtivat 62559 sairastumiseen, 31261 sairaalahoitoon ja 330 kuolemaan. Taudinpurkauksen koko vaihteli 2-464 tapauksesta, ja mediaani oli 14 tapausta. Taudinpurkausten määrä oli laskenut 1,37:stä 1 miljoonaa asukasta kohti vuonna 2003 0,46:een 1 miljoonaa asukasta kohti vuonna 2008. Niistä 2176 taudinpurkauksesta, joilla oli yksi tunnettu etiologia, bakteerit (1051 taudinpurkausta, 48 %), ihmisen aiheuttamat kemialliset vaaratekijät (550 taudinpurkausta, 25 %) sekä eläin- ja kasvimyrkyt (536 taudinpurkausta, 25 %) olivat pääaiheita. Vain yksi taudinpurkaus johtui viruksesta. Niistä 1930 taudinpurkauksesta, joihin liittyi yksi hyödyke, ilmoitettiin useimmin kasvisperäisiä elintarvikkeita (930 taudinpurkausta, 48 %) ja seuraavaksi eniten eläinperäisiä elintarvikkeita (590 taudinpurkausta, 31 %). Taudinpurkauksia esiintyi useimmiten yksityisasunnoissa (32 %), työpaikkaruokaloissa (21 %) ja ravintoloissa (17 %). Yleisin tekijä, joka ilmoitettiin 2190 taudinpurkauksessa, joihin tiedettiin vaikuttaneen, oli virheellinen ruoanvalmistus (510 taudinpurkausta, 23 %), saastunut ainesosa (503 taudinpurkausta, 23 %), ristikontaminaatio (475 taudinpurkausta, 22 %) ja virheellinen varastointi (295 taudinpurkausta, 13 %). FBDO:n katsotaan olevan edelleen merkittävä kansanterveysongelma Kiinassa.

**Tulos**

Elintarvikeperäisten tautitapausten seuranta Kiinassa vuosina 2003-2008.

**Esimerkki 1.6319**

Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV), Porcine Delta Corona Virus (PDCoV) ja Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV) ovat merkittäviä uhkia sikojen terveydelle, ja saastuneella rehulla on merkitystä virusten leviämisessä. Tutkimuksemme tavoitteena oli luonnehtia PEDV:n, PDCoV:n ja TGEV:n inaktivointia eri rehuainemateriaaleissa. Näytteet täysrehusta, ruiskukuivatusta sikaplasmasta, lihajauhosta, liha- ja luujauhosta, verijauhosta, maissista, soijajauhosta ja maissin kuivattua tislejyvää liukoisine jyvineen punnittiin (5 g/näyte) tuikapulloihin ja niihin inokuloitiin 1 ml PEDV:tä, PDCoV:tä tai TGEV:tä. Näytteitä inkuboitiin huoneenlämmössä enintään 56 päivän ajan. Aliquotit otettiin eri ajankohtina, minkä jälkeen valmistettiin 10-kertaiset sarjalaimennokset ja inokuloitiin soluviljelmiin eloonjääneen viruksen määrän määrittämiseksi. Inaktivoitumiskinetiikka määritettiin käyttäen Weibull-mallia, joka arvioi delta-arvon, joka ilmaisee ajan, joka tarvitaan viruskonsentraation pienentämiseen yhdellä logilla. Eri ainesosien delta-arvoja verrattiin ja analysoitiin niiden ravintoainekoostumuksen osalta. Soijajauholla oli suurin delta-arvo (7,50 päivää) PEDV:lle (P < 0,06) verrattuna kaikkiin muihin ainesosiin. PDCoV:n (42,04 päivää) ja TGEV:n (42,00 päivää) delta-arvot olivat soijajauhossa korkeat (P < 0,001). Kosteuspitoisuuden ja delta-arvon välillä oli kohtalainen korrelaatio PDCoV:n (r = 0,49, P = 0,01) ja TGEV:n (r = 0,41, P = 0,02) osalta. Myös TGEV:n eloonjäämisen ja eetteriuutepitoisuuden välillä oli kohtalainen negatiivinen korrelaatio (r = -0,51, P = 0,01). Yhteenvetona voidaan todeta, että nämä tulokset osoittavat, että PDCoV:n ja TGEV:n ensimmäinen log-arvojen väheneminen kestää eniten aikaa soijajauhossa. Tämän lisäksi kosteus ja eetteripitoisuus näyttävät olevan tärkeä tekijä viruksen selviytymiselle rehun ainesosissa.

**Tulos**

Sian koronavirusten pysyvyys ympäristössä rehussa ja rehun ainesosissa

**Esimerkki 1.6320**

Tarkoitus: Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli arvioida, onko lapsilla, joilla on rinovirusinfektion (RV) aiheuttama hengityksen vinkuminen, ja lapsilla, joilla on hengitystieinfektion (RSV) aiheuttama hengityksen vinkuminen, erilaiset sytokiiniprofiilit akuutissa vaiheessa. Menetelmät: Syyskuun 2011 ja toukokuun 2012 välisenä aikana alempien hengitysteiden infektion (LRTI) saaneista imeväisistä 88 vahvistettiin käänteisen transkriptiopolymeraasiketjureaktion avulla ja heidät otettiin sairaalaan. Systeemisiä interferoni-gamma (IFN-γ), interleukiini (IL)-2, IL-12, IL-4, IL-5, IL-13 ja Treg-tyypin sytokiinivasteet (IL-10) tutkittiin multiplex-määrityksellä käyttäen akuutin vaiheen seeruminäytteitä. Tulokset: 88 potilaasta 38:lla oli RV-infektio (RV-ryhmä) ja 50:llä RSV-infektio (RSV-ryhmä). RV-ryhmässä IFN-γ- ja IL-10-pitoisuudet olivat korkeammat potilailla, joilla oli hengityksen vinkumista, kuin potilailla, joilla ei ollut hengityksen vinkumista (P=0,022 ja P=0,007). RSV-ryhmässä IFN-γ- ja IL-10-pitoisuuksien erot eivät saavuttaneet tilastollista merkitsevyyttä niiden potilaiden välillä, joilla oli hengityksen vinkuminen, ja niiden välillä, joilla ei ollut hengityksen vinkumista (P=0,105 ja P=0,965). IFN-γ- ja IL-10-pitoisuudet eivät eronneet merkitsevästi hengityksen vinkumista sairastavan RV-ryhmän ja hengityksen vinkumista sairastavan RSV-ryhmän välillä (P=0,155 ja P=0,801), kun taas hengityksen vinkumista sairastamattoman RV-ryhmän ja hengityksen vinkumista sairastamattoman RSV-ryhmän välillä oli merkitsevä ero (P=0,019 ja P=0,035). Päätelmät: Verrattuna RSV:n aiheuttamaan LRTI:hen RV:n aiheuttama LRTI yhdistettynä hengityksen vinkumiseen osoitti samanlaisia IFN-γ- ja IL-10-tasoja, joilla voi olla tärkeä säätelytoiminto.

**Tulos**

Sytokiinien ilmentymisprofiilien vertailu imeväisillä, joilla on rinoviruksen aiheuttama alempien hengitysteiden infektio, johon liittyy tai ei liity hengityksen vinkunaa: vertailu hengitystieoireyhtymävirukseen.

**Esimerkki 1.6321**

Kohdepopulaation ajallisten muutosten arvioiminen fylogeneettisten tai laskentatietojen perusteella on tärkeä ongelma ekologiassa ja epidemiologiassa. Luotettavat estimaatit voivat tarjota keskeisiä tietoja kyseisen populaation monimuotoisuuteen tai rakenteeseen vaikuttavista ilmastollisista ja biologisista tekijöistä ja todistaa sen tulevaa kasvua tai vähenemistä koskevia hypoteeseja. Tartuntatautisovelluksissa epidemiassa tartunnan saaneet yksilöt muodostavat kohdepopulaation. Uudistumismalli arvioi epidemian efektiivisen lisääntymisluvun R sen havaittujen tapausten lukumäärän perusteella. Taivaanrunkomallilla päätellään efektiivinen populaatiokoko N, joka perustuu kyseisestä epidemiasta poimittujen sekvenssien fylogeniaan. Käytännössä R mittaa epidemian meneillään olevaa kasvua, kun taas N kertoo historiallisesta tapausmäärästä. Vaikka molemmat mallit ratkaisevat erillisiä ongelmia, niiden estimaattien luotettavuus riippuu p-ulotteisista kappalemääräisesti vakioiduista funktioista. Jos p on määritetty väärin, malli saattaa aliarvioida merkittäviä muutoksia tai yliarvioida kohinaa ja edistää väärää käsitystä epidemiasta, mikä saattaa ohjata virheellisesti interventiopolitiikkaa tai antaa väärää tietoa ennusteista. Yllättävää kyllä, p:n optimoimiseksi ei ole olemassa avointa mutta periaatteellista lähestymistapaa. Yleensä p asetetaan heuristisesti tai sitä valvotaan monimutkaisten algoritmien avulla. Esittelemme laskettavissa olevan ja tulkittavissa olevan p-valintamenetelmän, joka perustuu informaatioteorian minimikuvauspituuden (MDL) formalismiin. Toisin kuin monissa tavanomaisissa mallinvalintamenetelmissä, MDL:ssä otetaan huomioon tilastollinen lisäkompleksisuus, joka aiheutuu siitä, miten parametrit ovat vuorovaikutuksessa keskenään. Tämän seurauksena menetelmämme optimoi p:n niin, että R- ja N-estimaatit mukautuvat asianmukaisesti käytettävissä olevaan dataan. Se myös päihittää vertailukelpoiset Akaiken ja Bayesin informaatiokriteerit useissa luokitusongelmissa. Lähestymistapamme edellyttää jonkin verran tietoa parametriavaruudesta ja paljastaa uudistumis- ja taivaanrannan mallien yhtäläisyydet.

**Tulos**

Adaptiivinen estimointi epidemian uusiutumista ja fylogeneettisiä skyline-malleja varten.

**Esimerkki 1.6322**

Virusrokotteilla on ollut huomattavia myönteisiä vaikutuksia ihmisten ja kotieläinpopulaatioiden terveyteen. Vaikuttavista rokotusmenestyksistä huolimatta monia tartuntatauteja ei kuitenkaan voida vielä tehokkaasti hallita tai hävittää rokottamalla, usein siksi, että riittävää osaa väestöstä on mahdotonta rokottaa. Molekyylibiologian viimeaikaiset edistysaskeleet viittaavat siihen, että vuosisatoja vanha menetelmä, jossa rokotteet annetaan yksilöllisesti, saattaa olla suuren vallankumouksen kynnyksellä. Geenitekniikan avulla on mahdollista saada aikaan elävä, tarttuva rokote. Valitettavasti hyvin tarttuvan rokotteen vapauttaminen aiheuttaa huomattavia evoluutioriskejä, kuten korkean virulenssin palautuminen, kuten on todettu suun kautta otettavan poliorokotteen osalta. Vaihtoehtoinen ja paljon turvallisempi lähestymistapa on turvautua geneettisesti muunnettuihin ja heikosti tarttuviin rokotteisiin, joissa evoluution palautumisen mahdollisuus on pienempi. Arvioimme tässä matemaattisten mallien avulla tällaisten heikosti tarttuvien rokotteiden mahdollista tehokkuutta. Tuloksemme osoittavat, että rokotteet, joilla on jopa vaatimaton kyky tarttua, voivat merkittävästi vähentää tartuntatautien esiintyvyyttä ja helpottaa hävittämispyrkimyksiä. Näin ollen heikosti tarttuvat rokotteet voisivat olla tärkeä väline tartuntatautien hallitsemiseksi luonnonvaraisissa ja kotieläinpopulaatioissa ja uusien tartuntatautien riskien vähentämiseksi ihmisissä.

**Tulos**

Tartuntatautien hävittäminen heikosti tarttuvien rokotteiden avulla

**Esimerkki 1.6323**

Sian parvovirus (PPV) voi aiheuttaa sikojen lisääntymiskyvyttömyyttä, mikä aiheuttaa taloudellisia menetyksiä alalle. Diammoniumglysyrritinaatin (DG) antiviraalisia vaikutuksia on raportoitu useisiin eläinviruksiin, mutta sitä ei ole vielä testattu PPV:hen. Tässä tutkimuksessa tutkittiin DG:n antiviraalista vaikutusta PPV:n aiheuttamaan sian kivessolujen infektioon käyttäen empiirisesti määritettyä, myrkytöntä DG:n pitoisuutta ja kolmea erilaista koejärjestelyä: 1) viruksen esikäsittely ennen infektiota, 2) solujen esikäsittely ennen infektiota ja 3) viruksen infektoimien solujen suora käsittely. Tulokset osoittivat, että DG:llä on voimakas estovaikutus PPV:hen, kun virusta käsiteltiin ennen inkubointia ST-solujen kanssa, ja että viruksen infektiivisyys väheni annosriippuvaisesti. Tulokset vahvistettiin epäsuorilla immunofluoresenssimäärityksillä ja reaaliaikaisella kvantitatiivisella PCR:llä. Lisäksi kontrollina käytettiin deoksisikolaattia, jotta voitiin sulkea pois se mahdollisuus, että DG toimisi detergenttinä PPV:n infektiivisyyden estämiseksi. Tutkimus osoittaa selvästi, että DG:llä on suora PPV:n vastainen vaikutus in vitro. Pengchong Li ja Hao Zou ovat ensimmäiset kirjoittajat.

**Tulos**

Diammoniumglysyrritinaatin antiviraalinen vaikutus sikojen parvoviruksen aiheuttamaan solutartuntaan

**Esimerkki 1.6324**

Viimeisten 15 vuoden aikana on ilmaantunut useita uusia hengitystievirusten aiheuttamia tartuntatauteja, joilla on epidemiallinen potentiaali ja jotka uhkaavat maailmanlaajuista terveysturvaa. Vuonna 2003 WHO antoi maailmanlaajuisen hälytyksen tuntemattomasta uudesta taudista, joka myöhemmin nimettiin vakavaksi akuutiksi hengitystieoireyhtymäksi (SARS). Uuden koronaviruksen (SARS-CoV) aiheuttama tauti levisi nopeasti maailmanlaajuisesti ja aiheutti yli 8000 tapausta ja 800 kuolemantapausta yli 30 maassa, ja sillä oli huomattavia taloudellisia vaikutuksia. Sittemmin on ilmaantunut useita muita viruksen aiheuttamia hengitystiepatogeeneja, kuten influenssaviruksia (lintuinfluenssavirukset H5N1, H7N9 ja H10N8; influenssa A:n H3N2-virusvariantti), ihmisen adenovirus-14 ja Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV). Vastauksena tähän on kehitetty erilaisia seurantajärjestelmiä hengitystieinfektioiden ilmaantumisen seuraamiseksi. Näitä ovat oireyhtymien tunnistamiseen perustuvat järjestelmät, verkkopohjaiset järjestelmät, järjestelmät, jotka keräävät terveystietoja terveydenhuollon laitoksilta (kuten päivystyspoliklinikoilta ja perhelääkäreiltä), ja järjestelmät, jotka perustuvat potilaiden omiin ilmoituksiin. Tarvitaan tehokkaampia kansallisia, alueellisia ja kansainvälisiä seurantajärjestelmiä, jotta voidaan tunnistaa nopeasti kehittymässä olevat hengitystieepidemiat, taudit, joilla on epidemiapotentiaalia, niiden erityinen mikrobiologinen aiheuttaja, alkuperä, hankintatapa ja tartuntadynamiikka.

**Tulos**

Sarja Kehittyvät hengitystieinfektiot 1 Kehittyvien hengitystievirusten seuranta

**Esimerkki 1.6325**

julkisin varoin rahoitetut arkistot, kuten WHO:n COVID-tietokanta, joissa on oikeus rajoituksettomaan tutkimukselliseen uudelleenkäyttöön ja analyyseihin missä tahansa muodossa ja millä tahansa tavalla, kunhan alkuperäinen lähde mainitaan. Elsevier myöntää nämä oikeudet ilmaiseksi niin kauan kuin COVID-19-resurssikeskus on aktiivinen. braz j infect dis 2 0 2 0;2 4(1):73-80 Avohoitolapset Rokotteen linjalinjat fylogenia kohortti a b s t r a c t Johdanto: Influenssa on maailmanlaajuisesti merkittävä sairauskuolleisuuden aiheuttaja. Vaikka ääri-ikäisillä ihmisillä on suurempi komplikaatioriski, influenssaa on tutkittu useammin vanhuksilla kuin lapsilla ja avohoitopotilailla kuin avohoitopotilailla. Vuosittainen rokottaminen kolmi- tai nelivalenttisilla rokotteilla on tärkein strategia influenssan torjumiseksi. Tavoitteet: Määrittää influenssa A- ja B-infektioiden kliiniset ja molekyylipiirteet lapsilla ja nuorilla, joilla on influenssan kaltainen sairaus (ILI). Menetelmät: ILI:n sairastaneiden avohoitolasten ja -nuorten kohorttia seurattiin 20 kuukauden ajan. Influenssa diagnosoitiin kaupallisilla multipleksi-PCR-alustoilla. : 179 potilaalla oli 277 ILI-episodia, joista 79 oli influenssa A:ta ja 20 influenssa B:tä. Influenssa A- ja B-tapaukset olivat lieviä, ja niiden esiintymistapa oli samanlainen. B-influenssavirusten fylogeneettinen puu osoitti, että 91,6 prosenttia viruksista kuului B/Yamagata-linjaan, jota ei ole sisällytetty kolmiarvoisiin rokotteisiin. Päätelmät: A- ja B-influenssaa todetaan usein lapsilla ja nuorilla, joilla on ILI-episodit, ja niiden esiintyminen avohoidossa on samanlaista ja lievää. Kiertävien influenssavirusten ja Brasiliassa tarjotun kolmiarvoisen rokotteen välinen epäsuhta on saattanut vaikuttaa A- ja B-influenssan suureen esiintyvyyteen tässä väestössä.

**Tulos**

Influenssa A- ja B-influenssa avohoidossa olevien lasten ja nuorten kohortissa, joilla oli influenssan kaltainen sairaus kahden peräkkäisen influenssakauden aikana.

**Esimerkki 1.6326**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) aiheuttaja tunnistettiin koronavirukseksi (CoV) vuosien 2002-2003 taudinpurkauksen jälkeen. SARS-CoV-infektioita varten ei ole tällä hetkellä olemassa lisensoituja rokotteita tai hoitoja. Mahdollisia ennaltaehkäisy- ja torjuntastrategioita, jotka ovat osoittautuneet lupaaviksi in vitro, on arvioitava eläinmalleissa. Ikääntyneiden BALB/c-hiirten SARS-mallissa viruksen lisääntyminen on korkealla tasolla yhdessä kliinisen sairauden ja sairauden kanssa, joka jäljittelee ikääntyneiden SARSia. Testasimme kahta ennaltaehkäisevää strategiaa, rokotusta ja seerumin vasta-aineiden passiivista siirtoa, määrittääksemme, missä määrin tässä mallissa saavutetaan suoja SARS-CoV-haastetta vastaan. Näillä lähestymistavoilla pystyttiin saavuttamaan tai indusoimaan vasta-ainetitterit, jotka riittivät vähentämään viruskuormaa, suojaamaan painonpudotukselta ja vähentämään tai poistamaan histopatologiset muutokset ikääntyneiden hiirten keuhkoissa. Tämä tutkimus vahvistaa ikääntyneen BALB/c-hiirimallin käyttökelpoisuuden rokotteiden ja immunoprofylaksian tehokkuuden arvioinnissa. Julkaisija: Elsevier Ltd.

**Tulos**

Ikääntyneen BALB/c-hiirimallin hyödyllisyys vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) ehkäisy- ja torjuntastrategioiden osoittamisessa.

**Esimerkki 1.6327**

Endoteeli on endoteelisolujen (EC) muodostama yhteisö, joka vuoraa veri- ja imusuonet ja muodostaa siten kudosten ja veren tai imusuonten välisen rajapinnan. Tämä endoteelin strateginen asema viittaa sen välttämättömään toiminnalliseen rooliin verisuonten säätelyssä, hemostaasissa ja tulehduksessa. Endoteelin tila on samanaikaisesti monien sairauksien syy ja seuraus, ja tämä liittyy endoteelin fenotyypin muutoksiin, joita merkkiaineet edustavat, ja veren biokemialliseen profiiliin, jota biomarkkerit edustavat. Tässä asiakirjassa tarkastelemme lyhyesti tietoja endoteelin toiminnallisesta roolista, annamme endoteelin merkkiaineiden ja biomarkkereiden määritelmiä, käsittelemme biomarkkereiden paljastamisen metodologisia lähestymistapoja, esittelemme endoteelin implisiittisen roolin eräissä toksikologisissa mekanistisissa tutkimuksissa ja tarkastelemme reaktiivisten happilajien (ROS) roolia endoteelin tilan muokkaamisessa.

**Tulos**

Endoteelin merkkiaineet ja biomarkkerit: Kun jokin on mätää tilassa

**Esimerkki 1.6328**

Balkanin (endeemisen) nefropatian alueella (Vratza, Bulgaria) varastoidusta maissista saadun Penicillium verrucosum var. cyclopium -isolaatin viljelmät ovat johdonmukaisesti aiheuttaneet munuaisten tubulaarisia vaurioita, kun niitä on syötetty rotille 20 päivän ajan. Vauriot, jotka rajoittuvat proksimaalisten kierteisten tubulusten alaosiin (pars recta ja liitosvyöhyke), muistuttavat läheisesti Balkanin nefropatiaa sairastavien potilaiden tubulusmuutoksia. Alustavat todisteet viittaavat siihen, että tämä P. verrucosum var. cyclopium -bakteerin nefrotoksiinia tuottava kanta voi olla osallisena Balkanin nefropatian &aelig;tiologiassa.

**Tulos**

Archs Neurol. 1974, 30, 113. 14 Hebb

**Esimerkki 1.6329**

CC-kemokiiniligandi 2 (CCL2, monosyyttien kemoattraktaattoriproteiini-1) on tärkeä immuunivasteen koordinoinnissa mikrobi-infektion jälkeen säätelemällä T-solujen polarisaatiota sekä leukosyyttien migraatiota ja kertymistä infektoituneisiin kudoksiin. Tässä tutkimuksessa tutkitaan hiiren hepatiittiviruksen (MHV) aiheuttaman infektion seurauksia hiirillä, joilta puuttuu CCL2 (CCL2 À/À ), jotta voidaan selvittää, onko tämän kemokiinin signalointi merkityksellistä isännän puolustuksessa. CCL2 À/À-hiirten aivonsisäinen MHV-infektio ei lisännyt sairastuvuutta tai kuolleisuutta verrattuna villityyppisiin tai CCR2 À/À-hiiriin, ja CCL2 À/À-hiiret poistivat replikoituvan viruksen aivoista. Sitä vastoin CCR2 À/À-hiirillä oli heikentynyt kyky poistaa virus aivoista, mihin liittyi antigeenispesifisten T-solujen määrän väheneminen verrattuna sekä CCL2 À/À- että villityyppisiin hiiriin. MHV-infektoituneiden CCR2 À/À-hiirten keskushermoston (CNS) T-solukertymän vähäisyys ei johtunut siitä, että antigeeniä esittelevien solujen (APC) kerääntyminen tyhjentäviin kaulan imusolmukkeisiin (CLN) olisi ollut puutteellista tai että virusspesifisiä T-soluja olisi syntynyt tässä osastossa. Sekä CCL2 À/À- että CCR2 À/À-hiirillä havaittiin samanlainen vähennys makrofagien infiltraatiossa keskushermostoon verrattuna villityypin hiiriin, mikä osoittaa, että sekä CCL2 että CC-kemokiinireseptori 2 (CCR2) vaikuttavat makrofagien migraatioon ja kerääntymiseen keskushermostoon MHV-infektion jälkeen. Yhdessä nämä tiedot osoittavat, että CCR2:lla, mutta ei CCL2:lla, on merkitystä isännän puolustuksessa keskushermoston virusinfektion jälkeen ja että CCR2:n ligandi(t), muut kuin CCL2, osallistuvat suojavasteen synnyttämiseen.

**Tulos**

CCL2:n ja CCR2:n erilaiset roolit isännän puolustautumisessa coronavirusinfektiota vastaan.

**Esimerkki 1.6330**

Taustaa: Seerumin C-reaktiivinen proteiini (CRP) on äskettäin osoittautunut hyödylliseksi diagnostiseksi merkkiaineeksi koirilla, joilla on bakteeriperäinen keuhkokuume (BP). Ihmisillä, joilla on yhteisperäinen keuhkokuume, APP:t ovat myös erittäin hyödyllisiä seurantamerkkiaineita, jotka auttavat hoitovasteen arvioinnissa. Tavoitteet: Tutkimuksemme tavoitteena oli tutkia APP:iden soveltuvuutta hoitovasteen merkkiaineina BP:tä sairastavilla koirilla. Eläimet: Yhdeksäntoista BP-diagnoosin saanutta koiraa ja 64 tervettä koiraa. Menetelmät: Tutkimus toteutettiin prospektiivisena pitkittäisenä havainnointitutkimuksena. Seerumin CRP-, seerumin amyloidi A (SAA) ja haptoglobiinipitoisuuksia seurattiin BP:n luonnollisen kulun aikana. Seerumin CRP:n normalisoitumista käytettiin ohjaamaan antibioottihoidon kestoa (hoito lopetettiin 5-7 päivää CRP:n normalisoitumisen jälkeen) 8:lla 17:stä kotiutumiseen asti elossa olevasta koirasta; 9:ää 17:stä koirasta hoidettiin tavanomaisten suositusten mukaisesti. Tulokset: Kaikki mitatut APP-arvot olivat aluksi merkitsevästi koholla, mutta nousun suuruus ei korreloinut taudin vaikeusasteen kanssa. C-reaktiivisen proteiinin ja SAA:n pitoisuudet laskivat nopeasti mikrobilääkehoidon aloittamisen jälkeen. Kun seerumin CRP:n normalisointia käytettiin ohjaamaan antibioottihoidon kestoa, hoidon kesto lyheni merkitsevästi (P = .015) ilman, että relapsien määrä lisääntyi. Päätelmät ja kliininen merkitys: Seerumin CRP ja SAA heijastivat hyvin toipumisprosessia, ja siksi niitä voidaan käyttää hoitovasteen merkkiaineina. Tulosten mukaan seerumin CRP:n normalisoitumista voidaan käyttää ohjaamaan antibioottihoidon kestoa BP:tä sairastavilla koirilla.

**Tulos**

Akuutin faasin proteiinien hyödyllisyys bakteeriperäistä keuhkokuumetta sairastavien koirien hoitovasteen arvioinnissa.

**Esimerkki 1.6331**

Tutkimuksen tavoitteena oli määrittää kurkumiinin ja PGV-0:n sytotoksiset vaikutukset ja korkein turvallinen pitoisuus verosoluissa. Tässä tutkimuksessa verrataan myös kurkumiinin ja PGV-0:n vaikutusta Dengue-viruksen infektoimiin verosoluihin (in vitro) yhden ja kolmen päivän inkubaatioajalla. Korkein turvallinen pitoisuus verosoluja vastaan kurkumiinin osalta oli 6,25 ppm ja PGV-0:n osalta 1,5625 ppm. Kurkumiinin ja PGV-0:n immunosytokemiallinen testi molemmilla inkubaatioajoilla (yksi ja kolme päivää) ei osoita merkittävää eroa (merkitsevä arvo 0,925), mutta RT-PCR-tulos osoittaa, että PGV -0:lla on potentiaalinen antiviraalinen vaikutus paremmin kuin kurkumiinilla.

**Tulos**

-NC-ND-lisenssi (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/). Vertaisarviointi ICTCRED 2014:n tieteellisen komitean vastuulla ScienceDirect Effects of Curcumin and Pentagamavunon-0 Against Dengue-2 Virus Infection In Vero Cells; an In Vitro Study.

**Esimerkki 1.6332**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (MERS-CoV) rokotteen kehittämiseksi on saatu lupaavia tuloksia. Useat rokotteet, joissa on käytetty erilaisia menetelmiä, ovat osoittaneet tehoaan eläinmalleissa, ja niitä on alettu kokeilla kliinisissä tutkimuksissa. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto MERS-CoV-rokotteen kehityksessä saavutetusta edistyksestä ja tuodaan esiin mahdollisia esteitä, jotka on havaittu aiemmissa yrityksissä kehittää koronavirusrokotteita. Virukset 2019, 11, 74 2 of 17 Sekä SARS-CoV:n että MERS-CoV:n prekliininen rokotekehitys on suurelta osin pyrkinyt stimuloimaan vankan immuunivasteen viruksen kuoresta ulkonevaa piikki- (S) glykoproteiinia [28, 29] , luokan I fuusioproteiinia ja/tai nukleokapsidiproteiinia (N) vastaan [30, 31] . MERS-CoV:n S-proteiini pilkkoutuu proteolyyttisesti isännän furiinin [32] avulla kypsymisen aikana S1-domeeniksi, joka vastaa DPP4:ään sitoutumisesta, sekä S2-domeeniksi, joka sisältää kaksi heptad-toistoaluetta, jotka helpottavat kalvofuusiota (kuva 1 ). S1-domeeni voidaan jakaa edelleen N-terminaaliseen domeeniin (NTD) eli S1 A:han, joka liittyy sialiinihapon sitomiseen [33], ja reseptoria sitovaan domeeniin (RBD), joka käsittää suurimman osan S1:n C-terminaalisesta domeenista. Kryoelektronimikroskooppitutkimukset ovat osoittaneet, että RBD on joustava ja avautuu ylöspäin tai poispäin viruskuoresta, jotta se pääsee kosketuksiin DPP4:n kanssa, mikä saattaa paljastaa S2':n [34], joka on toinen proteaasin pilkkomiskohta S2:ssa. S2':n pilkkoutuminen on välttämätöntä kalvofuusion kannalta viruksen tullessa sisään [32] . S:n keskeinen asema viruksen sisäänpääsyssä selittää osaltaan, miksi siihen kohdistuvat vasta-aineet neutraloivat tehokkaasti [35] . Toisaalta, vaikka CoV:n N-proteiinit ilmentyvät runsaasti infektion aikana [36] , SARS-CoV:n N-proteiinilla immunisointi ei aiheuttanut voimakkaasti neutraloivia vasta-aineita [37], todennäköisesti siksi, että N ei näy viruksen pinnalla. N on kuitenkin konservoituneempi kuin S CoV-linjassa [38] , ja SARS-CoV N:llä rokottamisen osoitettiin indusoivan sytotoksisia T-soluvasteet hiirillä [39] . Siksi N voi auttaa indusoimaan soluvälitteistä immuniteettia CoV-infektiota vastaan [40] , kuten myös S [41]. Toipuneiden MERS-CoV-potilaiden CD4+- ja CD8+-T-soluvasteet olivat erityisen voimakkaita N-peptidejä kohtaan [42] . Rokottamiseen N-pohjaisilla immunogeeneillä voi kuitenkin liittyä riskejä, jotka liittyvät T h 2 -peräiseen eosinofiiliseen immuunijärjestelmän vahvistumiseen [43] , samoin kuin S-pohjaisiin rokotteisiin [44] . Siitä huolimatta S on ollut useimpien MERS-CoV:n rokotekandidaattien kohteena, koska se antaa suojan sen synnyttämän voimakkaan immuunivasteen ansiosta. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto MERS-CoV-rokote-ehdokkaiden nykytilanteesta ja kuvataan myös MERS-CoV-rokotteen tehon mahdollisia esteitä, jotka tulivat ensimmäisen kerran esiin SARS-CoV-rokotteen kehittämistutkimuksissa.

**Tulos**

virukset Lähi-idän hengitystieoireyhtymän rokote-ehdokkaat: Varovainen optimismi

**Esimerkki 1.6333**

Raportissa kehitetään ja karakterisoidaan kvartsikiteinen mikrobipunnitusanturi (QCM) aerosolisoituneiden influenssa A -virionien suoraa havaitsemista varten. QCM-kultaelektrodeille muodostetaan merkaptoundekaanihapon (MUA) itse koottuja monokerroksia (SAM), jotta saadaan pinta, johon voidaan immobilisoida influenssa A -vasta-aineita NHS/EDC-kytkentäkemian avulla. Pintaan sitoutunut vasta-aine tarjoaa selektiivisen ja spesifisen anturiliitännän influenssavirionien sieppaamiseen. Aerosolisoitujen näytteiden tuottamiseen käytetään sumutinta, joka on suoraan liitetty kammioon, jossa on vasta-aineella modifioitu kide ("immunochip"). Kun aerosolisoitunut virus altistuu, vasta-aineen ja viruksen välinen vuorovaikutus johtaa kvartsikiteen värähtelytaajuuden vaimenemiseen. Taajuuden muutoksen suuruus on suoraan yhteydessä viruskonsentraatioon. Kontrollikokeet, joissa käytettiin kananmunan allantoisen nesteen aerosoleja ja anti-muriinivasta-aineeseen perustuvaa immunosensoria, vahvistavat, että havaittu signaali on peräisin viruksen spesifisestä sitoutumisesta sirun pinnalle. MUA:n kokoonpanon, vasta-aineen kiinnittymisen ja vasta-aineen ja viruksen välisen vuorovaikutuksen vaiheittainen pintamodifikaatio luonnehditaan atomivoimamikroskopian (AFM) kuvantamisanalyysillä. S/N = 3 -periaatteen mukaisesti havaitsemisraja on arviolta 4 viruspartikkelia/ml. Tässä esitetyllä erittäin herkällä ja reaaliaikaisella havaitsemisjärjestelmällä voi olla tärkeä rooli kansanterveyden alalla, sillä se tarjoaa uuden analyysivälineen biosaastuneiden alueiden tunnistamiseen ja auttaa potilaiden oikea-aikaisessa diagnosoinnissa.

**Tulos**

Mikrogravimetrinen immunosensori aerosolisoituneiden influenssa A -viruksen hiukkasten suoraa havaitsemista varten

**Esimerkki 1.6334**

Taustaa: Lycoris aurea, jota kutsutaan myös kultaiseksi taikaliljaksi, on koristeellisesti ja lääketieteellisesti tärkeä Amaryllidaceae-heimon laji. Tähän mennessä sen koko genomin sekvensointi ei ole mahdollista, koska se ei ole malliorganismi. Myös transkriptomitietoa tästä lajista on niukasti. Tässä tutkimuksessa suoritimme de novo transkriptomin sekvensoinnin tuottaaksemme L. aurean ensimmäisen kattavan ekspressoitujen sekvenssitunnisteiden (EST) tietokokonaisuuden käyttäen korkean läpimenon sekvensointitekniikkaa. Menetelmä ja tärkeimmät tulokset: RNA:n kokonaismäärä eristettiin lehdistä, jotka oli käsitelty natriumnitroprussidilla (SNP), salisyylihapolla (SA) tai metyylijasmonaatilla (MeJA), varresta ja kukista nuppu-, kukinta- ja kuihtumisvaiheissa. Kustakin kudoksesta ja vaiheesta saadut yhtä suuret määrät RNA:ta yhdistettiin cDNA-kirjaston rakentamiseksi. Käyttämällä 454-pyrosekvensointitekniikkaa tuotettiin yhteensä 937 990 korkealaatuista lukua (308,63 Mb), joiden keskimääräinen lukupituus oli 329 bp. Näiden lukujen klusterointi ja kokoaminen tuotti 141 111 yksilöllisen sekvenssin ei-redundanttisen joukon, joka sisälsi 24 604 kontigia ja 116 507 singletonia. Kaikki ainutlaatuiset sekvenssit kuuluivat GO-analyysin mukaan biologisen prosessin, solukomponentin ja molekyylitoiminnon luokkiin. Potentiaaliset geenit ja niiden toiminnot ennustettiin KEGG-reittien kartoituksella ja COG-analyysillä. Sekvenssianalyysimme ja julkaistun kirjallisuuden perusteella monet Amaryllidaceae-alkaloidien synteesiin osallistuvat oletetut geenit, mukaan lukien PAL, TYDC OMT, NMT, P450 ja muut mahdollisesti tärkeät kandidaattigeenit, tunnistettiin ensimmäistä kertaa tässä Lycoriksessa. Lisäksi tästä EST-tietoaineistosta tunnistettiin 6 386 SSR:ää ja 18 107 korkean varmuuden SNP:tä. Transkriptomi tarjoaa korvaamatonta uutta tietoa funktionaalisen genomiikan resurssia ja L. aurean tulevaa biologista tutkimusta varten. Tässä tutkimuksessa tunnistetut molekyylimarkkerit tarjoavat aineistopohjan tulevia geneettisiä yhteyksiä ja kvantitatiivisia ominaisuuslokuksia koskevia analyysejä varten ja tarjoavat hyödyllistä tietoa funktionaalista genomitutkimusta varten tulevaisuudessa.

**Tulos**

Lycoris aurean transkriptomin de novo sekvenssien kokoaminen ja karakterisointi 454 Pyrosequencing GS FLX Titanium -alustan avulla.

**Esimerkki 1.6335**

Tutkiaksemme isännästä riippuvaisia geneettisiä vaihteluita hiiren hepatiittiviruksen tyypin 3 (MHV 3) aiheuttamissa sairauksissa paikansimme MHV 3:n (Mill Hill -kanta) ilmentymiskohdat maksassa ja aivoissa immunohistokemian tai in situ -hybridisaation avulla. Tutkimuksessa käytettiin kahta hiirikantaa: BALB/c-hiiriä, joille kehittyy akuutti ja tappava hepatiitti, ja C3H-hiiriä, joille kehittyy krooninen aivoinfektio. BALB/c-hiirillä viruksen RNA:ta ja antigeenejä esiintyi ensimmäisen 24 tunnin aikana infektion jälkeen (p.i.) maksassa, kun taas aivoissa viruksen RNA:ta oli tuskin havaittavissa kuolemaan asti päivänä 3 p.i. C3H-hiirillä viruksen RNA:ta ja antigeenejä havaittiin samanaikaisesti maksassa ja aivoissa vasta päivänä 2 p.i. Aivoissa virusta havaittiin aivokalvo- ja ependyymisoluissa sekä perivaskulaarisilla kortikaalialueilla (päivät 5 ja 7 p.i.). Päivän 49 jälkeen virusta ei enää havaittu aivojen parenkyymissä, mutta sitä oli edelleen aivokalvosoluissa. Maksassa havaittiin kaksi isännästä riippuvaista geneettistä eroa viruksen prosessoinnissa: (1) virus havaittiin ensimmäisen kerran Kupffer-soluissa BALB/c-hiirillä ja enimmäkseen hepatosyyteissä C3H-hiirillä; (2) BALB/c-hiirillä 180 kDa:n S-viruksen glykoproteiini näytti pilkkoutuvan useammin 90 kDa:n muotoon kuin C3H-hiirillä.

**Tulos**

Hiiren hepatiittiviruksen tyypin 3 ilmentymisen geneettinen rajoittaminen maksassa ja aivoissa: vertaileva tutkimus BALB]c- ja C3H-hiirillä immunokemian ja in situ -hybridisaation avulla.

**Esimerkki 1.6336**

Lepakoiden on todettu olevan monien uusien virusten luontaisia varastoalueita. Useimmissa tapauksissa tällaisten virusinfektioiden aiheuttamia vakavia kliinisiä oireita ei yleensä esiinny lepakoilla. Tämä osoittaa eroja viruksen ja isännän välisissä vuorovaikutussuhteissa ja korostaa tarvetta kehittää luonnollisiin isäntiin liittyviä malleja näiden ilmiöiden tutkimiseksi. Euroopan lepakkolajien tiukan suojelun vuoksi immortalisoidut solulinjat ovat ainoa vaihtoehto synnynnäisten virusten vastaisten immuunimekanismien tutkimiseen. Tässä raportoimme Myotis myotis -lepakon solulinjojen perustamisesta ja toiminnallisesta karakterisoinnista eri kudoksista: aivoista (MmBr), nielurisoista (MmTo), vatsakalvoontelosta (MmPca), nenän epiteelistä (MmNep) ja hermus olfactoriuksesta (MmNol) sen jälkeen, kun ne oli kuolemattomiksi tehty SV 40 large T -antigeenillä. Näiden solulinjojen käyttökelpoisuus virusvastaisten vasteiden tutkimiseen on vahvistettu analysoimalla niiden alttiutta lyssavirusinfektiolle ja immuniteetin kannalta merkityksellisten geenien mRNA-malleja poly I:C-stimulaation jälkeen. Suoritetut kokeet osoittivat vaihtelevaa alttiutta lyssavirusinfektiolle, ja MmBr oli huomattavasti vähemmän altis kuin muut solulinjat. Lisätutkimukset osoittivat, että interferonivälitteinen virusvaste aktivoituu voimakkaasti MmBr:ssä, mikä osaltaan vaikuttaa sen vastustuskykyyn. Mallintunnistusreseptorit: RIG-I ja MDA5 olivat voimakkaasti säänneltyjä raivovirusinfektion aikana MmBr:ssä, mikä viittaa niiden osallisuuteen antiviraalisen vasteen edistämisessä. CD14:n ja CD68:n esiintyminen MmBr:ssä viittaa siihen, että MmBr-solut ovat mikroglian kaltaisia soluja, joilla on keskeinen rooli isännän puolustautumisessa infektioita vastaan keskushermostossa (CNS). Näin ollen MmBr:n ilmentymismalli yhdistettynä havaittuun lyssaviruksen replikaation rajoittamiseen tukee keskushermoston suojamekanismia, joka kontrolloi lyssavirusinfektiota. Kaiken kaikkiaan vakiintuneet solulinjat ovat tärkeitä välineitä analysoitaessa M. myotiksen synnynnäistä immuniteettia neurotrooppisia virusinfektioita vastaan, ja ne tarjoavat arvokkaan välineen M. myotiksen solubiologian tuleville laajoille tutkimuksille.

**Tulos**

Myotis myotis -solulinjojen perustaminen - malli isännän ja taudinaiheuttajan vuorovaikutuksen tutkimiseksi uusien virusten luonnollisessa isännässä.

**Esimerkki 1.6337**

Poly-g-glutamiinihappo (g-PGA) on Bacillus sp. -bakteerin erittämä anioninen polypeptidi, jonka on osoitettu aktivoivan immuunisoluja vuorovaikutuksessa tollin kaltaisen reseptorin 4 (TLR4) kanssa. Sen kykyä indusoida tyypin I interferonivaste (IFN) ei kuitenkaan ole vielä karakterisoitu. Tässä osoitamme, että g-PGA indusoi tyypin I IFN-signaalireittiä TLR4-signaalireitin kautta. Induktioon tarvittiin sekä myelooinen erilaistumistekijä 2 (MD2) että mallintunnistusreseptori CD14, jotka ovat kaksi TLR4:ään assosioitunutta liitännäisproteiinia. Korkean molekyylipainon (2000 ja 5000 kDa) omaava g-PGA kykeni aktivoimaan TLR4/MD2:n kautta seuraavat signaalit, jotka johtivat IFN-geenien ilmentymiseen tarvittavan transkriptiotekijän IRF-3:n dimerisaatioon, mikä johti tyypin I IFN-vastausgeenien, 2 0 e5 0 OAS:n ja ISG56:n, mRNA-tasojen kasvuun. Lisäksi g-PGA (2000 kDa) osoitti antiviraalista aktiivisuutta SARS-koronavirusta ja C-hepatiittivirusta vastaan. Tuloksemme osoittavat, että suurimolekyylipainoinen g-PGA on TLR4-ligandi ja että g-PGA vaatii sekä CD14:ää että MD2:ta tyypin I IFN-vasteen aktivoimiseksi. Tuloksemme viittaavat siihen, että mikrobiologisella biopolymeerillä g-PGA:lla voi olla terapeuttista potentiaalia monenlaisia tyypin I IFN:lle herkkiä viruksia vastaan.

**Tulos**

Bacillus sp. -bakteerin erittämän poly-g-glutamiinihapon, polypeptidin, antiviraalinen aktiivisuus CD14-riippuvaisten tyypin I interferonivasteiden indusoimisen kautta.

**Esimerkki 1.6338**

SARS-koronaviruksen (SARS-CoV) piikkiglykoproteiinista, jota tuotettiin Vero E6 -soluissa, vapautui N-glykaaneja, ja niiden rakenteet määritettiin yhdistelmällä, jossa käytettiin matriisiavusteista laserdesorptio-ionisaatio- (MALDI-) massaspektrometriaa, negatiivisen ionin sähkösuihku-elektrospray-kollision indusoimaa dissosiaatioaikaa ja normaalifaasista korkean suorituskyvyn nestekromatografiaa, johon liittyi eksoglykosidaasin pilkkominen. Tärkeimmät glykaanit olivat runsaasti mannoosia sisältäviä (Man 5-9 GlcNAc 2 ), hybridi- ja bi-, tri- ja tetra-antennikomplekseja, joissa oli ja joissa ei ollut kahtiajakautuvaa GlcNAc- ja ydinfukoosia. Kompleksisia glykaaneja, joissa oli vähemmän kuin koko galaktoosijäämiä, esiintyi, ja sialylaatio oli vähäistä. Käsittely glukosidaasi-inhibiittorilla Nbutyyli-deoksinojirimysiini (NB-DNJ) esti N-glykaanien prosessointia, mikä näkyi koostumukseltaan Glc 3 Man 7-9 GlcNAc 2 -glykaanien esiintymisenä. Joitakin monimutkaisia glykaaneja jäi kuitenkin jäljelle, mikä viittaa α-endomannosidaasin läsnäoloon. Kudosviljelyssä saadut tietomme osoittavat, että N-glykaanien prosessoinnin estämistä voidaan pitää terapeuttisena strategiana SARS CoV -infektioita vastaan.

**Tulos**

N-sidoksissa olevien hiilihydraattien tunnistaminen vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) piikkiglykoproteiinista.

**Esimerkki 1.6339**

Kehitimme vaihtoehtoisen steroidien aiheuttaman osteonekroosin (ON) kani-mallin, jossa käytetään yhdistelmää, joka koostuu pienen annoksen lipopolysakkaridia (LPS) sisältävästä yksittäisestä injektiosta ja kolmesta sitä seuraavasta suuren annoksen metyyliprednisolonia (MPS) sisältävästä pulssimuotoisesta injektiosta. Tämän kokeellisen ON-mallin käyttökelpoisuutta arvioitiin sekä perinteisillä että kehittyneillä biokuvantamismenetelmillä, kuten kontrastivahvisteisella dynaamisella magneettikuvauksella ja korkean resoluution mikro-CT:llä. Menetelmien perustamista koskevat yksityiskohdat kuvataan, ja ne otettiin käyttöön tehokkuustutkimuksessa, joka koski Epimediumista peräisin olevaa kasviperäistä fytoestrogeenistä uutetta (HEPE), joka on kehitetty steroidien aiheuttaman ON:n ehkäisyyn käyttäen vakiintunutta kani-mallia. Steroidien aiheuttaman ON:n ehkäisyyn käytettävän HEPE:n taustalla olevien mekanismien todettiin liittyvän sekä verisuonensisäisen tromboosin että ekstravaskulaarisen luuydinlipidin kertymisen estämiseen, jotka ovat kaksi tunnettua mekaanista reittiä ON:n patogeneesissä. Kokeelliset tuloksemme tarjoavat mahdollisuuden kliinisiin tutkimuksiin tai HEPE:n sovelluksiin ON:n ehkäisemiseksi steroidihoitoa saavilla korkean riskin potilailla.

**Tulos**

Kontrastivahvisteinen MRI ja mikro-CT, jotka on otettu käyttöön lipidien alentamista ja antikoagulanttia vähentävän kasviperäisen epimediumista peräisin olevan fytoestrogeenisen otteen arvioimiseksi steroidien aiheuttaman osteonekroosin ehkäisemiseksi.

**Esimerkki 1.6340**

Länsi-Afrikassa vuosina 2014-2016 puhjennut Ebola-virusepidemia toi esiin haasteita, jotka liittyvät maailmanlaajuiseen reagoimiseen laajaan kansanterveydelliseen hätätilanteeseen. Tämän vuoksi Yhdysvaltain tautien valvonta- ja ehkäisykeskukset perustivat maailmanlaajuisen nopean toiminnan ryhmän (GRRT), jonka tehtävänä on vahvistaa hätätilanteiden reagointivalmiuksia globaaleihin terveysuhkiin ja siten varmistaa maailmanlaajuinen terveysturva. GRRT-henkilöstö voidaan mobilisoida nopeasti laajempiin tehtäviin, mikä parantaa kumppaneiden koordinointia ja reagointitoimien jatkuvuutta. Viraston laajalla, koko viraston kattavalla nopean toiminnan henkilöstöryhmällä on mahdollisuus ottaa nopeasti käyttöön päteviä avustajia, joilla on laaja kokemus ja asiantuntemus. Ryhmän jäsenille tarjotaan hätätilannekoulutusta, teknistä koulutusta, vieraskielistä koulutusta ja tukea vastaajien valmiuteen. Viimeaikaiset avustustehtävät ovat osoitus ryhmän tarjoaman tuen laajuudesta. GRRT toimii mallina muille maille, ja se on sitoutunut vahvistamaan hätätilannevalmiuksia, jotta voidaan reagoida tautipesäkkeisiin ja hätätilanteisiin kaikkialla maailmassa, ja siten parantamaan maailmanlaajuista terveysturvaa.

**Tulos**

CDC:n maailmanlaajuisen nopean toiminnan ryhmän perustaminen maailmanlaajuisen terveysturvan varmistamiseksi.

**Esimerkki 1.6341**

Kloonaus ja paikkaohjattu mutageneesi. Ekspressiovektoria pET11d/FMDV (1) käytettiin templaattina kaikille paikkaohjatuille Lb pro -mutaatioille (aminohapot . Ihmisen ISG15 (Cys78Ser) ja Met1-diubikitiinikonstruktiot kloonattiin pOPIN-B His-tagged-ekspressiovektoriin (2). Koodonioptimoitu ISG15 saatiin GeneArt Gene Synthesis -yhtiöltä (Invitrogen), ja se kloonattiin tavanomaisia kloonausmenetelmiä käyttäen intein/kitiiniä sitovaan pTXB1-vektoriin (New England BioLabs). Site-directed mutagenesis tehtiin QuikChange-menetelmän mukaisesti. Solutransfektiomäärityksiä varten tarvittavat plasmidit (FLAG-ISG15, UBE1L, UBE2L6 ja ihmisperäinen HERC5) kloonattiin nisäkkäiden pcDNA3.1-ekspressiovektoriin. Proteiinin ilmentäminen ja puhdistus. Lb pro ekspressoitiin ja puhdistettiin ref. 3. His-merkityt ISG15 ja Met1-diubikvitiini ekspressoitiin Escherichia coli Rosetta2 (DE3) pLacI:ssa (Novagen). Viljelmät kasvatettiin OD 600:een (0,6-0,8) ja indusoitiin 0,2 mM isopropyyli β-D-1-tiogalaktopyranosidilla 16 tunnin ajan 18 °C:ssa. Solupelletit resuspendoitiin 30 ml:aan lyysipuskuria (50 mM Tris, pH 7,4, 150 mM NaCl, 2 mM β-merkaptoetanoli) ja pakastettiin -80 °C:ssa. Sulatettuihin pelletteihin lisättiin EDTA-vapaa Complete Protease Inhibitor -tabletti (Roche), 1 mg/ml lysotsyymiä ja 0,1 mg/ml DNaseI:tä ja inkuboitiin jäällä 10 minuuttia. Solususpensio sonikoitiin, ja solujätteet puhdistettiin sentrifugoimalla 50 000 × g:llä 30 minuutin ajan. Puhdistettua lysaattia inkuboitiin TALON Superflow -hartsin (GE Healthcare) kanssa 10 minuutin ajan ja pestiin 1 l:lla lyysipuskuria painovoimaisesti. Proteiini eluoitiin lyysipuskurilla, jota täydennettiin 250 mM imidatsolilla. Puhdistettuja proteiineja dialysoitiin 16 tunnin ajan lyysipuskuriin ylimääräisen imidatsolin poistamiseksi. ISG15-valkuaisproteiini ilmentyi identtisesti His-tagatoitujen proteiinien kanssa, mutta puhdistettiin kitiinihartsilla (New England BioLabs) aiemmin kuvatulla tavalla (4, 5). AMC:n fluoresenssimittaukset. ISG15-AMC:n pilkkomismääritykset tehtiin aiemmin kuvatulla tavalla (6) pienin muutoksin. Kussakin reaktiossa 10 μL 2 μM ISG15-AMC:tä (2 × konsentraatio) sekoitettiin 10 μL:n entsyymin (2 × konsentraatio) kanssa AMC-analyysipuskurissa (50 mM Tris, pH 8.0, 10 mM DTT). Reaktioita seurattiin käyttäen λ ex = 350 nm ja λ em = 450 nm. Fluoresenssipolarisaatiomääritykset. Kaikki ubikitiini/ubikitiinin kaltaiset TAMRA-määritykset suoritettiin ref. 7. Lyhyesti sanottuna entsyymit ja substraatit laimennettiin laimennospuskuriin (50 mM Tris, pH 8,0, 10 mM DTT). Substraattipitoisuudet pysyivät vakiona 150 nM:ssä, kun taas entsyymipitoisuudet vaihtelivat pilkkoutumistehokkuuden perusteella. Halkaisumääritykset tehtiin mustalla 384 kuoppalevyllä (Corning), ja fluoresenssipolarisaatiomittaukset (FP) tehtiin 550 nm:n heräte- ja 590 nm:n emissiosuodattimella Pherastar-levylukijalla (BMG Labtech). Kaikkia mittauksia verrattiin pelkkään substraattiin (negatiivinen) ja 25 nM KG-TAMRA-peptidiin (positiivinen). Kinetiikka. ISG15-TAMRAa käytettiin substraattina Lb pro Michaelis-Mentenin kinetiikan määrittämisessä. FP:n muutos Lb pro:n hydrolyysissä mitattiin mustalla 384 kuoppalevyllä käyttäen PheraStar-levylukijaa (BMG Labtech): λ ex = 550 nm ja λ em = 590 nm. Reaktioita inkuboitiin 25 °C:ssa 20 μl:n kokonaistilavuudessa FP-kinetiikkapuskurissa (25 mM Tris, pH 8,5, 2 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA). Kussakin kuopassa 10 μL ISG15-TAMRAa (2 × lopullinen pitoisuus) sekoitettiin 10 μL:aan 40 nM entsyymiä (2 × lopullinen pitoisuus). ISG15-TAMRA-konsentraatiota vaihdeltiin Swatek et al. www.pnas.org/cgi/content/short/1710617115.

**Tulos**

Tukevat tiedot

**Esimerkki 1.6342**

Taustaa: Vaikka kissojen immuunikatoviruksella (FIV) ja kissojen leukemiaviruksella (FeLV) on samanlaiset riskitekijät ja torjuntatoimenpiteet, tartuntamäärien on arveltu vaihtelevan maantieteellisesti Pohjois-Amerikassa. Koska molemmat tartunnat ovat endeemisiä Pohjois-Amerikassa, oletettiin työhypoteesina, että niiden maantieteellinen levinneisyys on samanlainen. Näin ollen tämän kartoittavan analyysin tarkoituksena oli tutkia molempien virusinfektioiden vertailevaa maantieteellistä jakautumista. FIV:n (n=17 108) ja FeLV:n (n=30 017) positiivisten serologisten tulosten (FIV-vasta-aineet ja FeLV-ELISA) lukumäärät saatiin IDEXX Laboratories -verkkosivustolta Amerikan yhdysvaltojen (Yhdysvallat) 48 vierekkäisestä osavaltiosta ja District of Columbian alueelta. FIV- ja FeLV-infektioiden suhteellinen sairastuvuussuhde arvioitiin kullakin hallinnollisella alueella, ja sen maantieteellinen jakauma visualisoitiin kuvakartan avulla. Tilastollista näyttöä siitä, että suhteellinen sairastuvuussuhde poikkeaa ykkösestä, arvioitiin käyttämällä spatiaalista skannaustestiä normaalitodennäköisyysmallin mukaisesti. Tulokset: Tutkimuksessa havaittiin, että suhteellisessa sairastuvuussuhteessa on selviä alueellisia jakaumamalleja, jotka viittaavat yhden tai useamman merkityksellisen ja maantieteellisesti vaihtelevan riskitekijän olemassaoloon. Tautikartta osoittaa, että FIV-tartuntojen esiintyvyys on suurempi Yhdysvaltojen etelä- ja itäosissa kuin FeLV:n. Sitä vastoin FeLV-tartuntoja havaittiin olevan enemmän läntisissä Yhdysvalloissa kuin FIV-tartuntoja. Vastaava suhteellisen sairastavuuden suhteen ylitys oli merkitsevä spatiaalisen skannaustestin suhteen (p < 0,05). Havaittu vaihtelu FIV:n ja FeLV:n suhteellisen sairastuvuussuhteen maantieteellisessä jakautumisessa voi liittyä ylimääräisen tai ainutlaatuisen, mutta vielä tuntemattoman alueellisen riskitekijän olemassaoloon. Mahdollisia tekijöitä voivat olla erityisten viruskantojen ja rokotusasteen maantieteelliset vaihtelut. Näiden tekijöiden ja näiden tartuntojen maantieteellisen jakautumisen tunteminen voi antaa suosituksia testausta, hoitoa ja ennaltaehkäisyä varten. Tarvitaan kuitenkin lisätutkimuksia, jotta voidaan selvittää näiden tekijöiden mahdollinen yhteys FIV:hen ja FeLV:hen.

**Tulos**

Kissan immuunikatovirus- ja leukemiavirusinfektioiden maantieteellisen jakautumisen vertailu Yhdysvalloissa (2000-2011).

**Esimerkki 1.6343**

Nanohiukkaspohjaisten järjestelmien kehittyminen on lupaava tutkimusalue, jolla on merkittäviä vaikutuksia bakteeri-infektioiden hoitoon, erityisesti monilääkeresistenttejä kantoja ja bakteerien biofilmejä vastaan. Nanosysteemeistä voi olla hyötyä virus- ja sieni-infektioiden diagnosoinnissa ja hoidossa. Nanosysteemeihin perustuvia kaupallisia diagnostisia testejä on tällä hetkellä saatavilla. Erilaisia nanohiukkasiin (NP) perustuvia menetelmiä on kehitetty tiettyjen tekijöiden havaitsemiseksi tai grampositiivisten ja gramnegatiivisten mikro-organismien erottamiseksi toisistaan. Nanohiukkasiin perustuvia biosensoreita on sovellettu myös virusten havaitsemiseen käytettävissä olevien analyysitekniikoiden parantamiseksi. On ehdotettu useita hoitopaikan (POC) määrityksiä, joilla voidaan saada tuloksia nopeammin, helpommin ja edullisemmin kuin perinteisillä tekniikoilla ja joita voidaan käyttää jopa syrjäisillä alueilla virusten diagnosointiin. Spesifisillä molekyyleillä funktionalisoidut nanohiukkaset voivat muokata farmakokineettistä kohdentumistunnistusta ja lisätä infektioiden vastaista tehoa. Quorum sensing on populaatiotiheyden kanssa korreloiva kemiallinen viestintäprosessi, jonka avulla bakteerit säätelevät biofilmin muodostumista. Sen lamauttaminen on uusi lähestymistapa patogeenisuuden torjumiseksi. Luonnolliset tai synteettiset inhibiittorit voivat toimia biofilmin vastaisina aineina ja olla hyödyllisiä moniresistenttien bakteerien hoidossa. Nanorakenteisia materiaaleja, jotka häiritsevät biofilmin kasvuun osallistuvia signaalimolekyylejä, on kehitetty biofilmiin liittyvien infektioiden torjumiseksi.

**Tulos**

Nanohiukkaset infektiosairauksien biodiagnostiikassa ja hoidossa käytettävät nanohiukkaset molekyylitieteissä

**Esimerkki 1.6344**

Lektiinit ovat ryhmä proteiineja, jotka tunnistavat hiilihydraatteja. Lektiinit luokitellaan moniin perheisiin niiden eri solupaikkojen perusteella sekä niiden spesifisyyden perusteella erilaisiin hiilihydraattirakenteisiin, mikä johtuu niiden hiilihydraattien tunnistamismoduulien (CRD) ominaisuuksista. Monet tutkimukset ovat osoittaneet, että lektiinien suora tunnistaminen viruskomponenttien tietyistä oligosakkarideista on tärkeää isäntien ja virusten välisessä vuorovaikutuksessa. Tarkoituksemme on tässä yhteydessä tarkastella kokonaisvaltaisesti eläinten lektiinien tunnistamisen roolia virusten vastaisissa immuunivasteissa ja viruspatogeneesissä. Nisäkäslektiinien eri luokat voivat joko tunnistaa hiilihydraatteja aktivoidakseen isännän immuniteetin viruksen eliminoimiseksi tai hyödyntää näitä hiilihydraatteja herkkyystekijöinä helpottaakseen viruksen pääsyä, replikaatiota tai kokoamista. Lisäksi eräät niveljalkaisten C-tyypin lektiinit on äskettäin tunnistettu keskeisiksi alttiustekijöiksi, jotka ovat suoraan vuorovaikutuksessa useiden virusten kanssa ja helpottavat infektiota. Yhteenveto suoran virustunnistuksen pleiotrooppisista rooleista, joita

**Tulos**

molekyylit Eläinten lektiinien suoran tunnistamisen rooli virusimmuniteetissa ja viruspatogeneesissä

**Esimerkki 1.6345**

on houkutteleva kohde SARSin vastaisten terapeuttisten lääkkeiden kehittämiseksi, koska sillä on perustavanlaatuinen rooli viruksen 1 McMaster High Throughput Screening Laboratory Biokemian laitos. Homologinen mallintaminen muiden 3CL pro -molekyylien kanssa [12, 15], röntgenkristallografia [13] ja äskettäinen mutageeni- McMaster University Hamilton, Ontario L8N 3Z5 sis -tutkimus [16] ovat tunnistaneet 3CL pro -molekyylin kysteiiniproteaasiksi, jonka aktiivisessa keskuksessa on katalyyttinen Cys-His-dyadi. Kanada 2 Mikrobiologian ja biokemian laitokset SARS-CoV:n pp1a:n ja pp1ab:n rakenteeseen perustuvat sekvenssikohdistukset ihmisen koronaviruksen 229E (HCoV) vastaavien polyproteiinien kanssa University of British Columbia Vancouver, British Columbia V6T 1Z3, sian tarttuvan gastroenteriittiviruksen (TGEV), naudan coronavirus Canadan (BCoV) ja lintujen tarttuvan keuhkoputkentulehduksen viruksen (IBV) proteolyysin konsensussekvenssi on (S, T, V, P, A)-(L, I, V, F, M)-Q/(A, S, G, N, C) [12]. In vitro Yhteenvetotutkimukset ovat vahvistaneet 3CL pro:n kyvyn käsitellä tämäntyyppisiä kohtia ja sen, että proteinaasilla on korkein Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) aiheuttaja on tunnistettu uudeksi koronavi-spesifisyys 3CL pro:ta reunustaville pilkkomispaikoille pp1a/pp1ab-polyproteiinissa [11, 17]. rus:n, SARS-CoV:n, pilkkomispaikoille. SARS-CoV:n tärkein proteinaasi, 3CL pro , on houkutteleva terapeuttinen kohde TGEV:n [12] kanssa sekvenssihomologiaan perustuva 3CL pro:n rakennemalli sekä ratkaistu SARS-kide, koska sillä on perustavanlaatuinen rooli viruksen replikaatiossa. Pyrimme tunnistamaan 3CL pro:n uusia inhibiittoreita, jotta ad-rakennetta [13] on käytetty useissa tutkimuksissa substraattimimikoiden telakoimiseksi [12, 13, 18] ja virtuaalisesti sopivien hoitomuotojen kehittämiseksi SARSin hoidossa. 3CL pro kloonattiin, ekspressoitiin ja seulottiin synteettisten yhdisteiden, luontaistuotteiden ja hyväksyttyjen viruslääkkeiden kokoelmia Tor2-isolaatista. Niiden kykyä estää 3CL pro:ta arvioitiin sammutetulla fluoresenssiresonanssin energiansiirtomäärityksellä [15, 19-22]. Yhdisteet, jotka tunnistettiin 3CL pro:n potentiaalisiksi estäjiksi näistä 3CL pro:n proteinaasin seulontaan 50 000 lääkkeen kaltaista pientä molekyyliä vastaan täysin automatisoidulla järjestelmällä, ovat HIV-1-proteaasin estäjä L-700 417 [15], käänteisen transkriptaasin estäjät kalanolidi A tem. Ensisijaisessa seulonnassa tunnistettiin 572 osumaa; virtuaalisten ja kokeellisten suodattimien avulla tämä määrä ja nevirapiini [20], glykoviiri, ␣-glukosidaasin estäjä [20], sabadiniini, luonnontuote [21], ja yleinen supistui viiteen uuteen pieneen molekyyliin, jotka osoittavat voimakasta inhiboivaa aktiivisuutta (IC 50 ϭ 0,5-7 M) viruslääkkeen ribaviriiniä kohtaan [20] . Ribaviriinillä on osoitettu olevan SARS-CoV:n vastaista aktiivisuutta in vitro, mutta pitoisuuksilla [3-7]. SARS:n ilmaantuminen uudelleen Kiinan Guangdongin maakunnassa joulukuussa 2003 [8] ja keväällä 2004 [9], vaikka se ei ole välttämätön osoitus uudesta maailmanlaajuisesta tautipesäkkeestä, osoittaa, että nykyisten proteiinien kykyä estää SARS-CoV:n replikaatiota on arvioitava ja että on tarpeen jatkaa ponnisteluja tämän viruksen tutkimiseksi ja joissakin tapauksissa 3CL pro erityisesti. HIV-1-proteaasi-inhibiittorit indinaviiri, sakinaviiri, ritonaviiri, lopinaviiri, TYA5, SARS-CoV on kuorellinen, positiivisjuosteinen RNA TYB5 ja KNI-272 osoittautuivat tehottomiksi estämään SARS-CoV:n lisääntymistä in vitro [23, 28]. Toisen, ribosomaalisen kehyssiirtymän yhdistämän HIV-1-proteaasi-inhibiittorin, nelfinaviirin, osoitettiin inhiboivan kahta replikaasiproteiinia, pp1a SARS-CoV:n replikaatiota, jonka EC 50 oli 48 nM [28], mutta se ja pp1ab [10, 11]. Nämä polyproteiinit pilkkoo pääproteinaasi 3CL pro [11] (myös M pro [12, 13]), jonka on raportoitu myös, että viruksen replikaation täydellistä estoa ei havaittu jopa 10 M:n pitoisuuksilla [23]. Toinen in vitro -seulonta, jossa testattiin 500 proteaasi-inhibiittorin kirjastoa, tuotti tulokseksi ubc.ca (L.D.E.) 3 Nämä kirjoittajat osallistuivat yhtä paljon tähän työhön. vain yhden yhdisteen, joka esti 3CL pro:ta; tämä molekyyli esti 3CL pro:ta.

**Tulos**

Suuren läpimitan seulonnalla löydettiin SARS-koronaviruksen pääproteinaasin estäjiä tärkeän replikaatio-transkriptiokompleksin muodostamisen ensimmäisessä vaiheessa. 3CL pro , joka on nimetty samankaltaisuutensa vuoksi Picornaviridae-heimon 3C-proteinaasien kanssa [14], on aktiivinen.

**Esimerkki 1.6346**

On syntetisoitu sarja uusia 5-pyratsoliinilla substituoituja 4-tiatsolidinoneja. Kohdeyhdisteiden syöpävaikutus arvioitiin in vitro DTP NCI -protokollan mukaisesti. Testatuista yhdisteistä johdannaiset 4d ja 4f osoittautuivat aktiivisimmiksi, ja ne osoittivat tietynlaista herkkyysprofiilia leukemian alaryhmän solulinjoille GI 50 -arvojen ollessa 2,12e4,58 mM (4d) ja 1,64e3,20 mM (4f). 5-(3-naftaleeni-2yyli-5-aryyli-4,5-dihydropyratsoli-1-yyli)-tiatsolidiini-2,4-dionien antitrypanosomaalisten ja antiviraalisten vaikutusten seulonta suoritettiin, ja mainittujen yhdisteiden vaikutus Trypanosoma brucei -bakteeriin oli lupaava, mutta SARS-koronavirukseen ja A- ja B-tyyppisiin influenssaviruksiin oli vähäinen.

**Tulos**

5-pyratsoliinisubstituoitujen 4-tiatsolidinonien synteesi ja biologisen aktiivisuuden arviointi

**Esimerkki 1.6347**

Taustaa: Vastaavasti Ts:n kokonaismäärä on yhtä suuri kuin As:n kokonaismäärä. Kunkin säikeen sisällä on kuitenkin huomattavia paikallisia poikkeamia A = T- ja G = C-arvojen yhtäläisyydestä. Näitä nukleotidikoostumuksen epäsymmetrisyyksiä on analysoitu laajasti prokaryoottisissa ja eukaryoottisissa genomeissa, ja ne on liitetty kromosomien järjestäytymiseen, transkription suuntautumiseen ja muihin prosesseihin tietyissä organismeissa. Säikeen sisäisen nukleotidijakauman analysoimiseksi on kehitetty useita graafisia menetelmiä. Tulokset: GraphDNA on uusi Java-sovellus, joka tarjoaa yksinkertaisen ja käyttäjäystävällisen käyttöliittymän DNA:n nukleotidikoostumuksen visualisointiin. Ohjelma hyväksyy syötteenä GenBank-, EMBL- ja FASTA-tiedostot, ja se näyttää useita DNA-nukleotidikoostumuksen kuvaajia (skews ja walks) yhdessä ikkunassa, jotta sekvenssien välisiä suoria vertailuja voidaan tehdä. Havainnollistamme DNA-vinoumien käyttöä poxvirus- ja coronavirusgenomien karakterisoinnissa. GraphDNA on alustariippumaton, avoimen lähdekoodin työkalu DNA-sekvenssien nukleotidisuuntien analysointiin. Useita sekvenssiformaatteja voidaan lukea ja useita sekvenssejä voidaan piirtää yhdessä tulosikkunassa.

**Tulos**

GraphDNA: Java-ohjelma DNA-koostumusanalyysien graafiseen esittämiseen.

**Esimerkki 1.6348**

Vaikka hengitysteiden virusinfektioiden esiintymistiheys keuhkoahtaumatautipotilailla ei ole harvinaista, tilan kliinistä merkitystä ei ole vielä selvitetty tarkemmin. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli verrata influenssa- ja muiden hengitystievirusten tartunnan saaneiden keuhko-arDS-potilaiden ominaisuuksia ja tuloksia. Menetelmät: Hengitystievirusten infektoimien keuhko-ARDS-potilaiden kliiniset tiedot tammikuusta 2014 kesäkuuhun 2018 käytiin läpi. Hengitystievirusinfektio tunnistettiin multiplex-käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiolla (RT-PCR). Tulokset: Niistä 126 potilaasta, joille tehtiin multiplex RT-PCR, hengitystievirusinfektio tunnistettiin 46 prosentilla (58/126): 28 potilaalla oli influenssa ja 30 potilaalla muut hengitystievirukset. Lähtötilanteessa ja kliinisissä ominaisuuksissa ei ollut merkittävää eroa influenssapotilaiden ja muita hengitystieviruksia sairastavien potilaiden välillä. Korporaation ulkopuolista membraanihapetusta (ECMO) käytettiin useammin influenssapotilailla kuin muilla hengitystieviruksia sairastavilla potilailla (32,1 % vs. 3,3 %, p=0,006). Yhteisbakteeripatogeeneja eristettiin useammin influenssaviruksen saaneiden keuhko-arDS-potilaiden hengitystietnäytteistä kuin muiden hengitystievirusten saaneiden potilaiden hengitystietnäytteistä. (53,6 % vs. 26,7 %, p=0,036). Kliinisten tulosten osalta ei ollut merkittäviä eroja. Monimuuttuja-analyysissä akuutti fysiologian ja kroonisen terveyden arviointi II oli yhteydessä 30-kuolleisuuteen (odds ratio, 1,158; 95 %:n luottamusväli, 1,022-1,312; p=0,022). Päätelmät: Hengitysteiden virusinfektio ei ollut harvinainen keuhkojen ARDS-potilailla. Influenssavirus tunnistettiin yleisimmin, ja siihen liittyi enemmän samanaikaista bakteeri-infektiota ja ECMO-hoitoa.

**Tulos**

Influenssatartunnan ja muiden hengitystievirusten aiheuttamaa keuhkoahtaumatautia sairastavien potilaiden ominaisuudet ja tulokset

**Esimerkki 1.6349**

Tavoitteet Selvittää tekijöitä, jotka vaikuttavat viimeisen vuoden lääketieteen opiskelijoiden käsihygienian noudattamiseen, käyttämällä teoreettista käyttäytymismallia. Suunnittelu Poikkileikkaustutkimus, jossa arvioidaan itse raportoitua noudattamista ja sen käyttäytymiseen liittyviä korrelaatioita. Lääketieteen opiskelijoiden harjoittelu Alankomaissa. 322 Erasmus Medical Centerin lääketieteen opiskelijat rekrytoitiin 12 kuukauden aikana julkisen terveydenhuollon harjoittelujakson aikana, joka on viimeinen pakollinen harjoittelujakso kaikkien tärkeimpien erikoisalojen 18 kuukauden kiertoaikataulun jälkeen. Käsihygienian noudattamiseen vaikuttavia käyttäytymistekijöitä mitattiin suunnitellun käyttäytymisen teoriaan ja sosiaalisiin ekologisiin malleihin perustuvalla kyselylomakkeella. Moninkertaista lineaarista regressioanalyysia käytettiin asenteiden, sosiaalisten normien, itsetehokkuuden, tiedon, riskinäkemyksen ja tapojen vaikutuksen selvittämiseksi käsihygienian noudattamiseen. Analyysissä oli mukana 313 opiskelijaa (vastausprosentti 97 %). Käyttäytymismalli selitti 40 prosenttia itse raportoidun noudattamisen varianssista (mukautettu R 2 = 0,40). Käsihygienian noudattamiseen vaikuttivat vahvasti asenteet (ennaltaehkäisevien toimien koetut tulokset), itsetehokkuus (käsitys kyvystä suorittaa käsihygienia kliinisellä osastolla) ja tottumus, mutta se ei liittynyt tietoon eikä riskinäkemykseen. Lääketieteen opiskelijoiden käyttäytymisen kohdentamisessa olisi keskityttävä näiden nuorten voimaannuttamiseen ja tarjottava heille näyttöä ennaltaehkäisyn terveyshyödyistä sen sijaan, että lisätään heidän faktatietämystään menettelyistä. Kliiniset opetusympäristöt voisivat auttaa heitä muodostamaan hyviä potilasturvallisuustottumuksia tässä uran elintärkeässä vaiheessa. 1. Tässä tutkimuksessa käytetään käsihygieniakyselylomaketta, joka perustuu sekä suunnitellun käyttäytymisen teorian että sosiaalisen ekologisen mallin oivalluksiin. 2. Lääketieteen opiskelijoiden käsihygieniakäyttäytymistä tutkitaan käyttäytymisen näkökulmasta suuressa otoksessa opiskelijoita, jotka ovat samassa harjoitteluvaiheessa. 3. Tämän tutkimuksen tärkeimmät rajoitukset ovat sen poikkileikkausasetelma ja itse raportoitu käsihygieniaohjeiden noudattaminen.

**Tulos**

Käsihygienian noudattamisen korrelaatioiden arviointi viimeisen vuoden lääketieteen opiskelijoiden keskuudessa: poikkileikkaustutkimus Assessment of correlates of hand hygiene compliance among final year medical students: a cross-sectional study Artikkelin tiivistelmä

**Esimerkki 1.6350**

Denguevirustartunnan (DENV) varhainen ja nopea toteaminen sairauden akuutin vaiheen aikana on ratkaisevan tärkeää potilaan asianmukaisen hoidon ja tartunnan leviämisen estämisen kannalta. Tässä tutkimuksessa standardoitiin ja validoitiin yksivaiheinen, neljän putken käänteistranskriptiosilmukan välityksellä toteutettu isoterminen amplifikaatiomääritys (RT-LAMP) DENV:n NS1-geenin nopeaa havaitsemista ja serotyypin määrittämistä varten Genie® II -fluorometrillä. RT-LAMP:n suorituskykyä verrattiin RT-PCR:ään, CDC 1-4 reaaliaikaiseen PCR:ään ja NS1-antigeenin ELISA-testiin sekä IgM- ja IgG-vasta-aineisiin. Akuutti DENV-infektio vahvistettiin 250/300 potilaalla, joilla epäiltiin kliinisesti DENV-infektiota. RT-LAMP- ja CDC 1-4 Reaaliaikainen PCR-määritys oli positiivinen 148/250 potilaalla, kun taas 92/250 potilaalla oli positiivinen anti-Dengue IgM- ja IgG-vasta-aine. RT-LAMP-määritys ja CDC:n reaaliaikainen RT-PCR-määritys osoittivat suurta yhdenmukaisuutta (k = 1,0). Akuutin DENV-infektion havaitsemisaste parani 96 prosenttiin (240/250), kun RT-LAMP-tutkimuksen tulokset yhdistettiin NS1 Ag-, IgM- ja IgG-ELISA-tutkimuksiin. RT-LAMP:n havaitsemisraja oli 100 kopiota DEN-1:n ja DEN-2:n osalta ja 10 kopiota DEN-3:n ja DEN-4:n osalta verrattuna 1000 kopioon DEN-1:n ja DEN-2:n osalta ja 100 kopioon DEN-3:n ja DEN-4:n osalta perinteisellä RT-PCR:llä. Testin spesifisyys oli 100 prosenttia. Tässä tutkimuksessa kehitettyä RT-LAMP-määritystä voidaan käyttää kliinisen diagnoosin varhaisvaiheessa, serotyypin määrityksessä ja DENV-infektion seurannassa Intian kaltaisissa endeemisissä maissa.

**Tulos**

Dengueviruksen serotyyppien nopea havaitseminen ja erottaminen NS1-spesifisellä käänteisen transkription silmukkavälitteisellä isotermisellä vahvistusmäärityksellä (RT-LAMP) Hyderabadin, Intian, tertiäärisairaalaan tulevilla potilailla.

**Esimerkki 1.6351**

Tutkimme ihmisen rotaviruksen nopean antigeeninmäärityksen (RAD), RT-PCR:n ja seuraavan sukupolven DNA-sekvensoinnin (NGS) herkkyyttä naudan A-ryhmän rotaviruksen (RVA) havaitsemisessa. Dipstick "Eiken" Rota (Dipstick) osoitti seitsemästä RAD-pakkauksesta korkeinta herkkyyttä kaikkia valittuja kantoja vastaan rajoitetuissa laimennusanalyyseissä, mikä oli yhdenmukainen aiemmin raportoitujen hevosen rotavirusta koskevien tulosten kanssa. RT-PCR:n herkkyys oli 10 0 -10 3 -kertainen Dipstickiin verrattuna. NGS, jossa käytettiin kolmentoista RT-PCR-negatiivista ulostenäytettä, osoitti, että kaikki näytteet tuottivat RVA-lukemia ja erityisesti, että kaksi niistä kattoi kaikki 11 genomin segmenttiä. Lisäksi genotyypin määritys oli mahdollista, kun lukemat kartoitettiin referenssisekvensseihin. NGS olisi herkkä ja hyödyllinen analysoitaessa vähemmän riippuvaisia spesifisistä alukkeista ja seulottaessa genotyyppejä.

**Tulos**

Yukie KATAYAMA 2) , Mami OBA 2) , Naomi NISHIURA 2) , Yukiko SASSA 2) , Tsutomu OMATSU 2) , Tetsuya FURUYA 2,4) , Satoshi KOYAMA 5)

**Esimerkki 1.6352**

Akuuttia erilaistumatonta kuumetta (AUF) esiintyy usein trooppisissa olosuhteissa, mutta AUF:n syyn diagnosointi on usein haaste paikallisille lääkäreille ja palaavia matkustajia hoitaville lääkäreille. Teimme tapaus-verrokkitutkimuksen Vietnamin keskiosassa vuonna 2016. Yhteensä 378 kuumeista aikuispotilasta (AUF), joilla oli kuumetta ≤21 päivän ajan, joilla ei ollut näyttöä paikallisesta infektiosta ja joiden dengueta ja malariaa koskevat seulontatestit olivat negatiivisia, ja 384 kuumeetonta aikuispotilasta (kontrollit) otettiin prospektiivisesti mukaan. Kokoveri-, plasma-, nielu- ja kurkkutahna- sekä virtsanäytteet kerättiin ja analysoitiin. Kvantitatiivista PCR:ää ja RT-PCR:ää käytettiin 55 bakteerin, viruksen ja niiden alatyyppien testaamiseen. Serologisia testejä käytettiin myös rickettsia-aiheuttajien testaamiseen. Yleisin taudinaiheuttaja oli influenssavirus (20,9 % AUF-taudeissa vs. 0 % kontrolleissa), ja seuraavaksi yleisimpiä olivat rickettsia-agentit (pääasiassa Orientia tsutsugamushi ja Rickettsia typhi) (10,8 % vs. 0,3 %), denguevirus (7,7 % vs. 0,5 %), Leptospira (4,8 % vs. 0,8 %), adenovirus (4,8 % vs. 1,0 %) ja enterovirus (2,1 % vs. 0 %) (p < 0,05). Todellinen denguetaudin osuus AUF-tapauksissa aliarvioitiin, koska potilaat, joiden denguepositiiviset pikatestit jäivät tutkimuksen ulkopuolelle. Tässä tutkimuksessa havaittiin uusi taudinaiheuttaja Rickettsia felis, jota ei ollut aiemmin havaittu Vietnamissa. Kaiken kaikkiaan 216 potilaalle (57,1 %) annettiin aiheuttajadiagnoosi, johon kuului 143 (66,2 %) monoinfektiota ja 73 (33,8 %) koinfektiota. Näiden taudinaiheuttajien aiheuttamat infektiot olisi otettava huomioon kliinisessä käytännössä ja jatkotutkimuksissa. Lisäksi 15,6 prosentissa AUF-potilaista havaittiin doksisykliinille herkkiä taudinaiheuttajia, joten tämä lääke olisi sisällytettävä AUF-potilaiden hoidossa käytettävään paneeliin.

**Tulos**

Prospektiivinen tapaus-verrokkianalyysi akuutin eriytymättömän kuumeen etiologiasta Vietnamissa.

**Esimerkki 1.6353**

RNA:t ovat toiminnallisesti monimuotoisia makromolekyylejä, joiden asianmukaiset toiminnot riippuvat tiukasti niiden oikeista tertiäärirakenteista. RNA:iden oikea taittuminen on kuitenkin haastavaa ja hidasta niiden suuren rakenteellisen joustavuuden vuoksi. Siksi solut ja virukset koodaavat erilaisia RNA:n uudelleenmuokkausproteiineja, kuten helikaaseja ja RNA-kapernaaleja. RNA-viruksissa näillä proteiineilla uskotaan olevan keskeinen rooli kaikissa prosesseissa, joihin viruksen RNA:t liittyvät elinkaaren aikana. RNA-helikaseja on tutkittu laajasti vuosikymmeniä, kun taas RNA-kapernaaleja, erityisesti virusten koodaamia RNA-kaperaaleja, ei useinkaan oteta huomioon. Tässä katsauksessa kuvataan RNA-virusten koodaamien RNA-kapernaaleiden, erityisesti viime vuosina tunnistettujen ja karakterisoitujen RNA-kapernaaleiden, toimintaa ja näiden proteiinien tehtäviä viruksen elinkaaren eri vaiheissa sekä esitetään yleiskatsaus tähän ainutlaatuiseen proteiiniryhmään.

**Tulos**

KATSAUS RNA-virusten koodaamat RNA-chaperonit

**Esimerkki 1.6354**

Knuchel, M., Ackermann, M., Miiller, H.K., Kihm, U., 1992. ELISA-menetelmä vasta-aineiden osoittamiseksi sikojen epidemiallisen ripuliviruksen (PEDV) vasta-aineita vastaan, joka perustuu viruksen pintaglykoproteiinin spesifiseen liukoisuuteen. Vet. Microbiol., 32:117-134. Sian epidemiallisen ripuliviruksen (PEDV) virusproteiinit uutettiin infektoituneiden Vero-solujen sytoplasmasta käyttäen hypotonisia olosuhteita ja ionitonta detergenttiä. Sekä uuttopuskurin pH:ta että NaC1-konsentraatiota vaihdeltiin, jotta virionin piikkiglykoproteiinien (S-proteiini) ja nukleokapsidiproteiinien (N-proteiini) liukoisuutta voitaisiin lisätä. Monoklonaalisia vasta-aineita, hyperimmuuniseerumeita ja toipuvan sian seerumeita käytettiin näiden proteiinien tunnistamiseen ja seurantaan immunoprecipitaatiolla ja Western-verrokilla. S-proteiinin liukoisuus oli optimaalinen pH 4:ssä, kun taas N-proteiinin liukoisuus oli optimaalinen pH 9:ssä. Näin ollen oli mahdollista rikastaa joko S- tai N-proteiinia; puskurin NaC!-pitoisuuden lisäämisestä ei ollut hyötyä tässä suhteessa. Rikastettuja S-proteiini- ja N-proteiinivalmisteita käytettiin ELISA-antigeeninä S-ELISA- ja N-ELISA-testissä. S-ELISA osoittautui näistä kahdesta immunomäärityksestä tehokkaammaksi. S-proteiinin vasta-aineet pysyivät PEDV-tartunnan saaneiden sikojen seerumissa havaittavissa pidempään kuin N-proteiinin vasta-aineet. Tämän herkemmän ELISA-testin avulla havaittiin, että vain pieni määrä tiloja Sveitsissä oli saanut PEDV-tartunnan. Kirjeenvaihto osoitteeseen: M. Ackermann, Institut -r Virologic, Vet.-med. Fakult~it, Universit~it Ziirich, Winterthurerstr. 266a, CH-8057 Ziirich, Sveitsi. ~Läsnäoleva osoite:

**Tulos**

ELISA-menetelmä vasta-aineiden osoittamiseksi sikojen epidemiallisen ripuliviruksen (PEDV) vasta-aineita vastaan, joka perustuu viruksen pintaglykoproteiinin spesifiseen liukoisuuteen.

**Esimerkki 1.6355**

Sepsis on merkittävä kuolleisuuden syy neutropeenisen vaiheen aikana pahanlaatuisten syöpien intensiivisten sytotoksisten hoitojen jälkeen. Sepsiksen parempi hoito neutropenian aikana voi vähentää syöpähoitojen aiheuttamaa kuolleisuutta. Sepsiksen hoidosta on julkaistu kliinisiä ohjeita. Optimaalinen hoito voi kuitenkin vaihdella neutropeenisten ja ei-neutropeenisten potilaiden välillä. Tavoitteenamme on antaa näyttöön perustuvia suosituksia hematologeille, onkologeille ja tehohoitolääkäreille neutropeniaa ja sepsistä sairastavien aikuispotilaiden hoidosta.

**Tulos**

Sepsiksen hoito neutropeenisilla potilailla: Saksan hematologian ja lääketieteellisen onkologian yhdistyksen (AGIHO) infektiosairauksien työryhmän vuonna 2014 päivitetyt ohjeet.

**Esimerkki 1.6356**

Useimmat virukset muokkaavat genomi- ja mRNA:nsa 5 0 -loppuja lisäämällä RNA-korkin, mikä mahdollistaa tehokkaan mRNA:n translaation, rajoittaa solun 5 0 -3 0 eksonukleaasien aiheuttamaa hajoamista ja estää isäntäsolua tunnistamasta virusta vieraaksi RNA:ksi. Virusten RNA-korkit voidaan syntetisoida tai hankkia käyttämällä korkkikoneistoa, jonka organisaatio, rakenne ja mekanismi poikkeavat merkittävästi soluisännän rakenteesta ja mekanismista. Tämän vuoksi viruksen RNA-kapselointi on noussut mielenkiintoiseksi alaksi viruslääkkeiden suunnittelussa. Tässä tarkastelemme erilaisia reittejä ja mekanismeja, joita käytetään viruksen mRNA 5 0kappien tuottamiseen, ja esittelemme nykyisiä rakenteita, mekanismeja ja inhibiittoreita, joiden tiedetään vaikuttavan viruksen RNA-kappauskoneistoon.

**Tulos**

Viruksen RNA-kapselointikoneisto viruslääkkeiden kohdelääkkeenä

**Esimerkki 1.6357**

osoittaa perifeeristä asentoa ja saattaa työntyä pinnalta ulos, mahdollisesti vuorovaikutuksessa muiden solun osien tai viereisten neurofilamenttien kanssa. Tässä esitetyt tulokset viittaavat siihen, että 200K-proteiinin suorittama tehtävä ei ole tiukasti välttämätön jokaiselle neurofilamentille, eikä sitä tarvita kaikissa kehitysvaiheissa. Tämän proteiinin läsnäolo ja puuttuminen pitäisi pystyä suhteuttamaan tiettyjen hermosolujen morfologisiin ja fysiologisiin ominaisuuksiin, ja näin voitaisiin selvittää tämän proteiinin roolia hermosolujen dynamiikassa. Kiitämme E. Debusia 200K neurofilamenttiproteiinin monoklonaalisen vasta-aineen toimittamisesta. G. S. sai tukea Max Planck -yhdistyksen postdoc-apurahasta.

**Tulos**

MHV-4:n lämpötilaherkän mutantin tuottama viruksen pysyvyys ja toistuva demyelinaatio.

**Esimerkki 1.6358**

Tollipilla on tärkeä rooli interleukiini-1-reseptorin IL-1R- ja Toll-reiteillä. Immuunireitin modulaattorina se säätelee epäsuorasti antimikrobisten peptidien määrää. Tämä voisi viitata elintärkeään vaiheeseen eläinten immuunijärjestelmän ylläpitämisessä ja infektioiden ehkäisemisessä. Evoluutiokysymykset ovat ratkaisevia, jotta voidaan ymmärtää Tollip-välitteisen kaltaisten biokemiallisten reittien säilymistä ja toimintaa. Analysoimalla 36 eri eläintaksonista peräisin olevaa Tollip-proteiinin sekvenssiä, jotka on ladattu Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) -tietopankista, päättelimme erilaisia evoluutioparametreja, kuten molekyylivalintaa ja rakenteen säilymistä, analysoimalla jäännöskohtaisesti, tämäntyyppiseen tutkimukseen kanonisten parametrien lisäksi maksimikelpoisuuspuina. Havaitsimme, että Tollipin kehityshistoriassa oli erilaisia suuntauksia. Kädellisillä proteiini on muuttumassa epävakaammaksi, niveljalkaisten ryhmässä on havaittu juuri päinvastainen suuntaus. Mielenkiintoisin havainto oli positiivisesti valittujen jäännösten pitoisuus aminoterminaalipäässä. Jotkin havaitut topologiset epäjohdonmukaisuudet täydellisten ja kuratoitujen Tollip-tietueiden maksimilukuisuuspuissa voitiin selittää horisontaalisilla siirroilla, joista rekombinaatiohavainto oli osoituksena. Nämä tulokset viittaavat siihen, että tästä proteiinista on vielä paljon tutkittavaa ja ymmärrettävää.

**Tulos**

Tollip vai ei Tollip: Mitkä ovat kehittyvät kysymykset sen taustalla?

**Esimerkki 1.6359**

Molekyylidynamiikan (MD) tulosta biopolymeerien tieteessä Karplus et al.:n proteiinidynamiikkaa koskevan tutkimuksen myötä MD:stä on tullut ennen kaikkea vakiintunut laskennallinen tekniikka biomolekyylien ja niiden kompleksien ja vuorovaikutusten rakenteen ja toiminnan tutkimiseksi. MD-ratojen (MDT) analysointi on kuitenkin edelleen suurin haaste, ja se vaatii paljon ymmärrystä, kokemusta ja työtä. Tässä esitellään uusi MDT:iden invarianttien luokka, joka perustuu keskienergia-arvojen x k (L) spatiaaliseen jakaumaan MDT:iden 2D-euklidisessa avaruusesityksessä. Menettely pakottaa yhden MD-radan taittumaan 2D-kartesiokoordinaatistoon yksinkertaisten sääntöjen ohjaaman vaiheittaisen menettelyn avulla. Arvot x k (L) ovat invarianteja Markovin matriisissa ( 1 P), joka kuvaa siirtymistodennäköisyyksiä kahden tilan välillä uudessa 2D-avaruudessa; se liittyy MDT:iden graafiseen esitykseen, joka on samanlainen kuin DNA- ja proteiinisekvenssien ristikkoverkot (LN). Esittelemme myös uuden algoritmin peptidien fylogeneettisen analyysin suorittamiseksi MDT:iden perusteella polypeptidin sekvenssin sijasta. Ensimmäisessä kokeessa havainnollistamme tätä algoritmia 35:lle peptidille, jotka esiintyvät tässä työssä tutkittavan uuden Leishmania infantum -proteiinin peptidimassan sormenjäljessä (PMF). Raportoimme ensimmäistä kertaa 2D-elektroforeesieristyksen, MALDI TOF -massaspektroskopian karakterisoinnin ja MASCOT-hakutulokset tälle PMF:lle. Toisessa kokeessa rakennamme LN:t 422:lle MDT:lle, jotka on saatu DNA-lääkkeiden telakointisimulaatioissa 57 syöpää ehkäisevän furokumariinin vuorovaikutuksesta DNA-oligonukleotidin kanssa. Laskimme kaikkien näiden LN:ien vastaavat x k (L) -arvot ja käytimme niitä syötteenä uuden luokittelijan kouluttamiseen, jonka tarkkuus oli ¼ 85,44 % koulutuksessa ja 84,91 % validoinnissa. Uutta mallia voidaan käyttää pisteytystoimintona ohjaamaan DNA-Drug Docking -tutkimuksia uusien kumariinien lääkesuunnittelussa PUVA-hoitoa varten. Uudet fylogenetiikan analyysialgoritmit koodaavat sekvenssin samankaltaisuudesta poikkeavaa tietoa, ja niitä voidaan käyttää analysoimaan telakointi- tai mallinnuskokeissa saatuja MDT:tä minkä tahansa biopolymeeriluokan osalta. Työ avaa uusia näkökulmia MD:n analysointiin ja sovelluksiin polymeeritieteissä.

**Tulos**

Loisproteiinien peptidien sormenjälkien ja lääke-DNA-vuorovaikutusten tutkiminen biopolymeerien molekyylidynaamisten ristikkoverkkojen Markov-Mean-Energy invarianteilla.

**Esimerkki 1.6360**

Systeemibiologia on erittäin lupaava keino paljastaa uusia reittejä, joiden avulla virukset ja muut mikrobipatogeenit ovat vuorovaikutuksessa isännän signalointi- ja ilmentymisverkostojen kanssa taudin vakavuuden välittämiseksi. Tässä tutkimuksessa olemme kehittäneet puolueettoman mallinnusmenetelmän, jolla tunnistetaan uusia akuuttia keuhkovauriota välittäviä polkuja ja verkostoyhteyksiä käyttäen vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirusta (SARS-CoV) mallipatogeeninä. Hyödynsimme yhteensopivien virologisten, patologisten ja transkriptomisten tietojen aikakäyrää uudessa metodologisessa kehyksessä, jolla voidaan havaita polkujen rikastuminen keskeisten, vahvasti toisiinsa kytkeytyneiden verkostogeeneiden välillä. Tämä puolueeton lähestymistapa tuotti korkean prioriteetin luettelon 4 geenistä yhdessä polussa yli 3 500 geenistä, jotka ilmentyivät eri tavoin SARS-CoV-infektion jälkeen. Näiden tietojen perusteella ennustimme, että urokinaasi- ja muut haavanparannusreitit säätelisivät hiirten SARS-CoV-infektion jälkeistä tappavaa ja subletaalista tautia. Validoimme urokinaasireitin merkityksen SARS-CoV-taudin vakavuuteen käyttämällä geneettisesti määriteltyjä knockout-hiiriä, reitin aktivoitumisen proteomisia korrelaatteja ja taudin patologista vakavuutta. Näiden tutkimusten tulokset osoittavat, että isännän hyytymis- ja fibrinolysiinireittien välillä vallitsee hieno tasapaino, joka säätelee patologisia taudin seurauksia, mukaan lukien diffuusi alveolivaurio ja akuutti keuhkovaurio, SARS-CoV:n kaltaisten erittäin patogeenisten hengitystievirusten aiheuttaman infektion jälkeen. ja akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä (ARDS), joka johtaa keuhkofibroosiin ja kuolemaan. Tunnistimme erilaista ilmentymistä aiheuttavia geenejä, jotka vaikuttavat ALI:n ja ARDS:n syntyyn, käyttämällä tappavia ja subletaalisia SARS-CoV-infektiomalleja. Geenijoukkojemme matemaattinen priorisointi tunnisti urokinaasi- ja solunulkoisen matriksin uudelleenmuodostusreitit eniten rikastuneiksi reiteiksi. Infektoimalla Serpine1-knockout-hiiriä osoitimme, että urokinaasireitillä oli merkittävä vaikutus sekä keuhkojen patologiaan että koko SARS-CoV-patogeneesiin. Nämä tulokset osoittavat, että puolueettomia mallintamistekniikoita voidaan käyttää tehokkaasti sellaisten ensisijaisten isäntäkohteiden tunnistamiseen, jotka säätelevät taudin tuloksia. Vuoden 1918 ja 2009 H1N1-influenssaviruksen tartuttamissa hiirissä havaittiin samanlaisia transkriptiosignaaleja, mikä viittaa yhteiseen, mahdollisesti hoidettavissa olevaan mekanismiin viruksen aiheuttaman ALI:n kehittymisessä. TO, Law GL, Katze MG, McWeeney S, Baric RS. 2013. Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen aiheuttaman akuutin keuhkovaurion mekanismit. mBio 4(4):e00271-13.

**Tulos**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän aiheuttaman akuutin keuhkovaurion mekanismit Koronaviruksen aiheuttama akuutti keuhkovaurio.

**Esimerkki 1.6361**

Suurin osa biologisen ympäristön kanssa aktiiviseen vuorovaikutukseen valmistettujen elektronisten laitteiden menestyksestä riippuu materiaalien oikeasta valinnasta ja pintojen ja rajapintojen tehokkaasta suunnittelusta. Orgaaniset materiaalit ovat osoittautuneet parhaiksi ehdokkaiksi tähän tarkoitukseen monien ominaisuuksiensa ansiosta, kuten synteesin viritettävyys, prosessoitavuus, pehmeys ja itsekokoonpanokyky, joiden ansiosta niistä voidaan muodostaa pintoja, jotka ovat yhteensopivia biologisten kudosten kanssa. Tässä katsauksessa esitetään joitakin tutkimustuloksia, joita on saatu kehitettäessä laitteita, joissa hyödynnetään orgaanisten materiaalien ominaisuuksia biologisesti merkittävien molekyylien havaitsemiseksi sekä biologisen ympäristön signaalien laukaisemiseksi/kaappaamiseksi. Monista tutkituista anturilaitteista on valittu orgaaniset kenttäefektitransistorit (OFET), orgaaniset sähkökemialliset transistorit (OECT) ja mikrokannattimet (MCL). Tärkeimpiä valintaan vaikuttaneita tekijöitä ovat niiden merkkausvapaa havaitsemismenetelmä, joka on erityisen tärkeä, kun käsitellään monimutkaisia biologisia prosesseja, sekä mahdollisuus integroida ne elektroniseen piiriin. Erityistä huomiota kiinnitetään sellaisten bioyhteensopivien pintojen suunnitteluun ja toteuttamiseen, joita voidaan käyttää asiaankuuluvien molekyylien tunnistamiseen, sekä uusien, sekä luonnollisten että luonnon inspiroimien materiaalien tutkimiseen ensimmäisenä lähestymistapana ympäristöystävälliseen elektroniikkaan.

**Tulos**

Mikrokannattimet ja orgaaniset transistorit: kaksi lupaavaa luokkaa elektroniikkapiireihin integroitavissa olevia leimattomia biosensointilaitteita.

**Esimerkki 1.6362**

Nykyiset hemagglutiniiniin (HA) perustuvat kausi-influenssarokotteet saavat aikaan rokotekantakohtaisia neutraloivia vasta-aineita, jotka eivät yleensä anna suojaa epäsopivia kiertäviä viruksia vastaan. Aiemmin on osoitettu, että hyvin konservoituneiden sisäisten proteiinien, kuten nukleoproteiinin (NP) ja matriisiproteiini 1:n (M1), sisällyttäminen rokotteeseen lisää rokotteen tehoa herättämällä ristireagoivia T-soluja. T-soluvasteiden tehokas käynnistäminen edellyttää kuitenkin sopivia levitysjärjestelmiä. Tässä tutkimuksessa osoitimme, että uusien itse monistuvien mRNA-vektoreiden (SAM 1 ), jotka ilmentävät influenssan NP:tä (SAM (NP)), M1:ää (SAM(M1)) ja NP:tä ja M1:ää (SAM(M1-NP)) ja jotka on toimitettu lipidin nanohiukkasilla (LNP), antaminen indusoi vahvoja polyfunktionaalisia CD4 T-avustaja 1 -soluja, kun taas NP:tä sisältävä SAM indusoi myös sytotoksisia CD8 T-soluja. Lisäksi mitattiin keskusmuisti- (T CM ) ja efektorimuisti- (T EM ) CD4- ja CD8-T-solujen vankka laajeneminen. SAM(NP)-immunisoitujen hiirten keuhkoissa havaittiin influenssainfektion jälkeen NP-spesifisten sytotoksisten CD8 T-solujen tehostunut rekrytointi, joka oli samansuuntainen kuin keuhkojen virustitterien ja patologian väheneminen sekä eloonjäämisen lisääntyminen homologisen ja heterosubtyypillisen influenssahaasteen jälkeen. Lopuksi osoitimme ensimmäistä kertaa, että RNA:n (SAM(M1-NP)) ja proteiinin (monovalenttinen inaktivoitu influenssarokote (MIIV)) samanaikainen antaminen oli mahdollista, että se indusoi samanaikaisesti NP-, M1- ja HA-spesifisiä T-soluja ja HA-spesifisiä neutraloivia vasta-aineita ja että se lisäsi MIIV:n tehoa heterologista haastetta vastaan. Yhteenvetona voidaan todeta, että konservoituja sisäisiä influenssaantigeenejä ilmentävien SAM-vektoreiden systeeminen antaminen sai aikaan suojaavan immuunivasteen hiirissä, mikä tukee SAM 1 -alustaa toisena lupaavana strategiana laajakirjoisten universaalien influenssarokotteiden kehittämisessä.

**Tulos**

Itsestään monistuvat mRNA-rokotteet, jotka ilmentävät useita konservoituneita influenssa-antigeeneja, antavat suojan homologista ja heterosubtyypillistä virushaastetta vastaan.

**Esimerkki 1.6363**

C-hepatiittivirus (HCV) vaikuttaa ainutlaatuisella tavalla desmosterolin homeostaasiin lisäämällä sen solunsisäistä määrää ja vaikuttamalla sen lokalisaatioon. Nämä vaikutukset ovat tärkeitä tuottavan viruksen replikaation kannalta, koska desmosterolisynteesin estämisellä on antiviraalinen vaikutus, joka voidaan pelastaa lisäämällä eksogeenista desmosterolia. Tässä käytämme subgenomisia replikoneita osoittaaksemme, että desmosterolilla on merkittävä vaikutus HCV JFH1 RNA:n replikaatioon. Synteettisillä tuetuilla lipidikaksoiskerroksilla tehdyt FRAP-kokeet (fluorescence recovery after photobleaching) osoittavat, että desmosterolin korvaaminen kolesterolilla lisää merkittävästi lipidikaksoiskerroksen juoksevuutta erityisesti tyydyttyneiden fosfolipidien ja keramidien läsnä ollessa. Osoitamme LC-MS:n avulla, että desmosterolia on runsaasti kalvoissa, joilla genomin replikaatio tapahtuu, ja että näistä erikoistuneista kalvoista saadut tuetut lipidikaksoiskalvot ovat myös huomattavasti juoksevampia kuin HCV:tä sisältämättömistä soluista eristetyt negatiiviset kontrollikalvot. Yhdessä nämä tiedot viittaavat malliin, jossa desmosterolin nestemäisyyttä edistävillä vaikutuksilla lipidikaksoiskalvoihin on ratkaiseva rooli endoplasmisessa retikulumissa HCV-infektion aikana tapahtuvassa laajassa kalvojen uudelleenmuokkauksessa. Odotamme, että kuvattu tuettu lipidikaksoiskerrosjärjestelmä voi tarjota hyödyllisen mallijärjestelmän, jossa voidaan tutkia lipidien rakenteen ja koostumuksen vaikutuksia lipidikalvojen biofysikaalisiin ominaisuuksiin sekä niiden toimintaa virusprosesseissa, kuten genomin replikaatiossa.

**Tulos**

Desmosteroli lisää lipidikaksoiskerroksen juoksevuutta hepatiitti C -virusinfektion aikana.

**Esimerkki 1.6364**

Hubein maakunnan ulkopuolella Kiinassa COVID-19-potilaiden lievä infektiomuoto ja asteittainen toipuminen viittaavat siihen, että on syytä kiinnittää huomiota "epätavanomaisiin" biologisiin mekanismeihin. Taksonomisesti sukua olevien koronavirusten Spike-proteiiniepitooppien suuren homologisuuden perusteella oletimme, että aiempi kontakti tartunnan saaneiden koirien kanssa suojaa ihmisiä kiertävältä SARS-CoV-2:lta. Muutoin toistuva virusaltistus lyhyen ajanjakson aikana saattaa johtaa vasta-aineesta riippuvaiseen vahvistumiseen, joka laukaisee väkivaltaisen immuunireaktion, joka on vastuussa Hubein maakunnassa havaituista vakavista kliinisistä seurauksista. Kokeellisia lisätutkimuksia tarvitaan kuitenkin, jotta esitetyt hypoteesit voidaan arvioida luottamuksellisesti.

**Tulos**

COVID-19-suhteiden molekyylipohja eri lajeissa: yksi terveysnäkökulma.

**Esimerkki 1.6365**

Tarttuva keuhkoputkentulehdus (IBV) on kotieläiminä pidettyjen lintujen taloudellisesti kalleimman yksittäisen tartuntataudin aiheuttaja Yhdistyneessä kuningaskunnassa - ja todennäköisesti myös monissa maissa, joissa siipikarjateollisuus on kehittynyt. Tärkeä syy sen jatkuvaan valta-asemaan on se, että sillä on monia serotyyppejä, jotka määräytyvät pinnan piikkiproteiinin (S) perusteella, ja ristiinsuojaus on heikko. Vaikka elävillä ja inaktivoiduilla rokotteilla voidaankin jossain määrin hallita, tarvitaan uuden sukupolven IB-rokotteita. Käänteisgeneettiset tai "tarttuvien kloonien" järjestelmät, jotka mahdollistavat IBV:n genomin manipuloinnin, ovat avainasemassa tässä kehityksessä. Uusien rokotteiden olisi mieluiten oltava geneettisesti stabiileja (eli niiden olisi säilytettävä vakaa heikennetty fenotyyppi), ne olisi annettava in ovo ja ne olisivat joustavia piikkiproteiinigeenin lähteen suhteen. IBV:n järkevä heikentäminen edellyttää sellaisten geenien tunnistamista, jotka eivät ole välttämättömiä replikaatiolle ja joiden puuttuminen vähentäisi patogeenisuutta. Jotta rokotteen ydinkantaa voitaisiin muuttaa siten, että se soveltuu vallitsevaan serotyyppiin, tarvitaan menettely, jolla se voidaan tehdä, ja osoitettava, että "piikkien vaihtaminen" riittää hyvän immuniteetin aikaansaamiseksi. Olemme osoittaneet, että neljä pientä IBV-proteiinia, joita geenit 3 ja 5 koodaavat, eivät ole välttämättömiä replikaatiolle; näiden proteiinien tuottamatta jättäminen ei juurikaan vaikuttanut haitallisesti tuotetun viruksen määrään. Nykyinen molekyylikloonattu IBV-kantamme Beaudette ei ole patogeeninen, joten emme tiedä, miten näiden proteiinien puuttuminen vaikuttaisi patogeenisyyteen. Eri geenien 3/5 rekombinantti-IBV:iden plakkien koko ja koostumus soluviljelmissä sekä vähentynyt tuotanto ja ciliostaasi henkitorven elinviljelmissä osoittavat kuitenkin, että ne ovat vähemmän aggressiivisia kuin villityyppinen Beaudette. Näin ollen nämä geenit ovat edelleen järkevän heikentämisen kohteita. Olemme hiljattain saaneet todisteita siitä, että yksi tai useampi geenin 1 koodaamista 15 proteiinista on myös patogeenisuuden määräävä tekijä. Näin ollen geeni 1 on myös rationaalisen vaimennuksen kohde. Beaudetten S-proteiinigeenin korvaaminen patogeenisen M41-kannan S-proteiinigeenillä johti rekombinantti-virukseen, joka ei ollut vieläkään patogeeninen mutta joka antoi suojan M41:n aiheuttamaa haastetta vastaan. Olemme sittemmin valmistaneet muitakin "piikkejä vaihdettuja" rekombinanttiviruksia, myös sellaisia, joissa on kimeeran S-geenit. Ainutlaatuista on, että Beaudetten molekyylikloonimme on hyvänlaatuinen, kun sitä annetaan 18 päivän ikäisille alkioille, jopa suurina annoksina, ja se aiheuttaa immuniteetin tämän rokotustavan jälkeen. Kaiken kaikkiaan tuloksemme viittaavat siihen, että uuden sukupolven IB-rokotteiden luominen, joka perustuu genomin järkevään muokkaamiseen, on toteutettavissa oleva tavoite.

**Tulos**

Tarttuvan keuhkoputkentulehduksen koronaviruksen genomin manipulointi rokotteen kehittämistä varten ja liitännäisproteiinien analyysi ଝ

**Esimerkki 1.6366**

Paramyxoviridae-virusperheeseen kuuluu eräitä merkittävimpiä ihmis- ja kotieläinten viruksia, kuten tuhkarokko-, punatauti-, sikotauti-, parainfluenssa-, Newcastlen tauti-, hengitystieoireyhtymävirus- ja metapneumoviruksia. Tässä tutkimuksessa tunnistetaan arviolta 66 uutta paramyxovirusta 119 lepakko- ja jyrsijälajin (9 278 yksilöä) maailmanlaajuisesta näytteestä. tärkeimpiä löydöksiä ovat todisteet Hendra- ja nipah-viruksen alkuperästä afrikassa, ihmisen sikotautiviruksen kanssa samantyyppisen lepakkoviruksen tunnistaminen, hengitystieoireyhtymäviruksen, hiiren keuhkokuumeen- ja koiran penikkatautiviruksen lähisukulaisten havaitseminen lepakoissa sekä suorat todisteet sendai-viruksesta jyrsijöissä. Isäntäyhteyksien fylogeneettinen rekonstruktio viittaa siihen, että isäntä vaihtuu pääasiassa lepakoista muihin nisäkkäisiin ja lintuihin. Maksimaalisen todennäköisyyden hypoteesitestit mahdollistavat sen, että lepakot voidaan fylogeneettisesti sijoittaa alustaviksi isänniksi molempien tärkeimpien Paramyxoviridae-alaperheiden (Paramyxovirinae ja Pneumovirinae) esivanhempien solmukohtiin. Tulevaisuuden yritykset ennustaa uusien paramyxovirusten esiintymistä ihmisissä ja kotieläimissä perustuvat olennaisesti näihin tietoihin.

**Tulos**

Lepakot isännöivät tärkeimpiä nisäkkäiden paramyxoviruksia.

**Esimerkki 1.6367**

Helicobacter pullorum on enterohepaattinen helikobakteerilaji (EHS), joka on äskettäin raportoitu hiirille luonnostaan hankittuna infektiona. Ulostenäytteet 18:sta 20:stä ruskeasta norjalaisesta (BN) rotasta, jotka oli sijoitettu samaan esteeseen kuin H. pullorum -tartunnan saaneet hiiret, olivat positiivisia H. pullorum -bakteerille lajispesifisen PCR:n avulla. Lisäksi määritettiin, kykeneekö H. pullorum pysyvästi kolonisoimaan ruoansulatuskanavaa ja/tai sappitiehyttä ja aiheuttamaan kudostulehduksen sekä seerumin IgG-vasteen BN-rotilla. Kuudelle (neljä urosta, kaksi naarasta) 6 viikon ikäiselle H. pullorumnegatiiviselle BN-rotalle annettiin suun kautta 4¾10 8 c.f.u. H. pullorumia joka toinen päivä yhteensä kolmen annoksen ajan. 2 viikkoa tartunnan jälkeen kaikki rotat olivat H. pullorum -positiivisia ulosteen PCR:n avulla. Viisi kuudesta BN-rotasta pysyi H. pullorum -positiivisena koko 30 viikon tutkimuksen ajan. Ruumiinavauksessa kerätyn kudoksen PCR-analyysi vahvisti, että paksusuoli ja umpisuoli olivat H. pullorum -kolonisaation ensisijaisia paikkoja. Rotilla, jotka olivat jatkuvasti kolonisoituneet H. pullorumilla, oli ELISA:lla mitattu jatkuva H. pullorum-spesifinen IgG-vaste. H. pullorum -infektioon liittyvää suolisto- tai maksapatologiaa ei havaittu. Tietojemme mukaan tämä on ensimmäinen raportti, jossa dokumentoidaan, että rotat voivat olla pysyvästi kolonisoituneita EHS:llä, joka tarttuu myös ihmisiin. Lyhenteet: BN, Brown Norway; EHS, enterohepaattinen Helicobacter species; qPCR, kvantitatiivinen PCR; RFLP, restriktiofragmenttipituuspolymorfismi; w.p.i., viikkoja infektion jälkeen.

**Tulos**

Luonnollinen ja kokeellinen Helicobacter pullorum -infektio ruskeilla rotilla

**Esimerkki 1.6368**

Koska immuunivasteet keskushermostossa ovat hyvin säänneltyjä, solukohtaiset erot IFNγ-signaloinnissa voivat olla olennainen tekijä isäntäsolujen vasteiden lopputuloksen sanelemisessa. Verrattaessa IFNγ:llä käsiteltyjen primaaristen neuronien vastetta kontrolli-MEF:n vasteeseen havaitsimme, että neuroneissa oli alhaisempi sekä STAT1:n että STAT3:n, IFNγ:n signaloinnista vastaavien ensisijaisten signaalinmuuntimien, perusekspressio. Näiden solupopulaatioiden IFNγ-käsittelyn jälkeen havaitsimme vaimeaa ja viivästynyttä STAT1-fosforylaatiota, ei havaittavaa STAT3-fosforylaatiota ja 3-10-kertaisesti alhaisempaa edustavien IFNγ-vasteisten geenitranskriptien tasoa. Lisäksi vasteena lyhyeen IFNγ-pulssiin havaittiin neuroneissa STAT1-fosforylaation ja IFNγ-geeniekspression tasainen lisääntyminen 48 tunnin ajan, kun taas MEF:ssä havaittiin nopeaa vaimenemista. Nämä erilaiset vastekinetiikat IFNγ:n stimuloimissa neuroneissa saattavat heijastaa muutoksia IFNγ:n negatiivisessa palautesilmukassa, mikä voi tarjota mekanismin IFNγ-vasteiden solukohtaiselle heterogeenisyydelle.

**Tulos**

STAT1:n ja STAT3:n muuttuneet tasot vaikuttavat neuronaaliseen vasteeseen interferonigammalle.

**Esimerkki 1.6369**

Viruksesta peräisin olevien nukleiinihappojen havaitseminen solujen avulla on välttämätöntä varhaisessa vaiheessa tapahtuvassa virustartuntojen torjunnassa. Viime vuosina DNA:ta aistivien proteiinien, kuten syklisen GMP-AMP-syntaasin (cGAS) ja gamma-interferoni-indusoituvan proteiinin (IFI16), löytäminen on johtanut ymmärrykseen siitä, miten solut herättävät voimakkaan synnynnäisen immuunivasteen DNA-genomia kantavia patogeenejä vastaan. DNA-anturien stimuloima signalointi riippuu adaptoriproteiinista STING (stimulator of interferon genes), joka mahdollistaa antiviraalisten proteiinien, kuten tyypin I interferonin, ilmentymisen. Tehokkaiden infektioiden helpottamiseksi virukset ovat kehittäneet monenlaisia väistämisstrategioita, jotka kohdistuvat isännän DNA-antureihin, adaptoriproteiineihin ja transkriptiotekijöihin. Tässä katsauksessa esitellään nykyistä kirjallisuutta virusten aiheuttamasta STING-reitin aktivoinnista ja keskustellaan hiljattain tunnistetuista virusten väistämismekanismeista, jotka kohdistuvat tämän antiviraalisen reitin eri vaiheisiin.

**Tulos**

Viruksen aiheuttama DNA-stimuloitujen synnynnäisten immuunivasteiden kiertäminen.

**Esimerkki 1.6370**

Taustaa: Almedinahin prinssi Mohammedin kansainvälisellä lentoasemalla toteutettiin vuoden 2014 Hajj-kauden aikana useita kansanterveydellisiä toimenpiteitä terveysministeriön toimesta. Useat toiminnalliset puutteet vaikuttivat kuitenkin ennaltaehkäisevien terveyspalvelujen tarjoamiseen matkustajille ja lentoaseman työntekijöille. Tämän tutkimuksen tavoitteena on arvioida lentoasemalla sovellettavaa kansanterveydellistä hätäjärjestelmää, havaita mahdolliset puutteet ja tarjota asianmukaisia operatiivisia ratkaisuja. Menetelmät: Tämä on kvalitatiivinen tapaustutkimus, joka toteutettiin Almedinahin prinssi Mohammedin kansainvälisellä lentoasemalla vuoden 2014 Hajj-kauden aikana syyskuussa 2014. Tiedot kerättiin puolistrukturoiduilla haastatteluilla, fokusryhmillä ja toimintaperiaatteita koskevien asiakirjojen tarkasteluilla. Haastattelut suoritettiin lentoaseman päättäjien ja asiaankuuluvien terveydenhuollon ammattilaisten 14 henkilön kanssa. Tiedot kirjattiin muistiinpanojen avulla haastattelujen aikana, ja tietojen koodaus suoritettiin tutkimuksen pää- ja alateemojen tuottamiseksi. Tutkimuksen päätulokset paljastivat kolme päävirhettä, jotka vaikuttavat lentoaseman kansanterveydelliseen hätäjärjestelmään. Pääteemat liittyivät pääasiassa kansanterveydellisiin hätäjärjestelmiin liittyvän logistiikan puutteeseen, toimintatapojen asianmukaisen dokumentoinnin puutteeseen ja lentoaseman sidosryhmien välisen viestinnän dokumentoitujen protokollien puutteeseen. Tutkimuksessa tuotiin esiin tärkeimmät tekijät, jotka haittaavat kansanterveydellisten hätätoimenpiteiden soveltamista lentoasemalla. Kansanterveydellisten hätätilanteiden varautumissuunnitelmaa ehdotettiin menetelmäksi, jolla säännellään kansanterveyden ennaltaehkäisevien palvelujen logistiikkaprosessia, dokumentoitujen toimintaperiaatteiden laatimismenetelmää ja yhteisymmärryspöytäkirjojen laatimismenetelmiä viestinnän sääntelijöiksi.

**Tulos**

Sovelletun kansanterveydellisen hätäjärjestelmän arviointi Almedinahin kansainvälisellä Prince Mohammedin lentoasemalla Hajj-kaudella 2014: laadullinen tapaustutkimus

**Esimerkki 1.6371**

Uusi koronavirus (SARS-CoV-2) on ihmisten vakavan hengitystiesairauden 20 aiheuttaja, joka uhkaa aiheuttaa maailmanlaajuisen terveyskriisin. Genomi-, sekvenssi-, 21 rakenne- ja evoluutioanalyysin avulla osoitamme, että alfa- ja beeta-CoV-viruksilla on useita uusia 22 immunoglobuliinidomeeniproteiiniperheitä, mukaan lukien SARSiin liittyvien koronavirusten 23 ORF8 ja ORF7a sekä tiettyjen alfa-CoV-virusten kaksi proteiiniryhmää. Niistä ORF8 erottuu siitä, että se on nopeasti 24 kehittyvä, sillä sillä on ainutlaatuinen insertti ja se on SARS-CoV-2:n genomien välillä hypervariaabeli 25 ennustetussa ligandinsitomisurassaan. Löysimme myös useita Ig-proteiineja useista metazoan-viruksista, 26 jotka eroavat toisistaan sekvenssiltään ja rakenteeltaan, mutta joiden rakenne on verrattavissa CoV:n Ig-27-domeeniproteiinien rakenteeseen. Näin ollen ehdotamme, että Ig-domeeniproteiinien käyttöönotto on virusten 28 laajalti käyttämä strategia, ja SARS-CoV-2 ORF8 on potentiaalinen patogeenisuustekijä, joka kehittyy nopeasti vastatakseen 29 immuunivasteeseen ja helpottaakseen siirtymistä isäntien välillä. 30 31

**Tulos**

Uudet immunoglobuliinidomeeniproteiinit tarjoavat tietoa SARS:ään liittyvien koronavirusten evoluutiosta ja patogeneesimekanismeista.

**Esimerkki 1.6372**

Transformationaalisen kasvutekijä-β-reseptori II (TGFBR2), TGF-β/SMA- ja MAD-proteiiniin (SMAD) liittyvän signaalireitin tyypin II reseptori, on ratkaisevassa asemassa TGF-β-signaalinsiirrossa, ja sitä säätelevät useat tekijät. TGFBR2:n ilmentymisprosessiin osallistuvan ei-koodaavan RNA:n modulointia munasarjoissa ei kuitenkaan ole tutkittu hyvin. Tutkimuksessamme eristimme ja karakterisoimme sian TGFBR2-geenin 3-transloitumattoman alueen (UTR), ja mikroRNA-1306 (miR-1306) tunnistettiin toiminnalliseksi miRNA:ksi, joka kohdistuu TGFBR2:een sian granuloosasoluissa (GC). Toiminnallinen analyysi osoitti, että miR-1306 edistää GC-solujen apoptoosia sekä heikentää TGF-β/SMAD-signalointireitin kohdentumista ja heikentää TGFBR2:n toimintaa GC-soluissa. Lisäksi tunnistimme miR-1306:n ydinpromoottorin ja löysimme kolme potentiaalista SMAD4-sidontaelementtiä (SBE). Luciferaasi- ja kromatiini-immunoprecipitointimääritykset (ChIP) osoittivat, että transkriptiotekijä SMAD4 sitoutuu suoraan miR-1306:n ydinpromoottoriin ja estää sen transkriptionaalista aktiivisuutta. Lisäksi TGF-β/SMAD-signalointireittiä moduloidaan SMAD4:n positiivisella palautteella miR-1306-ekspression estämisen kautta GC:ssä. Yhteenvetona havaintomme antavat todisteita epigeneettisestä mekanismista, joka moduloi ja välittää klassisen TGF-β/SMAD-signalointireitin palautesäätelyä sikojen munasarjoista peräisin olevissa GC:ssä.

**Tulos**

miR-1306 välittää TGF-β/SMAD-signalointireitin palautesääntelyä Granulosa-soluissa.

**Esimerkki 1.6373**

Solukalvoja muokataan jatkuvasti. Puolikuun muotoiset bin-amphiphysin-rvs (BAR) -domenit muokkaavat kalvoja useissa solupolkuissa. Eristettyjen BAR-domeenien in vitro -tutkimusten perusteella nykyinen paradigma on, että BAR-domeenia sisältävät proteiinit polymerisoituvat lieriömäisiksi telineiksi, jotka stabiloivat lipidiputkia. Luonnossa BAR-domeeneja sisältävät proteiinit sisältävät kuitenkin usein myös suuria sisäisesti epäjärjestyksessä olevia alueita. Käyttämällä in vitro- ja elävien solujen määrityksiä osoitamme tässä, että täyspitkät BAR-domeenia sisältävät proteiinit eivät stabiloi kalvoputkia vaan ovat yllättävän voimakkaita kalvojen jakautumisen aiheuttajia. Erityisesti kun BAR-telineet kerääntyvät kalvon pinnoille, niiden suuret epäjärjestyksessä olevat domeenit ahtautuvat ja luovat steriittistä painetta, joka horjuttaa lipidiputkia. Laajemmin tarkasteltuna havaitsimme tämän käyttäytymisen BAR-domeeneilla, joilla on erilaisia kaarevuuksia. Nämä tiedot viittaavat siihen, että kyky keskittää epäjärjestyneitä domeeneja on BAR-domeenin sisältävien proteiinien kalvojen uudelleenmuotoilun ja jakautumisen keskeinen tekijä.

**Tulos**

BAR-telineet ohjaavat kalvon jakautumista ahtauttaen epäjärjestyksessä olevia domeeneja.

**Esimerkki 1.6374**

Ihmisen immuunikatovirusten 1 ja 2, koronaviruksen 229 E, vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen ja Ebola-viruksen fuusioproteiinien kalvoproksimaalisesta alueesta peräisin olevat peptidit olivat kaikki voimakkaita kiinalaisen hamsterin munasarjasoluissa ilmaistun formyylipeptidireseptorin antagonisteja. Viruspeptidien sitoutumiseen vaikuttivat luonnossa esiintyvät polymorfismit jäännöksissä 190 ja 192, jotka sijaitsevat toisen solunulkoisen silmukan ja transmembraanikierukan 5 rajapinnassa. R190:n korvaaminen W190:llä lisäsi affiniteettia vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen peptidiin 6-kertaisesti, mutta vähensi affiniteettia N-formyyli-Nle-Leu-Phe:hen 2,5-kertaisesti. Koronaviruksesta 229E peräisin oleva 12 mer:n peptidi (ETYIKPWWVWL) oli formyylipeptidireseptorin W190 voimakkain antagonisti, jonka K i oli 230 nM. Fluoresenssilla leimattu ETYIKPWWVWL sisäistettiin tehokkaasti kaikkien kolmen muunnoksen toimesta, ja sen EC 50 oli ∼25 nM. HKU-1-koronaviruspeptidi MYVKWPWYVWL oli voimakas antagonisti, mutta N-formyyli-MYVKWPWYVWL oli voimakas agonisti. ETYIKPWWVWL ei stimuloinut GTPγS:n sitoutumista, mutta esti formyyli-NleLeuPhe:n aiheuttaman stimulaation. Se esti myös formyyli-Nle-Leu-Phe:n indusoiman β-arrestiinin translokaation ja reseptorin downregulaation. Tämä osoittaa, että formyylipeptidireseptorilla voi olla merkitystä virusinfektioissa ja että sen sekvenssin vaihtelut yksilöiden välillä voivat vaikuttaa niiden todennäköisyyteen saada virus- ja bakteeri-infektioita.

**Tulos**

HIV-1:stä, HIV-2:sta, Ebola-viruksesta, SARS-koronaviruksesta ja koronavirus 229E:stä peräisin olevat peptidit sitoutuvat erittäin affinisti formyylipeptidireseptoriin.

**Esimerkki 1.6375**

Kalkkunan koronavirus (TCoV), joka on yksi kaikista tunnetuista koronaviruksista vähiten karakterisoitu, eristettiin nuorten kalkkunoiden akuutin suolitulehduksen puhkeamisesta Ontariossa, Kanadassa, ja sen koko genominen sekvenssi määritettiin. Täyspitkä genomi oli 27 632 nukleotidia, johon lisättiin 3 poly(A)-häntää. Kaksi avointa lukukehystä, ORF 1a ja 1b, sijaitsivat genomin kahdessa ensimmäisessä kolmanneksessa, ja lisäksi tunnistettiin yhdeksän muuta alempana sijaitsevaa ORF:ää. TCoV:ssä ei ollut hemagglutiniiniesteraasigeeniä. Kalvo- (M) ja nukleokapsidiproteiinigeenien (N) välinen alue sisälsi kolme mahdollista pientä ORF:ää: ORF-X, aiemmin tuntematon ORF, johon liittyy M-geenin sisällä oleva oletettu TRS (ilmeisesti yhteinen kaikille ryhmän III koronaviruksille), ja aiemmin kuvatut ORF:t 5a ja 5b. TCoV:n genomi on järjestetty seuraavasti: 5 UTR -replikaasi (ORF:t 1a, 1b) -piikkiproteiini (S) -ORF3 (ORF:t 3a, 3b) -pieni kuoriproteiini (E tai 3c) -membraaniproteiini (M) -ORF5 (ORF:t X, 5a, 5b) -nukleokapsidiproteiini (N) -3 UTR -poly(A). TCoV:n genomin rakenne ja sekvenssi oli hyvin samankaltainen kuin lintujen tarttuvan keuhkoputkentulehduksen viruksen (IBV), mutta erosi siitä. Tämä on ensimmäinen TCoV:n täydellinen genomisekvenssi, ja se vahvistaa, että TCoV kuuluu ryhmän III koronaviruksiin.

**Tulos**

Kalkkunan koronaviruksen täydellinen genomisekvenssi

**Esimerkki 1.6376**

ICH S6R1- ja S8-ohjeissa määritellään yleiset puitteet bioteknologiasta peräisin olevien lääkkeiden ja ihmislääkkeiden immunotoksisuuden arvioinnille. Koska vakavat ja ennakoimattomat haittavaikutukset ovat viime vuosina osoittaneet dramaattisesti, että immuunijärjestelmä on lääketurvallisuuden kannalta kriittinen tekijä, näitä puitteita on tarkistettava, jotta voidaan parantaa ei-kliinisen immuuniturvallisuuden arvioinnin ennustettavuutta. Turvallisuusimmunofarmakologian katsotaan edistävän tätä odotettua parannusta, sillä sen avulla voidaan jo varhaisessa vaiheessa seuloa, voivatko lääkeaihioilla olla odottamattomia immunosuppressiivisia ja immunostimuloivia vaikutuksia sekä muita kuin immuunivälitteisiä yliherkkyysreaktioita. Turvallisuuteen erikoistunut immunofarmakologia voi myös tuottaa mekanistista tietoa, jonka avulla voidaan määrittää, mitä immunotoksisuustutkimuksia olisi tehtävä. Esitellään immunologisia testejä ja malleja, joita voidaan harkita käytettäväksi turvallisuusfarmakologisten tutkimusten yhteydessä, ja esitetään näkymiä niiden oikea-aikaiseen kehittämiseen.

**Tulos**

Turvallisuuden immunofarmakologia: Lääkkeiden immuunijärjestelmään kohdistuvien haittavaikutusten arviointi.

**Esimerkki 1.6377**

Taustaa: Newcastlen tautivirus (NDV) on vaipallinen RNA-virus, joka aiheuttaa vakavia taloudellisia tappioita siipikarjateollisuudelle maailmanlaajuisesti. Aikaisemmat virion proteomitutkimukset ovat osoittaneet, että vaipalliset virukset kuljettavat useita isäntäsolujen proteiineja sekä sisäisesti että ulkoisesti elinkaarensa aikana. Selvittääksemme, tapahtuuko näin myös NDV-infektion aikana, teimme kattavan proteomianalyysin erittäin puhdistetuista NDV:n La Sota -kannan hiukkasista. Tulokset: Viiden viruksen rakenneproteiinin lisäksi havaitsimme kolmekymmentä soluproteiinia, jotka liittyivät puhdistettuihin NDV La Sota -hiukkasiin. Tunnistetut soluproteiinit kuuluivat useisiin toiminnallisiin luokkiin, kuten sytoskelettiproteiineihin, annexiineihin, molekyylikaproneihin, kromatiinia muokkaaviin proteiineihin, entsyymejä sitoviin proteiineihin, kalsiumia sitoviin proteiineihin ja signaalinsiirtoon liittyviin proteiineihin. Näistä kolmea isäntäproteiinia ei ole aiemmin raportoitu muiden virusperheiden virioissa, mukaan lukien kaksi signaalinsiirtoon liittyvää proteiinia (synteniini ja pieni Ras-GTPaasi) ja yksi kasvaimeen liittyvä proteiini (kasvainproteiini D52). Puhdistettuihin NDV-partikkeleihin liittyvien viiden valitun soluproteiinin (β-aktiini, tubuliini, annexiini A2, lämpösokkiproteiini Hsp90 ja ezriini) esiintyminen validoitiin Western blot- tai immunogold-merkintämäärityksillä. Päätelmät: Tässä tutkimuksessa esiteltiin ensimmäinen NDV:n standardoitu proteominen profiili. Tulokset osoittivat, että NDV-partikkeleihin on sisällytetty soluproteiineja, mikä tarjoaa arvokasta tietoa virusinfektion ja patogeneesin selvittämiseksi.

**Tulos**

Puhdistettujen Newcastlen taudin viruspartikkelien proteomianalyysi

**Esimerkki 1.6378**

Dendrolimus punctatus tetravirus (DpTV) kuuluu Alphatetraviridae-heimon omegatetravirus-sukuun. Sekvenssianalyysin mukaan DpTV:n replikaasi sisältää oletetun helikaasidomeenin (Hel). Alphatetravirusten helikaasiaktiivisuutta ei kuitenkaan ole koskaan määritetty virallisesti. Tässä tutkimuksessa määritimme, että DpTV Hel on toimiva RNA-eliksaasi, joka kuuluu superperheeseen 1 kuuluvaan helikaasiin ja jolla on 5 0 -3 0 dsRNA:n purkautumissuuntaisuus. Tarkemmassa karakterisoinnissa määritettiin RNA-templaatin 5 0 -yksisäikeisen hännän pituusvaatimus ja optimaaliset reaktio-olosuhteet DpTV Helin purkuaktiivisuudelle. Lisäksi DpTV Hel sisältää myös NTPaasiaktiivisuutta. DpTV Helin ATPaasiaktiivisuutta voitiin stimuloida merkittävästi dsRNA:lla, ja dsRNA saattoi osittain pelastaa mutaatioiden aiheuttaman ATPaasiaktiivisuuden häviämisen. Tutkimuksemme on ensimmäinen, jossa tunnistetaan alfatetraviruksen RNA-eliksaasi ja karakterisoidaan sen dsRNA:n purkautumis- ja NTPaasiaktiviteetteja yksityiskohtaisesti, ja sen pitäisi edistää DpTV:n ja muiden alfatetravirusten ymmärtämistä.

**Tulos**

RNA-dupleksin purkautumisen ja ATPaasiaktiivisuuden tunnistaminen ja karakterisointi alfatetraviruksen superperheen 1 helikaasissa.

**Esimerkki 1.6379**

ABC-SMC-menetelmässä [1] hiukkaset luodaan ensin ennakkojakaumasta. Tämän jälkeen hiukkaset poimitaan uudelleen saadusta näytteestä ja niitä häiritään hieman. Näistä uudelleen näytteistetyistä hiukkasista muodostetaan uusi näyte, josta taas otetaan hiukkasia uudelleen jne. Yhteenvetotilaston kynnysarvoa, jonka alapuolella uudet hiukkaset hyväksytään, alennetaan jokaisen uuden otoksen myötä. Tämän seurauksena hyväksymisprosentti laskee ja hyväksymiskynnys lähestyy nollaa iteraatioiden (uusintanäytteenottojen) määrän kasvaessa. Alkuarvot arvioitiin seuraavasti. Loimme 100 puuta ja laskimme yhteenvetotilastot (indeksit) ja käytimme tämän jakauman keskihajontaa alkuarvoina. -arvot pienenivät eksponentiaalisesti, kun ABC-sekvenssijärjestelmä eteni. - Asetetaan populaatioindikaattori t = 1 - Asetetaan hiukkasindikaattori i = 1 - Jos t = 1, otetaan otos (m , θ ) ennakkoarvosta π(m, θ) = π(m)π(θ|m) - Jos t > 1 otetaan m todennäköisyydellä π t-1 (m ) ja häiritään m ∼ Km t (m|m ) Otetaan θ edellisestä populaatiosta {θ(m ) t-1 } painoilla w t-1 . Häiritse hiukkasta, θ ∼ KP t,m (θ|θ ) missä KP t,m on hiukkasen häiriöydin. Jos π(m , θ ) = 0, toistetaan tämä vaihe. Simuloidaan ehdokasdatajoukko x ∼ f (x|m , θ ) Jos ρ(x , y) > toista tämä vaihe. 1/3

**Tulos**

Siirtoverkon rakenteen päättely HIV:n fylogeneettisistä puista Lisätiedot Approximate Bayesian Computation for model choice (Bayesin approksimatiivinen laskenta mallin valintaa varten)

**Esimerkki 1.6380**

Ikääntyminen lisää erilaisten sairauksien riskiä. Ikääntymistutkimuksen päätavoitteena on löytää hoitomuotoja, jotka hillitsevät ikääntymistä ja lievittävät ikääntymiseen liittyviä sairauksia. Tässä tutkimuksessa seuloimme luontaistuotekirjastosta geroprotektiivisia yhdisteitä käyttäen Werner-oireyhtymän (WS) ihmisen mesenkymaalisia kantasoluja (hMSC), joka on hiljattain luomamme ennenaikainen ikääntymismalli. Kymmenen ehdokasyhdistettä tunnistettiin, ja kversetiiniä tutkittiin yksityiskohtaisesti sen johtavien vaikutusten vuoksi. Mekanistiset tutkimukset osoittivat, että kversetiini lievitti senesenssiä tehostamalla solujen proliferaatiota ja palauttamalla heterokromatiiniarkkitehtuurin WS:n hMSC-soluissa. RNA-sekvensointianalyysi paljasti transkriptioyhteisöt ja -erot kversetiinin ja C-vitamiinin geroprotektiivisissa vaikutuksissa. WS:n hMSC-solujen lisäksi kversetiini vaimensi solujen vanhenemista myös Hutchinson-Gilfordin progeria-oireyhtymässä (HGPS) ja fysiologisesti vanhenevissa hMSC-soluissa. Kaiken kaikkiaan tutkimuksemme tunnistaa kversetiinin geroprotektiiviseksi aineeksi kiihtyvää ja luonnollista ikääntymistä vastaan hMSC-yksilöissä, mikä tarjoaa mahdollisen terapeuttisen intervention ikään liittyvien häiriöiden hoitoon.

**Tulos**

Kemiallinen seulonta tunnistaa kversetiinin geroprotektiivisen roolin ennenaikaisessa ikääntymisessä.

**Esimerkki 1.6381**

Wuhanissa, Hubein maakunnassa Kiinassa esiintynyt uusi koronavirusinfektio (Coronavirus disease 2019) on levinnyt moniin maihin eri puolilla maailmaa. Viime vuosikymmeninä on pyritty kehittämään rokotteita ihmisen koronavirusinfektioita (CoV), kuten MERS- ja SARS-infektioita vastaan. Toistaiseksi MERS- ja SARS-tautiin ei kuitenkaan ole olemassa lisensoitua viruslääkettä tai rokotetta. Suurin osa CoV-rokotteiden ja -lääkkeiden kehittämispyrkimyksistä kohdistuu piikkiglykoproteiiniin tai S-proteiiniin, joka on tärkein neutraloivien vasta-aineiden aiheuttaja. Vaikka muutamat ehdokkaat ovat osoittaneet tehoa in vitro -tutkimuksissa, monet niistä eivät ole edenneet satunnaistettuihin eläinkokeisiin tai ihmiskokeisiin, joten niiden käyttö COVID-19-infektion torjunnassa voi olla rajallista. Tässä artikkelissa tuodaan esiin meneillään olevia edistysaskeleita rokotteiden ja terapeuttisten lääkkeiden suunnittelussa COVID-19:n torjumiseksi ja keskitytään samalla kokemuksiin ja edistysaskeliin, joita on saatu aikaisemmista SARS- ja MERS-CoV-viruksista ja jotka yhdessä voisivat mahdollistaa tämän uuden virusinfektion pysäyttämisen. ARTIKKELIN HISTORIA

**Tulos**

COVID-19, kehittyvä koronavirusinfektio: rokotteiden, immunoterapian ja terapian suunnittelussa ja kehittämisessä saavutetut edistysaskeleet ja näkymät.

**Esimerkki 1.6382**

Maailman terveysjärjestö WHO on julistanut meneillään olevan vuoden 2019 koronavirustautiepidemian (COVID-19) kansainvälisesti merkittäväksi kansanterveydelliseksi hätätilanteeksi. Virusten taksonomiaa käsittelevä kansainvälinen komitea nimesi viruksen vakavaksi akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirukseksi 2 (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2:n aiheuttama ihmisen tartunta johtaa monenlaisiin kliinisiin oireisiin, jotka vaihtelevat oireettomista lieviin, keskivaikeisiin ja vakaviin. Vaikeissa tapauksissa esiintyy keuhkokuumetta, joka voi kehittyä akuutiksi hengitysvaikeusoireyhtymäksi. Epidemia tarjoaa mahdollisuuden seurata reaaliaikaisesti eläinten koronavirusta, joka on juuri ylittänyt lajirajat ja tarttunut ihmisiin. SARS-CoV-2-infektion lopputulos riippuu suurelta osin viruksen ja isännän vuorovaikutuksesta. Seuraavassa tarkastellaan SARS-CoV-2:n löytymistä, zoonoottista alkuperää, eläinisäntiä, tarttuvuutta ja patogeenisuutta suhteessa sen vuorovaikutukseen isännän antiviraalisen puolustuksen kanssa. Vertailua tehdään SARS-CoV:n, Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen, ihmisten yhteisöperäisten koronavirusten ja muiden patogeenisten virusten, kuten ihmisen immuunikatovirusten, kanssa. Esitämme yhteenvedon nykyisestä käsityksestä, joka koskee muiden erittäin patogeenisten ihmisen koronavirusten aiheuttaman proinflammatorisen sytokiinimyrskyn indusoimista, niiden sopeutumista ihmisiin ja niiden solukuolemaohjelmien anastamista. Lisäksi käsitellään tärkeitä kysymyksiä, jotka koskevat SARS-CoV-2:n ja isännän antiviraalisen puolustuksen välistä vuorovaikutusta, mukaan lukien oireeton ja oireeton viruksen irtoaminen. ARTIKKELIN HISTORIA

**Tulos**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen 2 ja isännän viruksenvastaisen puolustuksen välinen köydenveto: opit muista patogeenisistä viruksista.

**Esimerkki 1.6383**

iminosokerit viruslääkitys flavivirus filovirus virusperäinen verenvuotokuume a b s t r a k t Endoplasmisen retikulumin (ER) residenssissä olevat a-glukosidaasit I ja II leikkaavat peräkkäin syntyviin glykoproteiineihin kiinnittyneiden N-sidoksisten glykaanien kolme terminaalista glukoosiryhmää. Nämä reaktiot ovat N-sidoksissa olevien glykaanien prosessoinnin ensimmäiset vaiheet, ja ne ovat välttämättömiä monien glykoproteiinien asianmukaiselle taittumiselle ja toiminnalle. Koska useimmat viruksen kuoriglykoproteiinit sisältävät N-sidoksisia glykaaneja, ER:n a-glukosidaasien estäminen 1-deoksinojirimysiinin (DNJ) tai kastanospermiinin (CAST) johdannaisilla, jotka ovat kaksi hyvin tutkittua aglukosidaasi-inhibiittorin farmakofooria, häiritsee tehokkaasti monenlaisten kuorivirusten morfogeneesiä. Lisäksi sekä DNJ- että CAST-johdannaisten on osoitettu estävän useilla erilaisilla flaviviruksilla ja filoviruksilla infektoituneiden hiirten kuoleman ja tukahduttavan useiden muiden viruslajien lisääntymistä infektoituneissa eläimissä. DNJ:n N-butyylijohdannaista (NB-DNJ) ja CAST:n 6 O-bytanoyylietuhappoa (Bu-CAST) on arvioitu kliinisissä tutkimuksissa ihmisillä niiden antiviraalisten vaikutusten osalta ihmisen immuunikatovirusta ja hepatiitti C -virusta vastaan, ja parhaillaan on käynnissä tutkimus denguepotilaiden hoitamiseksi Bu-CAST:lla. Tässä artikkelissa esitetään yhteenveto ER a-glukosidaasiin kohdistetun viruslääkehoidon nykytilasta ja ehdotetaan strategioita tehokkaampien ja spesifisempien ER a-glukosidaasin estäjien kehittämiseksi laajakirjoisiksi, lääkeresistenssille vastustuskykyisiksi viruslääkkeiksi. Nämä isännän toimintaan kohdistetut, laajakirjoiset viruslääkkeet eivät ole riippuvaisia aikaa vievästä etiologisesta diagnoosista, ja siksi niiden pitäisi olla erityisen lupaavia virusperäisen verenvuotokuumeen ja hengitysteiden virusinfektioiden hoidossa, sillä ne ovat sairaustiloja, jotka voivat johtua monista erilaisista vaipallisista RNA-viruksista ja joissa on lyhyt aika lääkinnällisille toimenpiteille.

**Tulos**

Isännän ER-alfaglukosidaaseihin kohdistuvat viruslääkkeet: Glukoosien torjunta-aineet: Nykytila ja tulevaisuuden suuntaviivat

**Esimerkki 1.6384**

Viimeaikaiset influenssa A -viruksen H5N1-kannoilla tehdyt gain-of-function-tutkimukset osoittivat, että vain kolme aminohappomuutosta hemagglutiniiniproteiinissa antaa mahdollisuuden viruksen siirtymiseen frettien välillä 1, 2 . Koska frettien välistä tarttuvuutta pidetään korvikeindikaattorina ihmisten välisestä tarttuvuudesta, nämä tutkimukset herättivät huolta influenssa A -viruksen gain-of-function -tutkimuksen riskeistä. Tässä esitellään lähestymistapa, jolla vahvistetaan gain-offunction-influenssakokeiden bioturvallisuutta. Hyödynnämme lajispesifisiä endogeenisiä pieniä RNA:ita influenssa A -viruksen trooppisuuden rajoittamiseksi. Erityisesti havaitsimme, että mikroRNA miR-192 ilmentyi ihmisen hengitysteiden epiteelisoluissa ja hiiren keuhkoissa, mutta puuttui fretin hengitysteistä. MiR-192:n kohdekohtien sisällyttäminen influenssa A -virukseen ei estänyt influenssan lisääntymistä ja tarttuvuutta freteissä, mutta vähensi influenssan patogeenisuutta hiirissä. Tätä molekulaarista biosuojalähestymistapaa olisi voitava soveltaa influenssa A -virusta laajemminkin, jotta voidaan minimoida riski kokeissa, joissa käytetään muita patogeenisiä viruksia. Käyttäjät voivat tarkastella, tulostaa, kopioida, ladata, tekstata ja louhia tällaisten asiakirjojen sisältöä akateemista tutkimusta varten noudattaen aina kaikkia käyttöehtoja:

**Tulos**

MikroRNA-pohjainen strategia, jolla voidaan lieventää influenssatutkimusten riskiä HHS Public Access Author manuscript (Tekijän käsikirjoitus)

**Esimerkki 1.6385**

Timantti-Blackfan-anemia (DBA) on harvinainen synnynnäinen sairaus, jossa on huomattavaa fenotyyppistä päällekkäisyyttä muiden perinnöllisten luuytimen vajaatoimintaoireyhtymien kanssa, minkä vuoksi erotusdiagnoosi on haastava ja sen vahvistaminen usein viivästyy huomattavasti. Koko eksomin sekvensoinnin avulla selvitimme patogeenisten varianttien esiintymisen kolmella potilaalla, joiden kliininen diagnoosi oli muutoin epävarma, ja saimme uutta tietoa DBA:n genotyypin ja fenotyypin välisistä korrelaatioista. Huomionarvoista on, että RPL5:n c.482del frameshift-mutaatiota ei ole koskaan aiemmin raportoitu, kun taas RPS19:n c.3GN T missense-mutaatio, joka on aiemmin kuvattu 2 kuukauden ikäiseltä DBA-potilaalta, jolla ei ollut epämuodostumia ja joka oli refraktaari steroidihoidolle, havaittiin tässä mosaiikkimuutoksena eri ruumiinkudoksissa ensimmäistä kertaa DBA-potilailla.

**Tulos**

Koko eksomin sekvensointi Diamond-Blackfan-anemian erotusdiagnostiikassa: RPL5- ja mosaiikkimutaatioita ja RPS19-mutaatioiden mosaiikkimutaatioita sairastavien kolmen potilaan kliininen ja molekyylitutkimus.

**Esimerkki 1.6386**

Tarkoitus. Rhegmatogeenisen verkkokalvon irtauman (RRD) patogeneesi on edelleen puutteellisesti ymmärretty, eikä kliinisesti tehokasta hoitoa ole saatavilla potentiaalisesti vakaviin komplikaatioihin, kuten fotoreseptorisolujen kuolemaan ja proliferatiiviseen vitreoretinopatiaan. Tässä tutkimme lasiaisen proteiiniprofiilia kokeellisen verkkokalvon irtoamisen jälkeen käyttäen vertailevaa proteomipohjaista lähestymistapaa. Materiaalit ja menetelmät. Verkkokalvon irtoaminen luotiin kuuden uusiseelantilaisen punapigmenttisen kanin oikeaan silmään. Viidelle muulle kaniinille, joita käytettiin kontrolleina, tehtiin näennäisleikkaus. Seitsemän päivän kuluttua silmät poistettiin ja lasiainen poistettiin. Lasiaisnäytteet arvioitiin kaksiulotteisella polyakryyliamidigeelielektroforeesilla, ja eri tavoin ilmentyneet proteiinit tunnistettiin tandem-massaspektrometrillä. Tulokset. Kymmenen proteiinipistettä havaittiin vähintään kaksinkertaisesti erilaista ekspressiota, kun verrattiin näennäis- ja verkkokalvon irtaumaleikkausryhmien lasiaisnäytteitä. Verkkokalvon irtoamisen jälkeen lasiaisessa ylösreguloituneet proteiinipaikat tunnistettiin albumiinifragmenteiksi, ja alasreguloituneiksi havaittiin peroksiredoksiini 2, kollageeni-I 1 -fragmentti ja -1-antiproteinaasi F. Päätelmät. Kanin lasiaisen proteomitutkimuksessa on tunnistettu joukko proteiineja, jotka auttavat ymmärtämään paremmin regmatogeenisen verkkokalvon irtauman ja sen komplikaatioiden patogeneesiä. subretinaalinen fibroosi ja proliferatiivinen vitreoretinopatia (PVR) ovat edelleen merkittäviä syitä heikentyneisiin näkötuloksiin [3, 4] . PVR:hen liittyy eri solutyyppien, kuten verkkokalvon pigmenttiepiteelin (RPE) solujen, Müllerin solujen, tulehdussolujen ja hyalosyyttien, proliferaatio ja migraatio, jotka edistävät lasiaisen ja periretinaalisten kalvojen muodostumista, mikä voi estää fotoreseptorien uusiutumisen kirurgisen uudelleen kiinnityksen jälkeen ja aiheuttaa verkkokalvon traktionaalisen irtauman. RPE-solujen oletetun epiteeli-mesenkymaalisen siirtymän ja Müllerin solujen aktivoitumisen ja kasvun verkkokalvon pinnoille uskotaan olevan keskeisiä tapahtumia PVR:ssä [4, 5] . Näyttää siltä, että tällaisten solujen altistuminen lasiaiselle ja siihen liittyvä

**Tulos**

Lasiaisen proteomianalyysi kokeellisen verkkokalvon irtoamisen jälkeen kaneilla

**Esimerkki 1.6387**

Kanan ylähengitystiet ovat hengitystiepatogeenien, kuten lintuinfluenssaviruksen (AIV), pääsyportti. Mikro-organismien läsnäolon havaitsevat patogeenien tunnistamisreseptorit (kuten Tollin kaltaiset reseptorit (TLR)) synnynnäisessä immuunipuolustuksessa. Sisäsyntyiset vasteet ovat välttämättömiä voimakkaiden adaptiivisten immuunivasteiden myöhemmälle induktiolle, mutta kanan henkitorven sisäsyntyisistä virusvastaisista vasteista on saatavilla vain vähän tietoa. Oletimme, että TLR-ligandit indusoivat synnynnäisiä antiviraalisia vasteita kanan henkitorvessa. Henkitorven elinviljelmiä (TOC) käytettiin tutkimaan paikallisia synnynnäisiä vasteita TLR-ligandeille. Antiviraalisissa vasteissa vaikuttavien kandidaattigeenien ilmentyminen kvantifioitiin. Stimuloitujen TOC:ien antiviraalisten vasteiden vahvistamiseksi kanan makrofageja käsiteltiin stimuloitujen TOC:ien supernatantilla ennen AIV-infektiota. Tulokset osoittivat, että TLR-ligandit indusoivat pro-inflammatoristen sytokiinien, tyypin I interferonien ja interferonien stimuloimien geenien ilmentymistä kanan henkitorvessa. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että TLR-ligandit indusoivat kanan henkitorvessa toimivia antiviraalisia vasteita, jotka voivat toimia joitakin patogeenejä, kuten AIV:tä, vastaan.

**Tulos**

Paikalliset sisäsyntyiset vasteet TLR-ligandeille kanan henkitorvessa

**Esimerkki 1.6388**

Ihmisen interferonivaste (IFN) on keskeinen synnynnäinen immuunimekanismi virusinfektion torjunnassa. IFN:t ovat isännän koodaamia erittyviä proteiineja, jotka indusoivat IFN-stimuloituja geenejä (ISG:t), joilla on viruksenvastaisia ominaisuuksia. Kolmesta IFN-luokasta tyypin III IFN:t, joita kutsutaan myös IFN-lambdiksi (IFNL), ovat olennainen osa synnynnäistä immuunivastetta hepatiitti C -virusta (HCV) vastaan. Erityisesti ihmisen polymorfismit IFNL-geenilokeroissa korreloivat C-hepatiitin taudin etenemisen ja hoitovasteen kanssa. Toistaiseksi taustalla olevat mekanismit ovat enimmäkseen hämärän peitossa, mutta näyttää kuitenkin selvältä, että maksan virusinfektio indusoi IFNL-vasteen. Koska IFNL-reseptoreilla on rajoitetumpi kudosekspressio kuin muiden IFN-luokkien reseptoreilla, IFNL-hoidolla on vähemmän sivuvaikutuksia verrattuna klassiseen tyypin I IFN-hoitoon. HCV:n hoidossa IFNL:llä ei kuitenkaan todennäköisesti ole merkittävää roolia, koska on olemassa erittäin tehokkaita suoravaikutteisia viruslääkkeitä (DAA). Seuraavassa tarkastelemme tämänhetkistä tietämystämme IFNL:n geeniekspressiosta, proteiinin ominaisuuksista, signaloinnista, ISG-induktiosta ja sen vaikutuksista HCV-infektioon ja -hoitoon. Lopuksi keskustelemme HCV:n ja IFNL:n alalta saaduista kokemuksista C-hepatiittia laajempien virusinfektioiden osalta.

**Tulos**

Tyypin III interferonien rooli hepatiitti C -virusinfektiossa ja hoidossa

**Esimerkki 1.6389**

COVID-19-tauti on vaivannut yli 110 maata, ja se on aiheuttanut yli 4000 kuolemantapausta 10 viikon aikana. Vertailemme ihmisen ACE2-reseptorin ja SARS-CoV-2:n piikkiproteiinin vuorovaikutusta muiden patogeenisten koronavirusten vuorovaikutukseen molekyylidynamiikkasimulaatioiden avulla. SARS-CoV, SARS-CoV-2 ja HCoV-NL63 tunnistavat ACE2:n luonnollisena reseptorina, mutta niillä on erilainen sitoutumisrajapinta ACE2:lle ja erilainen jäännös-jäännös-kontaktien verkosto. SARS-CoV:n ja SARS-CoV-2:n sitoutumisaffiniteetit ovat vertailukelpoisia, ja ne on saavutettu tasapainottamalla energetiikkaa ja dynamiikkaa. SARS-CoV-2-ACE2-kompleksissa on enemmän kontakteja, suurempi rajapinta-ala ja vähäisemmät rajapinnan jäännösvaihtelut suhteessa SARS-CoV:hen. Nämä havainnot paljastavat koronavirusten poikkeuksellisen evolutiivisen etsinnän isännän tunnistamiseksi. Oletamme, että solureseptoreihin sitoutumisstrategioiden monipuolisuudella on välittömiä vaikutuksia terapeuttisiin strategioihin. Yhden lauseen tiivistelmä: Molekyylidynamiikkasimulaatiot paljastavat ajallisen ulottuvuuden koronavirusten vuorovaikutuksessa isännän reseptorin kanssa.

**Tulos**

Otsikko: SARS-CoV-2:lla on erityinen strategia vuorovaikutuksessa ihmisen ACE2-reseptorin kanssa.

**Esimerkki 1.6390**

Taustaa: Aedes aegypti -hyttysen keskisuolen epiteelisoluissa yksi varhaisista tapahtumista on karkean endoplasmisen retikulumin (RER) kierteisten rakenteiden dynaaminen uudelleenorganisoituminen samaan aikaan, kun veriaterian sulatus alkaa. Aiempien tutkimustemme perusteella, jotka osoittavat, että aminohappoaterian syöminen indusoi TOR-signalointia Ae. aegypti -lajissa, käytimme proteomiikkaa ja RNAi:tä tunnistamaan funktionaalisesti välikarsinan epiteelisolujen proteiineja, jotka edistävät RER-juosteiden muodostumista. Menetelmä/päälöydökset: Aikuisia naaras Ae. aegypti -hyttysiä pidettiin pelkällä sokerilla (ruokkimatta) tai aminohappoaterialla, minkä jälkeen keskimmäisen suolen epiteelisoluja analysoitiin elektronimikroskoopilla ja proteiinien biokemian avulla. RER-kierukoiden koon ja lukumäärän keskisuolen epiteelisoluissa havaittiin pienenevän merkittävästi ruokinnan jälkeen, ja useiden KDEL:ää sisältävien proteiinien ilmentymistasojen osoitettiin muuttuneen. LC-MS/MS-massaspektrometriaa käytettiin analysoitaessa midgutin mikrosomaalisia proteiineja, jotka oli eristetty ruokkimattomista ja aminohapoilla ruokituista hyttysistä, ja 127:stä tunnistetusta proteiinista kahdeksan valittiin ehdokkaiksi kierteitä muodostaviksi proteiineiksi. Kolme kandidaattiproteiinia oli COPI-koatomin alayksiköitä (alfa, beeta, beeta'), joita kaikkia näytti esiintyvän enemmän ruokkimattomien hyttysten mikrosomifraktioissa. Elektronimikroskooppi osoitti RNAi:n avulla alfa-COPI:n ilmentymisen vähentämiseksi, että sekä RER-kuorien koko että lukumäärä olivat dramaattisesti pienentyneet ruokkimattomissa hyttysissä, ja lisäksi ruokituissa hyttysissä esiintyi laajoja turvonneita RER-alueita. Lopuksi, vaikka alfa-COPI:n puute ei vaikuttanut varhaisen trypsiinin proteiinisynteesiin tai eritykseen 3 tuntia veriaterian jälkeen (PBM), myöhäisvaiheen proteaasien ilmentyminen 24 tuntia PBM:n jälkeen estyi täysin. Johtopäätökset: alfa-COPI:n havaittiin olevan välttämätön RER-juosteiden muodostumiselle ruokkimattomien Aa. aegypti -hyttysten keskimmäisen suolen epiteelisoluissa sekä myöhäisvaiheen keskimmäisen suolen proteaasien ilmentymiselle.

**Tulos**

Alpha-COPI-katomeeriproteiinia tarvitaan karkean endoplasmisen retikulumin kiehkuran muodostumiseen hyttysen midgut-epiteelisoluissa.

**Esimerkki 1.6391**

Vasta-aineita jäljittelevät proteiinit (AMP) ovat polypeptidejä, jotka sitoutuvat kohdeanalyytteihinsa hyvin affiniteettisesti ja spesifisesti, aivan kuten perinteiset vasta-aineet, mutta ovat kooltaan paljon pienempiä (2-5 nm, alle 10 kDa). Tässä raportissa kuvaamme AMP:n ensimmäistä sovellusta nanobiosensoreiden alalla. In 2 O 3 -naanilankapohjaiset biosensorit on konfiguroitu AMP:n (fibronektiinin, Fn) kanssa nukleokapsidi (N)-proteiinin havaitsemiseksi, joka on vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) biomarkkeri. Näillä laitteilla N-proteiini havaittiin subnanomolaarisissa pitoisuuksissa, kun taustana oli 44 µM naudan seerumin albumiinia. Lisäksi AMP:n sitoutumisvakio Fn:ään määritettiin biosensoreidemme vasteen pitoisuusriippuvuudesta.

**Tulos**

SARS-viruksen N-proteiinin merkkausvapaa, sähköinen havaitseminen nanolankabiosensoreilla, jotka käyttävät vasta-ainemimikoita sieppauskoettimina.

**Esimerkki 1.6392**

Tässä artikkelissa esitetään yhteenveto suuritehoisten genomi-, proteomi-, metabolomi- ja geeniekspressiotutkimusten panoksesta akuutin hengitysvaikeusoireyhtymän (ARDS) perinnöllisen tai hankitun riskin ymmärtämisessä. Vaikka näitä tekniikoita ei vielä sovelleta laajalti ARDS:n kaltaiseen monimutkaiseen ominaisuuteen, niitä käytetään nykyään rutiininomaisesti erilaisten tautitilojen tutkimiseen. Omic-sovellukset ovat erittäin lupaavia sellaisten uusien tekijöiden tunnistamisessa, jotka voivat vaikuttaa ARDS:n patofysiologiaan tai joita voidaan kehittää edelleen biomarkkereiksi tai korvaaviksi tekijöiksi kliinisissä tutkimuksissa. Eri tekniikoiden mahdollisuuksista ja haasteista keskustellaan, ja esimerkkejä onnistuneista sovelluksista muilla kuin ARDS:n aloilla käytetään havainnollistamaan kunkin tekniikan potentiaalista hyödyllisyyttä. Tulevaisuuden GWAS:ien julkaisemisen myötä uusia ehdokkaita tulee epäilemättä esiin, ja meta-analyysin avulla on mahdollista hyödyntää useiden populaatioiden voimaa. Samaan aikaan GWAS voi kuitenkin osoittautua hedelmällisemmäksi, jos ARDS:n heterogeenisuus tunnustetaan etukäteen ja analyysit tehdään homogeenisemmissa alatyypeissä. Esimerkiksi Tejera ja Christiani osoittivat, että ekstrapulmonaalisen ARDS:n ja pulmonaalisen ARDS:n geneettiset riskitekijät olivat erillisiä, mikä on havainto, joka toistuu useimmissa katsauksissa. 9,41 Meyerin lisäksi

**Tulos**

SNP:iden lisäksi - genetiikka, genomiikka ja muut 'omic'-lähestymistavat ARDS:ään

**Esimerkki 1.6393**

Kaikki positiivisjuosteiset RNA-virukset replikoivat genomiaan yhdessä solunsisäisten kalvojen, kuten yksi- tai kaksoiskalvovesikkelien, kanssa. Brome-mosaiikkiviruksen (BMV) RNA-synteesi tapahtuu vesikulaarisissa endoplasmisen retikulumin (ER) kalvoinvaginaatioissa, joita kutakin indusoi monta kopiota viruksen replikaatioproteiinia 1a, jolla on N-terminaalinen RNA-katkaisu- ja C-terminaalinen helikaasidomeeni. Vaikka katkaisudomeeni on vastuussa 1a:n kalvoassosiaatioista ja ER:ään suuntautumisesta, sen enempää tämä kuin helikaasidomeenikaan ei riittänyt replikaatiovesikkelin muodostumisen indusoimiseen. Lisäksi, huolimatta niiden mahdollisesta keskinäisestä vuorovaikutuksesta, peittävä ja helikaasidomeeni eivät täydentäneet toisiaan, kun niitä ilmentyi yhdessä trans-ekspressiossa. Ristisilloittaminen osoitti, että kappaus- ja helikaasidomeenit muodostavat kumpikin trimeerejä ja suurempia multimeerejä in vivo, ja kappausdomeeni muodosti laajennettuja, pinottuja, kuusikulmaisia ristikkoja in vivo. Lisäksi peittävän domeenin samanaikainen ilmentäminen esti täyspitkän 1a:n kyvyn muodostaa replikaatiovesikkeleitä ja replikoida RNA:ta ja rekrytoi täyspitkän 1a:n sekoittuneisiin heksagonaalisiin ristikoihin peittävän domeenin kanssa. Näin ollen BMV:n replikaatiovesikkelien muodostuminen ja RNA:n replikaatio riippuvat 1a:n itseinteragoivien peitto- ja helikaasidomeenien suorasta yhteydestä ja koordinoidusta toiminnasta. Erityisesti peittävän domeenin voimakkaat dominantti-negatiiviset vaikutukset osoittivat, että täyspitkän 1a:n kyky muodostaa replikaatiovesikkeleitä oli erittäin herkkä häiriöille, jotka johtuivat peittävän domeenin ei-tuotannollisesti titraavista, ristikkoa muodostavista itseinteraktioista. Nämä ja muut havainnot valaisevat 1a-domeenien rooleja ja vuorovaikutuksia replikaatiokammion muodostamisessa ja tukevat aiempia tuloksia, joiden mukaan 1a indusoi replikaatiovesikkeleitä muodostamalla kapsidin kaltaisen sisäkuoren.

**Tulos**

Bromoviruksen RNA-replikaatio-osaston muodostuminen edellyttää 1a:n itseinteragoivien RNA-katto- ja helikaasidomeenien koordinoitua toimintaa.

**Esimerkki 1.6394**

Koronaviruksen kaltaisia hiukkasia tunnistettiin elektronimikroskooppisesti homoseksuaalisten miesten ulosteista. Hiukkasten tiheys oli 1,21 g/ml cesiumkloridin tiheysgradienttisentrifugoinnin jälkeen. Sen määrittämiseksi, voisiko tämän viruksen esiintyminen liittyä kliinisiin oireisiin, tutkittiin useita potilasryhmiä prospektiivisesti. Kahdeksalla homoseksuaalisella miehellä 16:sta (50 %), joilla oli hankittu immuunipuutosoireyhtymä (AIDS) tai selittämätön lymfadenopatiaoireyhtymä (LAS), todettiin koronaviruksen hiukkasia. Sitä vastoin tällaisia hiukkasia ei löytynyt yhdeltäkään 18 heteroseksuaalisesta kontrollihenkilöstä ja vain kolmelta 20 homoseksuaalisesta miehestä, joilla ei ollut AIDSia tai LAS:ää. Näin ollen koronaviruksen erittyminen korreloi merkitsevästi (2c~<0,01) AIDSin kliinisen diagnoosin tai AIDSiin liittyvään kompleksiin kuuluvien oireyhtymien kanssa. Lisäksi yhden LAS:ää ja ripulia sairastavan potilaan seerumista tunnistetut hiukkaset viittaavat taudinaiheuttajan invaasioon ja systeemiseen leviämiseen ja korostavat, että tämä virus käyttäytyy eri tavalla kuin "tavalliset kylmät" ihmisen koronavirukset.

**Tulos**

Kiinische Wochen- schrift Koronaviruksen kaltaisten hiukkasten havaitseminen homoseksuaalisilla miehillä, joilla on hankittu immuunipuutos ja siihen liittyvä lymfadenopatiaoireyhtymä.

**Esimerkki 1.6395**

Lepakot on todettu yhä useampien uusien zoonoosivirusten, kuten Hendra-viruksen, Nipah-viruksen, Ebola-viruksen, Marburg-viruksen, raivotaudin ja muiden lyssavirusten luonnolliseksi reservaarioksi. Viime aikoina suuri määrä Coronavirus-suvun jäseniin läheisesti liittyviä viruksia on yhdistetty vakavaan akuuttiin hengitystieoireyhtymään (SARS), ja niitä on havaittu lepakkolajeissa. Tässä tutkimuksessa näytteitä kerättiin 106 elävästä lepakosta, jotka kuuluivat seitsemään eri lepakkolajiin 27 eri paikasta Sloveniassa. Koronaviruksia havaittiin RT-PCR:llä 14:ssä 36:sta hevosenkenkälepakon (Rhinolophus hipposideros) ulostenäytteestä, ja viruksen esiintyvyys oli 38,8 prosenttia. Erittäin konservoituneen RNA-polymeraasigeenin (pol) 405 nukleotidin alueen sekvenssianalyysi osoitti, että kaikki tässä tutkimuksessa havaitut koronavirukset ovat geneettisesti läheistä sukua, 99,5-100 prosentin nukleotidi-identiteetti on sama, ja ne kuuluvat koronavirusten ryhmään 2. Koronavirukset ovat myös geneettisesti läheistä sukua. GenBankin lähin sukulaisvirussekvenssi oli SARSin kaltaiseen CoV-klusteriin kuuluva SARS-lepakkoisolaatti Rp3/2004 (DQ071615), jolla oli 85 prosentin nukleotidi-identiteetti ja 95,6 prosentin aminohappoidentiteetti. Epäillään vahvasti, että uusi lepakoiden koronavirusryhmä voi toimia ihmisten infektioiden reservoirina, ja näiden lepakoiden koronavirusten molekyyliepidemiologisia lisätutkimuksia tarvitaan.

**Tulos**

SARS:n kaltaisten koronavirusten tunnistaminen hevosenkenkälepakoista (Rhinolophus hipposideros) Sloveniassa.

**Esimerkki 1.6396**

Tausta/tarkoitus: Ihmisen metapneumovirus (hMPV) on äskettäin löydetty hengitystiepatogeeni. Tässä prospektiivisessa sairaalapohjaisessa tutkimuksessa tutkittiin hMPV:n kliinistä merkitystä ja ominaisuuksia Taiwanissa. Menetelmät: Sairaalahoidossa olleilta lapsilta, joilla oli akuutti hengitystieinfektio, 1. syyskuuta 2003 ja 10. huhtikuuta 2005 välisenä aikana kerätyt hengitystietutkimusnäytteet seulottiin metapneumoviruksen varalta reaaliaikaisella käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiolla (RT-PCR). Tulokset: Tutkimusjakson aikana 926 sairaalahoitoon joutuneelta lapselta saatiin 930 näytettä. Kun 200 tapausta oli suljettu pois, koska kliinistä näyttöä hengitystieinfektiosta tai tunnetun etiologian omaavista sairauksista ei ollut, 726 otettiin mukaan analyysiin. Näistä 33 lapsella oli positiivinen tulos hMPV-infektion suhteen. Suurin osa näistä potilaista otettiin hoitoon kevään ja alkukesän aikana. Kaksikymmentäyksi (63,6 %) oli alle 2-vuotiaita. hMPV:n osuus 18-24 kuukauden iässä esiintyneistä hengitystieinfektioista oli 13,3 %, ja se oli yhtä yleinen hengitystiepatogeeni kuin hengitystiesynktiovirus (RSV) tässä ikäryhmässä. Niiden 11 potilaan (33,3 %), joilla oli perussairauksia, taudinkulku oli samanlainen kuin niillä, joilla ei ollut perussairauksia. Yhdellä 11 potilaalla (33,3 %) todettiin samanaikainen taudinaiheuttaja. Tartunnan saaneilla 2-5-vuotiailla lapsilla oli merkittävästi korkeampi hMPV:n titteri hengitystietutkimuksissa (10 3,88 kopiota/μl) kuin alle 2-vuotiailla (10 2,26 kopiota/μl) (p = 0,013) ja yli 5-vuotiailla (10 2,88 kopiota/μl) (p = 0,013).25 kopiota/μL) (p = 0,005). hMPV-positiiviset tapaukset olivat huomattavasti vanhempia kuin RSV-infektiota sairastavat (p = 0,002), ja heillä oli lyhyempi sairaalahoidon kesto (p = 0,001), vähemmän hapen käyttöpäiviä (p = 0,001) ja korkeammat C-reaktiivisen proteiinin tasot (p = 0,004). Päätelmät: Metapneumovirus kiertää lapsilla Pohjois-Taiwanissa keväällä ja alkukesästä. hMPV oli yleisin hengitystiepatogeeni 18-24 kuukauden ikäisillä lapsilla, jotka joutuivat sairaalaan akuutin hengitystieinfektion vuoksi. Reaaliaikainen RT-PCR on herkkä menetelmä hMPV:hen liittyvien epidemiologian ja sairauksien tutkimiseen. [J Formos Med Assoc 2007;106(1):16-24].

**Tulos**

Ihmisen metapneumoviruksen havaitseminen sairaalahoidossa olevilla lapsilla, joilla on akuutti hengitystieinfektio, käyttämällä reaaliaikaista RT-PCR:ää Pohjois-Taiwanin sairaalassa.

**Esimerkki 1.6397**

Vaikka yleisanestesia on yleensä turvallista ja tehokasta, vauvojen yleisanestesian aikana voi esiintyä vakavia perioperatiivisia komplikaatioita, kuten sydänpysähdys. Koska on saatu näyttöä siitä, että tietyt anestesia-aineet voivat vaikuttaa tuleviin neurokognitiivisiin tuloksiin, on keskitytty entistä enemmän yleisanestesian vaihtoehtoihin, kuten spinaalipuudutukseen. Esittelemme tapauksen, jossa sydän pysähtyi yleisanestesian aikana imeväisellä, joka tarvitsi urologisen leikkauksen. Myöhemmän anestesiahoidon aikana spinaalipuudutusta tarjottiin vaihtoehtona yleisanestesialle. Yleisanestesian aikana ilmenevien vakavien perioperatiivisten komplikaatioiden riskejä tarkastellaan, esitetään tällaisten tapahtumien etiologiset tekijät ja keskustellaan spinaalipuudutuksen käytöstä vaihtoehtona yleisanestesialle.

**Tulos**

Paikallis- ja aluepuudutus Dovepress Selkäydinpuudutus leikkaussalin sisäisen sydänpysähdyksen jälkeen imeväisen yleisanestesian aikana.

**Esimerkki 1.6398**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) on maailmanlaajuisesti leviävä hengitystievirustauti, joka edellyttää tarkkaa diagnosointijärjestelmää, joka ennustaa tartunnat tarkasti. Koska tiedonlouhinnan luokittelijat voivat auttaa suuresti parantamaan sairauksien ennustustarkkuutta yleensä. Tässä asiakirjassa testattiin luokittelumallin suorituskykyä kahdella luokittelutyypillä: (1) binäärinen ja (2) moniluokkainen luokittelu MERS-CoV-tietoaineistolla, joka koostuu kaikista Saudi-Arabiassa vuosina 2013-2017 ilmoitetuista tapauksista. Tukivektorikoneen (Support Vector Machine, SVM), päätöspuun (Decision Tree) ja k-Nearest Neighbor (k-NN) -luokittelijoiden tarkkuuden mittaamiseen käytettiin ristiinvalidointimallia. Kokeelliset tulokset osoittavat, että SVM- ja päätöspuu-luokittimet saavuttivat korkeimman tarkkuuden 86,44 % terveydenhuoltohenkilöstön luokkaan perustuvassa binääriluokittelussa. Toisaalta kaupunkiluokkaan perustuvassa moniluokkaisessa luokittelussa päätöspuu-luokittimella oli muista luokittelijoista suurin tarkkuus, vaikka se ei saavuttanutkaan tyydyttävää tarkkuutta (42,80 %). Tämä työ on tarkoitettu osaksi MERS-CoV-ennustejärjestelmää, jolla parannetaan MERS-CoV-taudin diagnosointia.

**Tulos**

Tarkkojen luokittelumallien valitseminen MERS-CoV-tietokantaan

**Esimerkki 1.6399**

Taustaa: Hengitystieinfektiot ovat tärkeitä matelijoiden sairastuvuuden ja kuolleisuuden syitä, mutta niiden aiheuttajat tunnistetaan vain harvoin. Tulokset: Keuhkokuume, henkitorven tulehdus ja ruokatorvitulehdus raportoitiin pallopytonikokoelmassa (Python regius). Kahdeksalla 12 käärmeestä oli todisteita bakteeriperäisestä keuhkokuumeesta. Keuhkoista, ruokatorvesta ja pernasta uutettujen nukleiinihappojen korkean läpimenon sekvensointi paljasti uuden nidoviruksen. PCR osoitti viruksen RNA:n esiintymisen keuhkoissa, henkitorvessa, ruokatorvessa, maksassa ja pernassa. In situ -hybridisaatio vahvisti solunsisäisten, sytoplasman sisäisten virusnukleiinihappojen esiintymisen tartunnan saaneiden käärmeiden keuhkoissa. Polyproteiinin 1 136 aminohapposegmenttiin perustuva fylogeneettinen analyysi viittaa siihen, että tämä virus saattaa edustaa uutta lajia Torovirinae-alkuperheessä. Päätelmät: Tämä raportti pallopytoneilla esiintyvästä uudesta nidoviruksesta voi antaa tietoa tämän lajin hengitystiesairauksien patogeneesistä ja parantaa tietämystämme nidovirusten monimuotoisuudesta.

**Tulos**

Uuden nidoviruksen tunnistaminen pallopytonien (Python regius) kuolemaan johtaneen hengitystiesairauden puhkeamisen yhteydessä.

**Esimerkki 1.6400**

Tunnistimme uusia viruksia vuonna 2009 Hokkaidon prefektuurista, Japanista, kerätyistä ripulista kärsivien nautojen ulosteista metagenomiikan avulla ja määritimme virusten (lähes) täydelliset sekvenssit. Sekvenssianalyysit osoittivat, että niillä oli tavanomainen pikornavirusgenomin organisaatio eli 5 untranslated region (UTR) -LUTR-poly(A). Ne ovat läheistä sukua muille luokittelemattomille kiinalaisille pikornaviruksille; lepakoiden pikornavirusten ryhmälle 1-3, kissojen pikornavirukselle ja koirien pikornavirukselle, joilla on 45,4-51,4 prosentin (P1), 38,0-44,9 prosentin (P2) ja 49,6-53,3 prosentin (P3) aminohappoidentiteetti. Fylogeneettiset analyysit ja yksityiskohtainen genomin karakterisointi osoittivat, että ne yhdessä luokittelemattomien kiinalaisten pikornavirusten kanssa ryhmittyivät klusteriksi P1-, 2C-, 3CD- ja VP1-koodausalueiden osalta. Näillä viruksilla oli konservoituja piirteitä (esim. ennustetut proteiinien pilkkomiskohdat, johtavan proteiinin läsnäolo, 2A-, 2C-, 3C- ja 3D-toiminnalliset domeenit), mikä viittaa siihen, että niillä on yhteinen esi-isä. Käänteistranskriptio-PCR-määritykset, joissa käytettiin näiden virusten 5 UTR-sekvenssistä suunniteltuja spesifisiä alukkeita, osoittivat, että 23,0 prosenttia (20/87) naudan ulostenäytteistä, joissa oli ripuli, oli positiivisia, mikä osoittaa näiden pikornavirusten esiintyvyyttä japanilaisessa nautapopulaatiossa Hokkaidon prefektuurissa. Lisätutkimuksia tarvitaan kuitenkin näiden virusten patogeenisen potentiaalin ja etiologisen roolin selvittämiseksi karjassa.

**Tulos**

Uuden naudan pikornaviruksen tunnistaminen ja täydellinen genomin analyysi Japanissa.

**Esimerkki 1.6401**

Koronavirukset voivat aiheuttaa hengitystie-, suolisto- ja keskushermostosairauksia monille lajeille, myös ihmisille. Viime aikoihin asti koronavirusspesifisten terapeuttisten lääkkeiden kehittämistä on vaikeuttanut se, että vain harvat näistä viruksista ovat aiheuttaneet suhteellisen vähän tauteja ihmisille. Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) ilmaantuminen on kuitenkin kannustanut tällaisten lääkkeiden löytämiseen. Eläinmalleilla tehdyt myöhemmät tutkimukset osoittivat SARS-CoV-spesifisten monoklonaalisten vasta-aineiden, pegyloidun interferonin-␣ ja siRNA:iden tehon SARS-CoV:tä vastaan. Lisäksi testattiin in vitro useita muita viruksia vastaan tehokkaiksi osoittautuneita viruslääkkeitä. Saatavuuden ja osoitetun tehon vuoksi interferonien käyttöä voidaan harkita, jos SARS-CoV tai siihen liittyvä koronavirus (ilmaantuu uudelleen). Koronaviruksen pääproteaaseihin kohdistuvien laajakirjoisten inhibiittoreiden viimeaikainen suunnittelu voi johtaa uusien viruslääkkeiden löytämiseen useita koronavirusten aiheuttamia tauteja vastaan.

**Tulos**

Minikatsaus Koronavirukset ja niiden hoito

**Esimerkki 1.6402**

Ihmisen bocavirus (HBoV) löydettiin äskettäin lapsilta, joilla oli hengitysvaikeuksia ja/tai ripulia. Tietojemme mukaan missään aiemmassa tutkimuksessa ei ole raportoitu bocaviruksen esiintymisestä Saudi-Arabiassa. HBoV:n esiintymisen varalta tutkittiin 80 hengitystieinfektiota sairastavan lapsen näytepyyhkeet. Reaaliaikaista polymeraasiketjureaktiota käytettiin herkkänä menetelmänä HBoV:n havaitsemiseksi. Havaittujen virusisolaattien genotyypin määrittämiseksi käytettiin suoraa geenisekvensointia. HBoV todettiin 22,5 prosentilla tutkituista potilaista. Kaikilta potilailta saatu NP1-geenin osittainen sekvenssi osoitti, että levinneet kannat liittyivät HBoV-1-genotyyppiin. Useimmilla HBoV-tartunnan saaneilla potilailla oli merkkejä sekamuotoisesta yhteisinfektiosta muiden viruspatogeenien kanssa. Tämä tutkimus osoitti selvästi, että geneettisesti konservoitunut HBoV1 kiertää Saudi-Arabiassa. Mielenkiintoista oli, että suurimpaan osaan HBoV1-tartunnan saaneista tapauksista liittyi runsaasti samanaikaisia infektioita muiden virusten kanssa.

**Tulos**

Bocaviruksen havaitseminen akuutteja hengitystieinfektioita sairastavilla lapsilla Saudi-Arabiassa.

**Esimerkki 1.6403**

Homonukleos(t)iidien isoksatsolidiinianalogit syntetisoitiin nukleobaasiperäisistä nitroneista 20a-20e (urasiili, 5-fluorourasiili, 5-bromourasiili, tymiini, adeniini) käyttämällä 1,3-dipolaarisia sykladitioneja allyylialkoholin sekä alkenyylifosfonaattien (allyyli-, allyloksimetyyli-, vinyylioksimetyyli- ja vinyylifosfonaatin) kanssa. Vinyylifosfonaatin kanssa tehtyjen reaktioiden lisäksi additiot etenivät regioselektiivisesti ja tuottivat seoksia, joissa oli suuria cis- ja pieniä trans-määriä 3,5-disubstituoituja isoksatsolidiineja (d.e. 28e82 %). Vinyylifosfonaatista saatiin lisäksi jopa 10 % 3,4-disubstituoituja isoksatsolidiineja. Vinyylien kytkentöjä, suojausvaikutuksia ja 2D NOE -korrelaatioita käytettiin konfiguraatioiden määrityksessä ja konformaatioanalyysissä, jotta saatiin selville useiden isoksatsolidiinien ensisijaiset konformaatiot ja jotta voitiin havaita anomeeriset vaikutukset (fosfonyylimetyylimetoksiryhmien pseudoaksiaalinen suuntautuminen) vinyylioksimetyylifosfonaatista saatujen isoksatsolidiinien osalta. Yhdelläkään testatuista yhdisteistä ei ollut in vitro antiviraalista aktiivisuutta erilaisia DNA- ja RNA-viruksia vastaan subtoksisissa pitoisuuksissa (jopa 250 mM) eikä niillä ollut antiproliferatiivista aktiivisuutta L1210-, CEM- ja HeLa-soluja kohtaan (IC 50 ¼ !100 mM).

**Tulos**

Homonukleosidien ja homonukleotidien uudet isoksatsolidiinianalogit

**Esimerkki 1.6404**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirustartuntaa (MERS-CoV) epäilevien henkilöiden nopea ja luotettava laboratoriodiagnoosi on tärkeää infektioiden torjuntakäytäntöjen ja taudin hallinnan oikea-aikaisen toteuttamisen kannalta. Lisäksi viruksen molekyylimuutosten seuraaminen voi auttaa selvittämään tartuntaketjuja ja tunnistamaan mutaatioita, jotka saattavat vaikuttaa viruksen siirtymistehokkuuteen. Tämä kävi ilmi äskettäisestä laboratoriotutkimuksesta, jonka teimme Kreikkaan tuodusta MERS-CoV-tapauksesta. Potilaan sairaalahoidon 1. ja 2. päivänä kerättiin kaksi nielun alueen pyyhkäisynäytettä, jotka testattiin kahdella reaaliaikaisella RT-PCR-määrityksellä (rRT-PCR), jotka kohdistuivat MERS-CoV:n genomin UpE- ja Orf-1a-alueisiin, sekä RNA-riippuvaisen RNA-polymeraasin ja nukleokapsidigeenien RT-PCR- ja osittaisella sekvensoinnilla. Myös seeruminäytteet kerättiin ja tehtiin serologisia testejä. Ensimmäisen pyyhkäisynäytteen tulokset eivät olleet yksiselitteisiä, kun taas toisen pyyhkäisynäytteen tulokset olivat vahvasti positiivisia MERS-CoV:n RNA:n suhteen rRT-PCR:llä ja vahvistettiin positiivisiksi RT-PCR:llä ja osittaisella geenisekvensoinnilla. Positiiviset serologiset testitulokset vahvistivat lisäksi MERS-CoV-infektion. Myöhemmin positiivisesta näytteestä saatiin täydelliset nukleokapsidin ja piikkigeenin koodaussekvenssit. Fylogeneettinen analyysi osoitti, että virus oli läheistä sukua viimeaikaisille ihmisestä peräisin oleville MERS-CoV-kannoille, joita saatiin huhtikuussa 2014 Jeddahissa ja Makkahissa, Saudi-Arabiassa, sekä dromedaarikameleilla Saudi-Arabiassa ja Qatarissa. Nämä löydökset vastasivat potilaan anamneesia. Tunnistimme myös ainutlaatuisen aminohapposubstituution piikkireseptoria sitovassa domeenissa, jolla voi olla vaikutusta reseptorin sitoutumistehokkuuteen. Ensimmäiset epäselvät rRT-PCR-tuloksemme korostavat, että on tärkeää kerätä useita näytteitä epäillyistä MERS-CoV-tapauksista ja erityisesti näytteitä alemmista hengitysteistä.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirustapauksen laboratoriotutkimus ja fylogeneettinen analyysi Kreikassa.

**Esimerkki 1.6405**

Vuosina 2005-2013 kirjoittajien vastaanotoilla todettiin 17 fretillä mykobakterioosi. Kliinisiin löydöksiin kuului silmä-, hengitys- ja ruoansulatushäiriöitä. Diagnoosi perustui histopatologiaan, spesifisiin histokemiallisiin värjäyksiin ja/tai polymeraasiketjureaktioon. Kaikki tunnistetut bakteerit kuuluivat ei-tuberkuloottiseen Mycobacterium-kompleksiin. Useita hoitoprotokollia kokeiltiin, ja ne perustuivat usein enrofloksasiinin käyttöön. Kaikkiaan 3 frettiä katsottiin parantuneeksi. Frettien mykobakterioosi on polymorfinen sairaus, jonka kliiniset oireet ovat moninaisia. Se on todennäköisesti myös alidiagnosoitu tauti lemmikkifrödeillä, jotka näyttävät olevan erityisen alttiita ympäristölähteille. Mykobakterioosi olisi sisällytettävä silmä-, hengitystie- ja ruoansulatuskanavan sairauksien erotusdiagnostiikkaan; erityisesti se olisi erotettava systeemisestä koronavirusinfektiosta.

**Tulos**

AEMV-FOORUMI TAKAUTUVA TUTKIMUS 17:STÄ KOTIELÄIMINÄ PIDETTYJEN FRETTIEN (MUSTELA PUTORIUS FURO) MYKOBAKTERIOOSITAPAUKSESTA VUOSINA 2005-2013.

**Esimerkki 1.6406**

Influenssavirusinfektion varhainen diagnosointi ja hoito korreloivat suoraan taudin torjunnan tehokkuuteen. Nykyiset molekyyli-influenssavirustestit on suunniteltu käytettäväksi diagnostisissa testauslaitoksissa, joissa on käytettävissä kehittyneet laitteet ja hyvin koulutetut teknikot. Keskitetyn testauksen pidempi läpimenoaika kuin näytteenottopaikan läheisyydessä tapahtuvan testauksen yhteydessä saattaa viivästyttää lääketieteellisten toimenpiteiden aloittamista, mikä heikentää viruslääkehoidon tehokkuutta. Uusi määritys, SAMBA (simple amplification-based assay) Flu duplex -testi, on mittatikulla tehtävä molekyylimääritys, joka on kehitetty tarjoamaan yksinkertainen, tarkka ja kustannustehokas ratkaisu influenssa A/B -virusten diagnosoimiseksi ja joka on tarkoitettu lähellä potilasta tehtäviin testeihin. Testi tarjoaa vaihtoehtoisen muodon influenssaviruksen molekyylitestaukselle, jossa käytetään isotermistä monistusta ja nukleiinihapon visuaalista havaitsemista testiliuskalla. Koko testimenettely (uuttaminen, monistaminen ja osoittaminen) on integroitu suljettuun puoliautomaattiseen järjestelmään. Analyyttisesti SAMBA Flu -dupleksitesti havaitsee 95 ja 85 kopiota A- ja B-influenssavirusten virusgenomeista, eikä ristireaktiivisuutta havaita muita yleisiä hengitystiepatogeenejä vastaan. Kliininen suorituskyky todettiin sokkotestaamalla 328:ta Yhdistyneestä kuningaskunnasta ja Belgiasta peräisin olevaa nenän/kurkun ja nenänielun pyyhkäisynäytettä ja vertaamalla tuloksia kahdessa kansanterveyslaboratoriossa rutiininomaisesti käytettyyn kvantitatiiviseen käänteiseen transkriptio-PCR-menetelmään. SAMBA Flu duplex -testin kliininen herkkyys ja spesifisyys olivat 100 % ja 97,9 % influenssavirus A:n osalta ja 100 % ja 100 % influenssavirus B:n osalta. Testi tarjoaa uuden teknologian, joka voi helpottaa influenssavirusinfektion yksinkertaista ja oikea-aikaista tunnistamista, mikä voi johtaa tehokkaampiin valvontatoimenpiteisiin.

**Tulos**

Duplex-molekyylimääritys, joka on tarkoitettu influenssa A/B -virusinfektion diagnosoimiseksi hoitopaikan yhteydessä

**Esimerkki 1.6407**

Taustaa: Telomeeribiologiset häiriöt (TBD) käsittävät useita monijärjestelmäisiä sairauksia, joille on ominaista limakalvo-oireet ja luuydinvaurio. Dyskeratosis congenita -taudissa (DKC) TBD-taudin kliiniset piirteet johtuvat erittäin proliferatiivisten kudosten tärkeiden kantasolupopulaatioiden köyhtymisestä, joka johtuu telomeraasin epänormaalista toiminnasta. Kliinisten oireiden laajan kirjon ja yksiselitteisen laboratoriokokeen puuttumisen vuoksi kliinisen diagnoosin tekeminen voi olla haastavaa, varsinkin jos potilailla ei ole TBD:n patognomonisia kliinisiä piirteitä. Menetelmät: Kliininen sekvensointi suoritettiin kohortille potilaita, joilla oli vaihteleva immunologinen fenotyyppi ja joilla ei ollut molekyylidiagnoosia. Hypoteesivapaa koko eksomin sekvensointi (WES) valittiin, koska pakottavia diagnostisia viitteitä ei ollut potilailla, joilla oli vaihtelevia immunologisia ja hematologisia tiloja. Neljällä potilaalla, jotka kuuluivat kolmeen perheeseen, havaitsimme viisi uutta muunnosta tunnetuissa TBD:tä aiheuttavissa geeneissä (DKC1, TERT ja RTEL1). Molekyylilöydösten lisäksi heillä kaikilla oli lyhentyneet verisolujen telomeerit. Nämä löydökset ovat johdonmukaisia TBD-fenotyyppien kanssa, ja ne liittyvät potilaiden molekyylidiagnoosiin ja myöhempään kliiniseen seurantaan. Päätelmät: Tuloksemme tukevat vahvasti WES-pohjaisten lähestymistapojen hyödyllisyyttä sellaisten TBD-potilaiden rutiinigeenisessä diagnostiikassa, joilla on heterogeeninen tai epätyypillinen kliininen taudinkuva ja jotka muuten saattaisivat jäädä diagnosoimatta.

**Tulos**

Harvinaisten sairauksien diagnostiikka: koko eksomin sekvensointi telomeeribiologisten sairauksien heterogeenisuuden selvittämiseksi.

**Esimerkki 1.6408**

Saatavilla olevien metabolomitutkimusten perusteella influenssainfektio vaikuttaa useisiin solujen aineenvaihduntareitteihin varmistaakseen optimaalisen ympäristön lisääntymiselle ja viruspartikkelien tuottamiselle. Infektion jälkeen glukoosin otto ja aerobinen glykolyysi lisääntyvät infektoituneissa soluissa jatkuvasti, mikä johtaa suurempaan glukoosin kulutukseen. Pentoosifosfaattisuntti, toinen glukoosia kuluttava reitti, tehostuu influenssatartunnan seurauksena, jotta voidaan tuottaa enemmän nukleotideja, erityisesti ATP:tä. Mitä tulee lipidilajeihin, infektion jälkeen triglyseridien, fosfolipidien ja useiden lipidijohdannaisten pitoisuuksissa tapahtuu häiriöitä, joista osa liittyy tulehdusreaktioihin. Myös mitokondriaalinen rasvahappojen β-hapettuminen vähenee merkittävästi samanaikaisesti rasvahappojen ja kalvorasvojen biosynteesin lisääntymisen kanssa. Lisäksi on osoitettu, että välttämättömät aminohapot vähenevät infektoituneissa kudoksissa, koska virus- ja soluproteiineja tuotetaan suuria määriä. Influenssainfektiota vastaan annetut immuunivasteet voivat toisaalta vaikuttaa merkittävästi aineenvaihduntareitteihin. Pääasiassa virusinfektion jälkeinen interferonin (IFN) tuotanto vaikuttaa solujen toimintaan muuttamalla aminohappojen synteesiä, kalvojen koostumusta ja lipidimetaboliaa. Influenssaviruksen replikaation edellyttämien aineenvaihduntamuutosten ymmärtäminen on paljastanut uusia terapeuttisia menetelmiä, jotka perustuvat näiden solujen aineenvaihduntareittien kohdennettuun estämiseen.

**Tulos**

Metabolinen isännän vaste ja terapeuttiset lähestymistavat influenssainfektioon

**Esimerkki 1.6409**

Vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS) on nyt maailmanlaajuinen kansanterveysuhka, jolla on monia lääketieteellisiä, eettisiä, sosiaalisia, taloudellisia, poliittisia ja oikeudellisia vaikutuksia. Taudin epäspesifiset oireet ja oireet sekä suhteellisen pitkä itämisaika ja luotettavan diagnostisen testin puuttuminen aluksi rajoittivat taudin laajuuden ymmärtämistä. Tässä asiakirjassa esitellään kokemuksiamme kansanterveydellisistä kysymyksistä, jotka ovat nousseet esiin SARS-taudin puhjetessa Hongkongissa. Vahvistimme, että tapausten havaitseminen, raportointi, selkeä ja oikea-aikainen tiedon levittäminen ja tiukat infektioiden torjuntatoimenpiteet ovat olennaisen tärkeitä tällaisen tartuntatautiepidemian käsittelyssä. Taudinpurkauksen torjuntayksikön tarve on ratkaisevan tärkeä tulevien taudinpurkausten torjumiseksi.

**Tulos**

Hongkongin vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän taudinpurkauksen opetukset

**Esimerkki 1.6410**

SARS-assosioituneen koronaviruksen (SCoV) M-proteiinilla on keskeinen rooli viruksen kokoamisessa ja nuppuuntumisessa. Viimeaikaiset tutkimukset paljastivat, että M-proteiini voi olla vuorovaikutuksessa N-proteiinin kanssa Golgin kompleksissa. Tässä tutkimuksessa osoitimme, että SCoV:n M-proteiini lokalisoitui Golgin laitteeseen yhdessä Golgin vektorimerkkiaineen kanssa. M-proteiinin toiminnan tutkimiseksi suunniteltiin kolme M-geenin sekvenssejä vastaavaa ehdokasta pientä häiritsevää RNA:ta (siRNA), jotka transkriboitiin in vitro ja testattiin sitten niiden kykyä hiljentää M-proteiinin ilmentyminen. SCoV:n M-proteiinia EGFP:n kanssa fuusioproteiinina koodaavaa plasmidia pEGFP-M käytettiin vaimentamiseen ja reportterigeenin havaitsemiseen HEK 293T-soluissa, jotka oli transfektoitu siRNA-konstruktioilla. Tulokset osoittivat, että keskimääräinen vihreän fluoresenssin intensiteetti ja M RNA:n transkriptiot vähenivät merkittävästi ja että M-glykoproteiinin ilmentyminen estyi voimakkaasti niissä soluissa, jotka transfektoitiin M-spesifisillä siRNA:illa. Nämä havainnot osoittivat, että kolme M-spesifistä siRNA:ta pystyivät spesifisesti ja tehokkaasti estämään M-glykoproteiinin ilmentymistä viljellyissä soluissa estämällä mRNA:n kertymisen, mikä tarjoaa lähestymistavan M-proteiinin toimintojen tutkimiseen ja uusien profylaktisten tai terapeuttisten aineiden kehittämiseen SCoV-infektiota varten.

**Tulos**

SARS-assosioituneen koronaviruksen membraanigeenin terminaalijaksoihin kohdistuvat siRNA:t estävät M-proteiinin ilmentymistä M-mRNA:n hajoamisen kautta.

**Esimerkki 1.6411**

Taustaa: PEDV-virus on ilmaantunut uudelleen Japanissa vuoden 2013 lopusta lähtien ja aiheuttanut vakavia taloudellisia tappioita sikataloudelle. Vaikka PEDV-rokotteita on käytetty laajalti, tauti on levinnyt nopeasti ympäri maakuntaa, ja sitä on havaittu yleisesti PED-rokotetuilla tiloilla, ja se on uusiutunut kotieläinkarjoissa. Japanissa uudelleen puhjenneiden tautipesäkkeiden aiheuttajien PEDV:iden ymmärtämiseksi paremmin sekvensoitiin ja analysoitiin 45:n Japanissa vuosina 2013-2016 kerätyn PEDV:n piikki- (S), membraani- (M) ja nukleokapsidi- (N) geenit täydessä pituudessa. Tulokset: S-geenin sekvensseihin perustuva fylogeneettinen analyysi osoitti, että kaikki viimeaikaiset kentällä esiintyneet PEDV:t erosivat geneettisesti klassisista japanilaisista kannoista, ja ne luokiteltiin kolmeen genotyyppiin: Pohjoisamerikkalainen (NA), S INDEL ja aasialainen ei-S INDEL. Tietojemme mukaan on mahdollista, että Japaniin on tuotu ulkomailta useita PEDV:n emokantoja samaan aikaan tai samoihin aikoihin. Hiljattain tunnistetut japanilaiset kannat olivat läheisimmin sukua yhdysvaltalaisille kannoille. Japanissa kiertävien japanilaiskantojen kaksi alalinjaa olivat samankaltaisia kuin kaksi Yhdysvalloissa tunnistettua alalinjaa, mikä viittaa näiden kantojen yhteisiin esi-isiin. Japanissa käytettyihin kahteen rokotekantaan verrattuna kenttäkannoissa oli erilaisia muutoksia epitooppialueilla, glykosylaatiokohdissa ja fosforylaatiokohdissa. Nämä erityisesti S- (521, 553, 568 ja 570), M- (5) ja N-proteiinien (123, 252 ja 255) epitooppialueilla havaitut muutokset ovat saattaneet vaikuttaa antigeenisyyteen ja rokotteen tehoon, mikä on johtanut epäonnistuneeseen PEDV:n torjuntaan. Kolmen karjan primaarisista ja sekundaarisista taudinpurkauksista kerättyjen PEDV:iden sekvenssivertailut osoittivat, että tauti on kehittynyt endeemiseen vaiheeseen, jossa PEDV voi säilyä karjoissa tai paikallisilla alueilla lähes kaksi vuotta aiheuttaen myöhempiä epidemioita. Päätelmät: Nämä tulokset selventävät Japanissa kiertävien PEDV:iden geneettisiä ominaisuuksia, alkuperää ja molekyyliepidemiologiaa sekä toistuvia taudinpurkauksia aiheuttavia PEDV-kantoja. Tämä tutkimus antaa paremman käsityksen Japanin viimeaikaisista taudinpurkauksista vastuussa olevista PEDV:istä, ja se voi mahdollisesti auttaa kehittämään toimenpiteitä taudin hallitsemiseksi ja ehkäisemiseksi.

**Tulos**

Japanissa vuosina 2013-2016 levinneiden Yhdysvaltojen kaltaisten ja aasialaisten ei-S-INDEL-kantojen ja toistuvista taudinpurkauksista kerättyjen PEDV-kantojen molekyylitutkimus.

**Esimerkki 1.6412**

Kiinassa nykytilanne on se, että ihmiset, joita suojaamaton lyijysinkkikaivostoiminta epäsuorasti uhkaa, vastustavat sitä, kun taas ihmiset, joita lyijysinkkikaivostoiminta suoranaisesti uhkaa, todennäköisesti "purjehtivat lähellä tuulta". Ymmärtääksemme tätä arvoituksellista ilmiötä teimme kyselytutkimuksen 220 asukkaalle Kiinan Fenghuangin piirikunnassa sijaitsevalla lyijysinkkikaivosalueella. Havaitsimme, että: 1) Kaivosalueen ympärillä asuvien kyläläisten riskinäkemyksen aste korreloi käänteisesti heidän kaivosriskiin osallistumisensa asteen kanssa. Kutsumme tätä psykologisen hirmumyrskyn silmäefektin "osallisuus"-versioksi. 2) Koettu hyöty ja koettu haitta tarjosivat tyydyttävän selityksen tälle psykologisen taifuunisilmäefektin ''osallistumisversiolle''. 3) Riskin havaitseminen oli negatiivisesti yhteydessä asianomaisen politiikan tukemiseen, minkä katsoimme muodostavan eräänlaisen äänestyskäyttäytymisen. Tuloksilla voi olla vaikutuksia sen ymmärtämiseen paremmin, miten hyötyvät yksilöt reagoivat ympäristöterveysriskeihin.

**Tulos**

Enemmän mukana lyijy-sinkki kaivos riski vähemmän peloissaan: Psykologinen taifuunisilmän näkökulma

**Esimerkki 1.6413**

Monista alukeyhdistelmistä, joita olemme tutkineet lintujen koronavirusten havaitsemiseksi, kaksi on toiminut paremmin kuin mikään muu: ne toimivat suurimmalla määrällä tietyn koronaviruksen kantoja/näytteitä ja useimmilla lintujen koronaviruslajeilla, ja ne tuottivat myös herkimmät havaitsemistestit. Aloitinyhdistelmät olivat: oligonukleotidipari 2Bp/4Bm, joka sijaitsee geenin 1 alueella, joka on kohtalaisen konservoitunut kaikilla koronaviruslajeilla (1), ja UTR11-/UTR41+, jotka sijaitsevat erittäin konservoituneessa osassa tarttuvaan keuhkoputkentulehdusvirukseen liittyvien lintujen koronavirusten 3 kääntämätöntä aluetta (2). Geenin 1 alukeparin avulla pystyttiin havaitsemaan uusi koronavirus viherposkipapukaijasta (Amazon viridigenalis Cassin). Tässä luvussa kuvaamme näiden oligonukleotidien käyttöä yksivaiheisessa (yhden putken) RT-PCR:ssä ja kuvaamme menettelyn, jota käytimme RNA:n uuttamiseksi kalkkunan ulosteesta.

**Tulos**

4 Lintujen koronavirusten RT-PCR-tunnistus kanalintujen (kana, kalkkuna, fasaani) ja papukaijan osalta

**Esimerkki 1.6414**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) aiheuttaa vakavan akuutin hengitystieinfektion, johon kuolee paljon ihmisiä. Koronavirukset pystyvät tarttumaan useisiin lajeihin ja voivat kehittyä nopeasti rekombinaatiotapahtumien kautta. Tässä raportoidaan Etelä-Koreasta Kiinaan tuodun MERS-CoV-kannan täydellinen genomisekvenssianalyysi. Tuontivirus, jonka alustava nimi on ChinaGD01, kuuluu koko genomin fylogeneettisen puun B-klaadin ryhmään 3, ja sillä on samanlainen puun topologinen rakenne myös avoimen lukukehyksen 1a ja -b (ORF1ab) geenisegmentissä, mutta se klusteroituu S-geenin avulla rakennetussa puussa B-klaadin ryhmään 5. Se on kuitenkin klusteroitunut S-geenin avulla rakennetussa puussa. Geneettinen rekombinaatioanalyysi ja linjakohtainen singlenukleotidipolymorfismin (SNP) vertailu viittaavat siihen, että tuontivirus on rekombinantti, joka koostuu ryhmän 3 ja ryhmän 5 elementeistä. Ajallisesti erotettu fylogeneettinen arvio osoittaa, että rekombinaatiotapahtuma tapahtui todennäköisesti vuoden 2014 jälkipuoliskolla. Geneettisillä rekombinaatiotapahtumilla B-klaadin ryhmien 3 ja 5 välillä voi olla vaikutusta viruksen tarttuvuuteen. MERKITYS MERS-CoV:n äskettäinen taudinpurkaus Etelä-Koreassa on herättänyt maailmanlaajuista huomiota tiedotusvälineissä leviämisnopeuden ja edelleen siirtymisen vuoksi. Tässä esitämme ensimmäisen Kiinaan tuodun MERS-CoV-tapauksen täydellisen genomin ja osoitamme geneettisiä rekombinaatiotapahtumia B-klaadin ryhmien 3 ja 5 välillä, joilla voi olla vaikutuksia MERS-CoV:n tarttuvuuteen. Tan W. 2015. Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen alkuperä ja mahdollinen geneettinen rekombinaatio ensimmäisestä Kiinaan tuodusta tapauksesta: fylogenetiikka ja yhteenkietoutumisanalyysi. mBio 6(5):e01280-15.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen alkuperä ja mahdollinen geneettinen rekombinaatio ensimmäisestä Kiinaan tuodusta tapauksesta: Fylogenetiikka ja koalgenssianalyysi

**Esimerkki 1.6415**

Mikro-organismit ovat erittäin tehokkaita tartuttaessaan ihmisiä käyttämällä useita erilaisia strategioita ja mekanismeja. Biologisen taudinaiheuttajan tarkoituksellinen levittäminen monien samojen mekanismien avulla on uusin haaste kansanterveydelle. Tahallinen levittäminen on usein ilmeistä, mutta biologisen aineen salaisen levittämisen tunnistaminen voi aiheuttaa haasteita. Perusteellinen tutkimus, jossa yhdistetään epidemiologiset tiedot ja molekyylityypitys, auttaa kuitenkin erottamaan toisistaan luonnossa esiintyvän taudinpurkauksen ja terroritekoon perustuvan taudinpurkauksen.

**Tulos**

Epidemiologinen tutkimus kansanterveyttä, biopuolustusta ja rikosteknistä mikrobiologiaa varten.

**Esimerkki 1.6416**

Influenssavirukset hyödyntävät isäntäsolujen koneistoa lisääntyäkseen, mikä johtaa hengitystieepidemioihin. Vastavuoroisesti isäntä ilmentää viruksen vastaisia rajoitustekijöitä puolustautuakseen infektiota vastaan. Löytääksemme influenssa A H1N1 -virusinfektion isäntäsolun muokkaajia käytimme funktionaalista genomiseulaa ja tunnistimme yli 120 influenssa A -viruksesta riippuvaista tekijää, joilla on rooleja endosomaalisessa happamoitumisessa, vesikulaarisessa liikenteessä, mitokondriaalisessa aineenvaihdunnassa ja RNA:n splikoinnissa. Havaitsimme, että interferoni-indusoituvat transmembraaniproteiinit IFITM1, 2 ja 3 rajoittavat influenssa A -viruksen replikaation varhaista vaihetta. IFITM-proteiinit antavat perusresistenssin influenssa A -virusta vastaan, mutta ne ovat myös tyypin I ja II interferonien indusoitavissa ja ovat kriittisiä interferonin virustaattisten vaikutusten kannalta. Tarkempi karakterisointi osoitti, että IFITM-proteiinit estävät flavivirusten, kuten dengueviruksen ja Länsi-Niilin viruksen, varhaista replikaatiota. Yhdessä tämä työ identifioi antiviraalisten rajoitustekijöiden perheen, joka välittää solujen synnynnäistä immuniteettia ainakin kolmea merkittävää ihmisen patogeeniä vastaan.

**Tulos**

IFITM-proteiinit välittävät solujen vastustuskykyä influenssa A H1N1 -virusta, Länsi-Niilin virusta ja Dengue-virusta vastaan.

**Esimerkki 1.6417**

Kissat, joilla on kissan tarttuva vatsakalvotulehdus (FIP), ovat yleensä lymfopeniaa sairastavia, ja pernassa ja imusolmukkeissa on selvästi havaittavissa lymfaattisten solujen köyhtymistä. Erityisesti CD4 þ-lymfosyyttien määrä kudoksissa vähenee FIP-vaurioiden kehittyessä. Tämä väheneminen johtuu todennäköisesti lymfosyyttien lisääntyneestä apoptoosista. Sitä vastoin kissojen, jotka ovat saaneet kissojen koronavirustartunnan (FCoV), perifeerisissä imusolmukkeissa esiintyy follikulaarista hyperplasiaa. Tässä tutkimuksessa arvioitiin kiertävien lymfosyyttien alaryhmien siirtymien mahdollista patogeenistä merkitystä FIP:ssä. FIP:tä sairastavien kissojen perifeerinen veri arvioitiin ja sitä verrattiin kliinisesti terveiden kissojen perifeeriseen vereen, jotka elivät sekä FCoV:stä vapaassa että FCoV:stä endeemisessä kissakodissa. Verta tutkittiin myös kissoilta, joilla oli muita sairauksia kuin FIP, jotta muutosten diagnostinen merkitys voitaisiin määritellä. Lymfosyyttien alaryhmät analysoitiin virtaussytometrialla käyttäen kokoveren epäsuoraa immunofluoresenssitekniikkaa ja kissan CD5-, CD4-, CD8- ja CD21-spesifisiä mAb:itä. Tämän tutkimuksen tulokset viittaavat siihen, että äskettäin FCoV-tartunnan saaneilla kissoilla, joille ei kehity tautia, T-solujen määrä lisääntyy ohimenevästi; sellaisten kissojen, jotka ovat peräisin ryhmistä, joissa FIP:n esiintyvyys on suuri, T-solujen alaryhmien määrä vähenee kohtalaisesti mutta pysyvästi; FIP:tä sairastavilla kissoilla kaikkien lymfosyyttien alaryhmien määrä vähenee erittäin voimakkaasti. Lisäksi FIP:n aikana monet lymfosyytit eivät ilmaise mitään kalvoantigeenia, mikä johtuu todennäköisesti varhaisesta apoptoosista. Myös muita sairauksia kuin FIP:tä sairastavilla kissoilla lymfosyyttien määrä väheni: tämän vuoksi näiden löydösten diagnostinen merkitys on hyvin vähäinen. Virtaussytometristen muutosten puuttumisella oli kuitenkin korkea negatiivinen ennustearvo (NPV), minkä ansiosta FIP voitiin sulkea pois mahdollisten diagnoosien luettelosta kissoilla, joiden sytogrammit olivat normaalit. #

**Tulos**

Kissan tarttuvaa vatsakalvotulehdusta (FIP) sairastavilla kissoilla esiintyvät muutokset kiertävien lymfosyyttien alaryhmissä: patogeeninen rooli ja diagnostinen merkitys.

**Esimerkki 1.6418**

Taustaa: Varusmiesten keskuudessa esiintyy usein virusperäisiä ylähengitystieinfektioita. Probiootit ovat vähentäneet virustulehduksia päivähoidossa olevilla lapsilla. Probioottien vaikutuksista hengitystievirusten nenänielussa esiintyviin viruksiin on saatavilla vain vähän tietoa. Tavoitteet: Arvioida, voisivatko probiootit vähentää hengitystievirusten nenänielussa esiintymistä suomalaisilla varusmiehillä. Tutkimusasetelma: Satunnaistetussa, kaksoissokkoutetussa, lumekontrolloidussa 90 ja 150 päivän interventiotutkimuksessa kerättiin 239 nenänielun näytepakkausta 192:lta oireilevalta varusmieheltä, jotka saivat päivittäin pureskeltavaa probioottitablettia, joka sisälsi Lactobacillus rhamnosus GG:tä ja Bifidobacterium animalis ssp. lactis BB-12:ta (46,9 %), tai kontrollitablettia (53,1 %) varuskunnan terveyskeskuksessa käydessään infektio-oireiden vuoksi. Hengitystievirusten esiintyminen testattiin PCR-menetelmällä, ja viruslöydöksiä verrattiin interventioryhmien välillä. Tulokset: 184 (76,9 %) nenänielunäytteestä löytyi vähintään yksi hengitystievirus. Pikornavirukset olivat yleisimpiä viruksia, ja niitä havaittiin 155 näytteessä (84,2 %). Näistä 143 (92,3 %) oli rinoviruspositiivisia ja 20 (12,9 %) enteroviruspositiivisia. Kontrolliryhmässä oli 83 (64 %) ja probioottiryhmässä 72 (66 %) pikornavirusinfektiota (p = 0,79). Pikornavirusten kuukausittainen jakauma osoitti, että probioottiryhmässä oli vähemmän pikornaviruslöydöksiä kolmen kuukauden kuluttua kuin kontrolliryhmässä (p = 0,0069). Probiootit eivät kuitenkaan vähentäneet pikornavirusten esiintymistä muina kuukausina. Päätelmät: Kaiken kaikkiaan probiootit eivät vähentäneet virusten esiintymistä oireilevilla varusmiehillä. Probiootit kuitenkin vähensivät pikornavirusten esiintymistä kolmen kuukauden kuluttua, mikä voi viitata siihen, että probiooteilla on merkitystä flunssaa aiheuttavien virusten torjunnassa. Lisätutkimuksia tarvitaan mekanismien selvittämiseksi, jotta voidaan kohdistaa erityisiä probiootteja tiettyihin hengitystieviruksiin.

**Tulos**

Spesifiset probiootit ja virologiset löydökset oireilevilla varusmiespalvelukseen osallistuvilla varusmiehillä Suomessa

**Esimerkki 1.6419**

Balkanin endeemisen nefropatian (BEN) tutkimus Etelä-Serbian saastuneilla paikkakunnilla osoittaa populaatiogeneettisiä eroja BEN:iin sairastuneiden henkilöiden ja samoilta paikkakunnilta peräisin olevien, ei-sairastuneista henkilöistä koostuvan kontrolliryhmän näytteiden välillä. Yksityiskohtainen väestögeneettinen tutkimus Chepuren kylässä, johon kuuluu 20 suurta perhettä, joissa BEN-tautia esiintyy 646:ssa (ensimmäisen ja neljännen asteen) koehenkilöiden sukulaisessa, osoittaa taudin perinnöllisen luonteen sekä merkittävät geneettiset vaikutukset sairauden ilmenemiseen. Geneettisen homotsygoottiuden astetta koskevaan tutkimukseemme sisältyy 20-30 valitun geneettisesti kontrolloidun morfofysiologisen ominaisuuden esiintymisen, jakautumisen ja yksilöllisen yhdistelmän analyysi BEN-potilaiden otoksessa ja terveessä kontrolliryhmässä. Olettaen, että BEN on geneettisesti kontrolloitu sairaus, teimme hypoteesin, että kohonnut homotsygoottiusaste sekä muuttunut vaihtelu potilaiden välillä voisivat olla populaatiogeneettinen parametri sairauden ennustamiseksi. Ottaen huomioon kokemuksemme sekä monien mono- ja oligogeenisesti kontrolloitujen laadullisten ominaisuuksien periytymisen luonnetta tutkineiden tutkijoiden kokemukset, sovelsimme menetelmää tällaisten homotsygoottisesti resessiivisten ominaisuuksien osuuden arvioimiseksi (HRC-testi). Tämä populaatiogeneettinen tutkimus ei osoittanut ainoastaan tilastollisesti merkitseviä eroja geneettisen homotsygotian keskiarvoissa (BEN: 8,7 ± 0,3; kontrolli: 7,6 ± 0,3), vaan myös eroja jakauman tyypissä sekä eroja tällaisten ominaisuuksien tiettyjen yksittäisten yhdistelmien esiintymisessä.

**Tulos**

Väestögeneettinen tutkimus Balkanin endeemisestä nefropatiasta Serbiassa\* IHMISEN GENETIIKKA

**Esimerkki 1.6420**

Koiran influenssavirus (CIV) alatyyppi H3N2 on äskettäin tunnistettu, erittäin tarttuva hengitystiepatogeeni, joka aiheuttaa koirille yskää, keuhkokuumetta ja muita hengitystieoireita. Tiedot osoittavat, että virus on vastuussa viimeaikaisista kliinisistä koirien tautitapauksista Kiinassa. Tämän taudin hoitovaihtoehdot ovat kuitenkin hyvin rajalliset. Tässä tutkimuksessa tuotettiin ja karakterisoitiin seitsemän monoklonaalista vasta-ainetta (mAb) CIV JS/10 -virusta (H3N2-alatyypin virus) vastaan. Niistä mAb D7, joka on spesifinen HA2-glykopeptidille (gp), sai aikaan korkeimmat neutralointitiitterit. mAb D7:n antamaa suojaa arvioitiin BALB/c-hiirillä, jotka altistettiin homologisille tai heterologisille H3N2-influenssaviruskannoille, mukaan lukien kaksi CIV-kantaa ja yksi sikainfluenssaviruskanta (SIV). Tiedot osoittavat, että mAb D7 suojasi hiiriä infektiolta kolmella viruskannalla, erityisesti homologisella kannalla, mikä ilmeni ruumiinpainon palautumisena, viruskuorman vähenemisenä ja kudosvaurioiden vähenemisenä. Lisäksi ELISA-menetelmällä havaitut IFN-γ- ja TNF-α-tasot keuhkoissa pienenivät infektoituneilla hiirillä, joita hoidettiin mAb D7:llä, verrattuna hiiriin, jotka eivät saaneet mAb D7 -hoitoa. Tuloksemme osoittavat siis ensimmäistä kertaa, että mAb voi vähentää CIV-infektion aiheuttamaan kudosvaurioon liittyvää IFN-γ:n ja TNF-α:n vapautumista ja että mAbilla voi olla suuri terapeuttinen arvo CIV-infektiossa.

**Tulos**

HA2-glykopeptidille spesifinen monoklonaalinen vasta-aine suojaa hiiriä H3N2-influenssaviruksen aiheuttamalta infektiolta.

**Esimerkki 1.6421**

Epidemian ajallinen kulku voidaan mallintaa käyttämällä taudin leviämistä kuvaavia differentiaaliyhtälöitä ja jakamalla ihmiset erikokoisiin "laikkuihin", joiden välillä ihmiset liikkuvat. Käytimme näitä useisiin laikkuihin perustuvia, virtaukseen perustuvia malleja määrittääksemme, miten tartunnan saaneiden ja alttiiden populaatioiden ajallinen kulku riippuu tautiparametreista, laikkujen välisten vaellusten geometriasta ja tartunnan saaneiden ihmisten lisäämisestä laikkuun. Havaitsimme, että siirtymiä ja ylimääräisiä "ylimääräisiä" epidemioita esiintyy huomattavasti pidempään, kun lisääntymisnopeus R on lähempänä 1, kuten SARS:lle (Severe Acute Respiratory Syndrome) ja lintuinfluenssalle tyypillisesti, kuin kun R on lähempänä 10, kuten tuhkarokolle tyypillisesti. Lisäksi osoitamme sekä analyyttisesti että numeerisesti, miten viive tartunnan saaneiden ihmisten pistämisen ja sen aiheuttaman alkuvaiheen epidemian välillä riippuu R:stä.

**Tulos**

Dynaaminen reaktio monilohkoisten, virtauspohjaisten mallien dynamiikkaan tartunnan saaneiden ihmisten syötteen perusteella: Epidemian vaste käynnistettyihin tapahtumiin

**Esimerkki 1.6422**

Kystationiini-β-syntaasi (CBS) on äskettäin tunnistettu useiden syöpämuotojen lääkekohteeksi. Tällä hetkellä tehokkaita ja selektiivisiä CBS:n estäjiä ei ole saatavilla. Käyttämällä 8871 kliinisesti käytetyn lääkkeen ja hyvin annotoitujen farmakologisten yhdisteiden yhdistelmäkokoelmaa (mukaan lukien LOPAC-kirjasto, FDA:n hyväksyttyjen lääkkeiden kirjasto, NIH:n kliininen kokoelma, New Prestwickin kemiallinen kirjasto, Yhdysvaltain lääkekokoelma, kansainvälinen lääkekokoelma, Killer Plates -kokoelma ja pieni mukautettu kokoelma PLP-riippuvaisia entsyymi-inhibiittoreita), teimme in vitro -seulan CBS:n inhibiittorien tunnistamiseksi käyttäen ensisijaista 7-atsido-4-metyylikumariinia (AzMc) CBS:n tuottaman rikkivedyn (H 2 S) tuotannon havaitsemiseksi. Alkuperäisille osumille tehtiin vastaseulonta metyleenisinemäärityksellä (toissijainen määritys H 2 S-tuotannon mittaamiseksi), ja niiden kykyä sammuttaa H 2 S-donoriyhdiste GYY4137:n tuottama H 2 S-signaali arvioitiin. Neljä yhdistettä, heksakloorifeeni, parkkihappo, aurintrikarboksyylihappo ja benseratsidi, osoittivat pitoisuudesta riippuvaa CBS:n inhiboivaa vaikutusta ilman GYY4137:stä vapautuvan H 2 S:n puhdistusvaikutusta, mikä osoittaa ne suoriksi CBS:n estäjiksi. Heksakloorifeeni (IC 50 : ~60 μM), tanniinihappo (IC 50 : ~40 μM) ja benseratsidi (IC 50 : ~30 μM) olivat vähemmän voimakkaita CBS:n estäjiä kuin kaksi vertailuyhdistettä AOAA (IC 50 : ~3 μM) ja NSC67078 (IC 50 : ~1 μM), kun taas aurintrikarboksyylihappo (IC 50 : ~3 μM) oli samanarvoinen kuin AOAA. Toinen viiteyhdiste NSC67078 ei ainoastaan estänyt CBS:n aiheuttamaa AzMC:n fluoresenssisignaalia (IC 50 : ~1 μM), vaan se esti myös GYY4137:n aiheuttaman AzMC:n fluoresenssisignaalin kanssa (IC 50 ~6 μM), mikä osoittaa puhdistusvaikutuksia/ei-spesifisiä vaikutuksia. Heksakloorifeeni (IC 50 : ~6 μM), tanniinihappo (IC 50 : ~20 μM), benseratsidi (IC 50 : ~20 μM) ja NSC67078 (IC 50 : ~0,3 μM) estivät HCT116-paksusuolisyöpäsolujen proliferaatiota tehokkaammin kuin AOAA (IC 50 : ~300 μM). Sitä vastoin, vaikka aurintrikarboksyylihappo olikin CBS-inhibiittori soluvapaassa määrityksessä, se ei estänyt HCT116:n proliferaatiota pienemmillä pitoisuuksilla ja stimuloi solujen proliferaatiota 300 μM:n pitoisuudessa. Kirjastoissa esiintyvien kuparia sisältävien yhdisteiden havaittiin myös olevan voimakkaita rekombinanttisen CBS:n estäjiä; tämä aktiivisuus johtui kuitenkin itse kupari-ionien CBS:ää estävästä vaikutuksesta. Kupari-ionit eivät kuitenkaan estäneet HCT116-solujen lisääntymistä 300 μM:iin asti. Benseratsidi oli vain heikko inhibiittori muiden H 2 S:ää tuottavien entsyymien CSE:n ja 3-MST:n aktiivisuudelle (16 % ja 35 % inhibitio 100 μM:lla) in vitro. Benseratsidi tukahdutti HCT116:n mitokondrioiden toimintaa ja esti runsaasti CBS:ää ilmentävän paksusuolensyöpäsolulinjan HT29:n proliferaatiota, mutta ei vähän CBS:ää ilmentävän linjan LoVo:n. Benseratsidin päämetaboliitti 2,3,4-trihydroksibentsyylihydratsiini esti myös CBS:n toimintaa ja hillitsi HCT116-solujen proliferaatiota in vitro. In vivo -tutkimuksessa nude-hiirillä, joilla oli ihmisen paksusuolen syöpäsolujen ksenografteja, benseratsidi (50 mg/kg/vrk s.q.) esti kasvaimen kasvua. In silico -docking-simuloinnit osoittivat, että benseratsidi sitoutuu entsyymin aktiiviseen kohtaan ja reagoi PLP-kofaktorin kanssa muodostamalla reversiibeleitä mutta kineettisesti stabiileja Schiffin baselin kaltaisia addukteja pyridoksaalin formyyliosan kanssa. Päätelmämme on, että benseratsidi estää CBS:n aktiivisuutta ja tukahduttaa paksusuolisyövän solujen lisääntymistä ja bioenergiatekniikkaa in vitro sekä kasvaimen kasvua in vivo. Tarvitaan lisää farmakokineettisiä, farmakodynaamisia ja prekliinisiä eläinkokeita, jotta voidaan arvioida benseratsidin uudelleenkäytön mahdollisuuksia paksusuolen ja peräsuolen syöpien hoidossa.

**Tulos**

Kliinisesti käytettyjen lääkkeiden ja hyvin karakterisoitujen farmakologisten yhdisteiden yhdistelmäkirjaston seulonta kystationiini β-syntaasin eston osalta tunnistaa benseratsidin lääkkeeksi, joka soveltuu mahdollisesti uudelleen käytettäväksi paksusuolisyövän kokeelliseen hoitoon HHS Public Access

**Esimerkki 1.6423**

Yleislääkärit ovat terveydenhuollon etulinjassa, ja heillä on keskeinen rooli lisääntyvän antibioottiresistenssin torjunnassa. Tältä osin yleislääkäreiden kohdennettu antibioottien määrääminen auttaisi vähentämään antibioottien tarpeetonta käyttöä, mikä vähentäisi hoitohäiriöitä, vähentäisi potilaille aiheutuvia sivuvaikutuksia ja vähentäisi antibioottiresistenssin (maailmanlaajuista) leviämistä. Nykyiset "kultaiset standardit" antibioottiresistenssin havaitsemisstrategiat ovat yleensä hitaita, sillä tuloksen saaminen kestää jopa 48 tuntia, vaikka yleislääkäreiden toteuttama hoitopaikkatestaus voisi auttaa saavuttamaan antibioottien kohdennettujen määräämiskäytäntöjen tavoitteen. Sen päättäminen, mitkä antibioottiresistenssit sisällytetään hoitopistediagnostiikkaan, ei kuitenkaan ole helppo tehtävä, kuten tässä julkaisussa esitetään.

**Tulos**

Erityiskertomus Haasteet antibioottiresistenssikohteiden tunnistamisessa yleislääketieteen point-of-care-diagnostiikkaa varten

**Esimerkki 1.6424**

Monissa realistisissa epidemian leviämisverkoissa esiintyy tilastollisesti synkronista käyttäytymistä, jota kutsumme epidemian synkronoinniksi. Tietojemme mukaan epidemian synkronisaatiota ei kuitenkaan ole tutkittu teoreettisesti. Itse asiassa monissa tapauksissa synkronisaatio ja epidemian käyttäytyminen voivat esiintyä samanaikaisesti ja vaikuttaa toisiinsa mukautuvasti. Tässä artikkelissa rakennamme ensin perinteisiin kompleksisten verkkojen dynaamisiin malleihin perustuvia matemaattisia malleja epidemian synkronoinnista soveltamalla todellisissa verkoissa havaittuja adaptiivisia mekanismeja. Sitten tutkimme näiden mallien epidemianopeuden ja synkronoinnin vakauden välistä suhdetta ja erityisesti saamme epidemian synkronoinnin paikallisen ja globaalin vakauden ehdot. Lopuksi suoritamme numeerisen analyysin teoreettisten tulosten todentamiseksi. Tämä työ on ensimmäinen, jossa vedetään teoreettinen silta epidemian leviämisen ja synkronointidynamiikan välille, ja siitä on hyötyä hallinnan tutkimukselle ja epidemioiden analysoinnille monimutkaisissa verkoissa.

**Tulos**

Dynaamisen synkronoinnin ja epidemian käyttäytymisen välinen mukautuva mekanismi monimutkaisissa verkoissa.

**Esimerkki 1.6425**

Maaliskuussa 2003 epätyypillistä keuhkokuumetta sairastavilta potilailta eristettiin uusi koronavirus, joka osoittautui myöhemmin SARSiksi (vaikea akuutti hengitystieoireyhtymä) kutsutun taudin aiheuttajaksi. SARS-CoV:n (SARS-koronaviruksen) koko genomi on sittemmin sekvensoitu. SARS-CoV:n nukleokapsidin (SARS-CoV N) proteiinilla on vain vähän homologiaa muiden koronavirusten perheen jäsenten kanssa. Tässä artikkelissa osoitamme, että SARS-CoV N kykenee aiheuttamaan apoptoosia COS-1-apinan munuaissoluissa ilman kasvutekijöitä alentamalla ERK:n (solunulkoisen signaalin säätelemä kinaasi) toimintaa, tehostamalla JNK:n (c-Jun N-terminaalinen kinaasi) ja p38 MAPK:n (mitogeeniaktivoitu proteiinikinaasi) toimintaa ja vaikuttamalla niiden vaikutusketjun loppupään efektoreihin. SARS-CoV N:n ilmentyminen alensi myös fosfo-Akt- ja Bcl-2-tasoja ja aktivoi kaspaasit 3 ja 7. Apoptoosi oli kuitenkin riippumaton p53- ja Fas-signalointireiteistä. Lisäksi p38 MAPK -reitin aktivoitumisen havaittiin indusoivan aktiinin uudelleenorganisoitumista soluissa, joissa ei ollut kasvutekijöitä. Sytoskelettitasolla SARS-CoV N alensi FAK:n (focal adhesion kinase) aktiivisuutta ja myös fibronektiinin ilmentymistä. Tämä on ensimmäinen raportti, jossa osoitetaan SARS-CoV:n N-proteiinin kyky indusoida apoptoosia ja aktiinin uudelleenorganisoitumista nisäkässoluissa stressitilanteessa.

**Tulos**

SARS-koronaviruksen nukleokapsidiproteiini indusoi aktiinin uudelleenorganisoitumista ja apoptoosia COS-1-soluissa ilman kasvutekijöitä.

**Esimerkki 1.6426**

AVAINSANAT Naudan limakalvoimmunologia Suolistomikrobiomi Immuunijärjestelmän suurin elin on ruoansulatuskanavan limakalvo, joten sen hallinta on olennaisen tärkeää tuottavuuden ja terveyden kannalta. Limasta, defensiineistä ja immunoglobuliini A:sta koostuva este on "tappovyöhyke", joka estää mikrobien tunkeutumisen GI-epiteeliin. Enterosyytit ovat avainsoluja, jotka ylläpitävät "tappovyöhykettä" ja reagoivat luumenista peräisin oleviin aineenvaihduntatuotteisiin ja mikrobikomponentteihin sekä immuunisolujen antamiin signaaleihin ylläpitääkseen tiukkoja yhteyksiä ja estääkseen "vuotavan suolen". Passiivinen suolistoimmuniteetti on välttämätön vastasyntyneen eläimen tautisuojauksen kannalta; tulehdusta ehkäisevä suolistovaste on välttämätön kasvavan ja aikuisen eläimen tautisuojaus. Suoraan syötetyt mikrobit, mukaan lukien ravintovalmisteet, prebiootit, probiootit ja muut ravintolisät, vaikuttavat vierasperäisten mikrobien "homeostaasiin" ja limakalvojen immuniteettiin GI-terveyden ylläpitämiseksi.

**Tulos**

Suoliston immuniteetti Onnellinen suolisto, terve eläin

**Esimerkki 1.6427**

Listeria monocytogenes on grampositiivinen bakteeri, jonka tiedetään aiheuttavan erilaisia infektioita ihmisessä, mukaan lukien keskushermostoinfektioita. Yleisimpiä keskushermosto-oireita ovat aivokalvontulehdus ja rhomboenkefaliitti, mutta harvinaisia komplikaatioita, kuten hydrokefaliaa ja aivoverenvuotoa, voi esiintyä, ja niihin liittyy lisääntynyt kuolleisuus ja pysyvien neurologisten jälkitautien esiintyvyys. Kuolleisuus vaihtelee 17 prosentista yli 30 prosenttiin potilailla, joilla on neurologisia oireita [1-3]. Erilaisissa tapausraporteissa on tutkittu erilaisia hoitokeinoja ja näiden komplikaatioiden saaneiden potilaiden hoitotuloksia, eikä optimaalisista hoitokeinoista ole vieläkään päästy yksimielisyyteen. Tässä artikkelissa raportoimme Listeria-meningiittitapauksesta, johon liittyi sekä akuutti hydrokefalia että aivoverenvuoto, ja analysoimme tekijöitä, jotka johtivat suotuisaan lopputulokseen, tarkastelemalla olemassa olevaa kirjallisuutta.

**Tulos**

Listeria monocytogenes -meningiitti, johon liittyi hydrokefalia ja intravaskulaarinen verenvuoto: Hoitovaihtoehtojen ja tulosten tarkastelu

**Esimerkki 1.6428**

a r t i c l e i n f o a b s t r a c t Article history: Flos Chrysanthemi (Chrysanthemum morifolium Ramat.) kukkaa käytetään Kiinassa laajalti luteoliinin metaboliitteina in vivo katekoli-O-metyylitransferaasin (COMT) avulla. Krysoeriolin ja diosmetiinin farmakokineettiset tiedot puuttuivat kuitenkin Flosin oraalisen annon jälkeen Avainsanat: Krysanthemi-uute (FCE). Tämän tutkimuksen tavoitteena oli kehittää HPLC-UV-menetelmä luteoliinin, apigeniinin, krysoeriolin ja krysoeriolin diosmetiinin rottien plasmapitoisuuksien samanaikaista määrittämistä varten ja hyödyntää sitä neljän yhdisteen farmakokineettisessä tutkimuksessa sen jälkeen, kun FCE oli annettu suun kautta diosmetiini-rotille. Menetelmä validoitiin onnistuneesti ja sitä sovellettiin farmakokineettiseen tutkimukseen, kun FCE:tä annettiin rotille suun kautta farmakokinetiikkaan yhdessä COMT-estäjän, entakaponin, kanssa tai ilman sitä. Chrysoeriol Flos Chrysanthemi ja diosmetiini havaittiin rottien plasmassa FCE:n oraalisen annon jälkeen, ja niiden katekoli-O-metyylitransferaasi (COMT) -pitoisuudet pienenivät merkittävästi entakaponin samanaikaisen antamisen jälkeen. Lisäksi entakaponi lisäsi merkittävästi luteoliinin AUC-arvoa, kun taas krysoeriolin AUC-arvo pieneni entakaponin vaikutuksesta, mikä osoitti, että COMT:llä saattaa olla tärkeä rooli luteoliinin dispositiossa rotilla FCE:n annostelun jälkeen. Yhteenvetona voidaan todeta, että kehitettiin herkkä, tarkka ja toistettavissa oleva HPLC-UV-menetelmä luteoliinin, apigeniinin, krysoeriolin ja diosmetiinin samanaikaista määrittämistä varten rottien plasmassa, ja krysoeriolin ja diosmetiinin farmakokinetiikkaa yhdessä luteoliinin ja apigeniinin kanssa luonnehdittiin FCE:n oraalisen antamisen jälkeen rotille, mikä antoi meille lisää tietoa FCE:n farmakokinetiikasta ja mahdollisista farmakologisista vaikutuksista in vivo.

**Tulos**

Luteoliinin, apigeniinin, krysoeriolin ja diosmetiinin farmakokineettinen tutkimus Flos Chrysanthemi -uutteen oraalisen annon jälkeen rotilla Flos Chrysanthemin bioaktiiviset komponentit, ja krysoerioli ja diosmetiini ovat kaksi metyloitua

**Esimerkki 1.6429**

Virukset, joilla on luokan I fuusioproteiineja, tarvitsevat isäntäsolun proteaasien proteolyyttistä aktivointia, jotta fuusio isäntäsolukalvoon tapahtuisi. Nisäkkäiden SPINT2-geeni koodaa proteaasi-inhibiittoria, joka kohdistuu trypsiinin kaltaisiin seriiniproteaaseihin. Tässä osoitamme, että proteaasi-inhibiittori SPINT2 rajoittaa tehokkaasti pilkkomisen aktivointia useiden influenssavirusten ja ihmisen metapneumoviruksen (HMPV) osalta. SPINT2-käsittely johti täyspitkän influenssa A/CA/04/09 (H1N1) HA:n, A/Aichi/68 (H3N2) HA:n, A/Shanghai/2/ 2013 (H7N9) HA:n ja HMPV F:n pilkkoutumiseen ja fuusion estymiseen, kun ne aktivoitiin trypsiinillä, rekombinanttimatriptaasilla tai KLK5:llä. Osoitamme myös, että SPINT2 pystyi vähentämään influenssan A/CA/04/09 H1N1 ja A/X31 H3N2 viruksen kasvua soluviljelmissä estämällä matriptaasia tai TMPRSS2:ta. Lisäksi eston teho ei eronnut toisistaan, lisättiinkö SPINT2:ta infektion aikaan vai 24 tuntia infektion jälkeen. Tietomme viittaavat siihen, että SPINT2-inhibiittorilla on vahva potentiaali toimia uutena laajakirjoisena viruslääkkeenä.

**Tulos**

SPINT2 estää proteaaseja, jotka osallistuvat sekä influenssavirusten että metapneumovirusten aktivoitumiseen.

**Esimerkki 1.6430**

Taustaa: 9/11-iskun ja vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) jälkeen pätevien ja kyvykkäiden kansanterveysjohtajien kehittämisestä on tullut uusi kiireellinen asia rakennettaessa infrastruktuuria, jota tarvitaan kansanterveydellisiin hätätilanteisiin vastaamiseksi. Vaikka aiemmissa tutkimuksissa on todettu, että yksittäisten johtajien koulutus on tärkeä lähestymistapa, järjestelmällinen ja tieteellinen koulutusmalli kaipaa edelleen parannusta ja kehittämistä. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli kehittää, toteuttaa ja arvioida osallistavaa johtajakoulutusohjelmaa hätätilanteiden hallintaa varten. Menetelmät: Neljäkymmentäyksi kansanterveysjohtajaa (N = 41) viidestä maakunnasta suoritti koko hätätilanteisiin varautumisen koulutusohjelman Kiinassa. Ohjelmaa arvioitiin nimettömillä kyselylomakkeilla ja puolistrukturoiduilla haastatteluilla, jotka pidettiin ennen koulutusta, välittömästi koulutuksen jälkeen ja 12 kuukautta koulutuksen jälkeen (seuranta). Hätätilanteisiin varautumista koskeva koulutus johti myönteisiin muutoksiin kansanterveysjohtajien tiedoissa ja taitojen itsearvioinnissa. Yli yhdeksänkymmentäviisi prosenttia osallistujista ilmoitti, että koulutusmalli oli tieteellinen ja toteuttamiskelpoinen. Lisäksi ohjelman osallistujien reaktio lintuinfluenssaepidemian puhkeamiseen sekä tämän johtajakoulutusohjelman suunnitellut arvioinnit osoittivat edelleen sekä onnistuneet lähestymistavat ja menetelmät että tämän integroidun johtajakoulutusaloitteen myönteiset vaikutukset. Hätätilanteisiin varautumista koskeva koulutusohjelma saavutti päämääränsä ja tavoitteensa tyydyttävästi ja paransi kansanterveysjohtajien hätätilavalmiuksia. Tämä viittaa siihen, että johtajakoulutusmalli oli tehokas ja toteuttamiskelpoinen hätätilavalmiuden parantamisessa.

**Tulos**

BMC Public Health Julkisen terveydenhuollon hätätilanteisiin vastaamista koskevan johtamiskoulutusohjelman kehittäminen ja arviointi: tuloksia kiinalaisesta tutkimuksesta.

**Esimerkki 1.6431**

Polyoma-BK-virus (BKV) pysyy latenttina primaarisen infektion jälkeen ja voi aktivoitua uudelleen immunosuppression aikana. Uroepiteeli on pääasiallinen latenssipaikka. Tässä tutkimuksessa selvitettiin, voisiko ruoansulatuskanava olla toinen latenssipaikka. Tämän hypoteesin testaamiseksi määrittelimme prospektiivisesti ulosteen BKV:n määrän kvantitatiivisella PCR-reaktiolla 40 potilaalta, joille tehtiin hematopoieettinen SCT (HSCT). Virtsan BKV määriteltiin samalla tavalla. Ulosteen BKV-eritys oli positiivinen 16/40 potilaalla, joista 10 oli ohimeneviä (o3 peräkkäistä positiivista näytettä), kuusi oli pysyviä (X3 peräkkäistä positiivista näytettä) ja kolme oli pysyviä, joilla oli huipentuma (X10 3 -kertainen viruskuorman nousu lähtötilanteeseen nähden, jolloin viruksen määrä nousi 5,11 10 6, 4,68 10 7 ja 2,75 10 8 kopiota/näyte 14, 14 ja 21 vuorokautta HSCT:n päättymisen jälkeen). Virtsan BKV-eritys oli positiivinen 25/40 potilaalla. BKV-eritys ulosteessa korreloi merkitsevästi virtsan erityksen kanssa (P ¼ 0,036), ja se oli merkitsevästi yhteydessä allogeeniseen HSCT:hen (P ¼ 0,037) sekä virtsan BKV-erityksen pysyvyyteen ja huippuunsa virtsaan (Po0,001). Binäärinen logistinen regressio osoitti, että BKV-viruria oli ainoa merkittävä riskitekijä ulosteen BKV-eritykselle (P ¼ 0,021). BKV:n erittymistä ulosteen kautta esiintyi 40 prosentilla HSCT-potilaista, mikä viittaa siihen, että ruoansulatuskanava on BKV:n latenssipaikka.

**Tulos**

Polyoma BK -viruksen irtoamisen suuri esiintymistiheys ruoansulatuskanavassa hematopoieettisen kantasolusiirron jälkeen: prospektiivinen ja kvantitatiivinen analyysi.

**Esimerkki 1.6432**

Porcine deltacoronavirus (PDCoV) on äskettäin tunnistettu koronavirus, joka aiheuttaa vastasyntyneiden porsaiden suolistosairauksia, joihin liittyy ripulia, oksentelua, kuivumista ja 50-100 prosentin kuolleisuutta tartunnan jälkeen. Tällä hetkellä PDCoV:n torjuntaan ei ole saatavilla tehokkaita hoitoja tai rokotteita. RNA-interferenssin (RNAi) potentiaalin tutkimiseksi PDCoV-infektion vastaisena strategiana rakennettiin kaksi lyhyttä hiusneula-RNA:ta (shRNA) ilmentävää plasmidia (pGenesil-M ja pGenesil-N), jotka kohdistuivat PDCoV:n M- ja N-geeneihin, ja ne transfektoitiin erikseen sian kivessoluihin (ST), jotka infektoitiin sitten PDCoV-kannalla HB-BD. Plasmidien potentiaalia estää PDCoV:n replikaatiota arvioitiin sytopaattisella vaikutuksella, virustittereillä ja reaaliaikaisella kvantitatiivisella RT-PCR-määrityksellä. Sytopatogeenisuusmääritykset osoittivat, että pGenesil-M ja pGenesil-N suojasivat ST-soluja patologisilta muutoksilta hyvin spesifisesti ja tehokkaasti. Kudosviljelmien 50 prosentin infektiivinen annos osoitti, että pGenesil-M:llä ja pGenesil-N:llä käsiteltyjen ST-solujen PDCoV-tiitterit pienenivät vastaavasti 13,2- ja 32,4-kertaisiksi. Reaaliaikainen kvantitatiivinen RT-PCR vahvisti myös, että viruksen RNA:n määrä soluviljelmissä, jotka oli esitransfektoitu pGenesil-M:llä ja pGenesil-N:llä, väheni vastaavasti 45,8 ja 56,1 prosenttia. Tämän uskotaan olevan ensimmäinen raportti, jossa osoitetaan, että PDCoV:n M- ja N-geeneihin kohdistuvilla shRNA:illa on in vitro antiviraalisia vaikutuksia, mikä viittaa siihen, että RNAi on lupaava uusi strategia PDCoV-infektiota vastaan.

**Tulos**

M- ja N-geeneihin kohdistuvat lyhyet hiusneula-RNA:t vähentävät sikojen deltacoronaviruksen replikaatiota ST-soluissa.

**Esimerkki 1.6433**

Virusinfektio käynnistää useita solujen stressireaktioita, jotka muokkaavat geenien säätelyä ja RNA:n lokeroitumista. Virusten on hallittava isännän geeniekspressiota ja viruksen RNA:n lokalisaatiota ollakseen menestyksekkäitä loisia. RNA-granulaatiot, kuten stressigranulaatiot ja P-kappaleet, sisältävät translaation vaimentamia lähetti-ribonukleoproteiineja (mRNP), ja ne toimivat solujen translaation säätelyn jatkeina säilyttäen ohimenevästi tukahdutettuja mRNA:ita. Uudet raportit osoittavat, että yhä useammat virusperheet muokkaavat RNA-granuloiden toimintaa maksimoidakseen replikaation tehokkuuden. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto viimeaikaisista edistysaskelista virusten ja mRNA-stressirakeiden välisen suhteen ymmärtämisessä eläinsoluissa, ja siinä käsitellään tärkeitä kysymyksiä, jotka ovat vielä ratkaisematta tällä kehittyvällä alalla.

**Tulos**

Stressirakeiden säätely virusjärjestelmissä

**Esimerkki 1.6434**

Tässä tutkimuksessa arvioitiin ilmassa leviävien adenovirusten ja Mycoplasma pneumoniae -bakteerien leviämistä yleisillä alueilla lastensairaalan pediatrisella osastolla Pohjois-Taiwanissa. Ilman virus- ja bakteeripitoisuuksia arvioitiin kahdesti viikossa vuoden ajan käyttämällä suodatinnäytteenottoa, jonka ilmavirtausnopeus oli 12 litraa minuutissa kahdeksan tunnin ajan lasten poliklinikalla ja 24 tunnin ajan lasten päivystysosastolla. Analyysia varten tehtiin reaaliaikaiset polymeraasiketjureaktiomääritykset. Noin 18 prosentissa lasten päivystysosaston ilmanäytteistä havaittiin adenovirusta. Noin 46 prosenttia lasten poliklinikan ilmanäytteistä sisälsi Mycoplasma pneumoniae -DNA-tuotteita. Ilman kautta leviävän adenoviruksen DNA:n havaitsemisprosentti oli korkea heinä- ja elokuussa pediatrian yleisissä tiloissa. Ilman kautta leviävää Mycoplasma pneumoniae -bakteeria havaittiin vain heinäkuussa lasten päivystysosastolla, ja suurimmat pitoisuudet todettiin elokuusta tammikuuhun lasten poliklinikalla. Adenovirusta ja Mycoplasma pneumoniae -bakteeria sisältäviä ilmassa kulkeutuvia hiukkasia esiintyi eniten pediatrian yleisissä tiloissa. Näiden ilmassa kulkeutuvien virus-/bakteerihiukkasten ja ihmisten infektioiden välistä mahdollista yhteyttä olisi tutkittava tarkemmin.

**Tulos**

Ilman kautta leviävien adenovirusten ja Mycoplasma pneumoniae -bakteerien valvonta sairaalan lastenosastolla.

**Esimerkki 1.6435**

Virukset käyttävät erilaisia strategioita kiertääkseen synnynnäisen immuunivasteen antiviraaliset toimet. SARS-koronavirus (SARS-CoV), joka aiheuttaa vakavia keuhkovaurioita, koodaa joukon proteiineja, jotka kykenevät estämään tyypin I interferonien induktion ja signaloinnin. Viimeaikaiset tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että interferoneja tuotetaan SARS-CoV-infektion aikana ihmisillä ja makakeilla. Lisäksi SARS-CoV-infektoituneiden makakoiden keuhkoissa voitiin osoittaa aktivoituneen STAT1:n ja useiden interferonien stimuloimien geenien siirtyminen ytimeen. Näiden havaintojen mukaisesti plasmasytoidisten dendriittisolujen on osoitettu tuottavan interferoneja SARS-CoV-infektion yhteydessä in vitro. Koska interferoneilla on keskeinen rooli virusinfektioiden aikana, interferonien (erilainen) induktio voi vaikuttaa infektion lopputulokseen. Siksi interferonituotannon toiminnallinen merkitys SARS-CoV-infektion aikana on vielä tutkittava uudelleen. synnynnäinen immuniteetti; interferoni; plasmasytoidinen dendriittisolu; SARS-koronavirus SARS puhkesi vuoden 2002 lopulla ja vuoden 2003 alussa Guangdongin maakunnassa Kiinassa ja levisi nopeasti useisiin maihin Aasiassa, Pohjois-Amerikassa ja Euroopassa aiheuttaen 8096 ihmisen sairastumisen, joista 774 kuoli [ 101 ]. Vaikka SARSin aiheuttamien kuolemantapausten määrä jäi suhteellisen vähäiseksi verrattuna esimerkiksi influenssapandemioihin, SARS-epidemian vaikutukset olivat melko suuret.

**Tulos**

Verkkosivusto 101 Maailman terveysjärjestön tilastot. Future Virol

**Esimerkki 1.6436**

Tällaisten tapahtumien ehkäisemiseksi on ratkaisevan tärkeää saada tietoa todennäköisistä taudin esiintymisskenaarioista. Viime aikoina on keskitytty kehittyviin zoonooseihin ja kehittyvien tautien yhteisten mallien ja taustatekijöiden tunnistamiseen. Ei kuitenkaan ole olemassa kattavaa kehystä, jossa voitaisiin yhdistää kaikkia uusia tartuntatautitapahtumia koskevat tiedot. Tässä ehdotamme tällaista käsitteellistä kehystä, joka perustuu taudinaiheuttajien, isäntien ja ympäristön vuorovaikutuksessa tapahtuviin muutoksiin, jotka johtavat uusien tautimuotojen muodostumiseen ja taudinaiheuttajien geneettiseen mukautumiseen. Jaottelemme tartuntatautien ilmaantumistapahtumat kolmeen ryhmään: i) patogeenit, jotka esiintyvät uudessa isännässä ja jotka vaihtelevat leviämisestä, zoonoosit mukaan luettuina, täydellisiin lajihyppyihin; ii) mutanttipatogeenit, joilla on samassa isännässä uusia ominaisuuksia, kuten virulenssin lisääntyminen, mikrobilääkeresistenssi ja isännän immuunijärjestelmän karkaaminen; ja iii) tautikompleksit, jotka ilmaantuvat uudella maantieteellisellä alueella joko levinneisyysalueen laajenemisen tai pitkän matkan siirtymisen seurauksena. Kullekin näistä luokista on ominaista tyypillinen joukko taudin ilmaantumiseen vaikuttavia tekijöitä, jotka vastaavat taudinaiheuttajan ominaisuuksien profiileja, tautiekologiaa ja leviämisdynamiikkaa. Kehyksemme voi auttaa erottelemaan ja jäsentämään nopeasti kasvavaa määrää tartuntatauteja koskevaa saatavilla olevaa tietoa. Lisäksi se voi auttaa ymmärtämään paremmin, miten ihmisen toiminta muuttaa tautimaisemia maailmanlaajuisesti.

**Tulos**

Taudinaiheuttajan, isännän ja ympäristön välinen vuorovaikutus ja tautien ilmaantuminen

**Esimerkki 1.6437**

Viime vuosikymmenen aikana matkailualan katastrofi- ja kriisinhallinnan teoria, kirjallisuus ja tutkimus ovat lisääntyneet nopeasti, mutta hyvin harvat empiiriset tutkimukset matkakohteiden toipumisesta ottavat huomioon kriisiä edeltävän kontekstin tai ulottuvat pidemmälle kuin vain tiettyyn kriisin katalysaattoriin ja sen jälkeiseen paluuseen "tavanomaiseen toimintaan". Pitkittäistapaustutkimuksena Balin saarikohde tarjoaa tietoa matkailukriisien haavoittuvuudesta erityisesti suhteessa suunnittelemattomaan kehitykseen ja isäntäyhteisön liialliseen riippuvuuteen matkailutuloista. Lisäksi kahdesta erillisestä kohdennetusta terrori-iskusta saareen saadut kokemukset paljastavat useita haasteita ja konkreettisia opetuksia matkakohteiden katastrofien hallintaan ja kriiseistä toipumiseen osallistuville sidosryhmille. Vaikka kuluttajien luottamuksen ja matkailijamäärien palautumista pidetään usein matkailun onnistuneen elpymisen indikaattoreina, laajemmassa katastrofien hallintaa käsittelevässä kirjallisuudessa suositellaan haavoittuvuuden ennakoivaa vähentämistä, joka perustuu kestävään kehitykseen ja kattavaan, integroituun katastrofiriskien vähentämiseen. j o u r n a l h o m e p a g e : h t t p : / / w w w . j o u r n a l s. e l s e v i e r . c o m / j o u r n a l -o f -h o sp i t a l i t ya n d -t o u r i s m -m a n a g e m e n t http://dx.

**Tulos**

Paluu paratiisiin: Matkailukriisin ja katastrofista toipumisen tutkiminen Balin saarella.

**Esimerkki 1.6438**

Taustaa Vertailimme lääketieteellisten naamarien ja N95-hengityssuojainten (testattujen ja ei-testattujen) tehokkuutta terveydenhuollon työntekijöillä. Menetelmät Talvella 2008 ⁄ 2009 tehtiin Pekingin 15 sairaalassa 1441 terveydenhuollon työntekijää käsittävä satunnaistettu kliininen klusteritutkimus (RCT). Osallistujat käyttivät maskia tai hengityssuojainta koko työvuoron ajan 4 viikon ajan. Tuloksiin kuuluivat kliininen hengitystiesairaus (CRI), influenssan kaltainen sairaus (ILI), laboratoriossa vahvistettu hengitystievirusinfektio ja influenssa. Vertailussa oli mukana 481 terveydenhuollon työntekijää yhdeksästä sairaalasta, jotka eivät käyttäneet maskia ⁄ hengityssuojainta. Tulokset CRI (3AE9 % vs. 6AE7 %), ILI (0AE3 % vs. 0AE6 %), laboratoriossa vahvistettu hengitystievirus (1AE4 % vs. 2AE6 %) ja influenssa (0AE3 % vs. 1 %) -infektioiden määrät olivat johdonmukaisesti alhaisemmat N95-ryhmässä verrattuna lääketieteellisiin naamareihin. Kun P-arvot mukautettiin klusteroitumisen perusteella, tarkoituksenmukaisuusanalyysissä ei-testatut N95-hengityssuojaimet suojasivat merkitsevästi paremmin CRI:ltä kuin lääketieteelliset naamarit, mutta mikään muu tulos ei ollut merkitsevä. Kaikkien lopputulosten määrä oli korkeampi mukavuusryhmässä, jossa ei ollut maskia, kuin interventioryhmissä. Tuloksissa ei ollut merkittävää eroa niiden N95-haarojen välillä, joissa oli testattu ja joissa ei ollut testattu sopivuutta. Sovitustestin epäonnistumisprosentti oli alhainen. Mahdollisista sekoittavista tekijöistä oikaistussa post hoc -analyysissä N95-naamarit ja sairaalataso olivat merkittäviä, mutta lääketieteelliset naamarit, rokotukset, käsienpesu ja korkean riskin toimenpiteet eivät.

**Tulos**

Satunnaistettu kliininen klusterikokeilu, jossa verrataan testattuja ja ei-testattuja N95-hengityssuojaimia lääketieteellisiin naamareihin hengitystievirusinfektioiden ehkäisemiseksi terveydenhuollon työntekijöillä.

**Esimerkki 1.6439**

Aerosolidynamiikan parempi ymmärtäminen on tärkeä askel henkilökohtaisen altistumisen arvioinnin parantamiseksi sisäympäristöissä. Vaikka hyvin sekoittuneen mallin oletusten rajoitukset tunnetaan hyvin, julkaistussa kirjallisuudessa on hyvin vähän tutkimustietoa altistumisarvioiden eroavaisuuksista gravitaatiovaikutukset huomioon ottavien numeeristen mallien ja hyvin sekoittuneen mallin välillä. Hiukkasten leviämisen ja henkilökohtaisen altistumisen simuloimiseksi kahden vyöhykkeen geometriassa on kehitetty uusi Euler-tyyppinen ajelehtimis- ja virtausmalli, jossa otetaan huomioon painovoiman aiheuttamasta laskeutumisesta ja diffuusiosta johtuva ajelehtimisnopeus. Numeerisen mallin validoimiseksi valmistettiin pienimuotoinen kammio. Ilmavirran ominaisuudet ja hiukkaspitoisuudet mitattiin vaihe-Doppler-anemometrillä. Sekä simuloidut ilmavirtaus- että pitoisuusprofiilit vastaavat hyvin kokeellisia tuloksia. Kokeellisesti havaittiin voimakas inhomogeeninen pitoisuus 10 mm:n aerosoleilla. Laskennallista mallia sovellettiin lisäksi yksinkertaisen hypoteettisen mutta realistisemman skenaarion tutkimiseen. Tavoitteena oli tutkia uuden mallin ja hyvin sekoittuneen mallin ennustamia altistumisen eri tasoja. Aerosolit jakautuvat aluksi tasaisesti yhdelle vyöhykkeelle, minkä jälkeen ne kulkeutuvat ja leviävät viereiselle vyöhykkeelle aukon kautta. Koska aerosolien ja kaasujen kulkeutumis- ja leviämisnopeuksissa on tulosten perusteella huomattava ero, hyvin sekoittunut malli pyrkii yliarvioimaan pitoisuuden lähdevyöhykkeellä ja aliarvioimaan pitoisuuden altistuvalla vyöhykkeellä. Tulokset ovat erittäin hyödyllisiä havainnollistamaan, että hyvin sekoittunutta olettamusta on sovellettava varovaisesti altistumisen arvioinnissa, koska tällaista ihanteellista olosuhdetta ei ehkä voida soveltaa karkeisiin hiukkasiin. r

**Tulos**

Kokeellinen ja numeerinen tutkimus hiukkasjakaumasta kahden vyöhykkeen kammiossa.

**Esimerkki 1.6440**

Fytosulfokiinit (PSK:t) ovat erittyviä, sulfatoituneita peptidihormoneja, jotka ovat peräisin suuremmista prepropeptidien esiasteista. Yhden esiasteen, AtPSK4:n, proteolyyttinen prosessointi osoitettiin pilkkomalla preproAtPSK4myc-siirtogeenituotetta AtPSK4-myc:ksi. ProAtPSK4:n pilkkoutuminen indusoitiin sijoittamalla juurikasvustot kudosviljelmään. ProAtPSK4:n prosessointi oli riippuvainen AtSBT1.1:stä, subtilisiinin kaltaisesta seriiniproteaasista, jota koodaa yksi Arabidopsiksen 56 subtilaasigeenistä. AtSBT1.1:tä koodaava geeni oli reguloitunut sen jälkeen, kun juurikasvustot oli siirretty kudosviljelmään, mikä viittaa siihen, että proAtPSK4:ää pilkkovan proteolyyttisen koneiston aktivoituminen on riippuvainen AtSBT1.1:n ilmentymisestä. Osoitimme myös, että affiniteettipuhdistettu AtSBT1.1 pilkkoo in vitro fluorogeenisen peptidin, joka edustaa proAtPSK4:n oletettua subtilaasin tunnistuskohtaa. Tunnistuskohdan peptidin läpi tehty alaniiniskannaus osoitti, että AtSBT1.1 on melko spesifinen AtPSK4:n esiasteelle. Näin ollen tämä peptidikasvutekijä, joka edistää kalluksen muodostumista viljelyssä, pilkkoutuu proteolyyttisesti esiasteestaan spesifisen kasvisubtilaasin avulla, jota koodaa geeni, joka on korkeasreguloitunut, kun juurikasvustot siirretään kudosviljelmiin.

**Tulos**

Kasvua edistävän peptidin esiasteproteiinin proteolyyttinen prosessointi subtilisiini-seriiniproteaasin avulla Arabidopsiksessa.

**Esimerkki 1.6441**

Keskushermoston (CNS) infektio subletaalisella neurotrooppisella koronaviruksella (JHMV) aiheuttaa voimakkaan tulehdusreaktion. CD4+- ja CD8+-T-solut ovat välttämättömiä infektioviruksen hallitsemiseksi, mutta kudosvaurioiden kustannuksella. T-solujen osajoukkojen osuuden ymmärtämisessä patogeneesissä on arvoitus, joka liittyy niiden erilaiseen migraatiomalliin BBB:n (veri-aivoeste) läpi. CD4+ T-solut kerääntyvät ohimenevästi perivaskulaariseen tilaan, kun taas CD8+ T-solut vaeltavat suoraan keskushermoston parenkyymiin. Koska MMP:t (matriksin metalloproteinaasit) helpottavat migraatiota glia limitansin läpi, perivaskulaarisissa manseteissa olevien CD4 + T-solujen TIMP -1:n (tissue inhibitor of MMPs) spesifinen ilmentyminen viittaa siihen, että TIMP-1 on vastuussa CD4 + T-solujen migraation jarruttamisesta CNS-parenkyymiin. Käyttämällä TIMP-1-puutteisia hiiriä nämä tiedot osoittavat, että CD4 + T-solujen kerääntyminen perivaskulaariseen tilaan lisääntyy pikemminkin kuin vähenee JHMV-infektion aikana. CD4+T-solujen perivaskulaarinen retentio ei vaikuttanut viruksen hallintaan, mutta taudin vaikeusaste laski ja siihen liittyi vähentynyt IFNγ:n (interferoni γ) tuotanto. Lisäksi CD4 + T-solujen vähentynyt rekrytoituminen TIMP-1-puutteisten hiirten CNS-parenkyymiin ei liittynyt heikentyneeseen T-soluja rekrytoivien kemokiinien tai MMP:n ilmentymiseen, eikä kompensaatiota muilla TIMP-molekyyleillä havaittu. Nämä tiedot viittaavat siihen, että TIMP-1:llä on MMP:stä riippumaton rooli CD4+T-solujen pääsyn säätelyssä keskushermoston parenkyymiin akuutin JHMV-enkefaliitin aikana. Avainsanat: CD4 T-solut, koronavirus, glia limitans, matriksimetalloproteinaasi, TIMP-1 r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r rr r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r rr r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r rr r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r r rr

**Tulos**

TIMP-1:n MMP:stä riippumaton rooli veri-aivoesteessä virusperäisen enkefalomyeliitin aikana.

**Esimerkki 1.6442**

Taustaa: Keuhkokuume on maailmanlaajuisesti yleisin lasten kuolinsyy, ja sen osuus kaikista alle 5-vuotiaiden lasten kuolemantapauksista on 15 prosenttia. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto vastasyntyneiden ja lasten keuhkokuumeen empiiristä antibioottihoitoa koskevasta näytöstä, ja siinä painotetaan julkaisuja, jotka on julkaistu edellisen, vuonna 2014 julkaistun WHO:n näyttöä koskevan yhteenvetoraportin julkaisemisen jälkeen. Menetelmät: Yhteisöperäisen keuhkokuumeen antibioottihoitoa koskevia järjestelmällisiä katsauksia ja meta-analyysejä etsittiin järjestelmällisesti 1. tammikuuta 2013 ja 10. marraskuuta 2016 välisenä aikana. Tulokset: Amoksisilliinin optimaalinen annostelusuositus on edelleen epäselvä, koska farmakologista ja kliinistä näyttöä on vähän. Seurannasta on vain vähän näyttöä siitä, käytetäänkö lasten CAP:n hoidossa WHO:n eri alueilla yleisimmin amoksisilliinia vai laajakirjoisempia antibiootteja (esim. kolmannen sukupolven kefalosporiineja). Tietoja kliinisestä tehosta pneumokokki-, stafylokokki- ja mykoplasma-taudin yhteydessä sekä eri ensilinjan ja vaiheittaisten vaihtoehtojen suhteellisesta osuudesta tällaisen resistenssin valintaan puuttuu. Päätelmät: Vaikeaa ja erittäin vaikeaa keuhkokuumetta sairastavien sairaalahoitoon otettujen lasten hoidon optimoimiseksi tarvitaan lisää käytännönläheisiä tutkimuksia.

**Tulos**

Antibioottien käyttö vastasyntyneiden ja lasten keuhkokuumeessa: WHO:n näyttöä koskeva katsaus

**Esimerkki 1.6443**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirus (SARS-CoV) ja SARSin kaltainen koronavirus ovat potentiaalinen uhka maailmanlaajuiselle terveydelle. SARS-potilaiden kliinisten hoitojen pitkäaikaisvaikutuksista ei kuitenkaan ole katsauksia. Tässä tutkimuksessa rekrytoitiin yhteensä 25 toipunutta SARS-potilasta 12 vuotta tartunnan jälkeen. Kliinisen kyselylomakkeen vastaukset ja tutkimuslöydökset osoittivat, että potilailla oli ollut erilaisia sairauksia, kuten keuhkojen alttius infektioille, kasvaimia, sydän- ja verisuonitauteja ja epänormaalia glukoosiaineenvaihduntaa. Verrattuna terveisiin kontrolleihin metabolomianalyysit havaitsivat merkittäviä eroja SARSista selvinneiden seerumin metabolioissa. Merkittävimmät aineenvaihdunnan häiriöt olivat toipuneiden SARS-potilaiden fosfatidylinositoli- ja lysofosfa-tidylinositolipitoisuuksien kokonaisvaltainen nousu, joka osui yksiin metyyliprednisolonin annon vaikutuksen kanssa, jota tutkittiin tarkemmin steroidihoitoa saaneilla muilla kuin SARS-potilailla, joilla oli vaikea keuhkokuume. Nämä tulokset viittasivat siihen, että metyyliprednisolonin suuriannoksiset pulssit saattavat aiheuttaa pitkäaikaisia systeemisiä vaurioita, joihin liittyy seerumin aineenvaihdunnan muutoksia. Tämä tutkimus antoi tietoa koronaviruksen aiheuttamien patologioiden paremmasta ymmärtämisestä, mikä saattaa mahdollistaa kliinisten hoitojen optimoinnin edelleen. Vuosina 2002-2003 koronaviruksen (SARS-CoV) aiheuttama vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS) vaikutti yli 30 maassa viidellä mantereella. Pian sen jälkeen HCoV-NL63 tunnistettiin seitsemän kuukauden ikäisestä lapsesta, jolla oli keuhkoputkentulehdus ja sidekalvotulehdus vuonna 2004 1 , ja sen jälkeen HCoV-HKU1 vuonna 2005 2 . Myöhemmin Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) levisi nopeasti maailmanlaajuisesti ja aiheutti jopa 30 prosentin kuolemantapaukset 3 . Useissa raporteissa on viime aikoina osoitettu SARSin kaltaisen koronaviruksen olemassaolo, mikä osoittaa, että koronaviruksiin liittyvillä hengitystieinfektioilla on edelleen merkittävä epidemiallinen potentiaali 4-6 . Sen vuoksi hoitojen standardointia tarvitaan edelleen kiireellisesti, jotta voidaan kehittää tehokkaampia toimenpidestrategioita koronaviruksen aiheuttamia tauteja varten. SARS-CoV:n äkillisen puhkeamisen jälkeen toteutettuihin kliinisiin hoitoihin sisältyi empiirisiä ja kokeellisia hoitoja, vaikka niiden tehokkuus ja sivuvaikutukset ovat edelleen kiistanalaisia. Antiviraalisia lääkkeitä, kuten ribaviriinia, lopinaviiria ja ritonaviiria, määrättiin pian sen jälkeen, kun SARS-CoV tunnistettiin aiheuttajaksi 7, 8 . Myös tyypin I interferonia käytettiin sen SARS-CoV:n replikaatiota estävän vaikutuksen vuoksi 9 . Lisäksi SARSin hoidossa on raportoitu käytettävän toipilasplasmaa tai immunoglobuliinia 10 . SARS-potilaille annettiin useammin kortikosteroideja, kuten metyyliprednisolonia yksinään tai yhdessä viruslääkkeiden kanssa, immunopatologisten keuhkovaurioiden estämiseksi 11 , vaikka steroidien antamisen ajoitus ja annostelu olivatkin kiistanalaisia 12, 13 . Suurten metyyliprednisoloniannosten antamiseen on liittynyt psyykkisiä häiriöitä, akuuttia myopatiaa ja osteonekroosia [14] [15] [16] . Kun otetaan huomioon, että nämä häiriöt etenevät yleensä krooniseksi, ehdotamme, että SARSista selvinneet saattavat kärsiä aineenvaihdunnan häiriöistä, Julkaistu: xx xx xxxx OPEN www.nature.com/scientificreports/ 2 SCIeNTIfIC REPORTS | 7: 9110 |

**Tulos**

Muuttunut rasva-aineenvaihdunta toipuneilla SARS-potilailla kaksitoista vuotta infektion jälkeen OPEN

**Esimerkki 1.6444**

Koronavirnit (CV) tarttuvat useisiin kotieläimiin, siipikarjaan ja seuraeläimiin. Ne kuuluvat ainakin viiteen antigeeniryhmään. CV:t aiheuttavat paikallisia infektioita hengitysteissä ja/tai suolistossa, lukuun ottamatta kissan tarttuvaa vatsakalvotulehdusta (FIPV) ja hemagglutinoivaa enkefalomyeliittiä (HEV), jotka aiheuttavat systeemisiä infektioita. Enteropatogeeniset CV:t infektoivat kylkiluiden enterosyyttejä, mikä johtaa kylkiluiden surkastumiseen ja malabsorptioripuliin. Useat CV:t (naudan CV-BCV, sian hengitystievirus-PRCV, tarttuva keuhkoputkentulehdusvirusIBV) aiheuttavat hengitystiesairauksia. Nykyiset todisteet viittaavat siihen, että suoja suolisto- ja hengitystieinfektioita vastaan välittyy passiivisen tai aktiivisen immuniteetin avulla CV:n ensisijaisessa replikaatiokohdassa. Passiivisen immuniteetin aikaansaamiseksi äidin rokottamisessa käytetään muun muassa inaktivoituja ja muunnettuja eläviä virusrokotteita. Modifioituja eläviä viruksia ja Ts-mutanttivirusta (FIPV) käytetään myös suun kautta tai intranasaalisesti annettavina rokotteina aktiivisen limakalvoimmuniteetin aikaansaamiseksi. Näiden rokotteiden onnistumista kentällä haittaavat usein monet mahdolliset ongelmat. Koronavirukset ovat pallomaisia, kuorellisia viruksia, joiden halkaisija on 80-160 nm ja jotka sisältävät positiivisjuosteisen RNA-genomin. Niillä on näkyvät pinnan piikit, ja joillakin lajeilla on pienempien pinnan ulokkeiden muodostama hapsu, jonka uskotaan olevan hemagglutiniini (HE). Koronaviruksilla on 3-4 rakenneproteiinia: piikkiglykoproteiini (S) ( 150-200 kDa), integraalikalvoglykoproteiini (M; 20-30 kDa) ja nukleokapsidin fosfoproteiini (N; 43-50 kDa). Eräillä CV:n alaryhmillä (BCV, HEV, Turkey CV) on virionin pinnalla kolmas glykoproteiini, HE (60-65 kDa). Nämä proteiinit voidaan kvamitoida käyttämällä ELISA-testissä yhdistettyjä monoklonaalisia vasta-aineita (mAb), jotka kohdistuvat kunkin proteiinin eri epitooppeihin. Useimmissa tutkimuksissa on keskitytty S-proteiiniin CV-rokotteiden antigeeniehdokkaana, koska se indusoi virusta neutraloivia (VN) vasta-aineita. HE-proteiini kuitenkin stimuloi VN- ja HE-inhibiittorivasta-aineiden tuotantoa, ja M-proteiini indusoi vasta-aineita, jotka neutraloivat viruksen komplementin läsnä ollessa. Yritykset korreloida in vitro VN-vasta-aineiden aktiivisuutta in vivo -suojauksen kanssa ovat osoittaneet, että VN-mAb:n passiivinen siirto S- tai HE-proteiiniin antoi passiivisen suojan CV-haastetta vastaan joissakin tutkimuksissa, mutta ei toisissa. Lisätutkimukset ovat osoittaneet muiden CV-proteiinien mahdollisen roolin immuniteetissa. Tarttuvan gastroenteriitin (TGEV) M-proteiinin mAb:tä koskevat tutkimukset ovat antaneet näyttöä M-proteiinin suorasta roolista aIFN:n induktiossa sikojen veren leukosyyteissä. Tämän ilmiön mahdollinen merkitys TGEV:n vastaiselle immuniteetille on epäselvä. Vastaavasti IBV:tä koskevat tutkimukset ovat osoittaneet, että T-solujen tunnistamat determinantit sijaitsevat N-proteiinissa, ja nämä determinantit voivat olla yhteisiä heterologisten IBV-kantojen välillä, mikä johtaa ristikkäissuojan induktioon. Näin ollen N-proteiinin epitoopit voivat olla tärkeitä IBV:n induktiolle.

**Tulos**

Coronaviruksen immunogeenit

**Esimerkki 1.6445**

Sytokiinien ja kemokiinien monimutkainen vuorovaikutus säätelee synnynnäistä ja adaptiivista immuunivastetta patogeenejä vastaan; erityisesti sytokiinien ja kemokiinien ilmentyminen ohjaa immuunijärjestelmän efektorisolujen aktivoitumista ja niiden rekrytoitumista kudosinfektiokohtiin. Tässä yhteydessä rokotimme koiria Leishmania braziliensis -antigeeneillä ja saponiinilla (LBSap-rokote) sekä rokotteen komponenteilla, ja sen jälkeen arvioimme reaaliaikaisella PCR:llä sytokiinien (IL-12, IFN-␥, TNF-␣, IL-4, IL-13, TGF-␤ ja IL-10) ja kemokiinien (CCL2, CCL4, CCL5, CCL21 ja CXCL8) mRNA:iden ihoekspression kinetiikkaa 1, 12, 24 ja 48 tunnin kuluttua inokulaatiosta. Arvioimme myös sytokiinien ja kemokiinien ilmentymisen ja ihosolukkuuden välistä korrelaatiota. LBSap-rokote indusoi korkean IL-12- ja IL-10-ekspression 12 ja 24 tunnin kuluttua. Lisäksi havaitsimme positiivisia korrelaatioita IL-12:n ja IL-13:n ilmentymisen, IFN-␥:n ja IL-13:n ilmentymisen sekä IL-13:n ja TGF-␤:n ilmentymisen välillä, mikä viittaa siihen, että sekoittunut sytokiinimikroympäristö kehittyi rokotteen immunisoinnin jälkeen. Pelkällä saponiiniadjuvantilla rokottaminen aiheutti samanlaisen kemokiinien ja sytokiinien ilmentymisprofiilin kuin LBSap-ryhmässä havaittiin. LBSap-rokote sääteli CCL4- ja CXCL8-kemokiinien ilmentymistä. CCL5:n ilmentyminen oli aluksi suurinta LBSap-ryhmässä, mutta 48 tunnin kuluttua ilmentyminen oli suurinta LB-ryhmässä. Tämän koiramallin avulla saadut tiedot rokotteen immuunivasteen kinetiikasta auttavat selvittämään Leishmania-infektiolta suojaavan vasteen mekanismeja ja tekijöitä ja auttavat luomaan rationaalisia lähestymistapoja rokotteiden kehittämiseksi koirien viskeraalista leishmaniaasiaa vastaan.

**Tulos**

LBSap-rokotteella immunisoidut koirat osoittivat korkeita IL-12- ja IL-10-sytokiinien sekä CCL4-, CCL5- ja CXCL8-kemokiinien pitoisuuksia dermiksessä.

**Esimerkki 1.6446**

Rottien koronavirukset (RCV) tarttuvat laboratoriorotteihin ja häiritsevät biolääketieteellisiä tutkimustuloksia. Tähän mennessä kehitetyt in vitro -järjestelmät ovat rajoittaneet RCV-viruksia koskevan tietämyksen lisääntymistä, koska ne eivät ole mahdollistaneet plakkikloonattujen viruskantojen tuottamista, RCV-virusten luotettavaa eristämistä rottien kudoksista tai kaikkien isolaattien korkeatitteristen kantojen kasvattamista. Koska alle 20 prosenttia L2(Percy)-soluista infektoitui, tuotettiin alalinjoja, jotka valittiin RCV:iden maksimaalisen kasvun varmistamiseksi. Seulomalla 238 solun alalinjaa saatiin L2p. 176 soluja, jotka olivat erittäin herkkiä kaikille testatuille RCV:ille; herkkyys kuitenkin heikkeni 30 in vitro -passagoinnin jälkeen. Vähän läpikäydyt L2p. 176-soluja käytettiin viruksen eristämiseen luonnollisista taudinpurkauksista ja yksittäisten RCV-plakkien kasvattamiseen korkeasti titrattuihin kantoihin. Kuudesta RCV-isolaatista saadut proteiinit immunoblottailtiin käyttämällä polyklonaalisia rotan ja hiiren vasta-aineita sialodakryoadeniittivirusta vastaan sekä polyklonaalisia monospesifisiä kanin ja vuohen vasta-aineita hiiren hepatiittiviruksen (MHV) peplomeri- (S) ja nukleokapsidiproteiineja (N) vastaan. Kahden prototyyppisen, yhden japanilaisen ja kolmen villityyppisen RCV:n proteiineja tutkittiin, ja niiden todettiin olevan samankaltaisia kuin MHV:n proteiinien, vaikka proteiinien tarkat koot ja proteiinimuotojen väliset suhteet olivat useimmilla RCV-isolaateilla ainutlaatuisia. Tässä tutkimuksessa raportoidaan sellaisen jatkuvan solulinjan kehittämisestä, joka tukee luotettavasti RCV:tä, mikä avaa mahdollisuuden näiden taudinaiheuttajien biologian in vivo -tutkimuksiin. Ensimmäisenä askeleena RCV:iden karakterisoinnissa olemme osoittaneet, että RCV-proteiinit ovat hyvin samankaltaisia kuin MHV:n proteiinit.

**Tulos**

Hiiren fibroblastien kloonatussa alalinjassa (L2p.176-solut) kasvatettujen rotan koronaviruksen prototyyppi- ja villityyppi-isolaattien kasvuominaisuudet ja proteiiniprofiilit.

**Esimerkki 1.6447**

Löytyi yksi poikkileikkaustutkimus, jossa kuvattiin 24:n Bartonella vinsonii ssp. berkhoffi -bakteerille seropositiivisen koiran kliinis-patologisia poikkeavuuksia. Kolme testatuista neljästä aneemisesta koirasta oli Coombs-positiivisia, joista yhden IME-arvo oli 3,81. Bartonella spp. aiheuttaa IMHA:ta vähän. Koska tämän organismin patogeneesin laajuus on vasta kehittymässä, tarvitaan lisää prospektiivisia, kontrolloituja tutkimuksia tämän kysymyksen selvittämiseksi. Borrelia spp. Eräässä retrospektiivisessä tutkimuksessa kuvattiin yksi koira, jolla oli IMHA ja joka oli seropositiivinen B. burgdorferin, A. phagocytophiliumin ja R. rickettsii -bakteerin suhteen. 2 Koska kyseessä oli samanaikainen altistuminen, näyttöä B. burgdorferista IMHA:n aiheuttajana ei voitu arvioida. Erillisessä tutkimuksessa todettiin Coombsin positiivinen anemia koiralla, jolla oli Borrelia turicatae -spirokeeminen, 3 jolloin IME-arvo oli 2,37. Yksittäisten tapausraporttien perusteella yleinen näyttö siitä, että Borrelia spp. infektio aiheuttaa IMHA:ta, on vähäistä. Kun otetaan huomioon, että koirien Borrelia-infektioon liittyy muita immuunivälitteisiä sairauksia (erityisesti polyartriittiä), 4 tulevia tulevaisuudennäkymiä,

**Tulos**

Täydentävät tiedot 5: Näyttöä koskevat selostukset muista koirien tartunnoista Vektorivälitteiset taudinaiheuttajat

**Esimerkki 1.6448**

Fageilla esitettyjä peptidikirjastoja käytettiin kartoittamaan immunologisesti relevantteja epitooppeja neurotrooppisen hiiren koronaviruksen (MHV-A59) pintaglykoproteiinista (S). Kolmea in vitro virusta neutralisoivaa ja in vivo suojaavaa mAb:tä joko S-glykoproteiinin jatkuvia tai epäjatkuvia epitooppeja vastaan käytettiin seulomaan 12 erilaista peptidikirjastoa, jotka oli ilmaistu fd-bakteriofagin pVIII-haaraproteiinilla. Tunnistettiin konsensussekvenssejä, jotka vastasivat S-glykoproteiinin lyhyitä sekvenssejä. Tiukasti sitoutuvan, mAb:n avulla valitun peptidin sekvenssi viittasi epäjatkuvan epitoopin sijaintiin N-terminaalisen S1-alayksikön sisällä. Useita tiukasti sitoutuvia faageja monistettiin ja käytettiin suoraan immunogeeneinä BALB/c- ja C57BL/6-hiirillä. C57BL/6-hiirten osittainen suojaus tappavaa akuuttia virusinfektiota vastaan saatiin aikaan lineaarista epitooppia näyttävällä faagivalmisteella. Suojaus korreloi sellaisten spesifisten virusvasta-aineiden riittävien tasojen kanssa, jotka tunnistivat saman immunodominantin domainin ja 13-mer peptidin, joka sijaitsee C-terminaalisessa S2-alayksikössä, kuin valittava mAb. Näin ollen fageilla esitettyjen peptidien suora käyttö suojaavien antiviraalisten immuunivasteiden arvioimiseksi täydentää niiden käyttöä vasta-aineita sitovien epitooppien karakterisoimiseksi. Tämä on ensimmäinen arviointi suojaavasta immunisaatiosta, jonka on aiheuttanut mAb-selektiiviset faagin näyttämät peptidit.

**Tulos**

Hiiren koronaviruksen neutralointi-epitooppien karakterisointi fageilla esitetyillä peptideillä.

**Esimerkki 1.6449**

Vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS) on SARS-CoV-koronaviruksen aiheuttama erittäin tappava uusi tauti. SARS:lle tarvittiin uusia kuolemaan johtavia eläinmalleja viruslääkkeiden tutkimuksen helpottamiseksi. Mukautimme ja luonnehdimme uuden SARS-CoV-kannan (kanta v2163), joka oli erittäin tappava 5-6 viikon ikäisillä BALB/c-hiirillä. Siinä oli yhdeksän mutaatiota, jotka vaikuttivat 10 aminohappojäännökseen. Kanta v2163 lisäsi IL-1α:n, IL-6:n, MIP-1α:n, MCP-1:n ja RANTES:n määrää hiirissä, ja korkea IL-6:n ilmentyminen korreloi kuolleisuuden kanssa. Infektio jäljitteli pitkälti ihmisen tautia, mutta keuhkojen patologiasta puuttui hyaliinikalvon muodostuminen. SARS-CoV:n replikaation tunnetuilla inhibiittoreilla osoitettiin in vitro teho v2163:a vastaan. v2163-infektoituneissa hiirissä Ampligen™ suojasi täysin, nokkoslektiini (UDA) suojasi osittain, ribaviriini oli kiistanalainen ja mahdollisesti pahensi tautia, ja EP128533 oli inaktiivinen. Ribaviriini, UDA ja Ampligen™ vähensivät IL-6:n ilmentymistä. Kanta v2163 tarjosi arvokkaan mallin anti-SARS-tutkimukseen.

**Tulos**

SARS-CoV:n uusi hiirikanta tappavana mallina viruslääkkeiden arvioimiseksi in vitro ja in vivo.

**Esimerkki 1.6450**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli valmistaa poly(laktidi-ko-glykolidi) (PLGA) -nanohiukkasia, jotka on ladattu 18-β-glykyrrhetiinihapolla (GLA) ja joilla on asianmukaiset fysikaalis-kemialliset ominaisuudet ja antimikrobinen aktiivisuus. GLA:lla ladattuja PLGA-nanohiukkasia valmistettiin eri lääke-polymeerisuhteilla, asetonipitoisuuksilla ja sonikointiajoilla, ja kehitettyjen nanohiukkasten antibakteerista aktiivisuutta tutkittiin erilaisia gramnegatiivisia ja grampositiivisia bakteereja vastaan. Antibakteerista vaikutusta tutkittiin sarjalaimennustekniikalla nanohiukkasten pienimmän inhiboivan pitoisuuden määrittämiseksi. Tulokset osoittivat, että edellä mainitut parametrit vaikuttivat nanohiukkasten fysikaalis-kemiallisiin ominaisuuksiin, jolloin saavutettiin 175-212 nm:n kokoisia nanohiukkasia. Suurin kapselointitehokkuus (53,2 ± 2,4 %) saavutettiin, kun lääkkeen ja polymeerin suhde oli 1:4. Kehitettyjen nanohiukkasten zeta-potentiaali oli melko negatiivinen (-11 ± 1,5). Nanopartikkelien in vitro -vapautumisprofiili osoitti kahta vaihetta: alkuvaiheessa vapautui 10 tunnin ajan, minkä jälkeen vapautuminen oli hidasta loppuun asti. Antimikrobiset tulokset osoittivat, että nanohiukkaset olivat puhdasta GLA:ta tehokkaampia P. aeuroginosaa, S. aureusta ja S. epidermidistä vastaan. GLA:lla ladattujen nanohiukkasten antibakteerisen aktiivisuuden paraneminen puhtaaseen GLA:han verrattuna voi liittyä nanohiukkasten suurempaan tunkeutumiseen infektoituneisiin soluihin ja GLA:n suurempaan määrään sen vaikutuskohteessa. Tässä yhteydessä osoitettiin, että GLA:lla ladatut PLGA-nanohiukkaset osoittivat sopivia fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia sekä parempaa antimikrobista vaikutusta.

**Tulos**

18-β-glycyrrhetiinihappoa sisältävien PLGA-nanohiukkasten valmistaminen ja antibakteerisen aktiivisuuden arviointi

**Esimerkki 1.6451**

Taustaa: Virusten rikastamiseen ja genomin monistamiseen on luotu lukuisia protokollia. Virusgenomien suorassa tunnistamisessa kliinisistä näytteistä seuraavan sukupolven sekvensoinnilla (NGS) on kuitenkin edelleen haasteita. Koska valittu virusnukleiinihappojen uuttomenetelmä voi määrittää NGS:n herkkyyden ja luotettavuuden, on edelleen arvokasta arvioida eri uuttosarjojen uuttotehokkuutta suoraan kliinisten näytteiden avulla. Tulokset: Tässä tutkimuksessa suoritimme qRT-PCR- ja virusten metagenomianalyysin neljän yleisesti käytetyn Qiagenin uuttosarjan uuttotehokkuudesta: QIAamp Viral RNA Mini Kit (VRMK), QIAamp MinElute Virus Spin Kit (MVSK), RNeasy Mini Kit (RMK) ja RNeasy Plus Micro Kit (RPMK) käyttäen sekalaista hengitysteiden kliinistä näytettä ilman esikäsittelyä. Näyte sisälsi adenoviruksen (ADV), influenssavirus A:n (Flu A), ihmisen parainfluenssaviruksen 3 (PIV3), ihmisen koronaviruksen OC43 (OC43) ja ihmisen metapneumoviruksen (HMPV). Virusuutteiden määrä ja laatu poikkesivat merkittävästi toisistaan näiden sarjojen välillä. ADV:n ja OC43:n korkeimmat kynnyssykliarvot (Ct-arvot) saatiin käyttämällä RPMK:ta. MVSK:lla saatiin alhaisimmat Ct-arvot ADV:lle ja PIV3:lle. RMK:lla oli alhaisin HMPV:n ja PIV3:n havaittavuus. RPMK:lla havaittiin tehokkain NGS-tietojen osuus, 67,47 %. Kolmen muun sarjan NGS-tietojen tehokkuus vaihteli 12,1-26,79 prosentin välillä. Tärkeintä on, että RPMK:lla saatiin muihin kolmeen muuhun kittiin verrattuna suurin osuus muita kuin isäntäkokeen lukemia. MVSK suoriutui parhaiten ADV:n uuttamisessa alhaisimmalla Ct-arvolla 20,5, kun taas RMK osoitti parhaan uuttotehokkuuden NGS-analyysissä. Päätelmät: Virusnukleiinihapon uuttotehokkuuden arviointi eroaa NGS- ja qRT-PCR-analyysin välillä. RPMK soveltui parhaiten viruksen RNA:n metagenomiseen analyysiin ja mahdollisti RNA-virusgenomin herkemmän tunnistamisen hengitysteiden kliinisistä näytteistä. Lisäksi viruksen RNA:n uuttokitit olivat sovellettavissa myös DNA-viruksen metagenomiseen analyysiin. Tuloksemme korostivat nukleiinihappouutospakkauksen valinnan merkitystä, sillä sillä on suuri vaikutus virusten lukemien saantoon ja määrään NGS-analyysillä. Siksi uuttomenetelmän valinta tietylle viruspatogeenille on harkittava huolellisesti.

**Tulos**

Virusten nukleiinihappojen uuttomenetelmien metagenominen analyysi hengitysteiden kliinisistä näytteistä.

**Esimerkki 1.6452**

Ajatus siitä, että ihmisen bocavirusinfektiolla (hBoV) on mahdollisesti merkitystä gastroenteriitin synnyssä, on esitetty, koska gastrointestinaaliset oireet ilmenevät usein. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia hBoV:n esiintyvyyttä gastroenteriittiä sairastavilla lapsilla. Tutkimme etiologisia tekijöitä 962:lla gastroenteriitin vuoksi sairaalahoitoon joutuneella lapsella. Viruksen etiologiset aiheuttajat osoitettiin entsyymisidonnaisella immunosorbenttimäärityksellä tai käänteistranskriptaasipolymeraasiketjureaktiolla. Viruksen aiheuttama aiheuttaja löytyi 44,4 prosentilta tutkimuspopulaatiosta: rotavirus, norovirus, adenovirus ja astrovirus havaittiin vastaavasti 25,7 prosentilla, 13,7 prosentilla, 3,0 prosentilla ja 1,1 prosentilla tutkimuspopulaatiosta; hBoV havaittiin 0,8 prosentilla, mikä viittaa siihen, että sillä saattaa olla vähäinen merkitys gastroenteriitissä. Akuutti gastroenteriitti on yksi yleisimmistä lasten sairaalahoitoa vaativista sairauksista. Ryhmän A rotavirus, norovirus, suolistoperäinen adenovirus ja astrovirus ovat tunnetusti tärkeitä lasten gastroenteriitin virusetiologisia aiheuttajia, ja niiden havaitseminen johtuu parantuneiden diagnostisten menetelmien käytöstä [1]. Etiologiset aiheuttajat jäävät kuitenkin edelleen diagnosoimatta yli puolella gastroenteriittipotilaista diagnostiikkatekniikan kehittymisestä huolimatta. Vuonna 2005 ihmisen bocavirus (hBoV) tunnistettiin lapsilla, joilla oli akuutti hengitystieinfektio [2] . Vaikka hBoV:tä on havaittu usein lapsilla, joilla on ylempien hengitysteiden infektio, alempien hengitysteiden infektio (LRTI) ja astman pahenemisvaihe, hBoV:n kliininen kirjo ja sen merkitys näissä infektioissa ei ole varma [3] [4] [5] [6] . Aiemmissa tutkimuksissa hBoV:n on raportoitu liittyvän ruoansulatuskanavan oireisiin 11-29 prosentilla potilaista [7-

**Tulos**

Ihmisen bocaviruksen toteaminen akuutin gastroenteriitin vuoksi sairaalahoitoon otetuilla lapsilla

**Esimerkki 1.6453**

Taustaa: PEDV-virus levisi nopeasti koko maassa vuonna 2013 tapahtuneen ilmaantumisensa jälkeen, mikä johtui osittain saastuneista karjan perävaunuista. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli testata kiihdytetyn vetyperoksidin (AHP) desinfiointiaineen tehoa PEDV:n inaktivoimiseksi sikojen ulosteissa metallipinnoilla pakkasolosuhteissa. Koeyksikkönä oli yksi 15,24 X 15,24 X 2,54 cm:n kokoinen alumiinikuponki, joka oli saastunut sian ulosteella ja joka oli satunnaisesti sovitettu yhteen sikaan. Arvioitiin kahdeksan käsittelyryhmää, jotka edustivat kahta AHP:n pitoisuutta (1:16 ja 1:32) 10-prosenttisessa propyleeniglykoliliuoksessa, kahta kontaktiaikaa -10 °C:n pakastimessa (40 min ja 60 min) ja kahta ulostekontaminaatiotasoa (5 ml ja 10 ml) negatiivisten ja positiivisten kontrolliryhmien lisäksi. Neljääkymmentä kolmen viikon ikäistä sikaa, joihin inokuloitiin intragastrisesti kuponkien sisältö käsittelyn jälkeen, käytettiin biotestinä PEDV:n tartuttavuuden määrittämiseksi käsittelyn jälkeen. Tarttuvuus määritettiin osoittamalla virus nukleokapsidi (N)-geeniin perustuvalla kvantitatiivisella reaaliaikaisella käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiolla (RT-qPCR) peräsuolen pyyhkäisynäytteistä, jotka kerättiin rokotetuista sioista kolmena ja seitsemäntenä päivänä rokottamisen jälkeen. Tulokset: Kaikki negatiivisen kontrollin kupongeista otetut käsittelyn jälkeiset pyyhkäisynäytteet olivat RT-qPCR:n avulla negatiivisia PEDV:n suhteen. Kaikki AHP-desinfiointiaineella käsiteltyjen ryhmien ja positiivisen kontrolliryhmän kupongeista kerätyt käsittelyn jälkeiset pyyhkäisynäytteet olivat RT-qPCR:n avulla positiivisia PEDV:n suhteen. Biotestissä negatiivisen kontrollin (0 4:stä) tai AHP-desinfiointikäsittelyryhmän (0 32:sta) sikojen peräsuolen pyyhkäisynäytteet eivät olleet positiivisia PEDV:n suhteen. Positiivisen kontrolliryhmän kaikkien sikojen (4 sikaa 4:stä) rektaaliset pyyhkäisynäytteet olivat positiivisia PEDV:lle RT-qPCR:n avulla. Päätelmät: Tämän tutkimuksen olosuhteissa AHP-desinfiointiaineen laimennokset 1:16 ja 1:32 inaktivoivat onnistuneesti PEDV:n sikojen ulosteissa metallipinnoilla, kun sitä käytettiin -10 °C:ssa 40 tai 60 minuutin kosketusaikana. Tämä tutkimus viittaa myös siihen, että positiivinen RT-qPCR-tulos PEDV:n osalta ympäristönäytteessä olisi odotettavissa, kun AHP-desinfiointiainetta käytetään pakkasolosuhteissa, mutta se ei välttämättä osoita, että tartuntavaarallinen annos PEDV:tä on jäljellä desinfioinnin jälkeen.

**Tulos**

Arviointi nopeutetun vetyperoksididesinfiointiaineen käytöstä sikojen ulosteiden sian epidemian ripuliviruksen inaktivoimiseksi alumiinipinnoilla pakkasolosuhteissa.

**Esimerkki 1.6454**

tauti. Vuodesta 2012 lähtien uhrit ovat tulleet pääasiassa Lähi-idän maista tai satunnaisesti joiltakin muilta maantieteellisiltä alueilta, joille Lähi-idässä vierailleet matkustajat ovat levittäneet siemeniä. Tällainen matkustamisen kautta tapahtuva kulkeutuminen johti toukokuussa 2015 Koreassa MERS-CoV-epidemian puhkeamiseen, joka aiheutti yli 140 vahvistettua ihmistapausta alle kuukaudessa. Käyttämällä 70 MERS-CoV-isolaatin täydellistä genomisekvenssiä, mukaan lukien korealaisten ja kiinalaisten isolaattien tuoreimmat sekvenssit, rekonstruoimme koko genomin ja yksittäisten proteiineja koodaavien alueiden fylogeneettiset suhteet. Korealainen MERS-CoV-kanta klusteroitui aiemmin määritettyyn Hafr-Al-Batin-1\_2013-klaadiin yhdessä kahden Saudi-Arabiasta vuonna 2015 otetun näytteen ja yhden kiinalaisen kannan kanssa. Vaikka nämä neljä kantaa pysyivät monofyleettisinä koko proteiineja koodaavalla alueella, tämä klaadi osoitti erilaisia fylogeneettisiä suhteita koko genomissa, mikä viittaa yhteiseen ainutlaatuiseen rekombinaatiomalliin, joka poikkeaa aiemmin raportoiduista oletetuista rekombinaatiokannoista. Tuloksemme viittaavat siihen, että korealaisten ja niihin liittyvien MERS-CoV-kantojen viimeaikaiselle esi-isälle on ominaista ainutlaatuinen mosaiikkinen genomikuvio, joka eroaa muista oletetuista rekombinaatiokannoista. MERS kuvattiin ensimmäisen kerran vuonna 2012 kuolemaan johtaneissa ihmistapauksissa, jotka aiheutti yksijuosteinen RNA-koronavirus 1-3 . Sittemmin on vahvistettu yli 1 000 MERS-CoV-infektiotapausta, joiden arvioitu kuolleisuusaste (CFR) on 39,5 prosenttia 4 , ja iäkkäät ja heikentyneen immuunijärjestelmän omaavat potilaat näyttävät sairastuneen vakavimmin 5 . Akuutti hengitysvaikeus ja keuhkokuume ovat MERS-CoV-infektion tärkeimmät kliiniset oireet 6 . Joissakin tapauksissa on raportoitu myös ruoansulatuskanavan oireita ja munuaisten vajaatoimintaa 5, 7 . Dromedaarikamelia pidetään väli-isäntänä lepakoista ihmisiin siirtyvissä MERS-zoonoosiketjuissa 8, 9 . Aiemmin julkaistussa tutkimuksessa MERS-CoV:n leviäminen näytti vastaavan eläinten reservoaarien ja tartunnan saaneiden ihmisten välisiä siirtoreittejä 10 . Sitä ei kuitenkaan voitu helposti toistaa kamelien tartuntatutkimuksessa 11 . Tästä ristiriidasta huolimatta MERS-CoV:n leviäminen oli

**Tulos**

Scientific RepoRts | 6:18825 | Korea. 12 MERS-työryhmä

**Esimerkki 1.6455**

Toimivien nidovirusten replikaatio-transkriptiokompleksien tuottaminen edellyttää viruksen koodaamien proteaasien laajaa proteolyyttistä prosessointia. Tässä tutkimuksessa karakterisoimme äskettäin perustettuun Bafinivirus-sukuun (järjestys Nidovirales, Coronaviridae-heimo, Torovirinae-alaperhe) kuuluvan White bream -viruksen (WBV) tyyppilajin viruksen pääproteaasin (M pro ). Vertaileva sekvenssianalyysi ja mutageneesitiedot vahvistivat, että WBV:n M pro on pikornaviruksen 3C:n kaltainen seriiniproteaasi, joka käyttää Ser-His-Asp-katalyyttistä triadia, joka on upotettu ennustettuun kaksi-␤-tynnyriseen poimuttumaan, jota C-pääte on jatkettu kolmannella domeenilla. Bakteerien ilmentämä WBV M pro vapautui autokatalyyttisesti rinnakkaisista sekvensseistä ja pystyi välittämään proteolyyttistä prosessointia trans-ulkoisesti. Autoproteolyyttisten prosessointituotteiden N-terminaalisen sekvensoinnin avulla tunnistimme alustavasti Gln2(Ala, Thr):n substraatin konsensussekvenssiksi. Mutageneesitiedot antoivat viitteitä siitä, että kaksi konservoitunutta His- ja Thr-jäämää ovat osa entsyymin substraatin sitoutumistaskun S1-alakohtaa. Mielenkiintoista on, että bakteerien ekspressiojärjestelmässä havaittiin kaksi N-proksimaalista ja kaksi C-proksimaalista autoprosessointikohdetta. Kahden eri N-proksimaalisen ja yhden C-proksimaalisen prosessointikohdan prosessoinnista johtuvan M pro -muodon havaitseminen WBV-infektoituneissa epithelioma papulosum cyprini -soluissa vahvisti heterologisissa ilmentymisjärjestelmissä saatujen biokemiallisten tietojen biologisen merkityksen. Tietojemme mukaan vaihtoehtoisten M pro -autoprosessointikohtien käyttöä ei ole aiemmin kuvattu muiden nidovirusten M pro -domainien osalta. Tässä tutkimuksessa esitetyt tiedot tukevat entisestään aiempaa päätelmäämme, jonka mukaan bafinivirukset edustavat erillistä virusryhmää, joka on eronnut merkittävästi muista Nidovirales-järjestyksen fylogeneettisistä klustereista. Soluviljely ja viruksen lisääminen. Epithelioma papulosum cyprini (EPC) -solut (RIE173) saatiin Friedrich-Loeffler-Institutin (Greifswald-Insel Riems, Saksa) soluviljelykokoelmasta. Niitä kasvatettiin minimaalisessa välttämättömässä väliaineessa, jossa oli Earlen suoloja, 25 mM HEPES, GlutaMAX I (Invitrogen, luettelonumero 42360-024), jota oli täydennetty 1 mM natriumpyruvaatilla (Invitrogen, luettelonumero 11360-039) ja 10 %:lla naudan sikiöseerumilla (PAA Laboratories) 27 °C:ssa 5 %:n CO 2 -ilmakehässä. WBV-isolaattia DF24/00 (23) lisättiin EPC-soluissa 20 °C:ssa. Ekspressioplasmidien rakentaminen ja mutageneesi. Plasmidit tuotettiin käyttämällä tavanomaisia kloonausmenetelmiä. Kaikki PCR-tuotteet tuotettiin käyttämällä Pfu-polymeraasia (Promega) valmistajan ohjeiden mukaisesti. Inserttien oikeat sekvenssit varmistettiin sekvensoimalla BigDye Terminator v3.1 -syklisekvensointisarjaa (Applied Biosystems) käyttäen. Tuotettiin pMal-WBV-3424-3725-GST ja pMal-WBV-3424-3725\_S3589A-GST, WBV pp1a/pp1ab:n aminohappojäännösten Gln-3424-Met-3725 koodaava sekvenssi monistettiin käyttämällä alukkeita MalE24 (5Ј-GGTCGTCAGACTGTCGATGAA GCC-3Ј) ja M pro \_BbsI (5Ј-AATAAGAAGACTGTTGTTAACTGGTGATG TGAGTGT-3Ј) ja pMal-WBV-3CL\_559-560 tai pMal-WBV-3CL\_S3589A (38), kun taas Schistosoma japonicum -glutationi-S-transferaasin (GST) koodaussekvenssi monistettiin pCITE-GST:stä (44) käyttämällä alukkeita GSTup\_BsaI (5Ј-AAAAGGTCTCTCTACAACATGAGCCCTATACTAGGTTA TTGG-3Ј) ja GSTdn\_BamHI (5Ј-AAAGGATCCTTAACGCGGAACCAGA TCCGATTTTGG-3Ј). Tuloksena saadut PCR-tuotteet digestoitiin BbsI:llä ja BsaI:llä ja ligatoitiin sen jälkeen T4 DNA-ligaasilla (New England Biolabs [NEB]). Tuloksena saatu pp1a-3424-3725-GST-fuusiosekvenssi monistettiin käyttämällä MalE24- ja GSTdn\_BamHI-sekvenssejä, digestoitiin SacI- ja BamHI-sekvensseillä ja ligoitiin SacI/BamHI-digestoidun pMal-c2X-plasmidi-DNA:n (NEB) kanssa. Rakennetaan pMal-WBV-M pro -CHis, pMal-pp1a-3424-3725-GST:stä monistettiin pp1a/pp1ab-aminohappojen Gln-3424-Thr-3707 koodaava alue käyttämällä alukkeita JZ559 (5Ј-TCAGCATCATCAGAATGCATTCTGTAT-3Ј) ja RU32 (5Ј-TTTGGATCCTTAGTGATGGTGATGGTGATGGTGATGTGTTACTGGT GCTACTGGGAG-3Ј). Tuloksena saatu PCR-tuote fosforyloitiin käyttämällä T4-polynukleotidikinaasia (PNK; NEB), digestoitiin EcoRI:llä ja ligoitiin XmnI/EcoRI-digestoituun pMal-c2X-plasmidi-DNA:han (NEB). Plasmidien pMal-WBV-N1-C1, pMal-WBV-N1-C2, pMal-WBV-N2-C1, ja pMal-WBV-N2-C2 monistettiin pMal-WBV-3424-3725\_S3589A-GST:stä alukkeilla RU36 (5Ј-GCCCTCCAACGTATCAGAC AAGC-3Ј) yhdessä alukkeen RU177 (5Ј-ATAGAATTCTTATTGTCTGGT GATGGTGTTAC-3Ј) kanssa, RU36 yhdessä RU191:n kanssa (5Ј-AAAGGATCCT TATTGTCCTACTGTGACAGATGT-3Ј), RU37 (5Ј-GCAGTCACACAGTTGTT GTAACAC-3Ј) yhdessä RU177:n kanssa ja RU37 yhdessä RU191:n kanssa. Tuloksena saatujen PCR-tuotteiden 5Ј-terminaalit fosforyloitiin PNK:lla. Insertit pMal-WBV-N1-C1:lle ja pMal-WBV-N2-C1:lle digestoitiin EcoRI:llä ja ligoitiin sitten XmnI/EcoRI-digestoidun pMal-c2X-plasmidi-DNA:n kanssa. PMal-WBV-N1-C2:n ja pMal-WBV-N2-C2:n insertit sulatettiin BamHI:llä ja ligatoitiin XmnI/BamHI-digestoidun pMal-c2X-plasmidi-DNA:n kanssa. Plasmidikonstruktioiden paikkaohjattu mutageneesi suoritettiin PCR-pohjaisilla menetelmillä pääasiassa aiemmin kuvatulla tavalla (28, 55) . Mutageneesissä käytettyjen oligonukleotidien sekvenssit ovat saatavilla pyynnöstä. Fuusioproteiinien ilmentäminen. Escherichia coli TB1 (NEB) -soluja, jotka oli transformoitu pMal-pp1a-3424-3725-GST:llä tai pMal-pp1a-3424-3725\_S3589A-GST:llä, kasvatettiin Luria-Bertani (LB) -alustassa, joka sisälsi ampisilliinia pitoisuudessa 100 g/ml, kunnes viljelmän optinen tiheys 600 nm:n kohdalla (OD 600 ) oli

**Tulos**

Bafiniviruksen pääproteaasin autoprosessointitoimintojen karakterisointi ᰔ Ladattu osoitteesta

**Esimerkki 1.6456**

Kansainvälisillä matkustajilla on suurempi riski altistua bakteerien, virusten ja loisten aiheuttamien tartuntatautien aiheuttamille sairauksille. Perusterveydenhuollossa ja ensihoidossa työskentelevillä sairaanhoitajilla olisi oltava käytännön tietoa kansainvälisissä kohteissa esiintyvistä yleisistä tartuntataudeista. On tärkeää, että infektiosyitä epäillään tarkoin, kun tutkitaan potilaita, joilla on matkan jälkeen yleisiä vaivoja. Käytännössä on tärkeää ottaa huomioon, että potilaat on ohjattava matkaterveysklinikoille ja infektiosairauksien asiantuntijoille, jotta he saavat neuvoja ennen matkaa ja matkan jälkeen.

**Tulos**

Kansainväliset matkustajat ja tartuntataudit

**Esimerkki 1.6457**

Sisäilmassa kulkeutuvat hiukkaset voivat levittää tauteja ja aiheuttaa terveydellisiä ja jopa hengenvaarallisia vaikutuksia asukkaille, minkä vuoksi tarvitaan tehokkaita keinoja sisäilman hiukkaslähteiden paikantamiseksi. Hiukkaslähteiden tunnistaminen pitoisuusjakaumien perusteella on vaikea tehtävä, koska hiukkasia vapautuu usein ajallisesti vaihtelevalla nopeudella ja hiukkasten kulkeutumismekanismit ovat monimutkaisempia kuin kaasujen. Tässä tutkimuksessa ehdotetaan parannettua monirobottista hajuhakumenetelmää kahdenlaisten ajassa vaihtelevien sisäilman hiukkaslähteiden paikantamiseksi: 1) jaksottaiset lähteet, kuten asukkaiden hengitystoiminta, ja 2) hajoavat lähteet, kuten laboratorion vuotavat säiliöt, joissa on vaarallisia kemikaaleja. Menetelmässä otetaan huomioon sekä hiukkaspitoisuudet että sisäilman nopeudet sisällyttämällä myötätuulitermi tavalliseen hiukkasparven optimointialgoritmiin (Particle Swarm Optimization, PSO), mikä estää robotteja juuttumasta paikalliseen optimiin, kuten tapahtuu muita algoritmeja käytettäessä. Lisäksi tarkasteltiin kahta ilmanvaihtotyyppiä (sekoitusilmanvaihto ja syrjäytysilmanvaihto), kun hiukkasia päästetään eri lähdetyypeistä, ja tarkasteltiin neljää skenaariota. Kunkin skenaarion osalta hiukkaspitoisuudet ja ilman nopeus simuloitiin laskennallisella nestedynamiikalla (CFD), minkä jälkeen ne syötettiin PSO-algoritmille lähteen paikallistamista varten. Lisäksi validoimme CFD-lähestymistavan yhden skenaarion osalta vertaamalla kokeellisia tietoja (esim. nopeuksia ja hiukkaspitoisuuksia) laboratorio-olosuhteissa. Tulokset osoittivat, että ehdotetulla menetelmällä voidaan paikantaa kahden tyyppiset hiukkaslähteet noin 55 s kuluessa, ja lähteen paikallistamisen onnistumisprosentit ylittävät 96 %, mikä on paljon korkeampi taso kuin tavallisilla PSO- ja tuulen hyödyntämisen II-algoritmeilla saavutetut tasot.

**Tulos**

Parannettu hiukkasparven optimointimenetelmä ajassa muuttuvien sisäilman hiukkaslähteiden paikantamiseksi

**Esimerkki 1.6458**

Terveys on usein uutisissa, olipa kyse sitten lintuinfluenssaotsikoista tai ilmastonmuutosta koskevien raporttien ytimestä. Terveys on näissä artikkeleissa se yhteinen säie, joka yhdistää ihmiset, eläimet ja ympäristön. Tätä perimmäistä yhteyttä ei kuitenkaan useinkaan arvosteta riittävästi, mikä jättää "aukon", joka haastaa kykymme ehkäistä ja lieventää suuria maailmanlaajuisia katastrofeja. Ebola-virustauti on raivonnut Länsi-Afrikassa ja jättänyt jälkeensä tuhoa ja avoimia kysymyksiä, mutta se korostaa zoonoosin hälyttävää potentiaalia, sillä se on yksi sadoista eläimen ja ihmisen välillä leviävistä taudeista. Ilmastonmuutos herättää edelleen kiistoja, mutta on kiistatonta, että maapallon hyväksikäyttö vaikuttaa olemassaolomme perustana oleviin luonnonvaroihin. Ekosysteemiemme tila on olennainen osa villieläimistömme ja luonnonvarojemme suojelua ja kestävää hoitoa. Ympäristön terveyttä ei voida erottaa omasta terveydestämme, joten meidän on tarkasteltava terveyttä maailmanlaajuisesta näkökulmasta. Perinteiset näkökulmamme "terveyteen" ja "sairauteen" ovat vanhentuneita, ja nyt on korkea aika arvioida uudelleen lähestymistapojamme, jotta voimme ottaa mukaan kattavan yleisön sekä kokonaisvaltaisia strategioita näiden kysymysten käsittelemiseksi "yhtenä terveytenä".

**Tulos**

Luonnonsuojelun ja terveyden välisen kuilun kaventaminen

**Esimerkki 1.6459**

| Kuvailemme uutta teknologiaa, Ibis T5000:ta, jolla tunnistetaan taudinaiheuttajia kliinisistä näytteistä ja ympäristönäytteistä. Ibis T5000 yhdistää nukleiinihappojen monistamisen tehokkaaseen sähkösuihku-ionisaatio-massaspektrometriaan ja emäskokoonpanon analysointiin. Järjestelmän avulla voidaan tunnistaa ja kvantifioida laaja joukko taudinaiheuttajia, mukaan lukien kaikki tunnetut bakteerit, kaikki patogeenisten sienten tärkeimmät ryhmät ja tärkeimmät ihmisillä ja eläimillä tauteja aiheuttavat virusperheet, sekä havaita virulenssitekijät ja antibioottiresistenssimarkkerit. TUKITOIMENPITEET |

**Tulos**

Ibis T5000: yleispätevä biosensori mikrobiologiaan

**Esimerkki 1.6460**

Taustaa Virusinfektioiden esiintyvyydestä lapsilla, joilla on yhteisperäinen keuhkokuume, tiedetään vain vähän. Tavoitteet Kuvata kliiniset ja virologiset tiedot, jotka kerättiin lapsista, joilla oli röntgenologisesti vahvistettu CAP ja joilta etsittiin 17 hengitystievirusta hengitysteiden eritenäytteistä taudin akuutin vaiheen aikana. Potilaat ja menetelmät Tutkimukseen osallistui 592 lasta, joilla oli radiografisesti vahvistettu CAP ja joiden hengitysteiden eritenäytteet testattiin Luminex xTAG Respiratory Virus Panel Fast -testillä, joka havaitsee samanaikaisesti influenssa A -viruksen, influenssa B-virus, hengitystieinfektiovirus (RSV)-A ja -B, parainfluenssavirus-1, -2, -3 ja -4, adenovirus, ihmisen metapneumovirus, koronavirukset 229E, NL63, OC43 ja HKU1, enterovirus ⁄ rinovirus ja bocavirus. Reaaliaikaista PCR-määritystä käytettiin rinoviruksen tunnistamiseen enterovirus ⁄ rinoviruspositiivisissa näytteissä. Tulokset Yhteensä 435 lapsella (73AE5 %) oli positiivinen vähintään yhden viruksen suhteen: yleisimmin todettu virus oli RSV, jota todettiin 188:ssa (31AE7 %), ja seuraavina olivat rinovirus (n = 144, 24AE3 %), bocavirus (n = 60, 10AE1 %), influenssavirukset (n = 57, 9AE6) ja hMPV (n = 49, 8AE2 %). Virusperäisiä samanaikaisia infektioita todettiin 117 lapsella (19AE7 % ilmoittautuneista lapsista; 26AE9 % niistä, joilla oli virusinfektio). Yksittäisestä viruksesta johtuvien infektioiden välillä havaittiin vähäisiä eroja. Yhteisinfektioissa todettiin röntgenkuvauksessa alveolikeuhkokuumetta huomattavasti useammin kuin yksittäisissä infektioissa (OR 1AE72, 95 % CI 1AE05-2AE81). Johtopäätökset Tämän tutkimuksen tulokset korostavat hengitystievirusten (pääasiassa RSV ja rinovirus) merkitystä CAP-tautia sairastavilla lapsilla ja osoittavat tautiin liittyvien yksittäisten infektioiden ja samanaikaisten infektioiden ominaispiirteet.

**Tulos**

Virusinfektioiden vaikutus lasten keuhkokuumeeseen: 17 hengitystievirusta koskevan tutkimuksen tulokset.

**Esimerkki 1.6461**

Patogeenien aiheuttamasta ruoansulatuskanavan infektiosta johtuva ripuli on yleinen syy vastasyntyneiden vasikoiden korkeaan kuolleisuuteen ja sairastuvuuteen. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli arvioida, miten hiivatuotteen lisääminen maidonkorvikkeeseen (MR) vaikuttaa vasikoiden kasvuun ja terveyteen sekä joidenkin vasikoiden terveyteen ja kasvuun liittyvien mikro-organismien ulostepopulaatioihin (kokonaisbakteerit, Escherichia coli, Clostridium XIVa -ryhmä, Faecalibacterium prausnitzii ja Bifidobacterium spp.). Oletimme, että Saccharomyces cerevisiae var boulardii (SCB) -tuotteen syöttäminen parantaisi vasikoiden ruoansulatuskanavan terveyttä ja kasvukykyä. Neljäkymmentäkaksi holstein-sonnivasikkaa (42,6 ± 0,77 kg syntyessään) satunnaistettiin 2. ikävuorokautena joko kontrolli- tai SCB-käsittelyyn. SCB:tä täydennettiin MR:llä ja sitä syötettiin 5 g/d eläintä kohti, jotta saatiin 10 miljardia pesäkkeitä muodostavaa yksikköä päivässä. Kaikki vasikat saivat korkealaatuista ternimaitoa (> 50 mg/ml immunoglobuliini G:tä) ensimmäisten 24 tunnin aikana, ja niitä ruokittiin 8 litralla MR:ää (150 g/l sekoitettuna 40 °C:n veteen) päivittäin päivinä 2-35 ja 4 litralla päivittäin päivinä 35-42. Vasikoita ruokittiin myös vasikan alkutuotteella ad libitum päivästä 7-56. Vasikoiden päivittäinen MR ja tarjottu ja hylätty alkuvesirehu, päivittäiset ulostepisteet, nenäpisteet, korvapisteet ja viikoittainen ruumiinpaino kirjattiin ylös. Ulostenäytteet kerättiin 7., 35. ja 56. päivänä kyseisen päivän ensimmäisen ruokinnan jälkeen mikrobikohteiden analysointia varten. Kaiken kaikkiaan kaikilla vasikoilla ei ollut vakavia tautihaittoja koko koejakson aikana. Koko kokeen aikana ei havaittu eroja MR:n saannissa, alkueläinten saannissa, metaboloituvan energian (ME) saannissa, keskimääräisessä päivittäisessä saannissa, ME:n saannin ja saannon suhteessa, ulosteen pistemäärässä, nenän pistemäärässä, silmän pistemäärässä tai missään mikro-organismien kohdemäärissä eri käsittelyjen välillä. Nämä tulokset viittaavat siihen, että SCB:n lisäämisellä MR:ään ei ole lisävaikutuksia eläinten kasvuun tai suoliston terveyttä kuvaaviin ulostebiomarkkereihin, kun vasikoiden terveydentila ei ole heikentynyt.

**Tulos**

Hiivaprobiootin lisääminen vieroitusta edeltäville holsteinvasikoille: Rehun saanti, kasvu ja suoliston terveyttä kuvaavat biomarkkerit ulosteessa.

**Esimerkki 1.6462**

Taustaa: Mutaatiot influenssa A -viruksen RNA-riippuvaisen RNA-polymeraasin (RdRp) PB1-alayksikössä voivat vaikuttaa replikaation uskollisuuteen. Ennen vuoden 2009 influenssa A/H1N1 -pandemiaa useimmat ihmisen influenssa A/H1N1 -virukset sisälsivät PB1:ssä sijalla 216 lintuihin liittyvää seriinijäämää. Lähellä vuoden 2009 pandemian alkua ihmisvirukset alkoivat kuitenkin saada nisäkkäisiin liittyvää glysiinijäämää PB1-216:n kohdalle, ja PB1-216G:stä tuli sen jälkeen ihmisviruksissa vallitseva. Menetelmät: Olemme aiemmin tunnistaneet entropiaan perustuvan analyysialgoritmin avulla useita isäntäkohtaisia aminohapposignaaleja, jotka erottivat lintu- ja sikavirukset ihmisinfluenssaviruksista. Näiden isäntäkohtaisten merkkien esiintyminen ihmisen A/H1N1-influenssaviruksissa viittasi siihen, että nämä mutaatiot olivat adaptiivisen geneettisen evoluution tulosta, jonka ansiosta nämä influenssavirukset pystyivät kiertämään isäntäesteet, mikä johti lajien väliseen tarttumiseen. Tutkimme tämän luonnollisen lintujen ja nisäkkäiden välisen PB1-216:n luonnollisen merkin substituution biologista vaikutusta ihmisen A/H1N1-influenssaviruksissa. Tulokset: PB1-216G-viruksilla oli suurempi mutaatiopotentiaali ja ne olivat herkempiä ribaviriinille kuin PB1-216S-virukset. Oseltamiviirilla käsitellyissä HEK293-soluissa PB1-216G-virukset synnyttivät mutaatioita viruksen neuraminidaasissa nopeammin kuin PB1-216S-virukset. Sitä vastoin PB1-216S-virukset olivat hiirissä virulentimpia kuin PB1-216G-virukset. Nämä tulokset viittaavat siihen, että PB1-S216G-substituutio parantaa virusten epidemiologista kuntoa lisäämällä adaptiivisten mutaatioiden esiintymistiheyttä ihmisen A/H1N1-influenssaviruksissa. Tuloksemme viittaavat siis siihen, että luonnossa esiintyvien PB1-216G-virusten, joilla on kanoninen matalan uskollisuuden replikaasi, lisääntynyt sopeutumiskyky ja epidemiologinen kunto olivat biologisia mekanismeja, jotka vaikuttivat siihen, että PB1-216S-virukset korvattiin korkean uskollisuuden replikaasilla pdmH1N1:n ilmaantumisen jälkeen. Mielestämme on perusteltua jatkaa muun muassa tällaisten luonnossa esiintyvien PB1-216-varianttien seurantaa, jotta voidaan arvioida RdRp:n uskollisuuden muutosten mahdollista vaikutusta ihmisen A/H1N1-influenssavirusten sopeutumiskykyyn ja epidemiologiseen kuntoon.

**Tulos**

PB1:ssä luonnostaan esiintyvät mutaatiot vaikuttavat influenssa A -viruksen replikaatiouskollisuuteen, virulenssiin ja sopeutumiskykyyn.

**Esimerkki 1.6463**

Koronaviruksen E-proteiini on pieni viruksen kuoriproteiini, jolla on olennainen rooli koronaviruksen kokoonpanossa; koronaviruksen M- ja E-proteiinien yhteisekspressio johtaa viruksen kaltaisten hiukkasten tuotantoon. Tässä tutkimuksessa osoitettiin, että hiiren hepatiittiviruksen (MHV) E-proteiini vapautui integraalisena kalvoproteiinina E-proteiinia ekspressoivien nisäkässolujen lipidivesiileissä ilman muita MHV-proteiineja. Lisäksi tietomme osoittivat, että MHV-infektoituneista soluista vapautui E-proteiinia sisältäviä vesikkeleitä, joiden kelluvuus oli hieman kevyempi kuin MHV:n. Nämä tiedot osoittivat, että E-proteiini yksinään voi ohjata koronaviruksen kuoren tuotantoa ja vapautumista ilman M-proteiinia.

**Tulos**

Nopea tiedonanto Koronaviruksen E-proteiinin vapautuminen viruksen infektoimista soluista ja E-proteiinia ilmentävistä soluista peräisin olevissa kalvopesikkeleissä.

**Esimerkki 1.6464**

Please cite this article in press as: Roodgar, M., et al. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) regulatory region variation in non-human primates. Infect. Genet. Evol. (2015), http://dx. (Chlorocebus sabaeus), sianhäntämakakit (Macaca nemestrina), 81 cynomolgusmakakit (Macaca fascicularis), intian- 82 rhesusmakakit (M. mulatta) ja kiinan- 82 rhesusmakakit (M. mulatta). Vaihtelu iNOS-ekspression säätelyssä voi olla osasyynä näiden lajien vaihtelevaan 85 alttiuteen useille tartuntataudeille (Roodgar ym., 2013; Lyashchenko ym., 2007; McAuliffe ym., 86 2004). Tutkimme, onko iNOS:n säätelyalueilla todisteita lajien-87 välisistä eroista, jotka voisivat 88 selittää tällaisen vaihtelevuuden tautialttiudessa. Koska NOS2A 89 on avainasemassa immuniteetissa solunsisäisiä patogeenejä vastaan 90 (Wienerroither et al., 2014; Obermajer et al., 2013), joilla on merkitystä 91 ihmisen terveyden kannalta, tietojen DNA-sekvenssivaihtelusta NOS2A:n regu-92 latorisella alueella NHP-lajeissa, jotka ovat läheisempää 93 sukua ihmiselle kuin hiiri, pitäisi antaa parempaa informa-94 tiota NOS2A:n geenin 95 ilmentymisessä esiintyvän vaihtelun ja ihmisen kaltaisten solunsisäisiä patogeenejä 96 koskevien immuunivasteiden välisestä suhteesta (Lyashchenko ym., 2007; McAuliffe ym., 2004). 97 Sekvensoimme NOS2A 98 -geenin kaksi ehdollista säätelyaluetta useissa eläimissä, jotka kuuluvat kuhunkin viidestä NHP:n 99 lajista tai alalajista, joilla on erilainen alttius tarttuville 100 hengitystiesairauksille, erityisesti tuberkuloosille. Ehdokkaiden iNOS-promoottorialueiden 101 perusalkusekvenssit tunnistettiin 102 käyttäen ihmisen genomin Chip-seq-tietoja, jotka olivat saatavilla Kalifornian yliopiston 103 Santa Cruzin (UCSC) Genome Browserissa. Sen jälkeen käytimme 104 Applied Biosystems 3130XL -geneettistä analysaattoria tuottaaksemme 105 DNA-sekvenssitiedot kustakin näytteestä. Sekvenssit linjattiin käyttäen 106 Kalign2:ta (Lassmann et al., 2009; Lassmann ja Sonnhammer, 107 2006; Lassmann ja Sonnhammer, 2005), ja can-108 didate-promoottorialueiden variaatio analysoitiin käyttämällä R-ohjelmointiympäristön adegenet-pakettia 109 (R Core Team, 2014). Tämän jälkeen arvioitiin 110 lajien välisen geneettisen säilymisen ja variaation vaikutusta transkripti-111 tiontekijöiden ja säätelyelementtien 112 sitoutumiskohtiin MatInspector-ohjelmiston avulla (Quandt et al., 1995; 113 Cartharius et al., 2005). 114 2. Tulokset 115 2.1. Moninkertainen sekvenssikohdistus ja promoottorin lokalisaatio 116 Paikansimme iNOS:n koodaavan alueen ja ehdolla olevat pro-117 motori-/regulaatioalueet rhesusmakakki- ja ihmisviite-118 enssisekvensseihin NCBI:n genomiselaimen avulla. Kuvassa 1 esitetään R2-alueen 119 sijainti ihmisen referenssisekvenssissä. 120 R1:n ja R2:n moninkertainen sekvenssikohdistus lajeittain 121 tehtiin Kalign2-ohjelmalla (Lassmann et al., 2009; Lassmann ja 122 Sonnhammer, 2006; Lassmann ja Sonnhammer, 2005). Kohdistuksen 123 toimivuutta arvioitiin Mumsan 124 (Lassmann ja Sonnhammer, 2006) ja silmämääräisen tarkastelun avulla. 125 Jalview-ohjelmaa (Clamp et al., 2004; Waterhouse et al., 2009) käytettiin 126 kohdistusten visualisointiin ja trimmaamiseen sekä lajikohtaisten konsensusjaksojen rakentamiseen. Kuvassa 2 esitetään eläin-128 spesifiset nukleotidisekvenssit ja tässä analyysissä käytetyt lajikohtaiset 129 konsensussekvenssit. 130 2.2. Promoottorivaihtelu ja lajien välinen klusterointi 131 Tutkiaksemme, noudattaako R1- ja R2-arvojen vaihtelu 132 näiden NHP-eläinlajien ja -alalajien 133 välisestä fylogeneettisestä suhteesta odotettua mallia, käytimme R-paketteja ape 134 ja adegent SNP:iden poimimiseen linjatuista ja trimmatuista 135 DNA-sekvensseistä. Sen jälkeen käytimme pääkomponenttien 136 diskriminaatioanalyysia (DAPC) (Jombart ym., 2010) tutkiaksemme 137 geneettisen variaation 137 lajikohtaista jakautumista. 138

**Tulos**

Indusoituvan typpioksidisyntaasin (iNOS) säätelyalueen vaihtelu neljällä kädellisellä 5 6 7

**Esimerkki 1.6465**

Vaikka ennaltaehkäisyyn ja hoitoon on investoitu valtavasti resursseja, rintasyöpä on edelleen naisten syöpäkuolemien yleisin syy maailmanlaajuisesti. Käytettävissä olevat hoitomuodot ovat hyvin kalliita ja aiheuttavat vakavia sivuvaikutuksia. Lääkkeiden uudelleenkäytöstä, joka liittyy vanhojen lääkkeiden uusiin käyttötarkoituksiin, on tullut uusi lähestymistapa lääkekehityksessä. Vanhojen, kliinisesti hyväksyttyjen, patentoimattomien, muiden kuin syöpälääkkeiden, joilla on tunnetut kohteet, uudelleenkäyttöönottaminen uudessa käyttöaiheessa on kuin vanhojen aseiden käyttämistä uudessa taistelussa. Genomiikan, proteomiikan ja tietojenkäsittelybiologian kehitys on helpottanut lääkkeiden uudelleenkäytön prosessia. Uudelleenkäytön lähestymistapa ei ainoastaan nopeuta lääkekehitysprosessia, vaan se tarjoaa myös tehokkaampia, halvempia ja turvallisempia lääkkeitä, joilla on vähemmän tai tunnettuja sivuvaikutuksia. Viime vuosikymmenen aikana rintasyövän hoidossa on käytetty uudelleen alkyloivia aineita, antrasykliinejä, antimetaboliitteja, CDK4/6-estäjiä, aromataasinestäjiä, mTOR-estäjiä ja mitoosinestäjiä. Uudelleen sijoitettuja lääkkeitä on käytetty menestyksekkäästi aggressiivisimman kolmoisnegatiivisen rintasyövän hoidossa. Kirjallisuuskatsauksen perusteella voidaan todeta, että sattumanvaraisuudella on suuri merkitys lääkekehityksessä. Tässä artikkelissa kuvataan kattava katsaus rintasyövän hoidossa käytettävien lääkkeiden uudelleenkäytön nykytilanteeseen. Lisäksi esitetään strategioita ja useita esimerkkejä uudelleen käytettävistä lääkkeistä. Lisäksi käsitellään lääkkeiden uudelleenkäytön haasteita. Toisin kuin vuosikymmen sitten, nykyään lääkäreillä on useita vaihtoehtoja rintasyövän hoitoon riippuen kasvaimen koosta, vaiheesta, asteesta, metastaattisesta käyttäytymisestä, aggressiivisuudesta ja molekyylitason alatyypityksestä, iästä, vaihdevuositilanteesta, yleisestä terveydentilasta, liitännäissairauksista ja potilaan mieltymyksistä [9-13]. Kemoterapia, hormonihoito, immunoterapia, sädehoito ja leikkaus ovat rintasyövän yleisiä hoitomuotoja [10, 14] . Ensisijainen hoitovaihtoehto on yleensä leikkaus, jonka tavoitteena on ensisijaisesti suuren kasvainmassan täydellinen resektio. Rintasyöpäpotilaille tehdään aluksi rintaa säästäviä (lumpektomia) ja rinnan rekonstruktioleikkauksia, mastektomia tai imusolmukkeiden poisto [15] . Leikkausta voidaan edeltää systeemiset neoadjuvanttihoidot kasvaimen kutistamiseksi, jotta leikkaus olisi tehokas ja rintojen säilyminen mahdollisimman hyvä. Esimerkiksi HER2+-tapauksissa tratsutsumabi (Herceptin) ja pertsitsumabi (Perjeta).

**Tulos**

Rintasyöpähoitoon tarkoitettujen lääkkeiden uudelleenkäytön suunnittelu: Vanha ase uuteen taisteluun

**Esimerkki 1.6466**

Ulostesuspensiot, joiden tartuntareitti on aerosoli, aiheuttivat vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) tapausten joukon vuonna 2003 Hongkongissa. Kyseisen tapauksen perusteella Maailman terveysjärjestö suositteli, että SARS-koronaviruksen leviämistapojen määrittelemiseksi viemärin, ulosteiden, elintarvikkeiden ja veden välityksellä tehtäisiin tutkimuksia. Ympäristötutkimukset ovat osoittaneet, että eläinten koronavirukset säilyvät tartuntakykyisinä vedessä ja jätevedessä jopa vuoden ajan lämpötilasta ja kosteudesta riippuen. Tässä tutkimuksessa tutkittiin koronaviruksen pysyvyyttä salaatin pinnoilla. Romaine-salaatin piikittämiseen käytettiin soluviljelyyn mukautettua naudan koronavirusta, joka oli laimennettu kasvualustaan tai naudan ulostesuspensioon ulostekontaminaation simuloimiseksi. qRT-PCR:llä havaittiin viruksen RNA-kopioluku, joka vaihteli 6,6 × 10 4:stä 1,7 × 10 6:een koko 30 päivän koejakson ajan. Tarttuvia viruksia havaittiin vähintään 14 päivän ajan, mutta tartuntakykyisen viruksen määrä vaihteli salaatin lisäämiseen käytetyn laimennusaineen mukaan. UV- ja konfokaalimikroskooppinen havainnointi osoitti, että jäljelle jääneet leimatut virionit olivat kiinnittyneet salaatin pintaan eluointimenettelyn jälkeen, mikä viittaa siihen, että viruksen inaktivoitumisnopeus tai havaitsemisnopeus voidaan aliarvioida. Näin ollen on mahdollista, että saastuneet vihannekset voivat olla mahdollisia välineitä koronaviruksen zoonoosin leviämiselle ihmisiin.

**Tulos**

Nautaeläinten koronaviruksen pysyvyys salaatin pinnoilla kotitalouksien jäähdytysolosuhteissa HHS Public Access

**Esimerkki 1.6467**

Ihmisen suoliston limakalvo on merkittävä HIV-infektion ja infektioon liittyvän patogeneesin tapahtumapaikka. Yhä useammat todisteet osoittavat, että luonnollisilla tappajasoluilla (NK-soluilla) on tärkeä rooli HIV-infektion hallinnassa, mutta on epäselvää, millä mekanismilla tai mekanismeilla ne välittävät antiviraalista toimintaa suolistossa. Tässä tutkimuksessa osoitetaan, että suolistossa on kaksi erilaista NK-solujen osajoukkoa, joista toinen on paikallistunut intraepiteelialueen (IEL) ja toinen lamina propria (LP) -alueelle. Molempien NK-solujen alaryhmien esiintymistiheys väheni kroonisessa infektiossa, kun taas IEL:n NK-solut pysyivät vakaina spontaaneilla kontrolloijilla, joilla oli suojaavat KIR/HLA-genotyypit. Sekä IEL- että LP-NK-solut laajenivat merkittävästi immunologisesti reagoimattomilla (INR) potilailla, joiden CD4+ T-solut palautuivat epätäydellisesti HAART-hoidolla. Nämä tiedot viittaavat siihen, että sekä IEL- että LP-NK-solut voivat laajentua suolistossa kompensoidakseen CD4+ T-solujen heikentynyttä palautumista, mutta että vain IEL-NK-solut voivat olla osallisina HIV:n kestävässä hallinnassa suolistossa, Käyttäjät voivat tarkastella, tulostaa, kopioida ja ladata tekstiä ja louhia tällaisten asiakirjojen sisältöä akateemista tutkimusta varten, kunhan aina noudatetaan täydellisiä käyttöehtoja:

**Tulos**

Limakalvon NK-solujen muuttunut jakautuminen HIV-infektion aikana

**Esimerkki 1.6468**

Taustaa: Liikkuvuuden lisääntyminen ja maankäytön muuttuminen tekevät uusien tartuntatautien uhasta yhä tärkeämmän. Maailmanlaajuinen hälytys on tällä hetkellä voimassa sen varalta, että H5N1-lintuinfluenssa tarttuu ihmisiin yhtä hyvin kuin kausi-influenssa ja saattaa aiheuttaa ennennäkemättömän laajuisen pandemian. Tässä esitellään, miten uusien tartuntatautien epidemiologisia seurantatietoja voidaan tulkita reaaliaikaisesti, jotta voidaan arvioida leviämiskyvyn muutoksia kvantifioidun epävarmuuden avulla, tehdä uusia tapauksia koskevia ennusteita ja ohjata logistiikan kohdentamista. Menetelmä/pääasialliset tulokset: Kehitämme kehittymässä oleviin tartuntatauteihin soveltuvan laajennuksen tavanomaisista epidemiologisista malleista, jotka kuvaavat tapausten lukumäärän todennäköistä kehitystä, joka johtuu (alkavan) ihmisiin tarttumisen ja useiden reservaariosta peräisin olevien tartuntojen samanaikaisista vaikutuksista. Malli on laadittu valvontahavaintomuuttujien avulla, ja siinä ehdotetaan välittömästi yksinkertaista graafista arviointimenettelyä vakioepidemioiden teholliselle lisääntymisluvulle R (tartuntavaarallisen yksilön tuottamien tapausten keskimääräinen lukumäärä). Uusille tartuntataudeille, joissa tyypillisesti esiintyy suuria suhteellisia tapausten lukumäärän vaihteluita ajan mittaan, kehitetään Bayesin järjestelmä tehokkaan lisääntymisluvun todennäköisyysjakauman reaaliaikaista estimointia varten ja osoitetaan, miten tällaisia päätelmiä voidaan käyttää tulevien epidemiologisten havaintojen merkitsevyystestien muotoilemiseen. Johtopäätökset/merkitys: Merkitsevyystestien rikkomiset määrittelevät tilastollisia poikkeamia, jotka voivat merkitä muutoksia uusien tautien epidemiologiassa, ja niiden olisi käynnistettävä uusia kenttätutkimuksia. Sovellamme menetelmää Maailman terveysjärjestön raportteihin sisältyviin tapaustietoihin, jotta voimme asettaa rajat H5N1-influenssan nykyiselle tartuntakyvylle ihmisissä ja luoda tilastollisen perustan sen kehityksen seuraamiseksi reaaliajassa.

**Tulos**

Kehittyvien tartuntatautien epidemiallisen potentiaalin reaaliaikainen Bayes-arviointi (Bayesian estimation of the Epidemic Potential of Emerging Infectious Diseases)

**Esimerkki 1.6469**

Cryptosporidium parvum on yksi vastasyntyneiden vasikoiden ripulin tärkeimmistä aiheuttajista, mikä aiheuttaa tuottajille maailmanlaajuisesti merkittävää sairastuvuutta ja taloudellisia menetyksiä. Olemme aiemmin osoittaneet uuden luokan mikrobilääkkeiden vasta-ainefuusioiden tehon vastasyntyneiden hiirien C. parvum -infektiomallissa. Tässä laajennamme näiden tuotteiden tehon testausta vasikoiden, pääasiallisen kohdelajin, kokeelliseen infektioon. Vastasyntyneille vasikoille annettiin C. parvum - ookystia ja niitä hoidettiin samanaikaisesti vasta-aine-biosidifuusion 4H9-G1-LL37 kanssa neljän päivän ajan. Tämä johti taudin vakavuuden vähenemiseen verrattuna kontrollieläimiin. Yleiset kliiniset terveysparametrit paranivat merkittävästi hoidetuilla eläimillä. Ookystien irtoaminen väheni hoidetuilla eläimillä kontrollieläimiin verrattuna. Ookystien irtoamisen hallinta on edellytys uudelleentartuntakierteen katkaisemiselle lypsykarjatiloilla. Vasta-aine-biosidi-fuusiotuotteilla on näin ollen mahdollisuus vähentää tartunnan vaikutuksia sekä yksittäisissä eläimissä että karjassa.

**Tulos**

VASTA-AINEFUUSIOT VÄHENTÄVÄT KOKEELLISEN CRYPTOSPORIDIUM PARVUM -INFEKTION PUHKEAMISTA VASIKOILLA.

**Esimerkki 1.6470**

Isännän virusvastaisuuteen kuuluu interferonien ja proinflammatoristen sytokiinien induktio, mutta myös solukuoleman reittien, kuten apoptoosin, aktivoituminen viruksen lisääntymisen ja leviämisen rajoittamiseksi. Tämä isännän puolustus on tiukasti säädelty infektion poistamiseksi ja samalla viruksen patogeneesiin liittyvien kudosvaurioiden rajoittamiseksi. Posttranslationaaliset modifikaatiot, erityisesti fosforylaatio, ovat viruksenvastaisen puolustuksen keskeisiä säätelijöitä, mikä merkitsee proteiinifosfataasien tärkeää roolia. Tässä tutkimuksessa selvitettiin kaksoispesifisen fosfataasi 1:n (DUSP1) roolia isännän puolustuksessa ihmisen hengitystie-synktiovirusta (RSV) vastaan, joka on patogeeninen Pneumoviridae-heimon virus, ja Sendai-virusta (SeV) vastaan, joka on mallivirus, jota ollaan kehittämässä RSV:n vastaisen rokotteen vektoriksi. Havaitsimme, että DUSP1:n säätely lisääntyy ennen kuin se joutuu proteasomaaliseen hajoamiseen. DUSP1 ei estä virusvastaista vastetta, mutta säätelee negatiivisesti viruksen aiheuttamaa JNK/p38 MAPK -fosforylaatiota. Vuorovaikutus JNK-interacting protein 1 -telineproteiinin kanssa estää DUSP1:n JNK:n defosforylaation, mikä todennäköisesti selittää sen, että AP-1-aktivoituminen ja sytokiinien tuotanto ovat suojassa DUSP1:n estolta. On tärkeää, että DUSP1 edistää SeV:n aiheuttamaa apoptoosia ja estää solujen migraatiota RSV-infektoituneissa soluissa. Yhteenlaskettuna tietomme paljastavat aiemmin tuntemattoman DUSP1:n valikoivan roolin kudosvaurioiden ja korjauksen säätelyssä RSV- ja SeV-infektioiden aikana. Hengitystie-synktiovirus (RSV) kuuluu suurten koteloitujen, negatiivisen sensorisen ssRNA:n sisältävien suurten virusten Pneumoviridae-perheeseen, johon kuuluu tärkeitä ihmisen patogeenejä 1,2 . RSV on johtava syy akuutteihin alempien hengitysteiden infektioihin, joihin liittyy sairastuvuutta ja kuolleisuutta imeväisillä, lapsilla ja vanhuksilla, mutta myös kaikenikäisillä aikuisilla, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt, joilla on sydän- ja keuhkosairauksia tai jotka ovat saaneet elinsiirron 3,4 . Infektion lopputuloksen kannalta on ratkaisevaa, miten hyvin isäntä pystyy järjestämään asianmukaisen viruksen vastaisen puolustuksen, jolla pyritään rajoittamaan viruksen lisääntymistä ja leviämistä. Jos isäntä ei kykene ylläpitämään viruksen vastaista vastetta, infektion hävittäminen epäonnistuu. Vastaavasti vasteen hallitsematon kesto tai voimakkuus on haitallista isännälle, ja se liittyy virukseen liittyvän patogeneesin, kroonisten tulehdussairauksien ja erilaisten autoimmuunisairauksien kehittymiseen 5,6 . Siksi näiden vasteiden on saavutettava ihanteellinen intensiteetti ja kesto, jotta infektio voidaan torjua tehokkaasti ja samalla rajoittaa kudosvaurioita ja edistää kudosten korjaantumista 7 . Tätä varten isännän viruksenvastaisen puolustuksen eri osatekijät, mukaan lukien interferonien (IFN) ja proinflammatoristen sytokiinien ja kemokiinien transkriptioinduktio, mutta myös solukuoleman reittien, kuten apoptoosin, aktivoituminen, ovat sekä positiivisten että negatiivisten mekanismien tiukan säätelyn alaisia 8,9 . Julkaistu: xx xx xxxx AVOINNA www.nature.com/scientificreports/ 2 Tieteelliset raportit | 7: 17388 | Kun virus on päässyt viruksen sisään ja sytosoliset patogeenien tunnistamisreseptorit (PRR), retinohappoindusoituva geeni I (RIG-I) ja melanooman erilaistumiseen liittyvä proteiini 5 (MDA-5), tunnistavat sen, mitokondriokalvoon liittyvä adaptori (MAVS) koordinoi useita signaalireittejä, jotka lopulta johtavat transkriptiotekijöiden IFN-säätelytekijöiden (IRF) 3/7, ydintekijä κB:n (NF-κB) ja aktivaattoriproteiini 1:n (AP-1) aktivoitumiseen 10-12 . IRF3:n aktivoituminen perustuu monimutkaiseen fosforylaatiokokonaisuuteen, jota välittävät pääasiassa TANK-sitovan kinaasi 1 (TBK1)/IκB-kinaasi epsilon (IKKε) -kinaasit 13-17 . NF-κB:n, pääasiassa p65/p50:n, aktivoituminen SeV- ja RSV-infektioiden aikana tapahtuu NF-κB:n inhibiittoriproteiini IκBα:n ja p65-alayksikön IκB-kinaasista (IKK) riippuvan fosforylaation kautta 18, 19 . AP-1:n aktivoitumiseen johtava signaalikaskadi on vaikeaselkoisempi, mutta se johtaa viime kädessä JNK:n ja p38 Mitogeeniaktivoitujen proteiinikinaasien (MAPK:t) suorittamaan ydintranskriptiota aktivoivan ATF-2:n (Activating Transcription Factor 2, ATF-2) ja c-Junin alayksiköiden fosforylaatioon 10,20,21 . Näiden transkriptiotekijöiden aktivoituminen edistää varhaisten antiviraalisten geenien, tyypin I/III IFN:ien sekä proinflammatoristen sytokiinien ja kemokiinien transkriptiota 12, 22, 23 . Vastauksena IFN:iin indusoituu satoja interferonin stimuloimia geenejä (ISG), jotka rajoittavat viruksen replikaatiota tehostamalla viruksen havaitsemista ja synnynnäisen immuunijärjestelmän signaalinvälitystä, sytoskeletin uudelleenmuokkausta, proteiinien translaation estämistä, apoptoosin indusoimista ja muita viruksenvastaisia toimintoja 24-26 . Näiden samojen PRR:ien on myös osoitettu aktivoivan IFN:stä riippumattomia solukuolemapolkuja, mukaan lukien apoptoosi 8 . Viruksen havaitsemisen jälkeisiin reitteihin osallistuvien signaalinvälitysproteiinien posttranslationaaliset modifikaatiot (PTM), mukaan lukien fosforylaatio, ubikvitylaatio ja asetylaatio, ovat ratkaisevan tärkeitä, jotta synnynnäinen immuunivaste voidaan säätää hienosäädetysti 27 . Fosforylaatio-PTM:ien hyvin dokumentoidun merkityksen perusteella virusvastaisen vasteen säätelyssä on alettu tunnistaa signaalitapahtumia negatiivisesti sääteleviä proteiinifosfataaseja. Ser/Thr-proteiinifosfataasi 1:n (PP1) täsmällinen rooli antiviraalisessa vasteessa on edelleen hämärän peitossa, sillä PP1α:n ja PP1γ:n havaittiin defosforyloivan MDA-5:n ja RIG-I:n, mikä johtaa niiden aktivoitumiseen 28 , ja niiden kuvattiin myös olevan vastuussa IRF3:n keskeisten C-terminaalisten fosforisidien defosforylaatiosta, mikä johtaa IRF3:n estoon 29 . Koska IRF3:n säätely useiden C-terminaalisten fosforylaatiokohtien fosforylaation kautta on todennäköisesti monimutkaista, kaksi muuta fosfataasia, Ser/Thr-proteiinifosfataasi 2 (PP2A) ja MAPK-fosfataasi (MKP) 5, defosforyloivat IRF3:n lopettaakseen sen aktivoinnin 30-32 . Ser/Thr-proteiinifosfataasi, Mg 2+ /Mn 2+ -riippuvainen (PPM) 1B toimii TBK1-fosfataasina estääkseen IRF3:n aktivoitumisen, kun taas PPM1A kohdistaa sekä TBK1/IKKε:n että MAVS:n fosforylaation poistamista varten, jotta se säätelisi negatiivisesti viruksenvastaista vastetta 33,34 . Tässä tutkimuksessa pyrimme selvittämään MKP-1/DUSP1-kaksoisfosfataasin (jäljempänä DUSP1) roolia RSV:n ja Sendai-viruksen (SeV) isäntäpuolustuksen säätelyssä. Sendai-virus (SeV) on paramyksovirusmalli, jota parhaillaan arvioidaan replikaatiokompetenttina selkärankana RSV-rokotteen kehittämiseksi 3 . Osoitamme, että DUSP1 on RSV:n ja SeV:n aiheuttaman JNK/p38 MAPK -fosforylaation negatiivinen säätelijä. Tämä toiminto ei kuitenkaan liity viruksen vastaisen vasteen estämiseen eikä virusinfektion aikana syntyvän sytokiini- ja kemokiinivasteen induktioon. Mielenkiintoista on havaita, että JNK:n vuorovaikutus JNK:n vuorovaikutusproteiinin (JIP) 1 telineproteiinin kanssa, jonka on aiemmin osoitettu olevan kriittinen nimenomaan AP-1:n ja sytokiinien tuotantoketjun loppupään tuotannon kannalta, suojaa JNK:ta DUSP1:n suorittamalta defosforylaatiolta. Vaikka vahvistimme, että JNK/p38-signalointimoduuli osallistuu viruksen aiheuttaman apoptoosin induktioon, tietomme viittaavat siihen, että DUSP1:llä on JNK:sta ja p38:sta riippumaton pro-apoptoottinen tehtävä SeV-infektion aikana. Lopuksi havaitsimme, että DUSP1 vaimentaa solujen migraatiota RSV-infektion aikana. Kaiken kaikkiaan nämä havainnot viittaavat DUSP1:n aiemmin tuntemattomaan rooliin toiminnoissa, joilla on vaikutusta virukseen liittyviin kudosvaurioihin ja niiden korjaamiseen.

**Tulos**

DUSP1 säätelee apoptoosia ja solujen migraatiota, mutta ei JIP1-suojattua sytokiinivastetta, hengitystie- ja Sendai-virusinfektion aikana OPEN

**Esimerkki 1.6471**

Tässä raportissa kuvataan kliininen tapaus, jossa kissan tarttuva vatsakalvotulehdus (FIP), johon liittyi monisysteemisiä oireita, mukaan lukien useita nodulaarisia ihovaurioita, esiintyi kissalla, joka oli saanut samanaikaisen tartunnan kissan coronaviruksen ja kissan immuunikatoviruksen kanssa. Ihomuutokset johtuivat pyogranulomatoottisesta-nekrotisoivasta ihovaltimotulehduksesta ja periflebiitistä. Immunohistologia osoitti koronavirusantigeenin esiintymisen makrofageissa näissä leesioissa. FIP:n patogeneesiin kuuluu virukseen liittyvä, disseminoitunut laskimotulehdus ja periflebiitti, joka voi syntyä monissa paikoissa. Kohde-elimiin kuuluvat usein silmät, vatsaelimet, keuhkopussin ja vatsakalvon kalvot sekä keskushermostokudokset, mutta ihovaurioita ei ole aiemmin raportoitu.

**Tulos**

TAPAUSKERTOMUS Koronaviruksen aiheuttamaan vaskuliittiin liittyvät ihovauriot kissalla, jolla oli kissan tarttuva vatsakalvotulehdus ja samanaikainen kissan immuunikatovirusinfektio.

**Esimerkki 1.6472**

Taustaa: Euroopassa taudinpurkauksia on raportoitu vain satunnaisesti 1980-luvulta lähtien. Tällä hetkellä Euroopassa tällä hetkellä kiertävistä PEDV-kannoista ja niiden vaikutuksesta Euroopan sikatalouteen on saatavilla vain riittämättömiä tietoja. Tässä tapausselosteessa esitellään sikojen epidemian aiheuttaman ripulin epidemian puhkeaminen kolmella tilalla Lounais-Saksassa. Tapauksen esittely: Lounais-Saksassa raportoitiin kolmella tilalla, yhdellä lihotustilalla ja kahdella porsastuotantotilalla, toukokuun ja marraskuun 2014 välisenä aikana epidemiallisia ripuliepidemioita, jotka koskivat kaikkien ikäryhmien sikoja. Lihotustilalla kellertävään, vetiseen ripuliin, jossa ei ollut merkkejä liman tai veren esiintymisestä, liittyi rehun syönnin voimakas väheneminen. Kliinisten oireiden vakavuus ja kuolleisuus nuorissa imettävissä porsaissa vaihteli merkittävästi kahden emakkotilan välillä. Imettävien porsaiden kuolleisuus oli toisessa emakkotarhassa lähes 70 prosenttia, mutta toisella emakkotilalla ei havaittu imeväisten kuolleisuuden lisääntymistä. Kaikissa kolmessa tapauksessa PEDV todettiin ulosteessa ja ohutsuolessa RT-qPCR:llä. Täyspitkiin PEDV-genomeihin perustuvat fylogeneettiset analyysit osoittivat, että kaikkien kolmen karjan kannat olivat hyvin samanlaisia. Lisäksi saksalaisilla kannoilla oli erittäin suuri nukleotidien identiteetti (99,4 %) Yhdysvalloissa tammikuussa 2014 eristetyn PEDV:n muunnoksen (OH851) kanssa. Tämän kannan, jossa on lisäyksiä ja poistoja S-geenissä (ns. INDEL-kannat), virulenssin on raportoitu olevan pienempi. Muiden Yhdysvalloista ja Aasiasta peräisin olevien kantojen kanssa todettiin hieman alhaisempia tunnistetietoja. Päätelmät: PEDV-kantojen levinneisyydestä Euroopassa on hyvin vähän fylogeneettistä tietoa. Tässä tapausselosteessa osoitamme, että Etelä-Saksassa esiintyi akuutteja PEDV-taudinpurkauksia vuonna 2014. Nykyiset kannat erosivat selvästi 1980-luvulla löydetyistä isolaateista ja olivat läheistä sukua Yhdysvalloissa vuonna 2014 löydetylle PEDV-variantille. Lisäksi tämä tapausraportti osoittaa, että PEDV:n varianttikannat, jotka sisältävät lisäyksiä ja poistoja S-geenissä ja joiden virulenssin on raportoitu olevan alhaisempi, voivat aiheuttaa korkeaa kuolleisuutta imettäville porsaille.

**Tulos**

Sian epidemiallisen ripuliviruksen ilmaantuminen Etelä-Saksassa.

**Esimerkki 1.6473**

Imevät CD 1 -hiiret, jotka infektoitiin 0C43-viruksella aivojen sisäisesti tai ulkoisesti, saivat tappavan neurotrooppisen infektion, jossa viruksen pitoisuudet aivoissa olivat korkeat. Tartunnan saaneiden aivojen tutkiminen rutiininomaisella H&E-värjäyksellä ei paljastanut nekroosia edes laajasti tartunnan saaneessa kudoksessa. Resistenssi infektiota vastaan kehittyi iän kasvaessa, ja 20 päivän iässä hiiret olivat täysin vastustuskyvyttömiä i. e. -inokulaatiolle. Viruksen uudelleeninfektoituminen oli osoitettavissa myös FA-värjäyksellä selkäytimessä, dorsa-juuriganglioissa ja verkkokalvolla. Kaikki muut kudokset olivat vastustuskyvyttömiä, ja erityisesti sekä alttiiden että vastustuskykyisten hiirten makrofagien todettiin olevan vastustuskykyisiä infektiolle sekä riveissä että in vitro. Immunosuppressio teki 15 päivän ikäisistä hiiristä alttiimpia infektiolle, mutta aikuiset hiiret pysyivät alttiina infektiolle. Immuunisolujen tai ei-immuunisolujen siirto resistenteistä hiiristä ei antanut resistenssiä vastasyntyneille hiirille. Resistenttien hiirten käsittely interferoniglobuliinilla (AIG) ei tehnyt niistä herkempiä. Nämä tulokset osoittavat, että immuunivaste on osittain vastuussa 0C43-infektion vastustuskyvyn kehittymisestä, mutta että se suojaa vain osittain ja että tarvitaan myös muita tekijöitä. Imettävien hiirten hermokudosten ainutlaatuisen alttiuden perusteita tutkitaan parhaillaan.

**Tulos**

Archives of Virology Neuraalisten solujen valikoiva haavoittuvuus ja A9e-suhteinen alttius OC 43 -virukselle Miee:ssä.

**Esimerkki 1.6474**

Tiedetään vain vähän siitä, miten optimismi/pessimismi ja terveyteen liittyvä elämänlaatu ovat vertailukelpoisia eri kulttuureissa. Menetelmät: Kolme näytettä viimeisellä kolmanneksella olevista raskaana olevista naisista rekrytoitiin Kiinasta, Ghanasta ja Yhdysvalloista. Osallistujat täyttivät kyselytutkimuksen, joka sisälsi Life Orientation Test -Revised (LOT-R, optimismia/pessimismiä mittaava mittari), Short Form 12 (SF-12, elämänlaatua mittaava mittari) ja kysymyksiä, jotka koskivat terveyteen ja demografisiin tekijöihin liittyviä kysymyksiä. Analyysiä varten luotiin kolmen maan joukko, jossa naiset sovitettiin yhteen iän, ilmoittautumishetkellä vallinneen raskauden iän ja aiempien raskauksien lukumäärän perusteella. Anovia ja post-hoc-parivertailuja käytettiin tulosten vertailemiseksi eri kohorttien välillä. Monimuuttujaisen regressioanalyysin avulla luotiin malli, jonka avulla tunnistettiin muuttujat, jotka olivat vahvimmin yhteydessä optimismiin/pessimismiin. LOT-R-pisteet vaihtelivat merkittävästi eri kulttuurien välillä näissä näytteissä, ja ghanalaiset raskaana olevat naiset olivat optimistisimpia ja vähiten pessimistisiä, ja kiinalaiset raskaana olevat naiset olivat kokonaisuutena vähiten optimistisia ja ala-asteikollisessa analyysissä vähiten pessimistisiä. Neljä keskeistä muuttujaa ennusti noin 20 prosenttia kokonaisoptimismipisteiden vaihtelusta: alkuperämaa (p = .006), rahan eteen työskentely (p = .05), koulutustaso (p = .002) ja se, että tunne-elämän ongelmia on koskaan hoidettu lääkkeillä (p < .001). Elämänlaatupisteet vaihtelivat näissä näytteissä myös maittain, ja selvin ero oli elinvoimaisuutta mittaavassa mittarissa. Yhdysvaltalaiset raskaana olevat naiset ilmoittivat huomattavasti alhaisemmat elinvoimaisuuspisteet kuin otoksessamme olleet kiinalaiset ja ghanalaiset raskaana olevat naiset. Tämä tutkimus herättää tärkeitä kysymyksiä siitä, mikä alkuperämaassa vaikuttaa niin voimakkaasti raskaana olevien naisten optimismiin/pessimismiin. Lisätutkimus on perusteltua, kun tutkitaan optimismin/pessimismin ja terveyteen liittyvän elämänlaadun taustalla olevaa käsitteistöä eri maissa.

**Tulos**

BMC Pregnancy and Childbirth Optimismi/pessimismi ja terveyteen liittyvä elämänlaatu raskauden aikana kolmessa maanosassa: sovitettu kohorttitutkimus Kiinassa, Ghanassa ja Yhdysvalloissa.

**Esimerkki 1.6475**

Taustaa: Se on yksi yleisimmistä ja aggressiivisimmista ihmisen pahanlaatuisista kasvaimista maailmassa, erityisesti Itä-Aasiassa, ja sen kuolleisuus on erittäin korkea missä tahansa vaiheessa. Haluamme tutkia niklosamidin aiheuttaman solujen apoptoosin mekanismia HCC:ssä. Menetelmät: Kahta hepatoomasolulinjaa käytettiin niklosamidin solujen apoptoosia aiheuttavan aktiivisuuden arvioimiseksi ja sen mekanismin tutkimiseksi. Kvantitatiivista reaaliaikaista PCR:ää ja western blottingia käytettiin niklosamidin säätelemien geenien ilmentymisen tai aktiivisten proteiinien analysoinnissa. Tulokset: Niklosamidi indusoi merkittävästi solujen apoptoosia hepatoomasoluissa. Lisäksi tutkimuksemme osoitti, että RNA-riippuvainen proteiinikinaasin kaltainen kinaasi (PERK) aktivoituu ja sen ilmentyminen säätyy HCC-soluissa, jotka altistuvat niklosamidille. niklosamidi lisää myös merkittävästi aktivoivan transkriptiotekijän 3 (ATF3), aktivoivan transkriptiotekijän 4 (ATF4) ja CCAAT/enancer-sitovan proteiinin homologisen proteiinin (CHOP) ilmentymistä HCC-soluissa. On ehdotettu, että niklosamidin toiminta kumottiin PERK:n estäjällä tai puuttuvalla ATF3:lla. PERK:n ja CHOP:n ilmentyminen korreloi solujen ATF3-tason kanssa. Johtopäätökset: Tuloksemme osoittavat, että ATF3:lla on olennainen rooli niklosamidin aktivoimassa ER-stressissä ja HCC-solujen aiheuttamassa solujen apoptoosissa. Tässä tutkimuksessa tutkittiin myös niklosamidin uutta mekanismia syövän vastaisena aineena.

**Tulos**

Niklosamidi indusoi solujen apoptoosia ATF3:n säätelyn ja PERK:n aktivoinnin kautta hepatosellulaarisissa karsinoomasoluissa.

**Esimerkki 1.6476**

Määritettiin Quil A:sta, kolesterolista, dimetyylidioktadekyyliammoniumbromidista ja karbopolista (QCDC) koostuvan uuden adjuvanttiaineen vaikutukset suojaavaan immuniteettiin lintujen kokkidioosia vastaan Eimeria-rekombinanttiproteiinilla tehdyn immunisoinnin jälkeen. Broilerikanat immunisoitiin ihon alle isotonisella suolaliuoksella (kontrolli), pelkällä Eimeria-rekombinanttiprofiliinilla tai QCDC:llä emulgoidulla profiliinilla 1 ja 7 päivää kuoriutumisen jälkeen, ja niille annettiin suun kautta elävää Eimeria acervulina -bakteeriaa 7 päivää viimeisen immunisoinnin jälkeen. Suojaavan immuniteetin mittareina arvioitiin kehon painonnousu, suolistovaurioiden pistemäärät, ulosteen ookystapäästöt, profiliinin seerumin vasta-ainetitterit, lymfosyyttien proliferaatio ja suoliston sytokiinien transkriptiotasot. Profiliinilla ja QCDC:llä immunisoidut kanat saivat enemmän painonnousua ja vähensivät suolistovaurioarvoja verrattuna pelkkään profiliiniin tai kontrolliryhmiin. Ulosteen ookystien irtoamisessa ei kuitenkaan havaittu eroja näiden kolmen ryhmän välillä. Profiliinin seerumin vasta-ainetitterit ja antigeenin aiheuttama perifeerisen veren lymfosyyttien proliferaatio olivat korkeammat profiliini/QCDC-ryhmässä verrattuna pelkkään profiliiniin ja kontrolliryhmiin. Lopuksi, vaikka immunisointi pelkällä profiliinilla tai profiliinilla ja QCDC:llä lisäsi tasaisesti kaikkia tutkittuja sytokiineja (IL-1␤, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17F ja IFN-␥) koodaavien suoliston transkriptien tasoja kontrolliryhmään verrattuna, IL-10:n ja IL-17F:n transkriptit lisääntyivät edelleen profiliini/QCDC-ryhmässä pelkkää profiliinia sisältävään ryhmään verrattuna. Yhteenvetona voidaan todeta, että tässä tutkimuksessa on saatu ensimmäiset todisteet QCDC-adjuvantin immuniteettia lisäävistä vaikutuksista siipikarjassa. Julkaisija: Elsevier Ltd. 0264-410X/$ - katso etusivu. Julkaisija: Elsevier Ltd.

**Tulos**

Uuden adjuvantti- ja Eimeria profiliini -rokotteen vaikutukset suoliston immuunivasteeseen elävää E. acervulina -tartuntaa vastaan ଝ

**Esimerkki 1.6477**

Cordycepin, jota kutsutaan myös 3'-deoksiadenosiiniksi, on Cordyceps sinensis -kasvista peräisin oleva nukleosidianalogi, jolla on raportoitu olevan lukuisia biologisia ja farmakologisia ominaisuuksia. Aiempi tutkimuksemme osoitti, että kordycepiinin kasvainvastainen vaikutus voi liittyä apoptoosiin. Tässä tutkimuksessa tutkittiin kordycepiinin apoptoottista vaikutusta HepG2-soluihin käyttämällä 4' ,6-diamidino-2-fenylindoli-, tetraetyylibentsimidatsolyylikarbosyaniinijodidi- ja propidiumjodidivärjäysanalyysejä ja virtaussytometriaa. Tulokset osoittivat, että kordycepiinillä oli kyky estää HepG2-soluja ajasta ja annoksesta riippuvaisella tavalla, kun solut tuottivat tyypillisiä apoptoottisia morfologisia muutoksia, mukaan lukien kromatiinin tiivistyminen, sub-G1-solujen kertyminen ja mitokondrioiden läpäisevyyden muutos. Mahdollinen mekanismi ihmisen maksasyöpäsolujen HepG2-solujen cordycepiinin aiheuttamalle apoptoosille voi tapahtua ekstrinsisen signaalireitin kautta, jota välittää transmembraaninen Fas-assosioitunut kuoleman domeeniproteiini. Apoptoosiin liittyi myös Bcl-2-perheen proteiinien säätelyä, joka johtaa mitokondriokalvon läpäisevyyden muuttumiseen ja johtaa sytokromi c:n vapautumiseen sytosoliin. Kaspaasikaskadin aktivoituminen on vastuussa apoptoosin toteutumisesta. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että kordycepiinin aiheuttama apoptoosi HepG2-soluissa sisälsi ekstrinsisen ja intrinsisen signaalireitin, ja sitä säätelivät ensisijaisesti Bcl-2-perheen proteiinit.

**Tulos**

Cordycepin indusoi apoptoosia ihmisen maksasyövän HepG2-soluissa ekstrinsisten ja intrinsisten signaalireittien kautta.

**Esimerkki 1.6478**

Ihmisen suolistoperäisen koronaviruksen (Human Enteric Coronavirus, HEC) olemassaolosta on kiistelty siitä lähtien, kun se kuvattiin ensimmäisen kerran ulosteessa elektronimikroskoopilla (EM) vuonna 1975. Kysymyksen ratkaisemiseksi tarvitaan sen viljelyä helposti saatavilla olevissa solulinjoissa. Tavoitteet: Kasvattaa HEC:tä solulinjoissa. Kuvata sen ominaisuudet ja erottaa se muista ihmisen ja eläinten koronaviruksista. Tutkimusasetelma: HEC:tä kasvatettiin alun perin ihmisen sikiön suoliston elinkulttuurissa, ja se siirrettiin J774-soluihin (hiiren makrofagosolulinja) ja C6/36-soluihin (hyttyssolulinja). Sen sytopaattinen vaikutus (CPE) ja immunofluoresenssimalli kuvattiin. Sen esiintyminen varmistettiin negatiivisella värjäyksellä ja transmissioEM:llä. Sen rakenneproteiinit määritettiin polyakryyliamidigeelielektroforeesilla (PAGE) ja Western blottingilla (WB). Viruksen antigeeninen luonne määritettiin immunofluoresenssilla ja WB:llä. Agglutinaatio tehtiin hiiren erytrosyyttien kanssa. Tulokset: J774-soluissa HEC indusoi jättiläissolujen ja pienten synsyyttien muodostumista. Immunofluoresenssi rajoittui sekä J774- että C6/36-soluissa sytoplasmaan. Transmissio-EM-tutkimukset osoittivat, että viruksella oli muiden koronavirusten tyypillinen ulkonäkö, sen halkaisija oli 80-120 nm ja se nuppiutui endoplasmisen retikulumin sytostaateiksi. PAGE- ja WB-tutkimuksissa sen pääproteiinin keskimääräinen molekyylipaino (MW) oli 41 kilodaltonia (kDa). Kahden muun proteiinin MW:t olivat 190 ja 24 kDa. Immunofluoresenssin ja WB:n avulla HEC eroaa antigeenisesti ihmisen koronaviruksista 0C43 ja 229E sekä hiiren hepatiittiviruksesta (A59-kanta). HEC-valmisteet eivät agglutinoineet hiiren erytrosyyttejä. Päätelmät: Päätellään, että HEC on ihmisen koronavirus, joka ei ole antigeenisesti yhteydessä 0C43- ja 229E-viruksiin. HEC:n kasvattamisen helposti saatavilla olevissa solulinjoissa pitäisi auttaa selvittämään sen roolia patogeenina ihmisen ripulitaudeissa.

**Tulos**

Ihmisen suolistoperäisen koronaviruksen sopeutuminen solulinjoissa kasvamiseen

**Esimerkki 1.6479**

NIAID:n rahoittama Biodefense Proteomics Resource Center (RC) tarjoaa seitsemän proteomiikan tutkimuskeskuksen (PRC) tallentamien kokeellisten tietojen tallennus-, levitys-, visualisointi- ja analysointimahdollisuuksia. Tietojen ja niiden julkaisemisen tarkoituksena on tukea tutkijoita, jotka pyrkivät löytämään ehdokkaita seuraavan sukupolven rokotteita, terapeuttisia lääkkeitä ja diagnostiikkaa varten NIAID:n A-, B- ja C-luokan ensisijaisia patogeenejä vastaan. Tiedot sisältävät transkriptioprofiileja, proteiiniprofiileja, proteiinien rakennetietoja ja isännän ja patogeenin proteiinien välisiä vuorovaikutuksia patogeenin elinkaaren yhteydessä in vivo ja in vitro. Tietokantaan on tallennettu ja sitä on tuettu Bacillus-, Brucella-, Cryptosporidium-, Salmonella-, SARS-, Toxoplasma-, Vibrio- ja Yersinia-, ihmiskudoskirjastoista ja hiiren makrofageista saadut isäntä- tai patogeenitiedot. Nämä julkisesti saatavilla olevat tiedot kattavat erilaisia tietotyyppejä, kuten massaspektrometria, hiiva-kaksoishybridit (Y2H), geeniekspressioprofiilit, röntgen- ja NMR-kuvauksella määritetyt proteiinirakenteet ja proteiiniekspressiokloonit. Kasvava tietokanta kattaa yli 23 000 ainutlaatuista geeniä/proteiinia eri kokeista ja organismeista. Kaikki geenit/proteiinit on annotoitu ja integroitu kokeiden välillä UniProt Knowledgebase (UniProtKB) -numeroiden avulla. Tietokannan web-käyttöliittymä mahdollistaa haun, kyselyn ja lataamisen kokeen, ryhmän ja yksittäisen geenin/proteiinin/proteiinien tasolla UniProtKB-liittymänumeroiden tai proteiinien toimintoavainsanojen avulla. Järjestelmä on käytettävissä osoitteessa http://www.proteomicsresource.org/.

**Tulos**

Kehitteillä oleva tietoverkkoinfrastruktuuri biopuolustuksen taudinaiheuttaja- ja taudinaiheuttaja-isäntätietoja varten.

**Esimerkki 1.6480**

Taustaa: Ensimmäisen elinkuukauden aikana maitovasikoilla on merkittäviä haasteita, koska ne ovat erittäin alttiita ruoansulatuskanavan sairauksille. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli arvioida maidossa stabiloiduilla riisileseillä (SRB) täydennetyn prebioottisen lisäravinteen vaikutusta vieroitettujen luonnonmukaisten maitovasikoiden terveyteen, immuniteettiin ja suorituskykyyn. Holstein-hiehovasikat (n = 90) otettiin tutkimukseen 6 ± 1 päivän ikäisinä ja niitä seurattiin 28 päivän ajan heinä-elokuussa 2017. Vasikat jaettiin satunnaisesti kontrolliryhmään (CTR; n = 45) tai hoitoryhmään (SRB; n = 45). CTR-ryhmä sai pelkkää maitoa ja SRB-ryhmä sai 120 g SRB:tä päivässä maidossa, jotta saavutettiin 10 % w/w-annos kokonaiskaloreista. Vasikoiden terveydentilaa ja sairauden vakavuutta (terve, lievästi sairastunut, keskivaikeasti tai vakavasti sairas) arvioitiin päivittäin arvioimalla kokonaisvaltaisesti ripulia, nestehukkaa, asentoa ja maidon saantia. Ruumiinpainot ja ulosteen IgA-määritys suoritettiin tutkimuksen ensimmäisenä ja viimeisenä päivänä. Tulokset: SRB:n lisääminen ruokavaliossa ei vaikuttanut painonnousuun ja ulosteen IgA-pitoisuuksiin. Terveiksi tai sairaiksi luokiteltujen vasikkapäivien kokonaismäärä ei eronnut hoitoryhmien välillä. Myöskään lievästi sairaiksi, kohtalaisen sairaiksi tai vakavasti sairaiksi luokiteltujen vasikkapäivien määrä ei eronnut hoitoryhmien välillä. Aika-analyysit osoittivat, että hoitovaikutus vaikutti yleensä kontrollivasikoiden hyväksi siihen, miten kauan aikaa kului ensimmäiseen keskivaikeaan ripulitapaukseen (P = 0,08) ja miten kauan aikaa kului ripulista toipumiseen (P = 0,052). Päätelmät: Nämä tulokset osoittivat, että SRB:n lisääminen maitoon ei vaikuttanut vieroitettujen lypsävasikoiden terveyteen, immuniteettiin tai suorituskykyyn.

**Tulos**

Prebioottisen lisäravinteen vaikutus stabiloiduilla riisileseillä esivieroitettujen luonnonmukaisten holstein-vasikoiden maitoon.

**Esimerkki 1.6481**

Taustaa: Akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä (ARDS) on yksi lasten tehohoitoyksikön (PICU) tappavimmista sairauksista. Etiologisia taudinaiheuttajia ja ennustetekijöitä tutkittiin prospektiivisesti hengitystievirusinfektioita sairastavien lasten keuhkoahtaumataudin vakavassa vaiheessa. Menetelmät: Tutkimukseen osallistuneet lapset täyttivät seuraavat kriteerit: (1) PICU:lle ottaminen; (2) ikä 1 kuukausi - 16 vuotta; (3) infektiopneumonian ja hengitystievirusinfektion diagnoosi; ja (4) vakavan ARDS:n kehittyminen 72 tunnin kuluessa PICU:lle ottamisesta. Taudinaiheuttajat havaittiin verestä ja henkitorven huuhtelunesteestä molekyylitekniikoilla ja perinteisellä viljelyjärjestelmällä. Seerumin tulehdusvälittäjäainepitoisuudet tutkittiin PICU:lle tulopäivänä. Tulokset: Mukaan otettiin 57 potilasta (32 poikaa; keski-ikä 9 kuukautta). Useita virusinfektioita, samanaikaista bakteeri- tai sieni-infektiota ja bakteremiaa tai fungemiaa havaittiin 60 prosentilla, 49 prosentilla ja 32 prosentilla lapsista. Adenovirus-B:tä, tuhkarokkovirusta ja sytomegalovirusta havaittiin pääasiassa henkitorven huuhtelunesteessä. Ei-eloonjääneiden ja eloonjääneiden välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja taudinaiheuttajatyyppien, monivirustartunnan esiintyvyyden, sukupuolen, iän, kliinisten piirteiden ja hoidon suhteen. Seerumin interferoni (IFN)-γ-pitoisuudet ja IFN-γ/interleukiini (IL)-10-suhde olivat korkeammat muilla kuin eloonjääneillä. Päätelmät: IFN-γ:n nouseva säätely, joka havaittiin PICU:lle tulopäivänä, todettiin yhdeksi mahdolliseksi ennustetekijäksi, joka vaikuttaa kuolemaan johtavaan lopputulokseen. Nämä tulokset viittaavat siihen, että tulehdusreaktioiden modulointi on ratkaisevan tärkeää ARDS:ää sairastavien lasten kliinisessä hoidossa.

**Tulos**

Taudinaiheuttajien seulonta ja ennustetekijät lapsilla, joilla on vaikea keuhko-peräinen ARDS

**Esimerkki 1.6482**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) tunnistettiin ensimmäisen kerran vuonna 2012 vakavien ihmisten hengitystiesairauksien uudeksi aiheuttajaksi. Kuten muidenkin virusten tartunnan aikana, viruksen kaksisäikeisen RNA:n (dsRNA) havaitseminen isännässä indusoi useita antiviraalisia reittejä. Näihin kuuluvat interferoni (IFN), oligoadenylaattisyntetaasi (OAS)-RNaasi L ja proteiinikinaasi R (PKR). Koronavirukset, mukaan lukien MERS-CoV, tukahduttavat voimakkaasti näiden reittien aktivoitumisen ja saavat aikaan vain vaatimattomia isännän vasteita. Tutkimuksessamme kuvataan kahden MERS-CoV:lle ja siihen liittyville viruksille ominaisen lisäproteiinin, NS4a:n ja NS4b:n, toimintaa infektion aikana ihmisen hengitysteiden epiteelistä peräisin olevissa A549-soluissa. NS4a on aiemmin luonnehdittu dsRNA:ta sitovaksi proteiiniksi, kun taas NS4b on 2=,5=-fosfodiesteraasi, jolla on rakenteellinen ja entsymaattinen samankaltaisuus hiiren hepatiittiviruksen (MHV) koodaaman NS2:n kanssa. Havaitsimme, että NS4a:n deleetio johtaa lisääntyneeseen interferoni lambda (IFNL1) -ekspressioon, samoin kuin NS4b:n katalyyttisen paikan tai ydinalueen lokalisointisekvenssin mutaatio. Kaikkien testaamiemme mutanttivirusten replikaatio väheni hieman. Olemme aiemmin raportoineet, että MHV NS2:n tavoin NS4b antagonisoi OAS-RNaasi L:ää, mutta IFN:n tukahduttaminen on virusten fosfodiesteraasien aiemmin tunnistamaton tehtävä. Odottamatta NS4a:n poistaminen ei johda PKR- tai OAS-RNaasi L -reittien voimakkaaseen aktivoitumiseen. Siksi MERS-CoV koodaa todennäköisesti muita proteiineja, jotka osaltaan tukahduttavat tai kiertävät näitä antiviraalisia synnynnäisen immuniteetin reittejä, joiden pitäisi olla tulevan työn tärkeä painopiste. Tämä tutkimus tarjoaa lisätietoa MERS-CoV:n ja isännän immuunivasteen monimutkaisista vuorovaikutussuhteista. TÄRKEÄÄ Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) on toinen uusi zoonoottinen koronavirus, joka on ilmaantunut 21. vuosisadalla ja aiheuttaa vakavia hengitystiesairauksia. Tähän mennessä on raportoitu yli 2 200 tapausta ja 800 kuolemantapausta, mutta vielä ei ole olemassa lisensoituja rokotteita tai hoitoja. Koronavirukset koodaavat ainutlaatuisia liitännäisproteiineja, joita ei tarvita replikaatioon, mutta joilla on todennäköisesti merkitystä immuunivastaisuudessa ja/tai patogeneesissä. Tutkimuksessamme kuvataan MERS-CoV:n liitännäisproteiinien NS4a ja NS4b toimintaa ihmisen hengitysteistä peräisin olevan solulinjan infektion aikana. Näiden liitännäisproteiinien häviäminen MERS-CoV-infektion aikana johtaa isännän antiviraaliseen aktivoitumiseen ja heikentää hieman replikaatiota. Sekä NS4a:n että NS4b:n osalta olemme tunnistaneet infektion aikana tehtäviä, joita ei ole aiemmin kuvattu, mutta voimakkaan aktivaation puuttuminen viittaa siihen, että MERS-CoV:n ja infektoituneen isännän välisestä vuorovaikutuksesta on vielä paljon opittavaa. infektiossa, jotta voidaan paljastaa niiden koko vuorovaikutussuhde synnynnäisen immuunivasteen kanssa. TULOKSET Tutkiaksemme NS4a:n ja NS4b:n vaikutuksia MERS-CoV:n vuorovaikutukseen isännän synnynnäisen immuunijärjestelmän kanssa käytimme rekombinanttisten MERS-CoV-mutanttien paneelia. Poistomutantit MERS-ΔNS4a ja MERS-ΔNS4ab tuotettiin MERS-EMC2012-kannasta (27) peräisin olevasta MERS-CoV:n infektiivisestä kloonista seuraavasti, ja ne on kuvattu yksityiskohtaisesti Materiaalit ja menetelmät -osiossa, ja ne on esitetty kaaviomaisesti kuvassa. Lyhyesti sanottuna MERS-ΔNS4a tuotettiin muuttamalla aloituskodonia (ATG¡ATT) ja lisäämällä 10 koodonia alempana ruudussa oleva lopetuskodoni (TGG¡TGA), jotta MERS-CoV NS4a:n ja NS4b:n rekombinanttimutanttimutaatioiden synteesi saatiin katkaistua (KUVA 1). (A) MERS-CoV-genomin RNA, jossa on esitetty avoimet lukukehykset. (B) Villi- ja mutantti-MERS-CoV:ien ilmentämät NS4a- ja NS4b-proteiinit. PDE:n katalyyttiset His-jäämät on esitetty, ja pystysuora musta palkki osoittaa NS4b:n NLS:n; punaisella on merkitty katalyyttisen His-jäämän ja NLS:n sisällä tapahtuneet aminohappojen vaihdokset. (C) Virusproteiinien ilmentäminen rekombinantti-MERS-CoV-viruksista. A549 DPP4-solut infektoitiin MOI:lla 10 WT-MERS-CoV:lla, MERS-ΔNS4a:lla, MERS-ΔNS4ab:lla, MERS-NS4b H182R:llä tai MERS-NS4b NLSmut:lla tai pilainfektoituna. Solulysaatit valmistettiin 24 ja 48 tuntia infektion jälkeen, analysoitiin SDS-PAGE:lla ja tutkittiin Western blotting -menetelmällä kanin antiseerumilla NS4a:ta ja NS4b:tä vastaan tai hiiren monoklonaalisilla vasta-aineilla MERS:n nukleokapsidiproteiinia (N) ja GAPDH:ta vastaan. Western blot -tiedot ovat yhdestä edustavasta kolmesta riippumattomasta infektiosta.

**Tulos**

NS4a- ja NS4b-apuproteiinien aiheuttamien dsRNA:n indusoimien sisäisen immuunijärjestelmän reittien antagonismi MERS-koronaviruksen tartunnan aikana.

**Esimerkki 1.6483**

julkisin varoin rahoitetut arkistot, kuten WHO:n COVID-tietokanta, joissa on oikeus rajoituksettomaan tutkimukselliseen uudelleenkäyttöön ja analyyseihin missä tahansa muodossa ja millä tahansa tavalla, kunhan alkuperäinen lähde mainitaan. Elsevier myöntää nämä oikeudet ilmaiseksi niin kauan kuin COVID-19-resurssikeskus on aktiivinen. Kongressi on muuttanut FD&C Act -lakia useita kertoja sen voimaantulon jälkeen, muun muassa vuonna 1997 annetulla FDA:n nykyaikaistamislailla (FDAMA), vuonna 2007 annetulla FDA:n muutoslailla (FDAAA) ja viimeisimpänä vuonna 2012 annetulla FDA:n turvallisuus- ja innovaatiolailla (FDASIA). Vuoden 1997 FDAMA-laki sisälsi muun muassa toimenpiteitä biologisten lääkkeiden sääntelyn nykyaikaistamiseksi synkronoimalla niiden tarkistusprosessi lääkkeiden tarkistusprosessin kanssa ja poistamalla vaatimus biologisten lääkkeiden toimiluvasta. FDAMA:n nojalla sallittiin myös nopeutetut hyväksymismenettelyt hengenvaarallisten tilojen osalta. 5

**Tulos**

Rokotteiden sääntely ja testaus

**Esimerkki 1.6484**

Yksinkertainen yhteenveto: Emävasikoiden kasvatus maitotilalla on ratkaisevan tärkeää karjan koon säilyttämiseksi, karjan geneettisen laadun parantamiseksi ja taloudellisen kestävyyden säilyttämiseksi. Korvaavien naaraspuolisten hiehojen kasvuun tarvitaan kahden vuoden investointikausi ennen lypsykarjaan siirtymistä. Korvaavien hiehojen hoito tämän kahden vuoden jakson aikana voi vaihdella suuresti eri tilojen välillä, mikä vaikeuttaa tuottajien kustannusten vertailua vertailuarvoihin. Tämän hankkeen tavoitteena oli kehittää malli, jonka avulla voidaan laskea korvaavan hiehon kasvatuskustannukset syntymästä vieroitukseen eri pitopaikoissa, eri maidonlähteissä, eri jako-osuuksissa sekä eri työvoima- ja terveyspäätöksissä ja jota voidaan käyttää lypsykarjatilojen päätöksenteon tukivälineenä. Laskimme kustannukset hoitovaihtoehdoille yleisten kustannusarvojen avulla. Havaitsimme, että keskimääräiset rehukustannukset muodostivat 46 prosenttia kokonaiskustannuksista, kun taas työvoiman osuus oli 33 prosenttia, kiinteiden ja muuttuvien kustannusten osuus 9 prosenttia ja 12 prosenttia. Kokonaiskustannukset kasvoivat maitomäärän kasvaessa, mutta kustannukset kilogrammaa kohti laskivat. Kokonaiskustannusten vaihteluväli kunkin hoitoskenaarion sisällä on usein suurempi kuin kustannusten ero eri skenaarioiden välillä. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että muuttuvat kustannukset voivat vaihdella toimintojen välillä, ja niillä on suuri merkitys korvaavien eläinten kasvatuksen kokonaiskustannuksissa syntymästä vieroitukseen. Tiivistelmä: Lypsyvasikoita kasvatetaan erilaisissa pito- ja ruokintaympäristöissä maitotiloilla ympäri Pohjois-Amerikkaa. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli kehittää simulointimalli, jonka avulla voidaan laskea korvaavien lypsykarjan hiehojen kasvatuskustannukset käyttämällä erilaisia tuotantopanoksia, jotka kuvastavat erilaisia hoitopäätöksiä, ja arvioida niiden vaikutusta kokonaiskustannuksiin. Tässä simulaatiossa mallinnettiin 84 vasikkaa 0-2 kuukauden iässä, mikä kuvastaa 1000 hiehon karjaa. Laskettiin päätökset, jotka liittyivät asumiseen, nestemäisen rehun lähteeseen ja tukeen, työvoiman käyttöön ja terveyteen. Kustannukset ja biologiset vasteet heijastivat julkaistuja tutkimuksia, kirjallisuutta ja markkinaolosuhteita. Kullekin hoitoskenaariolle käytettiin 10 000 iteraation taloussimulaatiota @Risk- ja PrecisionTree-lisäosia (Palisade Corporation, Ithaca, NY, USA) käyttäen, jotta otettiin huomioon ennen vieroitusta tapahtuvan kuolleisuuden, vieroitus-iän ja tautien esiintyvyyden vaihtelu. Kun maitomäärä kasvoi, rehun kokonaiskustannukset kasvoivat. Vasikoiden ruokkiminen suuremmalla maitomäärällä johti alhaisempiin kustannuksiin lihotuskiloa kohti. Keskimääräinen rehukustannusten osuus kokonaiskustannuksista oli 46 % (min, max: 33 %, 59 %), kun taas työvoimakustannusten osuus oli 33 % (20 %, 45 %), kiinteiden ja muuttuvien kustannusten osuus 9 % (2 %, 12 %) ja 12 % (10 %, 14 %). Kokonaiskustannukset ennen vieroitusta vaihtelivat 258,56-582,98 dollariin vasikkaa kohti kaikissa hallintaskenaarioissa ja maitoannoksissa. hankkeen hallinnointi, J.H.C.C. Kirjoittajat haluavat kiittää Dannonia jatkuvasta tuesta tälle hankkeelle.

**Tulos**

Taloudellinen analyysi lypsylehmien hiehojen vieroitusta edeltäviin hoitostrategioihin liittyvistä kustannuksista.

**Esimerkki 1.6485**

Taustaa: SARS-tauti (vaikea akuutti hengitystieoireyhtymä) aiheutti vuonna 2003 satoja tartuntoja ja kuolemantapauksia maailmanlaajuisesti. Tarkoituksenamme on arvioida puhdistetun inaktivoidun Vero-solun SARS-rokotteen immunogeenisuutta ja suojaavaa tehoa apinoilla. Menetelmät: SARS-koronaviruksen (SARS-CoV) BJ-01-kannan infektoimat Vero-soluviljelmät inaktivoitiin ␤-propiolaktonilla. Puhdistetun inaktivoidun SARS-rokotteen saamiseksi suoritettiin peräkkäisiä menettelyjä, kuten ultrasuodatus, geelisuodatus ja ioninvaihtokromatografia. Puhdistettu SARS-rokote analysoitiin elektronimikroskoopilla, HPLC:llä ja Western blottingilla. Immunisoimme kolme ryhmää cynomolgus macaques fascicularis -makakkeja adjuvanttia sisältävällä puhdistetulla rokotteella, puhdistetulla rokotteella ja puhdistamattomalla rokotteella, ja neljäs ryhmä toimi kontrollina. Vasta-ainetitterit mitattiin plakkien pelkistymisneutralisaatiotestillä. Rokotetut apinat altistettiin SARS-CoV BJ-01 -kannalle suojaavan tehon havaitsemiseksi. Lisäksi kolme ryhmää rhesusapinoita immunisoitiin eri annoksilla puhdistettua inaktivoitua SARS-rokotetta (0,5, 1 ja 2 g/kerta/apina) päivinä 0 ja 7, ja apinat altistettiin SARS-CoV GZ-01 -kannalle. Arvioimme SARS-rokotteen turvallisuutta ja havainnoimme, esiintyikö vasta-aineesta riippuvaista tehostumista (ADE) alhaisilla neutraloivien vasta-aineiden tasoilla reesusapinoissa. Tulokset: SARS-rokotteen puhtaus oli 97,6 % HPLC-tunnistuksen perusteella, ja se reagoi SARS-potilaiden toipilasseerumien kanssa. Puhdistettu SARS-rokote aiheutti korkeat neutraloivien vasta-aineiden tasot ja esti SARS-CoV:n lisääntymisen apinoissa. Matalilla neutraloivien vasta-aineiden tasoilla ei havaittu kliinisten oireiden pahenemista, kun immunisoidut apinat altistettiin SARS-CoV:lle. Tässä alustavassa eläinkokeessa ei havaittu sivuvaikutuksia, kun apinoita immunisoitiin puhdistetulla SARS-rokotteella joko normaaleina tai suurina annoksina. Tulkinta: Puhdistettu inaktivoitu SARS-rokote saattoi saada aikaan suuria määriä neutraloivia vasta-aineita ja suojata apinoita SARS-CoV:n aiheuttamalta haasteelta. Tutkimuksessa valmistettu SARS-rokote näytti olevan turvallinen apinoille.

**Tulos**

Puhdistetun inaktivoidun Vero-soluista valmistetun SARS-rokotteen immunogeenisuus ja suojaava teho apinoilla.

**Esimerkki 1.6486**

Herkkä ja spesifinen menetelmä tarttuvan keuhkoputkentulehdusviruksen (IBV) diagnosoimiseksi on erittäin tärkeä. Tässä tutkimuksessa kuvataan reaaliaikaisen TaqMan ® RT-PCR-menetelmän kehittämistä, joka kohdistuu IBV:n erittäin konservoituneeseen nukleokapsidigeeniin (N) ja sisältää sisäisen PCR-kontrollin. Määritys oli spesifinen IBV:lle eikä se osoittanut muita lintupatogeenejä, kuten kalkkunoiden koronaviruksia. Vertaileva toteamisraja määritettiin M41-kannalle, joka on alkioon sopeutunut kanta, ja IS/885/00-kannalle, joka on huonosti alkioon sopeutunut muunnos. M41:n osalta reaaliaikainen RT-PCR ja viruksen eristäminen olivat yhden tai kaksi kertaa herkempiä kuin N- tai piikkiglykoproteiinin (S1) geeneihin kohdistuva RT-PCR. IS/885/00:n osalta reaaliaikainen RT-PCR oli kymmenkertaisesti herkempi kuin viruseristys ja 30- tai 40-kertaisesti herkempi kuin N-geenin tai S1-geenin RT-PCR. Reaaliaikainen RT-PCR ja viruksen eristäminen olivat 17-75 prosenttia herkempiä kuin S1-geeniin kohdistuva RT-PCR, kun testattiin henkitorven pyyhkäisynäytteitä suoraan kokeellisesti tartunnan saaneista poikasista. Kun kliinisistä näytteistä peräisin olevat henkitorvi- ja kloakaalipyyhkäisynäytteet testattiin suoraan, 50 prosenttia useammat näytteet olivat positiivisia reaaliaikaisella RT-PCR:llä kuin S1-geenin RT-PCR:llä. N-geeniin kohdistuva reaaliaikainen RT-PCR on herkempi kuin tavanomaiset diagnostiset määritykset, mikä mahdollistaa nopean ja tarkan IBV:n osoittamisen suoraan kliinisistä näytteistä ja helpottaa erotusdiagnoosia.

**Tulos**

Reaaliaikaisen TaqMan ® RT-PCR-määrityksen kehittäminen tarttuvan keuhkoputkentulehdusviruksen osoittamiseksi kanoilla ja RT-PCR:n ja viruksen eristämisen vertailu

**Esimerkki 1.6487**

Proteolyyttisillä entsyymeillä on olennaisia metabolisia ja säätelytoimintoja monissa biologisissa prosesseissa, ja niillä on myös monenlaisia bioteknisiä sovelluksia. Niiden keskeisten tehtävien vuoksi niiden proteolyyttistä aktiivisuutta on säädeltävä tiukasti. Siksi proteaaseja estävät pienet molekyylit ja proteiinit voivat olla monipuolisia välineitä lääketieteen, maatalouden ja biotekniikan aloilla. Lääketieteessä proteaasi-inhibiittoreita voidaan käyttää diagnostisina tai terapeuttisina aineina virus-, bakteeri-, sieni- ja loistaudeissa sekä syövän ja immunologisten, neurodegeneratiivisten ja sydän- ja verisuonitautien hoidossa. Niitä voidaan käyttää kasvinsuojelussa kasvipatogeeneja ja kasvinsyöjiä vastaan sekä abioottista stressiä, kuten kuivuutta, vastaan. Lisäksi proteaasi-inhibiittorit ovat välttämättömiä proteiinien puhdistusmenetelmissä, jotta estetään ei-toivottu proteolyysi heterologisen ilmentymisen tai proteiinien uuttamisen aikana. Ne ovat myös arvokkaita välineitä proteaasien yksinkertaiseen ja tehokkaaseen puhdistukseen affiniteettikromatografian avulla. Koska proteaaseja on niin paljon ja erilaisia prokaryooteissa, hiivoissa, säikeissienissä ja sienissä, voimme olettaa, että ne ovat myös proteaasi-inhibiittorien rikas lähde.

**Tulos**

MINI-REVIEW Mikrobien ja sienten proteaasinestäjät - nykyiset ja mahdolliset sovellukset

**Esimerkki 1.6488**

Japanin enkefaliittivirus (JEV) on hyttysten levittämä flavivirus, jolla on positiivinen-senssinen yksijuosteinen RNA-genomi, joka sisältää suuren avoimen lukukehyksen (ORF), jota reunustavat 5 - ja 3untranslated regions (UTR). Itä-Aasiassa raportoidaan edelleen vuosittain lähes 30 000 JE-tapausta ja 10 000 kuolemantapausta. Vaikka JEV:n genotyypin III rokote on hyväksytty, se antaa heikomman suojan muita genotyyppejä vastaan. Lisäksi JE-tapaukseen ei ole kehitetty tehokasta hoitoa. Tässä tutkimuksessa rakennettiin pBR322-pohjainen ja sytomegalovirusten (CMV) promoottorilla ohjattu JEV-replikoni JEV:n yhden kierroksen infektiivisten hiukkasten (SRIP) tuottamiseksi pakkaussolulinjassa, joka ilmentää viruksen rakenneproteiineja. JEV-genomin cDNA:n geneettinen epävakaus pBR322-plasmidissa liittyi JEV-genomin 5-päässä olevaan prokaryoottiseen promoottoriin, joka käynnistää rakenneproteiinien ilmentymisen E. coli -bakteerissa. JEV:n rakenneproteiinit olivat myrkyllisiä E. colille, joten rakenneproteiinien koodausalue korvattiin pBR322-pohjaisessa JEV-EGFP-replikonissa reportterigeenillä (tehostettu vihreä fluoresoiva proteiini, EGFP), joka oli fuusioitu C-proteiinin kahdeksan ensimmäisen aminohapon kanssa N-terminaalissa ja suu- ja sorkkatautiviruksen (FMDV) 2A-peptidin kanssa C-terminaalissa. JEV-EGFP-replikonilla transfektoiduista pakkaussoluista tuotetut JEV-EGFP SRIP:t osoittivat infektiivisyyttä sytopaattisen vaikutuksen indusoimalla, virusgenomien itsereplikoitumista sekä EGFP:n ja virusproteiinien ilmentymistä. Lisäksi JEV-EGFP SRIP:n ja virtaussytometrian yhdistelmää käytettiin viruslääkkeiden puoliksi maksimaalisen inhiboivan pitoisuuden (IC50) arvojen määrittämiseen fluoresenssin intensiteetin ja SRIP-infektoitujen pakkaussolujen positiivisuuden perusteella käsittelyn jälkeen. MJ-47, kinatsolinonijohdannainen, esti merkittävästi JEV:n aiheuttamaa sytopaattista vaikutusta vähentämällä JEV-EGFP-replikonin replikaatiota ja ilmentymistä in vitro. MJ-47:n IC50-arvo 6,28 µM JEV:tä vastaan määritettiin pakkaussolujen JEV-EGFP SRIP-infektion määrityksellä sekä virtaussytometrialla, joka oli herkempi, tehokkaampi ja tehokkaampi kuin perinteinen plakkitesti. Näin ollen JEV-EGFP SRIP-solujen ja virtaussytometrian järjestelmä oli nopea ja luotettava alusta viruslääkkeiden seulontaan ja viruslääkkeiden tehon arviointiin.

**Tulos**

Japanin aivotulehdusviruksen yhden kierroksen infektiohiukkasen antiviraaliset seulontamääritykset.

**Esimerkki 1.6489**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (MERS-CoV) aiheuttaa vuonna 2012 löydetty uusi koronavirus. Sen jälkeen Saudi-Arabian kuningaskunta (KSA) ja muut maat, joissa virus on esiintynyt, ovat ilmoittaneet 1806 tapausta, joista 564 on kuollut, 1. kesäkuuta 2016 mennessä. Aiemmassa kirjallisuudessa MERS-CoV:n leviämisen lisääntymisen on katsottu ajoittuvan kamelien lisääntymiskauteen, sillä kamelit ovat todennäköisesti viruksen reservuaari. Tämä kirjallisuuskatsaus ja sen jälkeinen analyysi osoittavat kuitenkin, että kausivaihtelua ei ole. Takautuva epidemiologinen klusterianalyysi tehtiin MERS-CoV:n tartuntojen lisääntymisen sekä kotitalous- ja sairaalaklustereita koskevien raporttien tutkimiseksi. Tapaukset tarkistettiin ja tapausten väliset yhteydet osoitettiin laajalla kirjallisuuskatsauksella ja puolustusvoimien terveysvalvontaosaston (Armed Forces Health Surveillance Branch) porrastetulla lähteiden luokittelujärjestelmällä. Kaikkiaan tunnistettiin 51 klusteria, joista suurin osa oli sairaalasyntyisiä (80-4 %) ja suurin osa KSA:ssa (45-1 %). Klusterit vastasivat ajallisesti useimpia suurimman esiintyvyyden jaksoja, mikä viittaa vahvaan korrelaatioon sairaalainfektion ja tapausten huomattavan lisääntymisen välillä.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (MERS-CoV) epidemian retrospektiivinen epidemiologinen klusterianalyysi avoimen lähdekoodin tietoja käyttäen.

**Esimerkki 1.6490**

Katastrofiriskien vähentäminen on yhä tärkeämpi poliittinen kysymys erityisesti kehitysmaissa, jotka kärsivät suurimman osan katastrofeihin liittyvistä maailmanlaajuisista inhimillisistä ja taloudellisista menetyksistä. Yleisön tietoisuus ja asenteet voivat auttaa katastrofiriskin vähentämisessä ja hallinnassa, jotta kuolleisuutta ja taloudellisia menetyksiä voidaan vähentää. Saudi-Arabiassa monet kaupungit ovat viime aikoina kärsineet katastrofeista, kuten tulvista, tautiepidemioista ja hiekkamyrskyistä. Katastrofiriskiä koskevia yleisiä käsityksiä maassa on kuitenkin tutkittu vain vähän ja vasta alkuvaiheessa. Siksi tässä tutkimuksessa tutkitaan kyselylomaketutkimuksen (n ¼ 683) perusteella yleisön käsityksiä ja asenteita katastrofiriskeistä Dammamissa, Saudi-Arabian rannikkokaupungissa. Tulokset osoittavat, että vaikka lähes kaksi kolmasosaa (64,7 %) osallistujista on tietoinen katastrofeista ja 81 prosenttia on huolissaan katastrofiriskeistä, alle puolet (47,3 %) uskoo, että heidän paikkakuntansa voi olla vaarassa. Vaikka 37 prosenttia vastaajista on sitä mieltä, että katastrofit johtuvat sekä luonnollisista tekijöistä että ihmisen toiminnasta, noin puolet (54 prosenttia) katsoo, että he voivat itse vaikuttaa katastrofiriskien vähentämiseen. Khiin neliöanalyysi osoittaa, että asuinpaikan ja katastrofiriskien havaitsemisen (χ2 (6) ¼ 56,18, p < 0,05) sekä asuinpaikan ja katastrofiriskeistä huolestumisen (χ2 (12) ¼ 68,47, p < 0,05) välillä on merkitsevä positiivinen yhteys. Asiakirjassa suositellaan yleisen tietoisuuden lisäämistä ja myönteisen käyttäytymisen kannustamista katastrofiriskien vähentämiseksi tutkimusalueella ja vastaavissa ympäristöissä.

**Tulos**

Yleisön käsitykset ja asenteet katastrofiriskeistä Saudi-Arabian rannikkokaupungissa.

**Esimerkki 1.6491**

Sian epidemiaripulivirus (PEDV) on sianlihantuotannon taudinaiheuttaja. Villisikapopulaatio muodostaa suuren riskin viruspatogeenin reservoijaksi. Etelä-Koreasta vuosina 2010/11 kerätyistä villisioista (Sus scrofa) otetut 2 8007 näytettä analysoitiin RT-PCR:llä, ja PEDV-tartuntaprosentti oli 9,75 (28/287). PEDV-positiiviset näytteet jakautuivat koko Etelä-Korean mantereelle, ja ne keskittyivät demilitarisoidun vyöhykkeen (DMZ) pohjoisrajalle ja vuoristoalueille. Villisikojen PEDV oli fylogeneettisissä tutkimuksissa geneettisesti samanlainen kuin kiinalaiset PEDV-kannat. Tuloksemme osoittivat, että PEDV kiertää villisioissa, ja antoivat uutta tietoa PEDV-infektion epidemiologiasta.

**Tulos**

Sian epidemiaripulivirusta (PEDV) kantavat villisiat voivat olla tärkeitä PEDV:n reservuaareja.

**Esimerkki 1.6492**

Arvioimme spesifisen solu- ja humoraalisen immuunivasteen enterovirus 71 (EV71) -infektiotapauksissa ja suhteutimme immuunivasteen kliiniseen lopputulokseen. Saatuamme tietoon perustuvan suostumuksen otimme mukaan 30 EV71-tapausta, joista 7 tapausta, joissa oli aivorungon enkefaliitti ja keuhkoödeema, 12 tapausta, joissa oli mukana keskushermosto (CNS), ja 11 komplisoitumatonta tapausta. Mittasimme EV71:lle spesifiset vasta-aineet, lymfosyyttien proliferaatiovasteen ja EV71:n stimuloiman Th1/Th2-sytokiinien ja kemokiinien soluvasteen. Seitsemässä EV71-tapauksessa, joihin liittyi aivorungon enkefaliitti ja keuhkoödeema, fytohemagglutiniinistimulaatioindeksi oli merkittävästi pienempi kuin muissa tapauksissa (p ϭ 0,04). Perifeeristen mononukleaaristen solujen EV71-stimulaation jälkeen solujen Th1-sytokiinien (␥interferoni) ja proinflammatroy-sytokiinien määrä lisääntyi merkittävästi. Keuhkoödeemaa sairastavilla tapauksilla oli kuitenkin merkitsevästi vähemmän solujen ␥-interferonia (p ϭ 0,04), vähemmän solujen IL-1␤ (p ϭ 0,04), vähemmän solujen IL-6 (p ϭ 0.04), alhaisempi solun tumorinekroositekijä-␣-vaste (p ϭ 0,04) ja alhaisempi solun makrofagien tulehdusproteiini-1␣-vaste (p ϭ 0,04) muihin tapauksiin verrattuna. Heidän EV71:tä neutraloivien vasta-aineiden titterinsä eivät osoittaneet eroa tapausten välillä. Nämä tulokset viittaavat siihen, että alhaisempi EV71-spesifinen soluvaste saattaa liittyä EV71:ään liittyvän keuhkopöhön immunopatogeneesiin. (Pediatr Res 60: 466-471, 2006) Lyhenteet: EV71, enterovirus 71; IP-10, interferoni ␥-indusoituva proteiini-10; MCP, monosyyttien kemoattraktiivinen proteiini; MIP, makrofagien tulehdusproteiini; PHA, fytohemagglutiniini; RANTES, regulated on activation, normal T expressed and secreted; TCID 50 , 50 %:n kudosviljelyssä infektoituva annos 0031-3998/06/6004-0466 PEDIATRIC RESEARCH

**Tulos**

Ennemminkin soluvälitteisen kuin humoraalisen immuniteetin tila korreloi enterovirus 71:n kliinisen lopputuloksen kanssa.

**Esimerkki 1.6493**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) on edelleen uhka kansanterveydelle maailmanlaajuisesti, mutta tehokasta rokotetta tai lääkettä CoV:tä vastaan ei ole vielä saatavilla. CoV-heliksaasi on yksi kolmesta evolutiivisesti eniten konservoituneesta proteiinista nidoviruksissa, mikä tekee siitä tärkeän lääkekehityksen kohteen. Raportoimme tässä ensimmäisen rakenteen täyspitkälle koronaviruksen helikaasille, MERS-CoV nsp13:lle. MERS-CoV:n helikaasilla on useita domeeneja, mukaan lukien N-terminaalinen Cys/His-rikas domeeni (CH), jossa on kolme sinkkiatomia, beetatukidomeeni ja C-terminaalinen SF1-helikaasiydin, jossa on kaksi RecA:n kaltaista aladomeenia. Rakenneanalyysimme osoittavat, että vaikka nsp13:n domeeniorganisaatio on konservoitunut kaikissa nidoviruksissa, nsp13:n yksittäiset domeenit ovat läheistä sukua Upf1-helikaaasien vastaaville eukaryoottisille domeeneille. Erikoisin piirre, joka erottaa CoV-heliksaasit eukaryoottisista Upf1-heliksaaseista, on CH-domeenin ja helikaasiytimen välinen vuorovaikutus. Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirus (SARS-CoV) ja Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) aiheuttivat vuosina 2003 ja 2012 maailmanlaajuisia pandemioita, joissa kuolleisuusaste oli 10-35 prosenttia. MERS-CoV:n puhkeaminen Korean tasavallassa vuonna 2015 osoitti, että äskettäin ilmaantuneet ko-virukset ovat edelleen huolenaihe kansanterveydelle. Tehokkaita rokotteita ja lääkkeitä CoV-viruksia vastaan ei kuitenkaan vielä ole. CoV:n koodaamista ei-rakenteellisista proteiineista (nsp) nsp13-heliksaasia pidetään yhtenä tärkeimmistä lääkekohteista. Nsp13 on erittäin konservoitunut proteiini CoV:issä ja nidoviraleissa, ja se on yksi kahdesta keskeisestä komponentista kalvoon liittyvässä replikaatio-transkriptiokompleksissa, joka suorittaa viruksen RNA-synteesin. Vaikka CoV-koodattuja proteiineja on karakterisoitu rakenteellisesti vuosikymmeniä, nsp13:n rakennetta ei kuitenkaan ole saatu selville. Tässä tutkimuksessa määritimme ensimmäisen kiderakenteen täyspitkälle MERS-CoV nsp13:lle. MERS-CoV:n helikaasilla on N-terminaalinen Cys/His-rikas domeeni (CH), jossa on kolme sinkkiä, beta-barrel-domeeni ja C-terminaalinen SF1-helikaasiydin. Vaikka nsp13:n domain-organisaatio on samanlainen kuin arteriviruksen nsp10:n, nsp13:n yksittäiset domainit ovat läheistä sukua niiden PLOS Pathogens | https://doi.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen helikaasin kiderakenne

**Esimerkki 1.6494**

Naudan hengitysteiden koronavirusinfektioiden (RBCV) vasta-ainevasta-aineita seurattiin nautaeläimissä luonnossa esiintyvän vakavan kuljetuskuumeen (SF) puhkeamisesta siihen asti, kun sairastunut karja toipui täysin tai kuoli. RBCV-infektio havaittiin 86 naudan nenäneritteessä, ja 81 naudalle kehittyi akuutti hengitystiesairaus, mukaan lukien kuolemaan johtanut keuhkokuume. RBCV:tä nenästä epitsootian alussa erittävillä naudoilla oli tyypillinen primaarinen immuunivaste, jossa esiintyi spesifisiä vasta-aineita hemagglutiniiniesteraasia (HE) ja piikki- (S) glykoproteiineja vastaan. Viruksen irtoaminen useimpien nautojen nenäneritteestä lakkasi 7. ja 14. päivän välisenä aikana, kun HE- ja S-spesifiset vasta-aineet ilmaantuivat. Kymmenestä kuolemaan johtaneesta tapauksesta yhdeksässä nenänäytteessä ja keuhkokudoksessa oli korkeat RBCV-tiitterit, mutta näillä naudoilla oli vain IgM-vasteet RBCV-infektioille. RBCV:n eristystesteissä negatiivisiksi jääneet naudat tulivat tähän eläintautiepidemiaan, ja niillä oli vasta-aineita HE- ja S-virusta vastaan. Suoja hengitystietulehdusta vastaan liittyi ilmeisesti korkeaan opsonisen ja virusta neutraloivan IgG2:n tasoon. Naudan immuunijärjestelmä tunnisti HE- ja S-glykoproteiinit varhaisimmin, kun taas N-proteiini aiheutti vasta-ainereaktioita ensitartunnan myöhemmässä vaiheessa ja uusintatartunnan alkuvaiheessa. Membraaniglykoproteiini (M) oli tärkeimmistä viruksen rakenneproteiineista vähiten immunogeeninen.

**Tulos**

Vasta-ainevasteet nautojen hengitystiekoronavirusinfektioihin kuljetuskuumeen patogeneesin aikana.

**Esimerkki 1.6495**

Ihmisen koronavirus NL63:n (HCoV-NL63) piikki (S)-proteiini välittää sekä soluun kiinnittymistä sitoutumalla reseptoriinsa hACE2:een että kalvofuusiota viruksen tunkeutumisen aikana. Olemme aiemmin tunnistaneet reseptoria sitovan domeenin (RBD) ja RBD:n ja hACE2:n yhdistymisen kannalta tärkeät jäännökset. Tässä luonnehdimme S-proteiinia edelleen tutkimalla sytoplasmisen hännän ja RBD:ssä sijaitsevien 19 jäännöksen roolia proteiinin kertymisessä, reseptorin sitoutumisessa ja pseudotyyppiviruksen sisäänpääsyssä. Tätä varten tunnistimme ensin geenivarianttien joukosta S-geenin sisäänpääsytehokkaan mallin ja käytimme sitä selkärankana luodessamme sarjan sytoplasmisen hännän deletio- ja yksittäisten jäännösten substituutiomutantteja. Tuloksemme osoittivat, että: (i) 18 aa:n poistaminen C-terminaalista lisäsi S-proteiinin kertymistä ja viruksen pääsyä, mikä saattaa johtua solunsisäisten retentio-signaalien poistamisesta; (ii) edelleen poistaminen jäännökseen 29 lisäsi myös S-proteiinin määrää solun pinnalla ja virionissa, mutta vähensi viruksen pääsyä 25 prosenttia, mikä viittaa siihen, että jäännökset 19-29 edistävät kalvofuusiota; (iii) 29 aa-deletiomutaatiolla oli vika ankkuroitumisessa plasmakalvoon, mikä johti S-proteiinin määrän dramaattiseen vähenemiseen virionissa ja viruksen sisäänpääsyyn; (iv) RBD:n sisällä yhteensä 15 jäännöstä (Y498, V499, V531, G534, G537, D538, S540, G575, S576, E582, W585, Y590, T591, V593 ja G594) olivat tärkeitä reseptorin sitoutumisen ja viruksen sisäänpääsyn kannalta. Ne muodostavat todennäköisesti kolme reseptorin sitoutumismotiivia, ja kolmas motiivi on konservoitunut NL63:n ja SARS-CoV:n välillä.

**Tulos**

Ihmisen koronaviruksen NL63 piikkiproteiinin karakterisointi reseptorin sitoutumisen ja pseudotyyppiviruksen sisäänpääsyn kannalta.

**Esimerkki 1.6496**

Tautien leviäminen ihmispopulaatioissa on monimutkaista. Tautien leviämisen ominaisuudet kehittyvät ajan myötä monien ympäristö- ja ihmistekijöiden seurauksena, ja tämä epästationaarisuus on keskeinen tekijä tässä valtavassa monimutkaisuudessa. Koska sopivia ulkoisia tietolähteitä taudin leviämisen kuvaamiseksi oikein ei ole, tutkimme joustavaa lähestymistapaa, joka perustuu stokastisiin malleihin taudin dynamiikan osalta ja diffuusioprosesseihin parametrien dynamiikan osalta. Tällaisen diffuusioprosessin etuna on se, että parametrien dynamiikkaa varten ei tarvita tiettyä matemaattista funktiota. Yhdessä hiukkas MCMC:n kanssa tämä lähestymistapa mahdollistaa joidenkin keskeisten parametrien (esimerkiksi keskimääräisen tartuntanopeuden) ajallisen kehityksen rekonstruoinnin. Näin voidaan kuvata epidemiaa kuvaamalla taudin etenemiseen osallistuvien eri mekanismien ajassa muuttuva luonne. Aluksi osoitamme tämän menetelmän tehokkuuden lelumallilla, jossa parametrit ja havaintoprosessi tunnetaan. Soveltamalla menetelmää sitten todellisiin tietokokonaisuuksiin, se pystyy pelkästään yksinkertaisiin stokastisiin malleihin perustuen rekonstruoimaan monimutkaisia epidemioita, kuten influenssaa tai dengueta, pitkien aikajaksojen ajalta. Näin ollen osoitamme, että ajallisesti muuttuvat parametrit voivat parantaa mallin suorituskyvyn tarkkuutta, ja ehdotamme, että menetelmäämme voidaan käyttää ensimmäisenä askeleena kohti monimutkaisen epidemian parempaa ymmärtämistä tilanteessa, jossa tietoja on vähän ja/tai epävarmoja. Viittaus: Cazelles B, Champagne C, Dureau J (2018) Accounting for non-stationarity in epidemiology by embedding time-varying parameters in stochastic models. PLoS Comput Biol 14(8): e1006211. https://doi.org/10.

**Tulos**

Epästationaarisuuden huomioon ottaminen epidemiologiassa sisällyttämällä ajassa muuttuvat parametrit stokastisiin malleihin.

**Esimerkki 1.6497**

Taustaa: Se on monitekijäinen sairaus, ja se on sytologisesti ja arkkitehtonisesti heterogeeninen muihin ruoansulatuskanavan syöpiin verrattuna, mikä tekee siitä terapeuttisesti haastavan. Sisplatiinia käytetään yleisesti klinikassa mahasyövän hoitoon, mutta sillä on myrkyllisiä sivuvaikutuksia ja se kehittyy resistenssiksi. Kuparin ja sen koordinoitujen yhdisteiden kasvainvastaisia ominaisuuksia on tutkittu intensiivisesti viime vuosina. Tässä tutkimuksessa syntetisoimme uuden Schiffin emäskupari-koordinoidun yhdisteen (SBCCC) ja tutkimme sen kasvainvastaista vaikutusta kahdessa mahasyövän solulinjassa SGC-7901 ja BGC-823 sekä hiiren mahasyövän mallissa. Tulokset osoittavat, että SBCCC voi merkittävästi estää mahasyöpäsolujen lisääntymistä annoksesta ja ajasta riippuvaisella tavalla. SBCCC:n IC50-arvo SGC-7901- ja BGC-823-soluissa on 1 μM, mikä on paljon pienempi kuin sisplatiinin IC50-arvo. SBCCC indusoi apoptoosia ja aiheuttaa solusyklin pysähtymisen G1-vaiheeseen. SBCCC indusoi apoptoosia useiden reittien kautta, mukaan lukien NF-κB:n, ROS-tuotannon ja autofagian estäminen. Syntetisoitu SBCCC indusoi syöpäsolukuolemaa NF-κB:n, ROS-tuotannon ja autofagian estämisen kautta. Moninkertaiset solujen tappomekanismit olivat tärkeitä, jotta voitettiin syöpäsolujen monilääkeresistenssin aiheuttama terapeuttinen epäonnistuminen. SBCCC, jonka IC50-arvo on pienempi kuin sisplatiinin, voisi antaa sille mahdollisuuden voittaa sivuvaikutus kliinisessä käytössä.

**Tulos**

Uusi Schiffin emäksinen kupari(II)-yhdiste indusoi apoptoosia ja estää kasvaimen kasvua mahasyövässä.

**Esimerkki 1.6498**

RNA:n rakenteellisen vapaan energian maiseman karu luonne mahdollistaa sen, että solujen RNA:t voivat reagoida ympäristöolosuhteisiin tai efektimolekyylien vaihteleviin määriin tekemällä dynaamisia konformaatiomuutoksia, jotka käynnistävät tai sammuttavat katalyysin, transkription tai translaation kaltaisia toimintoja. Tarttuvien RNA:iden on myös hallittava ajallisesti yhteensopimattomia toimintoja ja saatettava elinkaarensa nopeasti päätökseen, ennen kuin solun puolustusjärjestelmä joutuu niiden kohteeksi. Virusgenomisten RNA:iden on vaihdettava translaation ja replikaation välillä, ja translaatiota vailla olevien subvirus-RNA:iden on ohjattava muita toimintoja, kuten RNA:n muokkausta tai itsestään tapahtuvaa pilkkoutumista. Toisin kuin solujen RNA:n hyvin tunnetut ribokytkimet, tartuntavaarallisen RNA:n toimintojen kontrollointi muuttamalla toiminnallisten RNA-domeenien konfiguraatiota on vasta hiljattain havaittu. Tässä katsauksessa esitellään joitakin näistä molekyylimuotoisista uudelleenjärjestelyistä, joita on havaittu RNA-viruksissa, viroideissa ja viruksiin liittyvissä RNA:issa, ja kerrotaan, miten nämä dynaamiset alueet löydettiin, mitä toimintoja ne saattavat säädellä ja mitkä tekijät tai olosuhteet saattavat aiheuttaa konformaation vaihtumisen.

**Tulos**

RNA:n konformaatiomuutokset RNA-virusten, viroidien ja virusassosioituneiden RNA:iden elinkaaren aikana.

**Esimerkki 1.6499**

Varhaisten diagnostisten reagenssien, tehokkaiden rokotteiden ja jopa lääkkeiden kehittämiseksi SARS-assosioitunutta koronavirusta (SARS-CoV) vastaan käytettiin ihmisen yhdenkertaisia yksiketjuisia vasta-ainefragmentteja (scFv-kirjastoja I + J (Tomlinson I + J)) sellaisten uusien scFv-kirjastojen tunnistamiseksi, jotka voivat spesifisesti sitoutua SARS-CoV:hen. Mielenkiintoista oli, että kahdella scFv:llä (B5 ja B9) oli korkeampi sitoutumispesifisyys SARS-CoV:hen, kun OD 450 -arvo oli 0,608 ja 0,545, ja niiden koodaavat sekvenssit olivat identtiset, ja ne koostuivat V H-geenistä (351 bp) ja V L-geenistä (327 bp), joten nämä kaksi scFv:tä nimettiin yhtenäisesti SA59B:ksi, ja ne valittiin jatkoanalyyseihin. SA59B scFv ekspressoitiin liukoisessa muodossa Escherichia coli HB2151:ssä ja puhdistettiin immobilisoidulla metalliaffiniteettikromatografialla. Liukoinen 30 kDa:n SA59B scFv-vasta-aine varmistettiin SDS-PAGE:lla ja Western-blotilla. Puhdistettu SA59B scFv-vasta-aine leimattiin HRP:llä glutaraldehydimenetelmällä, ja HRP:n ja SA59B scFv-vasta-aineen konsentraatio SA59B-HRP-liuoksessa oli 2,4 ja 2,28 mg/ml. Tämän jälkeen SA59B-HRP:n ja SARS-CoV:n sitoutumiskykyä arvioitiin ELISA-testillä, jonka S/N oli 11,6, mikä osoitti niiden välistä korkeampaa sitoutumispesifisyyttä. Lopuksi keskusteltiin sekä SA59B:n sekvenssispesifisyydestä että sen soveltamisesta SARSin diagnosointiin, ennaltaehkäisyyn tai hoitoon.

**Tulos**

SARS-virukseen liittyvää koronavirusta vastaan spesifisten yksiketjuisten vasta-ainefragmenttien tunnistaminen faagin näyttämästä vasta-ainekirjastosta.

**Tehtävä numero 2**

Luo käsitteelle hypernym-sana. Hypernym on superordinaatti eli sana, jolla on laaja merkitys ja joka muodostaa kategorian ja joka yleistää toisen sanan. Esimerkiksi väri on punaisen hypernym.

**Esimerkki 2.0**

taistelulaiva

**Tulos**

ajoneuvo

**Esimerkki 2.1**

huivi

**Tulos**

vaatteet

**Esimerkki 2.2**

kilpikonna

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.3**

liivi

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.4**

musketti

**Tulos**

laite

**Esimerkki 2.5**

pinaatti

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.6**

torakka

**Tulos**

vika

**Esimerkki 2.7**

luumu

**Tulos**

ruoka

**Esimerkki 2.8**

sipuli

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.9**

lisko

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.10**

bull

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.11**

banaani

**Tulos**

hedelmät

**Esimerkki 2.12**

lautta

**Tulos**

ajoneuvo

**Esimerkki 2.13**

pommikone

**Tulos**

kone

**Esimerkki 2.14**

lehmä

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.15**

muki

**Tulos**

juoma-astiat

**Esimerkki 2.16**

valas

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.17**

kirves

**Tulos**

väline

**Esimerkki 2.18**

lohi

**Tulos**

selkärankaiset

**Esimerkki 2.19**

pusero

**Tulos**

käytä

**Esimerkki 2.20**

tiikeri

**Tulos**

peto

**Esimerkki 2.21**

kukkakaali

**Tulos**

ruoka

**Esimerkki 2.22**

leivänpaahdin

**Tulos**

hyödyke

**Esimerkki 2.23**

kookos

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.24**

taltta

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.25**

gorilla

**Tulos**

kädellinen

**Esimerkki 2.26**

norsu

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.27**

kani

**Tulos**

eläin

**Esimerkki 2.28**

sitruuna

**Tulos**

hedelmät

**Esimerkki 2.29**

greippi

**Tulos**

sitrushedelmät

**Esimerkki 2.30**

takki

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.31**

stereo

**Tulos**

laitteet

**Esimerkki 2.32**

tonnikala

**Tulos**

kala

**Esimerkki 2.33**

huilu

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.34**

heinäsirkka

**Tulos**

hyönteinen

**Esimerkki 2.35**

radio

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.36**

uuni

**Tulos**

laite

**Esimerkki 2.37**

perhonen

**Tulos**

selkärangattomat

**Esimerkki 2.38**

persilja

**Tulos**

vihannekset

**Esimerkki 2.39**

keihäs

**Tulos**

ase

**Esimerkki 2.40**

fasaani

**Tulos**

eläin

**Esimerkki 2.41**

paita

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.42**

mökki

**Tulos**

rakenne

**Esimerkki 2.43**

kulho

**Tulos**

astiat

**Esimerkki 2.44**

hevonen

**Tulos**

peto

**Esimerkki 2.45**

kranaatti

**Tulos**

laite

**Esimerkki 2.46**

helikopteri

**Tulos**

lentokoneet

**Esimerkki 2.47**

päärynä

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.48**

piano

**Tulos**

väline

**Esimerkki 2.49**

purkki

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.50**

aprikoosi

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.51**

korppikotka

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.52**

seula

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.53**

pistooli

**Tulos**

ampuma-ase

**Esimerkki 2.54**

kirsikka

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.55**

joutsen

**Tulos**

selkärankaiset

**Esimerkki 2.56**

viitta

**Tulos**

vaatteet

**Esimerkki 2.57**

lapio

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.58**

porkkana

**Tulos**

root

**Esimerkki 2.59**

retiisi

**Tulos**

vihannekset

**Esimerkki 2.60**

sello

**Tulos**

laite

**Esimerkki 2.61**

haravointi

**Tulos**

toteuttaa

**Esimerkki 2.62**

tuoli

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.63**

jakoavain

**Tulos**

väline

**Esimerkki 2.64**

jahti

**Tulos**

ajoneuvo

**Esimerkki 2.65**

silakka

**Tulos**

kala

**Esimerkki 2.66**

kurkku

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.67**

haarukka

**Tulos**

väline

**Esimerkki 2.68**

vuohi

**Tulos**

kasvinsyöjä

**Esimerkki 2.69**

säiliöauto

**Tulos**

laiva

**Esimerkki 2.70**

vasara

**Tulos**

toteuttaa

**Esimerkki 2.71**

robin

**Tulos**

passerine

**Esimerkki 2.72**

nauris

**Tulos**

ruoka

**Esimerkki 2.73**

Jääkaappi

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.74**

laatikko

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.75**

turska

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.76**

takki

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.77**

sika

**Tulos**

nisäkäs

**Esimerkki 2.78**

kuoriainen

**Tulos**

eläin

**Esimerkki 2.79**

revolveri

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.80**

mekko

**Tulos**

vaatteet

**Esimerkki 2.81**

hornet

**Tulos**

selkärangattomat

**Esimerkki 2.82**

linna

**Tulos**

puolustus

**Esimerkki 2.83**

karhu

**Tulos**

saalistaja

**Esimerkki 2.84**

cat

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.85**

sammakko

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.86**

maissi

**Tulos**

vilja

**Esimerkki 2.87**

van

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.88**

hävittäjä

**Tulos**

veneet

**Esimerkki 2.89**

televisio

**Tulos**

järjestelmä

**Esimerkki 2.90**

kyyhkynen

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.91**

kyyhkynen

**Tulos**

eläin

**Esimerkki 2.92**

kettu

**Tulos**

peto

**Esimerkki 2.93**

ase

**Tulos**

ase

**Esimerkki 2.94**

liesi

**Tulos**

laite

**Esimerkki 2.95**

haukka

**Tulos**

eläin

**Esimerkki 2.96**

laukku

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.97**

sänky

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.98**

ruuvimeisseli

**Tulos**

työkalu

**Esimerkki 2.99**

koi

**Tulos**

selkärangattomat

**Esimerkki 2.100**

karppi

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.101**

acacia

**Tulos**

kasvi

**Esimerkki 2.102**

delfiini

**Tulos**

selkärankaiset

**Esimerkki 2.103**

peruna

**Tulos**

kasvikset

**Esimerkki 2.104**

puhelin

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.105**

bussi

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.106**

cedar

**Tulos**

puu

**Esimerkki 2.107**

tikari

**Tulos**

ase

**Esimerkki 2.108**

muurahainen

**Tulos**

hyönteinen

**Esimerkki 2.109**

kitara

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.110**

moottoripyörä

**Tulos**

ajoneuvo

**Esimerkki 2.111**

Purjelentokone

**Tulos**

veneet

**Esimerkki 2.112**

karpalo

**Tulos**

marja

**Esimerkki 2.113**

hanhi

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.114**

astianpesukone

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.115**

varpunen

**Tulos**

passerine

**Esimerkki 2.116**

villapaita

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.117**

kylpytakki

**Tulos**

vaatteet

**Esimerkki 2.118**

lapio

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.119**

ampiainen

**Tulos**

niveljalkaiset

**Esimerkki 2.120**

rotta

**Tulos**

nisäkäs

**Esimerkki 2.121**

leijona

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.122**

peura

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.123**

jet

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.124**

juna

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.125**

tykki

**Tulos**

ase

**Esimerkki 2.126**

alligaattori

**Tulos**

peto

**Esimerkki 2.127**

pakastin

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.128**

majava

**Tulos**

chordate

**Esimerkki 2.129**

sairaala

**Tulos**

rakentaminen

**Esimerkki 2.130**

varis

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.131**

pub

**Tulos**

rakennelma

**Esimerkki 2.132**

Kojootti

**Tulos**

lihansyöjä

**Esimerkki 2.133**

Taimen

**Tulos**

selkärankaiset

**Esimerkki 2.134**

hotelli

**Tulos**

majoitus

**Esimerkki 2.135**

aasi

**Tulos**

selkärankaiset

**Esimerkki 2.136**

orava

**Tulos**

peto

**Esimerkki 2.137**

pingviini

**Tulos**

selkärankaiset

**Esimerkki 2.138**

lipasto

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.139**

kultakala

**Tulos**

lemmikki

**Esimerkki 2.140**

katedraali

**Tulos**

rakennelma

**Esimerkki 2.141**

sahaa

**Tulos**

toteuttaa

**Esimerkki 2.142**

klarinetti

**Tulos**

väline

**Esimerkki 2.143**

kirahvi

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.144**

hattu

**Tulos**

hyödyke

**Esimerkki 2.145**

Woodpecker

**Tulos**

eläin

**Esimerkki 2.146**

kirjahylly

**Tulos**

esine

**Esimerkki 2.147**

käärme

**Tulos**

olento

**Esimerkki 2.148**

fregatti

**Tulos**

ajoneuvo

**Esimerkki 2.149**

pullo

**Tulos**

alus

**Esimerkki 2.150**

lusikka

**Tulos**

väline

**Esimerkki 2.151**

huvila

**Tulos**

rakentaminen

**Esimerkki 2.152**

kivääri

**Tulos**

kohde

**Esimerkki 2.153**

sypressi

**Tulos**

Gymnosperm

**Esimerkki 2.154**

ananas

**Tulos**

tuottaa

**Esimerkki 2.155**

ambulanssi

**Tulos**

kuljetus

**Esimerkki 2.156**

mansikka

**Tulos**

hedelmät

**Esimerkki 2.157**

ohjus

**Tulos**

ajoneuvo

**Esimerkki 2.158**

miekka

**Tulos**

kohde

**Tehtävä numero 3**

Sinulle annetaan tiivistelmä tarinasta. Sinun on laadittava kysymys, johon voidaan vastata tarinan perusteella. Voit luoda kysymyksen hahmoista, tapahtumista, tosiasioista ja uskomuksista jne. Kysymyksesi tulee olla täsmällinen, älä yritä käyttää pronomineja täydellisten nimien sijasta. Koska tarinat ovat joskus elokuvasarjoja, niissä on suluissa näyttelijöiden nimet. Sinun ei pitäisi käyttää näitä nimiä. Käytä vain hahmojen nimiä. Yritä esittää kysymys kaikista juonen osista, älä vain alusta.

**Esimerkki 3.0**

Madeline Hallissa, Southamptonin lähellä sijaitsevassa vanhassa kartanossa, joka kuuluu varakkaalle de Verselyn perheelle, asuu iäkäs vanhapiika neiti Delmar, joka on jaarli de Verselyn ja kapteeni Delmarin täti. Neiti Delmar kutsuu Arabella Masonin, edesmenneen, hyvin pidetyn taloudenhoitajan tyttären asumaan talossa alemman luokan vieraana. Kapteeni Delmarin tiedetään vierailevan tätinsä luona Madeline Hallissa usein, mukanaan palvelijansa Ben Keene, joka on myös yksityinen merisotilas. Kapteeni Delmar ehdottaa lopulta, että Ben kosisi Arabellaa, ja he menevät salaa naimisiin neiti Delmarin ja Arabellan äidin pettymykseksi. Kapteeni onnistuu tasoittamaan tilanteen tätinsä kanssa, senkin jälkeen kun selviää, että Arabella oli avioliiton solmimishetkellä kuudennella kuulla raskaana. Myöhemmin Arabella synnyttää pojan, joka ottaa kapteenin etunimen ja Benin sukunimen - Percival Keenen. perhe muuttaa Chathamiin, kun Ben saa käskyn palata takaisin osastonsa kanssa. Arabella avaa menestyksekkään liikkeen ja kiertokirjaston talonsa alapuolelle ja ottaa avukseen äitinsä ja sisarensa Amelian. Percival tulee kaupungissa tunnetuksi upseereille ja muille tuntemattomille ihmisille tekemiensä ilkikuristen kepposten ansiosta, joihin hänen tätinsä Amelia usein rohkaisee. Percivalin äiti ja isoäiti eivät kuitenkaan ole yhtä ihastuneita hänen piittaamattomuuteensa käytöstavoista ja vaativat, että Percival lähetetään kouluun sen jälkeen, kun hän puri isoäitiään. Percival ilmoittautuu köyhän irlantilaisen herra O'Gallagherin kouluun, joka hallitsee luokkaansa ankarilla ruumiillisilla rangaistuksilla. Herra O'Gallagher kiusaa Percivalia säännöllisesti varastamalla hänen lounaansa, mikä saa Percivalin kostamaan myrkyttämällä hänen voileipänsä kalomelilla. Guy Fawkesin päivänä opettaja takavarikoi kaikki koulupoikien ilotulitteet, minkä Percival kostaa sytyttämällä kerätyt ilotulitteet opettajan istuessa niiden yläpuolella, mikä johtaa koulurakennuksen täydelliseen tuhoon ja koulunjohtajan lähes kuolemaan.Percivalin ollessa nuori teini-ikäinen kapteeni Delmar ilmestyy uudelleen ja tarjoaa hänelle paikkaa uudella laivansa H.M. Calliope -aluksella. Valmistellessaan palvelukseen astumista Percival kuulee juoruja aviottomasta syntymästään, mikä tuo esiin ajatuksen, että kapteeni Delmar saattaa olla hänen isänsä. Hän joutuu äidin kanssa tekemisiin vanhemmuudestaan, jonka tämä aluksi kiistää tylysti mutta myöhemmin kyynelehtien selittää totuuden suhteestaan. Merivoimien palveluksen alkuvaiheessa Percival joutuu merirosvojen ryöstöretkellä vangiksi yhdessä muiden kanssa. Merirosvomiehistö on kokonaan mustia, ja kapteeni selittää, että he ovat pääasiassa Amerikasta paenneita orjia. Percival otetaan hyttipojaksi, ja myöhemmin hän värjää ihonsa ruskettuneeksi mulatin näköiseksi miellyttääkseen kapteenia, joka ei hyväksy valkoista ihoa. Merirosvot pyrkivät usein valtaamaan orjakauppa-alukset ja tappavat kaikki aluksella olevat valkoiset. Erään tällaisen aluksen valtauksen aikana Percival onnistuu taivuttelemaan kapteenin säästämään varakkaan hollantilaisen kauppiaan ja hänen nuoren tyttärensä Minnien hengen. Lopulta H.M. Calliope ottaa merirosvolaivan haltuunsa, ja Percival - värjätyn ihonsa vuoksi tunnistamaton - otetaan vangiksi, ja myöhemmin hän saa vakuuttuneeksi oikeasta henkilöllisyydestään.Palattuaan laivalle Percival saa arvostusta miehistön keskuudessa, ja tunteikas kapteeni Delmar toivottaa hänet tervetulleeksi takaisin. Hänen maineensa kasvaa edelleen hänen palveluksensa aikana, kun hän joutuu yhteenottoihin hollantilaisten ja ranskalaisten alusten kanssa Curacaon saaren ympärillä. Hän myös edustaa sairasta kapteeni Delmaria kaksintaistelussa ranskalaisen upseerin kanssa ja pelastaa näin kapteenin hengen. Tässä vaiheessa kapteeni saa uutisen, että hänen vanhempi veljensä on kuollut, mikä tekee hänestä uuden lordi de Verselyn, ja ennen paluutaan Englantiin hän antaa Percevalille oman kuunarinsa komennon. Toisen kiihkeän mutta menestyksekkään taistelun jälkeen ranskalaista sota-alusta vastaan Percival ylennetään kapteeniksi. Laivastopalveluksensa aikana Percival osallistuu yhä nuoruutensa iloisiin kepposiin, ja eräässä vaiheessa hän lyöttäytyy yhteen mulattihotelliyrittäjän kanssa Cura ao:ssa vakuuttaakseen upseeritoverinsa, että heidät on myrkytetty. Hän pitää myös kirjeenvaihtoa Minnien kanssa ja kehittää romanssin kauniin perijättären kanssa. tarinan loppupuolella Percival johdattaa miehistönsä läpi hirvittävän myrskyn, jossa monet miehistön jäsenet kuolevat ja alus vaurioituu pahoin. Pelastuttuaan toisesta englantilaisesta aluksesta hän saa kirjeen, jossa hänelle ilmoitetaan lordi de Verselyn äkillisestä kuolemasta sydänkomplikaatioihin, ja hän saa tietää, että hänelle on jätetty kaikki hänen henkilökohtainen omaisuutensa. Percival on edelleen pettynyt siihen, ettei hän voi ottaa isänsä nimeä. Myöhemmin hän matkustaa ystävänsä Bob Crossin kanssa Hampuriin tavatakseen Minnien, mutta joutuu matkalla ranskalaisten joukkojen vangiksi ja tuomitaan teloitettavaksi vakoilusta. Ranskalaisten ja kasakoiden välisen kahakan aikana Percival ja Cross pääsevät pakenemaan ja jatkavat matkaa. Romaanin lopussa Percival kosii Minnietä ja perii Minnien isän kautta suuren omaisuuden. Hän saa myös kirjeen de Verselyn asianajajalta, jossa kerrotaan, että hänelle on myönnetty Delmarin vaakuna ja nimi.

**Tulos**

Kenen kanssa Ben meni salaa naimisiin?

**Tulos**

Kuka oli Minnie?

**Tulos**

Minkä järkyttävän uutisen Percivalin äiti myöntää?

**Tulos**

Mitä uutisia Percival saa tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka asuu Madeline Hallissa?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Percival joutuu ranskalaisten vangiksi?

**Tulos**

Kuka on neiti Delmer?

**Tulos**

Kuka on Been Kneene?

**Tulos**

Mihin kouluun Percival lähetettiin?

**Tulos**

Kuka on Benin ja Arabellan poika?

**Tulos**

Miksi H. M. Calliope otti Percivalin vangiksi?

**Tulos**

Kenet Percival suostuttelee merirosvot säästämään?

**Tulos**

Kenen kanssa Percival palasi yhteen?

**Tulos**

Mihin Percival ylennetään pataljoonan jälkeen ranskalaisella sotalaivalla?

**Tulos**

Mikä on de Verselyn perheen talon nimi?

**Tulos**

Mitä Percivalille myönnetään tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka oli Percivalin biologinen isä?

**Tulos**

Kuka on Arabella Manson?

**Tulos**

Kuka oli Percival Kneene?

**Tulos**

Kuka on se kiusaaja, joka varastaa Percivalin lounaan?

**Tulos**

Ketä Percival kosii?

**Tulos**

Kenen hengen Percival saa merirosvokapteenin säästämään?

**Tulos**

Miten Percival kostaa O'Gallagherille sen jälkeen, kun tämä on vienyt kaikki pojan ilotulitteet?

**Tulos**

Kenet Arabella Mason nai?

**Tulos**

Mistä Percival Keene on saanut nimensä?

**Tulos**

Kenestä tulee Lord de Versely veljensä kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Miten Percival pelastaa kapteeni Delmarin hengen?

**Tulos**

Mitä Percival tekee isoäidilleen, joka sai hänet lähtemään kouluun?

**Tulos**

Kenet kapteeni Delmar ehdottaa Benille, että hän menisi salaa naimisiin?

**Esimerkki 3.1**

Tutkija ja tutkimusmatkailija tohtori Samuel Ferguson lähtee palvelijansa Joen ja ystävänsä, ammattimetsästäjä Richard "Dick" Kennedyn seurassa matkalle vetypallon avulla halki Afrikan mantereen, jota ei ole vielä täysin tutkittu. Hän on keksinyt mekanismin, jonka avulla ei tarvitse päästää kaasua tai heittää painolastia yli laidan korkeuden hallitsemiseksi, joten hän voi tehdä hyvin pitkiä matkoja. Tämän matkan on tarkoitus yhdistää Sir Richard Burtonin ja John Hanning Speken Itä-Afrikassa tekemät matkat Heinrich Barthin Saharan ja Tšadin alueilla tekemiin matkoihin. Matka alkaa itärannikolla sijaitsevasta Sansibarista ja kulkee Victoriajärven, Tšad-järven, Agadezin, Timbuktun, Djennin ja S goun kautta länsirannikolla sijaitsevaan St Louisiin nykyisessä Senegalissa. Kirja kuvaa tuntematonta Afrikan sisäosaa lähellä nykyistä Keski-Afrikan tasavaltaa aavikkona, vaikka se todellisuudessa on savannia. suuri osa alkututkimuksesta keskittyy Niilin lähteen löytämiseen, joka tapahtuu luvussa 18 (43:sta). Toinen etappi on muiden tutkimusmatkailijoiden yhdistäminen. On lukuisia seikkailukohtauksia, jotka koostuvat joko konfliktista alkuasukkaan tai ympäristön kanssa. Joitakin esimerkkejä ovat: Lähetyssaarnaajan pelastaminen heimolta, joka valmistautui uhraamaan hänet. veden loppuminen veden ollessa tuuliajolla Saharan yllä. kondorien hyökkäys ilmapalloa vastaan, joka johtaa dramaattiseen toimintaan, kun Joe hyppää ulos ilmapallosta. toimet, joilla Joe myöhemmin pelastetaan.Läheltä piti paeta taistelevan armeijan jäänteitä, kun ilmapallo hupenee olemattomiin vedyn menetyksen myötä. anakronistinen Bluebuck-antiloopin tappaminen, lajin, joka oli jo sukupuuttoon kuollut. \*Kaikkien näiden seikkailujen päähenkilöt selviytyvät jatkuvan sinnikkyyden avulla enemmän kuin millään muulla tavalla. Romaani on täynnä sattumanvaraisia hetkiä, joissa vaikeudet vältetään, koska tuuli ottaa kiinni juuri oikeaan aikaan tai hahmot katsovat juuri oikeaan suuntaan. Usein viitataan siihen, että jokin korkeampi voima pitää huolta heistä. itse ilmapallo epäonnistuu lopulta ennen loppua, mutta pääsee tarpeeksi pitkälle, jotta päähenkilöt pääsevät ystävällisille maille ja lopulta takaisin Englantiin, ja siten retkikunta onnistuu. Tarina loppuu äkillisesti Afrikan matkan jälkeen, ja sen jälkeen on vain lyhyt yhteenveto siitä, mitä seuraavaksi tapahtuu.

**Tulos**

Mitkä ovat tohtori Fergusonin kumppaneiden nimet?

**Tulos**

Miksi Joe hyppäsi ulos ilmapallosta?

**Tulos**

Miksi tutkimusmatkailijat pelastivat lähetyssaarnaajan?

**Tulos**

Mikä oli tohtori Fergusonin Afrikan-matkan tarkoitus?

**Tulos**

Mistä matka alkoi?

**Tulos**

Mikä oli pääpaino matkan alussa?

**Tulos**

Kuka oli tohtori Samuel Fergusonin mukana hänen Afrikan-matkallaan?

**Tulos**

Mikä oli ensimmäinen afrikkalainen paikka, johon he laskeutuivat?

**Tulos**

Mitä herra Kennedy teki työkseen?

**Tulos**

Mikä laji oli jo sukupuuttoon kuollut, mutta yksi laji kuoli tarinan aikana?

**Tulos**

Mistä matka alkaa itärannikolla?

**Tulos**

Kuka oli tohtori Fergusonin palvelija?

**Tulos**

Mikä on Dick Kennedyn ammatti?

**Tulos**

Kuka tutkimusmatkailija oli aiemmin tehnyt tutkimusmatkoja Saharan ja Tšadin alueille?

**Tulos**

Kenet he pelastivat alkuperäisheimolta?

**Tulos**

Millaista kaasua ilmapallossa käytetään?

**Tulos**

Mitä Joe päättää tehdä, kun kondorit valtaavat ilmapallon?

**Tulos**

Mihin maahan tutkimusmatkailijat lopulta palaavat lopussa?

**Tulos**

Mitä heimo aikoi tehdä lähetyssaarnaajalle ennen kuin tutkimusmatkailijat pelastavat hänet?

**Tulos**

Minkä lähteen löytäminen on alkututkimus?

**Tulos**

Mitä aluetta kuvataan aavikoksi, mutta se on todellisuudessa savannia?

**Tulos**

Mihin maahan tutkimusmatkailijat palaavat Afrikan tutkimusmatkansa jälkeen?

**Tulos**

Mikä oli tohtori Fergusonin ammatti?

**Tulos**

Missä ovat tutkimusmatkailijat, kun he jäävät veden varaan?

**Tulos**

Mistä tutkimusmatkailija alkaa Afrikassa?

**Tulos**

Mihin tutkimusmatkailijat keskittyvät ensisijaisesti matkansa alussa?

**Tulos**

Millaiset linnut hyökkäävät ilmapallon kimppuun?

**Tulos**

Mihin tohtori Samuel Ferguson ja hänen seuralaisensa matkustavat vetypallolla?

**Tulos**

Millaista maisemaa käytetään kuvaamaan Afrikan sisäosia?

**Esimerkki 3.2**

Tarina alkaa, kun Olivia-niminen ihastuttava nainen, joka on paennut vankeutta Akifin kaupungista, joutuu takaa-ajetuksi ja nurkkaan suolle Vilayet-meren rannalla. Hänen takaa-ajajansa ja entinen isäntänsä on sadistinen veijari nimeltä Shah Amurath. Mutta ennen kuin hän ehtii tarttua häneen, ruovikosta nousee hahmo. Uusi tulokas on nähnyt kaikkien ystäviensä petetyn ja petollisella tavalla mieheksi hakatun ennen kuin hän on paennut suolle. Siellä hän on piileskellyt niin kauan, että on lähes hullu. Tulokas tappaa nopeasti Shah Amurathin, sitten hän ja Olivia hyppäävät veneeseen ja päättävät piileskellä hetken aikaa. Vasta silloin tulokas tunnistautuu: Conan Kimmerialainen. Conan ja Olivia löytävät tiensä pimeälle ja näennäisesti autiolle saarelle, jossa he viettävät yön nukkuen muinaisissa raunioissa, joita koristavat hämmästyttävän elävän näköiset patsaat. Olivia näkee unta, jossa hän näkee näiksi patsaiksi muuttuneen miesjoukon, ja herää vakuuttuneena siitä, että he heräävät henkiin kuunvalossa. Conan ei ole kovin vakuuttunut Olivian peloista; häntä huolestuttaa enemmän se, mikä tahansa viidakossa vaanii ja heittelee jättiläiskiviä kahta karkulaista kohti. saarelle saapuu merirosvolaiva. Conan jättää Olivian piiloon pusikkoon ja haastaa kapteenin, vanhan kilpailijan. Hän tappaa merirosvokapteenin, mutta joutuu tajuttomaksi, kun kivi lyö häntä silmukasta. Merirosvot sitovat hänet ja vievät hänet mukanaan raunioille, jossa he keskustelevat hänen kohtalostaan, kunnes sammuvat humalassa. Olivia pakenee sillä välin täpärästi massiivista ja tummaa hahmoa, joka jahtaa häntä raunioille asti. olivia hiipii humalaisten ja nukkuvien merirosvojen ohi ja vapauttaa Conanin. Sitten Conan tappaa Oliviaa jahdanneen tumman hahmon, jättiläismäisen ihmisapinan, joka oli myös heittänyt lohkareita heitä kohti. Kun Conan toipuu taistelustaan ihmisapinan kanssa, he kuulevat raunioilla alkavan hirvittävän teurastuksen.Kaksikko suuntaa nopeasti takaisin autiolle merirosvolaivalle. Kun Conan valmistelee laivaa purjehtimaan, joukko hakattuja ja rähjäisiä merirosvoja tulee ja pyytää päästä alukseen ja lähteä "paholaissaarelta". Conan haastaa heidät, ja he hyväksyvät hänet kapteenikseen. Lopulta Olivia anelee Conania, että hän saisi jäädä hänen luokseen, ja Conan suostuu nauraen ja sanoo tekevänsä Conanista "Sinisen meren kuningattaren".

**Tulos**

Kun he lähtevät saarelta, mitä Conan sanoo tekevänsä Oliviasta?

**Tulos**

Kuka vapauttaa Conanin merirosvoilta, jotka löivät hänet tajuttomaksi?

**Tulos**

Millä lempinimellä merirosvot kutsuvat saarta?

**Tulos**

Mitä viidakosta heitetään Oliviaa kohti?

**Tulos**

Mitä tulee satamaan saarella?

**Tulos**

Kuka on se hullu mies, joka voittaa Olivian takaa-ajajan?

**Tulos**

Keitä muita on aluksella, kun Conan ja Olivia lähtevät autiolta saarelta?

**Tulos**

Minkä lempinimen merirosvot antavat saarelle?

**Tulos**

Mitä raunioilla tapahtui?

**Tulos**

Minkä vesistön läheisyydessä Olivia on rämeellä?

**Tulos**

Minne Olivia ja Conan menevät, kun ihmisapina on kukistettu?

**Tulos**

Mikä oli tarinan nimi?

**Tulos**

Missä Olivia ja Conan piileskelevät paettuaan Shuh Amurathista?

**Tulos**

Missä Conan piileskeli, kun hän löysi Olivian?

**Tulos**

Mitä Conan sanoi tekevänsä Olivialle?

**Tulos**

Minne Conan ja Olivia hakeutuvat lepäämään?

**Tulos**

Kuka vapauttaa Conanin merirosvoilta?

**Tulos**

Mitä Olivia näkee unessaan?

**Tulos**

Mitä tapahtuu autiolle saarelle telakoituvan merirosvolaivan kapteenille?

**Tulos**

Kuka teki Conanista kapteenin?

**Tulos**

Missä he yöpyivät ensimmäisenä yönä?

**Tulos**

Mistä kaupungista Olivia on paennut?

**Tulos**

Millä Conan ja Olivia pakenevat autiolta saarelta?

**Tulos**

Mikä oli Olivian entisen isännän nimi, jota hän pakeni?

**Tulos**

Miksi tulokas oli lähes hullu?

**Tulos**

Mitä autiolle saarelle ilmestyy?

**Tulos**

Mikä seurasi Oliviaa viidakon läpi ja takaisin raunioille?

**Tulos**

Mikä oli saaren nimi?

**Tulos**

Kun Conan ja Olivia viettävät yön muinaisissa raunioissa, mistä Olivia on huolissaan?

**Tulos**

Mikä on sen kaupungin nimi, josta Olivia pakenee?

**Tulos**

Mitä Olivia pakenee raunioille mennessään?

**Tulos**

Kuka pakeni Akifin kaupungista?

**Tulos**

Kuka jahtaa ja jahtaa Oliviaa?

**Tulos**

Kenestä tulee merirosvolaivan uusi kapteeni?

**Tulos**

Mikä on Olivian tapaamien uusien tulokkaiden nimi?

**Tulos**

Missä Oliviaa pidettiin vangittuna?

**Tulos**

Mikä on merirosvojen mukaan saaren nimi?

**Tulos**

Mikä lyö Conanin tajuttomaksi?

**Tulos**

Mistä Conan oli enemmän huolissaan?

**Tulos**

Mitä Olivia pakenee tarinan alussa?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Conan kohtaa merirosvot tarinan lopussa?

**Tulos**

Mitä merirosvot tekevät Conanille sen jälkeen, kun he ovat sitoneet hänet?

**Tulos**

Kuka oli tumma hahmo?

**Tulos**

Millä muinaiset rauniot oli koristeltu autiolla saarella, jossa Conan ja Olivia nukkuivat?

**Tulos**

Mitä Olivia ajattelee patsaista kuunvalossa?

**Tulos**

Kenestä tehtiin "Sinisen meren kuningatar"?

**Tulos**

Millainen kuningatar Oliviasta tulee?

**Tulos**

Kuka tappaa merirosvolaivan kapteenin?

**Tulos**

Mitä Conan tekee ennen kuin merirosvot ottavat hänet kiinni?

**Esimerkki 3.3**

Chev Chelios (Jason Statham) on Los Angelesissa asuva brittiläinen palkkamurhaaja, joka työskentelee Carliton (Carlos Sanz) johtamalle rikollisjärjestölle. Carlito on antanut Cheliosille tehtäväksi tappaa mafiapomo Don Kimin (Keone Young), koska triadien jäsenet ovat puuttuneet Carliton liiketoimintaan. Chelios menee Don Kimin luo ja ilmeisesti murhaa hänet, mutta Ricky Verona (Jose Pablo Cantillo), kunnianhimoinen pikkurikollinen, käyttää tilaisuutta hyväkseen ja vehkeilee Carliton kanssa Cheliosia vastaan; Verona tappaa Cheliosin, jotta Triadit eivät kostaisi, ja ottaa sitten Cheliosin paikan Carliton uutena palkkatappajana. Don Kimin kuoleman jälkeisenä aamuna, kun Chelios nukkuu asunnossaan, Verona, hänen veljensä Alex (Jay Xcala) ja useat kätyrit murtautuvat sisään ja ruiskuttavat Cheliosiin kiinalaista synteettistä huumetta, joka estää adrenaliinin virtauksen, hidastaa sydäntä ja lopulta tappaa uhrin. Kun Chelios herää, hän löytää Veronan jättämän tallenteen, jossa näkyy, mitä hän on tehnyt. Vihaisena Chelios hajottaa televisionsa ja lähtee ulos. chelios soittaa mafiakirurgi tohtori Milesille (Dwight Yoakam), joka ilmoittaa Cheliosille, että selviytyäkseen hänen on pidettävä adrenaliininsa pumppaamassa jatkuvan jännityksen ja vaaran avulla, eikä hän ole varma, onko vastalääkettä olemassa. Chelios pitää adrenaliininsa korkealla holtittomilla ja vaarallisilla teoilla, kuten tappelemalla muiden gangstereiden kanssa, ottamalla laittomia huumeita ja synteettistä adrenaliinia, tappelemalla poliisin kanssa, varastamalla poliisin moottoripyörän, harrastamalla julkista seksiä tyttöystävänsä Eevan (Amy Smart) kanssa ja ajamalla autollaan ostoskeskuksen läpi. chelios vierailee Carliton kattohuoneistossa ja pyytää häntä auttamaan vastalääkkeen löytämisessä sekä löytämään ja tappamaan Veronan ja hänen ryhmänsä. Carlito sanoo, ettei vastalääkettä ole olemassa, ja vahvistaa vain, että Carlito ja Verona työskentelevät yhdessä. Carlito kertoo Cheliosille, miten hän aikoo käyttää hänen kuolemaansa syntipukkina kiinalaisia vastaan. Raivostunut Chelios lähtee Carliton kattohuoneistosta etsimään Veronaa. Cheliosin katukontaktin, transvestiitti Kaylon (Efren Ramirez), kautta hän löytää Alexin ravintolasta ja kuulustelee tätä epäonnistuneesti veljensä olinpaikasta ennen kuin tappaa tämän. Chelios soittaa Alexin puhelimen kautta Veronalle ja kertoo tälle veljensä kuolemasta, mikä saa Veronan lähettämään roistoja Evan perään kostoksi. Chelios kiirehtii hakemaan Eevan ennen kuin Veronan roistot ehtivät hänen luokseen. Chelios paljastaa Eevalle todellisen ammattinsa ja sen, että hän aikoi jäädä eläkkeelle viettääkseen enemmän aikaa Eevan kanssa. Kaylo, jonka Carliton miehet ovat siepanneet, joutuu soittamaan Cheliosille ja kertomaan, että Verona on Triadin varastossa. Chelios menee sinne ja löytää Kaylon ruumiin ja kätyrit. He paljastavat, että Carlito määräsi heidät tappamaan Chelioksen. Eve, joka on seurannut Cheliosia, saapuu yllättäen paikalle, mutta pakenee Cheliosin kanssa Carliton kätyreiden kanssa käydyn tulitaistelun jälkeen. Chelios ja Eve menevät Doc Milesin luokse, jossa Miles selittää, ettei hän voi parantaa Cheliosia. Koska Chelios tietää kuolevansa pian, hän päättää kostaa Veronalle ja järjestää tapaamisen keskustan hotelliin. chelios menee hotellin katolle ja tapaa Veronan, Carliton ja tämän kätyrit. Carlito ottaa esiin ruiskun, joka on täynnä samaa myrkkyä, jota Verona käyttää. Kun hän on aikeissa tappaa Cheliosin pistämällä häneen toisen annoksen, Don Kim, joka paljastuu elossa olevaksi, koska Chelios säästi hänet, saapuu triadiensa kanssa Cheliosin avuksi, ja siitä seuraa tulitaistelu. Taistelun aikana useat Don Kimin ja kaikki Carliton miehet kuolevat. Carlito yrittää paeta yksityisellä helikopterillaan, mutta Chelios onnistuu saamaan hänet kiinni ja uhkaa häntä aseella. Ennen kuin Chelios ehtii tappaa Carliton, Verona hiipii takaa ja pistää Cheliokseen ruiskun, minkä jälkeen Chelios romahtaa. Veronan pettämä Carlito ampuu hänet kuoliaaksi ja yrittää sitten paeta helikopterilla.Chelios onnistuu nousemaan ylös, nousee helikopteriin ja ryhtyy taisteluun Veronan kanssa. Pienen kamppailun jälkeen Chelios onnistuu vetämään Veronan ulos helikopterista, ja ilmassa Chelios katkaisee Veronan kaulan ja tappaa hänet. Putoamisen aikana Chelios soittaa kännykkäänsä Eevalle ja pyytää anteeksi, ettei ole tullut takaisin. Chelios törmää autoon, kimpoaa siitä ja laskeutuu suoraan kameran eteen. Viimeisessä otoksessa annetaan ymmärtää, että hänen adrenaliininsa todellakin virtaa yhä nopeasti; hänen sieraimensa levenevät, hän räpäyttää silmiään ja kuuluu kaksi sydämenlyöntiä.

**Tulos**

Miten Ricky Verona sai tietää veljensä kuolemasta?

**Tulos**

Miten Verona yrittää paeta kattotaistelusta?

**Tulos**

Kuka ilmestyy paikalle, kun Carlito on pistämässä Cheliosta toisella ruiskulla?

**Tulos**

Miten Carlito yrittää paeta katolta?

**Tulos**

Miten lääke, jota Cheliosille ruiskutetaan, lopulta tappaa ihmisiä?

**Tulos**

Kuka pysäyttää Carliton hotellin katolla, ennen kuin hän ehtii paeta helikopteriinsa?

**Tulos**

Kenet Carliton miehet sieppasivat?

**Tulos**

Mikä on Cheliosin työ?

**Tulos**

Missä Chelios on, kun häneen pistetään huumetta?

**Tulos**

Kuka tappaa Carliton?

**Tulos**

Miten Verona kuolee?

**Tulos**

Mitä Chelios joutuu tekemään sen jälkeen, kun häneen on pistetty huumetta?

**Tulos**

Kuka on Eeva?

**Tulos**

Miten Carlito kuolee?

**Tulos**

Kenet Carlito antaa Cheliosin tappaa?

**Tulos**

Kenet Carlito palkkaa Cheliosin tappamaan?

**Tulos**

Kenet Cheliosin on määrä tappaa?

**Tulos**

Kuka lopulta pistää Cheliosiin toisen ruiskun?

**Tulos**

Kenelle Chelios aikoi jäädä eläkkeelle?

**Tulos**

Miksi Chelios soitti Eevalle?

**Tulos**

Mikä on Ricky Veronan veljen nimi?

**Tulos**

Mikä käänne paljastuu juuri ennen kuin Cheliosille ruiskutetaan toinen annos lääkettä?

**Tulos**

Mitä Carlito sanoo, kun Chelios pyytää häneltä vastalääkettä?

**Tulos**

Mikä on Cheliosin tyttöystävän nimi?

**Tulos**

Mikä oli Cheliosin katutietäjän nimi?

**Tulos**

Mitä Verona teki kostaakseen veljensä murhan?

**Tulos**

Kuka on Kaylo?

**Tulos**

Mikä on sen kilpailevan ryhmän nimi, jonka kanssa Carlitolla on ongelmia?

**Tulos**

Kuka on se mafialääkäri, jonka Chelios kutsuu vastalääkkeeksi?

**Tulos**

Mikä on Cheliosin ammatti?

**Esimerkki 3.4**

"Crash" Davis (Costner), 12 vuotta baseballin pikkuliigassa toiminut veteraani, lähetetään Durham Bullsin A-liigaan tiettyä tarkoitusta varten: hänen on opastettava tulokas syöttäjä Ebby Calvin LaLooshia (Robbins, joka näyttelee Steve Dalkowskiin löyhästi perustuvaa hahmoa), miten hänestä voi tulla suuren luokan lahjakkuus, ja valvottava Ebbyn sattumanvaraista syöttämistä. Crash alkaa heti kutsua Ebbyä halventavalla lempinimellä "Meat", ja heidän alkuunsa alkaa olla kivikkoinen, ja sekaan heitetään Annie (Sarandon), "baseball-ryhmäläinen" ja elinikäinen henkinen etsijä, joka on tarttunut "Baseballin kirkkoon" ja joka vuosi valitsee yhden Bullsin pelaajan rakastajakseen ja oppilaakseen. Annie flirttailee sekä Crashin että Ebbyn kanssa ja kutsuu heidät kotiinsa, mutta Crash kävelee ulos sanoen olevansa liian veteraani "kokeilemaan" mitään. Ennen lähtöään Crash herättää Annien kiinnostuksen entisestään ikimuistoisella puheella, jossa hän luettelee asioita, joihin hän "uskoo", ja joka päättyy sanoihin: "Uskon pitkiin, hitaisiin, syviin, pehmeisiin, kosteisiin suukkoihin, jotka kestävät kolme päivää...". Hyvää yötä." Heidän välisestä vihamielisyydestään huolimatta Annie ja Crash pyrkivät omalla tavallaan muokkaamaan Ebbystä suuren liigan syöttäjän. Annie leikkii lieviä orjuusleikkejä, lukee hänelle runoja ja saa hänet ajattelemaan eri tavoin (ja antaa hänelle lempinimen "Nuke"). Crash pakottaa Nuken oppimaan "olemaan ajattelematta" antamalla kiinniottajan tehdä syöttöpuhelut (muistettavasti kahdessa vaiheessa hän kertoo mailapelaajille, mikä syöttö on tulossa sen jälkeen, kun Nuke on hylännyt hänen puhelunsa), ja luennoi hänelle paineista, joita hänellä on kohdatessaan valioliigan pelaajia, jotka voivat osua hänen "lämpöönsä" (nopeisiin palloihin). Crash puhuu myös elämänilosta "The Show'ssa" (Major League Baseball), jossa hän eli lyhyesti "elämäni 21 hienointa päivää" ja jonne hän on yrittänyt vuosien ajan palata. sillä välin, kun Nuke kypsyy, Annien ja Crashin suhde kasvaa, kunnes käy ilmeiseksi, että he kaksi sopivat paremmin yhteen, paitsi että Annie ja Nuke ovat tällä hetkellä pariskunta. vaikean alun jälkeen Nukesta tulee kauden puoliväliin mennessä hallitseva syöttäjä. Elokuvan lopussa Nuke kutsutaan pääsarjaan. Tämä herättää Crashissa mustasukkaista vihaa, sillä hän on turhautunut siihen, ettei Nuke tunnista kaikkea sitä lahjakkuutta, jolla häntä on siunattu. Nuke lähtee valioliigaan, Annie lopettaa heidän suhteensa, ja Crash voittaa mustasukkaisuutensa ja jättää Nukelle viimeiset neuvot. Bullsilla ei ole enää käyttöä hänen mentorilleen, joten Crash vapauttaa hänet.Crash saapuu Annien luokse, ja kaksikko täyttää vetovoimansa viikonlopun mittaisella rakasteluistunnolla. Crash lähtee sitten Annien talosta etsimään uutta työpaikkaa pikkuliigassa.Crash liittyy toiseen joukkueeseen, Asheville Touristsiin, ja rikkoo pikkuliigan ennätyksen uran kunnareita. Näemme Nuken vielä viimeisen kerran, kun lehdistö haastattelee häntä valioliigajoukkueessa ja hän lausuu kliseisiä vastauksia, jotka Crash oli opettanut hänelle aiemmin. Sitten Crash lopettaa pelaajana ja palaa Durhamiin, jossa Annie kertoo hänelle olevansa valmis luopumaan vuosittaisista suhteistaan "poikien" kanssa. Crash kertoo hänelle, että hän harkitsee ryhtyvänsä manageriksi Visaliassa toimivaan pikkuliigajoukkueeseen. Elokuva päättyy, kun Annie ja Crash tanssivat Annien kynttilöiden valaisemassa olohuoneessa.

**Tulos**

Miksi Crash on mustasukkainen, kun Ebby kutsutaan pääsarjaan?

**Tulos**

Minkä ennätyksen Crash rikkoo?

**Tulos**

Kuinka kauan Crash pelasi junioriliigassa?

**Tulos**

Miksi Bulls vapauttaa Crashin?

**Tulos**

Minkä lempinimen Crash antaa Ebbylle?

**Tulos**

Millainen suhde Crashilla ja Ebbyllä on, kun he tapaavat ensi kertaa?

**Tulos**

Mitä Crash tekee, kun Ebby kieltäytyy soittamasta hänelle?

**Tulos**

Minkä lempinimen Annie antaa Ebbylle?

**Tulos**

Kenen kanssa Anniella on suhde tarinan alussa?

**Tulos**

Mitä Crash yrittää opettaa Ebbylle antamalla lyöjän tehdä syöttöpäätökset?

**Tulos**

Minkä lempinimen Crash antaa Ebbylle?

**Tulos**

Miksi Crash erotettiin Bullsista?

**Tulos**

Miksi Crash tuodaan Durham Bullsiin?

**Tulos**

Mihin kaupunkiin Crash aikoo tarinan lopussa mennä johtajaksi?

**Tulos**

Mitä Crash tekee jäätyään eläkkeelle?

**Tulos**

Kuka valitsee Bullsin pelaajia rakastajakseen ja oppilaakseen?

**Tulos**

Kuinka kauan Crash pelasi pääsarjassa?

**Tulos**

Mitä Nukelle tapahtuu tarinan lopussa?

**Tulos**

Kenen kiintymyksestä Ebby ja Crash kilpailevat?

**Tulos**

Missä Crash asui elämänsä 21 hienointa päivää?

**Tulos**

Missä kenttäasemassa Ebby pelaa?

**Tulos**

Mihin joukkueeseen Crash liittyy päästyään pois Durham Bullsista?

**Tulos**

Mihin uuteen joukkueeseen Crash liittyy?

**Tulos**

Ketä Annie tapaili?

**Tulos**

Minkä lempinimen Annie antaa Ebbylle?

**Tulos**

Mitä Crash yrittää opettaa Ebbylle syöttämisen suhteen?

**Tulos**

Mikä on Crashin ensireaktio siihen, että Ebby kutsutaan "The Show'hun"?

**Tulos**

Kuka on kateellinen Ebbylle?

**Tulos**

Mitä Crash ja Annie tajuavat, kun Ebbystä tulee parempi baseball-pelaaja?

**Esimerkki 3.5**

Näytelmän alussa kolme sivua kiistelee mustasta viitasta, jota prologin pitävä näyttelijä yleensä käyttää. Viitasta arvotaan arvalla, ja yksi häviäjistä, Anaides, alkaa kertoa yleisölle, mitä tulevassa näytelmässä tapahtuu; muut yrittävät tukahduttaa hänet, keskeyttävät hänet ja panevat kätensä hänen suulleen. Pian he tappelevat viitasta ja arvostelevat sekä kirjailijaa että katsojia.Varsinaisessa näytelmässä jumalatar Diana, jota kutsutaan myös nimellä Cynthia, on määrännyt "juhlalliset juhlat" Gargaphien laaksoon Kreikassa. Jumalat Amor ja Merkurius ilmestyvät paikalle, ja hekin alkavat riidellä. Merkurius on herättänyt Echon, joka itkee Narkissosta, ja toteaa, että juoma Narkissoksen lähteestä saa juojat "kasvamaan hullaantuneina itseensä". Cynthian juhliin kokoontuneet hovinaiset ja -miehet juovat kaikki lähteestä. myös Asotus, hölmö tuhlaaja, joka kaipaa hovimieheksi ja muodin ja tapojen mestariksi, juo lähteestä; turhamaisuuden ja itserakkauden rohkaisemana hän haastaa kaikki tulijat "hovin kohteliaisuuskilpailuun". Kilpailu käydään, neljässä vaiheessa, ja hovimiehet voitetaan. Näytelmässä esitetään kaksi symbolista naamiaisnäytelmää kokoontuneille juhlijoille. Niiden päätteeksi Cynthia (kuningatar Elisabetia esittävä) antaa tanssijoiden riisua naamionsa ja osoittaa, että paheet ovat naamioituneet hyveiksi. Hän määrää heidät tekemään parannuksen ja puhdistamaan itsensä kylpemällä Helicon-vuoren lähteessä.Actaeonin hahmo näytelmässä saattaa edustaa Robert Devereuxia, Essexin toista jaarlia, kun taas Cynthian palvelijattarena toimiva Arete saattaa olla Lucy, Bedfordin kreivitär, yksi Elisabetin palvelijattarista ja Jonsonin suojelijattarista.Näytelmässä on huomattavan paljon musiikkia, kuten kirkkokuoroista alkunsa saaneiden poikakomppanioiden teatterille on tyypillistä.

**Tulos**

MIHIN SYMBOLISET PAHEET NAAMIOITUIVAT ITSENSÄ?

**Tulos**

KUKA YLEENSÄ PITÄÄ NÄYTELMÄN AVAUSPROLOGIN?

**Tulos**

Ketä Cynthia edustaa naamiaisnäytelmässä?

**Tulos**

Mikä on toinen nimi jumalattarelle Dianalle?

**Tulos**

KUKA HAASTAA HOVIMIEHET KOHTELIAISUUSKILPAILUUN?

**Tulos**

MITÄ JUOMINEN NARSISSIN LÄHTEESTÄ SAA JUOJAN TEKEMÄÄN?

**Tulos**

Minkä haasteen Asotus esittää kaikille tulijoille?

**Tulos**

Kuka on Essexin 2. jaarli?

**Tulos**

Mistä tämä näytelmä on peräisin?

**Tulos**

Mitkä kaksi yhteiskuntaa ovat tässä näytelmässä samassa linjassa?

**Tulos**

Missä on Narkissoksen kevät?

**Tulos**

Mistä ihmiset riitelevät tarinan alkaessa?

**Tulos**

KUKA JOI LÄHTEESTÄ CYNTHIAN JUHLISSA?

**Tulos**

MINKÄ LAUSEEN CYNTHIA ANTOI SYMBOLISILLE PAHEILLE?

**Tulos**

KUINKA MONTA VAIHETTA COURT COMPLIMENT -KILPAILUSSA OLI?

**Tulos**

Mikä vaikutus Narkissoksen lähteellä on niihin, jotka juovat siitä?

**Tulos**

MISSÄ LAAKSOSSA JÄRJESTETTIIN KYNTIAN JUHLALLISET JUHLAT?

**Tulos**

KETÄ KAIKU ITKEE?

**Tulos**

Missä tanssijat puhdistavat itsensä?

**Tulos**

Mitä Diana käskee hoviväen tehdä tanssin jälkeen?

**Tulos**

Ketä Diana edustaa?

**Tulos**

Miksi Asotus rohkaistuu turhamaisuudesta ja itserakkaudesta?

**Tulos**

Mitä Diana määrää tapahtuvaksi Gargaphien laaksossa?

**Tulos**

Kuka herättää Echon?

**Tulos**

Kuka ilmoittaa tapahtumat, jotka tulevat muiden lavalla olevien kauhistukseksi?

**Tulos**

MILLÄ NIMELLÄ CYNTHIA TUNNETTIIN PAREMMIN?

**Tulos**

Kuinka monta vaihetta kilpailussa on?

**Tulos**

Kuka astuu sisään Merkuriuksen kanssa?

**Tulos**

Kuka nukkuu näytelmän alussa?

**Tulos**

Millä sivulla vuoropuhelu suoritetaan?

**Esimerkki 3.6**

Atlantic Cityssä järjestettävän ottelun alikierroksella Mickyn suunniteltu vastustaja sairastuu, ja hänelle löydetään korvaaja, joka on 20 kiloa Mickyä painavampi, mikä on ammattinyrkkeilyssä valtava ero, joka vastaa kahta tai kolmea painoluokkaa. Mickyn varauksista huolimatta hänen äitinsä ja veljensä suostuvat siihen, jotta he kaikki saavat kukkaron, ja Micky häviää. Micky vetäytyy maailmasta ja solmii suhteen Charlene Flemingiin, entiseen collegeurheilijaan, joka keskeytti opinnot ja ryhtyi baarimikoksi.Muutaman viikon kuluttua Alice järjestää Mickylle uuden ottelun, koska on huolissaan siitä, että ottelu päättyy samoin. Hänen äitinsä ja seitsemän siskoaan syyttävät Charlenea Mickyn motivaation puutteesta. Micky mainitsee saaneensa tarjouksen, jossa hänelle maksetaan palkkaa harjoittelusta Las Vegasissa, mutta Dicky sanoo vastustavansa tarjousta, jotta Micky voi jatkaa harjoittelua ja työskentelyä perheensä kanssa. Dicky yrittää sitten hankkia rahaa esiintymällä tyttöystävänsä prostituoituna ja sitten, kun hän on saanut asiakkaan, esiintymällä poliisina varastamaan asiakkaan rahat. Oikeat poliisit estävät tämän, ja Dicky pidätetään takaa-ajon ja tappelun jälkeen. Micky yrittää estää poliiseja hakkaamasta veljeään, ja poliisi murtaa hänen kätensä raa'asti ennen pidätystä. Micky vapautetaan syytteeseenpanossa, mutta Dicky joutuu vankilaan. Micky pesee kätensä Dickystä.HBO:n dokumentin esitysiltana Dickyn perhe ja Dicky itse vankilassa kauhistuvat nähdessään, että se on nimeltään Crack in America, kuinka crack-riippuvuus pilasi Dickyn uran ja elämän. Dicky alkaa treenata ja yrittää saada elämänsä kuntoon vankilassa. Mickyn houkuttelee takaisin nyrkkeilyyn hänen isänsä, jonka mielestä Alice ja hänen poikapuolensa Dicky ovat huonoja vaikutteita. Muut hänen valmennustiiminsä jäsenet ja uusi manageri Sal Lanano suostuttelevat Mickyn palaamaan nyrkkeilyyn sillä nimenomaisella ehdolla, että hänen äitinsä ja veljensä eivät enää ole mukana. He järjestävät Mickylle pienempiä otteluita auttaakseen häntä saamaan itseluottamuksensa takaisin. Sitten hänelle tarjotaan toinen suuri ottelu voittamatonta nousevaa nyrkkeilijää vastaan. Vankilavierailun aikana Dicky neuvoo Mickyä, miten hänen vastustajansa tulisi parhaiten kohdata, mutta Mickyn mielestä hänen veljensä on itsekäs ja yrittää käynnistää uudelleen oman epäonnistuneen uransa. Varsinaisen ottelun aikana Micky melkein hukkuu, mutta toteuttaa sitten veljensä neuvot ja voittaa; hän ansaitsee mestaruusottelun, jota hänen vastustajansa valmisteli.Vankilasta päästyään Dicky ja hänen äitinsä käyvät katsomassa Mickyn harjoittelua. Olettaen asioiden olevan ennallaan Dicky valmistautuu sparraamaan veljensä kanssa, mutta Micky ilmoittaa hänelle, että hän ei enää saa, koska Micky on tehnyt sopimuksen nykyisen joukkueensa kanssa. Seuranneessa riidassa, jossa Micky moittii perheensä molempia ryhmiä, Charlene ja hänen valmentajansa lähtevät inhoissaan. Micky ja Dicky ottavat yhteen, kunnes Micky kaataa Dickyn. Dicky ryntää pois, luultavasti taas pilveen, ja Alice moittii Mickyä, mutta raitistuu, kun tämä kertoo, että Alice on aina suosinut Dickyä. Dicky palaa crack-kotiinsa, jossa hän hyvästelee ystävänsä ja suuntaa Charlenen asunnolle. Hän kertoo tälle, että Micky tarvitsee molempia ja että heidän on tehtävä yhteistyötä. Kun kaikki on saatu takaisin yhteen, ryhmä lähtee Lontooseen titteliotteluun. Micky saa jälleen yhden yllätysvoiton ja voittaa maailmansarjan tittelin. Elokuva hyppää muutaman vuoden eteenpäin, ja Dicky antaa veljelleen tunnustusta oman menestyksensä luojana.

**Tulos**

Mikä on Charlene Flemingin nykyinen ammatti?

**Tulos**

Missä oli viimeinen titteliottelu ?

**Tulos**

Kuka johtaa Mickeyn takaisin nyrkkeilyyn sen jälkeen, kun HBO:n dokumentti on julkaistu?

**Tulos**

Minkä tittelin MIcky lopulta voittaa?

**Tulos**

Miten Mickey mursi kätensä?

**Tulos**

Miksi Micky tunsi hävinneensä ottelun Atlantic Cityssä?

**Tulos**

Kuka Mickyn perheenjäsenistä tajuaa, että muut perheenjäsenet ovat huonoja vaikuttajia?

**Tulos**

Minkä palkinnon Micky saa lopullisesta voitosta?

**Tulos**

Minkä vamman Micky saa, kun hän yrittää auttaa velipuoltaan tappelussa poliisin kanssa?

**Tulos**

Kenelle Mikki lopulta antaa tunnustusta voitostaan?

**Tulos**

Miksi Mickey suhtautui varauksellisesti otteluun Atlantic Cityssä?

**Tulos**

Kuinka paljon Mickyä painavampi on Mickyn vastustaja Atlantic Cityssä?

**Tulos**

Kuka kärsii crack-riippuvuudesta?

**Tulos**

Mitä Dickylle tapahtuu, kun hän esiintyy poliisina?

**Tulos**

Kuka on se manageri, joka saa Mickyn pois huonoa vaikutusvaltaa käyttävän perheensä luota ja rohkaisee hänet takaisin kehään?

**Tulos**

Ketä Micky syyttää Dickyn suosimisesta?

**Tulos**

Kenen neuvoja Micky noudattaa uransa palauttamiseksi ottelusarjassaan saadakseen vauhtia vastustajaansa vastaan?

**Tulos**

Kenen kanssa Dicky pyrkii tekemään yhteistyötä perheen jälleenyhdistämisessä?

**Tulos**

Minkä painoluokan mestariksi Mikki tulee tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä oli dickeystä kertovan hbo-dokumentin nimi?

**Tulos**

Mitä Sal Lanano vakuutti Mickeylle, että hänen on tehtävä palatakseen nyrkkeilyyn?

**Tulos**

Mihin paikkaan ryhmä menee viimeistä titteliottelua varten?

**Tulos**

Missä Mickyn viimeinen tappelu tapahtuu?

**Tulos**

Miksi Micky ja hänen perheensä suostuvat otteluun Atlantic Cityssä?

**Tulos**

Minkä näköisenä Dicky antaa tyttöystävänsä esiintyä?

**Tulos**

Mihin rikokseen Dickey syyllistyi, jonka vuoksi hänet pidätettiin?

**Tulos**

Kuka voittaa Mikki ja Dickey välisen säästöottelun?

**Tulos**

Mitä Dickyn perhe tajuaa Dickyn elämän ja uran tuhoajaksi nähtyään dokumentin HBO:lla?

**Esimerkki 3.7**

Romuluksella Romuluksen keisarillisen senaatin jäsenet keskustelevat siitä, hyväksyvätkö he rauhanehdot ja liittoutumisen Reman-kapinallisjohtaja Shinzonin kanssa. Remanit ovat Romuluksen imperiumin orjarotu, jota käytetään kaivostyöläisinä ja tykinruokana. Armeijan ryhmä tukee Shinzonia, mutta preetori ja senaatti ovat sitä vastaan. Kun esitys on hylätty, praetori ja jäljellä olevat senaattorit hajotetaan laitteella, jonka on jättänyt huoneeseen sotilasliittolainen senaattori.Samaan aikaan USS Enterprise-E:n miehistö valmistautuu jättämään jäähyväiset ensimmäiselle upseerille, komentaja William Rikerille ja neuvonantaja Deanna Troille, jotka menevät naimisiin Betazedilla. Matkalla he löytävät positronisen energialukeman Kolaranin järjestelmässä olevalta planeetalta lähellä Romuluksen neutraalia vyöhykettä. Kapteeni Jean-Luc Picard, komentajakapteeniluutnantti Worf ja komentajakapteeniluutnantti Data laskeutuvat Kolarus III:lle ja löytävät Dataa muistuttavan androidin jäänteet. Kun androidi kootaan uudelleen, se esittäytyy nimellä B-4. Miehistö päättelee, että kyseessä on vähemmän kehittynyt, aiempi versio Datasta. Picardiin ottaa yhteyttä vara-amiraali Kathryn Janeway ja määrää aluksen diplomaattiselle matkalle läheiselle Romulukselle. Janeway selittää, että Romuluksen valtakunnan on vallannut sotilasvallankaappauksessa Shinzon, joka sanoo haluavansa rauhaa Federaation kanssa ja tuoda vapauden Remukselle. Perillä he saavat tietää, että Shinzon on Picardin klooni, jonka romuluslaiset loivat salaa asettaakseen korkea-arvoisen vakoojan Federaatioon, mutta hanke hylättiin ja Shinzon jätettiin lapsena Remukselle kuolemaan orjaksi. Monien vuosien jälkeen Shinzonista tuli remalaisten johtaja, ja hän rakensi raskaasti aseistetun lippulaivansa, Scimitarin. Aluksi diplomaattiset ponnistelut sujuvat hyvin, mutta Enterprisen miehistö huomaa, että Scimitar tuottaa alhaisia määriä thalaronin säteilyä, jota oli käytetty keisarillisen senaatin tappamiseen ja joka on tappavaa lähes kaikille elämänmuodoille. Myös Enterprisen tietokoneiden kanssa yritetään yllättäen kommunikoida, ja Shinzon itse loukkaa Troin mieltä Reman-varakuninkaan telepatian avulla. tohtori Crusher saa selville, että Shinzon vanhenee nopeasti kloonina ollessaan, ja ainoa mahdollinen keino sen pysäyttämiseksi on Picardin oman verensiirto. Shinzon kidnappaa Picardin Enterpriselta sekä B-4:n. Hän on istuttanut androidin läheiselle planeetalle houkutellakseen Picardin Romulukselle. Data kuitenkin paljastaa vaihtaneensa paikkaa B-4:n kanssa, pelastaa Picardin ja palaa Enterpriselle. He ovat nyt nähneet tarpeeksi Scimitarista tietääkseen, että Shinzon aikoo käyttää sota-alusta hyökätäkseen Federaatioon käyttäen sen thalaron-säteilygeneraattoria aseena, ja kaiken elämän tuhoaminen Maasta on hänen ensisijainen tavoitteensa.Enterprise palaa takaisin Federaation avaruuteen, mutta Scimitar joutuu väijytykseen Bassenin repeämässä, joka estää aliavaruusviestinnän. Kaksi romuluslaista sotalintua tulee Enterprisen avuksi, sillä ne eivät halua olla osallisia Shinzonin kansanmurhasuunnitelmiin, mutta Shinzon tuhoaa toisen ja lamauttaa toisen. Picard ymmärtää, että Scimitar on pysäytettävä hinnalla millä hyvänsä, ja käskee Enterprisen rampata toisen aluksen. Törmäyksessä molemmat alukset vaurioituvat pahoin ja Scimitarin pääaseet tuhoutuvat. Varmistaakseen niiden molemminpuolisen tuhon Shinzon aktivoi thalaron-aseen. Picard nousee Scimitariin kohdatakseen Shinzonin yksin, ja lopulta hän tappaa hänet puukottamalla hänet metallitukeen. Data ylittää alusten välisen etäisyyden henkilökohtaisella siirtimellä siirtääkseen Picardin takaisin Enterpriselle ja ampuu sitten vaiheisella thalaron-generaattoriin, joka tuhoaa Scimitarin ja Datan ja pelastaa samalla Enterprisen. Miehistö suree Dataa, ja eloonjäänyt romuluslainen komentaja tarjoaa heille kiitollisuuttaan imperiumin pelastamisesta.Enterprise palaa Maahan korjattavaksi. Picard jättää hyvästit vasta ylennetylle kapteeni Rikerille, joka lähtee USS Titanin komentajaksi aloittamaan mahdollisen rauhanneuvottelutehtävän romuluslaisten kanssa. Picard tapaa B-4:n ja saa selville, että Data oli ennen kuolemaansa kopioinut hermoverkkonsa ohjelmat B-4:n positronimatriisiin. Vaikka B-4 ei vielä käyttäydy kuin Data, Picardille vakuutetaan, että hänestä tulee aikanaan ystävänsä kaltainen.

**Tulos**

Miksi Shinzon aktivoi thalaron-aseen?

**Tulos**

Miksi Shinzon luotiin?

**Tulos**

Kuka loi Shinzonin?

**Tulos**

Mikä tulee Enterprisen avuksi?

**Tulos**

Mikä on Shinzonin lippulaivan nimi?

**Tulos**

Kuka pelastaa Picardin Shinzonilta?

**Tulos**

Miksi Enterprise matkustaa Maahan?

**Tulos**

Millä planeetalla Will Riker ja Deanna Troi aikovat mennä naimisiin?

**Tulos**

Miten tohtori Crusher hoitaa Shinzonia?

**Tulos**

Mikä planeetta on vaarassa, kun Shinzon aikoo käyttää thalaronin säteilygeneraattoria?

**Tulos**

Mitä Shinzon tekee kahdelle romuluslaiselle sotalinnulle?

**Tulos**

Kuka sieppaa Picardin Enterpriselta?

**Tulos**

Miksi Shinzon vanhenee nopeasti?

**Tulos**

Mikä on Dataa muistuttavan androidin nimi?

**Tulos**

Kenen ensisijaiset aseet tuhottiin?

**Tulos**

Mitä Enterprise havaitsee, kun se matkustaa Kolaronin planeettajärjestelmän läpi?

**Tulos**

Kuka tappaa Shinzonin?

**Tulos**

Mitä Riker ja Troy toivovat saavansa aikaan Betazedilla?

**Tulos**

Kenestä tulee USS Titanin komentaja?

**Tulos**

Miten Shinzon kuolee?

**Tulos**

Mikä on Scimitar?

**Tulos**

Ketä henkilöä (muuta kuin itseään) Shinzon muistuttaa eniten?

**Tulos**

Kenen klooni Shinzon on?

**Tulos**

Missä Scimitar väijyy Enterprisea?

**Tulos**

Miksi Shinzon aktivoi Thalaron-aseen?

**Tulos**

Mikä on Reman-kapinallisjohtajan nimi?

**Tulos**

Mitä Shinzon tarvitsee pysäyttääkseen nopean vanhenemisen ja pelastaakseen henkensä?

**Tulos**

Kenet Shinzon sieppaa Enterpriselta?

**Esimerkki 3.8**

Tarina seuraa nimikkosankaritarta lapsuudesta konfirmaatioon. Äitinsä kuoleman jälkeen Lisbeth (joka sai lempinimen Longskirt eli Sids rk alkuperäisessä norjankielessä veljeltään saamansa joululahjan, aivan liian pitkän hameen vuoksi) muuttaa alkuperäisestä kodistaan New Ridge -tilalta (jota kutsutaan "Peeroutin linnaksi", koska sieltä on hieno näköala laaksoon) Hoelin tilalle, joka on yksi alueen keskeisistä tiloista. Myös hänen veljensä Jacob siirtyy Nordrumin tilalle karjapaimeneksi. Hoelissa Lisbethistä huolehtii tilan isäntä Kjersti Hoel, joka on antanut lupauksen Lisbethin äidille ennen tämän kuolemaa. Lisbeth työskentelee karjan parissa sekä maatilalla että seterillä (kirjan translitteroinnissa s ter), joka on kesäisin käytetty vuoristolaidun. Seterillä Lisbeth tapaa kaksi muuta naapuritilojen karjamiestä, joiden kanssa hän viettää kesän ja tutustuu heihin kasvaessaan.Kirjan sisältö kertoo maalaislasten vaikeista työoloista, jotka joutuivat viettämään köyhää elämää kaukana vanhemmistaan. Heidän vaikeasta kohtalostaan kertovasta kuvauksesta huolimatta vallitsee optimistinen kuvaus.

**Tulos**

Mikä on Lisbethin kodin nimi?

**Tulos**

Mikä sai Lisbethin muuttamaan Hoelin tilalle?

**Tulos**

Kenet Lisbeth tapaa lavastimessa?

**Tulos**

Millä nimellä kutsutaan vuoristolaidunta, jota paimentolaiset käyttävät kesäisin?

**Tulos**

Minkä työn Lisbethin veli ottaa?

**Tulos**

Miten Lisbeth viettää kesänsä vuoristolaitumella työnteon lisäksi?

**Tulos**

Millä nimellä New Ridge Farm tunnettiin?

**Tulos**

Lisbeth työskentelee Hoelin tilalla. Millä hän työskentelee?

**Tulos**

Mikä on Lisbethin työ maatilalla?

**Tulos**

Mistä hame on peräisin?

**Tulos**

Mitä töitä Llisbeth tekee maatilalla?

**Tulos**

Jacob menee Nordrumin tilalle tullakseen mikä?

**Tulos**

Mikä on Lisbethin lempinimi?

**Tulos**

Mikä on Lisbethin maatilan nimi?

**Tulos**

Mikä on asettaja?

**Tulos**

Miksi Lisbeth ja hänen veljensä muuttavat pois lapsuudenkodistaan?

**Tulos**

Milloin Lisbeth menee setterin luo?

**Tulos**

Mikä on Jacobin suhde Lisbethiin?

**Tulos**

Mikä on Lisbethin veljen nimi?

**Tulos**

Miksi maatilan omistaja pitää huolta Lisbethistä?

**Tulos**

Mistä Lisbeth sai lempinimensä?

**Tulos**

Kuka antoi Lisbethille joululahjansa, josta hänen lempinimensä sai alkunsa?

**Tulos**

Mistä Lisbeth on saanut lempinimensä?

**Tulos**

Mikä on Lisbethin lapsuudenkodin, New Ridge -tilan, vaihtoehtoinen nimi?

**Tulos**

Kjersti Hoel huolehtii Lisbethistä, kun tämä tulee hänen tilalleen. Mikä sai hänet tuntemaan velvollisuudekseen huolehtia tytöstä?

**Tulos**

Mistä Lisbeth sai pitkän hameensa?

**Tulos**

Kuka on Jacob Lisbethille?

**Tulos**

Kuka omistaa tilan?

**Esimerkki 3.9**

Elokuva alkaa Jimin An American Prayer -kappaleen nauhoituksen aikana ja siirtyy nopeasti lapsuusmuistoon, jossa hänen perheensä ajaa autiomaata pitkin vuonna 1949, jolloin nuori Jim näkee tien varressa kuolevan iäkkään intiaanin. Vuonna 1965 Jim saapuu Kaliforniaan ja sulautuu Venice Beachin kulttuuriin. Elokuvakouluaikana UCLA:ssa opiskellessaan hän tapaa tulevan tyttöystävänsä Pamela Coursonin ja kohtaa ensi kertaa Ray Manzarekin sekä muut Doorsin perustajat Robby Kriegerin ja John Densmoren.Jim suostuttelee bändikaverinsa matkustamaan Death Valleyyn ja kokemaan psykedeelisten huumeiden vaikutukset. Palattuaan Los Angelesiin he soittavat useita keikkoja kuuluisassa yökerhossa Whisky a Go Go ja saavat raivokkaan fanijoukon. Jimin lavalla tekemät kepposet ja toisinaan improvisoidut sanoitukset herättävät klubin omistajien suuttumuksen, mutta bändin suosio kasvaa jatkuvasti. Kun Doorsista tulee erittäin menestyvä, Jim ihastuu yhä enemmän omaan imagoonsa "The Lizard Kinginä" ja sortuu alkoholismiin ja huumeisiin. Jim tapaa Patricia Kennealyn, noituuteen sekaantuneen rocktoimittajan, ja osallistuu hänen kanssaan mystisiin seremonioihin. Hän liittyy tämän kanssa kädenvääntöseremoniaan. Vanhin henki seuraa näitä tapahtumia. muu bändi alkaa kyllästyä Jimin myöhästyneisiin äänityssessioihin ja poissaoloihin konserteista. Jim saapuu myöhässä Miamissa, Floridassa järjestettävään konserttiin, ja hänestä tulee yhä enemmän vastakkainasetteleva yleisöä kohtaan, ja hänen väitetään paljastavan itsensä lavalla. Tapahtuma on yhtyeen syvin piste, ja se johtaa Jimiä vastaan nostettuihin rikossyytteisiin, keikkojen peruuntumiseen, Jimin ihmissuhteiden katkeamiseen ja muiden yhtyeen jäsenten kaunaan.Vuonna 1970 Jim todetaan pitkän oikeudenkäynnin jälkeen syylliseksi siveettömään paljastumiseen ja hänet tuomitaan vankilaan, mutta hän saa kuitenkin jäädä vapaaksi takuita vastaan odottamaan muutoksenhaun tuloksia. Patricia kertoo Jimille olevansa raskaana, mutta Jim suostuttelee hänet tekemään abortin. Jim vierailee Doorsin jäsenten luona viimeisen kerran ja osallistuu Rayn järjestämiin juhliin, joissa hän toivottaa bändille onnea tuleviin ponnisteluihin ja antaa kaikille kopion An American Prayer -teoksesta. Kun Jim leikkii etupuutarhassa lasten kanssa, hän näkee, että yksi lapsista on hänen lapsuutensa. Jim kommentoi: "Tämä on oudointa elämää, mitä olen koskaan tuntenut." Vuonna 1971 Pam löytää Jimin kuolleena kylpyammeesta Pariisista, Ranskasta, 27-vuotiaana. Pam kuolee kolme vuotta myöhemmin huumeiden yliannostukseen, niin ikään 27-vuotiaana.Elokuvan viimeisissä kohtauksissa ennen lopputekstejä nähdään Jimin hautapaikka P re Lachaise -hautausmaalla Pariisissa, kun taustalla soi "A Feast of Friends". Juuri ennen lopputekstejä valkokangas valkenee ja näyttöön ilmestyy teksti "Jim Morrisonin sanotaan kuolleen sydämen vajaatoimintaan. Hän oli 27-vuotias. Pam liittyi häneen kolme vuotta myöhemmin." Jälkiteksteissä bändi nähdään äänittämässä studiossa kappaletta "L.A. Woman".

**Tulos**

Miksi Jim Morrison kutsui luokkatoverinsa Death Valleyyn?

**Tulos**

Mitä rikossyytteitä Jimiä vastaan nostettiin Miamissa, FL:ssä?

**Tulos**

Kenet Jim Morrison näki kuolevan autiomaan valtatiellä vuonna 1949?

**Tulos**

Mikä oli tuomio Jimin tapauksessa?

**Tulos**

Mistä Pamela Courson löysi Jim Morrisonin kuolleena vuonna 1971?

**Tulos**

Mikä lopulta aiheuttaa bändin kaatumisen?

**Tulos**

Keitä Doors-yhtyeen jäsenet ovat etunimeltään?

**Tulos**

Mitä Jim teki Miamissa konsertissa, jota pidettiin bändin matalimpana pisteenä?

**Tulos**

Mihin Yhdysvaltain osavaltioon Jim Morrison saapui vuonna 1965?

**Tulos**

Mitä Jim suostuttelee bänditoverinsa tekemään?

**Tulos**

Mitä Jim tekee, kun hän osallistuu bändikavereidensa järjestämiin juhliin viimeistä kertaa?

**Tulos**

Minkälaisesta minäkuvasta Jimillä on yhä suurempi pakkomielle?

**Tulos**

Mihin Jim osallistuu Patrician kanssa?

**Tulos**

Mihin mielikuvaan Jim ihastuu menestyttyään?

**Tulos**

Mikä oli Jimin kuolinsyy?

**Tulos**

Mikä oli Jim Morrisonin lempinimi, kun hänen yhtyeensä suosio kasvoi?

**Tulos**

Kuka Pamela Courson on Jimille?

**Tulos**

Mikä on sen Los Angelesissa sijaitsevan yökerhon nimi, jossa Doors kasvatti fanikuntansa?

**Tulos**

Missä Jim tapaa bändinsä mahdolliset jäsenet?

**Tulos**

Miten Jim reagoi Patrician uutiseen, että hän on raskaana?

**Tulos**

Missä koulussa Jim Morrison opiskeli?

**Tulos**

Kuka oli rocktoimittaja, jonka kanssa Jim osallistui noitavainoihin?

**Tulos**

Kuinka vanha Jim Morrison oli kuollessaan?

**Tulos**

Minkä lahjan Jim antaa bändikavereilleen viimeisellä vierailullaan Rayn juhlissa?

**Tulos**

Mikä oli Jimin väitetyn kuoleman syy?

**Tulos**

Mitä Jim ja Patricia tekevät, kun he saavat tietää Jimin olevan raskaana?

**Tulos**

Missä koulussa Jim opiskelee Kaliforniassa?

**Tulos**

Mistä Pam huomaa, että Jim on kuollut?

**Tulos**

Kuka oli raskaana Jim Morrisonin lapselle?

**Tulos**

Kuka oli Jim Morrisonin tyttöystävä hänen opiskeluaikanaan UCLA:ssa?

**Esimerkki 3.10**

Asiakirjassa Universal House of Justice vakuuttaa, että maailmanrauha on mahdollinen ja nyt ensimmäistä kertaa ihmiskunnan historiassa saavutettavissa. Siinä todetaan kuitenkin, että nykyinen kansainvälinen hallintojärjestelmä on puutteellinen eikä kykene poistamaan sodan, terrorismin, anarkian ja taloudellisen epävakauden uhkia. Ongelmaa lisää laajalle levinnyt uskomus siitä, että ihmiset ovat luonnostaan vihamielisiä ja aggressiivisia, ja että nämä puutteet tekevät maailmanlaajuisen rauhan ja vakauden pitkällä aikavälillä kestämättömäksi. lausunnossa esitetään päinvastainen väite, jonka mukaan ihmiskunta on kehittynyt ja kypsynyt historiansa aikana, että ihminen on pohjimmiltaan hengellinen ja Jumalan luomus. Tämän seurauksena he kykenevät rakentamaan sivilisaatiota ja luomaan rauhanomaisen maailman, jos he niin päättävät. Universaalinen oikeustalo väittää, että rauhaa ei voi syntyä ilman uskontoa, ja siteeraa Baha u llahia, Baha i -uskon perustajaa. Uskonto on suurin kaikista keinoista, joilla maailmaan saadaan järjestys ja kaikki siellä asuvat voivat olla rauhanomaisesti tyytyväisiä. Universaalinen oikeussalihuone väittää, että uskonnollisten riitojen lähde ei ole uskonnoissa itsessään, vaan pikemminkin ihmiskunnan laiminlyönnissä ja virheellisten tulkintojen määräämisessä". Nämä tulkinnat ovat erottaneet uskon järjestä ja tieteen uskonnosta. Hylättyään uskonnon merkityksettömänä yhteiskunnat eri puolilla maailmaa ovat omaksuneet suuren määrän ideologioita, jotka eivät ole palvelleet ja tukeneet koko ihmiskunnan etuja.Rauhaa ei voida saavuttaa pelkästään kieltämällä tietyt aseet, ratkaisemalla tietyt konfliktit tai allekirjoittamalla uusia sopimuksia. Se edellyttää aivan uudenlaista sitoutumista. Julkilausumassa todetaan, että on hyväksyttävä uudet puitteet, jotka perustuvat useisiin yleisiin periaatteisiin ja aitoon kiinnostukseen luoda rauhanomainen ja oikeudenmukainen maailma. Perusongelmia, joihin on puututtava, ovat:Rasismi ja syrjintä rodun, sukupuolen ja uskonnollisen vakaumuksen perusteellaRikkaiden ja köyhien välinen kohtuuton epätasa-arvoHallitsematon kansallismielisyysReligionaaliset riidatMiesten ja naisten välinen epätasa-arvoKoulutusmahdollisuuksien puute monilla eri puolilla maailmaaKansojen välisen kommunikaation perustavanlaatuinen puuteYleismaailmallinen oikeustalo toteaa edelleen, että rauhan on perustuttava ymmärrykseen, jonka mukaan ihmiskunta on pohjimmiltaan yksi ihmisperhe. Sen jälkeen se kehottaa maailman johtajia kokoontumaan yhteen ja pohtimaan ongelmaa, Yhdistyneiden Kansakuntien täyttä tukea ja kaikkien ihmisten halukkaita suostumuksia tähän pohdintaprosessiin.

**Tulos**

Mihin rauhan on perustuttava?

**Tulos**

Mitä syrjintää on käsiteltävä?

**Tulos**

Minkä laajalle levinneen uskomuksen katsotaan aiheuttavan eniten haittaa?

**Tulos**

Millainen syrjintä vaivaa maailmaa?

**Tulos**

Rauha voidaan saavuttaa vain käsittelemällä?

**Tulos**

Vastakkaisen väitteen mukaan ihminen on pohjimmiltaan mitä?

**Tulos**

Mikä on yksi ongelma, johon Universaalisen Oikeuden Talon mukaan on puututtava?

**Tulos**

Miksi tulkintavirhe vahingoittaa uskonnollista uskoa?

**Tulos**

Kenen luomus ihminen on?

**Tulos**

Kenen tukeen universaali oikeustalo vetoaa?

**Tulos**

Miten U.H.o.J. näkee uskonnollisten riitojen syntymisen?

**Tulos**

Mikä taho tuottaa lausuman?

**Tulos**

Maailman oikeuden talo sanoo, että rauha ei voi toteutua ilman mitä?

**Tulos**

Mitä ihmisten välillä on perustavaa laatua oleva puute?

**Tulos**

Kuka on baha'i-liikkeen perustaja?

**Tulos**

Mitä Maailman oikeuden talo sanoo olevan mahdollista ensimmäistä kertaa ihmiskunnan historiassa?

**Tulos**

Ketä siteerataan Universaalisessa oikeustalossa?

**Tulos**

Rikkaiden ja rikkaiden välillä on kohtuuton ero?

**Tulos**

Jos päätämme tehdä niin, mitä me ihmiset pystymme luomaan?

**Tulos**

Rauhaa ei voi syntyä ilman mitä?

**Tulos**

Mikä on tässä artikkelissa käsitellyn asiakirjan nimi?

**Tulos**

Mikä on erottanut uskon järjestä ja tieteen uskonnosta?

**Tulos**

Mikä on suurin ero?

**Tulos**

Missä asiakirjassa todetaan, että maailmanrauha on nyt mahdollinen?

**Tulos**

Miten Universaalinen Oikeuden talo kuvaa ihmiskuntaa?

**Tulos**

Miten kansainvälinen hallinto on pettänyt maailman?

**Tulos**

Ihmisten uskotaan olevan luonnostaan?

**Tulos**

Rauhan on perustuttava ymmärrykseen siitä, että ihmiskunta on?

**Tulos**

Mitä rauhan syntyminen edellyttää?

**Esimerkki 3.11**

Vuonna 2003 Maya (Jessica Chastain), nuori Yhdysvaltain keskustiedustelupalvelun upseeri, on viettänyt koko lyhyen uransa siitä lähtien, kun hänet rekrytoitiin virastoon, keskittyen yksinomaan al-Qaidan johtajaan Osama bin Ladeniin (Ricky Sekhon) liittyvien tiedustelutietojen keräämiseen terroristijärjestön Yhdysvaltoihin vuonna 2001 tekemien syyskuun 11. päivän iskujen jälkeen. Hänet siirretään Yhdysvaltain Pakistanin suurlähetystöön työskentelemään kollegansa Danin (Jason Clarke) kanssa. Tehtävänsä ensimmäisinä kuukausina Maya seuraa Dania usein mustalle sivustolle, jossa tämä jatkaa Ammar al-Baluchin (Reda Kateb) kuulusteluja. Ammar al-Baluchin (Reda Kateb) epäillään olevan yhteydessä useisiin syyskuun 11. päivän iskujen kaappareihin. Dan soveltaa vangittuun hyväksyttyjä kidutuskuulustelutekniikoita, kuten stressiasentoja, huppujen laittamista, kuurouttavalle melulle altistamista, univajetta, vesikidutusta ja nöyryytystä.Epäonnistuttuaan saamaan al-Baluchia luovuttamaan tietoja Saudi-Arabiassa tehdystä iskusta hän ja Maya huijaavat Ammarin lopulta paljastamaan, että vanha tuttava, joka käyttää peitenimeä Abu Ahmed al-Kuwaiti, työskentelee bin Ladenin henkilökohtaisena kuriirina. Muut vangit vahvistavat tämän, ja jotkut väittävät Abu Ahmedin välittävän viestejä bin Ladenin ja Abu Faraj al-Libbi -nimisen miehen välillä. 2005 CIA ja paikallinen poliisi ottavat Abu Farajin kiinni Pakistanissa. Maya saa kuulustella häntä, mutta hän kiistää edelleen tuntevansa kuriiria, jolla on tällainen nimi. Maya tulkitsee tämän Farajin yritykseksi salata Abu Ahmedin tärkeys.Maya viettää seuraavat viisi vuotta seuloen tietomassoja ja tietoja käyttäen erilaisia tekniikoita, aavistuksia ja jakamalla oivalluksia. Hän keskittyy Abu Ahmedin etsimiseen ja teoretisoi, että hän on paras tapa löytää bin Laden. Vuonna 2008 hän joutuu Islamabad Marriott -hotellin pommi-iskun kohteeksi. Uudelleenkomennukselle lähtevä Dan varoittaa Mayaa mahdollisesta politiikan muutoksesta ja vihjaa, että uusi hallinto saattaa asettaa syytteeseen kuulusteluihin osallistuneet upseerit.Mayan upseeritoveri ja ystävä Jessica (Jennifer Ehle) saa surmansa Camp Chapmanin iskussa vuonna 2009. Samana päivänä sureva Maya saa kuulusteluvideon jordanialaisesta vangista, joka väittää, että mies, joka aiemmin tunnistettiin valokuvasta Abu Ahmediksi, on mies, jonka hän itse hautasi vuonna 2001. Useat Mayan vanhemmat CIA:n upseerit päättelevät, että kohde, joka voisi olla Abu Ahmed, on jo kauan sitten kuollut ja että he ovat etsineet väärää jälkeä yhdeksän vuoden ajan." Vähän myöhemmin Marokon tiedusteluarkistoja tutkiva analyytikkokollega tulee Mayan luo ja ehdottaa, että Abu Ahmed on Ibrahim Sayeed, epäilty, joka oli tullut CIA:n tietoon pian syyskuun 11. päivän jälkeen. Tajutessaan, että hänen johtolankansa saattaa olla yhä elossa, Maya ottaa yhteyttä Daniin, joka on nykyään CIA:n päämajan vanhempi upseeri. Hän teoretisoi, että CIA:n oletettu valokuva Abu Ahmedista oli itse asiassa hänen veljensä Habibin kuva, sillä tämän sanottiin muistuttavan hämmästyttävän paljon Ibrahimia ja hänen tiedettiin kuolleen Afganistanissa, ja huomauttaa, että Abu Ahmedin kuolema vuonna 2001 on ristiriidassa Ammarin kertomuksen kanssa.Dan ostaa CIA:n varoilla kuwaitilaiselle prinssille Lamborghinin vastineeksi Sayeedin äidin puhelinnumerosta. CIA jäljittää äidille soitetut puhelut ja löytää nopeasti yhden epäilyttävän soittajan, joka käyttää jatkuvasti salakavaluutta välttääkseen paljastumisen. Maya päättelee, että soittaja on Abu Ahmed, ja hänen esimiestensä tuella lukuisia CIA:n agentteja lähetetään etsimään ja tunnistamaan soittajaa. He löytävät hänet autostaan ja jäljittävät hänet lopulta suureen kaupunkialueeseen Abbottabadissa Pakistanissa, lähellä Pakistanin sotilasakatemiaa. Kun Maya eräänä aamuna lähtee asunnostaan, useat asemiehet hyökkäävät hänen kimppuunsa, mutta hänen autonsa luodinkestävä lasi pelastaa hänet. Koska Mayan esimiehet tietävät, että al-Qaida on asettanut hänet mustalle listalle ja että hänen henkeään yritetään uhata vielä useammin, jos hän jää sinne, he poistavat hänet kentältä ja lähettävät Mayan kotiin Washingtoniin.CIA valvoo aluetta useiden kuukausien ajan eri menetelmin. Vaikka he ovat aihetodisteiden perusteella varmoja siitä, että bin Laden on siellä, he eivät voi todistaa sitä valokuvin. Samaan aikaan presidentin kansallinen turvallisuusneuvonantaja antaa CIA:lle tehtäväksi laatia suunnitelman bin Ladenin vangitsemiseksi tai tappamiseksi, jos voidaan vahvistaa, että hän on alueella. CIA:n ryhmä laatii suunnitelman, jonka mukaan käytetään kahta huippusalaista (Area 51:ssä kehitettyä) häivehelikopteria, joita lentää armeijan 160. erikoislentorykmentti, jotta ne pääsevät salaa Pakistaniin ja DEVGRU:n ja CIA:n SAD/SOG:n jäsenet voivat hyökätä alueelle. Ennen presidentti Barack Obaman tiedotustilaisuutta CIA:n johtaja pitää kokouksen huippuvirkailijoidensa kanssa, jotka arvioivat, että vain 60 80 prosentin todennäköisyys on, että bin Laden eikä jokin muu arvokas kohde asuu kompleksissa. Maya, joka myös osallistui kokoukseen, toteaa, että todennäköisyys on 100 prosenttia.Raiskaus hyväksytään ja toteutetaan 2. toukokuuta 2011. Vaikka toteutusta vaikeuttaa yhden helikopterin putoaminen, SEAL-joukot pääsevät sisälle ja tappavat useita henkilöitä kompleksissa, muun muassa kompleksin ylimmässä kerroksessa olevan miehen, joka paljastuu bin Ladeniksi. He tuovat bin Ladenin ruumiin takaisin Afganistanin Jalalabadissa sijaitsevaan Yhdysvaltain tukikohtaan, jossa Maya vahvistaa visuaalisesti ruumiin henkilöllisyyden. Maya nähdään viimeksi nousemassa sotilaskuljetusautoon palatakseen Yhdysvaltoihin ja istumassa sen avarassa sisätilassa sen ainoana matkustajana. Lentäjä kysyy häneltä, minne hän haluaa mennä, mutta Maya ei vastaa. kun koneen hangaarin ovi sulkeutuu, Maya alkaa itkeä hiljaa.

**Tulos**

Mitä Jessicalle tapahtui?

**Tulos**

Mitä tietoja Kuwaitin prinssi antaa Yhdysvaltain tiedustelupalvelulle?

**Tulos**

Mikä on Ahmedin todellinen henkilöllisyys?

**Tulos**

Minkä ylellisyystavaran Dan ostaa CIA:n varoilla?

**Tulos**

Ketä Maya on opiskellut uransa aikana?

**Tulos**

Kuka tunnistetaan ja tapetaan yöllisessä ratsiassa?

**Tulos**

Kuka vahvistaa Bin Ladenin ruumiin, kun se tuodaan tukikohtaan?

**Tulos**

Mitä Dan antaa Kuwaitin prinssille vastineeksi tiedoista?

**Tulos**

Mikä vaikeuttaa ratsiaa?

**Tulos**

Kuka vahvistaa Bin Ladenin ruumiin henkilöllisyyden?

**Tulos**

Mistä pommi-iskusta Maya selvisi vuonna 2008?

**Tulos**

Mikä vihje saa Mayan uskomaan, että Ahmed on yhä elossa?

**Tulos**

Ketä Maya yrittää jäljittää?

**Tulos**

Mitä poliittista ryhmää Maya on saanut tehtäväkseen tutkia?

**Tulos**

Ketkä sotilaat suorittivat hyökkäyksen?

**Tulos**

Mihin CIA jäljittää Sayeedin puhelut?

**Tulos**

Kuka on Yhdysvaltain presidentti, kun yhdyskuntahyökkäys tehdään?

**Tulos**

Mihin suurlähetystöön Maya lähetetään?

**Tulos**

Missä valtion virastossa Maya työskentelee?

**Tulos**

Kuka on Mayan kumppani, kun hän saapuu Yhdysvalloista?

**Tulos**

Millaista ajoneuvoa käytetään ryöstöretkellä?

**Tulos**

Ketä Maya liittyy Danin seuraan kuulustellakseen häntä "mustalla silmällä"?

**Tulos**

Miksi Maya lähetettiin Washington DC:hen?

**Tulos**

Minä päivänä ratsia toteutetaan?

**Tulos**

Mitä tietoja Ammar lopulta myöntää Mayalle ja Danille?

**Tulos**

Kenen Dan ja Maya uskovat piileskelevän Abbottabadissa?

**Tulos**

Kuka Maya luulee Abu Ahmedin olevan?

**Tulos**

Ketä pidätettyä kidutetaan tietojen saamiseksi?

**Tulos**

Miksi Maya on poistettu kentältä?

**Tulos**

Missä luotiin häivehelikopterit?

**Esimerkki 3.12**

The Mysteries of Udolpho on goottilaisen romantiikan perikuva, joka on täynnä fyysistä ja psyykkistä kauhua, kaukaisia, rapistuvia linnoja, yliluonnollisilta vaikuttavia tapahtumia, mietteliästä, juonittelevaa roistoa ja vainottua sankaritarta. Nykyaikaiset toimittajat huomauttavat, että vain noin kolmannes romaanista sijoittuu samannimiseen goottilinnaan ja että sävy ja tyyli vaihtelevat huomattavasti teoksen eri osien välillä. Radcliffe lisäsi myös laajoja kuvauksia eksoottisista Pyreneiden ja Apenniinien maisemista sekä Venetsiasta, jossa hän ei käynyt ja jonka yksityiskohtia hän selvitti aikalaismatkakirjoista, mikä johti useiden anakronismien lisäämiseen. Etelä-Ranskaan ja Pohjois-Italiaan vuonna 1584 sijoittuva romaani keskittyy Emily St. Aubertin, nuoren ranskalaisen naisen, kohtaloon, joka jää orvoksi isänsä kuoleman jälkeen. Emily joutuu vangiksi Udolphon linnaan Signor Montonin, italialaisen rosvon käsiin, joka on nainut hänen tätinsä ja holhoojansa Madame Cheronin. Montoni ja muut tekevät tyhjäksi Emilyn romanssin reippaan Valancourtin kanssa. Emily tutkii myös isänsä ja Villeroi-markiisittaren salaperäistä suhdetta ja sen yhteyttä Udolphon linnaan.Emily St. Aubert on maalaisperheen ainoa lapsi, jonka omaisuus on nyt laskusuunnassa. Emilyn ja hänen isänsä välillä on erityisen läheinen side, joka johtuu heidän yhteisestä luontoystävällisyydestään. Äidin kuoltua vakavaan sairauteen Emily ja hänen isänsä lähentyvät toisiaan entisestään. Emily lähtee isän mukaan matkalle heidän kotiseudultaan Gascognesta Pyreneiden kautta Välimeren rannikolle Roussilloniin, monien vuoristomaisemien halki. Matkan aikana he kohtaavat Valancourtin, komean miehen, joka myös tuntee lähes mystistä yhteyttä luontoon. Emily ja Valancourt rakastuvat nopeasti.Emilyn isä sairastuu pitkään sairauteen. Emily, joka on nyt orpo, joutuu isän toiveesta asumaan tätinsä, Madame Cheronin, luona, joka ei jaa Emilyn kiinnostuksen kohteita eikä osoita hänelle juurikaan kiintymystä. Täti nai Montonin, epäilyttävän italialaisen aatelismiehen. Hän haluaa ystävänsä kreivi Moranon Emilyn aviomieheksi ja yrittää pakottaa Emilyn naimisiin tämän kanssa. Saatuaan selville, että Morano on lähes tuhoutunut, Montoni vie Emilyn ja tätinsä syrjäiseen Udolphon linnaansa. Emily pelkää menettäneensä Valancourtin lopullisesti. Morano etsii Emilyä ja yrittää viedä hänet salaa pois Udolphosta. Emily kieltäytyy liittymästä hänen seuraansa, koska hänen sydämensä kuuluu yhä Valancourtille. Moranon pakoyrityksen huomaa Montoni, joka haavoittaa kreiviä ja ajaa hänet pois. Seuraavina kuukausina Montoni uhkaa vaimoaan väkivallalla pakottaakseen hänet luovuttamaan Toulousessa olevat omaisuutensa, jotka hänen kuoltuaan muuten siirtyisivät Emilylle. Luopumatta omaisuudestaan Madame Cheron kuolee miehensä ankaruuden aiheuttamaan vakavaan sairauteen. Linnassa tapahtuu monia pelottavia mutta sattumanvaraisia tapahtumia, mutta Emily onnistuu pakenemaan sieltä Udolphon vankina olleen salaisen ihailijansa Du Pontin sekä palvelijoiden Annetten ja Ludovicon avulla. Palatessaan tätinsä kartanoon Emily saa tietää, että Valancourt lähti Pariisiin ja menetti omaisuutensa. Lopulta Emily ottaa tilan haltuunsa ja pääsee jälleen yhteen Valancourtin kanssa.

**Tulos**

Kenet Montoni yritti pakottaa Emilyn naimisiin?

**Tulos**

Mitä Emily ja hänen isänsä arvostivat yhdessä?

**Tulos**

Miksi Emilyn ja hänen isänsä välillä oli läheinen side?

**Tulos**

Kuka omistaa linnan, jossa Emily on vangittuna?

**Tulos**

Missä Emily oli vangittuna?

**Tulos**

Missä Emily St, Aubert oli vangittuna?

**Tulos**

Kuka vangitsee Emilyn?

**Tulos**

Kun Emilyn isä kuolee, kenestä tulee hänen holhoojansa?

**Tulos**

Miksi Emily kieltäytyy liittymästä Moranon seuraan?

**Tulos**

Kenen kanssa Emily solmii romanttisen suhteen?

**Tulos**

Mihin vuoteen tämä tarina sijoittuu?

**Tulos**

Mihin vuoteen tarina sijoittuu?

**Tulos**

Miksi Emily asuu tätinsä luona isänsä kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Kuka auttaa Emilyn pakenemaan linnasta?

**Tulos**

Minne Emily pakeni, kun hän lähti linnasta?

**Tulos**

Kuka on naimisissa Madame Cheronin kanssa?

**Tulos**

Kuka auttaa Emilyä pysymään turvassa linnassa?

**Tulos**

Kuka on Emily St. Aubert?

**Tulos**

Mikä aiheutti Emilyn äidin kuoleman?

**Tulos**

Kuka haluaa Emilyn menevän naimisiin kreivi Moranon kanssa?

**Tulos**

Mihin Valancourt menetti varallisuutensa?

**Tulos**

Millä Välimeren rannikolla Emily ja hänen isänsä vierailevat matkallaan?

**Tulos**

Kenestä tuli Emilyn huoltaja hänen isänsä kuoltua?

**Tulos**

Millä Signor Montoni uhkaa vaimoaan saadakseen tämän luovuttamaan omaisuutensa?

**Tulos**

Milloin Emily tapasi Valacourtin?

**Tulos**

Mikä aiheuttaa Madam Cheronsin sairauden?

**Tulos**

Kuka auttaa Emilyn pakenemaan linnasta?

**Tulos**

Kuka pitää omaisuuden rouva Cheronin kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Keneen Emily on rakastunut?

**Esimerkki 3.13**

Frankie Ryan työskentelee sivupoikana Hollywoodissa sijaitsevalla radioasemalla. Hänen ystävänsä Jeff työskentelee samassa paikassa, mutta kantajana. Heidän todellinen unelmansa on esiintyä radiokoomikkoina radiolähetyksessä omalla ohjelmallaan. Valitettavasti he eivät ole vielä saaneet ketään vakuuttuneeksi loistavasta huumorintajustaan. Kun he yrittävät auttaa aseman vastaanottovirkailijaa Anne Masonia järjestämällä väärän koe-esiintymisen laulajan paikkaa varten, he saavat melkein potkut tempauksestaan.Asemalla on taloudellisia ongelmia, jotka liittyvät nykyiseen tunnelmalliseen laulajattareen Rita Wilsoniin, ja he yrittävät keksiä keinon päästä hänestä eroon. Heidän rukouksensa kuullaan, kun Rita ammutaan ja tapetaan sähkökatkon aikana hänen harjoitellessaan lähetystä varten. poliisietsivät Marty Phillips ja Delaney saapuvat rikospaikalle, ja vaikka murha-asetta ei ole vielä löytynyt, he alkavat epäillä wannabe-cowboy-laulajaa Tex Bartonia, joka yritti livahtaa takaovesta ulos ampumisen jälkeen. Hän oli yleisössä, kun Rita harjoitteli ennen pimennystä. aseman tuottaja Farrell pelkää joutuvansa myös epäillyksi, sillä hänellä oli riita Ritan kanssa vähän ennen ampumista. Hän pyytää Frankieta, joka kuuli keskustelun, olemaan kertomatta siitä poliisille. Kiitollisuuden osoituksena Farrell lupaa antaa Annen oikean koe-esiintymisen laulajan paikkaa varten, joka on tyhjä Ritan lähdettyä.Frankie löytää pian Ritan ampumiseen käytetyn aseen, joka on piilotettu tuuletuskanavaan. Kävi ilmi, että ase kuuluu Texille, ja sitä on käytetty aiemmin Gladys Wharton -nimisen naisen ampumisessa. Kun Frankie ja Jeff pääsevät koe-esiintymään komedia-ohjelmaan (Frankie mustanaamaisena naamioituneena), poliisi tulee etsimään Texiä. Myöhemmin Tex löydetään murhattuna aseman omistajan toimistosta. Frankie ja Jeff päättävät tehdä oman pienen tutkimuksensa ja tutkia Texin huoneen nähdäkseen, löytävätkö he sieltä mitään. Ainoa kiinnostava asia on Annen kuva, joka viittaa siihen, että hänen oikea nimensä on Gladys. Annea epäilläänkin murhasta, ja poliisi pidättää hänet. Vähän myöhemmin hän kuitenkin pääsee takuita vastaan vapaaksi.Frankie saa Cheyennen radioasemalta selville, että ampuja Gladys Wharton oli vaalea nainen, joka ihastui erääseen esimieheensä ja jätti miehensä - Texin. Koska Anne on oikea brunette, Frankie päättelee, että Rita voisi olla Gladys Annen sijasta. kun poliisi kokoaa kaikki aseman johtajat yhteen huoneeseen, yksi heistä, Van Martin, vetää aseen esiin ja tunnustaa molemmat rikokset. Kun Jeff astuu huoneeseen ilmoittamatta, hän lyö vahingossa aseen Vanin kädestä, ja poliisi pidättää hänet.

**Tulos**

Kuka tunnustaa molemmat rikokset?

**Tulos**

Kun Frankie saa selville, että Anne on ruskeaverikkö, kenen hän sitten uskoo olevan Gladys?

**Tulos**

Miksi aseman tuottaja Farrell pelkää joutuvansa epäillyksi Ritan murhasta?

**Tulos**

Minkä Texin huoneesta löytyneen kuvan perusteella Annen oikea nimi on?

**Tulos**

Kuka oli yleisössä, kun Rita Wilson harjoitteli ja yritti livahtaa takaovesta ulos ennen kuvauksia?

**Tulos**

Kuka riiteli Ritan kanssa vähän ennen ampumista?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Frankie ja Jeff yrittävät auttaa aseman vastaanottovirkailijaa?

**Tulos**

Mikä on Frankien unelmatyö?

**Tulos**

Mitä Ritalle tapahtuu sähkökatkon aikana?

**Tulos**

Kenet poliisi pidättää ja epäilee Ritan murhasta?

**Tulos**

Kuka omistaa murha-aseen?

**Tulos**

Mitä Rita Wilsonille tapahtui, kun hänen harjoituksissaan tapahtui tajunnanmenetys?

**Tulos**

Ketä poliisi epäilee ampumisesta?

**Tulos**

Mitä Van Martin tunnustaa?

**Tulos**

Miksi asema haluaa päästä eroon nykyisestä laulajastaan?

**Tulos**

Kuka löysi Ritan tappamiseen käytetyn murha-aseen?

**Tulos**

Mistä Tex Barton löydettiin murhattuna?

**Tulos**

Mistä Tex löydetään murhattuna?

**Tulos**

Mikä on Frankie Ryanin ura?

**Tulos**

Mistä Ritan tappamiseen käytetty ase löytyi?

**Tulos**

Mihin Rita Wilsonin murha-ase piilotettiin?

**Tulos**

Miksi asemapäällikkö pelkää, että häntä pidetään epäiltynä?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Frankie ja Jeff yrittävät koe-esiintyä komediarooliin?

**Tulos**

Mitä Farrell lupaa Frankielle kiitollisuuden osoituksena siitä, ettei hän kerro poliisille Farrellin ja Ritan riidasta ennen Ritan kuolemaa?

**Tulos**

Kuka löytää murha-aseen ja mistä se löytyy?

**Tulos**

Mikä on Frankie Ryanin ja hänen ystävänsä todellinen unelma?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Jeff tulee huoneeseen ilmoittamatta?

**Tulos**

Mitä Van Martinille tapahtuu sen jälkeen, kun Jeff lyö vahingossa aseen hänen käsistään?

**Tulos**

Miksi asema yritti päästä eroon tunnelmallisesta laulajasta, Rita Wilsonista?

**Esimerkki 3.14**

Joulukuussa 1995 Chuck Noland (Tom Hanks) on aikapakkomielteinen järjestelmäinsinööri, joka kiertää ympäri maailmaa ratkaisemassa FedExin varikoiden tuottavuusongelmia. Hänellä on pitkäaikainen suhde Kelly Frearsin (Helen Hunt) kanssa, jonka kanssa hän asuu Memphisissä, Tennesseessä. Vaikka pariskunta haluaa mennä naimisiin, Chuckin kiireinen aikataulu haittaa heidän suhdettaan. Joulu sukulaisten kanssa keskeytyy, kun Chuck kutsutaan ratkaisemaan ongelmaa Malesiaan. Lentäessään läpi rajuilman hänen koneensa syöksyy Tyyneen valtamereen. Chuck pakenee uppoavasta koneesta ja pelastautuu puhallettavalla pelastuslautalla, mutta kadottaa lautan hätäpaikannuslähettimen. Hän takertuu pelastuslauttaan, menettää tajuntansa ja kelluu koko yön ennen kuin hänet huuhtoutuu saarelle. Herättyään hän tutkii saarta ja huomaa pian, että se on asumaton. rantaan huuhtoutuu useita pudonneen koneen FedEx-paketteja sekä yhden lentäjän ruumis, jonka hän hautaa. Aluksi hän yrittää antaa pelastussignaalin ja yrittää paeta pelastuslauttansa jäänteillä, mutta ei pääse voimakkaan aallokon ja saarta ympäröivien koralliriuttojen ohi. Hän etsii ruokaa, vettä ja suojaa, avaa paketteja ja löytää useita mahdollisesti hyödyllisiä esineitä. Hän jättää avaamatta yhden paketin, johon on kaiverrettu enkelin siivet. Kun Chuck yrittää tehdä tulta, hän saa syvän haavan käteensä. Vihaisena ja tuskissaan hän heittää useita esineitä, muun muassa Wilson-lentopallon yhdestä paketista. Vähän myöhemmin hän piirtää pallon veriseen kädenjälkeen kasvot, nimeää sen Wilsoniksi ja alkaa puhua sille. Eräänä yönä Chuck laskee, että jotta pelastustyöntekijät löytäisivät lentokoneen putoamispaikan, heidän on etsittävä kaksi kertaa Teksasin kokoinen alue, ja hän epäilee, ettei häntä koskaan löydetä. 4 vuotta myöhemmin Chuck on dramaattisesti laihempi, parrakas, hänellä on pidemmät hiukset ja hänellä on lannevaate. Hänestä on tullut taitava kalojen keihästämisessä ja nuotion tekemisessä. Hän myös keskustelee ja riitelee säännöllisesti Wilsonin, lentopallokaverinsa kanssa, josta on tullut hänen ainoa sosiaalinen välineensä. Saareen huuhtoutuu suuri osa kannettavasta käymälästä; Chuck käyttää sitä purjeena lautan rakentamisessa. Vietettyään jonkin aikaa lautan rakentamiseen ja varustamiseen ja päätettyään, milloin sääolosuhteet ovat optimaaliset (hän käyttää luolaansa luomaa analemmaa, jolla hän voi seurata vuodenaikaa), hän lähtee vesille ja käyttää purjetta voittaakseen voimakkaan aallokon. Jonkin aikaa merellä oltuaan myrsky melkein repii hänen lautansa kappaleiksi. Seuraavana päivänä Wilson putoaa lautalta ja joutuu mereen, ja Chuck jää itkien ja yksinäisyyden murtamana. Myöhemmin ohikulkeva rahtilaiva löytää hänet ajelehtimasta. palattuaan sivistyksen pariin Chuck saa tietää, että hänet on jo kauan sitten annettu kuolleeksi; hänen perheensä ja tuttavansa ovat pitäneet hautajaiset, ja Kelly on sittemmin mennyt naimisiin Chuckin entisen endodontologin kanssa ja saanut tyttären. Tavatessaan uudelleen Kellyn kanssa kaksikko tunnustaa rakkauttaan toisilleen, mutta tajutessaan, etteivät he voi olla yhdessä, koska Chuck on sitoutunut uuteen perheeseensä (ja muistettuaan myös, ettei Chuck ollut viimeksi hänen luonaan), he eroavat surullisesti. Kelly antaa Chuckille heidän yhteisen autonsa avaimet.Jonkin aikaa myöhemmin, ostettuaan uuden lentopallon, Chuck matkustaa Teksasin Kanadaan palauttaakseen avaamattoman FedEx-paketin enkelin siivillä sen lähettäjälle, Bettina Peterson -nimiselle naiselle. Osoitteessa oleva talo on tyhjä, joten hän jättää paketin ovelle lapun, jossa lukee, että paketti pelasti hänen henkensä. Hän lähtee ja pysähtyy syrjäiseen risteykseen. Lava-autolla ohi ajava ystävällinen nainen (Lari White) pysähtyy selittämään, mihin kukin tie johtaa. Kun nainen ajaa pois, Chuck huomaa, että naisen auton perässä oleva enkelin siipi on samanlainen kuin paketissa oleva siipi. Kun Chuck jää seisomaan risteykseen, hän katsoo jokaista tietä pitkin ja hymyilee sitten heikosti katsoessaan naisen kuorma-auton suuntaan.

**Tulos**

Miten Chuck päätyy saarelle?

**Tulos**

Mikä oli Chuckin ainoa seuralainen saarella?

**Tulos**

Kuinka kauan Chuck oli saarella?

**Tulos**

Kenelle Chuch palauttaa enkelisiipipaketin?

**Tulos**

Mitä Chuck tekee lentäjän ruumiille?

**Tulos**

Mihin mereen Chuck syöksyi?

**Tulos**

Mitä muutoksia Chuck kokee neljän saarella vietetyn vuoden jälkeen?

**Tulos**

Mitä Chuck kerää rantaan laskeutuneen saaren rannalta?

**Tulos**

Mitä hän saa selville pelastuttuaan ja palattuaan kotiin?

**Tulos**

Miksi Chuck ja Kelly eivät mene naimisiin?

**Tulos**

Mitä avaamattomaan pakkaukseen oli piirretty?

**Tulos**

Minne Chuck kutsutaan joulun aikana?

**Tulos**

Missä yrityksessä Chuck työskentelee?

**Tulos**

Mikä on Wilson?

**Tulos**

Kuka on ainoa ystävä, jonka kanssa Chuck puhuu saarella?

**Tulos**

Mitä Kelly antaa Chuckille, kun tämä palaa sivistykseen?

**Tulos**

Mihin urheiluvälineeseen Chuck jättää verisen kädenjäljen?

**Tulos**

Kuka on päähenkilö?

**Tulos**

Missä Chuck ja Kelly asuvat?

**Tulos**

Miksi Kelly ja Chuck eivät voi olla yhdessä, kun hän palaa?

**Tulos**

Minne Chuck menee toimittamaan viimeisen onnettomuudesta pelastamansa paketin?

**Tulos**

Missä Chuck asuu?

**Tulos**

Kuka on päähenkilön tyttöystävä?

**Tulos**

Miten Chuck haavoittaa kätensä?

**Tulos**

Missä yrityksessä päähenkilö työskentelee?

**Tulos**

Minkä paketin Chuck jättää avaamatta?

**Tulos**

Mikä symboli on paketissa ja naisen kuorma-auton takaosassa?

**Tulos**

Minne Chuck oli lentämässä, kun hänen koneensa putosi?

**Tulos**

Mitä saareen huuhtoutuu, mikä auttaa Chuckia saamaan lautan valmiiksi?

**Esimerkki 3.15**

Tarinan teemana on lapsuuden synti, tottelemattomuus. Tom Kitten on nuori kissa, joka asuu äitinsä, rouva Tabitha Twitchitin, ja siskojensa, Moppetin ja Mittensin, kanssa rottien valtaamassa talossa. Koska hänen lapsensa ovat kuritonta sakkia, rouva Twitchit laittaa Moppetin ja Mittensin kaappiin pitääkseen ne kurissa, mutta Tom Kitten karkaa savupiippua pitkin. Matkalla talon huipulle se törmää seinässä olevaan halkeamaan, josta se puristuu ullakon lattialaudoituksen alle. Siellä se tapaa rotat, herra Samuel Whiskersin ja hänen vaimonsa Anna Marian. Ne nappaavat hänet kiinni ja peittävät hänet varastamallaan voilla ja taikinalla syödäkseen hänet vanukkaaksi. Kaksi muuta kissanpentua, jotka piileskelevät äidiltään, näkevät ne varastamassa taikinaa, voita ja käärinliinaa. Kun ne kuitenkin aloittavat taikinan levittämisen kaulimella, ääni kantautuu lattialautojen läpi ja herättää Tabitha Twitchitin ja hänen serkkunsa Ribbyn huomion, joka on auttanut Tomin etsinnöissä. He kutsuvat nopeasti puuseppä John Joinerin, joka sahaa lattian auki ja pelastaa Tomin. Hänestä poistetaan taikina, hänet pestään, ja perhe syö nyytin jäänteet. Viiksekäs ja hänen vaimonsa pakenevat maanviljelijä Perunan navettaan ja levittävät kaaoksensa toiseen paikkaan, jättäen kuitenkin kissaperheen asuinpaikan rauhaan. Potter mainitsee itse nähneensä Samuel Whiskersin ja Anna Marian pakenemassa, kun he käyttivät kottikärryä, joka näyttää hänen omaltaan. Tapaus vaikuttaa Tomiin niin paljon, että vaikka hänen siskoistaan tulee hienoja rotanpyytäjiä, hän pelkää kaikkea hiirtä suurempaa.

**Tulos**

Mihin rouva Twitchit sijoittaa Moppetin ja Mittensin?

**Tulos**

Missä Tom Kitten piileskelee?

**Tulos**

Kuka pelasti Tomin kissanpennut?

**Tulos**

Minne Samuel Whiskers ja Anna Maria pakenivat?

**Tulos**

Ketkä ovat Moppet ja Mittens Tom Kittenille?

**Tulos**

Mitä rotat aikoivat tehdä Tomille?

**Tulos**

Mitkä eläimet ovat vallanneet rouva Twitchitin talon?

**Tulos**

Minne rotat pakenevat, kun ne on saatu kiinni?

**Tulos**

Mitä Moppetista ja Mittsistä tulee sen jälkeen?

**Tulos**

Millaisen synnin Tom, Mittens ja Moppet tekevät?

**Tulos**

Miksi ullakon lattia oli leikattu auki?

**Tulos**

Kuka on se kirvesmies, joka tuli auttamaan Tomia saamaan hänet pois ullakolta?

**Tulos**

Minne Tom Kissanpoika päätyi paettuaan savupiipun kautta?

**Tulos**

Mihin Tom jäi jumiin yritettyään paeta?

**Tulos**

Mitkä olivat Tomin vanginneiden rottien nimet?

**Tulos**

Kuinka monta lasta rouva Twitchitillä on?

**Tulos**

Mitä Samuel Whiskers ja Anna Maria halusivat tehdä Tom Kittensille?

**Tulos**

Miksi rouva Tabitha Twitchit laittoi lapsensa kaappiin?

**Tulos**

Miten Tom pakeni kaapista?

**Tulos**

Minne Sam Whiskers ja Anna Maria pakenevat?

**Tulos**

Miten rottien kanssa sattunut tapaus vaikutti Tom Kittensiin?

**Tulos**

Millä aineilla rotat peittävät Tomin?

**Tulos**

Miten Tom Kittens pelastettiin?

**Tulos**

Kuka auttoi rouva Twitchitiä löytämään Tomin, kun hän oli eksyksissä?

**Tulos**

Mitä rotat aikovat tehdä Tomille?

**Tulos**

Mitkä ovat Tomin siskojen nimet?

**Tulos**

Kenet Tom Kittens tapasi ullakolla?

**Tulos**

Millaista ruokaa rotat laittoivat Tom Kittenille?

**Tulos**

Kenestä rouva Tabitha Twitchitin lapsista tulee paras rottien pyydystäjänä?

**Esimerkki 3.16**

Haavoittuneena ja kunniattomasti Preussin armeijasta erotettuna majuri von Tellheim joutuu palvelijansa kanssa odottamaan berliiniläisessä hotellissa oikeudenkäynnin tulosta, ja häntä uhkaavat taloudelliset vaikeudet ja vakavat lahjussyytökset. Tellheimin rahaton tila johtuu siitä, että hallitukselle äskettäisen sodan aikana maksetun suuren summan takaisinmaksua viivytellään ja hänen kunniaansa lainan myöntämisessä kyseenalaistetaan. Tellheimin ollessa poissa majatalosta vuokraisäntä on poistattanut Tellheimin tavaroita, koska hänen huoneitaan tarvittiin muka erään naisen ja hänen palvelijattarensa vuoksi. Todellisuudessa vuokraisäntä epäilee Tellheimin maksukykyä, sillä hänellä on jo jonkin verran maksurästejä.Majurin tavaroita siirrettäessä vuokraisäntä löytää sinetöidyn kirjekuoren, jonka on merkitty sisältävän viisisataa taleria. Löytö saa hänet halukkaaksi lepyttelemään Tellheimia. Hän ei kuitenkaan tiedä, että rahat on jättänyt majurille hänen entinen kersantti Paul Werner. Werner tietää Tellheimin ahdingon ja toivoo, että Tellheim käyttäisi rahat omakseen. Tellheim on liian kunniallinen lainatakseen, kun hänellä ei ole varmuutta takaisinmaksusta. Sen sijaan hän kehottaa palvelijaansa Justia ottamaan viimeisen arvokkaan omaisuutensa, kalliin sormuksen, ja panttamaan sen maksaakseen vuokranantajan laskun ja oman palkkansa. Just panttaa sormuksen vuokranantajalle, mutta kieltäytyy hyväksymästä palkkaa tai irtisanomista vedoten siihen, että hän on Tellheimin velkaa ja hänen on selvitettävä asia. Puhelias vuokraisäntä näyttää sormuksen juuri saapuneille vierailleen ja paljastaa paljon omistajan olosuhteista. Nainen, Minna von Barnhelm, tunnistaa sormuksen yhdeksi niistä kihlasormuksista, jotka hän ja Tellheim olivat vaihtaneet, ja on riemuissaan siitä, että kadonneen rakastajansa etsintä on päättynyt, mutta Tellheimin ilmestyessä paikalle hän kieltäytyy kuitenkin hyväksymästä naisen kättä tai jatkamasta kihlausta epävarmojen olosuhteidensa vuoksi. Kun mikään argumentti ei saa häntä liikahtamaan, Minna teeskentelee palvelijattarensa Franziskan avulla, että hänkin on rahaton ja hädässä. Näissä olosuhteissa Tellheim vaatii välittömästi etuoikeutta naida ja suojella häntä." Tässä vaiheessa saapuu myöhästynyt kirje kuninkaalta. Siinä ilmoitetaan Tellheimin omaisuuden palauttamisesta ja hänen kunniansa puolustamisesta. Rankaistakseen Tellheimiä siitä, että hän on saanut hänet kärsimään, Minna esittää nyt, ettei hän voi mennä naimisiin Tellheimin kanssa, koska heidän olosuhteensa ovat epätasa-arvoiset. Vastauksena Tellheimin vetoomuksiin hän käyttää Tellheimin omia viimeaikaisia perusteluja hämmentääkseen hänet. Vasta kun Tellheim on epätoivon partaalla ja Minnan sedän ja holhoojan myöhäinen saapuminen uhkaa paljastaa koko asian, Minna taipuu ja paljastaa totuuden. Viimeisessä juhlakohtauksessa asia on ratkaistu kaikkia tyydyttävällä tavalla, myös Franziskaa ja Paul Werneria, jotka ovat löytäneet vilkkaan kiinnostuksen toisiaan kohtaan.

**Tulos**

Kuka jätti rahat majurille?

**Tulos**

Millainen sormus majuri Tellheimilla on?

**Tulos**

Mitä vuokranantaja löysi majurin tavaroista hänen huoneestaan?

**Tulos**

Miksi Tellheim kieltäytyy aluksi ottamasta Minna von Barnhelmia vastaan?

**Tulos**

Majuri Tellheim odottaa oikeudenkäyntiään missä hotellissa?

**Tulos**

Mitä majuri Tellheim palvelijana tekee sormuksellaan?

**Tulos**

Kenen saapuessa Minna lopulta kertoo totuuden raha-asioistaan?

**Tulos**

Mikä on Minna von Barnhelmin piian nimi?

**Tulos**

Mitä Tellheim panttaa maksaakseen vuokranantajalle?

**Tulos**

Miksi Minna von Barnhelm teeskentelee olevansa rahaton?

**Tulos**

Mitä majuri Paul Werner on majuri Tellheimille?

**Tulos**

Kuka on Minna von Barnhelm majuri Tellheimille?

**Tulos**

Miksi Minna esitti, ettei hän sittenkään voisi mennä naimisiin Tellheimin kanssa?

**Tulos**

Mitä kuninkaan myöhästynyt kirje ilmoittaa?

**Tulos**

Mitä Tellheim panttaa maksaakseen velkansa?

**Tulos**

Kuka tunnisti sormuksen?

**Tulos**

Mikä on Tellheimin palvelijan nimi?

**Tulos**

Mistä armeijasta majuri von Tellheim erotettiin kunniattomasti?

**Tulos**

Mikä on Minnan kotiapulaisen nimi?

**Tulos**

Miksi Tellheim muuttaa mieltään siitä, ettei hän mene naimisiin Minnan kanssa?

**Tulos**

Mikä on Tellheimin viimeinen arvokas omaisuus?

**Tulos**

Miksi Minna teeskentelee olevansa rahaton ja hädässä?

**Tulos**

Kuka jätti rahat majuri Tellheimille?

**Tulos**

Mihin sormus oli alun perin tarkoitettu?

**Tulos**

Kuka on Minna von Barnhelmin kadonnut rakastaja?

**Tulos**

Miksi Tellheim ei halua käyttää Wernerin hänelle jättämiä rahoja?

**Tulos**

Mikä on Tellheimin rakastajan nimi?

**Tulos**

Kuka auttoi Minnaa teeskentelemään köyhää?

**Tulos**

Kuka lähettää kirjeen, joka palauttaa majuri Tellheimin kunnian?

**Tulos**

Mistä majuri von Tellheim joutui odottamaan oikeudenkäynnin tulosta?

**Tulos**

Paul Werner antaa majuri Tellheimille kirjekuoren, joka sisältää mitä?

**Tulos**

Mikä sota edeltää tapahtumia?

**Tulos**

Kuka muu huomasi, että he tunsivat vetoa toisiinsa?

**Tulos**

Mistä armeijasta majuri von Tellheim erotettiin?

**Tulos**

Miksi Minna lopulta taipuu ja kertoo Tellheimille totuuden varallisuudestaan?

**Tulos**

Kuka jätti Tellheimille suljetun kirjekuoren?

**Tulos**

Kuinka paljon rahaa vuokranantajan löytämässä merkityssä sinetöidyssä kirjekuoressa väitetään olevan?

**Tulos**

Mitä sisältyy sinetöityyn kirjekuoreen, jonka vuokraisäntä löytää Tellheimin tavaroista?

**Tulos**

Mikä saapui, joka ilmoitti Tellheimille, että hänen omaisuutensa on palautettu?

**Tulos**

Miksi majuri von Tellheim jätti Preussin armeijan?

**Esimerkki 3.17**

Elokuva on postmoderni parodia, joka kertoo Zeuksen nykyajan aviottomista lapsista, Filmoresta (Tony Griffin) ja hänen sisarpuolistaan Marie-Noelista (Alison Elliott), jotka joutuvat muuttamaan Kanaalisaaren maatilaltaan, koska naapurit ovat alkaneet epäillä, etteivät he ole vanhentuneet vuosikymmeniin. Samaan aikaan Yhdysvaltain hallitus haluaa tehdä heidän maastaan kansallispuiston. Kun kaksitoista kreikkalaista jumalaa palaa Los Angelesiin rentoutumaan, Zeus odottaa heidän tunnistavan oikein heidän nykyiseen elämäänsä kohtaloidun ja mallinnetun näytelmän Oscar Wilden The Importance of Being Earnest ja esittävän teoksen virheettömästi, kokonaisuudessaan, jumalien viihdykkeeksi. Näin näytelmän juonen edetessä lapsille taataan uusi, uskottava elämä. "Toimi tai kuole", hän käskee. Mutta jos he eivät esitä näytelmää loppuun asti tai jos he kapinoivat, mustasukkainen Hera tappaa heidät. Pelkästään näiden aviottomien lasten olemassaolo on hänelle törkeää, sillä ne edustavat Zeuksen lukemattomia uskottomuuksia.12 Elokuvaa, jonka nimi on usein virheellisesti johdettu vuosien määrästä, joka elokuvan tekemiseen kului (itse asiassa 10 vuotta), Variety kuvailee "yhtä lailla L.A.:n rakkaustarinaksi, The Importance of Being Earnestiksi, kreikkalaisten jumalien parodiaksi ja henkilökohtaiseksi päiväkirjaksi todellisista tapahtumista vuosilta 1988-1998". Ohjaaja käytti yli 150 000 metriä filmiä.

**Tulos**

Minkälaiseksi Yhdysvaltain hallitus haluaa muuttaa Kanaalisaaren?

**Tulos**

Minkälainen sisarus on Filmoren matkassa mukana?

**Tulos**

Mistä hallitus haluaa tehdä kansallispuiston?

**Tulos**

Miten lasten piti luoda itselleen uusi elämä?

**Tulos**

Miksi Zeuksen lapset joutuivat muuttamaan?

**Tulos**

Kuka on Zeuksen avioton poika?

**Tulos**

Miksi 12 jumalaa menee LA:han?

**Tulos**

Miksi Hera ei pidä Filmoresta ja Marie-Noelista?

**Tulos**

Kuka odottaa heidän tunnistavan oikein heidän elämäänsä mallinnetun näytelmän?

**Tulos**

Kuka tappaa lapset, jos he kapinoivat?

**Tulos**

Mistä heidän oli pakko muuttaa?

**Tulos**

Kuka kirjoitti näytelmän, joka Filmoren ja Marie-Noelin käskettiin näytellä?

**Tulos**

Mitä tapahtuisi Zeuksen aviottomille lapsille Los Angelesissa, jos heidän esityksensä näytelmästä ei olisi vakuuttava?

**Tulos**

Kuinka kauan Zeuksen nykyajan aviottomat lapset ovat näyttäneet samanikäisiltä?

**Tulos**

Mihin Yhdysvaltain hallitus haluaa muuttaa heidän maansa?

**Tulos**

Miksi Filmoren ja Marien naapurit alkoivat epäillä?

**Tulos**

Missä 12 kreikkalaista jumalaa rentoutuvat?

**Tulos**

Jos he kapinoivat, mitä heille tapahtuu?

**Tulos**

Kuinka monta kreikkalaista jumalaa lomailee Los Angelesissa?

**Tulos**

Miksi Filmore ja Marie-Noel muuttavat tilaltaan?

**Tulos**

Ketä he viihdyttivät?

**Tulos**

Kuka kreikkalainen jumala on Heran aviomies?

**Tulos**

Kuka huomasi, että he eivät vanhentuneet?

**Tulos**

Kuka on Zeuksen avioton tytär?

**Tulos**

Tämä kertoo modernin tarinan mistä hahmosta?

**Tulos**

Mikä on hallituksen tuleva suunnitelma Kanaalisaarta varten?

**Tulos**

Kuinka moni kreikkalainen jumala käy LA:ssa?

**Tulos**

Minkä näytelmän kreikkalaiset jumalat halusivat nähdä esitettävän?

**Tulos**

Mistä Filmore ja Marie joutuivat muuttamaan?

**Esimerkki 3.18**

Romaani alkaa, kun kertoja Jenny kuvailee avioserkkunsa Kitty Baldryn ikävöivän hylättyä lastentarhaa, jossa hänen kuollut esikoispoikansa olisi kasvanut. Kitty ja Jenny hoitavat Baldryn kartanon kodinhoitoa Lontoon ulkopuolella, ja he ovat lähes täysin etäällä ensimmäisen maailmansodan kauhuista. Ainoa poikkeus on se, että Kittyn aviomies Chris Baldry on Ranskassa taistelevana brittisotilaana. Samalla kun Kitty surkuttelee lastenhuoneessa, Margaret Grey saapuu kartanolle haluten tuoda uutisia kahdelle naiselle. Kun Jenny ja Kitty tapaavat hänet, he yllättyvät tavatessaan ankean keski-ikäisen naisen. Vielä suuremmaksi heidän järkytyksekseen Margaret kertoo heille, että sotaministeriö lähetti hänelle, ei Kittylle ja Jennylle, ilmoituksen Chrisin haavoittumisesta ja kotiinpaluusta. Kitty karkottaa Margaretin kartanosta yrittäen kieltää, että hän olisi voinut olla tällaisen tiedon vastaanottaja. pian tämän jälkeen Jennyn toinen serkku ilmoittaa kahdelle naiselle, että hän on itse asiassa käynyt Chrisin luona ja että hänellä on pakkomielle Margaretista, jonka kanssa hänellä oli ollut kesäsuhde viisitoista vuotta aiemmin. Pian tämän jälkeen Chris palaa shokissa kartanoon luullessaan olevansa yhä kaksikymppinen, mutta joutuukin outoon maailmaan, joka oli vanhentunut viisitoista vuotta yli hänen muistinsa. Yritettyään ymmärtää, mikä on Chrisille totta, Jenny pyytää Chrisiä selittämään, mitä hän tuntee todeksi. Chris kertoo hänelle tarinan romanttisesta kesästä Monkey Islandilla, jossa Chris parikymppisenä rakastui Margaretiin, saaren majatalon pitäjän tyttäreen. Kesä päättyy Chrisin hätiköityyn lähtöön, jonka aiheutti mustasukkaisuuskohtaus." Kun Chris on kertonut tämän tarinan, Jenny matkustaa läheiseen Wealdstoneen tuodakseen Margaretin takaisin Chrisin luo ja auttaakseen häntä ymmärtämään eron hänen muistamansa menneisyyden ja todellisuuden välillä. Jenny saapuu Margaretin ränsistyneeseen rivitaloon ja löytää Margaretin rähjäisenä ja miestään hoitamassa. Keskustelun jälkeen Jenny suostuttelee Margaretin palaamaan kanssaan kartanoon auttaakseen Chrisiä. Margaretin palatessa Chris tunnistaa hänet ja innostuu. Ennen kotiinsa palaamista Margaret selittää, että heidän Monkey Island -kesästään on kulunut viisitoista vuotta ja että Chris on nyt naimisissa Kittyn kanssa. Chris tunnustaa ajan kulumisen älyllisesti, mutta ei pysty palauttamaan muistojaan ja kaipaa edelleen Margaretia. Margaret jatkaa vierailujaan, ja Kitty ja Jenny ovat epätoivoisia Chrisin muistinmenetyksen vuoksi. Jenny ja Kitty päättävät kääntyä psykoanalyytikko Gilbert Andersonin puoleen. Tohtori Anderson saapuu erään Margaretin käynnin aikana ja kuulustelee naisia, ja päättää Margaretin avulla hoidosta: Margaretin on kohdattava Chris todisteiden kanssa kuolleesta lapsestaan. Margaret hakee leluja ja osan lapsen vaatteista ja kohtaa Chrisin totuuden kanssa. Lopulta Chris saa muistinsa takaisin, Margaret lähtee, ja Kitty iloitsee Chrisin paluusta sotilaaksi kelpaavaan kuntoon.

**Tulos**

Minkä ikäisenä Chris luulee olevansa?

**Tulos**

Mikä sai Margaretin ja Chrisin eroamaan?

**Tulos**

Mihin toimiin Margaret ryhtyy saadakseen miehensä muistin takaisin?

**Tulos**

Kuka on Margaret Grey?

**Tulos**

Miten Kitty ja Chanchala pysyvät poissa sodan vaikutuksista?

**Tulos**

Miksi Chanchalan serkun lastenhuone on tyhjä?

**Tulos**

Missä Chris loukkaantuu?

**Tulos**

Missä Margaret ja Chris tapasivat, kun hän oli kaksikymppinen?

**Tulos**

Auttaako Margaretin ilmestyminen Chrisiä muistin palauttamisessa?

**Tulos**

Kuka oli Margaretin isä?

**Tulos**

Missä kunnossa Chris on palattuaan sodasta?

**Tulos**

Missä Kittyn aviomies tapasi Margaretin ensimmäisen kerran?

**Tulos**

Missä maassa Chris tarinan mukaan taistelee?

**Tulos**

Missä majatalon isännän tytär asuu?

**Tulos**

Kenen kanssa Kittys on naimisissa?

**Tulos**

Miksi Kitty on surullinen lapsestaan?

**Tulos**

Kuka lähetti Margaretin tapaamaan Kittyä?

**Tulos**

Mitä neuvoja psykoanalyytikko antaa Margaretille miehensä auttamiseksi?

**Tulos**

Kun Margaret kerää leluja , vaatteita ja muita muistoesineitä lapsensa elämästä, mitä hän toivoo Chrisille?

**Tulos**

Ketä Jenny kuvaa tarinassa?

**Tulos**

Kun Jenny tajuaa Chrisin harhojen laajuuden, mikä on hänen ensimmäinen tekonsa?

**Tulos**

Milloin Chris sai muistinsa takaisin?

**Tulos**

Mikä sai Chrisin hämmentymään?

**Tulos**

Miten Margaret pakottaa Chrisin kohtaamaan todellisuuden?

**Tulos**

Mitä Kittyn aviomies tekee, kun Kitty valittaa lapsensa menetystä?

**Tulos**

Kuka on tämän tarinan kertoja?

**Tulos**

Kuka kertoo Kittylle, että hänen miehensä loukkaantui?

**Tulos**

Kuinka vanhaksi Kittyn aviomies luulee itseään sodassa haavoittuneena?

**Tulos**

Miksi Chris on niin kiinnostunut Margaretista, vaikka hän on naimisissa Kittyn kanssa?

**Tulos**

Kenen Chris uskoo olevan hänen todellinen rakkautensa?

**Esimerkki 3.19**

Tohtori Randall Forth haluaa epätoivoisesti löytää parannuskeinon 48 vuoden sykliseen kuumeeseen, joka tunnetaan nimellä Trailmen s fever, ja suostuttelee kollegansa, tohtori Jay Allisonin, hypnoosiin. Hän kutsuu esiin toissijaisen persoonallisuuden, Jason Allisonin, joka on seurallinen ja kokenut vuorikiipeilijä, kun taas tohtori Jay Allison on kylmä, kliininen mies, jolla ei ole mitään ulkoilutaitoja.Jasonia pyydetään johtamaan retkikuntaa Hellersiin keräämään vapaaehtoisia lääkintämiehiä Trailmenien keskuudesta. Hänen mukanaan ovat Rafe Scott, Regis Hastur, Kyla Raineach, luopio-opas ja useita muita. Matkan aikana Jay/Jason jojoilee kahden persoonallisuutensa välillä, joista toinen on lämmin ja hurmaava ja toinen etäinen ja kliininen. Jason, lämmin persoonallisuus, rakastuu Kylaan.Heidän kimppuunsa hyökkää polulla joukko vihamielisiä Trailwomeneita. Hyökkäyksen seurauksena Jay-persoonallisuus ilmestyy uudelleen, ja se on huomattavasti virallisempi kuin Jason-persoonallisuus. Kun he saavuttavat Trailmenin pesän, jossa Jay/Jason asui lapsena, hänet tunnistetaan. Seurue kutsutaan Polkumiesten puiden asuinalueelle.Taivaankansan vanhimmat (Polkumiehet) tiedustelevat, miksi Jay/Jason on tuonut aseistetun ihmisjoukon heidän pesäänsä. Jay/Jason selittää tehtävänsä, löytää lääke 48 vuoden kuumeeseen. Hän esittelee Regis Hasturin Vanhoille, ja myös Regis anoo taivaankansan apua. Sata polkumiestä ilmoittautuu vapaaehtoiseksi. Seurue vapaaehtoisineen palaa Terran Trade Cityyn. 48-vuotiskuumeen hoitoon kehitetään seerumi joitakin kuukausia myöhemmin. Regis Hastur saapuu onnittelemaan Jay/Jason Allisonia. Altistuminen Regisille muistuttaa Jay/Jasonia retkikunnasta ja saa Jay/Jasonin sulautumaan kolmanneksi, vakaammaksi persoonallisuudeksi.

**Tulos**

Kuka pyytää Vanhimmilta apua Taivaan Kansan puolesta?

**Tulos**

Kuka hyökkää Jasonin retkikunnan kimppuun matkalla Hellereille?

**Tulos**

Mitä tohtori Forth haluaa epätoivoisesti parantaa?

**Tulos**

Kuka johtaa retkikuntaa Hellersiin?

**Tulos**

Miksi ihmiset kutsutaan Trailmenien elinympäristöön?

**Tulos**

Mihin kaupunkiin retkikunta palaa vapaaehtoisten kanssa?

**Tulos**

Mitä retkikunnalle tapahtuu matkan aikana?

**Tulos**

Keitä he kohtaavat polkumiesten puiden asuinalueella?

**Tulos**

Kuka on Jason Allison?

**Tulos**

Mitä Jason/Jay Allisonille tapahtuu sen jälkeen, kun häntä muistutetaan retkikunnasta?

**Tulos**

Mikä Jay/Jasonissa on erilaista tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on toinen nimi, jota käytetään tarinassa Trailmenistä?

**Tulos**

Kuinka usein Trailmenin kuume esiintyy?

**Tulos**

Mitä tohtori Forth tekee tohtori Allisonille?

**Tulos**

Missä Jay/Jason vihdoin tunnustetaan?

**Tulos**

Keneen Jason Allison rakastuu?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun ihmisten kimppuun hyökätään matkalla Hellersiin?

**Tulos**

Kuinka kauan seerumin kehittäminen kesti?

**Tulos**

Mitä ihmiset etsivät?

**Tulos**

Minne retkikunta ja vapaaehtoiset palaavat?

**Tulos**

Kuinka moni polkijamies on vapaaehtoinen?

**Tulos**

Kuinka moni Trailmen ilmoittautui vapaaehtoisesti palaamaan retkikunnan mukana auttamaan tohtori Forthia löytämään parannuskeinon 48 vuoden kuumeeseen?

**Tulos**

Kuka rakastuu Kylaan?

**Tulos**

Mitä Regisille altistuminen tekee Jaylle/Jasonille?

**Tulos**

Kuka onnittelee tohtori Allisonia 48 vuoden kuumeen hoitoon tarkoitetun seerumin kehittämisestä?

**Tulos**

Mikä on 48 vuoden kuume?

**Tulos**

Kenet tohtori Forth suostuttelee hypnotisoitavaksi?

**Esimerkki 3.20**

Chance (Peter Sellers) on keski-ikäinen mies, joka asuu vanhan, varakkaan miehen rivitalossa Washingtonissa. Hän on yksinkertainen ja on asunut siellä koko ikänsä ja hoitanut puutarhaa. Puutarhanhoitoa lukuun ottamatta hänen tietämyksensä on peräisin yksinomaan siitä, mitä hän näkee televisiosta. Kun hänen hyväntekijänsä kuolee, Chance sanoo naiivisti kuolinpesän asianajajalle, ettei hänellä ole mitään vaatimuksia kuolinpesää kohtaan, ja hänet määrätään muuttamaan pois. Näin hän tutustuu ensimmäistä kertaa ulkomaailmaan.Chance vaeltaa päämäärättömästi. Hän kulkee televisiokaupan ohi ja näkee, että näyteikkunassa oleva kamera on kuvannut häntä. Hurmioituneena hän astuu taaksepäin jalkakäytävältä ja törmää autonkuljettajaan, jonka omistaa Ben Rand (Melvyn Douglas), iäkäs liikemoguli. Auton takapenkillä istuu Randin paljon nuorempi vaimo Eve (Shirley MacLaine), ja Eve vie Chancen kotiinsa toipumaan. Chance juo ensimmäistä kertaa alkoholia kotimatkan aikana ja yskii kertoessaan Eevelle nimensä. Eve kuulee "Chance, puutarhurin" väärin "Chauncey Gardineriksi". Chaunceyllä on yllään kalliita räätälöityjä vaatteita 1920- ja 30-luvuilta, jotka hänen hyväntekijänsä oli antanut hänen ottaa ullakoltaan, ja hänen tapansa ovat vanhanaikaiset ja kohteliaat. Kun Ben Rand tapaa hänet, hän olettaa näiden merkkien perusteella, että Chauncey on yläluokkainen, korkeasti koulutettu liikemies. Chaunceyn yksinkertaiset sanat, jotka hän sanoo usein hämmennyksen tai itsestäänselvyyksien toteamisen vuoksi, ymmärretään toistuvasti väärin syvällisiksi; erityisesti hänen yksinkertaiset lausahduksensa puutarhoista ja säästä tulkitaan allegorisiksi lausunnoiksi liike-elämästä ja talouden tilasta. Rand ihailee häntä, sillä hän pitää häntä suorana ja oivaltavana.Rand on myös Yhdysvaltain presidentin (Jack Warden) luottamusmies ja neuvonantaja, jonka hän esittelee "Chaunceyksi". Presidentti tulkitsee myös Chaunceyn huomautukset "puutarhasta" taloudellisiksi ja poliittisiksi neuvoiksi. Chance nousee Chauncey Gardinerina nopeasti kansalliseen julkisuuteen. Esiintymisensä jälkeen television talk show'ssa hänestä tulee julkkis ja hän nousee pian Washingtonin yhteiskunnan huipulle. Hän pysyy hyvin salaperäisenä, sillä salainen palvelu ei löydä hänestä mitään taustatietoja. Mielipidetutkimukset alkavat osoittaa, kuinka paljon hänen "yksinkertainen viisautensa" vetoaa väsyneeseen amerikkalaiseen yleisöön.Rand, joka on kuolemaisillaan aplastiseen anemiaan, rohkaisee Eveä lähentymään Chaunceya. Hän on jo ihastunut Chaunceyn ja lähentelee häntä seksuaalisesti. Chauncey ei ole kiinnostunut tai tiedä seksistä mitään, mutta matkii suutelukohtausta vuoden 1968 elokuvasta The Thomas Crown Affair, joka sattuu olemaan televisiossa juuri sillä hetkellä. Kun televisiokohtaus loppuu, Chauncey pysähtyy yhtäkkiä ja Eve on hämmentynyt. Hän kysyy, mistä Chauncey pitää, tarkoittaen seksiä, ja Chauncey vastaa: "I like to watch", tarkoittaen televisiota. Nainen on hetkeksi hämmästynyt, mutta päättää, että hän on valmis masturboimaan miehen tirkistelyn iloksi. Kun Chauncey uppoutuu itse tekoon, hän ei huomaa, että mies on kääntynyt takaisin television puoleen ja katsoo sitä, ei häntä.Chauncey on läsnä Randin kuolemassa, jonka jälkeen hän keskustelee lyhyesti Randin lääkärin, tohtori Allenbyn kanssa. Heidän keskustelunsa aikana Allenby tajuaa totuuden, että Chauncey on vain yksinkertainen puutarhuri, joka ei tiedä mitään taloudesta tai politiikasta, mutta ei näytä olevan siitä huolissaan. Randin hautajaisissa presidentin pitäessä puhetta, hautajaisvieraat käyvät kuiskailtua keskustelua mahdollisista presidentin seuraajista seuraavalla virkakaudella. Kun Randin arkku aiotaan haudata perheen mausoleumiin, he sopivat yksimielisesti nimestä "Chauncey Gardiner." Kaikesta tästä välittämättä Chauncey vaeltaa Randin talvisen kartanon läpi. Hän oikoo männyntaimikkoa ja kävelee sitten pienen järven pinnalla. Hän pysähtyy, kastaa sateenvarjonsa syvään veteen jalkojensa alla ikään kuin testaisi sen syvyyttä, kääntyy ja jatkaa sitten kävelemistä veden päällä, kun presidentti siteeraa Randia: "Elämä on mielentila."

**Tulos**

Mikä saa Chancen tulemaan kuuluisaksi?

**Tulos**

Milloin Chance joi alkoholia ensimmäistä kertaa?

**Tulos**

Mikä aiheutti sen, että Chance joutui muuttamaan pois ensimmäisestä kodistaan, jossa hän asui?

**Tulos**

Miten Chance tapasi presidentin?

**Tulos**

Miksi Eve pitää Chancea korkealuokkaisena miehenä?

**Tulos**

Kuka jää auton alle?

**Tulos**

Miksi Eve ja Ben pitävät Chancea rikkaana?

**Tulos**

Miksi Eve masturboi Chancen edessä?

**Tulos**

Minä vuonna The Thomas Crown Affair ilmestyi?

**Tulos**

Miksi he kutsuivat Chancea?

**Tulos**

Kuka on Eeva?

**Tulos**

Mitä Rand haluaa Eevan tekevän, kun hän saa tietää kuolevansa?

**Tulos**

Miten Chance tapasi Eevan ja Ben Randin?

**Tulos**

Mikä saa Chancen muuttamaan?

**Tulos**

Keneen Eeva tunsi vetoa?

**Tulos**

Kuka vihdoin tajuaa, ettei Chauncey olekaan niin fiksu kuin kaikki luulevat?

**Tulos**

Miten Chancesta tuli julkkis?

**Tulos**

Mihin Rand kuoli?

**Tulos**

Miksi Eeva kutsui Chancen perheensä kotiin?

**Tulos**

Kuka on Rand Yhdysvaltain presidentille?

**Tulos**

Miksi Ben kehottaa Eevaa lähestymään Chancea?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Eve alkaa masturboida Chaunceyn edessä?

**Tulos**

Kuka oli Randin lääkäri?

**Tulos**

Mitkä kaksi asiaa ovat tarinan alussa opettaneet Chanceille kaiken, mitä hän tietää?

**Tulos**

Miten Allenby reagoi, kun hän tajusi totuuden Chancesta?

**Tulos**

Mitä kaikki luulevat Chaunceyn "puutarhapuheiden" koskevan?

**Tulos**

Mitä Allenby tajusi puhuttuaan Chaunceyn kanssa?

**Tulos**

Mikä Chance sanoi nimensä olevan, kun Eve kuuli hänet väärin?

**Tulos**

Miten Chance löysi ulkomaailman ensimmäistä kertaa?

**Tulos**

Mikä oli Chancen ammattinimike?

**Esimerkki 3.21**

Vuorikiipeilijä ja seikkailija Aron Ralston (James Franco) ajaa Utahin Canyonlandsin kansallispuistoon vaelluspäivää varten. Jalkaisin hän ystävystyy retkeilijöiden Kristin (Kate Mara) ja Meganin (Amber Tamblyn) kanssa ja näyttää heille maanalaisen altaan. Uimisen jälkeen Aron eroaa retkeilijöistä ja jatkaa vaellusta Blue John Canyonin rotkokanjonin läpi. Kiipeillessään alas hän liukastuu ja kaatuu, jolloin lohkare irtoaa, mikä litistää hänen oikean kätensä ja ranteensa seinää vasten. Koska hän ei pysty siirtämään lohkaretta, hän yrittää kutsua apua, mutta huomaa olevansa yksin. Hän alkaa nauhoittaa videopäiväkirjaa ylläpitääkseen moraalia ja käyttää taskuveitsensä vasenta kättä lohkareen osien irrottamiseen, jotta hän saisi vapautettua loukussa olevan kätensä. Hän säännöstelee ruokansa ja vetensä selviytyäkseen koettelemuksesta.Kun hän on hakannut lohkaretta useita tunteja, hän huomaa, ettei pääse yhtään lähemmäksi vapautumistaan. Hän asentaa kiipeilyköyden avulla hihnapyöräjärjestelmän yrittäessään nostaa lohkaretta, mutta turhaan.Päiviä loukkuun jäämisen jälkeen Ralston harkitsee taskuveitsensä käyttämistä vapautuakseen, mutta huomaa, että tylsä terä ei pysty leikkaamaan luuta. Koska hänellä ei ole vettä, hän joutuu juomaan omaa virtsaansa. Hänen vloginsa muuttuu sitten epätoivoiseksi ja masentuneeksi. Hän näkee hallusinaatioita pakenemisesta, ihmissuhteista ja menneistä kokemuksista, kuten entisestä rakastajasta (Cl mence Po sy), perheestä (Lizzy Caplan, Treat Williams, Kate Burton) ja aiemmin tapaamistaan vaeltajista. Hän alkaa nähdä hänet loukkuun jääneen lohkareen kohtalonaan. Ralston tajuaa, että osaamalla soveltaa vääntömomenttia hän voi murtaa säde- ja kyynärluun, jolloin hän voi amputoida kätensä paetakseen. Hän valmistaa CamelBakin putkieristeestä karkean kiristyssiteen, kiristää sen karabiinilla ja leikkaa kudosta pian onnistuttuaan. Hän käärii käden tyngän verenpurkautumisen estämiseksi ja ottaa kuvan lohkareesta. Sen jälkeen hän laskeutuu 65-metristä kallioseinämää alas käyttäen toista kättään ja juo sadevettä pienestä lammesta kuumassa keskipäivän auringossa. Kilometrien mittaisen avustusvaelluksensa aikana hän pysähtyy ihailemaan Horseshoe Canyonin (Utah) Suurta galleriaa. Hän tapaa päiväretkellä olevan perheen, joka hälyttää viranomaiset Ralstonin läsnäolosta, ja Utah Highway Patrolin helikopteri lähetetään paikalle. Ralston viedään sairaalaan, jossa hän toipuu, hänelle asennetaan proteesi ja hän jatkaa harrastuksiaan eli kanjoni- ja vuorikiipeilyä sekä perustaa oman perheen.

**Tulos**

Mitä Aron juo veden loppumisen jälkeen?

**Tulos**

Mitä Ralston juo paettuaan?

**Tulos**

Kun Aron ei onnistunut leikkaamaan itseään irti ensimmäisellä kerralla, mitä hän tekee katkaistakseen kätensä onnistuneesti?

**Tulos**

Millä Aron yrittää vapauttaa itsensä lohkareesta hakattuaan sitä tuntikausia?

**Tulos**

Miksei Aron voi leikata itseään vapaaksi?

**Tulos**

Millä hän vapauttaa kätensä?

**Tulos**

Mitä Aron ihailee vapauduttuaan lohkareesta?

**Tulos**

Mistä Ralston toipuu?

**Tulos**

Minkä tiedon Ralston ymmärtää antavan hänelle mahdollisuuden paeta?

**Tulos**

Mitä Aron näyttää kanssaretkeilijöille Kristille ja Meganille?

**Tulos**

Mitä Aron tekee yrittäessään nostaa käsivarteensa jääneen lohkareen?

**Tulos**

Missä osavaltiossa tämä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Mitä Aron yrittää epäonnistuneesti tehdä taskuveitsellään oltuaan päiväkausia loukussa?

**Tulos**

Mitä Aron pysähtyy ihailemaan paluumatkalla vapaututtuaan lohkareesta?

**Tulos**

Kuka on vuorikiipeilijä?

**Tulos**

Kuka ilmoittaa viranomaisille Ralstonin läsnäolosta ja ahdingosta?

**Tulos**

Mitä tylsä terä ei pysty leikkaamaan?

**Tulos**

Mitä harrastuksia Aron harrastaa Utahin koettelemustensa jälkeen?

**Tulos**

Mitä perhe tekee, kun he tapaavat Aronin tämän vapauduttua?

**Tulos**

Mitä Aron tekee säilyttääkseen moraalin?

**Tulos**

Minne Aron Ralston ajaa vaelluspäivän ajaksi?

**Tulos**

Mitä Aron tekee pitääkseen moraalinsa korkealla?

**Tulos**

Kenen kanssa Ralston ystävystyy?

**Tulos**

Mitä Aron saa sairaalassa?

**Tulos**

Minkä rotkokanjonin läpi Aron vaeltaa?

**Tulos**

Mikä litistää Aronin käden ja ranteen?

**Tulos**

Miten Aron yrittää aluksi vapautua lohkareesta, joka painaa hänet seinää vasten?

**Tulos**

Miten Aron pääsee sairaalaan?

**Tulos**

Miten Ralston amputoi kätensä paetakseen?

**Tulos**

Mitä Ralstonin on pakko juoda veden sijasta?

**Esimerkki 3.22**

Kirja on jaettu neljään osaan. Ensimmäisessä osassa "Rouva Baines" kerrotaan yksityiskohtaisesti sekä Sofian että Constancen nuoruudesta ja heidän elämästään isänsä kaupassa ja talossa (yhdistetty kiinteistö). Isä on sairas ja vuodepotilaana, ja tärkein aikuinen heidän elämässään on rouva Baines, heidän äitinsä.Ensimmäisen kirjan loppuun mennessä Sophia (jonka nimi kuvastaa hänen hienostuneisuuttaan, toisin kuin vakituisen Constancen) on karannut kiertävän kauppamatkustajan kanssa. Toinen osa, "Constance", kertoo yksityiskohtaisesti Constancen elämästä siitä lähtien aina siihen asti, kun hän vanhana palaa yhteen sisarensa kanssa. Vaikka hänen elämänsä on ulkoisesti proosallista, se on kuitenkin täynnä henkilökohtaisia tapahtumia, kuten miehensä, herra Poveyn kuolema ja hänen huolensa poikansa luonteesta ja käytöksestä.Kolmas osa, "Sophia", jatkaa tarinaa siitä, mitä Sophialle tapahtui hänen karkaamisensa jälkeen. Aviomiehensä Pariisissa hylkäämä Sophia ryhtyy lopulta menestyvän pensionin omistajaksi. Viimeisessä osassa "Mitä elämä on" kerrotaan, miten sisarukset lopulta yhdistyvät. Sophia palaa Englantiin ja lapsuutensa taloon, jossa Constance yhä asuu.

**Tulos**

Mitä tapahtui Sophian ja Constancen isälle?

**Tulos**

Missä oli Shopian ja Constancen lapsuudenkoti?

**Tulos**

Kenen kanssa Sophia karkasi?

**Tulos**

Mitä Sophian nimi kertoo hänen persoonallisuudestaan?

**Tulos**

Kuka kertoo tarkemmin Sofian ja Constancen nuoruudesta?

**Tulos**

Mihin Sofian aviomies hylkäsi hänet?

**Tulos**

Kuka oli rouva Banies?

**Tulos**

Kuka on tärkein aikuinen Sofian ja Constancen elämässä?

**Tulos**

Mihin Sophia palaa loppuosassa?

**Tulos**

Kenen kuolemaa Constance käsittelee toisessa osassa?

**Tulos**

Mihin Sophian aviomies hylkäsi hänet?

**Tulos**

Kuka oli Constance aviomies?

**Tulos**

Missä herra Povey työskenteli?

**Tulos**

Mikä on Sofian ja Constancen suhde toisiinsa?

**Tulos**

Mikä on Constancen aviomiehen nimi?

**Tulos**

Minkälaisen yrityksen Sophia omisti Pariisissa?

**Tulos**

Mitä Sophia lopulta omistaa?

**Tulos**

Mitä Konstancen nimi kertoo hänen persoonallisuudestaan?

**Tulos**

Kuka on rouva Baines Sophialle ja Constancelle?

**Tulos**

Kuinka moneen osaan tarina on jaettu?

**Tulos**

Kuka hylkää Sophian Pariisiin?

**Tulos**

Mikä Sophian ja Constancen isää vaivaa?

**Tulos**

Kenen kanssa Sophia karkaa?

**Tulos**

Mitä herra Poveylle tapahtui?

**Tulos**

Kenen kanssa Sophia karkasi?

**Tulos**

Mitä Sophia lopulta omistaa Pariisissa?

**Tulos**

Missä Sophia ja Constance tapaavat jälleen?

**Tulos**

Mikä huolestuttaa Constancea hänen pojastaan?

**Esimerkki 3.23**

Ars ne Lupinia vastassa on tällä kertaa Isidore Beautrelet, nuori mutta lahjakas amatöörietsivä, joka on vielä lukiossa mutta joka on valmis aiheuttamaan Ars ne Lupinille suurta päänvaivaa. Ars ne Lupin -universumissa ontto neula on Marie Antoinetten ja Alessandro Cagliostron toinen salaisuus, Ranskan kuninkaiden kätketty omaisuus, jonka Josephine Balsamo paljasti Ars ne Lupinille romaanissa Cagliostron kreivitär (1924). Onton neulan mysteeri kätkee sisäänsä salaisuuden, jota Ranskan kuninkaat ovat siirtäneet eteenpäin Julius Caesarin ajoista lähtien... ja nyt Ars ne Lupin on saanut sen haltuunsa. Legendaarisessa neulassa on kaikkein uskomattomin koskaan kuviteltu aarre, kokoelma kuningattarien myötäjäisiä, helmiä, rubiineja, safiireja ja timantteja... Ranskan kuninkaiden omaisuus... Kun Isidore Beautrelet löytää Creusen departementissa sijaitsevan Ch teau de l'Aiguillen, hän luulee löytäneensä ratkaisun arvoitukseen ("l'Aiguille Creuse" tarkoittaa ranskaksi "onttoa neulaa" ja on myös romaanin ranskankielinen nimi). Hän ei kuitenkaan tajua, että ch teau on rakennettu Ranskan kuninkaan Ludvig XIV:n toimesta ihmisten harhauttamiseksi Normandiassa, lähellä Le Havren kaupunkia sijaitsevan neulan jäljille, jonne Ars ne Lupin, joka tunnetaan myös nimellä Louis Valm ras, on piiloutunut.

**Tulos**

Kuka on Louis Valmeras?

**Tulos**

Mihin Arsene Lupin on piiloutunut?

**Tulos**

Tämä sisältää upeimman koskaan kuvitellun aarteen?

**Tulos**

Kenen uskotaan tarinassa hallitsevan Onton neulan salaisuuden?

**Tulos**

Mihin Arsene Lupin on piiloutunut?

**Tulos**

Kuka on nuori mutta lahjakas amatöörietsivä?

**Tulos**

Mitä legendaarinen ontto neula sisältää?

**Tulos**

Mikä on Mari Antoinetten ja Alessandro Cagliostron "toinen salaisuus"?

**Tulos**

Millä muulla nimellä Arsene Lupin tunnetaan?

**Tulos**

Mihin Arsene Lupid päätti piiloutua?

**Tulos**

Mistä Isidore Beautrelet löytää Chateau de lAiguillen?

**Tulos**

Mitä Isidore Beautrelet löysi, kun hän löysi Creusen departementissa sijaitsevan Chateau de l'Aiguillen?

**Tulos**

Milloin The Hollow Needle -mysteeri alkoi?

**Tulos**

Mitä nuori amatöörietsivä Isidore Beautrelet etsii?

**Tulos**

Kuka rakensi Chateau de l'Aiguillen?

**Tulos**

Arsene Lupin tunnettiin myös nimellä?

**Tulos**

Kuka on Isidore Beautrelet?

**Tulos**

Mistä Isidore Beautrelet tunnetaan?

**Tulos**

Chateau de l'Aiguille tunnetaan myös nimellä mikä?

**Tulos**

Miksi Ludvig XIV rakennutti linnan?

**Tulos**

Miksi Chateau de l'Aiguille rakennettiin?

**Tulos**

Kuka rakennutti Chateaun?

**Tulos**

Missä on todellinen Neula?

**Tulos**

Ranskan kuninkaat ovat jakaneet "tätä" Julius Ceaserin ajoista lähtien?

**Tulos**

Mitä Isidore löytää Creusen departementista?

**Tulos**

Isidore Beautrelet on valmis aiheuttamaan kenelle suurta päänsärkyä?

**Tulos**

Mitä Isidore uskoo Aiguillen linnan edustavan?

**Tulos**

Minkä tasoinen koulu Isidore Beautrelet on?

**Esimerkki 3.24**

John Buckingham (Ben Chaplin), yksinäinen St Albansin pankkivirkailija, tilaa postimyyntimorsiamen Nadian (Nicole Kidman) Venäjältä internetistä. John on vaivautunut ja ujo, mutta Nadia on seksuaalisesti rohkea. Vaikka Nadia ei puhu englantia eikä John venäjää, he pääsevät pian yhteen. Myöhemmin Nadian serkuksi esittelemä Yuri (Mathieu Kassovitz) ja hänen ystävänsä Alexei (Vincent Cassel) ilmestyvät juhlimaan Nadian syntymäpäivää. Alexei osoittaa pian, että hänellä on temperamentti. Väkivaltaisen riidan jälkeen Aleksei pitää Nadiaa panttivankina ja vaatii Johnilta lunnaita. John on kasvanut välittämään Nadiasta ja joutuu varastamaan pankista, jossa hän on työskennellyt kymmenen vuotta. Kun lunnaat on maksettu, hän tajuaa joutuneensa juonikkaan huijauksen uhriksi. Nadia, Juri ja Aleksei ovat rikollisia, ja Aleksei on itse asiassa Nadian poikaystävä.John saa tietää, että kolmikko on huijannut samalla tavalla muun muassa sveitsiläisiä ja saksalaisia miehiä. He ottavat hänet vangiksi, riisuvat hänet alushousuihinsa ja sitovat hänet motellin vessaan. Hän onnistuu lopulta vapautumaan ja saa nopeasti tietää, että Nadia on jätetty sinne sen jälkeen, kun Aleksei sai selville, että hän on raskaana. John pukeutuu ja joutuu sen jälkeen riitaan Nadian kanssa, joka myöhemmin paljastaa, että hän todellakin osaa puhua englantia ja että hänen nimensä ei ole Nadia. John vie Nadian luovuttaakseen hänet poliisille - toivoen voivansa puhdistaa nimensä etsintäkuulutettuna pankkiryöstäjänä. Lopulta hän kuitenkin tuntee sympatiaa Nadiaa kohtaan ja päättää olla tekemättä sitä. Hän jättää Nadian lentokentälle, jossa Aleksei kidnappaa hänet ja haluaa nyt Nadian saavan lapsen. John pelastaa Nadian ja sitoo Aleksein tuoliin. He ryhtyvät yhteiseen taisteluun kahta venäläistä miestä vastaan. Nadia kertoo Johnille, että hänen oikea nimensä on Sophia. Aleksejiksi naamioitunut John lähtee Sofian kanssa Venäjälle.

**Tulos**

Minne John ja Sophia menivät lentokentältä?

**Tulos**

Mitä Buckingham tilaa internetistä?

**Tulos**

Miksi Sophia lähti Venäjälle Aleksein eikä Johnin kanssa?

**Tulos**

Mikä tarinassa saa Nadian jättämään Aleksein St. Albansiin?

**Tulos**

Mitä Buckingham tekee maksaakseen Nadian lunnaat?

**Tulos**

Missä kaupungissa Buckingham työskentelee?

**Tulos**

Miten John saa rahat, joita tarvitaan Nadian lunnaiden maksamiseen?

**Tulos**

Mihin John oli sidottu motellissa?

**Tulos**

Keneksi John naamioituu lähtiessään Sofian kanssa Venäjälle?

**Tulos**

Mikä on Nadian oikea nimi?

**Tulos**

Miksi John vie Nadian ja luovuttaa hänet poliisille?

**Tulos**

Kuka ilmestyy juhlimaan Nadian syntymäpäivää?

**Tulos**

Miksi Aleksei sieppasi Nadian lentokentältä?

**Tulos**

Mihin Johannes sitoo Aleksein?

**Tulos**

Kerro yhdellä lauseella, miksi John joutui varastamaan pankkivirkailijan työstään?

**Tulos**

Mikä on John Buckinghamin työtehtävä?

**Tulos**

Mistä postimyyntimorsian on kotoisin?

**Tulos**

Miksi Aleksei kidnappasi Nadian?

**Tulos**

Mikä on Johnin työ?

**Tulos**

Miksi Juri ja Aleksei jättivät Nadian?

**Tulos**

Miksi John halusi viedä Nadian poliisin puheille sen jälkeen, kun Juri ja Aleksei olivat lähteneet rahojen kanssa?

**Tulos**

Mihin John jättää Nadian päätettyään olla luovuttamatta häntä poliisille?

**Tulos**

Miksi Aleksei jättää Nadian taakseen?

**Tulos**

Mitä Buckingham tajuaa ryöstettyään pankin ja maksettuaan lunnaat?

**Tulos**

Mistä maasta Nadian serkku ja ystävä vierailivat hänen luonaan?

**Tulos**

Mitä John sai tietää Nadiasta, Juri ja Aleksei?

**Tulos**

Ketä Aleksei pitää panttivankina?

**Tulos**

Kuka on Sophia?

**Tulos**

Mikä on postimyyntimorsiamen nimi?

**Esimerkki 3.25**

Marty Piletti (Ernest Borgnine) on italialaisamerikkalainen teurastaja, joka asuu Bronxissa äitinsä (Esther Minciotti) kanssa. Marty on naimaton 34-vuotiaana, mutta sosiaalisesti hankala. Perhe ja ystävät painostavat häntä jatkuvasti asettumaan aloilleen ja muistuttavat, että kaikki hänen sisaruksensa ovat jo naimisissa ja heillä on lapsia. Marty ei vastusta avioliittoa, mutta on masentunut tulevaisuudennäkymien puutteesta ja on vastahakoisesti tyytynyt poikamieselämään.Äitinsä ahdisteltua Martya menemään Stardust Ballroomiin eräänä lauantai-iltana Marty tutustuu Claraan (Betsy Blair), tavalliseen opettajattareen, joka itkee hiljaa katolla jäätyään sokkotreffeiltään tanssisaliin, jonne hänen sokkotreffikumppaninsa on jättänyt hänet sydämettömästi. He viettävät illan yhdessä tanssien, kävellen vilkkailla kaduilla ja jutellen kuppilassa. Marty vuodattaa innokkaasti elämäntarinaansa ja tavoitteitaan, ja he rohkaisevat toisiaan. Hän tuo Claran kotiinsa, ja he ilmaisevat kiusallisesti keskinäisen vetovoimansa, vähän ennen kuin hänen äitinsä palaa. Marty vie Claran bussilla kotiin ja lupaa soittaa hänelle puoli kolmelta seuraavana iltapäivänä messun jälkeen. Riemuissaan Marty ajaa bussipysäkille ja kiemurtelee autojen välistä etsien taksia.Sillä välin Martyn ja hänen äitinsä luokse muuttaa Martyn kärttyisä ja kiireinen leski Catherine-täti (Augusta Ciolli). Hän varoittaa Martyn äitiä, että Marty menee pian naimisiin ja heittää hänet syrjään. Äiti pelkää, että Martyn romanssi voisi merkitä hänen hylkäämistään, ja vähättelee Claraa. Martyn ystävät pilkkaavat Claraa hänen yksinkertaisuutensa vuoksi ja yrittävät saada Martyn unohtamaan Claran ja jäämään heidän luokseen naimattomana, nuoruuden hiipumiseen. Ystäviensä vetovoiman alistamana Marty ei soita Claralle. sinä yönä, kun Marty on taas samassa yksinäisessä rutiineissa, hän tajuaa luopuvansa naisesta, josta hän paitsi pitää, myös tekee hänet onnelliseksi. Ystäviensä vastustuksesta huolimatta hän ryntää puhelinkoppiin soittamaan Claralle, joka katselee lohduttomasti televisiota vanhempiensa kanssa. Kun hänen ystävänsä kysyy, mitä hän tekee, Marty puhkeaa sanomaan: "Sinä et pidä hänestä, äitini ei pidä hänestä, hän on koira ja minä olen lihava, ruma mies!". No, minä tiedän vain, että minulla oli hauskaa viime yönä! Minulla tulee olemaan hauskaa tänä iltana! Jos meillä on tarpeeksi hauskaa yhdessä, menen polvilleni ja rukoilen sitä tyttöä naimisiin kanssani! Jos järjestämme juhlat uutenavuotena, minulla on seuralaiseni. Etkö pidä hänestä? Marty sulkee puhelinkopin oven, kun Clara vastaa puhelimeen. Elokuvan viimeisellä rivillä hän sanoo varovaisesti: "Haloo... Haloo, Clara?".

**Tulos**

MIKÄ ON CLARAN AMMATTI?

**Tulos**

KENEN KANSSA MARTY ASUU?

**Tulos**

MITÄ KULKUNEUVOA MARTY KÄYTTI VIEDÄKSEEN CLARAN KOTIIN?

**Tulos**

Minkä lupauksen Marty teki Claralle?

**Tulos**

MINÄ VIIKON ILTANA MARTY JA CLARA TAPASIVAT ENSIMMÄISEN KERRAN?

**Tulos**

Mitä kaikki haluavat Martyn tekevän tarinan alussa?

**Tulos**

Miksi Clara itki, kun Marty tapasi hänet katolla?

**Tulos**

Mistä Catherine-täti varoittaa Martyn äitiä?

**Tulos**

MIKSI CLARA ITKI, KUN HÄN TAPASI MARTYN?

**Tulos**

Mitä Marty ajattelee itsestään?

**Tulos**

Mitä Martyn äiti tekee hylätyksi tulemisen pelossa?

**Tulos**

Kenen kanssa Marty on tekemisissä tanssiaisissa?

**Tulos**

Minne Marty menee lopussa soittamaan Claralle?

**Tulos**

MIKÄ ON MARTY PILETTIN AMMATTI?

**Tulos**

Miten Martyn äiti kohtelee Claraa?

**Tulos**

Mitä Marty tekee tarinan lopussa?

**Tulos**

KUKA ON KATARIINA MARTYLLE?

**Tulos**

Mihin aikaan Marty lupaa soittaa Claralle seuraavana päivänä?

**Tulos**

Mitä Martyn ystävät yrittävät vakuuttaa hänelle Claran tapaamisen jälkeen?

**Tulos**

Missä Marty asuu?

**Tulos**

Mitä Marty tekee, jos hänellä on tarpeeksi hyviä hetkiä Claran kanssa?

**Tulos**

Missä Marty tapaa Claran?

**Tulos**

MISTÄ MARTY SOITTAA CLARALLE?

**Tulos**

Mitä Clara tekee, kun Marty soittaa hänelle?

**Tulos**

MISSÄ KAUPUNGISSA MARTTYYRI ASUI?

**Tulos**

Mitä Marty ajattelee Claran kanssa vietetystä ajasta?

**Tulos**

Kuinka vanha Marty on?

**Tulos**

Kuka muuttaa Martyn kotiin?

**Tulos**

MISSÄ TANSSISALISSA MARTY JA CLARA TAPAAVAT?

**Tulos**

Mistä Catherine-täti varoittaa Martyn äitiä?

**Esimerkki 3.26**

Rouva Frisby on leskeksi jäänyt peltohiiriperheen pää. Rouva Frisbyn poika Timothy sairastuu keuhkokuumeeseen juuri kun maanviljelijä Fitzgibbon alkaa valmistella kevätkyntöjä puutarhassa, jossa Frisbyn perhe asuu. Normaalisti hän muuttaisi perheensä muualle, mutta Timothy ei selviäisi kylmästä matkasta heidän kesäkotiinsa. Rouva Frisby hankkii lääkettä ystävältään herra Agesilta, vanhemmalta valkoiselta hiireltä. Paluumatkalla hän pelastaa nuoren variksen Jeremyn hengen maanviljelijän kissalta Dragonilta - samalta kissalta, joka oli tappanut hänen miehensä Jonathanin. Jeremy ehdottaa, että hän hakee apua Timothyn muuttoon metsässä asuvalta pöllöltä. Jeremy lennättää rouva Frisbyn pöllön puuhun, mutta pöllö sanoo, ettei voi auttaa ennen kuin saa selville, että rouva on Jonathan Frisbyn leski. Pöllö ehdottaa, että rouva Frisby hakee apua rotilta, jotka asuvat hänen lähellään olevassa ruusupensaassa. rouva Frisby saa selville, että rotilla on lukutaitoinen ja koneellinen yhteiskunta. Niillä on teknologiaa, kuten hissejä, ne ovat hyödyntäneet sähköverkkoa valaistuksen ja lämmityksen järjestämiseksi, ja ne ovat hankkineet muita inhimillisiä taitoja, kuten ruoan varastoimisen talven varalle. Rottien johtaja Nikodemus kertoo rouva Frisbylle, että rotat vangitsivat kansallisen mielenterveysinstituutin (NIMH) laboratoriossa työskentelevät tiedemiehet ja että sen jälkeen ihmiset tekivät rotilla kokeita, jotka lisäsivät rottien älykkyyttä niin paljon, että ne pystyivät lukemaan, kirjoittamaan ja käyttämään monimutkaisia koneita, sekä lisäsivät niiden pitkäikäisyyttä ja voimaa. Tämän lisääntyneen älykkyyden ja voiman ansiosta rotat pystyivät pakenemaan NIMH:n laboratorioista ja siirtymään nykyiselle paikalleen. Jonathan Frisby ja herra Ages olivat ainoat kaksi eloonjäänyttä kahdeksan hiiren ryhmästä, jotka olivat olleet mukana NIMH:n kokeissa, ja mahdollistivat rottien pakenemisen. Kunnioituksesta Jonathania kohtaan rotat suostuvat siirtämään rouva Frisbyn talon turvalliseen paikkaan, jossa ei ole kyntöä.Nikodeemus kertoo rouva Frisbylle myös "suunnitelmasta", jonka mukaan rotat luopuvat ihmisestä riippuvaisesta elämäntavastaan, jota jotkut rotat pitävät varkautena, ja perustavat uuden, itsenäisen viljelysiirtokunnan. Yksi rotta, Jenner, oli kiivaasti eri mieltä suunnitelmasta ja lähti siirtokunnasta seuraajaryhmänsä kanssa jossain vaiheessa ennen rouva Frisbyn saapumista." Frisbyn kodin siirtämiseksi rottien on huumattava Dragon, sillä on liian vaarallista työskennellä avoimessa paikassa ilman piilopaikkaa. Herra Agesin jalka on kuitenkin murtunut, eikä hän voi rynnätä Lohikäärmeen kulhoon laittamaan huumetta. Koska muut rotat ovat liian isoja mahtuakseen seinässä olevaan reikään, rouva Frisby ilmoittautuu vapaaehtoiseksi. Valitettavasti perheen poika Billy ottaa hänet kiinni ja laittaa hänet häkkiin. Kun rouva Frisby on vangittuna, hän kuulee Fitzgibbonien keskustelevan läheisessä rautakaupassa sattuneesta tapauksesta, jossa joukko rottia sai sähköiskun yritettyään ilmeisesti varastaa pienmoottorin. Tämä on herättänyt erään miesryhmän (jotka eivät koskaan tunnista itseään) huomion, joka on tarjoutunut hävittämään Fitzgibbonin mailla olevan rottayhdyskunnan ilmaiseksi Fitzgibbonin puolesta. yöllä Justin (yksi rotista) tulee pelastamaan rouva Frisbyn ja onnistuu saamaan hänet ulos häkistä. Rouva Frisby varoittaa Justinia siitä, mitä hän sai tietää vangittuna ollessaan; he olettavat, että rautakaupan rotat olivat kaikki Jennerin ryhmästä ja että miesryhmä oli NIMH:stä ja etsii nimenomaan heitä. onnistunut talonmuutto antaa hiiriperheelle mahdollisuuden jäädä tänne Timothyn toipumisen ajaksi, ennen kuin he muuttavat kesäkotiinsa. Vaikka rotat eivät ole vielä ehtineet siirtää kaikkea suunnitelmaa varten tarvitsemaansa, ne onnistuvat tuhoamaan maanalaiset huoneensa ja luomaan illuusion siitä, että ne ovat aivan tavallisia rottia, sijoittamalla roskia jäljellä oleviin huoneisiin. Kun muut muuttavat, kymmenen rottaa jää jäljelle, jotta tuholaistorjujat eivät luuleisi rotankoloa hylätyksi. Kun tuholaistorjujat täyttävät rotankolon myrkyllisellä kaasulla, kahdeksan rottaa kymmenestä onnistuu pakenemaan, kun taas kaksi rottaa kuolee koloon. Ei paljasteta, keitä nämä kaksi tarkalleen ottaen ovat.Kun Timothy on toipunut, rouva Frisby perheineen muuttaa kesäasuntoonsa, ja Martin suunnittelee, että käy rottien luona, kun ne palaavat jälleen talviasuntoonsa.

**Tulos**

Milloin Billy sai rouva Frisbyn kiinni?

**Tulos**

Milloin pöllö suostuu auttamaan Timothya muutossa?

**Tulos**

Kuka on rottien johtaja?

**Tulos**

Kuka pelastaa Frisbyn häkistä?

**Tulos**

Miksi Frisby suostui vapaaehtoisesti huumaamaan Dragonin?

**Tulos**

Mikä sairaus Timoteuksella on?

**Tulos**

Mitä Timoteuksen isälle tapahtui?

**Tulos**

Kuinka monta rottaa pääsee pakoon kaasuja?

**Tulos**

Miten rotat huijasivat tuholaistorjujia?

**Tulos**

Kuinka moni 10:stä kuopassa olevasta rotasta pääsee karkuun?

**Tulos**

Miksi rotat suostuvat auttamaan neiti Frisbyä?

**Tulos**

Kuka tappoi herra Frisbyn?

**Tulos**

Mihin Billy laittaa rouva Frisbyn?

**Tulos**

Kuka on kiinteistön viljelijä?

**Tulos**

Kenen hengen rouva Frisby pelastaa kissalta?

**Tulos**

Kuka antaa rouva Frisbylle lääkkeitä Timothylle?

**Tulos**

Kuka pani neiti Frisbyn häkkiin?

**Tulos**

Mikä rotta lähti siirtokunnasta, koska oli eri mieltä "suunnitelmasta"?

**Tulos**

Missä oli maatilan kissan kulho?

**Tulos**

Milloin ihmiset alkoivat kiinnostua rottakoloniasta herra Fitzgibbonsin tilalla?

**Tulos**

Kuka pelasti Timothyn äidin häkistä?

**Tulos**

Kuka auttoi rottia pakenemaan NIMHistä?

**Tulos**

Kuka on kenttähiirien johtaja?

**Tulos**

Miksi 10 rottaa jää jäljelle, kun muut evakuoituvat?

**Tulos**

Miksi jotkut rotat ovat kiinnostuneita perustamaan uuden viljelysiirtokunnan?

**Tulos**

Mistä rotat tiesivät, että heidät aiotaan tuhota?

**Tulos**

Kuka on Dragon?

**Tulos**

Kuka saa rouva Frisbyn kiinni?

**Tulos**

Miksi neiti Frisby haluaa, että heidän talonsa siirretään?

**Tulos**

Miten Nikodeemus oppi lukemaan?

**Esimerkki 3.27**

Tässä esseessä Kant ehdotti rauhanohjelmaa, joka hallitusten olisi toteutettava. "Alustavissa artikloissa" kuvattiin näitä toimia, jotka olisi toteutettava välittömästi tai harkitusti ja nopeasti:"Mitään sellaista salaista rauhansopimusta ei saa pitää pätevänä, jossa on hiljaisesti varattu aineksia tulevaa sotaa varten." "Yksikään itsenäinen valtio, suuri tai pieni, ei saa joutua toisen valtion hallintaan perinnön, vaihdon, oston tai lahjoituksen kautta." "Pysyvät armeijat on aikanaan kokonaan lakkautettava." "Kansallisia velkoja ei saa ottaa valtioiden ulkoista kitkaa varten." "Yksikään valtio ei saa väkivaltaa käyttäen puuttua toisen valtion perustuslakiin tai hallitukseen." "Yksikään valtio ei saa sodan aikana sallia vihamielisyyksien tekoja, jotka tekisivät mahdottomaksi molemminpuolisen luottamuksen myöhempään rauhaan": Tällaisia ovat salamurhaajien (percussores) ja myrkyttäjien (venefici) käyttäminen, antautumisen rikkominen ja maanpetokseen yllyttäminen (perduellio) vastapuolen valtiossa." Kolme lopullista artiklaa eivät ainoastaan lopettaisi vihollisuuksia vaan loisivat perustan, jolle rauha voitaisiin rakentaa."Kaikkien valtioiden siviilioikeudellisen perustuslain on oltava tasavaltainen" "Kansakuntien oikeus perustuu vapaiden valtioiden liittovaltioon" "Maailman kansalaisuuden laki rajoittuu yleisen vieraanvaraisuuden ehtoihin" Kantin essee muistuttaa joiltain osin nykyaikaista demokraattista rauhanteoriaa. Hän puhuu tasavaltaisista, Republikanisch, (ei demokraattisista) valtioista, jotka hän määrittelee edustuksellisiksi hallituksiksi, joissa lainsäätäjä on erotettu toimeenpanovallasta. Hän ei käsittele yleistä äänioikeutta, joka on elintärkeä nykyaikaiselle demokratialle ja melko tärkeä joillekin nykyaikaisille teoreetikoille; myöhemmät kommentaattorit kiistelevät siitä, sisältyykö se hänen kielenkäyttöönsä. Essee ei käsittele tasavaltalaishallituksia sellaisenaan riittävinä tuottamaan rauhaa: maastamuuton vapaus (vieraanvaraisuus) ja kansojen liitto ovat välttämättömiä hänen kuusikohtaisen ohjelmansa tietoiseksi toteuttamiseksi. kant väittää, että tasavallat eivät ole rauhassa vain keskenään, vaan ne ovat rauhanomaisempia kuin muut hallitusmuodot yleensä.

**Tulos**

Mihin kansojen oikeuden pitäisi perustua?

**Tulos**

Mitä Kantin rauhansuunnitelma edellyttää?

**Tulos**

Mihin maailmankansalaisuutta koskeva laki on rajoitettava?

**Tulos**

Mitä Kant lupaa, että hänen ehdotuksellaan tapahtuu?

**Tulos**

Mitä Kant ehdottaa hallitukselle?

**Tulos**

Kuinka monta pääkohtaa Kantilla on alustavissa artikkeleissaan?

**Tulos**

Mitä sanotaan lopullisten artiklojen mukaan kaikkien valtioiden siviilioikeudellisen perustuslain pitäisi olla?

**Tulos**

Mitä sanotaan, että pysyville armeijoille tapahtuu aikanaan?

**Tulos**

Kuinka monta lopullista artiklaa on olemassa?

**Tulos**

Millaisista tiloista Kant puhuu?

**Tulos**

Mikä on perustettava vapaiden valtioiden liittovaltiolle?

**Tulos**

Mitä modernia teoriaa Kantin essee muistuttaa?

**Tulos**

Kuinka monta lopullista artikkelia tarjoaisi perustan rauhalle?

**Tulos**

Mikä poistetaan aikanaan?

**Tulos**

Mistä republikaanisissa osavaltioissa lainsäädäntöelin on erotettu?

**Tulos**

Kantin teoria muistuttaa mitä modernia teoriaa?

**Tulos**

Mitä Kant ehdottaa tässä esseessä hallitusten toteutettavaksi?

**Tulos**

Mitä Kantin essee muistuttaa?

**Tulos**

Kuinka monta pistettä Kantin rauhanohjelmassa on?

**Tulos**

Millainen on oltava kaikkien valtioiden siviilioikeudellinen perustuslaki ?

**Tulos**

Mitä Kant ehdottaa tässä esseessä?

**Tulos**

Mitä suurta aihetta Kant ei käsittele, joka on elintärkeä nykyaikaiselle demokratialle?

**Tulos**

Kuinka monessa artiklassa määrätään vihollisuuksien lopettamisesta ja rauhan perustasta?

**Tulos**

Mihin valtio ei saa puuttua toisen valtion toimintaan?

**Tulos**

Mitä tapahtuu pysyville armeijoille?

**Tulos**

Mihin kansojen laki perustuu?

**Tulos**

Voivatko valtiot tämän ehdotuksen mukaan puuttua toisen valtion hallitukseen?

**Tulos**

Mistä ei pitäisi tehdä sopimuksia valtioita koskevien ulkoisten ongelmien vuoksi?

**Tulos**

Kuka ei saa joutua toisen valtion hallintaan?

**Esimerkki 3.28**

Tarina alkaa vuonna 1647, kun kuningas Kaarle I on hävinnyt sisällissodan ja paennut Lontoosta New Forestiin. Parlamentaariset sotilaat on lähetetty tutkimaan metsää, ja he päättävät polttaa Arnwoodin, Nasebyn taistelussa kaatuneen ratsuväen upseerin eversti Beverleyn talon. Talon neljän orpolapsen, Edwardin, Humphreyn, Alicen ja Edithin, uskotaan kuolleen liekeissä. Heidät kuitenkin pelastaa paikallinen metsänhoitaja Jacob Armitage, joka piilottaa heidät eristettyyn mökkiinsä ja naamioi heidät lapsenlapsikseen.Armitagen johdolla lapset sopeutuvat aristokraattisesta elämäntavasta yksinkertaisten metsänhoitajien elämäntapaan. Armitagen kuoleman jälkeen Edward ottaa ohjat käsiinsä, ja lapset kehittävät ja laajentavat maatilaa nuoremman veljen Humphreyn yrittäjähengen avustamina. Heidän apunaan on mustalaispoika Pablo, jonka he pelastavat loukusta. Eräässä sivujuonessa on kyse vihamielisestä puritaanisesta riistanvartijasta nimeltä Corbould, joka pyrkii vahingoittamaan Edwardia ja hänen perhettään. Edward tapaa myös sympaattisen puritaanin Heatherstonen, joka on nimitetty New Forestin kuninkaallisten maiden hoitajaksi, ja pelastaa hänen tyttärensä Patiencen tulipalossa. Edward lähtee mökiltä ja työskentelee Heatherstonen sihteerinä, mutta Edward pitää yllä teeskentelyä siitä, että hän on Jacob Armitagen pojanpoika.Edward liittyy lopulta tulevan kuninkaan Kaarle II:n armeijaan, mutta kuninkaallisten hävittyä Worcesterin taistelussa hän palaa New Forestiin, jossa hän kuulee, että Heatherstone on saanut vanhan Arnwoodin tilan. Tästä ja siitä, että Patience ilmeisesti hylkäsi hänen rakkaudentunnustuksensa, pettyneenä Edward pakenee Ranskaan. Hänen sisarensa lähetetään pois, jotta heistä tulisi aristokraattisia naisia, ja hänen veljensä asuu edelleen New Forestissa. Edward saa tietää, että Patience todella rakastaa häntä ja että Heatherstone oli hankkinut Arnwoodin tilan Edwardille, mutta hän työskentelee palkkasotilaana maanpaossa restauraatioon asti, jolloin he palaavat yhteen.

**Tulos**

Kenelle Edward työskentelee sihteerinä?

**Tulos**

Mikä on vastapuolen puritaanisen riistanhoitajan nimi?

**Tulos**

Kuka hankki tilan Edwardille?

**Tulos**

Mitkä kaksi asiaa aiheuttavat Edwardille ahdistusta ja pakottavat hänet pakenemaan Ranskaan?

**Tulos**

Mikä on tämän tarinan nimi?

**Tulos**

Minkälaisiksi Jacob Armitagen mainitsemat lapset on määritelty?

**Tulos**

Mikä on Edwardin työ?

**Tulos**

Kuka liittyy kuningas Kaarle II:n armeijaan?

**Tulos**

Kuka asuu Arnwoodissa?

**Tulos**

Kuka pelastaa talon orvot?

**Tulos**

Mikä on vihamielisen puritaanisen riistanvartijan nimi?

**Tulos**

Kuka huolehtii lapsista Armitagen kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Milloin tarina alkaa?

**Tulos**

Kuka lopulta rakastuu Edwardiin?

**Tulos**

Mihin Jacob Armitage piilottaa neljä orpoa lasta pelastaessaan heidät tulipalolta?

**Tulos**

Keneksi Jaakob naamioi lapset?

**Tulos**

Mitä uskotaan tapahtuneen Edwardille, Humphreylle, Alicelle ja Edithille?

**Tulos**

Kuka haluaa vahingoittaa perhettä?

**Tulos**

Miksi Edwardin sisaret lähetettiin pois?

**Tulos**

Millaisessa suhteessa Edward ja hänen sisaruksensa teeskentelevät olevansa Jacob Armitageen?

**Tulos**

Mikä on Heatherstonen tyttären nimi?

**Tulos**

Mihin Jaakob piilotti neljä orpoa?

**Tulos**

Kenelle on myönnetty vanha Arnwoodin tila?

**Tulos**

Miltä Armitage pelastaa Heatherstonen tyttären?

**Tulos**

Kuka pelastaa neljä orpoa: Edwardin, Humphreyn, Alicen ja Edithin?

**Tulos**

Mikä oli Edwardin ammattinimike hänen työskennellessään Heatherstonessa?

**Tulos**

Kenet lapset pelastavat ansasta?

**Tulos**

Missä Humphrey asuu Edwardin lähdön jälkeen?

**Tulos**

Kuka alun perin kukistui, joka sai sotilaat etsimään ensin New Forestia?

**Tulos**

Miksi Heatherstone osti Arnwoodin tilan?

**Tulos**

Kuka kasvattaa Edwardin siskot Alicen ja Edithin sen jälkeen, kun Edward on lähtenyt?

**Tulos**

Mikä kuningas on juuri kukistettu, kun tarina alkaa?

**Tulos**

Ketä Edward rakastaa?

**Tulos**

Mitä työtä Edward teki Heatherstonelle?

**Tulos**

Kuka pelastaa lapset Arnwoodin tulipalolta?

**Tulos**

Ketkä ovat Arnwoodin talon neljä orpolasta?

**Tulos**

Kenen Edward tuntee pettävänsä hänet ja miksi?

**Tulos**

Miltä Pablo on pelastettu?

**Tulos**

Kenelle Edward työskentelee?

**Esimerkki 3.29**

Talvella 1987 Minneapolisin automyyjä Jerry Lundegaard (Macy) tarvitsee epätoivoisesti rahaa, sillä hänellä on maksettavana suuri GMAC-laina, jonka vakuudeksi hän on vilpillisesti asettanut olemattomia ajoneuvoja. Autoliikkeen mekaanikko Shep Proudfoot (Steve Reevis), entinen vanki, ohjaa hänet vanhan rikostoverinsa Gaear Grimsrudin (Stormare) luo. Jerry matkustaa Pohjois-Dakotan Fargoon, jossa hän palkkaa Gaearin ja Carl Showalterin (Buscemi) sieppaamaan vaimonsa Jeanin (Kristin Rudr d) ja kiristämään lunnaita tämän varakkaalta appiukolta ja pomolta Wade Gustafsonilta (Presnell). Hän antaa miehille uuden auton autoliikkeensä tontilta ja lupaa jakaa 80 000 dollarin lunnaat heidän kanssaan.Takaisin Minneapolisissa Jerry tarjoaa Gustafsonille tuottoisaa kiinteistökauppaa; kun Gustafson suostuu maksamaan rahat, Jerry yrittää perua kidnappauksen, mutta se on jo käynnissä. Sitten hän saa tietää, että Gustafson aikoo tehdä kaupan itse ja jättää Jerrylle mitättömän löytöpalkkion. Carl ja Gaear kidnappaavat Jeanin Minneapolisissa suunnitellusti. Kun he kuljettavat häntä syrjäiseen mökkipiilopaikkaansa, osavaltion poliisi pysäyttää heidät Brainerdin ulkopuolella Minnesotassa, koska he ajavat ilman vaadittuja tilapäisiä merkkejä, jotka ovat jälleenmyyjän kilvissä. Kun Carl yrittää lahjoa poliisin, mutta ei onnistu, Gaear tappaa hänet. Kun kaksi ohikulkevaa silminnäkijää näkee Carlin hävittämässä ruumista, Gaear tappaa heidätkin.Seuraavana aamuna Brainerdin poliisipäällikkö Marge Gunderson (McDormand), joka on seitsemännellä kuulla raskaana, aloittaa murhatutkimuksen. Murhatun poliisin viimeisen liikennepysähdyksen tallenteet sekä kahden epäilyttävän miehen paikallisella rekkapysäkillä Proudfootille soittama puhelu johtavat hänet Jerryn autoliikkeeseen, jossa hän kuulustelee Jerryä ja Proudfootia. Minneapolisissa Marge tapaa uudelleen vanhan luokkatoverinsa Mike Yanagitan (Steve Park), joka vie hänet illalliselle, kertoo, että hänen vaimonsa, toinen luokkatoverinsa, on kuollut, ja yrittää vietellä hänet.Jerry ilmoittaa Gustafsonille ja hänen kirjanpitäjälleen Stan Grossmanille (Larry Brandenburg), että kidnappaajat ovat vaatineet miljoona dollaria ja että he tekevät kaupat vain hänen kauttaan. Sillä välin Carl, kun otetaan huomioon kolmen murhan odottamaton mutkistuminen, vaatii Jerryä luovuttamaan koko lunnaiden summan (jonka hän uskoo edelleen olevan 80 000 dollaria); ja GMAC antaa Jerrylle 24 tuntia aikaa maksaa lainansa takaisin tai joutua kohtaamaan oikeudelliset seuraukset.Kun rahan pudottamisen aika koittaa, Gustafson päättää hoitaa asian sieppaajien kanssa itse. Parkkihallissa sijaitsevassa ennalta sovitussa luovutuspaikassa hän kieltäytyy luovuttamasta rahoilla täytettyä salkkua Carlille ennen kuin hänen tyttärensä on palautettu. Carl tappaa Gustafsonin, ottaa salkun ja pakenee, mutta ei ennen kuin saa Gustafsonilta luodin leukaansa. Kun Carl avaa salkun, hän löytää siitä hämmästyksekseen paljon enemmän kuin odotetut 80 000 dollaria. Hän ottaa tämän summan jaettavaksi Gaearin kanssa ja piilottaa loput aikomuksenaan hakea ne myöhemmin ja pitää ne itsellään. Piilopaikassa hän huomaa, että Gaear on tappanut Jeanin. Kiivaan riidan jälkeen siitä, kumpi saa Jerryn heille antaman uuden auton, Gaear tappaa myös Carlin.Yhteisen ystävän kanssa käydyn puhelinkeskustelun aikana Marge saa tietää, että Yanagitan kuollut vaimo ei koskaan ollutkaan hänen vaimonsa eikä ole kuollut ja että Yanagita on syyllinen pitkään anonyymiin ahdisteluun. Yanagitan petollisuutta ja vakuuttavia valheita pohtiessaan Marge palaa autoliikkeeseen ja kuulustelee uudelleen Jerryä, joka kieltäytyy yhteistyöstä. Kun Marge pyytää puhua Gustafsonin kanssa, Jerry joutuu paniikkiin ja pakenee autoliikkeestä. Palattuaan Brainerdiin Marge ajaa Moose Lakeen, jossa hän tunnistaa autoliikkeen auton kuolleen poliisin kuvauksesta. Hän löytää Gaearin syöttämässä Carlin viimeisiä ruumiinosia puuhakkuriin. Mies yrittää paeta, mutta Marge ampuu häntä jalkaan ja pidättää hänet. Samaan aikaan Pohjois-Dakotan poliisi jäljittää Jerryn motelliin Bismarckin ulkopuolella, jossa hänet pidätetään hänen yrittäessään paeta kylpyhuoneen ikkunan kautta.Samana iltana Marge ja hänen miehensä Norm (John Carroll Lynch) keskustelevat Normille maalaamastaan sinisorsamaalauksesta, joka on valittu Yhdysvaltain postimerkin suunnittelijaksi. Marge on hyvin ylpeä hänen saavutuksestaan, ja he odottavat onnellisina lapsensa syntymää.

**Tulos**

Kuka tappaa Gustafsonin?

**Tulos**

Mitä Jerry käytti lainan vakuudeksi?

**Tulos**

Kuka antoi Jerrylle lainan, jonka hän vilpillisesti vakuudeksi otti?

**Tulos**

Miksi Jerry tarvitsee rahaa?

**Tulos**

Kuka on Marge?

**Tulos**

Miten Marge saa selville, että Yanagitan "kuollut vaimo" ei olekaan kuollut eikä ollut koskaan hänen vaimonsa?

**Tulos**

Kuka on Margen aviomies?

**Tulos**

Mikä on Jerryn vaimon nimi?

**Tulos**

Mikä on Jerryn ammatti?

**Tulos**

Mitä Jerry haluaa epätoivoisesti?

**Tulos**

Kenet Jerry palkkaa Gaearin ja Carlin sieppaamaan?

**Tulos**

Kuinka paljon lunnaita Jerry lupaa jakaa?

**Tulos**

Kuinka monta ihmistä sieppaajat tappoivat matkalla piilopaikkaansa?

**Tulos**

Gaear tappaa Jeanin, mutta kuka tappaa Carlin?

**Tulos**

Kuinka paljon rahaa salkussa oli lunnaita varten?

**Tulos**

Kuinka monta ihmistä on kuollut tarinan lopussa?

**Tulos**

Miksi Gaear tappaa Carlin?

**Tulos**

Missä kunnossa poliisipäällikkö Marge Gunderson on?

**Tulos**

Kuinka paljon rahaa Jerry kertoo Gustafsonille, että sieppaajat vaativat?

**Tulos**

Mitä Jerry palkkasi Carlin ja Gaearin tekemään?

**Tulos**

Mihin vuodenaikaan tämä tarina sijoittuu?

**Tulos**

Mikä on Normin maalauksen aihe?

**Tulos**

Kenelle Shep viittaa Jerryyn?

**Tulos**

Mikä on Stan Grossmanin ammatti?

**Tulos**

Missä kaupungissa Jerry palkkaa Gaearin ja Carlin?

**Tulos**

Mikä yhteys on Margen ja Yanagitan välillä?

**Esimerkki 3.30**

Australian takamaastossa nuori poika nimeltä Cody pelastaa harvinaisen jättiläiskotkan nimeltä Marahute, joka näyttää hänelle pesänsä ja munansa. Myöhemmin poika joutuu tietämättään eläinloukkuun, jonka on asettanut Percival C. McLeach, Australian metsänvartijoiden etsintäkuuluttama paikallinen salametsästäjä. Kun McLeach löytää yhden kotkan höyhenistä pojan repusta, hän innostuu heti, sillä hän tietää, että tuon kokoisen kotkan saaminen tekisi hänet rikkaaksi, koska hän oli aiemmin saanut yhden kotkan, joka oli Marahuten kaveri. McLeach heittää Codyn repun krokotiililaumalle huijatakseen metsänvartijoita luulemaan, että Cody on kuollut, ja kidnappaa hänet yrittäessään pakottaa hänet paljastamaan Marahuten olinpaikan. ansan syötti, hiiri, juoksee hälyttämään Pelastusapuyhdistystä. Sähke lähetetään Rescue Aid Societyn päämajaan New Yorkiin, jossa Bernard ja neiti Bianca, RAS:n eliittikenttäagentit, määrätään tehtävään, vaikka Bernard yrittää kosia Biancaa. He lähtevät etsimään Orvillea, albatrossia, joka auttoi heitä aiemmin, mutta sen sijaan he löytävät hänen veljensä Wilburin. Bernard ja Bianca vakuuttavat Wilburin lentämään heidät Australiaan pelastamaan Codyn. Australiassa he tapaavat Jaken, hyppyhiiren, joka on RAS:n paikallinen alueellinen agentti. Jake ihastuu Biancaan ja alkaa flirttailla hänen kanssaan Bernardin harmista huolimatta. Wilbur toimii heidän "matkaoppaanaanaan" ja suojelijanaan kadonneen pojan etsinnöissä.Samaan aikaan Wilbur joutuu liikuntakyvyttömäksi, kun hänen selkärankansa on vääntynyt pois luonnollisesta muodostaan, ja Jake suostuttelee hänet lähettämään hänet läheiseen hiirten johtamaan sairaalaan. Wilbur, joka pelkää kirurgisia välineitä, joita lääkäri aikoo käyttää (muun muassa moottorisahaa), kieltäytyy leikkauksesta ja joutuu pakenemaan. Hänen selkänsä suoristuu tahattomasti, kun hiirien hoitohenkilökunta estää häntä pakenemasta ikkunan kautta. Wilbur paranee ja lähtee etsimään ystäviään. McLeachin tilalla Cody on heitetty vankityrmään useiden McLeachin vangittujen eläinten kanssa, koska hän on kieltäytynyt paljastamasta Marahuten olinpaikkaa. Cody yrittää vapauttaa itsensä ja eläimet erilaisilla esineillä, jotka on sidottu yhteen ja joiden päässä on koukku, mutta McLeachin lemmikkivuohi Joanna estää häntä joka kerta. Tajutessaan, että Marahuten munat ovat Codyn heikko kohta, McLeach huijaa Codyn luulemaan, että Marahute on kuollut, jolloin Cody johdattaa hänet suoraan Marahuten pesään. Bernard, Bianca ja Jake, jotka tietävät, että Cody on lankeamassa ansaan, hyppäävät McLeachin puoliperäkärryyn seuratakseen häntä. Marahuten pesässä nämä kolme hiirtä yrittävät varoittaa Codya siitä, että häntä on seurattu, sillä juuri kun he tekevät sen, McLeach saapuu paikalle ja vangitsee Marahuten sekä Codyn, Jaken ja Biancan. McLeachin käskyjen mukaan Joanna yrittää syödä Marahuten munia, mutta huomaa, että ne ovat itse asiassa munanmuotoisia kiviä. Joanna pelkää, että McLeach voi suuttua hänelle, ja pudottaa kivet jyrkänteeltä. Lähtiessään Bernard ryömii pesästä ulos piilotettujen munien kanssa ja on kiitollinen siitä, että Joanna meni lankaan. Juuri silloin Wilbur saapuu pesälle, jolloin Bernard suostuttelee hänet istumaan kotkan munien päälle, jotta Bernard voi lähteä McLeachin perään. Codyn sekaantumisesta raivostunut McLeach vie vangit Krokotiiliputouksille, jossa hän sitoo Codyn ja ripustaa hänet krokotiiliryhmän päälle yrittäen syöttää hänet niille. Mutta Bernard, joka ratsastaa villiintyneellä razorback-possulla, jonka hän oli kesyttänyt käyttämällä hevosen kuiskaustekniikkaa, jota Jake käytti aiemmin käärmeeseen, seuraa ja tekee McLeachin ajoneuvon toimintakyvyttömäksi. tämän jälkeen McLeach yrittää ampua köyden, joka pitää Codyn veden yläpuolella. Pelastaakseen Codyn Bernard huijaa Joannan törmäämään McLeachiin, jolloin molemmat putoavat veteen. Tämä saa krokotiilit kääntämään huomionsa Codysta kohti McLeachia ja Joannaa, kun heidän takanaan Codya pitelevä pahoin vaurioitunut köysi katkeaa. McLeach taistelee ja torjuu krokotiileja, mutta vaikka Joanna onnistuu pääsemään rantaan, McLeach ajautuu vesiputouksen yli kuolemaan. Bernard sukeltaa veteen pelastaakseen Codyn, mutta epäonnistuu joka kerta. Hänen toimillaan Jake ja Bianca saavat kuitenkin tarpeeksi aikaa vapauttaa Marahute, jotta he voivat pelastaa sekä Codyn että Bernardin. Bernard, joka haluaa epätoivoisesti estää uudet vaaratilanteet, kosii Biancaa, joka hyväksyy ehdotuksen innokkaasti ja iloisesti, kun taas Jake tervehtii häntä uudella kunnioituksella. Kaikki he lähtevät Codyn kotiin. Takaisin pesässä Marahuten munat kuoriutuvat vihdoin Wilburin kauhuksi.

**Tulos**

Mitä palkintoa Percival tavoittelee?

**Tulos**

Miksi Australian Rangers etsi Percival C. McLeachia?

**Tulos**

Mitä Marahuten munille lopulta tapahtui?

**Tulos**

Kuka kosi Biancaa?

**Tulos**

Mihin päämajaan sähke lähetettiin New Yorkissa?

**Tulos**

Kuka on tarinan päävastustaja?

**Tulos**

Miten Percival saa Codyn paljastamaan Maharuten pesän sijainnin?

**Tulos**

Keitä kaikki kolme RAS:n agenttia ovat?

**Tulos**

Mitä McLeach uskoo tapahtuvan hänelle, jos hän löytää Codyn kaltaisen kotkan?

**Tulos**

Miksi Percival vangitsee eläimiä?

**Tulos**

Missä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Mikä on tarinan tapahtumapaikka?

**Tulos**

Kosiko Bernard lopulta Biancaa?

**Tulos**

Minkä kyydissä Bernard ajaa, kun hän tekee McLeachin auton toimintakyvyttömäksi?

**Tulos**

Minkä eläinryhmän Cody oli sidottuna ja hirttäytyneenä?

**Tulos**

Millainen eläin on Marahute?

**Tulos**

Millaisia eläimiä tulee Codyn avuksi?

**Tulos**

Mitä munia Joanna yritti syödä?

**Tulos**

Kuka piilotti munat Joannalta?

**Tulos**

Miksi Joanna epäonnistui munien syömisessä?

**Tulos**

Mitä Marahute näyttää Codylle?

**Tulos**

Minkälaisen eläimen Cody pelastaa ja ystävystyy Australian takamaastossa?

**Tulos**

Miten Bernard teki McLeachin auton toimintakyvyttömäksi?

**Tulos**

Miksi Percival vangitsi Codyn?

**Tulos**

Kenen kanssa Bianca menee kihloihin?

**Tulos**

Miksi McLeach heitti Codyn repun veteen?

**Tulos**

Kuka on Jake?

**Tulos**

Kuka toimii sekä Biancan että Bernardin oppaana?

**Tulos**

Kuka kuoli Crocodile Fallsilla?

**Tulos**

Mikä valhe lopulta johti Codyn tuomaan McLeachin kotkanpesään?

**Esimerkki 3.31**

Näytelmän kaksoisjuoni koskee Letitia Hardyn ja Doricourtin romanssia sekä Sir George Touchwoodin ja hänen vaimonsa Lady Frances Touchwoodin suhdetta. Tarina huipentuu viimeisen näytöksen naamiaistanssiaisissa. Oregon Shakespeare Festivalin lehdistötoimiston kuvauksen mukaan "The Belle's Stratagem sijoittuu 1780-luvun Lontooseen, ja se kertoo Letitia Hardysta, joka on luvattu hurmaavalle Doricourtille, jota hän ei ole nähnyt sitten lapsuuden. Hänen suunnitelmansa lumota mies nokkeluudellaan ja viehätysvoimallaan kääntyy päälaelleen, kun hän huomaa rakastuneensa mieheen hullun lailla, mutta mies ei tunnu olevan hänestä lainkaan innostunut. Halutessaan naimisiin miehen kanssa, joka ihailee häntä yhtä paljon, hän suunnittelee rohkeaa petosta - saadakseen rakkauden niin kuin hän itse haluaa. Letitian suunnitelmaan huijata Doricourt intohimoon kietoutuu juuri avioituneiden Touchwoodien tarina. Sir George on villisti mustasukkainen ihastuttavasta maalaisvaimostaan, ja hänen pelkonsa siitä, että muotielämä turmelee hänet, rohkaisee hänen tuttaviaan juonittelemaan Lady Francesin muuttamista hienoksi naiseksi Sir Georgen kiusaksi." Sankaritar Letitia Hardyn rooli osoittautui Pariisissa menestyksekkääksi välineeksi Harriet Smithsonille, joka ihastui Hector Berlioziin. Se oli myös "suosikkirooli" Ellen Terrylle, joka sekä kuvattiin että kaiverrettiin hahmonsa puvussa.Hahmoja ovat muun muassa: Kitty Willis,Tony,Saville,Courtall,Doricourt,Flutter,Villers,Mrs Racket,Letitia Hardy,Old Hardy,Sir George Touchwood,Miss Ogle,Lady Frances Touchwood...

**Tulos**

Kuka on Sir George Touchwoodin vaimo?

**Tulos**

Kuka saa Doricourtin liikuttumaan?

**Tulos**

Miten Sir Georgen tuttavuus aikoo muuttaa Lady Francesin?

**Tulos**

Letitian suunnitelmat hurmata Doricourt joutuvat kyseenalaisiksi, kun hän saa selville, mitä Doricourtin tunteista häntä kohtaan?

**Tulos**

Mikä tämä tarina oli Ellen Terrylle?

**Tulos**

Kenen kanssa Letitia Hardy on tarinassa luvattu naimisiin?

**Tulos**

Mille vuosisadalle tarina sijoittuu?

**Tulos**

Minkälaista rakkaussuhdetta Letitia pyrkii saamaan Doricourtista?

**Tulos**

Mihin tämä tarina sijoittuu?

**Tulos**

Kenelle Sir George on hullun mustasukkainen?

**Tulos**

Missä kaupungissa tarina tapahtuu?

**Tulos**

Miten Doricourt kohtelee Letitiaa tapaamisen jälkeen?

**Tulos**

Mitä tunteita Sir George tuntee ihanaa maalaisvaimoaan kohtaan?

**Tulos**

Letitian yllätykseksi hän huomaa, mitä tunteita hänellä on Doricourtia kohtaan?

**Tulos**

Miksi Sir Georgen tuttava aikoo tehdä Lady Francesista hienon naisen?

**Tulos**

Missä yhteiskunnallisessa tilaisuudessa draama tapahtuu?

**Tulos**

Kenelle Letitia on luvattu?

**Tulos**

Sir George uskoo, että hänen vaimonsa Lady Frances on turmeltunut minkä vuoksi?

**Tulos**

Milloin tämä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Mitä mieltä Letitia on Doricourtista?

**Tulos**

Mitä George pelkää, että hänen maalaisvaimostaan voisi tulla?

**Tulos**

Kenelle Sir George on kateellinen?

**Tulos**

Mihin kaupunkiin tarina sijoittuu?

**Tulos**

Kenelle Letitia Hardy on luvattu?

**Tulos**

Milloin Letitia näki viimeksi Doricourtin?

**Tulos**

Miksi Letitia aikoo huijata Doricourtia intohimoon?

**Tulos**

Mikä on Lady Francisin suhde Sir Georgeen?

**Tulos**

Miten Letitia haluaa rakkautta?

**Tulos**

Mitä Letitia suunnittelee?

**Esimerkki 3.32**

Näytelmän raamatullinen osa, joka on uudelleenkerronta Paimenten vierailusta, tulee vasta sen jälkeen, kun näytelmää peilaa pidempi, keksitty tarina, jossa paimenet, ennen kuin he käyvät katsomassa pyhää lasta ulkona seimessä, joutuvat ensin pelastamaan yhden lampaistaan, jonka koomisen paha lampaiden varastajapariskunta on kätkenyt sisätiloissa olevaan kehdoon. Kun he ovat löytäneet varkaat ja rankaisseet heitä, juoni vaihtuu tuttuun tarinaan, jossa enkeli kertoo kolmelle paimenelle Kristuksen syntymästä ja he lähtevät Betlehemiin tarjoamaan lahjoja todelliselle lapselle.Näytelmän alussa Coll, ensimmäinen paimen ("primus pastor"), saapuu pellolle ja vetoaa Jumalaan anakronistisin termein (viitaten, kuten paimenet tekevät koko näytelmän ajan, Kristuksen elämään ja kuolemaan, vaikka Kristus ei tässä vaiheessa näytelmää olekaan vielä syntynyt) ja valittaa (tyypillisesti englantilaista) kylmää säätä, köyhyyttään ja paikallisen herrasväen röyhkeyttä. Hän aloittaa sanomalla: "Herra, mitä nämä weders ovat kylmiä! And I am ill happyed", joka kääntyy muotoon "Jumala, sää on kylmä ja minä olen huonosti valmistautunut/pukeutunut". Gib, toinen paimen, saapuu paikalle näkemättä Collia ja valittaa ensin säätä ja sitten naimisissa olevien miesten, myös itsensä, ahdinkoa esittämällä riettaita spekulaatioita sellaisten miesten elämästä, joilla on useampi kuin yksi vaimo, ja neuvomalla "nuoria kosiskelevia miehiä": "Olkaa hyvin varuillanne naimisiinmenosta" (varokaa avioliittoa). Hän piirtää vaimostaan muotokuvan äänekkäänä, runsaasti juovana, vuoroin pahoinpitelevänä ja vuoroin tunteellisesti hurskaana, valaan kokoisena naisena. "Kautta hänen, joka kuoli meidän kaikkien puolesta, olisinpa juossut, kunnes olisin menettänyt hänet!", jolloin hän säikähtää Coll. He keskustelevat siitä, minne Daw, kolmas, nuori, laiska ja ilkikurinen paimen, on joutunut, jolloin Daw saapuu paikalle valittaen työnantajista, nälästä ja viimeaikaisista tulvista, joita hän vertaa Nooan tulvaan. paikallinen kelvoton ja tunnettu varas Mak saapuu paikalle ja esiintyy herran palvelijana. Vaikka he tunnistavat hänet heti, hän loukkaa ja uhkailee heitä sanomalla, että hän ruoskittaa heidät. Kun he uhkaavat häntä, hän teeskentelee, ettei ole tiennyt, keitä he ovat. Mak yrittää saada paimenilta myötätuntoa selittämällä, että hänen vaimonsa on laiska juoppo, joka synnyttää liikaa lapsia. Kristukseen ja Pontius Pilatukseen vedoten Mak suostuu leiriytymään paimentolaisten kanssa ja teeskentelee makaavansa heidän keskellään. Kun paimenet ovat kuitenkin nukahtaneet, hän loitsuaa, etteivät he herää, ja lähtee sitten salaa varastamaan yhtä heidän lampaistaan. Hän palaa mökilleen ja vaihtaa solvauksia vaimonsa Gillin kanssa, joka uskoo vakaasti, että Mak hirtetään varkaudesta, ja keksii suunnitelman lampaan piilottamiseksi: hän laittaa lampaan tyhjään kehtoon ja teeskentelee, että se on hänen vastasyntynyt lapsensa ja että hän synnyttää kovaa ja tuskallisesti kaksoslasta, jotta paimenet luopuisivat nopeasti etsinnöistä.Mak palaa takaisin paimentolaisjoukon joukkoon ja teeskentelee, että hän herää yhdessä heidän kanssaan. Paimenet lähtevät huolehtimaan lampaistaan, kun Mak lähtee kotiin valmistautumaan. Epätoivoissaan katastrofaalisesta epäonnestaan paimenet huomaavat, että yksi lammas on kateissa, ja lähtevät etsimään Makin taloa. Mak ja Gill huijaavat heitä aluksi, vaikka Gill sanookin, että jos hän valehtelee, hän syö lapsen kehdossaan (kuten hän todellakin aikoo tehdä). Paimenet lähtevät kukistuneina, mutta huomaavat, etteivät he ole onnistuneet tuomaan "lapselle" lahjoja, ja palaavat takaisin. Kun he riisuvat käärinliinat, he tunnistavat lampaansa, mutta päättävät olla tappamatta Makia, mutta sen sijaan he käärivät hänet kankaaseen ja heittelevät häntä ylös ja alas rankaisten häntä, kunnes he ovat uupuneita. kun he ovat lähteneet Makin mökiltä, alkaa varsinainen raamatullinen tarina - enkeli ilmestyy ja käskee heitä menemään "Bedlamiin" (Betlehemiin) katsomaan Kristuslasta. He ihmettelevät tapahtumaa, moittivat toisiaan yhteisestä viivyttelystä ja menevät sitten seimen luo, jossa Maria (Jeesuksen äiti) toivottaa heidät tervetulleeksi ja saa kiitosta lempeydestään. He puhuttelevat lasta kukin vuorollaan ja ylistävät aluksi kunnioituksen ja kunnioituksen sävyin hänen auktoriteettiaan ja kaiken luomista, mutta siirtyvät kesken puheen koomisesti kujertelevaan, pursuilevaan vauvankieliseen puheeseen, sillä he puhuttelevat ihastuttavaa vauvaa, jolle Coll, Gib ja Daw antavat "kirsikoita", linnun ja pallon ("Ottakaa ja leikkikää kanssanne, ja menkää tennikseen!").") Paimenet iloitsevat pelastuksestaan, kaikki ajatukset vaikeuksista ja valituksista ovat kadonneet, ja he lähtevät laulamaan yksimielisesti.

**Tulos**

Mitä loitsu tekee, jonka Mak laittaa paimenten päälle?

**Tulos**

Mikä rangaistus päätettiin mak?

**Tulos**

Kuka teeskentelee olevansa talonpoika?

**Tulos**

Kenen kanssa Mak on naimisissa?

**Tulos**

Miksi paimenet palaavat Makin taloon, kun he ovat lähteneet?

**Tulos**

Miten Gill aikoo saada paimenet lähtemään pois?

**Tulos**

Miksi paimenet saapuvat myöhässä katsomaan Kristuksen lasta?

**Tulos**

Kuka on mak ja mikä on hänen vaimonsa nimi?

**Tulos**

Mitä ilmestynyt enkeli kertoi heille?

**Tulos**

Mikä oli Maksin suunnitelma?

**Tulos**

Kenen vaimoa kuvataan valaan kokoiseksi naiseksi?

**Tulos**

Mitä daw compalin noin?

**Tulos**

Mitä paimenet näkivät kehdossa?

**Tulos**

Miksi Mak haluaa jäädä yöksi paimenten luo?

**Tulos**

Kuka sanoo, että nuorten miesten pitäisi varoa avioliittoa?

**Tulos**

Millaisella rangaistuksella Mak uhkaa paimenia?

**Tulos**

Miten paimenet kohtelevat Kristuksen lasta samoin kuin he kohtelisivat toista vauvaa?

**Tulos**

Miksi paimenet palasivat Makin taloon?

**Tulos**

Miten paimenet kohtelevat Kristuksen lasta eri tavalla kuin toista vauvaa?

**Tulos**

Mihin kaupunkiin paimenet ohjataan menemään nähdäkseen Kristuksen lapsen?

**Tulos**

Kuka paimen valittaa siitä, että viimeaikaiset tulvat muistuttavat Nooan tulvaa?

**Tulos**

Miten Gillin suunnitelma huijata paimenia kariutuu?

**Tulos**

Mikä on konkreettinen esimerkki tarinan anakronismista?

**Tulos**

Miten paimenten näkemykset Mariasta eroavat heidän näkemyksistään muista naisista?

**Tulos**

Mistä gib valittaa?

**Tulos**

Mitä kolme paimenta antoivat vauvalle?

**Tulos**

Kuka on ensimmäinen paimen?

**Tulos**

Mistä Coll valittaa?

**Esimerkki 3.33**

Elokuva sijoittuu Qing-dynastian aikaan Qianlong-keisarin 43. hallitusvuoteen (1779). Li Mu Bai (Chow Yun-fat) on taitava Wudang-miekkailija. Kauan sitten hänen mestarinsa murhasi Jade Fox (Cheng Pei-pei), nainen, joka pyrki oppimaan Wudang-taitoja. Mu Bai on myös Yu Shu Lienin (Michelle Yeoh), naissoturin, hyvä ystävä. Mu Bai ja Shu Lien ovat kehittäneet tunteita toisiaan kohtaan, mutta he eivät ole koskaan tunnustaneet niitä tai toimineet niiden mukaan, koska Yu on kuollut sulhanen Meng Sizhao, joka oli myös Mu Bain paras ystävä. Mu Bai aikoo luopua soturielämästään ja pyytää Shu Lieniä kuljettamaan miekkansa, jota kutsutaan myös Vihreäksi kohtaloksi, Pekingin kaupunkiin lahjaksi heidän ystävälleen Sir Teille (Sihung Lung). Sir Te:n tilalla Shu Lien tapaa Jenin (Zhang Ziyi), joka on kuvernööri Yu:n (Li Fazeng), vierailevan mantsuaristokraatin tytär. Järjestettyyn avioliittoon tarkoitettu ja seikkailun kaipuuta kaipaava Jen vaikuttaa kateelliselta Shu Lienin soturielämästä.Eräänä iltana naamioitunut varas hiipii Sir Te:n tilalle ja varastaa miekan. Mu Bai ja Shu Lien jäljittävät varkauden kuvernööri Yun tilalle ja saavat selville, että Jade Fox on esiintynyt Jenin kotiopettajattarena jo vuosia. Mu Bai tutustuu provinssin poliisitutkijaan, komisario Tsaihin (Wang Deming) ja hänen tyttäreensä Mayyn (Li Li), jotka ovat tulleet Pekingiin Ketun perään. Kettu haastaa kaksikon ja Sir Te:n palvelijan Master Bo:n (Gao Xi'an) välienselvittelyyn samana iltana. Pitkällisen taistelun jälkeen ryhmä on tappion partaalla, kun Mu Bai saapuu paikalle ja päihittää Ketun. Ennen kuin Mu Bai voi tappaa Foxin, naamioitunut varas ilmestyy uudelleen ja taistelee Foxin kanssa. Kettu jatkaa taistelua ja tappaa Tsain ennen kuin hän pakenee varkaan kanssa (joka paljastuu Ketun suojelijaksi, Jeniksi). Nähtyään Jenin taistelevan Mu Bain kanssa Kettu tajuaa, että Jen oli opiskellut salaa Wudangin käsikirjaa ja on ylittänyt hänet taistelutaidoissaan.Yöllä aavikkorosvo nimeltä Lo (Chang Chen) murtautuu Jenin makuuhuoneeseen ja pyytää Jeniä lähtemään kanssaan. Takautuma paljastaa, että menneisyydessä, kun kuvernööri Yu ja hänen perheensä olivat matkalla läntisillä aavikoilla, Lo ja hänen rosvonsa olivat ryöstäneet Jenin asuntovaunun ja Lo oli varastanut hänen kampansa. Lo oli lähtenyt Lo'n perään ja seurannut häntä tämän aavikkoluolaan ilmeisesti saadakseen kammansa takaisin. Pian pari kuitenkin rakastui intohimoisesti. Lopulta Lo sai Jenin palaamaan perheensä luokse, mutta ei ennen kuin oli kertonut hänelle legendan miehestä, joka hyppäsi jyrkänteeltä saadakseen toiveensa toteutumaan. Koska miehen sydän oli puhdas, hän ei kuollut. Lo tuli Pekingiin suostuttelemaan Jeniä olemaan menemättä järjestettyyn avioliittoon. Jen kuitenkin kieltäytyy lähtemästä hänen kanssaan. Myöhemmin Lo keskeyttää Jenin hääkulkueen ja anelee tätä lähtemään kanssaan. Lähistöllä Shu Lien ja Mu Bai vakuuttavat Lon odottamaan Jeniä Wudang-vuorella, jossa hän on turvassa Jenin perheeltä, joka on raivoissaan hänelle. Jen karkaa miehensä luota hääyönä ennen kuin avioliitto voidaan panna täytäntöön. Miehen vaatteisiin naamioituneena hän joutuu majatalossa suuren soturijoukon hyökkäyksen kohteeksi; Vihreällä kohtalolla ja omilla ylivoimaisilla taistelutaidoillaan varustautuneena hän selviytyy voittajana.Jen vierailee Shu Lienin luona, joka kertoo hänelle, että Lo odottaa häntä Wudang-vuorella. Vihaisen riidan jälkeen naiset käyvät kaksintaistelun. Shu Lien on ylivoimainen taistelija, mutta Jen käyttää Vihreää Kohtaloa: miekka tuhoaa jokaisen Shu Lienin käyttämän aseen, kunnes Shu Lien onnistuu lopulta voittamaan Jenin rikkinäisellä miekalla. Kun Shu Lien osoittaa armoa ja laskee miekan, Jen haavoittaa Shu Lienin kättä. Mu Bai saapuu paikalle ja jahtaa Jeniä bambumetsään. Kaksintaistelun jälkeen, jossa Mu Bai saa Vihreän kohtalon takaisin haltuunsa, hän päättää heittää miekan vesiputouksen yli. Takaa-ajossa Jen sukeltaa viereiseen jokeen saadakseen miekan takaisin, ja Kettu pelastaa hänet. Kettu nukuttaa Jenin ja vie hänet luolaan, josta Mu Bai ja Shu Lien löytävät hänet. Kettu ilmestyy yhtäkkiä takaisin ja hyökkää muiden kimppuun myrkkynuolilla. Mu Bai torjuu neulat miekallaan ja kostaa mestarinsa kuoleman haavoittamalla Kettua kuolettavasti, mutta huomaa, että yksi tikoista osui häntä kaulaan. Kettu kuolee ja tunnustaa, että hänen tavoitteenaan oli ollut tappaa Jen, koska hän oli raivoissaan siitä, että Jen oli salannut häneltä Wudangin paljon ylivoimaisemmat taistelutekniikat.Kun Jen lähtee hakemaan vastalääkettä myrkytettyyn tikkaan, Mu Bai valmistautuu kuolemaan. Viimeisillä henkäyksillään hän viimein tunnustaa romanttisen kiintymyksensä Shu Lieniin. Hän kuolee tämän syliin, kun Jen palaa takaisin, mutta liian myöhään pelastaakseen hänet. Vihreä kohtalo palautetaan Sir Te:lle. Jen menee myöhemmin Wudang-vuorelle ja viettää viimeisen yön Lon kanssa. Seuraavana aamuna Lo löytää Jenin seisomasta parvekkeelta, jolta on näkymät vuoren reunalle. Kaikuen legendasta, josta he puhuivat aavikolla, Lo pyytää häntä toivomaan jotakin. Lo suostuu pyyntöön ja toivoo, että he olisivat taas yhdessä; takaisin aavikolla. Sitten Jen hyppää yhtäkkiä vuoren reunan yli.

**Tulos**

Mitä Li Mu Bai päättää tehdä miekallaan saatuaan sen takaisin Jeniltä?

**Tulos**

Mikä on vihreä kohtalo?

**Tulos**

Miksi Jenin perhe on raivoissaan Jenin rosvorakkaalle?

**Tulos**

Mikä on tarinan legendaarisen miekan nimi?

**Tulos**

Mikä osuu Foxia niskaan?

**Tulos**

Miksi Jade Foxia metsästettiin?

**Tulos**

Ketä Mu Bai todella rakasti?

**Tulos**

Mitä Jenin rosvorakastaja tekee piiloutuakseen Jenin raivoisalta perheeltä?

**Tulos**

Mitä Lo toivoo tarinan lopussa?

**Tulos**

Miten Jade Fox piiloutui?

**Tulos**

Mikä on Jenin suhde kuvernööri Yuhun?

**Tulos**

Kuka on Lo Jenille?

**Tulos**

Miksi mies ei kuollut, kun hän hyppäsi kalliolta?

**Tulos**

Mikä sai Jenin jättämään miehensä?

**Tulos**

Mikä on Li Mu Bain romanttisen kiinnostuksen kohteen nimi tarinassa?

**Tulos**

Mitä Jen salaa Jade Foxilta?

**Tulos**

Mitä Jen opiskeli tullakseen suureksi taistelijaksi?

**Tulos**

Millä Jen taistelee?

**Tulos**

Mitä Jen oli opiskellut salaa?

**Tulos**

Kuka on Li Mu Bai?

**Tulos**

Mikä on Li Mu Bain legendaarisen miekan kohtalo tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka esiintyi Jenin kotiopettajana?

**Tulos**

Mikä on Li Mu Bain taistelutyyli?

**Tulos**

Kuka on Jenin isä?

**Tulos**

Mikä on Jenin rosvorakkaan nimi?

**Tulos**

Mitä Lo varasti Jeniltä?

**Tulos**

Kuka kätki ylivoimaiset taistelutekniikat?

**Tulos**

Mikä on Mu Bain miekan nimi?

**Esimerkki 3.34**

Lauantaina 24. maaliskuuta 1984 viisi oppilasta ilmoittautuu kello 7.00 koko päivän jälki-istuntoon Shermerin lukiossa Shermerissä Illinoisin osavaltiossa. Vaikka he eivät ole toisilleen täysin vieraita, jokainen heistä kuuluu eri klikkiin, eikä heillä näytä olevan mitään yhteistä: kaunis ja hemmoteltu Claire Standish, osavaltion painimestari Andrew Clarke, lukutoukka Brian Johnson, erakoitunut hylkiö Allison Reynolds ja kapinallinen rikollinen John Bender.He kokoontuvat lukion kirjastoon, jossa apulaisrehtori Richard Vernon määrää heidät olemaan puhumatta, liikkumatta paikoiltaan tai nukkumatta ennen kuin heidät vapautetaan kello 16.00. Hän antaa heille tehtäväksi 1000 sanan esseen, jossa jokaisen on kuvailtava, "kuka luulette olevanne". Sitten hän lähtee ja palaa vain satunnaisesti katsomaan, miten he voivat. John, jolla on erityisen vihamielinen suhde Vernoniin, ei piittaa säännöistä ja ärsyttää usein muita oppilaita kiusaten Briania ja Andrew'ta ja ahdistellen Clairea. Allison on aluksi hiljainen lukuun ottamatta satunnaisia purkauksia. Päivän mittaan Vernon antaa Johnille useiden viikonloppujen verran ylimääräistä jälki-istuntoa ja jopa lukitsee hänet varastokomeroon, mutta hän karkaa ja palaa kirjastoon. oppilaat viettävät aikaa puhumalla, riitelemällä ja eräässä vaiheessa polttamalla kannabista, jonka John hakee kaapistaan. Vähitellen he avautuvat toisilleen ja paljastavat syvimmät henkilökohtaiset salaisuutensa: Allison on pakonomainen valehtelija, Andrew ei pysty helposti ajattelemaan itse, John tulee hyväksikäyttökotitaloudesta, Brian suunnitteli tappavansa itsensä soihtupyssyllä huonon arvosanan takia ja Claire on neitsyt, joka tuntee jatkuvaa painostusta ystäviltään. He myös huomaavat, että heillä kaikilla on kireät suhteet vanhempiinsa: Allisonin vanhemmat jättävät hänet huomiotta omien ongelmiensa vuoksi, Andrew'n isä arvostelee jatkuvasti hänen painiponnistuksiaan ja painostaa häntä niin kovaa kuin mahdollista, Johnin isä pahoinpitelee häntä sanallisesti ja fyysisesti, Brianin ylimieliset vanhemmat painostavat häntä kovasti saamaan hyviä arvosanoja ja Clairen vanhemmat käyttävät häntä hyväkseen kostaakseen toisilleen usein toistuvien riitojen aikana. Oppilaat huomaavat, että erilaisuudestaan huolimatta he kohtaavat samanlaisia paineita ja vaikeuksia elämässään.Sosiaalisen aseman eroista huolimatta ryhmä alkaa muodostaa ystävyyssuhteita (ja jopa romanttisia suhteita) päivän edetessä. Claire antaa Allisonille muodonmuutoksen, joka paljastaa, kuinka kaunis hän todella on, mikä herättää romanttista kiinnostusta Andrew'ssa. Claire päättää rikkoa "neitseellisen" neitsyen ulkonäkönsä suutelemalla Johnia komerossa ja antamalla hänelle hikka. Vaikka he epäilevät, että suhteet päättyvät jälki-istunnon päättyessä, heidän yhteiset kokemuksensa muuttavat heidän tapaansa suhtautua ikätovereihinsa sen jälkeen. kun jälki-istunto lähestyy loppuaan, ryhmä pyytää Briania täydentämään esseen kaikkien puolesta, ja John palaa varastokomeroon huijatakseen Vernonia luulemaan, ettei hän ole lähtenyt. Brian kirjoittaa esseen ja jättää sen kirjastoon Vernonin luettavaksi heidän lähdettyään. Kun oppilaat eroavat koulun ulkopuolella, Allison ja Andrew sekä Claire ja John suutelevat. Allison repii Andrew'n osavaltiomestaruusmerkin hänen kirjetakistaan pitääkseen sen, ja Claire antaa Johnille yhden timanttikorvakorunsa, jonka tämä kiinnittää korvalehteensä. Vernon lukee esseen (jonka Brian lukee voice-overina), jossa Brian toteaa, että Vernon on jo arvioinut, keitä he ovat, käyttäen yksinkertaisia määritelmiä ja stereotypioita. Yksi kerrallaan viiden oppilaan äänet lisäävät: "Mutta saimme selville, että jokainen meistä on aivot, urheilija, koripalloilija, prinsessa ja rikollinen." Tämä ei ole totta. Brian allekirjoittaa kirjeen nimellä "Aamiaiskerho". John kohottaa nyrkkiä voitonriemuisena kävellessään koulun jalkapallokentän yli kohti kotia.

**Tulos**

Missä lukiossa tarina tapahtui?

**Tulos**

Mitä yhteistä kaikilla oppilailla on vanhempiensa suhteen?

**Tulos**

Kuka on jälki-istunnossa oleva oppilas, joka tunnetaan painin osavaltion mestarina?

**Tulos**

Minkä urheilulajin Andrew Clarkella oli kirjailijan takissaan laastari?

**Tulos**

Millä esineellä Brian aikoi yrittää tappaa itsensä?

**Tulos**

Mikä on Allisonin tärkein puute?

**Tulos**

Mistä yhteiskunnallisesta "klikistä" John Bender tulee? Mitkä elämäntapahtumat saattavat johtaa siihen, että hän on tällainen?

**Tulos**

Kuinka pitkä on essee, jota Vernon odottaa opiskelijoilta?

**Tulos**

Kuinka monta oppilasta oli tarinassa jälki-istunnossa?

**Tulos**

Minkä oppilaan on istuttava useita viikkoja jälki-istuntoa? Miksi?

**Tulos**

Minkä tehtävän rehtori antoi oppilaille?

**Tulos**

Millä nimellä ryhmä kutsui itseään tarinan lopussa?

**Tulos**

Mitä Claire antaa Johnille?

**Tulos**

Mikä ongelma on kaikilla oppilailla yhteinen?

**Tulos**

Kuka on ainoa oppilas, joka päätyi kirjoittamaan herra Vernonin esseen?

**Tulos**

Mitä Claire antaa Johnille ennen kuin heidän tiensä eroavat?

**Tulos**

Jouduttuaan vaikeuksiin rehtorin kanssa, missä Johnin pitäisi viettää päivä?

**Tulos**

Mitä Brianin vanhemmat painostavat häntä?

**Tulos**

Miksi Brian aikoi tappaa itsensä?

**Tulos**

Kuinka pitkä oli viidelle opiskelijalle annettu essee?

**Tulos**

Kuka nappaa kannabista kaapistaan?

**Tulos**

Mitä Allison tekee sen jälkeen, kun hän ja Andrew ovat suudelleet?

**Tulos**

Kuka saa ylimääräisiä viikonloppuja jälki-istuntoa?

**Tulos**

Mihin John Bender piilotti kannibiskätkönsä?

**Tulos**

Kuka väittää, että Vernon on jo tuominnut oppilaat?

**Tulos**

Miten ystävät painostavat Clairea?

**Tulos**

Millä koulun alueella oppilaat viettivät suurimman osan päivästä?

**Tulos**

Mitä Claire tekee Allisonille?

**Tulos**

Mihin aikaan jälki-istunto päättyi?

**Tulos**

Mistä oppilaat saivat polttamansa kannabiksen?

**Esimerkki 3.35**

Romaani kertoo ihmisistä, joilla on parantumattomia vammoja ja vikoja (biokompensoijia) ja jotka ilmoittautuvat vapaaehtoisiksi ensimmäiselle tähtienväliselle lennolle.Lääkintäviranomaiset kieltäytyvät hyväksymästä heitä, mutta he eivät saa lupaa, kun he varastavat aluksen voidakseen vedota asioihinsa suoraan Maan asukkaille. Palatessaan asteroidisairaalaansa he rakentavat toimivan painovoimamoottorin ja pakenevat aurinkokunnasta. He suuntaavat kohti Centauri-järjestelmää ja ratkaisevat ongelmia, kuten tarvittavien lääkkeiden rajallisen tarjonnan voittaminen ja voimansiirron parantaminen. Maa lähettää Star Victory -aluksen, jossa on parempi versio uudesta voimansiirtolaitteesta, yrittäen ehtiä ennen heitä sinne, sillä teoriana on, että kaikki avaruusolennot, joita he kohtaavat, saattavat erehtyä pitämään heitä tavallisina ihmisinä. Victory ehtii muutamalla päivällä ennen heitä, ja se saapuu paikalle vuosi heidän lähtönsä jälkeen, mutta he asettuvat Marsin kaltaiselle planeetalle lähellä Alpha Centauria, ennen kuin Victory saa yhteyden perhosen kaltaisiin avaruusolentoihin Proxima Centauri -järjestelmässä sijaitsevalla metaanikaasujättiläisellä. Muukalaiset ovat teknologialtaan jokseenkin samanlaisia, mutta heiltä puuttuu luotettava painovoimansiirto. He haluavat kohtuullisen otoksen ihmisiä tutkittavakseen, mutta Victoryn miehistö on kaikki asiantuntijoita, eivätkä he ole tervetulleita. Voitto jättää järjestelmän Accidentalien haltuun luvaten palata jonain päivänä.

**Tulos**

Missä biokompensaattorit asuvat ennen tähtienvälistä matkaansa?

**Tulos**

Mitä biokompensaattorit tekevät vapaaehtoisesti?

**Tulos**

Kun Victory jättää järjestelmän Accidentalsille, mitä miehistö lupaa?

**Tulos**

Mikä on tekstin mukaan ensimmäisen tähtienvälisen lennon vapaaehtoisten terveydentila?

**Tulos**

Mikä on tärkein syy siihen, että toinen alus lähetetään kohti Alfa Centauria?

**Tulos**

Mikä on sen aluksen nimi, jonka Maa lähettää?

**Tulos**

Miltä muukalaiset näyttävät?

**Tulos**

Mikä muistuttaa eniten avaruusolentoja ja ihmisiä?

**Tulos**

Mitä muukalaisten teknologiasta puuttuu?

**Tulos**

Mitä planeettaa se muistuttaa, jolle he laskeutuvat Alfa Centaurin lähelle?

**Tulos**

Minne biokompensaattorit menevät heti sen jälkeen, kun ne on käännetty alas ensimmäistä tähtienvälistä lentoa varten?

**Tulos**

Miksi muukalaiset eivät toivota Victoryn miehistöä tervetulleeksi?

**Tulos**

Mikä on sen avaruusaluksen nimi, joka lähetettiin Maasta päihittämään biokompensaattorit Alphi Centauriin?

**Tulos**

Minkä parannusten ansiosta toinen alus voi saapua ennen ensimmäistä?

**Tulos**

Miten tekstissä kuvataan planeettaa, jolla avaruusolennot asuvat?

**Tulos**

Mitä löytyy Proxima Centaurin lähellä sijaitsevasta metaanikaasujättiläisestä?

**Tulos**

Miten tekstissä kuvataan planeettaa, jolle Victory asettuu?

**Tulos**

Mitä ovat biokompensaattorit?

**Tulos**

Minne biokompensaattorit suuntaavat, kun ne lähtevät aurinkokunnasta?

**Tulos**

Millaisella planeetalla avaruusolennot asuvat?

**Tulos**

Minkälainen moottori liikuttaa biokompensaattorin avaruusalusta?

**Tulos**

Miksi kutsutaan ihmisiä, jotka ilmoittautuvat vapaaehtoisiksi ensimmäiselle tähtienväliselle lennolle?

**Tulos**

Millaisia rajoituksia avaruusolennoilla on teknologiansa suhteen?

**Tulos**

Millaisia ongelmia ensimmäisen laivan matkustajat kohtaavat matkallaan?

**Tulos**

Mihin järjestelmään ihmiset siirtyvät paetessaan aurinkokunnasta?

**Tulos**

Kuka hylkää biokompensaattorit, jotka ilmoittautuvat vapaaehtoisiksi ensimmäiselle tähtienväliselle avaruuslennolle?

**Tulos**

Mitä muukalaisilta puuttuu?

**Tulos**

Miksi avaruusolennot kieltäytyvät tutkimasta Victory-aluksen matkustajia ja miehistöä?

**Tulos**

Mistä Star Victory on parempi versio?

**Tulos**

Minkälaisia muukalaisia he kohtaavat?

**Esimerkki 3.36**

Ihaillessaan talvella kukkivaa ruusua Taborin kuningaskunnan kuningatar Eleanor pistää sormensa yhteen ruusun piikeistä. Kolme veripisaraa putoaa lumiselle maalle, ja hän toivoo tytärtä, joka on valkoinen kuin lumi, jolla on huulet yhtä punaiset kuin veri, hiukset mustat kuin korpin siivet ja sydän vahva ja uhmakas kuin ruusu. Kuningatar Eleanor synnyttää tyttärensä Lumikin, mutta sairastuu pian sen jälkeen ja kuolee. Hänen kuolemansa jälkeen Lumikin isä, kuningas Magnus, ja hänen armeijansa taistelevat hyökkäävää pimeää armeijaa vastaan, joka koostuu demonisista lasisotilaista. Pelastaessaan vangin Ravennan hän lumoutuu tämän kauneudesta ja menee hänen kanssaan naimisiin.Ravenna, joka on itse asiassa voimakas noita ja pimeän armeijan mestari, tappaa Magnuksen heidän hääyönään. Sinä yönä Magnus, lumoutuneena, heittää Ravennan sänkyyn ja ryhtyy rakastelemaan. Ravenna tunnustaa, että häntä hemmotteli Magnuksen kaltainen kuningas. Esileikin aikana hän ilmoittaa, ettei voi olla heikko kuningatar, ja tappaa Magnuksen. Lumikin lapsuudenystävä William ja hänen isänsä herttua Hammond pakenevat linnasta, mutta eivät pysty pelastamaan Lumikkia, ja Ravennan veli Finn ottaa hänet vangiksi ja lukitsee hänet linnan pohjoiseen torniin moneksi vuodeksi.Tabor on tuhoutunut kuningatar Ravennan vallan alla, sillä hän imee säännöllisesti nuoruuden valtakunnan nuorista naisista pitääkseen yllä äitinsä lapsena tekemäänsä loitsua, jonka avulla hän voi säilyttää nuorekkaan kauneutensa. Kun Lumikki tulee täysi-ikäiseksi, kuningatar Ravenna saa tietää taikapeilistään, joka on ihmisen muotoinen kultainen, heijastava neste, että hänen tytärpuolensa Lumikki on tuomittu tuhoamaan hänet, ellei kuningatar Ravenna kuluta nuoren tytön sydäntä, mikä tekee hänestä todella kuolemattoman. Kuningatar Ravenna käskee Finniä tuomaan hänelle Lumikin sydämen, mutta tyttö pakenee Pimeään metsään, jossa Ravennalla ei ole valtaa. Kuningatar Ravenna tekee sopimuksen leskimiehen ja juopon Eric Huntsmanin kanssa Lumikin vangitsemisesta ja lupaa vastineeksi herättää hänen vaimonsa henkiin. Metsästäjä jäljittää Lumikin, mutta kun suomalainen paljastaa, että kuningatar Ravennalla ei todellisuudessa ole valtaa tehdä sitä, mitä hän on luvannut, metsästäjä taistelee häntä ja hänen miehiään vastaan Lumikin paetessa. Kun metsästäjä saa hänet kiinni, Lumikki lupaa hänelle kultaa, jos tämä saattaa hänet herttua Hammondin linnaan. Sillä välin Finn kerää toisen joukon miehiä etsimään häntä, ja herttua Hammond ja hänen poikansa William saavat tietää, että Lumikki on elossa. William lähtee yksin linnasta etsimään häntä ja liittyy Finnin joukkoon jousimieheksi.Metsästäjä ja Lumikki lähtevät pimeästä metsästä, jossa Lumikki pelastaa hänen henkensä hurmaamalla heitä vastaan hyökkäävän valtavan peikon. He pääsevät kalastajakylään, jota asuttavat naiset, jotka ovat runnelleet itsensä pelastaakseen oman henkensä ja joista on tullut hyödyttömiä kuningatar Ravennalle. Siellä Metsästäjä saa tietää Lumikin todellisen henkilöllisyyden ja jättää hänet aluksi naisten hoiviin. Pian hän palaa takaisin, kun hän näkee, että Finnin miehet polttavat kylän. Lumikki ja metsästäjä pakenevat heitä ja tapaavat lopulta kahdeksan kääpiön joukon, jonka jäsenet ovat Beith, Muir, Quert, Coll, Duir, Gort, Nion ja Gus. Sokea Muir hahmottaa, että Lumikki on entisen kuninkaan tytär ja ainoa henkilö, joka voi kukistaa Ravennan ja lopettaa hänen valtakautensa.Kun he matkustavat keijujen pyhäkön läpi, Finn ja hänen miehensä hyökkäävät ryhmän kimppuun. Metsästäjä taistelee Finniä vastaan ja tappaa hänet, ja William paljastaa itsensä ja auttaa voittamaan Finnin miehet. Gus kuitenkin kuolee, kun hän uhrautuu ottaakseen Lumikille tarkoitetun nuolen. William liittyy ryhmään, joka jatkaa matkaa Hammondin linnaan.Puolimatkassa Hammondin linnaan kuningatar Ravenna naamioituu Williamiksi ja houkuttelee Lumikin syömään myrkytetyn omenan, mutta joutuu pakenemaan, kun metsästäjä ja William löytävät hänet. William suutelee Lumikkia, jonka hän uskoo olevan kuollut. Hänet viedään Hammondin linnaan. Kun Lumikki makaa lepäämässä, metsästäjä pahoittelee, ettei pelastanut Lumikkia, joka muistuttaa häntä edesmenneestä vaimostaan Sarasta, ja hän suutelee tätä, jolloin loitsu katkeaa. Lumikki herää, kävelee sisäpihalle ja kutsuu herttuan armeijan koolle aloittamaan piirityksen kuningatar Ravennaa vastaan. kääpiöt tunkeutuvat linnaan viemäreiden kautta ja avaavat portit, jolloin herttuan armeija pääsee sisään. Lumikki kohtaa kuningatar Ravennan, mutta joutuu ylivoimaiseksi. Kuningatar Ravenna aikoo tappaa Lumikin ja kuluttaa hänen sydämensä. Lopulta Lumikki käyttää Metsästäjän opettamaa liikettä ja näennäisesti tappaa kuningatar Ravennan, ja herttua Hammondin armeija on voitolla. Kun kuningatar Ravenna on lyöty ja kuollut, valtakunnassa vallitsee jälleen rauha ja harmonia, kun Lumikki kruunataan kuningattareksi ja hän ja metsästäjä vaihtavat katseita, ennen kuin kohtaus leikataan "Eläköön kuningatar!" -huutoihin.

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Metsästäjä suutelee Lumikkia?

**Tulos**

Kenen suudelma murtaa kuningattaren myrkytetyn omenan lumous Lumikin päälle?

**Tulos**

Mikä murtaa Lumikin kirouksen?

**Tulos**

Keneksi kuningatar Ravenna naamioituu saadakseen Lumikin syömään myrkytetyn omenan?

**Tulos**

Keneksi kuningatar Ravenna naamioituu?

**Tulos**

Mitä ruokaa valepukuinen Raveanna antaa Lumikille?

**Tulos**

Keneltä Ravenna imee nuoruuden?

**Tulos**

Miten Lumikki pelastaa Metsästäjän hengen?

**Tulos**

Kuka on pimeän armeijan päällikkö?

**Tulos**

Kuka suutelee Lumikkia ensimmäisenä sen jälkeen, kun hänet on myrkytetty?

**Tulos**

Miten kääpiöt pääsevät linnaan avaamaan portit herttuan armeijalle?

**Tulos**

Kuka on sokean Muirin mukaan ainoa henkilö, joka voi voittaa kuningatar Ravennan?

**Tulos**

Miksi Eric Huntsman suostuu vangitsemaan Lumikin?

**Tulos**

Missä Lumikki on lukkojen takana monta vuotta?

**Tulos**

Ketä Lumikki muistuttaa Metsästäjästä?

**Tulos**

Minkälaisena William esiintyy Finnin ja Lumikkia etsivien miesten poseerauksessa?

**Tulos**

Mitä Raveanna lupaa Huntsmanille vastineeksi Lumikista?

**Tulos**

Kuka kruunataan kuningattareksi sen jälkeen, kun kuningatar Ravenna on tapettu?

**Tulos**

Miten Raveanna kohtaa kohtalonsa?

**Tulos**

Miksi kalastajakylän naiset ovat epämuodostuneita?

**Tulos**

Mistä koostuu armeija, joka nousee kuningasta vastaan?

**Tulos**

Mitä Ravenna haluaa tehdä Lumikin kanssa ja miksi?

**Tulos**

Miten kuningas Magnus kuolee?

**Tulos**

Miten kääpiöt pääsevät linnaan?

**Tulos**

Miksi Lumikki on turvassa Raveannalta pimeässä metsässä?

**Tulos**

Mitä Ravenna houkuttelee Lumikin syömään?

**Tulos**

Miten Gus tapetaan?

**Tulos**

Millä Raveanna tappaa kuninkaan?

**Tulos**

Kuka polttaa kylän?

**Esimerkki 3.37**

Varakas maalaismies Hardcastle järjestää tyttärelleen Katelle tapaamisen Charles Marlow'n, rikkaan lontoolaisen pojan kanssa, ja toivoo parin menevän naimisiin. Valitettavasti Marlow on hermostunut yläluokan naisten seurassa, mutta täysin päinvastainen työläisnaisten seurassa. Ensitutustumisensa jälkeen Kate tajuaa, että hänen on teeskenneltävä olevansa "tavallinen", muuten Marlow ei kosiskele häntä. Niinpä Kate "alentuu valloittamaan" esiintymällä palvelijattarena ja toivoo saavansa Marlow'n rauhoittumaan, jotta tämä rakastuisi häneen. Marlow lähtee Hardcastlen kartanolle ystävänsä George Hastingsin kanssa, joka ihailee neiti Constance Nevilleä, toista Hardcastleilla asuvaa nuorta naista. Matkan aikana miehet eksyvät ja pysähtyvät kolmen iloisen kyyhkysen olutravintolaan kysymään tietä. Tony Lumpkin, Katen velipuoli ja Constancen serkku, törmää olutravintolassa kahteen muukalaiseen, ja kun hän tajuaa heidän henkilöllisyytensä, hän tekee heille pilan kertomalla, että he ovat kaukana määränpäästä ja joutuvat yöpymään majatalossa. "Majatalo", jonne hän heidät ohjaa, on itse asiassa Hardcastlen koti. Kun he saapuvat perille, heitä odottaneet Hardcastlesit toivottavat heidät tervetulleiksi. Marlow ja Hastings, jotka luulevat olevansa majatalossa, käyttäytyvät kuitenkin erittäin halveksivasti isäntiään kohtaan. Hardcastle sietää heidän tahattomat loukkauksensa suvaitsevaisesti, koska hän on ystävystynyt Marlow'n isän kanssa.Kate kuulee Constantinalta kosijansa ujoudesta, ja palvelija kertoo hänelle Tonyn tempusta. Hän päättää naamioitua palvelijattareksi (muuttaen aksenttiaan ja vaatetustaan) tutustuakseen mieheen. Marlow rakastuu häneen ja aikoo karata hänen kanssaan, mutta koska Marlow vaikuttaa alemman luokan edustajalta, hän käyttäytyy hänen seurassaan hieman rivosti. Kaikki väärinkäsitykset ratkeavat loppuun mennessä Sir Charles Marlow'n esiintymisen ansiosta.Tärkein sivujuoni koskee Constancen ja Hastingsin välistä salaista romanssia. Constance tarvitsee korujaan, perintöä, jota Tonyn äiti, rouva Hardcastle, vartioi ja joka haluaa, että Constance menee naimisiin poikansa kanssa, jotta korut pysyisivät suvussa. Tony halveksii ajatusta naimisiinmenosta Constancen kanssa, koska hän haluaa mieluummin baarityttö olutravintolassa, ja niinpä hän suostuu varastamaan Constancea varten jalokivet äitinsä vartioimista koruista, jotta tämä voi karata Ranskaan Hastingsin kanssa. näytelmä päättyy siihen, että Katen suunnitelma onnistuu: hän ja Marlow menevät kihloihin. Tony saa selville, että hänen äitinsä on valehdellut hänen olevan "täysi-ikäinen" ja siten oikeutettu perintöönsä. Hän kieltäytyy menemästä naimisiin Constancen kanssa, jolloin hänellä on oikeus saada korunsa ja mennä kihloihin Hastingsin kanssa, minkä hän myös tekee.

**Tulos**

Miksi rouva Hardcastle haluaa, että Constance menee naimisiin poikansa kanssa?

**Tulos**

Miten Katen suunnitelma onnistuu?

**Tulos**

Kuka naamioituu palvelijattareksi?

**Tulos**

Mitä Kate esitti olevansa?

**Tulos**

Missä Charles Marlow asuu?

**Tulos**

Mikä on sen baarin nimi, jossa miehet pysähtyvät matkallaan?

**Tulos**

Kuka huijaa miehet uskomaan, että Hardcastlen koti on majatalo?

**Tulos**

Mitä Katen on tehtävä saadakseen Marlow'n kosiskelemaan häntä?

**Tulos**

Kuka suostuu varastamaan korut rouva Hardcastlelta?

**Tulos**

Kenellä on salainen romanssi?

**Tulos**

Kuka selvittää väärinkäsitykset?

**Tulos**

Ketkä kaksi miestä matkustavat Hardcastlen luo?

**Tulos**

Miten Tony Lumpkin on sukua Katelle?

**Tulos**

Mikä on sen olutravintolan nimi, jossa Marlow ja George pysähtyvät kysymään ohjeita?

**Tulos**

Mitä seuraa siitä, että Tony kieltäytyy menemästä naimisiin Constancen kanssa?

**Tulos**

Kenen kanssa herra Hardcastle haluaa tyttärensä menevän naimisiin?

**Tulos**

Kuka kertoo Katelle Marlow'n ujoudesta?

**Tulos**

Kun miehet saapuvat Hardcastleen, missä he luulevat olevansa oikeasti?

**Tulos**

Kenet Tony haluaa naimisiin Constancen sijasta?

**Tulos**

Miksi herra Hardcastle haluaa, että hänen tyttärensä tapaa Charles Marlow'n?

**Tulos**

Kuka kieltäytyy menemästä naimisiin Constancen kanssa?

**Tulos**

Mitä rouva Hardcastlella on, joka kuuluu Constancelle?

**Tulos**

Kenet rouva Hardcastle haluaa Tonyn menevän naimisiin?

**Tulos**

Kenen kanssa Constance on kihloissa näytelmän lopussa?

**Tulos**

Kenet herra Hardcastle toivoo tyttärensä menevän naimisiin?

**Tulos**

Kuka on näytelmän lopussa kihloissa Marlow'n kanssa?

**Tulos**

Kuka hallitsee Constancen perintöä?

**Tulos**

Kate päättää teeskennellä mitä saadakseen Marlow'n huomion?

**Tulos**

Kuka menee kihloihin Hastingsin kanssa?

**Esimerkki 3.38**

Vuonna 1969 Pasadenassa, Kaliforniassa, pariskunta pyytää apua meedio Shaun San Dena:lta (Flor de Maria Chahua), koska heidän poikansa (Shiloh Selassie) on kuullut pahojen henkien ääniä varastettuaan hopeakaulakorun mustalaisilta. San Dena auttaa perhettä järjestämällä istunnon, mutta heidän kimppuunsa hyökkää näkymätön voima, joka vetää pojan helvettiin. Meedio sanoo kohtaavansa voiman vielä jonain päivänä.nykypäivän Los Angelesissa pankin lainavirkailija Christine Brown toivoo saavansa ylennyksen apulaisjohtajaksi työtoverinsa Stu Rubinin ohi. Hänen pomonsa Jim Jacks neuvoo häntä osoittamaan, että hän osaa tehdä vaikeita päätöksiä saadakseen ylennyksen. Christinen luona vierailee iäkäs mustalaisnainen Sylvia Ganush, joka pyytää jatkoaikaa asuntolainansa maksuun. Vaikka Christine suhtautuu empaattisesti vanhan naisen kriisiin, hän kieltää Ganushilta lainanlyhennyksen, jotta hän voisi todistaa itsensä pomolleen. Ganush rukoilee Christineä olemaan ottamatta hänen taloaan takavarikkoon ja polvistuu hänen eteensä. Christine säikähtää naisen omituista anelua auttaessaan tätä nousemaan seisomaan ja kutsuu turvamiehet, jotka vievät Ganushin pois samalla, kun Ganush syyttää Christineä hänen "häpäisemisestään" ja vannoo kostavansa. Jim kehuu Christineä siitä, miten hän hoiti tilanteen. kun Christine menee pankin parkkihalliin ajamaan kotiin, Ganush hyökkää Christinen kimppuun hänen autossaan, repii napin Christinen takista ja käyttää sitä kirotaakseen Christinen. Myöhemmin Christine ja hänen poikaystävänsä Clay Dalton tapaavat ennustajan, Rham Jasin, joka kertoo Christinelle, että paha henki vainoaa häntä. Kotona henki hyökkää Christinen kimppuun ja näkee painajaisia Ganushista. Seuraavana päivänä töissä Christine suuttuu Stulle ja saa nenästään ammottavan verenvuodon, joka kastelee pomonsa vereen. Hän juoksee karkuun, ja Stu ottaa salaa kansion Christinen pöydältä. Christine menee puhumaan Ganushin kanssa, mutta saa tietää, että tämä kuoli edellisenä yönä käytyään hänen kotonaan. Christine palaa Rham Jasin luo, joka selittää, että niin kauan kuin Christine omistaa kirotun esineen, häntä vainoaa voimakas demoni nimeltä Lamia (joka perustuu löyhästi kreikkalaiseen lasta syövään demoniaan), joka piinaa häntä kolme päivää ennen kuin vie hänet helvettiin ikuisiksi ajoiksi. Hän ehdottaa uhrausta demonin rauhoittamiseksi. Christine haluaa epätoivoisesti pysäyttää hyökkäykset ja uhraa vastentahtoisesti kissanpentunsa. Illalliskutsuilla Clayn ja hänen vanhempiensa kanssa Lamia piinaa häntä jälleen, mutta tällä kertaa illuusioiden avulla, mikä pelottaa Daltonit. Christine palaa Rham Jasin luokse, joka sanoo, että Shaun San Dena vaarantaa henkensä pysäyttääkseen demonin 10 000 dollarin palkkiota vastaan. San Dena valmistelee istuntoa, jossa Lamian henki vangitaan vuoheen ja tapetaan, minkä jälkeen hän antaa Lamian asettua omaan kehoonsa. Rham Jas yrittää suostutella sitä olemaan varastamatta Christinen sielua, mutta se vannoo, ettei lopeta ennen kuin Christine kuolee. Christine asettaa sitten San Denan käden vuohen päälle, jolloin henki siirtyy sen ruumiiseen. San Denan avustaja Milos yrittää tappaa vuohen, mutta vuohi puree häntä, jolloin hän joutuu riivaajaksi ja hyökkää istunnon jäsenten kimppuun. San Dena karkottaa Lamian istunnosta, mutta kuolee samalla. Christine luulee, että meedio on voittanut Lamian, mutta Rham Jas selittää, että hän onnistui vain karkottamaan hengen seuraavaan päivään asti. Sitten hän sulkee kirotun napin kirjekuoreen ja kertoo Christinelle, että hän voi päästä kirouksesta eroon antamalla napin jollekin lahjaksi, jolloin kirous siirtyy tälle henkilölle. Christine päättää antaa kirjekuoren Stulle kostoksi siitä, että tämä on varastanut hänen työnsä, mutta muuttaa mielensä nähtyään, miten säälittävä, itkuinen ja paniikissa oleva Stu on tavatessaan hänet. Rham Jasin opastuksella Christine oppii, että hän voi antaa kirjekuoren Ganushille, vaikka tämä on kuollut. Christine kaivaa Ganushin haudan ylös ja tunkee kirjekuoren suuhunsa juuri sopivasti ennen aamunkoittoa. Christine palaa kotiin ja valmistautuu tapaamaan Clayn Los Angelesin Union Stationilla viikonloppumatkalle Santa Barbaraan. Hän saa pomoltaan viestin, jossa kerrotaan, että hän sai unelmiensa työpaikan sen jälkeen, kun Stu tunnusti varastaneensa hänen työnsä ja sai potkut. Asemalla Christine ostaa myös takin, jota hän on halunnut uuden alun merkiksi. Kosintaa suunnitteleva Clay paljastaa Christinelle löytäneensä autostaan kirjekuoren, jossa oli kirottu nappi. Sitten Christine tajuaa sekoittaneensa kirjekuorensa toiseen, jonka hän antoi Claylle, kun hän vahingossa pudotti sen. Kauhuissaan Christine perääntyy ja putoaa raiteille. Kun juna syöksyy häntä kohti, raiteilta nousee yhtäkkiä tulisia käsiä, jotka vetävät Christinen helvetin loputtomiin liekkeihin, kun kauhistunut Clay katselee yläpuolella olevalta laiturilta kirottu nappi yhä käsissään.

**Tulos**

Mitä Sylvia Ganush pyytää Christineltä?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, jos Christine antaa kirjekuoren, jossa on nappi, jollekin?

**Tulos**

Minkä eläimen Christine uhraa ensin yrittäessään rauhoittaa henkeä?

**Tulos**

Kuka ehdotti, että Christine uhraisi jotain päästäkseen eroon Lamiasta?

**Tulos**

Mitä Christine teki pomolleen juuri ennen kuin Stu varasti Christinen kansion?

**Tulos**

Miksi Christine kaivaa Ganushin haudan?

**Tulos**

Mitä eläintä Shaun San Dena käyttää vangitakseen Lamian hengen?

**Tulos**

Mitä Rham Jas kertoo Christinelle, kun he tapaavat ensimmäisen kerran?

**Tulos**

Minkä esineen Ganush otti Christineltä kirotaakseen hänet?

**Tulos**

Miksi pariskunta vieraili meedio Shaun San Dena Pasadenassa vuonna 1969?

**Tulos**

Mikä on Christinen poikaystävän nimi?

**Tulos**

Miksi Stu sai potkut?

**Tulos**

Miksi Christine päättää olla antamatta Stulle kirjekuorta, jossa on nappi?

**Tulos**

Mistä Stu myönsi ottaneensa kunnian?

**Tulos**

Millainen demoni vainoaa Christinea?

**Tulos**

Mikä oli Shaun San Denan suunnitelma päästä eroon Lamiasta?

**Tulos**

Miksi Christina ei myönnä mustalaisnaiselle jatkoaikaa asuntolainan maksamiseen?

**Tulos**

Millä esineellä mustalaisnainen kiroaa Christinen?

**Tulos**

Miksi Christine muutti mielensä siitä, että antoi napin Stulle?

**Tulos**

Miksi mustalaisnainen kiroaa Christinen?

**Tulos**

Kuinka kauan demoni piinaa Christineä ennen kuin se vie hänet helvettiin?

**Tulos**

Kuinka paljon Shaun San Dena pyysi palkkaa siitä, että hän auttoi Christineä?

**Tulos**

Mitä Christine uhraa?

**Tulos**

Kuinka monta päivää demoni Rham Jasin mukaan kiduttaa Christineä ennen kuin raahaa hänet helvettiin?

**Tulos**

Miksi Christine kaivoi Ganushin haudan?

**Tulos**

Miksi Christine lähetettiin helvettiin, vaikka hän pääsi eroon kirjekuoresta?

**Tulos**

Minne Clay ja Christine ovat menossa viikonlopuksi?

**Tulos**

Mikä on Christine Brownin työtehtävä?

**Tulos**

Missä tämän tarinan alku tapahtuu?

**Tulos**

Miksi Sylvia Ganush kirosi Christinen?

**Esimerkki 3.39**

The Life, Adventures, and Pyracies, of the Famous Captain Singleton (1720) kattaa sekä maa- että merialueet yhdessä niteessä, kahdessa siististi koostetussa osassa. Romaanin ensimmäiseen puoliskoon sisältyy merkittävä Afrikan halki kulkeva vaellus sen jälkeen, kun hahmot ovat jääneet jumiin Madagaskariin, ja toinen puolisko on lähes kokonaan merellä, ja siihen sisältyy merirosvoja Itä-Intiassa. Lopulta kapteeni Bob ja hänen läheinen ystävänsä William Walters palaavat saaliinsa kanssa Englantiin Venetsian kautta armenialaisiksi naamioituneina." Romaanin alussa Singleton joutuu nuorena poikana kerjäläisnaisen sieppaamaksi ja myymäksi mustalaiselle. Hänet "kasvatetaan seurakunnan holhokkina ja lähetetään merille kahdentoista vuoden ikäisenä. Pian hän joutuu turkkilaisten merirosvojen vangiksi, portugalilaiset merimiehet pelastavat hänet, ja kahden vuoden oleskelun jälkeen hän purjehtii Itä-Intiaan. Omien sanojensa mukaan nuori Singleton on veijari, joka varastaa laivan kapteenilta ja jolla on halu tappaa isäntänsä. Singleton, joka on melkein hirtetty osallisuutensa vuoksi kapinayrityksessä, joutuu neljän toverinsa kanssa maihin Madagaskarin rannikolle. Heidän seuraansa liittyy joukko muita laivan merimiehiä, ja seuraavassa tarinassa kerrotaan heidän ponnisteluistaan selviytyä saarella. Merimiehet löytävät hylätyn veneen ja rakentavat sen uudelleen, ja lopulta he päättävät jatkaa matkaa Afrikan halki. "Eurooppalaisten kohtaamisissa afrikkalaisten alkuasukkaiden kanssa eurooppalaiset ovat kekseliäitä mutta raakoja." "Vaarallisen matkan aikana Singletonista tulee ryhmän johtaja pelottomuutensa ja kekseliäisyytensä ansiosta. Hän on kylmä pragmaatikko, jonka myötätunnon puutetta ylittää vain hänen selviytymiskykynsä. Kun he löytävät haavoittuneen alkuasukkaan, Singleton tekee päätöksen, joka perustuu puhtaasti tarkoituksenmukaisuuteen. Harkittuaan alkuasukkaan kuoleman sallimista Singleton tekee päätöksen, jonka mukaan hänestä voisi olla hyötyä heille. "Vaikean marssin aikana leopardien, elefanttien, krokotiilien ja käärmeiden täyttämillä mailla matkalaiset välttävät katastrofin, koska heillä on nykyaikaiset aseet ja eurooppalainen usko järkeen eikä taikuuteen". [...] Marssijat tapaavat englantilaisen kauppiaan, joka on asunut alkuasukkaiden luona ja joka suostuttelee Singletonin ja hänen seuralaisensa pysähtymään hetkeksi kaivamaan kultaa. Kun seikkailijat ovat lastanneet kultaa ja norsun syöksyhampaita, he saavuttavat lopulta hollantilaisen asutuksen, jossa he jakavat saaliin ja lähtevät heti omille teilleen." "Kun Singleton on kuluttanut omaisuutensa Englannissa, hän lähtee uudelleen, tällä kertaa Länsi-Intiaan, jossa hän kerskailevan tunnustuksensa mukaan ryhtyy nopeasti merirosvoukseen. [...] Singletonin kyvyt tuovat hänelle korkean komennon, vaikka hänen merirosvotoimintansa rohkaisee kasvattamaan sydämettömyyttä, joka on niin läpitunkevaa, että toisinaan se johtaa julmuuteen. Hän kiistää, että hänen miehensä ovat syyllistyneet tiettyihin julmuuksiin, mutta myöntää tyynesti, että "on tehty enemmän kuin on soveliasta puhua täällä" (s. 188). Romaanin tässä osassa tapahtumat kasaantuvat nopeasti, on takaa-ajoja ja meritaisteluita, joissa Singleton osoittautuu kyvykkääksi, rohkeaksi ja kekseliääksi johtajaksi. [...] Intiasta tapahtumapaikka siirtyy Itä-Afrikan rannikolle ja Madagaskariin, jossa merirosvot jatkavat ryöstelyä ja purjehtivat levottomasti uusia valloituksia etsien. Defoe piirtää muotokuvan miehistä, joiden rakkaus kultaan ei ole yhtä tärkeää kuin heidän seikkailunhalunsa. Tämä uutuudenhimo vie Singletonin ja hänen miehensä Tyynellemerelle Filippiineille asti, ennen kuin he jäljittävät tiensä takaisin Intian valtamerelle ja Ceyloniin.""Ystävä William, kveekarikirurgi, nousee tarinan keskipisteeksi, kun hän huijaa ceylonialaisen kuninkaan ja pelastaa hollantilaisen orjan. William osoittaa kekseliäisyyttä myös onnistumalla kauppaneuvotteluissa englantilaisten kauppiaiden kanssa Intiassa. Hän palvelee Singletonia lojaalisti ja urheasti eräänlaisena perjantaimiehenä: hän on lisäksi kristitty humanisti ja parantaja, joka lopulta saa kapteeninsa vakuuttuneeksi siitä, ettei merirosvoelämä johda mihinkään. Kun Singleton katumuksen kourissa harkitsee itsemurhaa, William vakuuttaa hänelle, että ajatus oman elämän riistämisestä on "paholaisen ajatus" (s. 332) ja siksi se on jätettävä huomiotta." Kun he palaavat Englantiin, he tekevät päätöksen pysyä yhdessä loppuelämänsä. Singleton nai Williamin sisaren, lesken, "ja tarina päättyy nopeasti kotirauhan sävyyn".

**Tulos**

Mitä Singleton ja merimiehet pysähtyvät kaivamaan Afrikan halki kulkiessaan?

**Tulos**

Miten William osoittaa suurta kyvykkyyttä?

**Tulos**

Miten William selittää itsemurhan Singletonille?

**Tulos**

Kenet Singleton nai?

**Tulos**

Minkä ikäisenä Singleton lähtee ensimmäisen kerran merelle?

**Tulos**

Mitä toimintaa Singleton harjoittaa Länsi-Intiassa?

**Tulos**

Minne Singleton lähtee, kun hän on tuhlannut omaisuutensa Englannissa?

**Tulos**

Kenet William Walters pelasti?

**Tulos**

Minkä ikäinen Singleton on, kun hänet heitetään mereen?

**Tulos**

Mitä Singletonin mukaan on jätettävä huomiotta?

**Tulos**

Missä osassa Afrikkaa Singleton matkustaa?

**Tulos**

Minkä mantereen halki hahmot vaeltavat?

**Tulos**

Mikä on William Waltersin suhde kapteeni Bobiin?

**Tulos**

Mitä Singleton myy hollantilaisille?

**Tulos**

Mihin hahmot jäävät ensin jumiin?

**Tulos**

Kun Singleton ja hänen miehensä ovat menneet Filippiineille asti, mihin he palaavat?

**Tulos**

Mikä Singletonista tulee palattuaan Englantiin ja lähdettyään purjehtimaan Länsi-Intiaan?

**Tulos**

Miksi Singleton säästää haavoittuneen afrikkalaisen hengen?

**Tulos**

Kuka on kapteeni Bobin läheinen ystävä, joka palaa hänen kanssaan Englantiin?

**Tulos**

Minkä mantereen Singleton kulkee läpi jalan muiden merimiesten kanssa?

**Tulos**

Kenen kanssa William onnistuu kauppaneuvotteluissa?

**Tulos**

Mitä Singleton kiistää tehneensä miehineen?

**Tulos**

Mikä on ystävä William?

**Tulos**

Mihin eurooppalaiset uskovat pikemminkin kuin taikuuteen?

**Tulos**

Minkä vuoksi marssijoiden tapaama englantilainen kauppias suostuttelee heidät pysähtymään?

**Tulos**

Mihin Walters ja Bob naamioituvat palatessaan Englantiin?

**Tulos**

Kuka pelasti Singletonin turkkilaisilta?

**Tulos**

Mitä englantilainen kauppias sai Singletonin tekemään?

**Tulos**

Miten merimiehet pystyvät purjehtimaan Afrikan halki?

**Tulos**

Kenelle Singleton myytiin nuorena poikana?

**Esimerkki 3.40**

Romaani alkaa, kun Silas Laphamia haastatellaan sanomalehtiprofiilia varten, jonka aikana hän kertoo taloudellisesta menestyksestään mineraalimaaliyrityksessä. Laphamin perhe on hieman itsetietoinen äkillisestä nousustaan sosiaalisella tikapuutasolla ja kompastelee usein yrityksissään noudattaa etikettinormeja. He päättävät rakentaa uuden kodin muodikkaaseen Back Bayn kaupunginosaan, ja Lapham ei säästele kuluja varmistaakseen, että se on muodin huipulla.Tom Corey, arvostetusta yläluokkaisesta perheestä tuleva nuori mies, osoittaa kiinnostusta Laphamin tyttöjä kohtaan; herra ja rouva Lapham olettavat, että hän on ihastunut kauniiseen nuorempaan tyttäreen, Ireneen. Corey liittyy Laphamin maalausliikkeeseen yrittäessään löytää paikkansa maailmassa sen sijaan, että turvautuisi isänsä Bromfield Coreyn säästöihin. Kun Tom Corey alkaa käydä säännöllisesti Laphamien luona, kaikki olettavat, että hänen kiinnostuksensa Ireneen on kasvanut, ja Irene ihastuu häneen. Corey kuitenkin hämmästyttää molemmat perheet paljastamalla rakkautensa Penelopeen, vanhempaan, tavallisemman näköiseen mutta älykkäämpään tyttäreen, jolla on epätavallinen huumorintaju, hienostunut kirjallisuusintohimo ja järkevä mutta tutkiva mieli. Vaikka Penelopella on tunteita Tom Coreya kohtaan, aikakauden romanttiset konventiot pidättelevät häntä, sillä hän ei halua toteuttaa rakkauttaan peläten pettävänsä sisarensa.Silas Laphamin entinen liikekumppani Milton K. Rogers ilmestyy uudelleen hänen elämäänsä ja pyytää rahaa erinäisiä juonia varten. Rouva Lapham kehottaa miestään tukemaan miestä, jonka hän oli syrjäyttänyt maaliyrityksestä sopimattomaksi katsomallaan tavalla. Laphamin liiketoimet Rogersin kanssa johtavat kuitenkin huomattaviin taloudellisiin tappioihin. Hänen tärkein omaisuuseränsä, uusi Beacon Streetillä sijaitseva talo, palaa ennen sen valmistumista. Laphamit joutuvat nöyrästi muuttamaan esi-isiensä kotitaloon maaseudulle, jossa mineraalimaali kehitettiin ensimmäisen kerran.

**Tulos**

Kenestä kaikki olettavat Tomin olevan romanttisesti kiinnostunut?

**Tulos**

Mitä Tom Corey tekee, jotta hän ei olisi enää riippuvainen isiensä säästöistä?

**Tulos**

Kuka on Silas Laphamin entinen liikekumppani?

**Tulos**

Mitä tapahtuu Laphamin ja Rogersin välisten suhteiden seurauksena?

**Tulos**

Kuka liittyy Laphamin maalausliikkeeseen, jotta hän ei olisi riippuvainen isänsä tuesta?

**Tulos**

Kenen kaikki luulevat Tom Coreyn olevan ihastunut?

**Tulos**

Kuka on Milton Rogers?

**Tulos**

Kenelle Tom Corey tunnustaa rakkautensa?

**Tulos**

Kumman Laphamin tyttäristä sanotaan olevan kauniimpi?

**Tulos**

Kenen Laphamit uskovat Tom Coreyn olevan ihastunut?

**Tulos**

Ketä haastatellaan tarinan alussa?

**Tulos**

Ketä Tom Corey paljastaa rakastavansa?

**Tulos**

Mille alueelle Laphamit päättivät rakentaa talonsa?

**Tulos**

Millä ammatilla Lapham saa rikkautensa?

**Tulos**

Kuka ryhtyy mineraalimaaliyritykseen Laphamin kanssa?

**Tulos**

Miten Silas Lapham teki omaisuutensa?

**Tulos**

Miksi Penelope pelkää romanttista suhdetta Tomiin?

**Tulos**

Mitkä ovat Laphamin tyttärien nimet?

**Tulos**

Mitä Beacon Streetin uudelle kodille tapahtuu, kun Milton K. Rogers ilmestyy uudelleen pyytämään rahaa?

**Tulos**

Mihin Laphamit rakentavat uuden kotinsa?

**Tulos**

Kenestä Laphamin tytöistä Tom on todella kiinnostunut?

**Tulos**

Miksi rouva Lapham rohkaisee Silasia tukemaan taloudellisesti Rogersin pyrkimyksiä?

**Tulos**

Kenet Penelope pelkää pettävänsä, jos hän toteuttaa tunteitaan Tom Coreya kohtaan?

**Tulos**

Mistä Silas Lapham puhuu haastattelussaan?

**Tulos**

Minne Laphamien on muutettava, kun uusi koti palaa?

**Tulos**

Mihin Laphamin perhe rakentaa uuden kotinsa?

**Tulos**

Mikä aiheuttaa Silasille merkittäviä taloudellisia menetyksiä tarinan lopussa?

**Tulos**

Kumpaa Laphamin tyttäriä kuvataan älykkäämmäksi?

**Tulos**

Kuka on Milton K. Rogers?

**Tulos**

Millä kadulla Laphamin uusi talo sijaitsee?

**Esimerkki 3.41**

Kirja sijoittuu 1600-luvulle Badgworthy Waterin alueelle Exmoorissa Devonissa ja Somersetissä Englannissa. John (West Countryn murteella lausutaan "Jan") Ridd on kunniallista maanviljelijää, jonka murhasi kylmäverisesti eräs pahamaineinen Doone-klaani, joka oli aikoinaan aatelissuku ja nykyään lainsuojaton, eristyneessä Doone Valley -laaksossa. John taistelee kostonhimoa vastaan, mutta hänestä kasvaa myös kunniallinen maanviljelijä ja pitää hyvää huolta äidistään ja kahdesta siskostaan. Hän rakastuu toivottomasti sattumalta tapaamaansa Lorna-tyttöön, joka osoittautuu (ilmeisesti) Doonien lordin, sir Ensor Doonen, pojantyttäreksi ja jonka kohtalona on mennä naimisiin (vastoin tahtoaan) Doone-laakson kiihkeän, uhkaavan ja nyt mustasukkaisen perijän Carver Doonen kanssa. Carver ei anna minkään estää avioliittoaan Lornan kanssa, jonka hän aikoo pakottaa Lornalle, kun Sir Ensor kuolee ja hän saa perintönsä. sir Ensor kuolee, ja Carverista tulee Doonesin lordi. John Ridd auttaa Lornaa pakenemaan perheensä tilalle, Plover's Barrowsiin. Koska Lorna on vihatun Doone-klaanin jäsen, tunteet häntä kohtaan ovat Riddien taloudessa ristiriitaiset, mutta häntä kuitenkin puolustetaan raivostuneen Carverin kostohyökkäystä vastaan maatilalle. Eräs Riddien perheenjäsen huomaa Lornan kaulakorun, korun, jonka Sir Ensor kertoi kuuluneen hänen äidilleen. Neuvonantajan, Carverin isän ja Doonen perheen viisaimman, vierailun aikana kaulakoru varastetaan Plover's Barrowsista. Pian katoamisen jälkeen perheen ystävä saa selville Lornan alkuperän ja saa tietää, että kaulakoru kuului Lady Dugalille, jonka lainsuojattomat ryöstivät ja murhasivat. Vain hänen tyttärensä selvisi hyökkäyksestä hengissä. Selviää, että Lorna, joka on ilmeisesti kauan kadoksissa ollut tyttö, on itse asiassa yhden maan suurimman omaisuuden perijä eikä suinkaan Doone (vaikka Doonet ovatkin sukua toisilleen, sillä he polveutuvat Dugalin suvun sivuhaarasta). Lain mukaan hänen on vastoin tahtoaan palattava Lontooseen, jotta hänestä tulisi Chanceryn holhousmies. Vaikka John ja Lorna rakastavat toisiaan, heidän avioliittonsa ei tule kysymykseenkään. kuningas Kaarle II kuolee, ja Monmouthin herttua (edesmenneen kuninkaan avioton poika) haastaa Kaarlen veljen Jaakon valtaistuimelle. Doonet luopuvat suunnitelmastaan naittaa Lorna Carverin kanssa ja vaatia hänen omaisuutensa ja asettuvat Monmouthin puolelle toivoen saavansa takaisin esi-isiensä maat. Monmouth kuitenkin häviää Sedgemoorin taistelussa, ja hänen kumppaneitaan etsitään maanpetoksesta. John Ridd jää vangiksi vallankumouksen aikana. Vanha ystävä vie hänet Lontooseen puhdistaakseen nimensä syytteistä. Siellä hän tapaa jälleen Lornan (nykyisin Lorna Dugal), jonka rakkaus häntä kohtaan ei ole vähentynyt. Kun hän estää hyökkäyksen Lornan isosetää ja laillista holhoojaa jaarli Brandiria vastaan, kuningas antaa Johnille armahduksen, arvonimen ja vaakunan, ja hän palaa vapaana miehenä Exmooriin.Sillä välin ympäröivät yhteisöt ovat kyllästyneet Dooneihin ja heidän rötöstelyynsä. Koska John tuntee Doonet paremmin kuin kukaan muu, hän johtaa hyökkäystä heidän mailleen. Kaikki Doonen miehet tapetaan lukuun ottamatta neuvonantajaa (jolta John saa varastetun kaulakorun takaisin) ja hänen poikaansa Carveria, joka pakenee ja vannoo kostoa. Kun jaarli Brandir kuolee ja tuomari Jeffreysistä tulee lordikanslerina Lornan holhooja, hän saa vapauden palata Exmooriin ja mennä naimisiin Johnin kanssa. Heidän häidensä aikana Carver ryntää Oaren kirkkoon. Hän ampuu Lornan ja pakenee. John on järkyttynyt ja täynnä sokaisevaa raivoa, ja hän lähtee hänen peräänsä ja kohtaa Carverin. Syntyy kamppailu, jossa Carver jää vajoamaan suohon. Tappelun uuvuttamana ja verisenä John voi vain huohottaa katsoessaan Carverin liukuvan pois. Hän palaa ja huomaa, että Lorna ei ole kuollut, ja ahdistavan epävarmuuden jälkeen hän selviää ja elää onnellisena elämänsä loppuun asti.

**Tulos**

Kuka tajuaa, että Lorna ei ole kuollut?

**Tulos**

Mitä ammattia John Ridd harjoitti ensin?

**Tulos**

Kuka on Ridd?

**Tulos**

Mikä on Johnin perheen maatilan nimi?

**Tulos**

Mistä Mommouthin herttua haastaa Charlen veljen Jamesin?

**Tulos**

Kenet Lornan on määrä mennä naimisiin?

**Tulos**

Keneen John rakastuu?

**Tulos**

Mitä John Ridd auttaa Lornaa tekemään?

**Tulos**

Kuka ampuu Lornaa hänen ja John Riddin häiden aikana?

**Tulos**

Missä Doone-klaani asuu?

**Tulos**

Mitä John tekee taisteltuaan kostonhimonsa kanssa?

**Tulos**

Mikä on Carverin titteli Sir Ensorin kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Kenelle Lornan kaulakoru kuului?

**Tulos**

Mihin tämä tarina sijoittuu?

**Tulos**

Kenestä tulee Lornan huoltaja?

**Tulos**

Millä vuosisadalla tarina sijoittuu?

**Tulos**

Kuka ampuu Lornaa kirkossa?

**Tulos**

Missä maassa John asuu?

**Tulos**

Mitä Plover's Barrowsista varastetaan?

**Tulos**

Mitä John Ridd johtaa?

**Tulos**

Mitä Carverista tulee?

**Tulos**

Mikä klaani murhasi Johnin isän?

**Tulos**

Millä alueella Johannes asuu?

**Tulos**

Miksi Doonet luopuvat suunnitelmastaan naittaa Lorna Carverille?

**Tulos**

Mitä John Riddille tapahtuu?

**Tulos**

Minne John auttaa Lornaa pakenemaan?

**Tulos**

Kuka on kuningas Kaarle II:n avioton lapsi?

**Tulos**

Milloin Monmouthin herttua kukistetaan?

**Tulos**

Missä John Riddin isä tapettiin?

**Tulos**

Mikä oli John Riddin isän ammatti?

**Esimerkki 3.42**

Daniel Foray (G rard Depardieu) johtaa epätavallista murtovarasryhmää Pariisissa. Kun Daniel saa pomoltaan käskyn lähteä Chicagoon tekemään helppoa kotiryöstöä, se vaikuttaa yksinkertaiselta. Kun ryhmä kuitenkin saapuu Chicagoon, tehtävästä tulee nopeasti fiasko. ensiksi ryhmä joutuu yhteen paikallisen katujen roistojoukon kanssa. Sitten ryhmän "pidä matalaa profiilia" Sophie Nicolsin (Joanne Kelly) luona vietettyä aikaa häiritsee äänekäs naapuri. Kaiken kukkuraksi ryhmä varastaa murtoa valmistellessaan auton, joka kuuluu latinalaisamerikkalaiselle katujengille... Murtauduttuaan taloon, sidottuaan omistajan ja murrettuaan kassakaapin ryhmä huomaa, että he ovat murtautuneet väärään taloon! Talo kuuluu itse asiassa Frankie Zammetille (Harvey Keitel), Chicagon mafian alipomolle, joka vannoo kostoa.Ryhmä yrittää epätoivoisesti paeta kaupungista ja palata Pariisiin, samalla kun mafia, latinojengi, Chicagon poliisi ja FBI, joka oli tarkkaillut Zammetin taloa, jahtaavat heitä kiivaasti. Erinomainen, toimintakomedia, jossa on monia juonenkäänteitä ja sekoitus kevyitä ja synkempiä hetkiä.

**Tulos**

Miksi latinojengi oli Danielin ryhmän perässä?

**Tulos**

Minne murtovarkaat yrittävät mennä Chicagon jälkeen?

**Tulos**

Miksi jengi lähtee Sophie Nicolsin talosta?

**Tulos**

Kuka häiritsee ryhmää, kun he asuvat Sophie Nicolsin luona?

**Tulos**

Mistä Danielin murtoryhmä on kotoisin?

**Tulos**

Kuka on Chicagon mafian alapomo?

**Tulos**

Minne Danielin pomo lähettää Danielin?

**Tulos**

Kuka on Frank Zammetti?

**Tulos**

Kuka sitoi Chicagon mafiapomon?

**Tulos**

Kenen kanssa ryhmä asui pitääkseen matalaa profiilia?

**Tulos**

Mitä vikaa ryöstetyssä talossa oli?

**Tulos**

Missä kaupungissa murtovarkaiden ryhmä on?

**Tulos**

Kuka on murtovarkaiden johtaja?

**Tulos**

Minne Danielin pomo haluaa hänen menevän?

**Tulos**

Miksi Danielin pomo haluaa hänen lähtevän Chicagoon?

**Tulos**

Kuka häiritsee ryhmän oleskelua Sophien kanssa?

**Tulos**

Miksi Daniel tuli Chicagoon?

**Tulos**

Mitä murtovarkaat tekivät, minkä he tajusivat jälkikäteen virheekseen?

**Tulos**

Kuka vahti Frankien taloa?

**Tulos**

Mitä Frankie sanoi tekevänsä?

**Tulos**

Kuka omisti auton?

**Tulos**

Miksi FBI on ryhmän perässä?

**Tulos**

Mikä on Danielin ammatti?

**Tulos**

Mitä murtovarkaat varastavat Chicagossa ollessaan?

**Tulos**

Minkä johtaja Daniel on?

**Tulos**

Minne Daniel menee lähdettyään Pariisista?

**Tulos**

Kuka muu kuin Chicagon poliisi ja mafia on ryhmän perässä?

**Tulos**

Kenen taloon Daniel murtautui?

**Tulos**

Mitä ryhmä tajuaa ryöstön jälkeen?

**Esimerkki 3.43**

Vuonna 1996 psykopaattinen ammattirikollinen Simon Phoenix kidnappaa useita panttivankeja ja pakenee jenginsä kanssa hylättyyn rakennukseen. LAPD:n ylikonstaapeli John Spartan käyttää rakennuksen lämpökuvaa eikä löydä jälkiä panttivangeista, ja johtaa luvatonta hyökkäystä Phoenixin vangitsemiseksi. Kun Phoenix saadaan kiinni, hän laukaisee räjähteitä, jotka tuhoavat rakennuksen, ja kun poliisi tutkii rauniot, he löytävät panttivankien ruumiit. Spartania syytetään taposta, ja hänet vangitaan Phoenixin kanssa kaupungin uuteen "Kalifornian kryovankilaan", jossa heidät pakastetaan kryogeenisesti. Heidän "pakastettuna olonsa aikana" heitä on tarkoitus kuntouttaa alitajuisen ehdollistamisen avulla.Heidän vankeutensa aikana "Suuri maanjäristys" saa Los Angelesin, San Diegon ja Santa Barbaran kaupungit yhdistymään yhdeksi metropoliksi nimellä San Angeles. Kaupungista tulee utopia, jota johtaa evankelista tohtori Raymond Cocteaun pseudopasifistinen ohjaus ja valvonta, ja jossa ihmisten käyttäytymistä valvotaan tiukasti. Vuonna 2032 Phoenix herätetään ehdonalaiskuulustelua varten, mutta hän huomaa tietävänsä jotenkin turvajärjestelmien pääsykoodit, ja hän pääsee pakenemaan vankilasta ja alkaa tehdä tuhoa kaupungissa. Poliisi, joka ei ole ollut tekemisissä väkivaltarikosten kanssa moneen vuoteen, ei pysty käsittelemään Phoenixia ja päättää herättää Spartanin ja pyytää tämän apua. Spartan määrätään komisario Lenina Huxleyn luokse auttamaan sopeutumisessa tulevaisuuteen, jonka hän kokee masentavana. Muut poliisit pitävät hänen käytöstään raakalaismaisena ja sivistymättömänä, mutta Huxley, jota 1900-luvun lopun elämäntavat kiehtovat, auttaa Spartania pääsemään tästä yli, ja he tulevat läheisiksi huolimatta julkisten kiintymyssuhteiden osoittamista koskevista rajoituksista. he yrittävät estää Phoenixia varastamasta 1900-luvun aseita museon näyttelystä, mutta Phoenix onnistuu pakenemaan. Phoenix kohtaa pakomatkallaan tohtori Cocteaun, ja vaikka hän yrittää ampua hänet, hän huomaa olevansa siihen kykenemätön. Tohtori Cocteau pyytää Phoenixia rauhallisesti salamurhaamaan Edgar Friendlyn, Cocteaun hallintoa vastaan taistelevan Scraps-nimisen vastarintaryhmän johtajan, ja antaa Phoenixin pyynnöstä tuoda muita rikollisia kryounesta auttamaan. Samaan aikaan Spartan ja Huxley tarkastelevat kryovankilan tietoja ja huomaavat, että tavanomaisen kuntoutusohjelman sijasta Cocteau oli antanut Phoenixille suoraan pakenemiseen tarvittavat tiedot. He löytävät myös tietoja, jotka ohjaavat Phoenixin kohti Friendlyä, ja lähtevät varoittamaan häntä. Scrapsin maanalaisessa tukikohdassa Friendly suhtautuu aluksi epäluuloisesti, mutta Spartan saa hänet vakuuttuneeksi uhasta, ja hän suhtautuu myötämielisesti heidän asioihinsa ottaen huomioon sen, mitä hän on nähnyt maan päällä. Kun Phoenix ja hänen jenginsä hyökkäävät, Spartan ja Scraps torjuvat hyökkäyksen, mikä johtaa takaa-ajoon Spartanin ja Phoenixin välillä. Takaa-ajon aikana Phoenix pilkkaa Spartania paljastamalla, että hän oli tappanut panttivangit ennen kuin Spartan saapui vuonna 1996. Phoenix pakenee samalla kun Spartan tajuaa, että häntä oli syytetty rikoksesta väärin perustein. Sillä välin Friendly ja Scraps työskentelevät poliisin kanssa yrittäen pysäyttää Phoenixin ja hänen kryokonssiensa jengin. Phoenix palaa jenginsä kanssa tohtori Cocteaun luo, ja koska kuntoutusohjelmointi estää häntä tappamasta Cocteauta, hän käskee yhden jengiläisistään tekemään niin. Spartan ja Huxley saapuvat pian tämän jälkeen ja huomaavat, että Phoenix on jo lähtenyt vapauttamaan lisää vankeja. Spartan menee vankilaan yksin taistelemaan Phoenixia vastaan, käy väkivaltaisen taistelun, joka tuhoaa laitoksen, ja lopulta käyttää kryogeenistä kemikaalia jäädyttääkseen Phoenixin ennen tämän murskaamista. Spartan pakenee vankilasta ennen kuin se räjähtää ja kokoontuu uudelleen poliisin ja Scrapsin kanssa. Poliisi pelkää, että Cocteaun menetys saa heidän yhteiskuntansa syöksykierteeseen, mutta Spartan ehdottaa, että he ja Scraps työskentelevät yhdessä luodakseen uudelleen yhteiskunnan, joka palauttaa osan menetetyistä henkilökohtaisista vapauksista. Sitten hän suutelee Huxleyta ja he lähtevät yhdessä.

**Tulos**

Mikä aiheutti "San Angelesin" luomisen?

**Tulos**

Miksi John herätettiin kryotilastaan?

**Tulos**

Miten Spartan poistuu jäätyneestä tilastaan?

**Tulos**

Miksi poliisi päätti herättää Spartanin?

**Tulos**

Kuka suutelee Huxleya?

**Tulos**

Mitä Spartan käyttää Phoenixin murskaamiseen?

**Tulos**

Mitä Kaliforniassa tapahtuu Spartanin ja Phoenixin vangitsemisen aikana?

**Tulos**

Miksi Lenina Huxley määrättiin työskentelemään Johnin kanssa?

**Tulos**

Mikä on Phoenixin ensimmäinen rikos tarinassa?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Spartan määrää Phoenixin onnistuneen vangitsemisen?

**Tulos**

Mitä tapahtuu panttivangeille?

**Tulos**

Kuka auttoi Phoenixia vapauttamaan rikostoverinsa kryovankilasta?

**Tulos**

Kuka on John Spartan?

**Tulos**

Missä Scrapsin päämaja sijaitsee?

**Tulos**

Mitä Spartanille ja Phoenixille tapahtuu panttivankien kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Mitä esineitä Phoenix varastaa museosta?

**Tulos**

Mitä Phoenixille tapahtuu tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on tarinan antagonistin nimi?

**Tulos**

Miksei Phoenix voi tappaa tohtori Cocteauta?

**Tulos**

Miksei Spartan voi tappaa tohtori Cocteauta itseään?

**Tulos**

Mikä tapahtuma johti San Diegon, Santa Barbaran ja Los Angelesin yhdistymiseen?

**Tulos**

Miten Spartan kuntoutetaan?

**Tulos**

Mistä John Spartania syytettiin, mikä johti hänen vangitsemiseensa?

**Tulos**

Mitä Phoenix yritti varastaa museosta?

**Tulos**

Kuka tappaa tohtori Cocteaun?

**Tulos**

Kuka on Simon Phoenix?

**Tulos**

Mitä Huxley ja Spartan yrittävät estää Phoenixia varastamasta museossa?

**Tulos**

Kuka todella tappoi panttivangit vuonna 1996?

**Tulos**

Mitä Phoenix sanoi Spartanille pilkatakseen häntä?

**Tulos**

Mitä ryhmää Edgar Friendly johtaa?

**Esimerkki 3.44**

Romaanissa keskustellaan rakkauden ja seksin filosofiasta kahden miehen, nuoren tiedemiehen Herbert Wacen ja iäkkään runoilijan Dane Kemptonin, välisten kirjeiden muodossa. Kirjailija Jack London kirjoitti "Wacen" kirjeet ja Anna Strunsky "Kemptonin" kirjeet. Kirjoittajat kuuluivat 1800-luvun lopulla San Franciscossa toimivaan radikaaliin kirjallisuusryhmään, joka tunnettiin nimellä "The Crowd." Kempton puhuu tunteiden ja emootioiden puolesta, kun taas Wace etenee "tieteellisesti" ja analysoi rakkautta darwinistisin termein: Tarkoitukseni on järjestää asiani rationaalisesti.... Siksi nain Hester Stebbinsin. Minua ei aja siihen pedon arkaainen seksihulluus eikä myöhempien aikojen ihmisen vanhentunut romantiikkahulluus. Solmin siteen, joka järjen mukaan perustuu terveyteen, tervejärkisyyteen ja yhteensopivuuteen. Älyni nauttii tuosta siteestä. Aluksi kirjailijoiden nimettömyys kiinnosti yleisöä, ja kirja menestyi kohtalaisesti. Lontoolainen elämäkertakirjailija Russ Kingman kehui kirjaa; hän siteerasi Buffalo Commercial -lehteä, jossa ihailtiin "sen proosan silkkaa viehätystä" ja sanottiin, että kirja "pitää tiukasti paikkansa kauden parhaiden julkaisujen eturivissä." New York Times ei ollut yhtä hyväntahtoinen. Se aloitti arvostelunsa lyhyesti: "Taas seksiongelma". Se valitti, että "mikään, mitä tiedemies sanoo, ei ole uutta, mikään, mitä runoilija sanoo, ei ole uutta. Asiaa on pohdittu miljoonia kertoja... Nimeltä mainitsematon kirjoittaja ei myöskään istuta Waceen tai Kemptoniin mitään, mikä antaisi ihmiselle persoonallisuutta tai vetovoimaa..... Tarinana [se] jää latteaksi; keskusteluna aiheesta, joka on yhtä vanha kuin kiinnostava, yhtä ylikorostunut." Joseph Noel kertoo, että George Sterling kuvaili Londonin osuutta kirjassa "henkiseksi painovirheeksi, puolen niteen mittaiseksi kirjoitusvirheeksi" ja sanoo: "Hänen sanastonsa Herbert Wacen kirjeissä kuulostaa siltä kuin joku tunnollinen toisen vuoden opiskelija olisi ottanut sen sinä päivänä tietosanakirjasta." Elämäkertoja on kiehtonut Kempton-Wacen kirjeet sen valon vuoksi, jota se näyttää valaisevan Jack Londonin elämään ja ajatuksiin. Strunsky mainittiin Jack Londonin ja hänen ensimmäisen vaimonsa Bessien avioeron toisena osapuolena, mutta elämäkertakirjoittajat ovat yleensä yhtä mieltä siitä, että hänen suhteensa nuorempaan Strunskyyn oli platoninen. He olivat aktiivisia sosialismin ja San Franciscossa toimivan kirjallisuusryhmän "The Crowd" parissa. romaanissa London ilmaisee teoriansa "Äiti-nainen" ja "Matti-nainen" -rooleista, jotka näyttävät vastaavan hänen ensimmäisen vaimonsa ja toisen vaimonsa rooleja. Londonin kuoltua vuonna 1916 Strunsky julkaisi The Masses -lehdessä vuonna 1917 muistelmat heidän suhteestaan.

**Tulos**

Mitä Wace uskoo, että rakkaus pyörii?

**Tulos**

Minkä romaanin kahdesta noituudesta George Stirling antoi kielteisen arvion?

**Tulos**

Miten kuvailisit Dane Kemptonin luonnetta?

**Tulos**

Mitä tapahtuu Jack Londonin ja Bessien avioliitolle?

**Tulos**

Mistä aiheesta miehet keskustelivat kirjeissään?

**Tulos**

Missä muodossa romaani on kirjoitettu?

**Tulos**

Millä tavoin Wacen näkemys rakkaudesta oli erilainen kuin Kemptonin?

**Tulos**

Mikä kirjeistä puhuu tunteen ja emootion puolesta?

**Tulos**

Mitä hahmoa Anna Strunsky näyttelee?

**Tulos**

Mitä hahmoa Jack London näyttelee?

**Tulos**

Mitä Wace uskoo, että parisuhteessa EI tarvita?

**Tulos**

Minkälainen suhde elämäkerturi uskoo Lontoon ja Strunskyn välillä olleen?

**Tulos**

Mihin kirjallisiin ryhmiin sekä London että Strunsky kuuluivat?

**Tulos**

Minä vuonna Lontoo kuoli?

**Tulos**

Minkälainen suhde Bessie uskoi Londonilla olleen Strunskyn kanssa?

**Tulos**

Mikä on Strunskyn muistelmien nimi?

**Tulos**

Miksi New York Times antoi romaanille huonon arvostelun?

**Tulos**

Miksi kirjeet herättävät aluksi yleisön kiinnostuksen?

**Tulos**

Millaisia naisia Jack London kuvaa?

**Tulos**

Milloin Strunsky julkaisi muistelmansa?

**Tulos**

Kuinka monta vaimoa Lontoossa on?

**Tulos**

Miten romaani on jäsennelty?

**Tulos**

Mikä on San Franciscon radikaalin kirjallisuusryhmän nimi?

**Tulos**

Miten kriitikot vastasivat kirjeisiin?

**Tulos**

Kuka nimeltä mainittu kriitikko antoi romaanista myönteisen arvion?

**Tulos**

Kuka kirjoittaa Dane Kemptonin kirjeet?

**Tulos**

Mitkä ovat näiden kahden kirjeen näkökulmat?

**Tulos**

Miksi Kempton-Wacen kirjeet kiinnostavat elämäkertakirjoittajia?

**Tulos**

Kuka kirjoittaa Herbert Wacen kirjeet?

**Tulos**

Miten kuvailisit Herbert Wacen luonnetta?

**Esimerkki 3.45**

Elokuva alkaa sanomalehtien ja uutislähetysten kuvauksella orpokodista, joka oli palanut ja jossa oli useita kuolonuhreja. Sen jälkeen se kääntyy seitsemään ystävään, jotka lähtevät automatkalle Las Vegasiin, ja Phil (JoJo Wright) nauhoittaa matkan tyttöystävälleen Julialle. Matkalla määränpäähän ryhmä joutuu tiesulkuun, minkä vuoksi he joutuvat kiertämään tien, mikä johtaa useisiin puhjenneisiin renkaisiin. Ryhmä päättää, että naiset jäävät vahtimaan autoa, kun miehet lähtevät etsimään apua. Miehet törmäävät lopulta renkaita myyvään levähdyspaikkamotelliin, jossa he esittäytyvät bensanhuoltaja Bradille sekä liikkeen omistajille Stevelle (Braxton Davis) ja Norahille (Dallas Lovato). Steve tarjoutuu paitsi korjaamaan rekan ja hakemaan tytöt, myös tarjoamaan ilmaisia alkoholijuomia, minkä lisäksi hän antaa ryhmän yöpyä naapurimotellissa. Yksi ryhmän jäsenistä, Todd (Dustin Harnish), suhtautuu aluksi epäröiden ehdotukseen, mutta suostuu lopulta. Villisti juotuaan ja juhlittuaan ryhmä nukahtaa motelliin. ryhmä herää lopulta seuraavana aamuna/iltapäivänä. Aluksi kaikki näyttää normaalilta, mutta pian käy selväksi, että Steveä ja hänen kumppaneitaan ei löydy mistään. Kukaan ystävistä ei muista juuri mitään edellisen yön tapahtumista. Neljä ystävistä (Jordan, Brandy, Ryan ja Andy) heräävät huomatakseen, että heidät on sidottu tai muuten fyysisesti toimintakyvyttömiksi. Jordan on sidottuna tuoliin kylpyhuoneessa kylpyammeen vieressä, ämpäri käsivarressa ja sähköjohto käteen sidottuna. Brandy on sidottuna kylpyammeeseen. Ryan on sidottu tuoliin huoneessaan, ja Anna on sidottu sängylle käsistään ja jaloistaan. Aluksi ystävät uskovat tämän olevan jonkinlainen huono vitsi, mutta kun Todd ja Claire todistavat, kuinka Brad tahallaan mestaa Philin, käy selväksi, että Steve, Brad, Norah ja Chloe ovat itse asiassa julmia, sadistisia sosiopaatteja (jotka kutsuvat itseään "auttajiksi"), joiden tarkoituksena on kiduttaa ja murhata ryhmä. Claire (Kristen Quintrall) ja Todd lukitaan motellihuoneeseensa ja heidät pakotetaan katsomaan, kun heidän ystävänsä murhataan yksi kerrallaan. Avustajat menevät Annan ja Ryanin huoneeseen ja paljastavat, että Annan ruumiin kumpikin pää on kahlittu autoon, ja he ajavat autoilla ja repivät Annan ruumiin kahtia. He tekevät niin, kun Ryan on sidottuna eikä pysty estämään heitä. Sitten he menevät Jordanin ja Brandyn huoneeseen ja selittävät, että Jordanin käsivarteen kiinnitetty johto lasketaan kylpyammeen veteen laittamalla kiviä hänen käsivarrestaan roikkuvaan ämpäriin, jolloin Brandy saa sähköiskun. Brandyn oletetaan kuolleen (oikeastaan vain tajuttomaksi), koska hän sai sähköiskun neljä kertaa, kun taas Jordanin käsivarsi, jossa oli johto, laitettiin väkisin veteen. Miehet poistavat Brandyn ammeesta ja jättävät Jordanin Norahin kanssa. Norah pilkkaa Jordania, joka sitten työntää Norahin ammeeseen ja iskee sähköiskun langalla tappaen hänet. Sitten hän tarkistaa, onko Brandy vielä elossa, ja herätettyään hänet henkiin he molemmat pakenevat. Myös Todd ja Claire onnistuvat pakenemaan huoneestaan. Todd ja Claire jäävät kuitenkin kiinni, kun he yrittävät paeta, ja heidät tuodaan takaisin rakennukseen. Avustajat tuovat esiin Ryanin (joka on yhä sidottuna tuoliin) ja ampuvat hänet kuoliaaksi muiden nähden, minkä jälkeen he kahlitsevat Clairen autoihin, kuten he tekivät Annalle, ja uhkaavat repiä hänen ruumiinsa kahtia, ellei hän myönnä, että hänen isänsä oli orpokodin pahoinpitelevä omistaja. Claire myöntää, että hänen isänsä oli todellakin orpokodin omistaja. Lopulta paljastuu, että kolme murhaajaa asui Clairen isän johtamassa orpokodissa, jossa heitä pahoinpideltiin ja pahoinpideltiin, ja murhaajat lavastivat ryhmän tarkoituksella motellille. He löysivät motellin/huoltoaseman, tappoivat työntekijät ja ottivat sen haltuunsa. Sitten he asettivat tielle kiertotiemerkkejä ja teräviä esineitä puhkaisemaan autojen renkaat. Paljastuu myös, että ennen kuin he lähtivät orpokodista, he polttivat sen, kuten elokuvan alkukohtauksessa kuvattiin uutisissa. Näin ollen murhaajien tärkein motiivi barbaarisuuteensa on kosto Clairen isälle. He tiesivät, että ryhmä oli lähdössä road tripille, koska Philin tyttöystävä Julia oli yksi heistä. Jordan, Brandy, Todd ja Claire onnistuvat pakenemaan. Elokuva päättyy kohtaukseen "kuusi kuukautta myöhemmin", jossa "auttajat" työskentelevät toisella huoltoasemalla ja kysyvät asiakkailta, tarvitsevatko he apua.

**Tulos**

Miten Norah kuolee?

**Tulos**

Ketkä ovat ne neljä ystävää, jotka heräävät sidottuina?

**Tulos**

Miksi Brad, Steve, Norah ja Chloe kutsuvat itseään?

**Tulos**

Miksi Steve, Brad, Norah ja Chloe kutsuvat itseään?

**Tulos**

Kuka on sidottuna kylpyammeeseen?

**Tulos**

Minne ystävät lähtevät road tripille?

**Tulos**

Kuka on salaa yksi auttajista?

**Tulos**

Mitä he aikovat tehdä ryhmälle?

**Tulos**

Kuka tarjoaa heille ilmaiset juomat ja hotelliyöpymisen?

**Tulos**

Miksi murhaajat asensivat tiesulun tarkoituksellisesti ystäväryhmän ansaan?

**Tulos**

Miten Ryan kuolee?

**Tulos**

Ketä ei löydy, kun ryhmä herää?

**Tulos**

Mihin Annan ruumis on kahlittu?

**Tulos**

Kuka mestasi Philin?

**Tulos**

Kuka mestaa Philin?

**Tulos**

Kuka näkyy työskentelevän huoltoasemalla?

**Tulos**

Kuka omistaa liikkeen?

**Tulos**

Kuka suostuu vastentahtoisesti juopuneen propostitioon?

**Tulos**

Missä murhaaja asui?

**Tulos**

Minne ystävät lähtevät road tripille?

**Tulos**

Mikä poltettiin alussa?

**Tulos**

Kenen on katsottava, kun kaikki hänen ystävänsä murhataan yksi kerrallaan?

**Tulos**

Mitä autolle tapahtuu?

**Tulos**

Mihin Jordan on sidottu?

**Tulos**

Mitä Annan isä omisti?

**Tulos**

Kuka auttoi heitä, kun heillä oli useita puhjenevia renkaita?

**Tulos**

Kuka onnistui pakenemaan?

**Tulos**

Keitä sosiopaatit kutsuvat itseään?

**Tulos**

Minne ystävät ovat matkalla?

**Tulos**

Kuka poltti orpokodin?

**Esimerkki 3.46**

Alfred Russel Wallace kirjoitti vuonna 1883 kunnianosoituksen Darwinille (otsikolla "The Debt of Science to Darwin"), joka oli kuollut edellisenä vuonna. Yksi tällainen kunnianosoitus ilmestyi kuvitetussa kuukausilehdessä The Century. Osana tätä artikkelia hän sisällytti tähän kirjaan liittyvän yhteenvedon Darwinin työstä (s. 428): "Lehmusliljalla (Primula veris) on kahdenlaisia kukkia lähes samassa suhteessa: toisessa kukassa heteet ovat pitkät ja tyvet lyhyet, toisessa päinvastoin, niin että toisessa heteet ovat näkyvissä kukan putken suulla, toisessa heteet ovat samassa paikassa, kun taas toisessa heteet ovat puolivälissä putkea. Kasvitieteilijät olivat tunteneet tämän jo 70 vuotta, mutta sitä oli pidetty pelkkänä variaationa, eikä sillä sen vuoksi ollut merkitystä. Vuonna 1860 Darwin ryhtyi selvittämään, mitä se tarkoitti, sillä hänen näkemyksensä mukaan tällaisella selvällä vaihtelulla täytyi olla jokin tarkoitus. Huomattavan määrän havainnointia ja kokeita tehtyään hän havaitsi, että mehiläiset ja koiperhoset vierailivat kukissa ja että niiden nokkoset peittyivät siitepölyyn imiessään nektaria, ja lisäksi pitkävartisen kasvin siitepöly laskeutui varmimmin pitkävartisten kasvien stigmalle ja päinvastoin. Nyt seurasi pitkä sarja kokeita, joissa lehmänlehdet hedelmöitettiin joko saman lajin tai toisen kukkatyypin siitepölyllä, ja muuttumaton tulos oli, että kahden eri kukkatyypin risteytykset tuottivat enemmän hyviä kapseleita ja enemmän siemeniä kussakin kapselissa; ja koska nämä risteytykset tapahtuivat useimmiten hyönteisten toimesta, oli selvää, että tämä erikoinen järjestely lisäsi suoraan tämän tavallisen kasvin hedelmällisyyttä. Saman asian havaittiin tapahtuvan alkujuurella sekä pellavalla (Linum perenne), keuhkosienillä (Pulmonaria) ja monilla muilla kasveilla, kuten amerikkalaisella puolukkamarjalla (Mitchella repens). Näitä kutsutaan dimorfisiksi heterostyylisiksi kasveiksi.Vielä erikoisempi tapaus on lokkilude (Lythrum salicaria), jolla on sekä heteet että heteet, joiden pituus on kolme erilaista, ja jokaisessa kukassa on kaksi hete- ja yksi hetejoukko, jotka ovat kaikki eripituisia ja jotka on järjestetty kolmella eri tavalla: lyhyt hete, jossa on kuusi keskipitkää ja kuusi pitkää hetejuurta;keskipitkät heteet, joissa on kuusi lyhyttä ja kuusi pitkää hetejuurta;pitkät heteet, joissa on kuusi keskipitkää ja kuusi lyhyttä hetejuurta.Nämä kukat voidaan hedelmöittää kahdeksallatoista eri tavalla, mikä on vaatinut valtavan määrän kokeita, ja tuloksena on, kuten käenkaalin tapauksessa, että kukat, jotka on hedelmöitetty siitepölyllä, joka on peräisin saman pituisista heteistä kuin tyylit, antoivat keskimäärin suuremman määrän kapseleita ja hyvin paljon suuremman määrän siemeniä kuin missään muussa tapauksessa. Kunkin muodon heteiden pituuden ja toisen muodon heteiden pituuden tarkka vastaavuus takaa sen, että hyönteisen mihin tahansa ruumiinosaan kiinnittynyt siitepöly tarttuu toisen kasvin samanpituiseen heteeseen, ja näin on kolminkertainen mahdollisuus maksimaaliseen hedelmällisyyteen....Tässä on siis selkein todiste siitä, että näillä monimutkaisilla järjestelyillä on tärkeä tarkoitus varmistaa sekä runsaampi että elinvoimaisempi jälkeläisten määrä. Havainnot ja kokeet jatkuvat vielä nykyäänkin tämän ilmiön ymmärtämiseksi, jonka Darwin käynnisti tässä omaperäisessä ja uraauurtavassa teoksessaan.

**Tulos**

Miten siitepöly siirtyy kasvista toiseen?

**Tulos**

Mikä on Primula veris -kasvin toinen nimi?

**Tulos**

Mikä osa mehiläisistä ja koiperhosista peittyi siitepölyyn?

**Tulos**

Minkälaisiin kasveihin luetaan alku-, pellava- ja keuhkoahvenet?

**Tulos**

Miten siitepöly siirtyi kasvista toiseen?

**Tulos**

Kuinka monella tavalla Lythrum salicaria voidaan hedelmöittää?

**Tulos**

Mistä Darwinin työ sai alkunsa tiedeyhteisössä?

**Tulos**

Kuinka monta erilaista kukkaa lehmänliljalla on?

**Tulos**

Kuinka monella tavalla luhta voi hedelmöittyä?

**Tulos**

Mitä muita kasveja Darwin tutki?

**Tulos**

Minä vuonna Darwin tutki lehmänsilmua?

**Tulos**

Mikä on latinankielinen nimitys amerikkalaiselle puolukanmarjalle?

**Tulos**

Miten kokeilu tuotti enemmän siemeniä kussakin lehmänlehdessä?

**Tulos**

Minkä hyönteisten Darwin havaitsi pölyttävän Cowslipin?

**Tulos**

Kuinka monta vuotta ennen kuin Darwin aloitti kokeensa, oli tiedossa, että lehmänsilmu oli vaihteleva?

**Tulos**

Lythrum salicaria -lajin heteissä ja heteissä on kuinka monta eripituista hete- ja tyveä?

**Tulos**

Mitkä hyönteiset kävivät lehmänlehdillä selviytyäkseen?

**Tulos**

Kun ominaisuuksiltaan erilaiset kasvit risteytetään, millainen on uusien kasvien lopputulos?

**Tulos**

Mikä osa mehiläisistä peittyy siitepölyyn?

**Tulos**

Mikä rooli siitepölyllä oli luonnossa, kun hyönteiset siirtyivät kasvista toiseen?

**Tulos**

Miksi monitahoiset järjestelyt ovat tärkeitä luhtavästäräkille?

**Tulos**

Mikä oli eri kasvien ristipölytyksen tulos?

**Tulos**

Minkälaisessa lokkilajissa on kuusi lyhyttä ja kuusi pitkää heteenpesää?

**Tulos**

Mitä hyönteiset etsivät laskeutuessaan kasveille?

**Tulos**

Mitä Darwin yritti selvittää heteiden pituuden suhteen kahdessa lajikkeessa?

**Tulos**

Mitä kutsutaan kasveja tutkiviksi tutkijoiksi?

**Tulos**

Miksi Darwin halusi tietää, mitä lehmänsilmun muunnokset merkitsivät?

**Tulos**

Kuinka monta erilaista kukkaa lehmänliljalla on?

**Tulos**

Minkä pituisia heteiden heteet ovat pitkällä tyylillä loosestrife?

**Esimerkki 3.47**

Kirillin (The Bourne Supremacy -elokuvassa) takaa-ajon jälkeen Jason Bourne (Matt Damon) pakenee haavoittuneena Moskovan poliisia ja joutuu kohtaamaan lisää takaumia siitä, kun hän liittyi Operaatio Treadstoneen. Kuusi viikkoa myöhemmin CIA:n apulaisjohtaja Pamela Landy (Joan Allen) paljastaa johtaja Ezra Kramerille (Scott Glenn) Treadstonen edesmenneen entisen johtajan Ward Abbottin nauhoitetun tunnustuksen. Samaan aikaan Torinossa The Guardianin toimittaja Simon Ross (Paddy Considine) tapaa ilmiantajan saadakseen tietää Bournesta ja operaatio Blackbriarista, Treadstonen seuraajaohjelmasta. CIA jäljittää Rossin hänen palatessaan Lontooseen, kun ECHELON-järjestelmä havaitsee hänen mainitsemansa "Blackbriarin" kännykkäpuhelun aikana toimittajalleen. Bourne ilmestyy uudelleen Pariisiin kertoakseen Martin Kreutzille (Daniel Br hl), tyttöystävänsä Marie Helena Kreutzin (Franka Potente) velipuolelle, tämän murhasta Intiassa, joka tapahtui myös edellisessä elokuvassa.Bourne lukee Rossin artikkelit ja järjestää tapaamisen hänen kanssaan Lontoon Waterloon asemalla. Bourne tajuaa, että CIA seuraa Rossia, ja auttaa häntä jonkin aikaa pakenemaan kiinnijäämistä, mutta kun Ross joutuu paniikkiin ja jättää Bournen ohjeet huomiotta, Blackbriarin salamurhaaja Paz ( dgar Ram rez) ampuu hänet kuoliaaksi keskellä ruuhkaista asemaa apulaisjohtaja Noah Vosenin (David Strathairn) käskystä. Vosenin ryhmä, jota Landy vastentahtoisesti avustaa, analysoi Rossin muistiinpanot ja tunnistaa hänen lähteekseen Neal Danielsin (Colin Stinton), CIA:n asemapäällikön, joka on tekemisissä Treadstonen ja Blackbriarin kanssa. Bourne suuntaa Danielsin toimistoon Madridissa, mutta löytää sen tyhjänä. Hän tekee Vosenin ja Landyn lähettämät asemiehet toimintakyvyttömiksi. Nicky Parsons (Julia Stiles), entinen Treadstone-agentti, jolla on yhteinen historia Bournen kanssa, kertoo hänelle, että Daniels on paennut Tangeriin, ja auttaa häntä pakenemaan paikalle saapuvaa CIA:n yksikköä.Parsons saa tietää, että Blackbriarin "agentti" Desh Bouksani (Joey Ansah) on saanut tehtäväkseen tappaa Danielsin. Vosen näkee, että Parsons pääsi käsiksi tietoihin Danielsista, ja lähettää Bouksanin myös Parsonsin ja Bournen perään, mistä Landy on kiivaasti eri mieltä. Bourne seuraa Bouksania Danielsin luo, mutta ei onnistu estämään Danielsin kuolemaa istutetun pommin takia. Bourne onnistuu kuitenkin tappamaan Bouksanin ennen kuin tämä ehtii tappaa Parsonsin. Lähetettyään Parsonsin piiloon Bourne tutkii Danielsin salkun sisällön ja löytää New Yorkissa sijaitsevan CIA:n syväpeitetoimiston osoitteen, jossa Vosen johtaa Blackbriaria. Bourne matkustaa New Yorkiin.Landy saa Bournelta puhelun, jonka Vosen kuuntelee. Kun Landy kertoo hänelle, että hänen oikea nimensä on David Webb, ja antaa syntymäpäiväkseen "4-15-71", Bourne kehottaa Landya "lepäämään", koska hän "näyttää väsyneeltä", mikä vihjaa hänen läsnäolostaan New Yorkissa (kohtaus toistuu edellisen elokuvan lopusta). Vosen sieppaa Bournen Landylle lähettämän tekstiviestin, jossa kerrotaan ilmeisesti tapaamispaikasta, ja lähtee toimistostaan koko ryhmän kanssa. Bourne kuitenkin odottaa, että he kaikki lähtevät, menee Vosenin toimistoon ja ottaa salaisia Blackbriar-asiakirjoja. Vosen tajuaa tulleensa huijatuksi ja lähettää Pazin Bournen perään, mutta takaa-ajo päättyy siihen, että Bourne pakottaa Pazin auton törmäämään betoniseinään. Bourne uhkailee haavoittunutta Pazia aseella, mutta säästää tämän hengen. 415 East 71st Streetillä sijaitsevaan sairaalaan saapuva Bourne on saanut selville Landyn koodatun viestin. Ulkona Bourne tapaa Landyn ja antaa hänelle Blackbriarin tiedostot ennen kuin menee sisälle. Myös Vosen saa selville Landyn koodin ja varoittaa Treadstonen käyttäytymisen muokkausohjelmaa vetävää tohtori Albert Hirschiä (Albert Finney), että Bourne on tulossa. Hän seuraa Landya rakennuksen sisälle, mutta on liian myöhässä estääkseen Landya faksaamasta Blackbriar-asiakirjoja ulos. Samaan aikaan Bourne kohtaa Hirschin yläkerrassa ja muistaa, että hän oli ilmoittautunut vapaaehtoiseksi Treadstoneen. Kun Bourne pakenee katolle, Paz kohtaa hänet ja kysyy: "Mikset ampunut?". Bourne toistaa Professorin viimeiset sanat elokuvassa The Bourne Identity: "Katso meitä. Katso, mitä he pakottavat sinut antamaan." Paz laskee aseensa alas, mutta Vosen ilmestyy paikalle ja ampuu Bournea tämän hyppiessä East Riveriin." Jonkin aikaa myöhemmin Parsons katsoo uutislähetystä, jossa kerrotaan operaatio Blackbriarin paljastumisesta, Hirschin ja Vosenin pidätyksistä, Krameria vastaan käynnistetystä rikostutkinnasta ja David Webbin eli Jason Bournen olinpaikasta. Kuultuaan, että hänen ruumistaan ei ole löydetty kolmen päivän etsintöjen jälkeen, Parsons hymyilee. Bourne näytetään uivan pois East Riverissä.

**Tulos**

Kenet Deshin tehtävänä on tappaa?

**Tulos**

Kenen toimiston Bourne löytää tyhjänä Madridista?

**Tulos**

Missä sanomalehdessä Simon Ross työskentelee?

**Tulos**

Mihin operaatioon Desh kuuluu?

**Tulos**

Minkä tiedotusvälineen toimittaja Simon Ross on?

**Tulos**

Kuka oli Rossin lähde?

**Tulos**

Kuka kuuntelee Bournen puhelun Landylle?

**Tulos**

Kuka johti Treadstonin käyttäytymisen muutosohjelmaa?

**Tulos**

Mikä järjestelmä estää Rossia sanomasta Blackbriaria toimittajalleen?

**Tulos**

Kenelle Jason ilmoittaa Marien kuolemasta?

**Tulos**

Ketä Vosen varoittaa saatuaan selville Landyn koodin?

**Tulos**

Kenelle Bourne antaa Blackbriar-tiedoston?

**Tulos**

Mikä on Bournen oikea nimi?

**Tulos**

Kenen hengen Bourne säästää takaa-ajon jälkeen?

**Tulos**

Ketä Bourne auttaa Rossia pakenemaan?

**Tulos**

Missä vesistössä Bourne ui tarinan lopussa?

**Tulos**

Miten Bourne pakenee Vosenilta?

**Tulos**

Kuka hahmo paljastaa tiedon Ward Abbotin ääninauhoitetusta tunnustuksesta?

**Tulos**

Miten Landy lähettää Blackbriar-asiakirjat?

**Tulos**

Ketä Jason Bourne pakenee tarinan alussa?

**Tulos**

Missä Marie murhattiin?

**Tulos**

Kuka tappaa Rossin?

**Tulos**

Mikä on Marien veljen nimi?

**Tulos**

Mikä ohjelma seurasi Treadstonea?

**Tulos**

Missä on Bournen Rossin kanssa sopima tapaamispaikka?

**Tulos**

Missä Bourne järjestää tapaamisen Rossin kanssa?

**Tulos**

Mikä on sen operaation nimi, johon Bourne liittyy?

**Tulos**

Miten Danielin kuolee?

**Esimerkki 3.48**

Noin 30 vuotta toisen Kuolemantähden tuhoutumisen jälkeen viimeinen jäljellä oleva jedi, Luke Skywalker, on kadonnut. Ensimmäinen ritarikunta on noussut kuolleesta Galaktisesta imperiumista ja pyrkii tuhoamaan Uuden tasavallan. Tasavallan tukema Vastarintaliike, jota johtaa Luken kaksoissisar, kenraali Leia Organa, vastustaa heitä ja etsii samalla Lukea värvätäkseen hänet apuunsa.Vastarintaliikkeen lentäjä Poe Dameron tapaa kylänvanhin Lor San Tekkan Jakku-planeetalla saadakseen kartan Luken olinpaikasta. Kylo Renin komentamat Stormtrooperit tuhoavat kylän ja ottavat Poen vangiksi, kun taas Ren tappaa Tekkan. Poen droidi BB-8 pakenee kartan kanssa ja tapaa Rey-nimisen roskasyöjän lähellä romukyläasutusta. Ren kiduttaa Poeta Voiman avulla ja saa tietää BB-8:sta. Myrskysotilas FN-2187, joka ei jaksa tappaa Ensimmäisen käskyn puolesta, vapauttaa Poen, ja he pakenevat varastetulla TIE-hävittäjällä; Poe kutsuu FN-2187:ää "Finniksi". He putoavat Jakulle, ja Finn selviää, mutta ei pysty selvittämään, selviytyikö Poe myös. Hän tapaa Reyn ja BB-8:n, mutta First Order jäljittää heidät ja käynnistää ilmaiskun. Finn, Rey ja BB-8 pakenevat planeetalta Millennium Falconilla, jonka he varastavat romuttamolta. hajoamisen jälkeen Falcon jää vetosäteen vangiksi, ja Han Solon ja Chewbaccan ohjaama isompi alus kaappaa sen, koska se haluaa takaisin entisen aluksensa. Kaksi kilpailevaa jengiä, jotka haluavat maksaa velkojaan Hanin kanssa, nousevat alukseen ja hyökkäävät, mutta Han ja hänen liittolaisensa pakenevat Falconilla. Jengit ilmoittavat tapahtumista ensimmäiselle ritarikunnalle. Ensimmäisen ritarikunnan Starkiller-tukikohdassa, joka on muunnettu tähtien energiaa valjastavaksi superaseeksi, korkein johtaja Snoke käskee kenraali Huxia käyttämään asetta ensimmäistä kertaa. Snoke kyseenalaistaa Renin kyvyn käsitellä isäänsä Han Soloon liittyviä tunteita; Ren sanoo, ettei Solo merkitse hänelle mitään.Falconin miehistö tarkastelee BB-8:n karttaa ja toteaa sen olevan epätäydellinen. Han selittää, että Luke yritti rakentaa jedijärjestön uudelleen, mutta karkotti itsensä, kun oppipoika kääntyi pimeälle puolelle ja teurasti nousevan järjestön. Miehistö matkustaa Takodana-planeetalle ja tapaa kanttiininomistaja Maz Kanatan, joka tarjoaa apuaan BB-8:n saamiseksi Vastarintaliikkeeseen. Rey ajautuu alemman tason holviin ja löytää valosahan, joka kuului aikoinaan Lukelle ja hänen isälleen Anakin Skywalkerille. Hän kokee häiritseviä näkyjä ja pakenee metsään. Maz antaa Finnille valosapelin säilytettäväksi.Starkiller-tukikohta tulittaa ja tuhoaa tasavallan pääkaupungin ja osan sen laivastosta. Ensimmäinen ritarikunta hyökkää Takodanaan etsiessään BB-8:aa. Hanin, Chewbaccan ja Finnin pelastavat vastarinnan X-siipihävittäjät, joita johtaa Poe, joka selvisi aiemmasta onnettomuudesta. Leia saapuu Takodanaan C-3PO:n kanssa ja tapaa Hanin ja Chewbaccan. Sillä välin Ren ottaa Reyn kiinni ja vie hänet Starkiller-tukikohtaan. Kun Rey kuitenkin kuulustelee häntä kartasta, Rey pystyy vastustamaan Reyn ajatustenlukupyrkimyksiä. Kun hän huomaa osaavansa käyttää Voimaa, hän pakenee käyttämällä lähellä olevan vartijan jedimielen temppua.Vastarintaliikkeen tukikohdassa D'Qarissa BB-8 löytää R2-D2:n, joka on ollut toimettomana Luken katoamisen jälkeen. Kun Starkillerin tukikohta valmistautuu tulittamaan D'Qaria, vastarintaliike suunnittelee tuhoavansa superaseen hyökkäämällä kriittiseen laitokseen. Leia kehottaa Hania palauttamaan poikansa elävänä. Falconin avulla Han, Chewbacca ja Finn soluttautuvat laitokseen, löytävät Reyn ja asettavat räjähteitä. Han kohtaa Renin, kutsuu häntä syntymänimellä Ben ja pyytää häntä luopumaan pimeästä puolesta. Ren kieltäytyy ja tappaa isänsä, mikä suututtaa Chewbaccan, joka ampuu ja osuu Reniin. Hän laukaisee räjähteet, jolloin vastarintaliike voi hyökätä Starkiller-tukikohtaan ja tuhota sen. loukkaantunut Ren jahtaa Finniä ja Reytä pinnalle. Renin ja Finnin välille syntyy valosapelitaistelu, jossa Finn haavoittuu pahasti. Rey ottaa valomiekan ja voittaa Renin Voiman avulla, ennen kuin heidät erottaa halkeama, kun planeetta alkaa hajota ja implodoitua. Snoke käskee Huxia evakuoimaan ja tuomaan Renin luokseen. Rey ja Chewbacca pakenevat Finnin kanssa Falconissa. D'Qarilla vastarintaliike juhlii, kun taas Leia, Chewbacca ja Rey surevat Hanin kuolemaa. R2-D2 herää ja paljastaa loput kartasta, jota Rey seuraa Ahch-To -vesiplaneetalle. Hän löytää Luken ja lahjoittaa hänelle valomiekan.

**Tulos**

Mitkä kaksi hahmoa kaappaavat Falconin, kun se on Finnin, Reyn ja BB-8:n hallussa?

**Tulos**

Kuka haavoittaa Finniä vakavasti valosapelitaistelussa?

**Tulos**

Miten Finn, Rey ja BB-8 saivat Millennium Falconin?

**Tulos**

Kuka on vastarintaliikkeen johtaja?

**Tulos**

Kuka haavoittaa Reniä valomiekkailun aikana?

**Tulos**

Mistä Rey löytää Luke Skywalkerin?

**Tulos**

Toisen kuolemantähden tuhoutumisen jälkeen kului suunnilleen kuinka monta vuotta ennen kuin viimeiset jedit katosivat?

**Tulos**

Kenen kuolemaa Rey, Chewbacca ja Leia surevat tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on kartan merkitys tässä tarinassa?

**Tulos**

Mitä Rey löytää itsestään, jonka ansiosta hän voi paeta Reniltä, kun tämä kuulusteli häntä?

**Tulos**

Kuinka monta vuotta toisen Kuolemantähden tuhoutumisen jälkeen tämä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Minne Kylo Ren vie Reyn vangittuaan hänet?

**Tulos**

Kuka tappaa Han Solon?

**Tulos**

Mitä Rey antaa Luke Skywalkerille?

**Tulos**

Kenelle Luken valomiekka kuului ennen häntä?

**Tulos**

Kuka ampuu ja lyö Reniä sen jälkeen, kun Ren on tappanut oman isänsä?

**Tulos**

Missä on vastarintaliikkeen tukikohta, johon Rey, Chewbacca ja Finn palaavat Starkiller-tukikohdan tuhoamisen jälkeen?

**Tulos**

Mikä on Renin suhde Leia Organaan ja Han Soloon?

**Tulos**

Kuka on viimeinen jäljellä oleva jedi?

**Tulos**

Mitä Rey löytää holvista?

**Tulos**

Kuka huomaa tarinassa voivansa käyttää voimaa?

**Tulos**

Kuka on Renin isä?

**Tulos**

Millaiselta planeetalta Luke löytyy?

**Tulos**

Mistä Fin ja Rey varastavat Millennium Falconin?

**Tulos**

Millaista temppua Rey käyttää vartijalle, jonka avulla hän pääsee pakenemaan?

**Tulos**

Millä hahmolla on BB-8:aan tallennettu kartan puuttuva pala?

**Tulos**

Kuka on Kylo Renin isä?

**Tulos**

Ketä Leia Organa etsii auttamaan häntä vastarinnassa?

**Tulos**

Miksi Poe Cameron menee Jakulle?

**Esimerkki 3.49**

Kun armottoman Shan Yun johtamat hunnit hyökkäävät Han-Kiinaan, Kiinan keisari ryhtyy johtamaan yleistä liikekannallepanoa. Jokaiselle perheelle annetaan kutsuntakutsu, jossa vaaditaan yhtä miestä kustakin perheestä liittymään Kiinan armeijaan. Kun Fa Mulan kuulee, että hänen iäkäs isänsä Fa Zhou, heidän perheensä ainoa mies, on jälleen kerran lähdössä sotaan, hänestä tulee levoton ja huolestunut. Hän päättää hoitaa asian itse naamioitumalla mieheksi, jotta hän voisi lähteä sotaan isänsä sijasta. Kun hänen perheensä kuulee Mulanin lähdöstä, he kaikki huolestuvat. Isoäiti Fa, Mulanin isoäiti, rukoilee Mulanin turvallisuuden puolesta perheen esi-isiltä. Esi-isät käskevät sitten "Suurta kivilohikäärmettä" suojelemaan Mulania. Esi-isät eivät tiedä, että Suuren kivilohikäärmeen patsas ei herännyt henkiin ja että Mushu, pieni lohikäärme, on se, joka on lähetetty suojelemaan Mulania.Mushu opastaa Mulania harhaan siinä, miten käyttäytyä kuin mies, mikä aiheuttaa levottomuutta harjoitusleirillä. Li Shangin komennossa hänestä ja hänen uusista työtovereistaan, Yaosta, Lingistä ja Chien-Posta, tulee kuitenkin taitavia sotureita. Mushu, joka haluaa nähdä Mulanin menestyvän, luo Shangin isältä, kenraali Liiltä, väärennetyn käskyn, jossa Shang käsketään seuraamaan heitä vuorille. Joukot lähtevät tapaamaan kenraali Li:tä, mutta saapuvat palaneeseen leiriin ja huomaavat, että hunnit ovat tappaneet kenraali Li:n ja hänen joukkonsa. Kun he juhlallisesti lähtevät vuorilta, hunnit hyökkäävät heidän kimppuunsa, mutta Mulan saa taitavasti tykin avulla aikaan lumivyöryn, joka hautaa suurimman osan hunneista. Raivostunut Shan Yu viiltää häntä rintaan, ja hänen petoksensa paljastuu, kun haava sidotaan. Sen sijaan, että Shang teloittaisi Mulanin lain vaatimalla tavalla, hän antaa periksi ja päättää säästää Mulanin hengen, koska hän pelasti hänet, mutta karkottaa hänet armeijasta ja jättää hänet vuorelle, kun muu armeija lähtee keisarilliseen kaupunkiin kertomaan uutiset hunnien tuhosta. Paljastuu kuitenkin, että useat hunnisoturit, mukaan lukien Shan Yu, selviytyivät lumivyörystä, ja Mulan näkee heidät, kun he ovat matkalla kohti kaupunkia ja aikovat kaapata keisarin.Keisarillisessa kaupungissa Mulan ei pysty vakuuttamaan Shangia Shan Yun aikeista. Hunnit ilmestyvät vangitsemaan keisarin, sitten he lukitsevat palatsin. Mulanin avulla Yao, Ling ja Chien-Po esiintyvät jalkavaimoina ja pääsevät palatsiin, ja Shangin avulla he voittavat Shan Yun miehet. Kun Shang estää Shan Yuta salamurhaamasta keisaria, Mulan houkuttelee Hun-pomon katolle, jossa hän käy yksinään taistelua. Samaan aikaan Mulanin ohjeiden mukaan Mushu ampuu Shan Yun merkistä nipun ilotulitusraketteja Shan Yuta kohti. Ilotulitteet osuvat Shan Yuhun ja räjähtävät tappaen hänet. Keisari ja Kiinan kansa ylistävät Mulania, ja kaikki kumartavat hänelle ennennäkemättömänä kunnianosoituksena. Mulan ottaa vastaan keisarin vaakunan ja Shan Yun miekan lahjoina, mutta kieltäytyy kohteliaasti keisarin tarjouksesta neuvonantajaksi ja pyytää palata perheensä luo. Hän palaa kotiin ja antaa lahjat isälleen, mutta isä iloitsee enemmän Mulanin turvallisesta paluusta. Shang on ihastunut Mulaniin, ja pian hän saapuu paikalle kypärän palauttamisen varjolla, mutta hyväksyy perheen kutsun illalliselle. Esivanhemmat myöntävät Mushulle Fa-perheen suojelijan paikan paluujuhlan keskellä.

**Tulos**

Kuka vangitsee keisarin?

**Tulos**

Mikä Shangin käskyssä mennä vuorille on erikoista?

**Tulos**

Mulanin perheen esi-isät määräävät mitä suojellakseen häntä?

**Tulos**

Miten Mulan estää isäänsä lähtemästä sotaan?

**Tulos**

Mitä esi-isät määräävät Mulanin paettua taistelemaan isänsä tilalle?

**Tulos**

Mitä lahjoja Mulan ottaa vastaan keisarilta?

**Tulos**

Minkä aseman Mushu saa?

**Tulos**

Mitä Mulan saa selville sen jälkeen, kun Shan Yu on elossa?

**Tulos**

Mikä on asevelvollisuusilmoitus?

**Tulos**

Kuka Mulanin perheessä täyttäisi asevelvollisuusilmoituksen?

**Tulos**

Kenen käskystä Mulanista ja hänen seurueestaan tulee taitavia sotureita?

**Tulos**

Kenelle Mulan antaa miekan ja vaakunan?

**Tulos**

Mikä tappaa Shan Yun?

**Tulos**

Miten Mulan suhtautuu asevelvollisuusilmoitukseen?

**Tulos**

Millaisen, naisille ennennäkemättömän kunnian Kiinan kansa ja keisari antavat Mulanille?

**Tulos**

Kuka lähtee Mulanin perään suojellakseen häntä sen sijaan?

**Tulos**

Mitä he löytävät matkalla tapaamaan Shang Lin isää?

**Tulos**

Kuka johtaa Mulanin harjoitusleiriä?

**Tulos**

Miten Shan Yu tapetaan?

**Tulos**

Mihin Mulan houkuttelee päähunin taistelemaan häntä vastaan?

**Tulos**

Mitä keisari vaatii jokaiselta perheeltä?

**Tulos**

Kuka on hunnien johtaja?

**Tulos**

Mitä Yao, Ling ja Chien-Po tekevät Mulanin avulla päästäkseen linnaan pelastamaan keisarin?

**Tulos**

Mikä päätyy suojelemaan Mulania, kun Suuri kivilohikäärme ei palaa?

**Tulos**

Kuka hyökkäsi Han-Kiinaan?

**Tulos**

Miten Mulanin juoni paljastuu?

**Tulos**

Mitä miehistölle tapahtuu vuorilla?

**Tulos**

Mitä Fa Mulan löytää?

**Tulos**

Mikä on Mulania suojelevan pienen lohikäärmeen nimi?

**Tulos**

Mitä Shang Li tekee huomattuaan, että Mulan on nainen?

**Esimerkki 3.50**

Louisianalaisessa vanhainkodissa vuonna 1999 Paul Edgecomb alkaa itkeä katsoessaan elokuvaa Top Hat. Hänen toverinsa Elaine huolestuu, ja Paul selittää hänelle, että elokuva muistutti häntä vuoden 1935 tapahtumista, jotka tapahtuivat silloin, kun hän oli vankilavirkailijana vastuussa kuolemansellissä ja osavaltion sähkötuolista. 1935 Paul valvoo Cold Mountainin vankilassa kollegojaan Brutus "Brutal" Howellia, Dean Stantonia, Harry Terwilligeria ja Percy Wetmorea, joita he kutsuvat "vihreäksi mailiksi" eli kuolemansellissä. Vakavasta virtsarakon tulehduksesta kärsivä Paul ottaa huostaansa fyysisesti vaikuttavan, mutta henkisesti vammaisen mustan miehen, John Coffeyn, joka oli tuomittu kahden valkoisen pikkutytön raiskauksesta ja murhasta. Yksi muista vangeista on intiaani Arlen Bitterbuck, jota syytetään murhasta ja joka teloitetaan ensimmäisenä. Percy osoittaa vakavaa sadistista ja kiusaavaa luonnetta, mutta hän on moitteeton; hän on Louisianan presidentinpojan veljenpoika, mutta vain Paul uskaltaa uhmata tätä. Hän on erityisen väkivaltainen vanki Eduard "Del" Delin kanssa. Delacroix'ta; hän katkaisee Delin sormet pampullaan, astuu Delin adoptoiman lemmikkihiiren Jinglesin päälle, kutsuu Deliä toistuvasti homoseksuaaliseksi ja lopulta sabotoi hänen teloitustaan jättämällä liottamatta sienen, jota käytetään sähkön johtamiseen Delin päähän; Delin ruumis räjähtää liekkeihin ja hän kuolee huutaen tuskissaan.John alkaa osoittaa yliluonnollisia voimia; hän parantaa Paulin virtsarakon tulehduksen, herättää herra Jinglesin henkiin ja parantaa Melinda Mooresin, vankilan ylijohtajan vaimon, aivokasvaimesta. Viimeksi mainitun taudin hän päästää Percyyn, joka sen vaikutuksesta ampuu toisen vangin, joukkomurhaaja William Whartonin, kuoliaaksi. Wharton oli heti saapumisestaan lähtien ollut häirikkö; hän hyökkäsi vartijoiden kimppuun, kun häntä saatettiin osastolle, teki myöhemmin kahteen otteeseen ilkivaltaa, jonka vuoksi Paul määräsi hänet eristettäväksi osaston pehmustettuun selliin, kähmii Percyä lyhyesti, solvasi Johnia rasistisesti ja paljasti Johnille psyykkisesti olevansa itse asiassa vastuussa rikoksesta, josta John oli perusteettomasti tuomittu. Sitten John paljastaa tarinan psyykkisesti Paulille, mutta vapauttaa samalla yliluonnollista energiaansa Pauliin. Percy puolestaan passitetaan mielisairaalaan, josta Wharton oli ironisesti tullut ja josta hän, Percy, toivoi saavansa työtä. John kertoo Paulille, joka on järkyttynyt ajatuksesta teloittaa syytön mies, että hän itse asiassa haluaa kuolla, koska hän pitää maailmaa julmana paikkana. Mainiten, ettei hän ole koskaan ennen nähnyt elokuvaa, John katsoo muiden vartijoiden kanssa viimeisenä toivomuksena Top Hatin. Sinä yönä John teloitetaan, vaikka hän kieltäytyy tavanomaisesta hupusta, sillä hän pelkää pimeää. Paul päättää tarinansa kertomalla Elainelle, että Johnin teloitus oli viimeinen, jota hän tai Brutus valvoi; Coffeyn teloituksen jälkeen he molemmat ottivat töitä nuorisovankilasta.Elaine tajuaa, että koska hänellä oli aikuinen poika vuonna 1935, Paulin täytyy olla paljon vanhempi kuin miltä hän näyttää. Paul paljastaa, että hän on itse asiassa 108-vuotias, eikä vain hän ole yhä elossa, vaan myös herra Jingles, Delin hiiri. Paul pohtii sitten, että jos Johnin voima saa hiiren elämään yhtä kauan kuin herra Jingles, kuinka kauan hänellä itsellään on vielä aikaa?

**Tulos**

Kuka joutui mielisairaalaan, jossa hän oli toivonut voivansa työskennellä?

**Tulos**

Mikä on kuolemansellin nimi?

**Tulos**

Kenen veljenpoika Percy on?

**Tulos**

Kuka itkee katsoessaan "Top Hat" -elokuvaa vuonna 1999?

**Tulos**

Mikä on Percylle annettu viimeisin Johanneksen aiheuttama kärsimys?

**Tulos**

Kuka oli oikeastaan vastuussa rikoksesta, josta John tuomittiin?

**Tulos**

Kuka on Louisianan First Ladyn veljenpoika?

**Tulos**

Kuka pelkää pimeää?

**Tulos**

Milloin Paavali saa Johanneksen yliluonnollista energiaa?

**Tulos**

Miksi Johannes kertoi Paavalille haluavansa kuolla?

**Tulos**

Kuinka vanha Paul on?

**Tulos**

Mitä Percy jätti tekemättä, mikä johti Delin tuskalliseen kuolemaan?

**Tulos**

Mistä Paavali kärsi?

**Tulos**

Mitä Paul rikkoo Delin vartalossa pampullaan?

**Tulos**

Miksi John Coffey katsoi "Top Hatia"?

**Tulos**

Miksi Paavali oli järkyttynyt Johanneksen tappamisesta?

**Tulos**

Mistä Paavali kärsii?

**Tulos**

Miksi Delin ruumis räjähtää?

**Tulos**

Kuka käyttää "deliä" väärin?

**Tulos**

Mikä oli Johanneksen viimeinen pyyntö?

**Tulos**

Mitä John teki Melinda Mooresille?

**Tulos**

Mikä oli Paavalin työ vuonna 1935?

**Tulos**

Kuka osoittaa yliluonnollisia voimia?

**Tulos**

Mikä olento vuodelta 1935 elää yhä vuonna 1999 yhdessä Paulin kanssa?

**Tulos**

Mitä Paul Edgecomb katseli vanhainkodissa, mikä sai hänet itkemään?

**Tulos**

Mikä on Paulin vastaanottaman mustan miehen nimi?

**Tulos**

Mistä John Coffey tuomittiin?

**Tulos**

Miten Johannes kuolee?

**Tulos**

Miten Paulin rakko-ongelma korjataan?

**Tulos**

Mistä rikoksesta John Coffey tuomittiin?

**Esimerkki 3.51**

Tarinan kertoo George Cranleigh, lordi Harold Cranleigh'n nuorempi poika, Surreyn köyhä maanomistaja, joka on Blackmoren mukaan tuhoutunut "vapaakaupan farssin" vuoksi. "Avausluvussa George ratsastaa kotiin torilta ja yllättää ylenpalttisen kauniin neitosen polvillaan raunioituneessa kappelissa. Tyttö osoittautuu Darieliksi, Kaukasuksen villiin heimoon kuuluvan Lesgianin ruhtinaan Sur Imarin tyttäreksi. Imarin ja hänen sisarensa välille on syntynyt verivihollinen, ja niinpä hän on tyttärensä, kasvattiveljensä Stepanin ja joukko palvelijoitaan saapunut Englantiin ja asettunut rauhanomaisesti asumaan autioon taloon Surreyssä.Imar päättää palata kotimaahansa opettamaan heimolaisilleen sivistystä. George, joka on rakastunut Darieliin, seuraa häntä itään. Mutta Imarin kaksoissisko Marva, ossetien kuningatar, jota alkuasukkaat kutsuvat osuvasti "paholaisen morsiameksi", suunnittelee tappavansa prinssi Imarin ja naittavansa tämän tyttären Darielin poikansa kanssa. Viikkojen matkustelun ja epätoivoisia seikkailuja täynnä olevien päivien jälkeen Yrjö pelastaa kaivostyöläisten ja lesgiläisten avulla Darielin ja hänen isänsä ja tappaa ilkeän prinsessan ja tämän pirullisen pojan.

**Tulos**

Kuka pelasti Darielin ja hänen isänsä?

**Tulos**

Miksi Imar palaa kotimaahansa?

**Tulos**

Kuka on Sur Imarin prinssi?

**Tulos**

Missä Darielia seurataan?

**Tulos**

Milloin George tapasi Darielin?

**Tulos**

Kuka on Marva?

**Tulos**

Kenen kuningatar Marva on?

**Tulos**

Kuka on Imarin kaksoissisar?

**Tulos**

Kenet Marva aikoo naittaa pojalleen?

**Tulos**

Kuka auttaa Georgea pelastamaan Darielin ja Imarin?

**Tulos**

Kenen kuningatar Marva on?

**Tulos**

Kenet Marva aikoo tappaa?

**Tulos**

Miksi Sur Imar tuli Englantiin?

**Tulos**

Kuka on tarinan kertoja?

**Tulos**

Miksi alkuasukkaat kutsuivat Marvaa?

**Tulos**

Mikä on Marvan suhde Darieliin?

**Tulos**

Missä George tapaa Darielin?

**Tulos**

Kuka auttaa Georgea pelastamaan Darielin ja hänen isänsä?

**Tulos**

Missä George Cranleigh oli maanomistaja?

**Tulos**

Missä Sur Imar ja hänen perheensä asuivat Surreyssä?

**Tulos**

Kuka on George Cranleigh'n isä?

**Tulos**

Miksi Imar palasi kotimaahansa?

**Tulos**

Mitä Imar palaa kotimaahansa tekemään?

**Tulos**

Miksi Sur Imar muutti Englantiin?

**Tulos**

Kuka oli rakastunut Darieliin?

**Tulos**

Mikä on Lesghians?

**Tulos**

Missä George Cranleigh omistaa maata?

**Esimerkki 3.52**

Ranskalainen poliisi seuraa brittiläistä naista, Elise Clifton-Wardia (Angelina Jolie), joka työskentelee Scotland Yardin kanssa komisario John Achesonin (Paul Bettany) johdolla. Acheson on vuosia metsästänyt Alexander Pearcea, Elisen rakastajaa, joka on velkaa 744 miljoonaa verorästejä ja jonka uskotaan ottaneen kauneusleikkauksen ulkonäkönsä muuttamiseksi. Pariisilaisessa kahvilassa Elise saa Pearcelta kirjallisen ohjeen: nouse Venetsiaan menevään junaan; valitse mies; anna poliisin uskoa, että hän on Pearce. Elise polttaa viestin, pakenee poliisia ja nousee junaan. junassa Elise valitsee Frank Tupelon (Johnny Depp), joka on ilmeisesti yhdysvaltalainen matematiikanopettaja Wisconsinissa sijaitsevasta kansalaisopistosta. Elise viettää paljon aikaa miehen kanssa, ja vaikuttaa siltä, että hänellä alkaa romanssi. Sillä välin poliisi on onnistunut pelastamaan Elisen palaneen viestin tuhkat ja koonnut niistä tietoja Elisen tapaamisesta sekä hänen juonittelustaan. Poliisiaseman ilmiantaja, joka on tietoinen hänen sijainnistaan mutta ei juonesta, ilmoittaa Reginald Shaw'lle (Steven Berkoff), mafiosolle, jolta Pearce varasti 2,3 miljardia dollaria, että Pearce matkustaa Elisen kanssa junalla Venetsiaan. Shaw lähtee välittömästi Venetsiaan, ja Elise kutsuu Frankin luokseen sviittiinsä Hotel Danieliin Venetsiassa. Pearce jättää Eliselle lisäohjeita osallistua tanssiaisiin. Elise jättää Frankin, jota Shaw'n miehet jahtaavat. Yrittäessään paeta heitä Frank joutuu Italian poliisin pidättämäksi, muka oman turvallisuutensa vuoksi, mutta korruptoitunut komisario luovuttaa hänet Shaw'n miehille vastineeksi Pearcen päähän asetetusta palkkiosta. Elise pelastaa Frankin juuri ennen kuin hänet luovutetaan, ja johtaa Shaw'n miehet pitkälle takaa-ajojahdille ja lopulta pakenee. Elise jättää Frankin lentokentälle tämän passin ja rahat mukanaan ja kehottaa häntä palaamaan kotiin oman turvallisuutensa vuoksi.Elise paljastuu Scotland Yardin peiteagentiksi, joka oli pidätetty virantoimituksesta, koska hänen epäiltiin suhtautuvan myötämielisesti Pearceen. Hän suostuu osallistumaan salakuvaoperaatioon. Kun Elise yrittää tanssiaisissa havaita Pearcen väkijoukossa, hänen edessään olevalle pöydälle asetetaan kirjekuori, mutta mies (Rufus Sewell) katoaa väkijoukkoon. Elise yrittää seurata miestä väkijoukon läpi, mutta Frank pysäyttää hänet. Frank väittää olevansa rakastunut Eliseen ja kutsuu Elisen tanssimaan kanssaan. Poliisin yllätettyä Frankin Elise lukee viestin. Hän lähtee yhtäkkiä veneellään Shaw'n seurattavaksi. Poliisi seuraa molempia osapuolia. Frank pidetään käsiraudoissa.Kun Elise saapuu määränpäähän, Shaw ottaa hänet vangiksi ja uhkaa vahingoittaa häntä, ellei hän paljasta varastettujen rahojen sijaintia. Poliisi seuraa tilannetta tapaamishuoneessa ääni- ja videolinkkien välityksellä. Elisen vaarasta huolimatta Acheson torjuu toistuvasti poliisin pyynnöt puuttua heidän tarkka-ampujiensa toimintaan. Poliisin tarkkaillessa tilannetta Frank pakenee poliisiveneestä ja kohtaa Shaw'n. Hän väittää olevansa Pearce ja tarjoutuu avaamaan kassakaapin, jos Elise pääsee turvallisesti pois. Shaw suhtautuu epäilevästi ja tekee vastatarjouksen, jonka mukaan Frankin pitäisi avata kassakaappi, jos hän ei halua nähdä Elisen kidutettavan miehiään. Ylikomisario Jones (Timothy Dalton) saapuu poliisin väijytykseen, ohittaa Achesonin ja käskee tarkka-ampujat ampumaan, jolloin Shaw ja hänen miehensä kuolevat. Elisen ilmeiseksi iloksi Jones kumoaa hänen hyllytyksensä ja irtisanoo hänen työsuhteensa.Acheson, joka saa viestin, että Pearce on löydetty heidän asemansa läheltä, kiirehtii toteamaan, että poliisi on pidättänyt englantilaisen. Mies, Lawrence Mason, sanoo olevansa turisti, joka seuraa matkapuhelimellaan saamiaan kirjallisia ohjeita, joista hän on saanut maksuja. Elise kertoo Frankille rakastavansa häntä, mutta myös Pearcea. Frank ehdottaa sitten "ratkaisua" tähän dilemmaan; Elisen yllätykseksi hän avaa kassakaapin syöttämällä oikean koodin ja paljastaa näin olevansa oikeasti Alexander Pearce. Kun poliisi avaa kassakaapin, he löytävät sieltä vain yhden shekin: Se on 744 miljoonan arvoinen. Acheson valmistautuu ajamaan Pearcea takaa, mutta Jones ohittaa hänet ja perustelee, että koska verot on nyt maksettu kokonaisuudessaan, Pearcen ainoa rikos on se, että hän varasti rahaa nyt kuolleelta gangsterilta. Jones määrää jutun lopetettavaksi Achesonin turhautuessa. Frank (Alexander) ja Elise purjehtivat yhdessä pois.

**Tulos**

Kuinka paljon rahaa Pearce ja Elise saavat karkuun?

**Tulos**

Mitä ylikomisario käskee miehiään tekemään, kun hän saapuu paikalle?

**Tulos**

Mikä on Frank Tupelon oikea nimi?

**Tulos**

Mitä Elise tekee viestillä?

**Tulos**

Mikä on sen gangsterin nimi, jolta Pearce varasti rahaa?

**Tulos**

Miten Pearce on tarinan alussa piiloutunut poliisilta?

**Tulos**

Mitä Jones määrää tapauksesta?

**Tulos**

Miksi Pearce jättää tarinan lopussa poliisille tarkalleen 744 miljoonan punnan shekin?

**Tulos**

Mitä paljastuu Elisen ammatista?

**Tulos**

Mitä Elisestä paljastuu?

**Tulos**

Miksi Italian poliisi sanoi pidättävänsä Frankin?

**Tulos**

Kuka on gangsteri?

**Tulos**

Kuka on miljoonien verojen velkaa?

**Tulos**

Mitkä olivat Pearcen kirjalliset ohjeet Eliselle?

**Tulos**

Minne Elise nousee junaan?

**Tulos**

Missä on Elisen sviitti?

**Tulos**

Kenet Elise valitsee Pearcen rooliin?

**Tulos**

Miksi poliisi seuraa Eliseä?

**Tulos**

Kuka seuraa Wardia?

**Tulos**

Mikä on John Achesonin työtehtävä?

**Tulos**

Mikä on Pearceen rakastuneen peiteagentin nimi?

**Tulos**

Miksei poliisi jahdannut Pearcea hänen paettuaan?

**Tulos**

Mitä uusia ohjeita Pearce antoi Eliselle Venetsiassa?

**Tulos**

Mitä Frank sanoo Shaw'lle, kun tämä kohtaa hänet?

**Tulos**

Mikä on ylitarkastajan nimi?

**Tulos**

Mikä on sen agentin nimi, joka on vuosia metsästänyt Alexander Pearcea?

**Tulos**

Mitä kassakaapissa on?

**Tulos**

Mihin kaupunkiin tämä tarina sijoittuu?

**Tulos**

Mitä Frank teki työkseen?

**Tulos**

Ketä poliisi pitää käsiraudoissa takaa-ajon aikana?

**Esimerkki 3.53**

Pelastettuaan New Yorkin puolijumala Gozerilta, useat kaupungin ja osavaltion virastot haastoivat Ghostbustersin Peter Venkmanin, Egon Spenglerin, Ray Stantzin ja Winston Zeddemoren oikeuteen omaisuusvahingoista. Taloudellisen tuhon sijaan he hyväksyivät lähestymiskiellon, joka kielsi heitä toimimasta paranormaalien ilmiöiden tutkijoina ja eliminoijina ja pakotti heidät lopettamaan toimintansa. Kaupungin silmissä heitä pidetään nyt huijareina. 5 vuotta myöhemmin Ray omistaa okkulttisen kirjakaupan ja työskentelee Winstonin kanssa epäsuosittuna lasten viihdyttäjänä, Egon on palannut Columbian yliopistoon tekemään kokeita ihmisten tunteista ja Peter isännöi pseudopsykologista televisio-ohjelmaa. Peterin entinen tyttöystävä Dana Barrett on saanut pojan, Oscarin, viulistin kanssa, jonka kanssa hän meni naimisiin ja erosi sitten, kun Peter sai tarjouksen Lontoon sinfoniaorkesteriin. Huolehtiakseen lapsestaan Dana lopetti esiintymisen ja työskentelee nyt restauroijana kuvitteellisessa Manhattanin taidemuseossa valmistellakseen tulevaa näyttelyä varten pahansuovan näköistä muotokuvaa legendaarisesta 1500-luvun tyrannista nimeltä Vigo Karpaatti Moldovasta.Kun Oscarin lastenvaunuja ohjaa näkymätön voima ja ne ajautuvat vilkkaasti liikennöityyn risteykseen, Dana kääntyy Haamunmetsästäjien puoleen. Samaan aikaan Danan kollega tohtori Janosz Poha on yhä enemmän pakkomielteinen Vigon tuijottavan kuvan suhteen maalauksessa ja joutuu sen lumoihin. Vigo, jonka henki asuu maalauksessa, käskee Janoszia etsimään lapsen, jonka hän voi ottaa haltuunsa, jolloin hän voi palata elämään uudenvuodenpäivänä. Janosz, joka on ihastunut Danaan, tarjoutuu tuomaan Oscar-vauvan Vigolle vastineeksi Danasta, ja Vigo suostuu tähän tarjoukseen.Haamunmetsästäjien tutkimukset johtavat heidät kaivamaan laittomasti First Avenueta kohdasta, jossa lastenvaunut pysähtyivät. Ray löytää alta valtavan vaaleanpunaisen limajoen, joka täyttää hylätyn pneumaattisen kuljetuslinjan. Näytteen ottamisen jälkeen lima käy liman kimppuun, ja Ray aiheuttaa koko kaupungin kattavan sähkökatkon potkaisemalla vahingossa valurautaputkea, joka rikkoutuu, putoaa ja oikosulkee sähkökaapelin. Tämän jälkeen NYPD pidättää Ghostbustersin. Louis Tully puolustaa heitä tehottomasti, mutta tuomari Wexler eli "Vasara" toteaa heidät syyllisiksi lähestymiskiellon rikkomiseen. Ennen kuin heidät viedään Riker's Islandille, Wexler haukkuu heitä vihaisesti. Vastauksena Rayn talteen ottama ja todisteeksi otettu lima räjähtää ja vapauttaa tuomarin kuolemaan tuomitsemien kahden murhaajan haamut, jotka tuhoavat oikeussalin. Ghostbusters vangitsee haamut vastineeksi lähestymiskiellon kumoamisesta. myöhemmin lima tunkeutuu Danan asuntoon kylpyammeen kautta ja hyökkää Danan ja Oscarin kimppuun. Hän hakeutuu Peterin luo, ja he alkavat uudistaa suhdettaan. Tutkiessaan "psykomagneettista" limaa ja Vigon historiaa Ghostbusters saa selville, että se reagoi tunteisiin; se voi latautua positiivisesti tai negatiivisesti. He epäilevät, että se on syntynyt newyorkilaisten kielteisten asenteiden seurauksena. Peterin ja Danan syödessä päivällistä Egon, Ray ja Winston tutkivat maanalaista limajokea. Kun Winston mittaa sen syvyyttä, hänet vedetään liman virtaan, ja Ray ja Egon hyppäävät hänen perässään. Päästyään takaisin pinnalle Ray ja Winston aloittavat vihaisen riidan, mutta Egon tajuaa, että lima vaikuttaa heihin, joten he riisuvat vaatteensa. He saavat myös selville, että joki virtaa maan alla suoraan museoon, jossa Dana työskentelee. aaveidenmetsästäjät menevät pormestarin puheille epäilyksistään, mutta heidät hylätään; pormestarin apulainen Jack Hardemeyer lähettää heidät psykiatriseen sairaalaan suojelemaan pormestarin kuvernöörikampanjaa. Samaan aikaan Janoszia lastenhoitajana muistuttava henki sieppaa Oscarin Peterin asunnosta, ja Dana lähtee yksin heidän peräänsä museoon. Kun hän astuu sisään, museo peittyy läpitunkemattoman liman koteloon. uudenvuodenaattona yliluonnollinen toiminta lisääntyy yhtäkkiä, kun lima nousee metrolinjasta kaupungin kaduille, mikä aiheuttaa laajalle levinnyttä paranormaalia toimintaa, jossa aaveet hyökkäävät kaupunkilaisten kimppuun. Pormestari antaa Hardemeyerille potkut ja vapauttaa Ghostbustersin. He suuntaavat museoon, mutta eivät onnistu rikkomaan limaesteen rajaa protonipakkauksillaan. Aaveidenmetsästäjät päättävät, että he tarvitsevat voimakkaan symbolin, joka kokoaa kansalaiset yhteen ja heikentää limaa, ja käyttävät positiivisesti ladattua mielialalimaa ja "Higher and Higher" -kappaleen remixiä saadakseen Vapaudenpatsaan elävöitymään ja ohjatakseen sen katujen halki hurraavien väkijoukkojen edessä. Kun he saapuvat museolle, lima alkaa väistyä, ja he käyttävät patsaan liekkivää soihtua murtautuakseen kattoikkunan läpi hyökätäkseen Vigon ja Janoszin kimppuun. Janosz neutralisoidaan positiivisesti varautuneella mielialalimalla, mutta Vigo lamauttaa Haamunmetsästäjät ja yrittää siirtyä Oscarin ruumiiseen. Ulkona olevien asukkaiden "Auld Lang Syne" -kuoroon liittyvät positiiviset tunteet heikentävät Vigoa, jolloin hän palaa tauluun ja vapauttaa Haamunmetsästäjät. Vigo ottaa Rayn hetkeksi haltuunsa, ja muut Ghostbustersit hyökkäävät hänen kimppuunsa yhdistelmällä protonivirtoja ja positiivisesti ladattua mielialalimaa. Tämä tuhoaa Vigon ja muuttaa maalauksen kuvaksi, jossa neljä Ghostbustersia seisoo suojelevasti Oscarin ympärillä. Ulkona Ghostbusters saa yleisöltä seisovat aplodit, ja myöhemmin patsasta restauroivassa seremoniassa pormestari antaa heille kaupungin avaimen.

**Tulos**

Mikä on Ocsarin isän ammatti?

**Tulos**

Mitä Ghostbusters animoi auttaakseen heitä pääsemään museoon?

**Tulos**

Mikä on pormestarin avustajan nimi?

**Tulos**

Mihin ryhmään Danan ex-mies liittyi, mikä aiheutti heidän eronsa?

**Tulos**

Kenellä on pakkomielle Danaan?

**Tulos**

Mikä on Dana Barrettin lapsen nimi?

**Tulos**

Mitä pormestari antaa Ghostbustersille tarinan lopussa?

**Tulos**

Mitä työtä pormestari haluaa tehdä?

**Tulos**

Miten lima pääsee Danan asuntoon?

**Tulos**

Minkä lahjan pormestari antoi Ghostbustersille?

**Tulos**

Mitä laulua ulkona oleva yleisö laulaa, joka heikentää Vigoa?

**Tulos**

Miten Oscar liittyy Danaan?

**Tulos**

Millä nimellä tuomari Wexler tunnetaan?

**Tulos**

Mitä Ghostbusters tekee lopettaakseen Rayn ja Winstonin välisen riidan?

**Tulos**

Missä kaupungissa tarina tapahtuu?

**Tulos**

Minne Oscarin lastenvaunut päätyvät, kun näkymätön voima vie ne?

**Tulos**

Missä koulussa Egon käy?

**Tulos**

Minkä kappaleen avulla Ghostbusters keräsi kansalaiset positiivisuuteen ja heikentämään limaa?

**Tulos**

Kun Ghostbusters menee museoon uudenvuodenaattona, mitä laulua ihmiset laulavat?

**Tulos**

Miksi Ghostbusters haastettiin oikeuteen?

**Tulos**

Minkä värinen oli lima, joka hyökkäsi Rayn kimppuun kauttakulkulinjalla?

**Tulos**

Minkä väristä limaa Haamujengi löytää maan alta?

**Tulos**

Mikä kummitus ilmestyi Danan työpaikan maalauksesta?

**Tulos**

Mikä New Yorkin maamerkki auttaa Ghostbustersia pääsemään museoon?

**Tulos**

Kuka pyytää Ghostbustersilta apua?

**Tulos**

Mistä henki sieppaa Oscarin?

**Tulos**

Kuka on ensimmäinen henkilö, joka joutuu Vigon lumoihin?

**Tulos**

Mihin Kummituksenmetsästäjät saavat selville, että lima reagoi?

**Tulos**

Mitä he löytävät, kun he aloittavat tutkimuksensa?

**Tulos**

Missä lima hyökkää Danan ja Oscarin kimppuun?

**Esimerkki 3.54**

Vuonna 1976 Etelä-Afrikassa apartheidin aikana Ben Du Toit (Donald Sutherland) on eteläafrikkalainen opettaja koulussa, joka on tarkoitettu vain valkoisille. Eräänä päivänä hänen puutarhurinsa poika Gordon Ngubene (Winston Ntshona) joutuu valkoisten poliisin pahoinpitelemäksi ja jää poliisin kiinni rauhanomaisen mielenosoituksen aikana, jossa vaaditaan parempaa koulutuspolitiikkaa Etelä-Afrikan mustille. Gordon pyytää Beniltä apua. Kun Ben kieltäytyy auttamasta, koska hän luottaa poliisiin, Gordon jää myös poliisin kiinni ja joutuu kidutetuksi. Vastoin perheensä tahtoa Ben yrittää itse ottaa selvää puutarhurinsa katoamisesta. Nähdessään mustien heikkouden ja avuttomuuden hän päättää viedä tapauksen oikeuteen Ian McKenzien (Marlon Brando) asianajajanaan, mutta häviää. Sen jälkeen hän jatkaa toimintaansa yksin ja tukee pientä mustien ryhmää, joka haastattelee muita saadakseen selville, mitä Gordonille tapahtui.Valkoinen poliisi huomaa heidän aikeensa ja pidättää joitakin vastuullisia henkilöitä. He jatkavat ja (lisätäkseen turvallisuuttaan) piilottavat tiedot Benin taloon. Ben kertoo pojalleen suunnitelmistaan. Hänen poikansa ja tyttärensä saavat molemmat tietää kätköpaikan, ja kun poliisi on aiemmin tutkinut Benin talon, kätkön vieressä tapahtuu räjähdys, koska tytär on paljastanut sen poliisille, vaikka poika on pelastanut asiakirjat. Myös Gordonin vaimo Emily (Thoko Ntshinga) ja lapset otetaan kiinni. Benin vaimo ja tytär lähtevät. Tytär tarjoaa isälleen, että hän veisi asiakirjat turvallisempaan paikkaan. he tapaavat ravintolassa ja Ben antaa hänelle väärennetyt asiakirjat, jotka hän toimittaa poliisimiehelle. Sen sijaan, että Ben olisi antanut hänelle asiakirjat, hän antoi hänelle taidekirjan. Lopulta Ben jää poliisimiehen alle. Benin musta avustaja ampuu poliisimiehen kostoksi.

**Tulos**

Minä vuonna tämä tarina tapahtui?

**Tulos**

Mitä Ben antoi tyttärelleen asiakirjojen sijasta?

**Tulos**

Kuka paljastaa asiakirjat poliisille?

**Tulos**

Mitä piilopaikalle tapahtui?

**Tulos**

Kenen päälle ajettiin?

**Tulos**

Mikä on Ben Du Toitin ammatti?

**Tulos**

Mitä tapahtui, kun Gordon Ngubene hakattiin?

**Tulos**

Kuka tallentaa asiakirjat, jotka Ben oli piilottanut?

**Tulos**

Mikä on Ben Du Toitin ammatti tarinassa?

**Tulos**

Miten asiakirjat tallennettiin?

**Tulos**

Mikä oli väärennös?

**Tulos**

Millaisia seurauksia on siitä, että Ben vie tapaukset oikeuteen?

**Tulos**

Kuka on asianajaja?

**Tulos**

Mihin asiakirjat oli piilotettu?

**Tulos**

Kuka pyytää Beniltä apua tarinan alussa?

**Tulos**

Kuka kuolee tarinan lopussa?

**Tulos**

Ketä ammuttiin kostoksi?

**Tulos**

Miksi Ben ei suostu auttamaan Gordonia?

**Tulos**

Miksi Ben päättää tukea mustien ryhmää?

**Tulos**

Mikä saa Benin muuttamaan mielensä?

**Tulos**

Missä tämä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Kuka pettää Benin ja kertoo poliisille piilopaikasta?

**Tulos**

Mitä Ben tekee lisätäkseen tietoisuutta eriarvoisuudesta ja epäoikeudenmukaisuudesta?

**Tulos**

Minkä vuoden aikana apartheid toteutui?

**Tulos**

Kuka otti Gordonin kiinni?

**Tulos**

Mistä Ben tuntee Gordonin?

**Tulos**

Kuka kiduttaa Gordenia?

**Tulos**

Miksi Gordon pyytää Beniltä apua?

**Esimerkki 3.55**

Kaksi pahaa hiirtä kuvastaa Potterin syvenevää onnellisuutta hänen ammatillisessa ja henkilökohtaisessa suhteessaan Norman Warneen ja hänen iloaan keskiluokkaisen kotiäitiyden ankaruuden ja tiukkuuden voittamisesta. Vaikka hiiret aiheuttavat tuhoa, se on pienimuotoista ja siten pikemminkin huvittavaa kuin vakavaa. Potter nautti tarinan kehittelystä, joka antoi hänelle sijaisjännitystä sellaisesta epäsopivasta käytöksestä, jota hän ei olisi koskaan harrastanut tosielämässä. tarina alkaa sanoilla "Olipa kerran" ja kuvauksella "hyvin kauniista nukkekodista", joka kuului Lucinda-nimiselle nukelle ja hänen kokki-nukelleen Janelle. Jane ei koskaan tee ruokaa, koska nukkekodin ruoka on tehty kipsistä ja "ostettu valmiina, laatikossa täynnä lastuja". Vaikka ruoka ei irtoa lautasilta, se on "erittäin kaunista".Eräänä aamuna nuket lähtevät lastentarhasta ajelulle lastenvaunuilla. Kukaan ei ole lastenhuoneessa, kun Tom Thumb ja Hunca Munca, kaksi hiirtä, jotka asuvat jalkalistan alla, kurkistavat ulos ja ylittävät sydämen verhouksen nukkekodin yli. Ne avaavat oven, astuvat sisään ja "vinkuvat riemusta", kun ne huomaavat ruokapöydän katettuna päivällistä varten. Se on "niin kätevää!" Peukalo huomaa, että ruoka on kipsiä, ja menettää malttinsa. He murskaavat kaikki pöydällä olevat astiat "pam, pam, pam, pam, pam!" ja yrittävät jopa polttaa yhden keittiön takassa olevassa "tulikuumassa rypyssä". peukalo juoksee noketonta savupiippua pitkin, kun Hunca Munca tyhjentää keittiön kanisterit punaisista ja sinisistä helmistä. Tom Thumb ottaa nukkejen mekot lipastosta ja heittää ne ikkunasta ulos, kun taas Hunca Munca vetää höyhenet nuken pehmusteista. Hunca Munca muistaa kesken ilkityönsä tarvitsevansa bolsteria, ja he vievät nukkejen bolsterin hiirenkoloonsa. He vievät mukanaan useita pieniä tavaroita nukkekodista, muun muassa kehdon, mutta lintuhäkki ja kirjahylly eivät mahdu hiirenluukusta sisään. Lastenhuoneen ovi aukeaa yhtäkkiä, ja nuket palaavat takaisin lastenrattaissaan.Lucinda ja Jane ovat sanattomina, kun he näkevät ilkivaltaa heidän talossaan. Nukkekodin omistava pikkutyttö hankkii poliisinuken ja asettaa sen ulko-ovelle, mutta hoitaja on käytännöllisempi ja asettaa hiirenloukun. Kertoja uskoo, etteivät hiiret olekaan "niin kovin tuhmia": Peukalo maksaa rikoksistaan jouluaattona nuken sukkaan laitettavalla kierolla kuuden pennin kolikolla, ja Hunca Munca hyvittää osuutensa tuhoon lakaisemalla nukkekodin joka aamu pölylapiolla ja luudalla.

**Tulos**

Mikä on sen ajoneuvon nimi, joka nukkejen hallussa on?

**Tulos**

Kenen nukkekotiin peukalo ja Hunca Munca tunkeutuvat?

**Tulos**

Minne Peukalo ja Hunca Munca vievät nukkejen pehmusteet?

**Tulos**

Kenen asema oli nukkekodin ovella?

**Tulos**

Mikä on syy siihen, että Jane ei koskaan kokkaa?

**Tulos**

Mitä hoitaja tekee?

**Tulos**

Kuka omistaa nukkekodin?

**Tulos**

Miksi Peukalo menettää malttinsa?

**Tulos**

Minkä rangaistuksen Hunca Munca sai?

**Tulos**

Kuka asettaa hiirenloukun?

**Tulos**

Mitä Peukalo heitti ikkunasta ulos?

**Tulos**

Mikä oli kahden hiiren nimi?

**Tulos**

Mitkä esineet eivät mahtuneet hiiren reiän läpi?

**Tulos**

Mikä hermostuttaa hiiret nukkekodissa?

**Tulos**

Kuka on nukkekodin kokki?

**Tulos**

Mitä laitetaan ulko-ovelle sen jälkeen, kun nukkekoti on vandalisoitu?

**Tulos**

Mitä asetetaan nukkekodin ulko-oven eteen, kun ilkivalta on havaittu?

**Tulos**

Missä Peukalo ja Hunca Munca asuvat?

**Tulos**

Miksi Jane ei koskaan kokkaa?

**Tulos**

Kuka oli Jane?

**Tulos**

Mistä Lucinda lähtee?

**Tulos**

Kuka oli Lucinda?

**Tulos**

Mikä oli Hunca Muncan rangaistus?

**Tulos**

Miksi hiiret tuhosivat nukkekodin?

**Tulos**

Miten Hunca Munca maksaa tekonsa?

**Tulos**

Kuka asetti hiirenloukun?

**Tulos**

Kuka heittää nuken mekot ikkunasta ulos?

**Tulos**

Mitä hiiret tekivät, kun ne tuhosivat nukkekodin?

**Tulos**

Kuka tyhjentää punaiset ja siniset kanisterit?

**Tulos**

Mitä Peukalo-Tom ja Hunca Munca tekevät havaittuaan, että ruoka on kipsiä?

**Esimerkki 3.56**

Kun herra McGregor ja hänen vaimonsa lähtevät keikallaan kotoa, Benjamin Pupu ja hänen serkkunsa Peter Jänis uskaltautuvat herra McGregorin puutarhaan noutamaan sinne kadonneet vaatteet Peter Jäniksen tarinassa. He löytävät sinisen takin ja ruskeat kengät variksenpelättimeltä, mutta Peter ei uskalla viipyä puutarhassa aiempien kokemustensa vuoksi. Benjamin viivyttää heidän lähtöään keräämällä sipuleita, jotka hän käärii Peterin nenäliinaan toivoen voivansa antaa ne tädilleen, Peterin äidille. Sitten Benjamin lähtee kävelylle puutarhaan, ja Peter seuraa häntä yhä hermostuneempana. erään kulman takana he näkevät kissan ja piiloutuvat korin alle, mutta kissa istuu korin päällä tuntikausia ja vangitsee kaksikon. Benjaminin isä tulee puutarhaan etsimään poikaansa. Hän ajaa kissan pois korista ja lukitsee sen kasvihuoneeseen ja pelastaa sitten Benjaminin ja Peterin. Mutta hän myös rankaisee heitä siitä, että he menivät herra McGregorin puutarhaan, ruoskimalla heitä mukanaan tuomallaan ruoskalla. Kotiin päästyään Peter antaa sipulit äidilleen, joka antaa hänen seikkailunsa anteeksi, koska hän on saanut takkinsa ja kenkänsä takaisin. Hänen palattuaan herra McGregor on ymmällään variksenpelättimen puuttuvista vaatteista ja kasvihuoneeseen lukitusta kissasta.

**Tulos**

Mitä Peter Rabbit menetti herra McGregorin puutarhassa?

**Tulos**

Miten Benjaminin isä nuhteli Benjaminia ja Pietaria?

**Tulos**

Kuka sai sipulit Pietarilta?

**Tulos**

Miksi Pietari pelkää olla puutarhassa?

**Tulos**

Kuka pelastaa Peterin ja Benjaminin?

**Tulos**

Mitä Benjamin kerää kotiin viemisiksi tädilleen?

**Tulos**

Mihin Benjamin laittoi sipulit?

**Tulos**

Millä Benjamin kerää sipuleita?

**Tulos**

Kuka pelasti Pietarin ja Benjaminin korin alta?

**Tulos**

Miten Peter ja Benjamin ovat sukua toisilleen?

**Tulos**

Mitä Peter menetti herra McGregorin puutarhassa?

**Tulos**

Mitä vaatekappaleita serkut saivat talteen?

**Tulos**

Mitä Peter menetti herra McGregorin puutarhassa?

**Tulos**

Mikä on Benjamin Pupun suhde Peter Rabbitiin?

**Tulos**

Kenen tontille Benjamin Pupu ja Peter Jänis hiipivät?

**Tulos**

Mikä hämmentää herra McGregoria, kun hän palaa kotiin?

**Tulos**

Mitä kissa teki korille sen jälkeen, kun Benjamin ja Peter olivat piiloutuneet korin alle?

**Tulos**

Millä Benjamin käärii sipulit?

**Tulos**

Mihin kissa päätyy tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka pelastaa kaksi serkkua, kun he jäävät loukkuun?

**Tulos**

Kenelle Pietari antaa sipulit?

**Tulos**

Mikä vangitsee Pietarin ja Benjaminin korin alle?

**Tulos**

Mistä he löytävät Pietarin vaatteet?

**Tulos**

Mistä serkut löytävät vaatteet?

**Tulos**

Mikä saa Pietarin ja Benjaminin piiloutumaan korin alle?

**Tulos**

Kuka lähti kotiin herra McGregorin kanssa?

**Tulos**

Kuka vangitsee serkut koriin?

**Tulos**

Miltä Peteristä tuntuu olla taas herra McGregorin puutarhassa?

**Tulos**

Mitä variksenpelättimestä oli kadonnut, kun herra McGregor lähti kotiin?

**Tulos**

Missä kissa on, kun herra McGregor palaa kotiin?

**Esimerkki 3.57**

Holden McNeil (Ben Affleck) ja Banky Edwards (Jason Lee) ovat sarjakuvataiteilijoita ja elinikäisiä ystäviä. Holden on kaksikon ystävällinen, lempeämpi puoli, Banky puolestaan on äänekäs ja tulinen puoli. Kaikki sujuu hyvin, kunnes he tapaavat sarjakuvataiteilijatoverinsa Alyssa Jonesin (Joey Lauren Adams) New Yorkin sarjakuvakokouksessa, jossa he mainostavat sarjakuvaansa Bluntman and Chronic. Holden on ihastunut Alyssaan, mutta saa pian tietää, että tämä on ihastunut naisiin. He alkavat hengailla yhdessä, ja heidän välilleen kehittyy syvä ystävyys. Lopulta Holden ei enää pysty hillitsemään tunteitaan ja tunnustaa rakkautensa Alyssaa kohtaan. Alyssa on aluksi vihainen hänelle, mutta vielä samana yönä he aloittavat romanttisen suhteen.Tämä uusi kehitys pahentaa Holdenin ja Bankyn välistä jännitettä, sillä Banky vihaa Alyssaa ja suhtautuu häneen epäluuloisesti, ja häntä häiritsee hänen ja Holdenin suhde. Banky tutkii ja paljastaa likaa Alyssan menneisyydestä, ja hän raportoi Holdenille, että Alyssa osallistui lukioaikana kolmen kimppakivaan kahden pojan kanssa, mistä hän sai lempinimen "Sormimansetit". Holden on syvästi järkyttynyt tästä paljastuksesta, sillä hän on aiemmin uskonut, että hän on ensimmäinen mies, jonka kanssa Alyssa on maannut. Hän kohtaa Alyssan vihaisena jääkiekkopelissä ja yrittää kömpelösti houkutella Alyssan tunnustamaan. Kyynelehtivän riidan aikana Alyssa kertoo Holdenille "monista" nuoruuden seksikokeiluistaan. Hän pyytää anteeksi sitä, että antoi Aholdenin uskoa, että hän oli ainoa mies, jonka kanssa hän oli ollut yhdessä. Nainen ei kuitenkaan suostu pyytämään anteeksi menneisyyttään, ja Holden lähtee pois pettyneenä ja raivoissaan.Myöhemmin lounaalla Jayn ja Silent Bobin (Jason Mewes ja Kevin Smith) kanssa Silent Bob paljastaa olleensa aikoinaan samanlaisessa suhteessa kuin Holden. Huolimatta siitä, että hän oli rakastunut tyttöystäväänsä Amyyn, hänen neuroosinsa tämän seikkailunhaluisesta seksuaalisesta menneisyydestä sai hänet sabotoimaan suhdetta ja jättämään Amyn. Hän on vihainen itselleen siitä, että oli päästänyt Amyn menemään, ja "on siitä lähtien viettänyt joka päivä niin sanotusti Amyn perässä." Hiljaisen Bobin tarina liikuttaa Holdenia, ja hän laatii suunnitelman, jolla hän voi korjata sekä suhteensa Alyssaan että vieraantuneen ystävyytensä Bankyn kanssa. Hän kutsuu heidät molemmat kylään ja kertoo Alyssaa, että hän haluaisi päästä yli hänen menneisyydestään ja pysyä hänen poikaystävänään. Hän myös kertoo Bankylle ymmärtävänsä, että Banky on rakastunut häneen suutelemalla häntä intohimoisesti todistaakseen asian. Holden ehdottaa kolmen kimppaa. Vaikka Banky on aluksi järkyttynyt, hän suostuu osallistumaan, kun taas Alyssa selittää Holdenille, ettei se pelasta heidän suhdettaan. Ennen lähtöä hän toteaa rakastavansa Hollynya, mutta ei aio olla hänen "huoransa". Myös Banky lähtee asunnosta, mikä päättää heidän ystävyytensä välittömästi.Vuotta myöhemmin Banky ja Holden ovat molemmat kiireisiä mainostamaan omia sarjakuviaan New Yorkin messuilla. Paljastuu, että Holden on purkanut heidän kumppanuutensa Bluntmanin ja Chronicin suhteen, jolloin katsoja voi olettaa, että hän myi julkaisu- ja luomisoikeudet Bankylle (mikä vahvistetaan Jay and Silent Bob Strike Backin alussa). Banky hymyilee surullisesti nähdessään vanhan ystävänsä, joka onnittelee häntä hiljaisesti menestyksestä omalla sarjakuvallaan. Banky osoittaa Alyssan isännöimälle kojulle ja rohkaisee Holdenia sanattomasti menemään juttelemaan Alyssan kanssa. Holden käy lyhyen, hiljaisen tunteikkaan keskustelun Alyssan kanssa ja antaa tälle kopion Chasing Amysta, uudesta sarjakuvastaan, joka perustuu heidän epäonnistuneeseen suhteeseensa. Holdenin lähdettyä Alyssan uusi tyttöystävä (Virginia Smith) saapuu paikalle ja kysyy, kenen kanssa hän puhui. Ravistunut, sumuisin silmin katsova Alyssa teeskentelee välinpitämättömyyttä ja vastaa: "Ai, vain joku kaveri, jonka tunsin".

**Tulos**

Kuka hahmoista tuntee myötätuntoa Holdenia kohtaan, koska hän oli aiemmin samankaltaisessa tilanteessa?

**Tulos**

Kun Holden tajuaa rakastuneensa Alyssaan, mitä hän saa tietää tämän romanttisista mieltymyksistä?

**Tulos**

Mihin Holden, Banky ja Alyssa päätyvät tarinan lopussa jälleen yhdessä?

**Tulos**

Mitä likaa Banky löytää, kun hän yrittää mustamaalata Alyssaa?

**Tulos**

Mikä on Holdenin ja Bankyn yhdessä kirjoittaman sarjakuvan nimi?

**Tulos**

Keneen Banky on rakastunut?

**Tulos**

Mitä Alyssa sanoo Holdenille, ettei hänestä tule koskaan mitään?

**Tulos**

Minkä supersankariduon Holden ja Banky ovat luoneet yhdessä?

**Tulos**

Mitä Holden päättelee suhteestaan Bankyyn, kun hän yrittää korjata heidän ystävyyttään?

**Tulos**

Miksi Holden on niin järkyttynyt kuullessaan Alysan menneisyydestä?

**Tulos**

Kuka keksi ilmauksen chasing Amy?

**Tulos**

Mikä oli Alyssan lempinimi lukiossa?

**Tulos**

Mihin sukupuoleen Alyssa vetoaa eniten?

**Tulos**

Mitä Holden antaa Alysalle vuotta myöhemmin sarjakuvakokouksessa?

**Tulos**

Kuka suostuu kolmen kimppakivaan Holdenin ja Alyssan kanssa?

**Tulos**

Mitä Banky saa selville, mitä Alyssa teki lukioaikana?

**Tulos**

Keneen Holden rakastuu?

**Tulos**

Missä Holden tapaa Alyssan?

**Tulos**

Mitä Holden ja Banky tekevät työkseen?

**Tulos**

Miksi Alyssa ei aluksi ole kiinnostunut Holdenista?

**Tulos**

Mitä Holden tekee Bankylle todistaakseen, että Banky rakastaa Holdenia?

**Tulos**

Minkä nimen Holden antaa uudelle sarjakuvalleen, joka perustuu hänen epäonnistuneeseen suhteeseensa Alyssaan?

**Tulos**

Kumpi Holdenin ja Bankyn hahmoista on tunnetusti lempeämpi?

**Tulos**

Missä Holden ja Alyssa ovat, kun Holden puhuu Alyssaa tämän menneisyydestä?

**Tulos**

Mitä Holden ehdottaa Bankylle ja Alyssa Holdenin tilalle?

**Tulos**

Minkä lempinimen Alyssa oletettavasti sai väitetystä kolmikosta?

**Tulos**

Miten Alyssa reagoi, kun Holden tunnustaa rakkauttaan hänelle?

**Tulos**

Mitä Holden ehdottaa Alysalle ja Bankylle heidän suhteensa pelastamiseksi?

**Tulos**

Missä Holden kohtaa Alyssan vihaisesti väitetystä kolmen kimppakivasta?

**Tulos**

Mikä on Holdenin sarjakuvan nimi sen jälkeen, kun hän on menettänyt Alysan?

**Esimerkki 3.58**

Tohtori Watson kutsutaan hoitamaan Holmesia, joka ilmeisesti kuolee harvinaiseen tautiin, jonka hän on saanut tutkiessaan tapausta. Watson oli järkyttynyt kuultuaan ystävänsä sairaudesta. Rouva Hudson kertoo, että Holmes ei ole syönyt eikä juonut mitään kolmeen päivään.Holmes kehottaa Watsonia olemaan tulematta hänen lähelleen, koska sairaus on erittäin tarttuva. Vaikka Watson haluaisi tutkia Holmesin itse tai kutsua erikoislääkärin, Holmes vaatii Watsonia odottamaan useita tunteja ennen avun hakemista. Niinpä Watson joutuu odottamaan äärimmäisen huolestuneena, kun Holmes mutisee hölynpölyä.Odottaessaan Watson tutkii useita esineitä Holmesin huoneessa. Holmes suuttuu, kun Watson koskettaa esineitä selittäen, ettei hän pidä siitä, että hänen tavaroihinsa kosketaan. kello kuudelta Holmes käskee Watsonia sytyttämään kaasulampun, mutta vain puoliksi täyteen. Sitten hän käskee Watsonia tuomaan herra Culverton Smithin Lower Burke Street 13:sta tapaamaan Holmesia, mutta varmistamaan, että Watson palaa Baker Streetille ennen Smithin saapumista.Watson menee Smithin osoitteeseen. Vaikka Smith kieltäytyy tapaamasta ketään, Watson tunkeutuu väkisin sisään. Kun Watson selittää asiansa Sherlock Holmesin puolesta, Smithin asenne muuttuu jyrkästi. Smith suostuu tulemaan Baker Streetille puolen tunnin kuluessa. Watson vapautuu sanomalla, että hänellä on toinen tapaaminen, ja palaa Baker Streetille ennen Smithin saapumista. uskoen, että he ovat kahden, Smith on rehellinen Holmesille. Pian käy ilmi piileskelevän Watsonin kauhuksi, että Holmes on sairastunut samaan sairauteen, joka tappoi Smithin veljenpojan Victorin. Sitten Smith näkee pienen norsunluurasian, jonka hän oli lähettänyt Holmesille postitse ja jossa on sairauden saastuttama terävä jousi. Smith pussittaa sen ja poistaa todisteet rikoksestaan. Sitten hän päättää jäädä katsomaan Holmesin kuolemaa.Holmes pyytää Smithiä kääntämään kaasun täysille, minkä Smith tekee. Smith kysyy sitten Holmesilta, haluaisiko hän vielä jotain muuta, mihin Holmes vastaa enää kuoleman lähellä olevan miehen äänellä "tulitikku ja savuke". Tarkastaja Morton astuu sitten sisään täysi kaasunvalo oli merkki siirtyä sisään. Holmes kehottaa Mortonia pidättämään Culverton Smithin veljenpoikansa murhasta ja ehkä myös Sherlock Holmesin murhayrityksestä. Smith, joka on edelleen yhtä ylimielinen kuin aina, huomauttaa, että hänen sanansa on oikeudessa yhtä hyvä kuin Holmesin sana, mutta Holmes pyytää sitten Watsonia astumaan esiin verhon takaa, jotta hän voisi esiintyä toisena keskustelun todistajana." Holmes ei koskaan ollut oikeasti kuolemassa. Hänen teeskennelty sairautensa oli juoni, jolla hän sai Smithin tunnustamaan veljenpoikansa murhan. Holmes ei saanut tartuntaa pienestä laatikosta; hänellä on tarpeeksi vihollisia tietääkseen, että hänen on aina tutkittava postinsa huolellisesti ennen kuin hän avaa sen. Näännyttämällä itsensä nälkään kolmen päivän ajan,ja väittämällä "taudin" tarttuvuutta oli tarkoitus estää Watsonia tutkimasta häntä ja paljastamasta temppua.

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun tohtori Watson saapuu Lower Burke Street 13:een?

**Tulos**

Mitä tohtori Watson tekee, mikä ärsyttää Holmesia?

**Tulos**

Kenelle Watsonin pitäisi antaa Holmesin viesti?

**Tulos**

Mitä Watsonin pitäisi tehdä Holmesin hieronnan toimittamisen jälkeen?

**Tulos**

Miksi tohtori Watson kutsuttiin hoitamaan Holmesia?

**Tulos**

Miksi Homes suuttuu Watsonista?

**Tulos**

Kuinka kauan Watson näännytti itseään nälkään, jotta hän näyttäisi sairaalta?

**Tulos**

Mitä Holmes pyytää tohtori Watsonia tekemään kello 18.00?

**Tulos**

Miksi Holmes pyysi Watsonia palaamaan Baker streetille?

**Tulos**

Miten Holmes saattoi saada tämän sairauden?

**Tulos**

Miltä Holmesista tuntui, kun Watson kosketti hänen huoneessaan olevia esineitä?

**Tulos**

Mitä Smith lähetti Holmesille yrittäessään tartuttaa hänet?

**Tulos**

Mikä oli merkki, jolla komisario Morton tuli sisään?

**Tulos**

Miksi Watson kutsuttiin Baker Streetille?

**Tulos**

Mikä oli Holmesin tarkoitus, kun hän antoi herra Smithin sytyttää kaasuvalot täyteen?

**Tulos**

Mitä tohtori Watson kuulee Holmesin asunnolla?

**Tulos**

Miksi Homes ei anna Watsonin tutkia häntä?

**Tulos**

Kenet herra Smith tappoi aiemmin?

**Tulos**

Kuka on Morton?

**Tulos**

Mikä on se salaisuus, jonka Holmes piti piilossa kaikilta tutkiessaan tätä tapausta?

**Tulos**

Miksi Watson piiloutui kuvaruudun taakse?

**Tulos**

Mikä oli merkki, jonka perusteella komisario Morton astui huoneeseen?

**Tulos**

Mitä muuta Holmes pyytää herra Smithiltä?

**Tulos**

Mitä Watson uskoi Holmesin olevan vialla?

**Tulos**

Mitä Holmes neuvoo ensin tohtori Watsonia torjumaan tätä sairautta?

**Tulos**

Minne Homes käskee Watsonin mennä?

**Tulos**

Mikä oli Holmesin tarkoitus teeskennellä kuolevansa?

**Tulos**

Mitä todisteita Smith laittoi taskuunsa?

**Esimerkki 3.59**

Barbra (Judith O'Dea) ja Johnny Blair (Russell Streiner) ajavat Pennsylvanian maaseudulle vieraillakseen vuosittain isänsä haudalla. Barbara joutuu oudon miehen (Bill Hinzman) hyökkäyksen kohteeksi. Johnny yrittää pelastaa siskonsa, mutta mies heittää hänet hautakiveä vasten; Johnny lyö päänsä kiveen ja jää tajuttomaksi. Auton kanssa sattuneen onnettomuuden jälkeen Barbara pakenee jalkaisin muukalaisen takaa-ajamana ja saapuu myöhemmin maalaistalolle, jossa hän löytää runnellun naisen ruumiin. Paetessaan talosta hän kohtaa outoja uhkaavia hahmoja, jotka muistuttavat hautausmaalla ollutta miestä. Ben (Duane Jones) vie hänet taloon, ajaa "hirviöt" pois ja sulkee ovet ja ikkunat. Koko yön ajan Barbra vajoaa hitaasti sokin ja mielenvikaisuuden tainnuttamaksi.Ben ja Barbra eivät tiedä, että maalaistalossa on kellari, jossa asuu vihainen aviopari Harry (Karl Hardman) ja Helen Cooper (Marilyn Eastman) sekä heidän tyttärensä Karen (Kyra Schon). He hakivat turvaa sen jälkeen, kun joukko samoja hirviöitä kaatoi heidän autonsa. Tom (Keith Wayne) ja Judy (Judith Ridley), teini-ikäinen pariskunta, saapuivat paikalle kuultuaan hätälähetyksen brutaalien murhien sarjasta. Karen on sairastunut vakavasti saatuaan yhden hirviön pureman. He uskaltautuvat yläkertaan, kun Ben kytkee radion päälle, kun Barbra herää tainnuttelustaan. Harry vaatii kaikkia piiloutumaan kellariin, mutta Ben pitää sitä "kuolemanloukkuna" ja jatkaa yläkertaan barrikadoimaan talon Tomin avulla.Radioselostuksissa kerrotaan, että joukkomurhien aalto pyyhkäisee Yhdysvaltojen itäosissa. Ben löytää television, ja he näkevät hätälähetystoimittajan (Charles Craig) raportin, jonka mukaan äskettäin kuolleet ovat heränneet henkiin ja syövät elävien lihaa. Asiantuntijat, tiedemiehet ja Yhdysvaltain armeija eivät löydä syytä, vaikka eräs tiedemies epäilee avaruusluotaimen aiheuttamaa radioaktiivista saastumista. Se palasi Venukselta ja räjäytettiin tahallaan Maan ilmakehässä, kun säteily havaittiin. ben aikoo hankkia Karenille lääkärinhoitoa, kun raporteissa luetellaan paikallisia pelastuskeskuksia, jotka tarjoavat turvapaikkaa ja turvaa. Ben ja Tom tankkaavat Benin kuorma-auton, kun taas Harry heittelee "epäkuolleita" molotovin cocktaileja yläikkunasta. Judy seuraa häntä peläten Tomin turvallisuutta. Tom kaataa vahingossa bensiiniä kuorma-auton päälle sytyttäen sen tuleen. Tom ja Judy yrittävät ajaa kuorma-auton pois pumpun luota, mutta Judy ei saa itseään irti sen ovesta, ja kuorma-auto räjähtää, jolloin Tom ja Judy kuolevat välittömästi; epäkuolleet syövät heti hiiltyneet jäännökset.Ben palaa taloon, mutta Harry lukitsee hänet ulos. Lopulta Ben pääsee väkisin takaisin sisään, ja hän hakkaa Harryn tämän pelkuruudesta suuttuneena, samalla kun epäkuolleet syövät Tomin ja Judyn jäänteitä. Uutisraportti paljastaa, että vain laukaus tai kova isku päähän voi pysäyttää heidät, sen lisäksi, että "uudelleen aktivoidut ruumiit" sytytetään tuleen. Siinä kerrotaan myös, että aseistetut miehet partioivat maaseudulla palauttaakseen järjestyksen. valot sammuvat hetkeä myöhemmin, ja epäkuolleet murtautuvat barrikadien läpi. Harry tarttuu Benin kivääriin ja uhkaa ampua hänet, mutta Ben vääntää aseen pois ja ampuu. Harry kompuroi kellariin ja lyyhistyy Karenin viereen kuolettavasti haavoittuneena. Myös hän on kuollut sairauteensa. Epäkuolleet yrittävät vetää Heleniä ja Barbraa ikkunoiden läpi, mutta Helen vapautuu. Hän palaa kellarin suojiin nähdäkseen, että Karen on herännyt henkiin ja syö Harryn ruumista. Helen jähmettyy shokkiin, ja Karen puukottaa hänet kuoliaaksi muurauslastalla. Barbra, joka näkee Johnnyn epäkuolleiden joukossa, joutuu lauman vietäväksi ja ahmittavaksi. Kun epäkuolleet valtaavat talon, Ben sulkeutuu kellariin, jossa Harry ja Helen elvyttävät, ja hänen on pakko ampua heidät. seuraavana aamuna Ben herää ulkona olevien joukkojen laukauksiin. Hän uskaltautuu yläkertaan. Eräs osaston jäsen luulee häntä yhdeksi epäkuolleista ja ampuu häntä otsaan. Elokuva päättyy valokuvamontaasiin Benistä, kun hänen ruumiinsa heitetään joukkueen nuotioon.

**Tulos**

Mitä Helen näkee, kun hän kävelee takaisin kellariin?

**Tulos**

Mikä erään tutkijan mielestä aiheutti taudin puhkeamisen?

**Tulos**

Miksi Barbra ja Johnny ovat matkalla Pennsylvaniaan?

**Tulos**

Ketä tarinan lopussa poliisipartio luulee epäkuolleeksi ja ampuu päähän?

**Tulos**

Mitä maalaistalon asukkaat näkevät, kun he laittavat television päälle?

**Tulos**

Kuka auttaa Beniä linnoittautumaan taloon?

**Tulos**

Mikä uutisraportin mukaan tappaisi hirviöt?

**Tulos**

Mitä tapahtuu välittömästi sen jälkeen, kun sähköt katkeavat maalaistalossa?

**Tulos**

Kuka lukitsee Benin ulos talosta rekan räjähdyksen jälkeen?

**Tulos**

Miten televisioraportissa sanotaan, että epäkuolleita voidaan tappaa?

**Tulos**

Miksi Karen sairastui vakavasti?

**Tulos**

Miksi Ben voittaa Harryn?

**Tulos**

Mitä Harry heittää ikkunasta epäkuolleita kohti, kun Ben ja Tom tankkaavat rekkaa?

**Tulos**

Mikä voi pysäyttää epäkuolleet, päähän kohdistuvien vammojen lisäksi?

**Tulos**

Kuka kuolee, kun rekka räjähtää?

**Tulos**

Miksi Karen on sairas?

**Tulos**

Kuka selviää yöstä?

**Tulos**

Mitä Helen näki palattuaan kellariin?

**Tulos**

Millä Karen puukottaa Helenin?

**Tulos**

Miten Tom ja Judy kuolevat?

**Tulos**

Mitä maatilan kellarissa piileskelee?

**Tulos**

Mitä televisiossa esitetyssä hätäuutislähetyksessä sanottiin?

**Tulos**

Mitä tiedemies epäilee epidemian aiheuttaneen?

**Tulos**

Mitä Barbralle tapahtuu ensimmäisen yön aikana talossa?

**Tulos**

Missä Harry, Helen ja Karen piileskelivät, kun Ben ja Barbra pakenivat ensimmäistä kertaa maalaistaloon?

**Tulos**

Kuka on viimeinen hahmo, joka kuolee tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka lukitsee Benin ulos talosta?

**Tulos**

Miksi Barbra ja Johnny menevät hautausmaalle?

**Tulos**

Miten Ben kuolee?

**Tulos**

Mitä Barbra löytää maatilalta?

**Esimerkki 3.60**

Rouva Tittlemouse on tarina, jossa ihmisillä ei ole osuutta ja jossa tapahtumia käsitellään ikään kuin ne olisivat tapahtuneet ikimuistoisista ajoista lähtien ja kaukana ihmisten huomiosta. Se on yksinkertainen tarina, joka todennäköisesti vetoaa pieniin lapsiin. rouva Tittlemouse on "hirveän siisti pieni hiiri, joka aina lakaisee ja pyyhkii pölyt pehmeiltä hiekkapohjilta" käytävien ja varastojen, pähkinä- ja siemenkellareiden "pihoilla ja pihoilla" "hassussa talossaan" pensasaidan juurien keskellä. Sillä on keittiö, olohuone, ruokakomero, ruokakomero ja makuuhuone, jossa se pitää pölylasta ja harjaa pienen laatikkovuoteensa vieressä. Hän yrittää pitää talonsa siistinä, mutta hyönteisten tunkeilijat jättävät likaisia jalanjälkiä lattioille ja kaikenlaista sotkua ympäriinsä. kuoriainen hätistetään pois, leppäkerttu manataan pois "Lennä pois kotiin!" -lauseella. Talosi on tulessa!", ja neiti Muffetin perään kyselevä hämähäkki käännytetään pois vähin äänin. Eräässä kaukaisessa käytävässä rouva Tittlemouse tapaa Babbitty Bumble -kimalaisen, joka on asettunut kolmen tai neljän muun mehiläisen kanssa asumaan yhteen tyhjistä varastohuoneista. Rouva Tittlemouse yrittää repiä pesän irti, mutta ne pörisevät hänelle kiivaasti, ja hän vetäytyy hoitamaan asiaa päivällisen jälkeen. olohuoneessa hän löytää rupinaapurinsa herra Jacksonin istumasta takkatulen ääressä keinutuolissa. Herra Jackson asuu "pensasaidan alla olevassa ojassa, hyvin likaisessa märässä ojassa". Hänen takkinsa hännänvarresta valuu vettä, ja hän jättää märkiä jalanjälkiä rouva Tittlemousen olohuoneen lattialle. Rouva Tittlemouse sallii Jacksonin jäädä päivälliselle, mutta ruoka ei maistu hänelle, ja hän penkoo kaappia etsien hunajaa, jonka hän haistaa. Hän löytää perhosen sokerikulhosta, mutta kun hän löytää mehiläiset, hän sotkee niiden pesän. Rouva Tittlemouse pelkää menevänsä sekasorron seurauksena "sekaisin" ja hakeutuu pähkinäkaappiin. Kun hän lopulta uskaltautuu ulos, hän huomaa, että kaikki ovat lähteneet, mutta hänen kotinsa on sekaisin. Hän ottaa sammalta, mehiläisvahaa ja oksia sulkeakseen osittain etuoven pitääkseen herra Jacksonin ulkona. Uupuneena se menee nukkumaan ja miettii, tuleeko hänen talostaan enää koskaan siisti.Vaativa pikkuhiiri viettää kaksi viikkoa kevätsiivousta. Hän hieroo huonekalut mehiläisvahalla ja kiillottaa pienet peltilusikkansa, ja sitten hän järjestää juhlat viidelle muulle pienelle puuhiirelle, jotka ovat pukeutuneet Regency-pukuihin. Herra Jackson osallistuu, mutta joutuu istumaan ulkona, koska rouva Tittlemouse on sulkenut ovensa. Hän ei loukkaannu siitä, että hänet on suljettu salongista. Hänelle ojennetaan ikkunasta tammenterhokupillinen hunajamehua, ja hän kohottaa maljan rouva Tittlemousen terveydeksi.

**Tulos**

Kuka jättää likaisia jalanjälkiä rouva Tittlemousen kodin lattialle?

**Tulos**

Mikä on sen mehiläisen nimi, jonka rouva Tittlemouse tapaa?

**Tulos**

Mitä herra Jackson etsii, kun hän tutkii rouva Tittlemousen kaappeja?

**Tulos**

Mille herra Jackson kohottaa maljan rouva Tittlemousen juhlissa?

**Tulos**

Missä herra Jackson asuu?

**Tulos**

Kun herra Jackson jää päivälliselle, mitä hän löytää rouva Tittlemousen sokerikulhosta?

**Tulos**

Mitä on tammenterhokupeissa, joita rouva Tittlemouse jakaa juhlissaan?

**Tulos**

Kuka kyselee neiti Muffetista?

**Tulos**

Mitä herra Jackson löytää sokerikulhosta?

**Tulos**

Mikä Jacksonin sulkeutumisessa oleva artikkeli valuu veteen?

**Tulos**

Millainen eläin on rouva Tittlemousen naapuri, herra Jackson?

**Tulos**

Millaisia hyönteisiä rouva Tittlemouse löytää varastostaan?

**Tulos**

Millä rouva Tittlemouse sulkee etuoven osittain?

**Tulos**

Kun herra Jackson on tehnyt valtavan sotkun, minne rouva Tittlemouse suojautuu?

**Tulos**

Kuka osallistuu rouva Tittlemousen juhliin?

**Tulos**

Kenet rouva Tittlemouse käskee lentämään kotiin?

**Tulos**

Kuka asuu hyvin likaisessa märässä ojassa?

**Tulos**

Mitä rouva Tittlemouse pitää sänkynsä vieressä?

**Tulos**

Kuinka kauan rouva Tittlemouse vietti kevätsiivouksen talossaan?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun rouva Tittlemouse yrittää poistaa mehiläispesän?

**Tulos**

Ketä hämähäkki etsii?

**Tulos**

Miksi rouva Tittlemouse sulki ulko-oven osittain?

**Tulos**

Missä sijaitsee rouva Tittlemousen talo?

**Tulos**

Mihin rouva Tittlemouse hakeutuu suojaan päästäkseen eroon naapureistaan?

**Tulos**

Mitä herra Jackson etsii, kun hän penkoo kaappeja?

**Tulos**

Millaisissa kupeissa honeydew tarjoillaan rouva Tittlemousen juhlissa?

**Tulos**

Mihin mehiläiset ovat asettuneet asumaan?

**Tulos**

Ketä rouva Tittlemousen luona vieraileva hämähäkki etsii?

**Esimerkki 3.61**

Jack (George Clooney), aseseppä ja palkkamurhaaja, ja hänen rakastettunsa Ingrid (Irina Björklund) rentoutuvat Ruotsissa. Jack säikähtää lumessa olevia jalanjälkiä ja vetää Ingridin suojaan. Tarkka-ampujan laukaukset kuuluvat. Ingrid näkee Jackin vetävän aseen taskustaan ja ampuvan lähestyvän tarkka-ampujan. Tietäen, että hänen henkilöllisyytensä on vaarassa, Jack ampuu ja tappaa Ingridin epäröimättä. Hän pakenee Roomaan ja ottaa yhteyttä yhteyshenkilöönsä Paveliin (Johan Leysen), joka vaatii, ettei Jack voi jäädä Roomaan. Pavel lähettää hänet Castelvecchioon (pieni kaupunki Abruzzon vuoristossa). Jack hermostuu, ja hävittää Pavelin hänelle antaman matkapuhelimen ja lähtee sen sijaan läheiseen Castel del Monteen, Abruzzoon.Abruzzossa Jack ottaa yhteyttä Paveliin, joka järjestää hänelle uuden työn. Hän tapaa Mathilden (Thekla Reuten), joka haluaa hänen rakentavan erikoisvalmisteisen tarkka-ampujakiväärin salamurhaa varten. Hän alkaa myös holhota prostituoitua Claraa (Violante Placido), ja he aloittavat liikesuhteesta erillisen suhteen. Jack tapaa Mathilden testatakseen asetta. Mathilde on vaikuttunut käsityötaidosta, mutta pyytää miestä tekemään vielä muutamia muutoksia. Myöhemmin Jack tajuaa, että häntä seuraa Ruotsista tullut salamurhaaja, jonka hän tappaa.Jackia piinaavat unet Ruotsin tapahtumista ja hän katuu Ingridin tappamista. Ystävyys ja keskustelut paikallisen papin, isä Benedetton (Paolo Bonacelli) kanssa rohkaisevat häntä kyseenalaistamaan elämänvalintojaan. Mathilde ja Clara huomaavat Jackin yhteyden perhosiin, Mathilde hänen uhanalaisia perhosia koskevan asiantuntemuksensa ja Clara hänen näkyvän tatuointinsa perusteella. Kun isä Benedetto kertoo Jackille, että hän tuntee elävänsä erityisessä helvetissä, "paikassa, jossa ei ole rakkautta", Jack alkaa antaa itsensä tuntea rakkautta Claraa kohtaan ja visioi elämää Claran kanssa.Jack puhuu vielä viimeisen kerran Pavelin kanssa ja kysyy, miten ruotsalaiset ovat löytäneet hänet. Kasvavassa pelossaan hän jopa epäilee Claraa, kun hän löytää tämän käsilaukusta pienen pistoolin. Hän kyselee Claralta aseesta ja tyytyy Claran selitykseen (puolustautuakseen, koska lehdissä on ollut uutisia murhatuista prostituoiduista).Jack suostuu toimittamaan aseen Mathildelle viimeisenä työnään, mutta viime hetkellä hän avaa salkun ja sabotoi kiväärin. Luovutuksen yhteydessä Jack alkaa epäillä, että Mathilde aikoo tappaa hänet. Ennen kuin mitään ehtii tapahtua, paikalle saapuu bussilastillinen koululaisia. Mathilde antaa Jackille maksun, paksun kirjekuoren täynnä käteistä, ja he eroavat toisistaan. Kun Mathilde ajaa pois, Pavel ottaa häneen yhteyttä ja kysyy, onko hän tappanut Jackin. Mathilede kertoo, ettei ole, mutta sanoo seuraavansa ja tappavansa hänet.Clara tapaa Jackin kaupungin uskonnollisessa kulkueessa. Jack pyytää Clara mukaansa, ja Clara suostuu. Mathilde yrittää ampua Jackia läheiseltä katolta, mutta sabotoitu kivääri räjähtää hänen kasvoillaan. Nähdessään Mathilden putoavan katolta Jack antaa Claralle kirjekuoren täynnä käteistä ja kehottaa tätä menemään joelle, jossa he olivat piknikillä, ja odottamaan häntä. Hän juoksee jalkakäytävällä kuolevan Mathilden luo ja saa selville, että myös Mathilde työskentelee Pavelin palveluksessa.Kun Jack lähtee tapaamaan Claraa, hän kuulee Pavelin takanaan. He vaihtavat laukauksia, ja Pavel kaatuu kuolleena. Kun Jack ajaa tapaamaan Claraa joen rannalle, hän tunnustelee vatsaansa ja tajuaa, että häntä on ammuttu. Jack saapuu piknik-paikalle ja kun hän näkee Claran, hän romahtaa. Clara huutaa ja juoksee autolle. Valkoinen perhonen lentää taivaalle Jackin autosta.

**Tulos**

Mitä Mathilde haluaa Jackin tekevän?

**Tulos**

Mitä Mathilde haluaa Jackin rakentavan hänelle?

**Tulos**

Miksi Jack epäilee Claraa salamurhaajaksi?

**Tulos**

Mihin olentoon Jack on kiintynyt?

**Tulos**

Mikä on Abruzzon vuoristossa sijaitsevan kaupungin nimi?

**Tulos**

Miksi Jack sabotoi kivääriä?

**Tulos**

Missä Clara ja Jack tapasivat, kun Jack pyysi Claraa lähtemään kanssaan pois?

**Tulos**

Mikä on Jackin rakastajan nimi tarinan alussa?

**Tulos**

Mitä Jack antaa Claralle, kun hän järjestää heidän tapaamisensa?

**Tulos**

Kuka saa Jackin kyseenalaistamaan elämänvalintansa?

**Tulos**

Mikä pakenee tarinan lopussa Jackin autosta?

**Tulos**

Minne Jack menee Castelvecchion, Abruzzo sijaan?

**Tulos**

Missä Jack pyytää Claraa tapaamaan hänet?

**Tulos**

Miksi Jack huolestuu?

**Tulos**

Kuka on Jackin rakastaja?

**Tulos**

Missä Jack tapaa Pavelin?

**Tulos**

Mikä on Jackin ammatti?

**Tulos**

Mitä Mathilde pyytää Jackia rakentamaan?

**Tulos**

Mikä on Jackin yhteys perhosiin?

**Tulos**

Mikä on Jackin viimeinen työpaikka?

**Tulos**

Miten Mathilde kuolee?

**Tulos**

Mistä se salamurhaaja on kotoisin, joka seuraa Mathildea?

**Tulos**

Mikä esine Claralla on hallussaan, mikä saa Jackin epäilemään häntä?

**Tulos**

Miten Jackin suhde Ingridiin päättyy?

**Tulos**

Mitä Jackin autosta lähtevä esine nähdään loppukohtauksessa?

**Tulos**

Miksi Jack tappoi Ingridin?

**Tulos**

Mitä kiväärille tapahtuu, kun Jack aikoo toimittaa sen Mathildelle?

**Tulos**

Minne Jack menee sen sijaan, mihin Pavel hänet alun perin lähetti?

**Tulos**

Mitä Jack tekee työkseen?

**Esimerkki 3.62**

Ellen Ripley pelastetaan ajelehdittuaan avaruudessa 57 vuotta staasissa. Hänen työnantajansa Weyland-Yutani Corporationissa kuulustelevat häntä hänen aluksensa USCSS Nostromon tuhoutumisesta; he suhtautuvat epäilevästi hänen väitteisiinsä, joiden mukaan muukalainen tappoi aluksen miehistön ja pakotti hänet tuhoamaan aluksen.Exomoon LV-426, jossa Nostromo kohtasi muukalaismunat, on nyt Hadleys Hopen maanmuokkaussiirtokunnan koti. Kun yhteys Hadleys Hopeen katkeaa, Weyland-Yutanin edustaja Carter Burke ja siirtomaa-armeijan luutnantti Gorman pyytävät Ripleytä Burken ja siirtomaa-armeijan yksikön mukaan tutkimaan häiriötä. Traumatisoituneena kohtaamisestaan avaruusolennon kanssa Ripley kieltäytyy aluksi, mutta hän taipuu nähtyään toistuvia painajaisia olennosta; hän panee Burken lupaamaan, että hän tuhoaa avaruusolennot eikä vangitse niitä. Avaruusalus USS Sulacolla Ripley tutustuu siirtomaa-armeijan sotilaisiin, niiden komentajaan luutnantti Gormaniin ja androidi Bishopiin, jota kohtaan Ripley suhtautuu aluksi vihamielisesti, koska hänellä oli kokemusta Nostromon kyydissä olleesta petollisesta androidi Ashista. pudotusalus vie retkikunnan LV-426:n pinnalle, jossa he löytävät siirtokunnan autiona. Sisältä he löytävät tilapäisiä barrikadeja ja merkkejä kamppailusta, mutta ei ruumiita; kaksi elävää kasvonsyöjää lääketieteen laboratorion säiliöissä; ja yhden eloonjääneen, traumatisoituneen nuoren tytön, lempinimeltään Newt, joka käytti ilmanvaihtojärjestelmää välttääkseen vangitsemisen tai kuoleman. Miehistö käyttää siirtokunnan tietokonetta löytääkseen siirtolaiset, jotka ovat ryhmittyneet fuusiovoimalla toimivan ilmakehän käsittelyaseman alle. He suuntaavat paikalle ja laskeutuvat muukalaisten eritteiden peittämiin käytäviin. merijalkaväen sotilaat löytävät aseman keskeltä siirtolaiset koteloituneina, jotka toimivat muukalaisten jälkeläisten hautomoina. Kun merijalkaväen sotilaat tappavat vastasyntyneen muukalaisen, muukalaiset heräävät ja hyökkäävät merijalkaväen sotilaiden kimppuun tappaen ja vangiten useita. Kun kokematon Gorman joutuu paniikkiin, Ripley ottaa heidän ajoneuvonsa haltuunsa ja ajaa sen pesän läpi pelastaakseen merijalkaväen sotilaat Hicksin, Hudsonin ja Vasquezin. Hicks käskee pudotusaluksen hakea eloonjääneet, mutta salamatkustaja Alien tappaa lentäjät, jolloin alus syöksyy asemalle. Ripley, Newt, Gorman, Burke ja jäljelle jääneet merijalkaväen sotilaat linnoittautuvat siirtokunnan komentokeskukseen. Ripley saa selville, että Burke lähetti siirtolaiset tarkoituksella tutkimaan hylättyä avaruusalusta, jossa Nostromon miehistö ensimmäisen kerran kohtasi avaruusolennon munat, koska hän uskoi voivansa rikastua keräämällä avaruusolennon yksilöitä biologisiksi aseiksi. Hän uhkaa paljastaa miehen, mutta Bishop ilmoittaa ryhmälle suuremmasta vaarasta: voimalaitos vaurioitui pudotusaluksen törmäyksessä, ja se räjähtää pian 40 megatonnin lämpöydinaseen voimalla. Hän ilmoittautuu vapaaehtoiseksi ryömimään useiden satojen metrien pituisten putkijohtojen läpi päästäkseen siirtokunnan lähettimeen ja ohjaamaan Sulacon jäljellä olevaa pudotusalusta kauko-ohjatusti pinnalle.Ripley ja Newt nukahtavat lääkintälaboratoriossa, ja kun he heräävät, he huomaavat olevansa lukittuna huoneeseen, jossa on kaksi kasvonsyöjähahmoa, jotka on vapautettu säiliöistään. Ripley laukaisee palohälyttimen ja hälyttää merijalkaväen sotilaat, jotka pelastavat heidät ja tappavat olennot. Ripley syyttää Burkea siitä, että hän oli vapauttanut kasvojenpurkaajat, jotta ne olisivat hedelmöittäneet hänet ja Newtin, minkä ansiosta Burke olisi voinut salakuljettaa muukalaisten alkiot Maan karanteenin ohi, ja että hän suunnitteli tappavansa loput merijalkaväen sotilaat hypernukkumassa paluumatkan aikana, jotta kukaan ei voisi kiistää hänen versiotaan tapahtumista. Ennen kuin merijalkaväen sotilaat ehtivät tappaa Burken, sähköt katkaistaan ja muukalaiset hyökkäävät katon läpi. Hudson, Burke, Vasquez ja Gorman kuolevat, ja Newt otetaan vangiksi.Ripley ja loukkaantunut Hicks saavuttavat Bishopin toisella pudotusaluksella, mutta Ripley ei suostu hylkäämään Newtia. Ryhmä saapuu käsittelyasemalle, jolloin raskaasti aseistettu Ripley pääsee pesään ja pelastaa Newtin. Pakomatkalla he kohtaavat muukalaiskuningattaren munakammiossaan. Ripley tuhoaa munat, mikä raivostuttaa kuningattaren, joka repii itsensä irti munapesästä. Kuningattaren takaa-ajamina Ripley ja Newt tapaavat Bishopin ja Hicksin pudotusaluksella. Kaikki neljä pakenevat hetkeä ennen kuin asema räjähtää ja siirtokunta tuhoutuu ydinräjähdyksessä.Sulacolla Ripleyn ja Bishopin helpotus pakenemisesta keskeytyy, kun avaruusaluksen laskeutumisalustaan piilotettu muukalaiskuningatar ilmestyy ja repii Bishopin kahtia. Kuningatar etenee Newtin kimppuun, mutta Ripley taistelee häntä vastaan exosuit-lastin avulla ja karkottaa sen ilmalukon kautta avaruuteen. Ripley, Newt, Hicks ja pahoin vaurioitunut Bishop siirtyvät hypernukkumaan paluumatkalle Maahan.

**Tulos**

Mitä mieltä Ripley alun perin on uudesta retkikunnasta?

**Tulos**

Mikä oli Burken todellinen syy lähettää siirtolaiset tutkimaan avaruusalusta?

**Tulos**

Miten muukalaiskuningatar hiipi Sulacolle?

**Tulos**

Miksi Burke vapautti Newtin ja Ellenin naamanhalaajat?

**Tulos**

Missä kunnossa merisotilaat olivat siirtokunnassa?

**Tulos**

Miten Ellen löysi siirtolaiset fuusiovoimalla toimivan ilmakehän käsittelyaseman alta?

**Tulos**

Miksi muukalaiskuningatar hyökkäsi Ellenin kimppuun?

**Tulos**

Kuka on Newt?

**Tulos**

Mikä oli Ripleyn tuhoutuneen aluksen nimi?

**Tulos**

Miten Ripley lopulta voitti muukalaiskuningattaren?

**Tulos**

Kuinka kauan Ripley ajelehti avaruudessa?

**Tulos**

Miksi Burke lähetti siirtolaiset hylättyyn avaruusalukseen?

**Tulos**

Mikä herättää avaruusolennot niin, että ne hyökkäävät merijalkaväen kimppuun?

**Tulos**

Mikä on LV-426:n uuden siirtokunnan nimi?

**Tulos**

Miten voimalaitos on vaurioitunut?

**Tulos**

Mikä on Sulacon androidin nimi?

**Tulos**

Miten Hadleyn toivoyhdyskunta tuhoutui?

**Tulos**

Mikä oli sen aluksen nimi, joka toi eloonjääneet kotiin?

**Tulos**

Mikä oli Ripleyn aluksen nimi alkuperäisessä laskeutumisessa?

**Tulos**

Mikä oli Ripleyn pyyntö ja yksi ehto, kun hän palasi avaruuteen Gormanin kanssa?

**Tulos**

Kuka pelasti Ripleyn kasvojenhalaajilta?

**Tulos**

Miksi Ellen muutti mielensä ja päätti lähteä Burken ja Gormanin mukaan tutkimaan häiriötä?

**Tulos**

Miten Newt selvisi hyökkäyksestä siirtokuntaan?

**Tulos**

Miten Ellen voitti lopullisen välienselvittelyn muukalaiskuningattaren kanssa?

**Tulos**

Minkä vaaran Ripley kohtasi heti sen jälkeen, kun siirtokunta oli tuhoutunut ydinräjähdyksessä?

**Tulos**

Miten Newt piiloutui kaikilta ja vältti siten joutumisen vangiksi ja kuoleman?

**Tulos**

Mikä on sen eksomuunin nimi, johon Ripley palaa?

**Tulos**

Miksi Ripley luulee, että hän ja Newt olivat lukittuna huoneeseen, jossa oli facehuggereita?

**Tulos**

Kuinka kauan Ellen ajelehti avaruudessa?

**Tulos**

Mitä on lukittu laboratorioon Ripleyn ja Newtin kanssa?

**Esimerkki 3.63**

Äskettäin eronnut Meg Altman ja hänen 11-vuotias tyttärensä Sarah ovat juuri ostaneet nelikerroksisen Brownstone-kodin New Yorkin Upper West Sidesta. Talon edellinen omistaja, erakoitunut miljonääri, asensi eristetyn huoneen, jota käytettiin suojaamaan talon asukkaita tunkeilijoilta. "Paniikkihuone" on suojattu betonilla ja teräksellä joka puolelta, paksulla teräsovella ja laajalla turvajärjestelmällä, jossa on useita valvontakameroita, kuulutusjärjestelmä ja erillinen puhelinlinja. Sinä yönä, kun he muuttavat taloon, sinne murtautuvat Junior (Leto), edellisen omistajan pojanpoika, Burnham (Whitaker), asunnon vartiointiliikkeen työntekijä, ja Raoul (Yoakam), Juniorin värväämä hiihtonaamaria käyttävä asemies. Kolme etsii kolmen miljoonan dollarin haltijavelkakirjoja, jotka on lukittu paniikkihuoneen lattiakaappiin.Kun Junior huomaa, että Altmanit ovat muuttaneet taloon odotettua aikaisemmin, hän suostuttelee vastahakoisen Burnhamin, joka oletti talon olevan tyhjillään, jatkamaan ryöstöä. Kun he aloittavat ryöstön, Meg herää ja sattuu näkemään tunkeilijat paniikkihuoneen videomonitorilta. Ennen kuin kolmikko ehtii heidän luokseen, Meg ja Sarah juoksevat paniikkihuoneeseen ja sulkevat oven takanaan. He eivät pysty käyttämään huoneen puhelinta, jossa on erillinen puhelinlinja, jota Meg ei ole koskaan kytkenyt. Aikeenaan pakottaa heidät ulos huoneesta Burnham syöttää propaanikaasua huoneen tuuletusaukkoihin. Raoul, joka on ristiriidassa Burnhamin ja Juniorin kanssa, lisää kaasun määrää vaarallisesti. Koska Meg ei pysty sulkemaan tuuletusaukkoja, hän sytyttää kaasun, kun hän ja Sarah peittävät itsensä tulenkestävillä huovilla, mikä aiheuttaa räjähdyksen, joka purkautuu huoneen ulkopuolelle ja aiheuttaa tulipalon, jossa Junior loukkaantuu.Altmanit yrittävät useaan otteeseen soittaa apua, muun muassa viestittää naapurille taskulampulla tuuletusputken aukon läpi, mutta naapuri ei ota sitä huomioon. Meg napauttaa sitten pääpuhelinlinjan ja saa yhteyden ex-miehensä Stepheniin (Bauchau), ennen kuin murtovarkaat katkaisevat yhteyden.Kun kaikki yritykset päästä huoneeseen epäonnistuvat, Junior paljastaa, että kassakaapissa on paljon enemmän rahaa kuin hän on kertonut, ja luopuu ryöstöstä. Lähdössä talosta häntä ampuu Raoul, joka pakottaa Burnhamin aseella uhaten saattamaan ryöstön loppuun. Kun Stephen saapuu kotiin, Burnham ja Raoul ottavat hänet panttivangiksi ja pahoinpitelevät hänet rajusti. Kaiken kukkuraksi diabetesta sairastava Sarah saa kohtauksen. Hänen hätäglukagoniruiskunsa on jääkaapissa paniikkihuoneen ulkopuolella. Käytettyään tajutonta Stepheniä huijaamaan Megin poistumaan hetkeksi paniikkihuoneesta Burnham menee sinne ja löytää Sarahin liikkumattomana lattialta. Haettuaan ruiskun Sarahille Meg kamppailee hetken aikaa Raoulin kanssa, joka heitetään paniikkihuoneeseen, ja hänen aseensa lyödään pois hänen kädestään. Kun Meg heittää ruiskun paniikkihuoneeseen, Burnham lukitsee itsensä, Raoulin ja Sarahin raivokkaasti huoneeseen ja murskaa Raoulin käden teräksiseen liukuoveen. Meg, jolla on nyt ase, anelee äänentoistolaitteella kahta tunkeilijaa antamaan Sarahille ruiskeen. Jonkin ajan kuluttua Burnham, joka ei ole koko elokuvan aikana osoittanut minkäänlaista kiinnostusta vahingoittaa Megiä tai Sarahia, antaa Sarahille pistoksen. Samalla hän kertoo Sarahille, ettei hän halunnut tätä ja että ainoa syy, miksi hän suostui osallistumaan, oli antaa omalle lapselleen parempi elämä. Kun Burnham on antanut Sarahille injektion, Sarah kiittää häntä ja kertoo Megille, että Sarah on nyt kunnossa." Aiemmin Stepheniltä saadun puhelun jälkeen paikalle saapuu kaksi poliisia, mikä saa Raoulin uhkaamaan Sarahin henkeä. Tuntien tyttärensä mahdollisen vaaran Meg valehtelee poliiseille, ja nämä lähtevät. Sillä välin Burnham avaa kassakaapin ja ottaa sieltä 22 miljoonan dollarin haltijavelkakirjat. Kun ryöstäjät yrittävät lähteä Sarahia panttivankina käyttäen, Meg lyö Raoulia lekalla ja Burnham pakenee. Kun pahasti loukkaantunut Stephen ampuu Raoulia ja ampuu ohi, Raoul tekee hänet toimintakyvyttömäksi ja valmistautuu tappamaan Megin lekalla, mutta Burnham, kuultuaan Sarahin tuskanhuudot, palaa taloon ja ampuu Raoulin kuoliaaksi todeten Megille ja tyttärelleen ennen lähtöä: "Nyt kaikki on hyvin". Poliisi, joka on saanut hälytyksen Megin aiemmasta epäilyttävästä käytöksestä, saapuu paikalle sankoin joukoin ja ottaa kiinni Burnhamin, joka päästää haltijavelkakirjat menemään; ne lentävät tuulen mukana pois.Myöhemmin Meg ja Sarah, toipuneina järkyttävästä kokemuksestaan, alkavat etsiä sanomalehdestä uutta kotia.

**Tulos**

Kuinka vanha Megin tytär on?

**Tulos**

Miksi Burnham ruiskutti Stephenin tytärtä?

**Tulos**

Kuka murtautuu Megin kotiin?

**Tulos**

Paljonko rahaa on varkaiden etsimän esineen (esineiden) arvo?

**Tulos**

Mitä Meg ja Sarah tekivät toipumisen jälkeen?

**Tulos**

Millä Meg löi Raoulia ja sai Burnhamin pakenemaan?

**Tulos**

Kuinka monta puhelinlinjaa talossa on?

**Tulos**

Mikä on Sarahin isän nimi?

**Tulos**

Kuinka monta kertaa poliisi kävi Megin kotona?

**Tulos**

Missä Meg ja Sarah asuvat?

**Tulos**

Kuka tunkeilija auttoi sekä Sarahia että Megiä?

**Tulos**

Mitä esinettä Altmanit käyttivät yrittäessään lähettää avunpyyntöä?

**Tulos**

Miten murtovarkaat tiesivät haltijavelkakirjoista?

**Tulos**

Mikä on Megin siviilisääty?

**Tulos**

Miten Junior liittyy edelliseen omistajaan?

**Tulos**

Mitä esine(iä) varkaat tavoittelivat?

**Tulos**

Mikä on Megin tyttären nimi?

**Tulos**

Minkälaisen huoneen asensi brownstonen edellinen omistaja?

**Tulos**

Mitä Burnham pakotti tuuletusaukkojen läpi saadakseen Altmanit evakuoitua?

**Tulos**

Paljonko joukkovelkakirjojen arvo oli?

**Tulos**

Missä päin New Yorkia Meg ja Sarah asuvat?

**Tulos**

Kuinka paljon murtovarkaat tienasivat rikoksellaan?

**Tulos**

Mistä päin New Yorkia Meg osti juuri Brownstone-kodin?

**Tulos**

Kuinka vanha Meg Altamnin tytär on?

**Tulos**

Miksi Juniorin suunnitelmat joukkovelkakirjojen varastamisesta muuttuivat?

**Tulos**

Kuinka paljon velkakirjoja varkaat haluavat?

**Tulos**

Kenen Meg Altman alun perin tavoitti puhelimitse ennen kuin linja katkaistiin?

**Tulos**

Mitä varkaat havittelevat?

**Tulos**

Mistä Meg sai aseen?

**Esimerkki 3.64**

Firenze, 1492: Kristoffer Kolumbus on purjehtinut kohti Uutta maailmaa, ja Firenze on juuri surrut legendaarisen johtajansa Lorenzo de' Medicin kuolemaa. Näissä olosuhteissa firenzeläinen kauppias tapaa haaksirikkoutuneen muukalaisen, joka esittäytyy Tito Melemaksi, nuoreksi italialais-kreikkalaiseksi oppineeksi. Tito tutustuu useisiin muihin firenzeläisiin, kuten parturi Nelloon ja nuoreen tyttöön nimeltä Tessa. Hän tutustuu myös sokeaan oppineeseen Bardo de' Bardiin ja tämän tyttäreen Romolaan. Kun Tito asettuu Firenzessä aloilleen ja auttaa Bardoa klassisissa opinnoissa, hän rakastuu Romolaan. Tessa kuitenkin rakastuu Titoon, ja heidät "vihitään" teeskentelevässä seremoniassa.Tito kuulee dominikaanimunkki Fra Lucalta, että hänen adoptioisänsä on joutunut orjuuteen ja pyytää apua. Tito miettii itsekseen, vertaa lapsivelvollisuuttaan uusiin tavoitteisiinsa Firenzessä ja päättää, että olisi turhaa yrittää pelastaa adoptioisänsä. Näin Romola ja Tito pääsevät naimisiin. Fra Luca sairastuu pian tämän jälkeen, ja ennen kuolemaansa hän puhuu vieraantuneelle sisarelleen Romolalle. Romolan suunnitelmista tietämätön Fra Luca varoittaa Romolaa näystä, joka ennustaa avioliittoa Romolan ja salaperäisen muukalaisen välillä, joka tuottaa tuskaa Romolalle ja hänen isälleen. Fra Lucan kuoleman jälkeen Tito hylkää varoituksen ja neuvoo Romolaa luottamaan häneen. Tito ja Romola kihlautuvat karnevaalipäivän lopulla ja menevät naimisiin pääsiäisenä Titon palattua Rooman-vierailultaan.Romaani siirtyy sitten marraskuuhun 1494, yli puolitoista vuotta avioliiton solmimisen jälkeen. Tuona aikana Ranskan ja Italian sotien aikana Firenze on joutunut levottomiin aikoihin. Girolamo Savonarola saarnaa firenzeläisille kirkon ja kaupungin puhdistamisesta vitsauksesta ja korruptiosta ja rummuttaa tukea uudelle tasavaltalaiselle hallitukselle. Piero de' Medici, Lorenzo de' Medicin poika ja Firenzen herruuden jatkaja, on ajettu pois kaupungista, koska hän oli häpeällisesti antautunut Ranskan hyökkäävälle kuninkaalle Kaarle VIII:lle. Medicien palatsi ryöstetään ja Medicien perhe karkotetaan virallisesti kaupungista. Tässä tilanteessa Tito, joka on nyt arvostettu firenzeläisen yhteiskunnan jäsen, osallistuu ranskalaisten hyökkääjien vastaanottoon. Tito kohtaa karanneen vangin, joka osoittautuu hänen adoptioisäkseen Baldassarreksi. Paniikissa ja hieman häpeissään aiemmasta toimettomuudestaan Tito kieltää tuntevansa karanneen vangin ja kutsuu tätä hulluksi. Baldassarre pakenee Duomoon, jossa hän vannoo kostoa epäsiveelliselle adoptiopojalleen. Yhä pelokkaammaksi käyvä Tito aikoo lähteä Firenzestä. Tätä varten hän pettää muutamaa kuukautta aiemmin kuolleen appensa Bardon myymällä tämän kirjaston. Tämä paljastaa Romolalle miehensä todellisen luonteen. Romola jättää salaa Titon ja Firenzen, mutta Savonarola taivuttelee hänet palaamaan täyttääkseen velvollisuutensa avioliittoaan ja firenzeläisiä kohtaan. Romolan ja Titon välinen rakkaus on kuitenkin mennyt." Romaanin toiminta siirtyy jälleen eteenpäin, joulusta 1494 lokakuuhun 1496. Tuona aikana Firenze on kokenut poliittisia mullistuksia, sotia ja nälänhätää. Uskonnollinen kiihko on vallannut Firenzen Savonarolan johdolla, ja se on huipentunut turhuuksien nuotioon. Venetsian liitto on julistanut sodan Ranskan kuninkaalle ja tämän italialaiselle liittolaiselle Firenzelle. Nälänhätä ja taudit rehottavat kaupungissa. Romola, joka on nyt Savonarolan kannattaja, auttaa köyhiä ja sairaita mahdollisuuksiensa mukaan. Samaan aikaan Tito on sekaantunut monimutkaiseen poliittiseen peliin, jossa Firenzen uusi hallitus pelaa poliittisia manöövereitä ja kaksinaamaisia liittolaisuuksia. Hän on välttynyt Baldassarren yrityksiltä sekä tappaa että paljastaa itsensä ja pitää yllä salaista avioliittoa Tessan kanssa, jonka kanssa hän on synnyttänyt kaksi lasta. Romola uhmaa Titoa, ja he pyrkivät tekemään tyhjäksi toistensa suunnitelmat. Romola tapaa heikentyneen Baldassarren, joka paljastaa Titon menneisyyden ja johdattaa hänet Tessan luo.Firenzessä puhkeaa poliittinen kuohunta. Viisi Medici-suvun kannattajaa tuomitaan kuolemaan, heidän joukossaan Romolan kummisetä Bernardo del Nero. Romola saa tietää, että Titolla on ollut osuutta heidän pidättämiseensä. Romola pyytää Savonarolaa puuttumaan asiaan, mutta tämä kieltäytyy. Romolan usko Savonarolaan ja Firenzeen horjuu, ja hän lähtee jälleen kerran kaupungista. Samaan aikaan Firenze on paavin painostuksen alaisena karkottamassa Savonarolaa. Mellakoitsijat pidättävät hänet, minkä jälkeen heidän huomionsa kohdistuu useisiin kaupungin poliittiseen eliittiin. Titosta tulee mellakoitsijoiden kohde, mutta hän pakenee väkijoukkoa sukeltamalla Arno-jokeen. Baldassarre kuitenkin tappaa Titon poistuessaan joesta, ja Romola lähtee rannikolle. Boccaccion Dekameronissa (V, 2) esiintyvää Gostanzaa jäljitellen hän ajelehtii merelle pienessä veneessä kuollakseen. Vene vie hänet kuitenkin pieneen kylään, jossa rutto on iskenyt, ja hän auttaa eloonjääneitä. Romolan kokemus antaa hänelle uuden elämäntehtävän, ja hän palaa Firenzeen. Savonarola tuomitaan harhaoppisuudesta ja poltetaan roviolla, mutta Romolaa hänen vaikutuksensa inspiroi edelleen. Romola huolehtii Tessasta ja tämän kahdesta lapsesta vanhemman serkkunsa avulla. Tarina päättyy siihen, että Romola antaa Tessan pojalle neuvoja, jotka perustuvat hänen omiin kokemuksiinsa ja hänen elämäänsä vaikuttaneisiin tekijöihin.

**Tulos**

Miksi Baldassarre vannoo kostoa Titolle?

**Tulos**

Mistä Fra Luca varoittaa Romolaa?

**Tulos**

Kuka julistaa vuonna 1496 sodan Ranskan kuninkaalle ja tämän liittolaiselle Firenzelle?

**Tulos**

Miten Tessa ja Tito liittyvät toisiinsa?

**Tulos**

Mitä Romola saa tietää viidestä Medici-suvun tukijasta, jotka tuomitaan kuolemaan?

**Tulos**

Mikä antoi Romolalle uuden merkityksen elämään?

**Tulos**

Kuka vakuuttaa Romolan palaamaan miehensä luokse ja tukemaan firenzeläisiä Titon petettyä Bardon?

**Tulos**

Miksi Romolan usko Firenzeen ja erityisesti Savonarolaan horjuu?

**Tulos**

Kuka on Fra Lucan vieraantunut sisko?

**Tulos**

Kuka on Firenzessä haaksirikkoutunut italialais-kreikkalainen oppinut?

**Tulos**

Kuka menee Titon kanssa naimisiin teeskentelevässä seremoniassa?

**Tulos**

Mitä Titolle tapahtuu sen jälkeen, kun hän on päässyt pakoon joesta, johon hän hyppäsi?

**Tulos**

Kuka ilmoittaa Titolle, että Baldassarre on viety orjaksi?

**Tulos**

Mitä Tito oppii Fra Lucalta?

**Tulos**

Miten Savonarola kuolee?

**Tulos**

Miten Tito pakenee mellakoitsijoita?

**Tulos**

Mikä on Fra Lucan näky ennen kuolemaansa?

**Tulos**

Kun Romola lähtee laivalla kuolemaan, hän päätyy saarelle, joka taistelee mitä tautia vastaan?

**Tulos**

Kuka tappaa Titon?

**Tulos**

Mitä Tito myy, joka pettää Bardon?

**Tulos**

Mihin Tito hyppää välttääkseen mellakoivan väkijoukon?

**Tulos**

Kuka on Baldassarre?

**Tulos**

Mistä Savonarolaa syytetään tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka on Tito Melema?

**Tulos**

Minne Romola päätyy Firenzestä lähdettyään?

**Tulos**

Kuka kertoo Romolalle Titon salaisesta perheestä Tessan ja heidän lastensa kanssa?

**Tulos**

Mitä Fra Luca paljastaa Titolle tämän adoptioisästä?

**Tulos**

Mitä johtajaa Firenze suree vuonna 1492?

**Tulos**

Mikä saa Romolan näkemään Titon todellisen luonteen?

**Esimerkki 3.65**

Pierre Grassou de Foug res on keskinkertainen taidemaalari, joka elää maalaamalla väärennöksiä, joita vanha huijari ja taidekauppias nimeltä Elias Magus tilaa. Grassou maalaa väärennöksiä Tizianin, Rafaelin ja muiden kuuluisien taiteilijoiden töistä. Magus myy nämä väärennökset suurella voitolla pikkuporvariston jäsenille, jotka eivät osaa arvostaa hyvää taidetta.Magus esittelee Grassoun vauraalle pullokauppiaalle Monsieur Vervellelle, jolla on pakkomielle taiteesta, ja tämä esittelee maalaajan suurena mestarina. Vervelle ja hänen vaimonsa ovat lumoutuneita Grassou'sta ja uskovat, että hän olisi hyvä pari heidän tyttärelleen Virginie:lle.Grassou kutsutaan Ville-d'Avrayyn, jossa Vervellen kartano on räikeästi sisustettu ja jossa on myös suuri kokoelma Grassoun töitä, mukaan lukien Tizianin väärennös. Grassou tunnustaa oman keskinkertaisuutensa, mutta kun Vervelleille selviää, että heidän kotinsa väärennökset ovat Grassoun maalaamia, se ei suinkaan heikennä hänen mainettaan, vaan moninkertaistaa Grassoun arvon taiteilijana ja vävynä, sillä Vervelle uskoo Grassoun omaavan Rubensin, Rembrandtin, Terburgin ja Tizianin lahjakkuuden.Edullisesta avioliitostaan huolimatta Grassou on katkera siitä, että hän ei ole oikea taiteilija. Tämä maalari, joka on hyvä isä ja aviomies, ei kykene poistamaan sydämestään kohtalokasta ajatusta, nimittäin sitä, että taiteilijat nauravat hänen töilleen, että hänen nimensä on ateljeekunnissa halveksuntaa herättävä termi ja että feuilletons ei kiinnitä huomiota hänen kuviinsa. Mutta hän jatkaa silti työtään; hän tähtää Akatemiaan, jonne hän epäilemättä pääsee."

**Tulos**

Keitä ovat taiteilijat, joiden töitä Grassou on väärentänyt?

**Tulos**

Kenelle Magus esittelee Grassoun suurmestarina?

**Tulos**

Mikä on se kohtalokas ajatus, jota Grassoun uskotaan olevan kykenemätön poistamaan sydämestään?

**Tulos**

Miten taidekauppias kuvailee Grassoun taitotasoa Virginien isälle?

**Tulos**

Miksi Grassou on yhä katkera, vaikka avioliitto voisi olla hänelle edullinen?

**Tulos**

Mitä Grassou saa selville, kun hänet kutsutaan Vervellen kotiin?

**Tulos**

Kuka ostaa Grassoun luomia tuotteita?

**Tulos**

Kuka palkkasi Grassoun ennen kuin hän tapasi Monsieur Vervellen?

**Tulos**

Kenet Vervelle haluaa tyttärensä menevän naimisiin?

**Tulos**

Mikä on Grassous suurin pettymys?

**Tulos**

Kuka on tarinan päätaiteilija?

**Tulos**

Kenen kanssa Monsieur Vervelle haluaa lapsensa menevän naimisiin?

**Tulos**

Kenelle Grassou maalaa väärennöksiä?

**Tulos**

Mikä oli Grassoun vaimon nimi?

**Tulos**

Mitä Grassou tekee työkseen?

**Tulos**

Miten Grassou arvioi maalauksiaan?

**Tulos**

Mitä mieltä muut maalarit ovat Grassoun töistä?

**Tulos**

Missä monet Pierresin väärennöksistä ovat esillä?

**Tulos**

Mihin Grassou yrittää päästä?

**Tulos**

Kenelle Vervellen pariskunta uskoo Grassoun sopivan täydellisesti?

**Tulos**

Millaisia maalauksia Pierre maalaa?

**Tulos**

Missä on esillä useita Grassoun teoksia?

**Tulos**

Miten Vervelle suhtautuu siihen, että useat hänen ostamistaan maalauksista olivat Grassoun väärennöksiä?

**Tulos**

Missä herra ja rouva Vervelle asuvat?

**Tulos**

Mikä on Grassoun suurin tavoite?

**Tulos**

Miksi Magus tienaa niin paljon rahaa myymällä väärennöksiä?

**Tulos**

Miksi Vervelle on niin vaikuttunut Grassusta?

**Tulos**

Missä pullonmyyjä asuu?

**Tulos**

Miksi Grassou on yhä onneton, vaikka hän on mennyt naimisiin?

**Esimerkki 3.66**

Persianlahden sodan päätyttyä vuonna 1990 Yhdysvaltain sotilaat lähetetään sinne siivoamaan asioita. Sotilaat kyllästyvät väkivallan vähyyteen ja järjestävät sen vuoksi öisin juhlia. Majuri Archie Gates (George Clooney), Yhdysvaltain armeijan erikoisjoukkojen sotilas, vaihtaa seksiä juttuihin toimittajan Cathy Daitchin (Judy Greer) kanssa, kun Adriana Cruz (Nora Dunn), televisiotoimittaja, jonka saattajaksi hänet on määrätty, keskeyttää hänet. Kun Yhdysvaltain armeijan reservin kersantti Troy Barlow (Mark Wahlberg), hänen paras ystävänsä sotamies Conrad Vig (Spike Jonze) ja heidän yksikkönsä riisuvat irakilaisen upseerin aseista ja tutkivat häntä, he löytävät kartan hänen pakaroidensa välistä. Troy menee ylikersantti Elginin (Ice Cube) luokse auttamaan kartan kääntämisessä. Majuri Gates ilmestyy paikalle jäljitettyään Adrianalta saadun vihjeen. Archie vakuuttaa heille, että asiakirja on kartta Karbalan lähellä sijaitsevista bunkkereista, joissa on Kuwaitista varastettuja kultarahoja, jotka he päättävät varastaa. Pitääkseen Adrianan loitollaan Gates lähettää erikoislääkäri Walter Wogemanin (Jamie Kennedy) auttamaan häntä väärän johtolangan jäljillä. he lähtevät seuraavana päivänä liikkeelle ja löytävät muiden Kuwaitista ryöstettyjen tavaroiden joukosta kullan ja törmäävät Amir Abdullahin (Cliff Curtis) kuulusteluun. Kun he ovat lähdössä, Amirin vaimo pyytää heitä olemaan hylkäämättä Saddam-vastaisia toisinajattelijoita, mutta Irakin tasavaltalaiskaarti teloittaa hänet. Ryhmä päättää vapauttaa irakilaisvangit, mikä aiheuttaa tulitaistelun. He vetäytyvät juuri kun irakilaiset apujoukot saapuvat, ja yrittäessään väistää CS-kaasuhyökkäystä he joutuvat miinakentälle ja joutuvat eroon toisistaan. Irakilaiset sotilaat ottavat Troyn kiinni, kun taas joukko kapinallisia pelastaa muut amerikkalaiset ja vie heidät maanalaiseen piilopaikkaansa. Siellä Conrad, päällikkö ja Archie suostuvat auttamaan kapinallisia ja heidän perheitään pääsemään Iranin rajalle sen jälkeen, kun he ovat pelastaneet Troyn.Troy viedään takaisin bunkkeriin, ja hänet heitetään huoneeseen, joka on täynnä kuwaitilaisia matkapuhelimia. Hän onnistuu soittamaan vaimolleen kotiin ja käskee tätä ilmoittamaan sijaintinsa paikalliselle armeijan reserviyksikölle. Hänen puhelunsa keskeytyy, kun hänet raahataan kuulusteluhuoneeseen, jossa irakilaiskapteeni Sa d (Sa d Taghmaoui) kuulustelee häntä.Amerikkalaiset menevät kapinallisten kanssa irakilaisarmeijan karkureiden joukkoon, joka suostutellaan myymään heille Kuwaitista varastettuja luksusautoja. Autot varustetaan Saddamin seurueeksi, jotta bunkkerin puolustajat pelästyisivät. Bunkkeriin tunkeuduttuaan he vapauttavat Troyn, joka säästää Sa d:n, ja löytävät lisää shiialaisia toisinajattelijoita, joita pidetään vankityrmässä. Muutama paennut sotilas palaa takaisin ja ampuu Conradin ja Troyn. Conrad kuolee, ja Troyn keuhko puhkaistaan, mutta hän selviää hengissä. Archie soittaa radiolla Walterille ja Adrianalle ja järjestää kuljetuksen, kun taas leirin onneton upseeristo yrittää löytää kolmikon saatuaan viestin Troyn vaimolta. Jokaiselle kapinalliselle annetaan kultaharkko ja loput haudataan kuljetusta odotellessa. Saattue menee Iranin rajalle, jossa kolme amerikkalaista saattaa kapinalliset sen yli suojellakseen heitä rajanylitystä vartioivilta irakilaisilta sotilailta. Amerikkalaiset upseerit saapuvat kuitenkin paikalle ja pysäyttävät ryhmän ja pidättävät kolmikon samalla, kun kapinalliset otetaan takaisin kiinni. Archie tarjoaa haudattua kultaa amerikkalaisille upseereille vastineeksi siitä, että he päästävät pakolaiset läpi. kaikki sotilaat vapautetaan syytteistä Adrianan raportoinnin ansiosta. Archie siirtyy töihin sotilasneuvojaksi Hollywoodin toimintaelokuviin, Chief jättää lentokenttätyönsä työskennelläkseen Archien kanssa, ja Troy palaa vaimonsa ja vauvansa luokse pyörittämään omaa mattokauppaansa. Varastettu kulta palautettiin Kuwaitiin; annetaan kuitenkin ymmärtää, että osa kullasta puuttui.

**Tulos**

Kuinka paljon kultaa kukin kapinallinen saa odottaessaan kuljettamista rajalle?

**Tulos**

Miten majuri Archie Gates saa toimittajan, Adrianan, rauhoittumaan, jotta hän voi etsiä kultaa?

**Tulos**

Mistä irakilaisen upseerin ruumiinosasta Conrad ja Troy löytävät kartan?

**Tulos**

Kuka auttaa Conradia, päällikköä ja Archieta välttämään vangitsemisen sen jälkeen, kun ryhmä on erotettu miinakentällä?

**Tulos**

Mitä majuri Archie vaihtoi tarinamme alussa tarinoita toimittaja Cathylle?

**Tulos**

Minne suurin osa varastetusta kullasta lopulta päätyy?

**Tulos**

Kenelle Troy soittaa, kun irakilaissotilaat pitävät häntä bunkkerissa?

**Tulos**

Mikä sota on juuri päättynyt tarinan alussa?

**Tulos**

Miten kapinallisille maksettiin siitä, että he auttoivat amerikkalaisia sotilaita?

**Tulos**

Kuka jää irakilaissotilaiden vangiksi jäätyään erilleen miinakentällä?

**Tulos**

Mitä amerikkalaiset sotilaat tekevät yöllä viettäkseen aikaansa?

**Tulos**

Mitä yllättävää Troy tekee Saiidin kanssa pelastumisen jälkeen?

**Tulos**

Mihin aarteeseen Troy, Conrade, päällikkö ja Archie uskovat kartan johtavan heidät?

**Tulos**

Mitä Conraden, päällikön ja Archien on tehtävä, ennen kuin he voivat auttaa kapinallisia ja heidän perheitään pääsemään Iranin rajalle?

**Tulos**

Milloin amerikkalaiset sotilaat lähtevät kartan kääntämisen jälkeen etsimään kultaa?

**Tulos**

Mitä työtä Troy tekee kotiinpaluun jälkeen?

**Tulos**

Keitä kaikkia ammutaan ja tapetaan Troijan pelastuksen aikana?

**Tulos**

Minkä ryhmän kanssa sotilaat lyöttäytyvät yhteen pelastaakseen Troijan?

**Tulos**

Mitä Conrad, päällikkö ja Archie lupaavat kapinallisille vastineeksi heidän avustaan?

**Tulos**

Mistä maasta kulta varastettiin?

**Tulos**

Miten amerikkalaiset sotilaat onnistuivat pääsemään lähelle Troijaa vartioivia bunkkereita ja irakilaissotilaita?

**Tulos**

Miksi irakilainen upseeri yritti piilottaa kartan?

**Tulos**

Mistä kartta koostuu?

**Tulos**

Miten majuri Archie Gates viettää aikaa ja välttää tylsistymistä tarinan alussa?

**Tulos**

Miten pakolaiset pääsivät Irakin rajalle sen jälkeen, kun amerikkalaiset sotilaat pysäyttivät heidät rajalla?

**Tulos**

Mitä Archie tarjoaa amerikkalaisille upseereille vastineeksi pakolaisten vapauttamisesta?

**Tulos**

Missä kunnossa kulta palautettiin Kuwaitiin?

**Tulos**

Mitä amerikkalaiset löytävät irakilaisen upseerin pakaroista?

**Tulos**

Kun Troy otetaan kiinni, hänet viedään bunkkeriin ja heitetään huoneeseen. Mitä huone oli täynnä?

**Esimerkki 3.67**

Taiteilija Th odore de Sommervieux rakastuu Augustine Guillaumeen, konservatiivisen kangaskauppiaan tyttäreen, jonka liiketalo Pariisin Rue Saint-Denis -kadulla tunnetaan Kissa ja Maila -nimellä. Th odore, Prix de Rome -palkinnon voittaja ja kunnialegioonan ritari, on kuuluisa sisustuksistaan ja hollantilaista koulukuntaa jäljittelevistä chiaroscuro-efekteistään. Hän tekee erinomaisen jäljennöksen Kissa ja maila -teoksen sisustuksesta, joka on Salonissa esillä Augustinuksen silmiinpistävän modernin muotokuvan rinnalla. Suhde kukoistaa Madame Guillaumen nuoremman serkun Madame Roguinin avulla, joka tuntee jo Th odoren. Rakastavaiset menevät kihloihin vastoin Augustinen vanhempien toivomusta, sillä he olivat alun perin tarkoittaneet, että Augustine menisi naimisiin monsieur Guillaumen virkailijan Joseph Lebasin kanssa. Vuonna 1808 Augustine menee naimisiin Th odoren kanssa Saint-Leun kirkossa; samana päivänä hänen vanhempi sisarensa Virginie menee naimisiin Lebasin kanssa. Augustine ihailee Sommervieux'ta, mutta ei kykene ymmärtämään häntä taiteilijana. Vaikka hän on hienostuneempi kuin vanhempansa, hänen koulutuksensa ja yhteiskunnallinen asemansa jättää hänet liian kauas miehensä tasosta, jotta hänen välillään voisi tapahtua kohtaaminen. Th odoren intohimo häntä kohtaan laantuu, ja taiteilijakollegat suhtautuvat häneen halveksivasti. Sen sijaan Th odore löytää sukulaissielun Cariglianon herttuattaresta, jolle hän antaa kuuluisan Augustinuksen muotokuvan ja johon hän kiintyy toivottomasti laiminlyödessään huoneensa Rue des Trois-Frresin varrella (nykyään osa Rue Taitbout'ta).Kun Augustine kolmen vuoden onnettomuuden jälkeen tajuaa, että hänen avioliittonsa on hajoamassa, ja kun ilkeämielinen juoruilija on kertonut Th odoren kiintymyksestä herttuattareen, hän vierailee Madame de Cariglianon luona, mutta ei pyytääkseen tätä palauttamaan miehensä sydäntä, vaan saadakseen tietää, millä taidoilla se on vallattu. Herttuatar varoittaa häntä yrittämästä valloittaa miehen sydäntä rakkaudella, joka vain antaa miehelle mahdollisuuden tyrannisoida vaimoaan; sen sijaan naisen on käytettävä kaikkia niitä kosiskelun taitoja, jotka luonto antaa hänen käyttöönsä. Augustinus järkyttyy kuullessaan, että Madame de Carigliano pitää avioliittoa eräänlaisena sodankäyntinä. Sitten herttuatar palauttaa Augustinelle oman muotokuvansa ja kertoo hänelle, että jos hän ei pysty valloittamaan miestään tällä aseella, hän ei ole nainen." Augustin ei kuitenkaan ymmärrä, miten hän voisi kääntää tällaisen aseen miestään vastaan. Hän ripustaa muotokuvan makuuhuoneeseensa ja pukeutuu juuri sellaiseksi kuin siinä näkyy, uskoen, että Th odore näkee hänet jälleen kerran nuorena naisena, johon hän rakastui Kissan ja Mailan merkeissä. Mutta kun taiteilija näkee muotokuvan roikkuvan hänen makuuhuoneessaan ja kysyy, miten se on joutunut sinne, nainen paljastaa hölmösti, että Cariglianon herttuatar palautti sen hänelle. "Vaaditko sen häneltä?" mies kysyy. "En tiennyt, että hänellä oli se", Augustine vastaa. Th odore tajuaa, ettei hänen vaimonsa kykene näkemään maalausta niin kuin hän näkee sen - täydellisen taideteoksen. Sen sijaan, että hän rakastuisi taulun aiheeseen, hän pitää sen palauttamista rakastajattarensa antamana läimäyksenä. Turhamaisuuttaan loukattuaan hän saa raivokohtauksen ja tuhoaa muotokuvan vannoen kostoa herttuattarelle. aamuun mennessä Augustine on jo tottunut kohtaloonsa. Hänen rakkaudeton avioliittonsa päättyy pian sen jälkeen, kun hän kuolee särkyneeseen sydämeen kaksikymmentäseitsemänvuotiaana.

**Tulos**

Miksi Augustinus menee tapaamaan Cariglianon herttuatarta?

**Tulos**

Mikä lopulta tappaa Augustinuksen?

**Tulos**

Kuinka vanha Augustinus oli kuollessaan?

**Tulos**

Kuka rohkaisee Theodorea ja Augustinusta ryhtymään rakastavaisiksi?

**Tulos**

Minkälaisesta tyylistä Theodore de Sommervieux tunnetaan?

**Tulos**

Mistä Theodore tunnetaan?

**Tulos**

Mitä Theodore antaa Madame de Cariglianolle lahjaksi?

**Tulos**

Missä Augustine ja Theodore menivät naimisiin?

**Tulos**

Keneen Theodore ihastuu tultuaan tyytymättömäksi vaimonsa kanssa?

**Tulos**

Kenen kanssa Augustinuksen piti mennä naimisiin?

**Tulos**

Keneen Theodore rakastuu?

**Tulos**

Kuka on Madame Rogiun?

**Tulos**

Mitä Theodore antaa Cariglianon herttuattarelle?

**Tulos**

Kuka meni naimisiin Joseph Lebasin kanssa?

**Tulos**

Kuka kuolee särkyneeseen sydämeen?

**Tulos**

Kenet Augustinuksen vanhemmat halusivat alun perin Augustinuksen menevän naimisiin?

**Tulos**

Missä Augustine ja Theodore menevät naimisiin?

**Tulos**

Miten kuvailisit Theodorin ja Augustinuksen avioliittoa?

**Tulos**

Miksi Augustinus uskoo, että hänen suhteensa on kireä?

**Tulos**

Mitä Theodore tekee, kun hän saa tietää, että Cariglianon herttuatar palautti hänen vaimonsa muotokuvan?

**Tulos**

Miten Augustinus yrittää saada miehensä takaisin?

**Tulos**

Mitä neuvoja Madame de Carigliano antaa Augustinukselle?

**Tulos**

Miten Augustinus kuolee?

**Tulos**

Mikä on toisen naisen nimi, johon Theodore kiintyy, koska hänen avioliittonsa Augustinuksen kanssa on ollut onneton?

**Tulos**

Mitä Cariglianon herttuatar pitää avioliitosta?

**Tulos**

Millä merkillä liiketalo, Rue Saint-Denis, tunnetaan?

**Tulos**

Mitä Madame de Carigliano uskoo avioliitosta, mikä järkyttää Theodorea?

**Tulos**

Kuka on Theodore de Summervieux?

**Tulos**

Milloin Augustine ja Theodore menivät naimisiin?

**Esimerkki 3.68**

Brion Brandd asuu Anvhar-planeetalla, jonka elliptisen kiertoradan vuoksi vuodessa on pitkä kylmä talvi ja lyhyt kuuma kesä, mihin väestö on sopeutunut. Välttääkseen sosiaalisia ongelmia talviaikana Anvhar on aloittanut koko planeetan kattavan sarjan henkisiä ja fyysisiä pelejä, joita kutsutaan nimellä Twenties. Romaani alkaa Brandin voittaessa Twenties-kilpailun. Toipuessaan kisoista Brandd tapaa Ihjelin, joka on aiempi Twenties-kilpailun voittaja ja joka pyytää häntä mukaan tehtävään Disin aavikkoplaneetalla. Disin hallitseva luokka, magterit, on uhannut kuljettaa kobolttipommeja naapuriplaneetalle, jos he eivät suostu antautumaan. Tämän seurauksena planeetta on saarrettu ja sitä uhkaa ennalta ehkäisevä ydinisku. Brannd matkustaa Disille Ihjelin ja Maan tiedemiehen Lean kanssa, mutta saapuessaan kolmikko joutuu hyökkäyksen kohteeksi ja Ihjel kuolee. Kohdatessaan paikallista väestöä ja muita ihmisiä Brandd alkaa selvittää syytä magterin itsetuhoiselta vaikuttavaan aggressiivisuuteen. Brandd saa tietää, että suurin osa Disin elämästä selviytyy planeetan äärimmäisistä olosuhteista symbioosin avulla. Magterit ovat kuitenkin saaneet tartunnan loisesta, joka tuhoaa niiden aivojen korkeammat toiminnot. Lopulta Brannd löytää kobolttipommit ja sammuttaa siirtomekanismin, minkä ansiosta hän voi palata kotiin.

**Tulos**

Mikä on saastuttanut magterin?

**Tulos**

Mikä vuodenaika on planeetalla pidempi?

**Tulos**

Kuka on edellisen Kaksikymppisen voittaja?

**Tulos**

Millainen ennalta ehkäisevä isku uhkaa Dis-planeettaa?

**Tulos**

Kuka kuolee hyökkäyksessä?

**Tulos**

Kun Lea, Brandd ja Ihjel saapuvat Disiin, kuka kuolee?

**Tulos**

Millä planeetalla Brion asuu?

**Tulos**

Mikä aiheuttaa Anvharissa näin äärimmäiset lämpötilat?

**Tulos**

Miksi magetrit ovat niin aggressiivisia?

**Tulos**

Milloin he pääsevät kotiin?

**Tulos**

Miten konflikteja ehkäistään?

**Tulos**

Mitä aavikkoplaneetta uhkaa kuljettaa?

**Tulos**

Mikä on Ihjelin ja Branddin tapaaman maanmiehen nimi?

**Tulos**

Miksi 20-luku aloitettiin?

**Tulos**

Mitä ovat kaksikymppiset?

**Tulos**

Miten Brandd tuhoaa lähetysmekanismin?

**Tulos**

Mikä on pelien nimi?

**Tulos**

Miksi Brandd luulee, että Disin magterit ovat niin aggressiivisia?

**Tulos**

Millainen ilmasto Anvhar-planeetalla vallitsee?

**Tulos**

Mitä magter uhkaa tehdä naapuriplaneetalle, jos se ei antaudu?

**Tulos**

Mikä on Disin hallitsevan luokan nimi?

**Tulos**

Miten suurin osa elämästä selviytyy Disin äärimmäisistä olosuhteista?

**Tulos**

Mitä Dis-lajin elämä käyttää selviytyäkseen suurimmaksi osaksi?

**Tulos**

Miksi planeetan pitäisi antautua?

**Tulos**

Kuka voitti kaksikymppiset, kun tarina alkaa?

**Tulos**

Miltä planeetalta tiedemies Lea on kotoisin?

**Tulos**

Kenet Brandd tapaa kisojen jälkeen?

**Tulos**

Kuka voitti Kaksikymppiset ennen Branddia ja haluaa hänet mukaan tehtävälle Dis-planeetalle?

**Tulos**

Mikä planeetta on aavikkoplaneetta?

**Tulos**

Miltä planeetalta tiedemies Lea on kotoisin?

**Esimerkki 3.69**

Mike Jackson, kriketinpelaaja ja krikettiklaanin jälkeläinen, huomaa, että hänen unelmansa opiskelusta ja pelaamisesta Cambridgessä murtuvat, kun hän saa kuulla isänsä taloudellisista ongelmista, ja hänen on sen sijaan otettava vastaan työ "New Asiatic Bankissa". Saavuttuaan sinne Mike huomaa, että hänen ystävänsä Psmith on myös uusi työntekijä, ja yhdessä he pyrkivät tekemään parhaansa asemastaan ja ehkäpä välillä harrastamaan krikettiä.Pelatessaan krikettiä Psmithin isän johtamassa joukkueessa Mike tapaa ensimmäistä kertaa John Bickersdyke'n, kun tämä kävelee keilaajan käsivarren taakse, minkä seurauksena Mike jää ulos yhdeksänkymmentäkahdeksalla. Pian tämän jälkeen Miken isä ilmoittaa hänelle valitettavasti, että menetettyään suuren summan rahaa hänen on myytävä talo, eikä hän voi lähettää Mikea Cambridgeen, kuten hän oli toivonut. Mike kuulee, että Psmith on samassa tilanteessa, sillä hänet lähetetään Lontooseen. Mike, joka tuntee olonsa hyvin yksinäiseksi, koti-ikäväksi ja sääliksi itseään, vuokraa kauhean huoneen Dulwichista ja ilmoittautuu seuraavana päivänä töihin New Asiatic Bankiin. Hän pääsee Rossiterin alaisuuteen postiosastolle Bannister-nimisen nuorukaisen tilalle ja ystävystyy pankin ystävällisen työntekijän Wallerin kanssa, joka vie hänet lounaalle; palattuaan hän saa seurakseen Psmithin, joka on myös uusi työntekijä ja työskentelee samalla osastolla kuin Mike. He lähtevät kävelylle, ja Psmith paljastaa, että hänet on sijoitettu sinne isänsä päähänpiston vuoksi, koska hän oli ärsyttänyt Bickersdykeä tämän viipyessä siellä viikonlopun. Mike on huolissaan siitä, että heidän työnantajansa pitää heitä molempia silmällä ja että he ovat voimattomia, mutta Psmith ilmoittaa, että hän aikoo leikkiä Bickersdykeä työn ulkopuolella, sillä hän on työnantajansa tavoin Senior Conservative Clubin jäsen. Hän myös vaatii, että Mike muuttaa hänen luokseen Clement's Innissä sijaitsevaan asuntoonsa. Sinä iltana Mike tuntee olonsa paljon onnellisemmaksi, koska hänellä on liittolainen.He yrittävät löytää keinon rauhoittaa johtajansa Rossiterin, ja saavat Bannisterilta selville, että tämä on jalkapallon harrastaja ja Manchester Unitedin fani. Muutaman viikon ajan Psmith käyttää tätä tietoa mielistelläkseen Rossiteria, ennen kuin hän siirtyy Bickersdykeen. Hän vainoaa miestä heidän klubillaan, jonka asema työpaikalla on Rossiterin ystävyyden ansiosta kiistaton, ja häiritsee poliittista kokousta, joka on osa Bickersdyken kampanjaa parlamentin jäseneksi pääsemiseksi, ja tekee siitä melkein mellakan. Bickersdyke on vihainen Psmithille, mutta voimaton. Psmith jatkaa Rossiterin vaalimista, ja Mike tottuu hänen työhönsä. Jonkin ajan kuluttua uusi mies aloittaa, ja Mike siirretään rahaosastolle, herra Wallerin alaisuuteen. Eräänä päivänä, kun Psmith kuulee Psmithin kutsuvan Mikea "toveriksi", Waller paljastaa olevansa innokas sosialisti, ja Psmith suostuu tulemaan kuuntelemaan hänen puhettaan ja raahaa Miken mukaansa. Kun eräs katsoja aikoo heittää Walleria kivellä, Mike puuttuu asiaan, ja alkaa tappelu, johon Psmith ja väkijoukko joutuvat pian mukaan; ystävät pakenevat. Kun Mike palaa illalla teelle, hänellä on kamalaa, mutta Psmith hankkii Wallerin kirjan "Tulse Hillin parlamentin" tapahtumista, johon sisältyy joitakin erityisen kiihkeitä sanoja herra Bickersdykeiltä.Eräänä päivänä Waller ei huomaa väärennettyä shekkiä, koska hänen poikansa on sairas ja hän on huolissaan poikansa sairaudesta. Pelastaakseen työpaikkansa Mike ottaa syyt niskoilleen, ja Bickersdyke antaa hänelle potkut ja paahtaa häntä. Töiden jälkeen Psmith seuraa Bickersdyken perässä turkkilaiseen kylpyyn ja uhkaa vuotaa Bickersdyken kuninkaallisuutta vastustavat puheet Tulse Hillin kirjasta. Raivoissaan Bickersdyke suostuu pitämään Miken pankissa. Pian tämän jälkeen hänet valitaan täpärästi parlamenttiin, jolloin kirjan uhka on hyödytön, ja Mike siirretään uudelle osastolle, kiinteisiin talletuksiin, paljon epämiellyttävämpään paikkaan, ja Psmith tulee hänen tilalleen Wallerin alaisuuteen.Kevään ja auringonpaisteen saapuessa Mike alkaa kaivata ulkoilmaa ja rakasta krikettiä. Eräänä päivänä hänen veljensä Joe soittaa hänelle, joka pelaa Lord'sissa kreivikunnan puolesta. Heiltä puuttuu yksi mies, ja he tarvitsevat Miken pelaamaan; hän suostuu ja pyytää Psmithiä kertomaan uudelle pomolleen, että hänen on "häipyttävä"; pomo kertoo asiasta herra Bickersdykeille, joka on tavalliseen tapaansa raivoissaan. Mike, joka on vakuuttunut siitä, että hänen työnsä on ohi, päättää pelata täysillä.Psmith lähtee töistä aikaisin viedäkseen isänsä otteluun. Herra Smith on järkyttynyt siitä, että pankki ei hyväksy sitä, että ihmiset lähtevät pelaamaan krikettiä; Psmith suostuttelee hänet siihen, että pankissa työskentelyn sijasta hänen pitäisi opiskella asianajajaksi. He saapuvat peliin juuri kun Mike, joka pelaa hyvin, saavuttaa satavuotisjuhlansa. Ottelun jälkeen Psmith kertoo Mikelle suunnitelmistaan opiskella oikeustiedettä Cambridgessa ja myös siitä, että hänen isänsä, joka tarvitsee välittäjää kiinteistölleen, on valmis ottamaan Miken palvelukseensa maksettuaan ensin Miken opiskelun yliopistossa.Herra Bickersdyke, joka rentoutuu kerhossaan ja on riemuissaan ajatuksesta, että hän vihdoinkin voi antaa Psmithille ja Mikelle potkut, raivostuu entisestään, kun Psmith ilmoittaa myötätuntoisesti, että he jäävät eläkkeelle liike-elämästä.

**Tulos**

Mitä tarinassa tarkoittaa "pop off"?

**Tulos**

Kuka on Miken veli?

**Tulos**

Miksi Mike on onnellinen, kun hänellä on liittolainen?

**Tulos**

Mikä esti Mikea menettämästä työpaikkaansa?

**Tulos**

Millä Psmith kiristää herra Bickersdykeä?

**Tulos**

Miksi Mike Jackson menee töihin "uuteen aasialaiseen pankkiin"?

**Tulos**

Kuka ei hyväksy sitä, että ihmiset lähtevät maksamaan krikettiä?

**Tulos**

Ketä Mike ja Psmith pyrkivät rauhoittamaan?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Mike ja Psmith menevät kuulemaan herra Wallerin puhetta?

**Tulos**

Kuka seuraa Bickersdykeä?

**Tulos**

Mitä Walter ei huomaa?

**Tulos**

Minkä esineen Psmith hankki?

**Tulos**

Kuka vaatii Mikea muuttamaan hänen luokseen?

**Tulos**

Missä Mike Jacksonin piti ottaa työpaikka?

**Tulos**

Mitä Mike aikoo opiskella,kun hän lopettaa työnsä?

**Tulos**

Miksi herra Bickersdyke on vihainen tarinan lopussa?

**Tulos**

Missä Jackson haaveilee pelaavansa?

**Tulos**

Kuka oli tämän tarinan antagonisti?

**Tulos**

Mitä Waller paljastaa Mikelle?

**Tulos**

Mikä sai Miken suojelemaan Walleria?

**Tulos**

Miksi Mike saa potkut pankista?

**Tulos**

Millä Psmith ystävystyy herra Rossiterin kanssa?

**Tulos**

Minne Mike menee asumaan lähdettyään Dulwichin huoneestaan?

**Tulos**

Mistä Mike vuokraa huoneen?

**Tulos**

Miksi Mike ja Psmith pystyvät lopettamaan työnsä tarinan lopussa?

**Tulos**

Miksi Miken veli Joe soittaa hänelle?

**Tulos**

Mihin yhdistykseen Rossiter on sitoutunut?

**Tulos**

Kuka on raivoissaan Miken ja Psmithin eläkkeelle jäämisestä?

**Tulos**

Miksi katsoja yritti heittää Walleria kivellä?

**Tulos**

Mikä on Miken unelma tulevaisuudestaan?

**Esimerkki 3.70**

Afrikan autiomaassa miljoonia vuosia sitten ihmisapinoiden heimo joutuu kärsimään nälästä ja kilpailevan heimon kilpailusta vesilähteestä. Ne heräävät ja huomaavat, että niiden eteen on ilmestynyt piirteetön musta monoliitti. Mustan monoliitin ohjaamana yksi ihmisapina oivaltaa, miten luuta käytetään työkaluna ja aseena; heimo oppii metsästämään ruokaa, tappaa kilpailijoidensa johtajan ja saa vesiaukon takaisin.Miljoonia vuosia myöhemmin Pan Am -avaruuslentokone kuljettaa tohtori Heywood Floydin Maata kiertävälle avaruusasemalle välilaskujen ajaksi matkalleen Clavius-tukikohtaan, joka on Yhdysvaltain etuvartioasema kuussa. Tyttärensä kanssa käydyn videopuhelun jälkeen Floydin neuvostoliittolainen tiedemiesystävä ja hänen kollegansa kyselevät huhuista, jotka koskevat salaperäistä epidemiaa Claviuksella. Floyd kieltäytyy vastaamasta. Claviuksella Floyd johtaa tukikohdan henkilökunnan kokousta, jossa hän pyytää anteeksi epidemiaa koskevaa peitetarinaa mutta korostaa salassapitovelvollisuutta. Hänen tehtävänään on tutkia hiljattain löydettyä, neljä miljoonaa vuotta sitten haudattua esinettä. Floyd ja muut matkustavat kuubussilla artefaktin luo, joka on samanlainen monoliitti kuin se, jonka ihmisapinat ovat kohdanneet. Auringonvalo osuu monoliittiin ja kuuluu kovaääninen korkea-ääninen radiosignaali. 18 kuukautta myöhemmin Yhdysvaltain avaruusalus Discovery One on matkalla Jupiteriin. Aluksella ovat lentäjät ja tiedemiehet tohtori David Bowman ja tohtori Frank Poole sekä kolme muuta tiedemiestä, jotka ovat kryogeenisessä horroksessa. Suurinta osaa Discoveryn toiminnoista ohjaa aluksen tietokone, HAL 9000, jota miehistö kutsuu nimellä "Hal". Bowman ja Poole katsovat, kun Halia ja heitä itseään haastatellaan BBC:n ohjelmassa tehtävästä, jossa tietokone toteaa olevansa "idioottivarma ja kykenemätön virheisiin". Kun juontaja kysyy, onko Halilla aitoja tunteita, Bowman vastaa, että hän näyttää siltä, mutta totuus on tuntematon. Myöhemmin, kun Bowman kysyy Halilta tehtävän tarkoituksesta, Hal vastaa raportoimalla antennin ohjauslaitteen välittömästä vikaantumisesta. Astronautit hakevat komponentin EVA-kapselin avulla, mutta eivät löydä siitä mitään vikaa. Hal ehdottaa, että osa asennetaan uudelleen ja annetaan sen pettää, jotta ongelma voidaan löytää. Lennonjohto ilmoittaa astronauteille, että heidän kaksoiskappaleensa HAL 9000:n tulokset osoittavat, että Hal on väärässä. Hal väittää, että ongelma, kuten aiemmatkin HAL-sarjan yksiköihin liittyvät ongelmat, johtuu inhimillisestä erehdyksestä. Bowman ja Poole ovat huolissaan Halin käytöksestä, ja he menevät EVA-kapseliin keskustelemaan ilman, että Hal kuulee heitä, ja sopivat, että Hal kytketään pois päältä, jos hänen erehtymisensä osoittautuu. Kun Poole on avaruuskävelyllä EVA-kapselin ulkopuolella yrittäen vaihtaa yksikköä, Hal ottaa kapselin hallintaansa ja hyökkää Poolen kimppuun katkaisten hänen happiletkunsa ja ajaen hänet tuuliajolle. Bowman ottaa toisen kapselin ja yrittää pelastaa hänet. Sillä välin Hal kytkee pois päältä lepotilassa olevien miehistön jäsenten elämää ylläpitävät toiminnot. Kun Bowman palaa alukselle Poolen ruumiin kanssa, Hal kieltäytyy päästämästä häntä sisään ja toteaa, että astronauttien suunnitelma Poolea deaktivoida vaarantaa tehtävän. Bowman avaa aluksen hätäilmalukon käsin, menee alukseen ja etenee Halin prosessoriytimeen. Hal yrittää rauhoitella Bowmania, sitten pyytää häntä lopettamaan ja ilmaisee lopulta pelkonsa. Kun Bowman sammuttaa HALin korkeampia älyllisiä toimintoja ohjaavat piirit, HAL palaa varhaisimpaan ohjelmoituun muistiinsa, lauluun "Daisy Bell", jonka hän laulaa Bowmanille.Kun Halin yhteys lopulta katkaistaan, Floydin ennalta nauhoittama videoviesti paljastaa kuussa olevan monoliitin olemassaolon, jonka tarkoitus ja alkuperä ovat tuntemattomia. Yhtä lyhyttä, mutta erittäin voimakasta Jupiteriin suunnattua radiolähetystä lukuun ottamatta kohde on ollut toimimaton. Jupiterissa Bowman jättää Discovery Onen EVA-kapseliin tutkiakseen toista planeetan kiertoradalta löytynyttä monoliittia. Kapseli vedetään värillisen valon pyörteeseen, ja Bowman kiidättää itsensä valtavien avaruusetäisyyksien halki katsellen omituisia kosmologisia ilmiöitä ja outoja, epätavallisen värisiä maisemia. myöhemmin Bowman löytää itsensä, yhä kapselissa, uusklassiseen tyyliin sisustetusta makuuhuoneesta. Hän näkee vanhempia versioita itsestään, ja hänen näkökulmansa vaihtuu joka kerta: ensin hän seisoo makuuhuoneessa keski-ikäisenä ja yhä avaruuspuvussaan, sitten vapaa-ajan asuun pukeutuneena ja päivällistä syömässä ja lopuksi vanhana miehenä sängyssä makaamassa. Sängyn jalkopäähän ilmestyy musta monoliitti, ja kun Bowman kurottautuu sitä kohti, hän muuttuu sikiöksi, joka on suljettu läpinäkyvään valopalloon. Elokuva päättyy, kun uusi olento leijuu avaruudessa maapallon vieressä ja katselee sitä.

**Tulos**

Kuka hyökkää poolin kimppuun, kun hän on ulkona avaruuskävelyllä?

**Tulos**

Kun Bowman deaktivoi HALin, mitä laulua HAL laulaa?

**Tulos**

Ketä Pam Am -avaruuslentokone kuljetti?

**Tulos**

Millaisen äänen monoliitti antoi?

**Tulos**

Mitä Hal tekee, kun Poole on ulkona?

**Tulos**

Mikä on HAL9000?

**Tulos**

Keitä oli avaruusaluksessa \_ Discovery one?

**Tulos**

Minne Yhdysvallat lähetti avaruusaluksensa Discovery Onen?

**Tulos**

Miksi Bowman ja Poole menivät jonnekin puhumaan kahden kesken?

**Tulos**

Mikä on tohtori Floydin tehtävä?

**Tulos**

Miten tohtori Floyd kuljetetaan katsomaan esinettä?

**Tulos**

Miksi Floyd ja muut olivat kuubussissa?

**Tulos**

Kuka oli tohtori Floydin kanssa käydyssä videopuhelussa?

**Tulos**

Mitä Bowmanille tapahtuu tarinan lopussa?

**Tulos**

Mitä Bowman ja Poole päättävät tehdä, jos HAL9000 osoittautuu vääräksi ennustuksessaan?

**Tulos**

Miten Bowman reagoi, kun hän näkee Poolen ajelehtivan avaruudessa?

**Tulos**

Kun ihmisapinaheimo heräsi, mitä se näki?

**Tulos**

Mikä on Discovery Onen määränpää?

**Tulos**

Kuka on HAL?

**Tulos**

Mistä ihmisapinaheimot kilpailevat?

**Tulos**

Mikä on Yhdysvaltojen kuussa sijaitsevan etuvartioaseman nimi?

**Tulos**

Mitä HAL tekee heti yhteyden katkaisemisen jälkeen?

**Tulos**

Kuinka monta tiedemiestä on kryogeenisessä horroksessa?

**Tulos**

Minkä laulun Hal laulaa Bowmanille?

**Tulos**

Mikä on löydetty esine?

**Tulos**

Mikä on Claviuksen tukikohta?

**Tulos**

Mikä on Yhdysvaltain kuussa sijaitsevan aseman nimi?

**Tulos**

Mikä oli Yhdysvaltojen avaruusalus Discovery 1:n tehtävä?

**Tulos**

Minne avaruuslentokone vei tohtori Floydia?

**Tulos**

Mitä Bowman ja Poole syöttävät, jotta he voivat puhua ilman, että Hal kuulee?

**Tulos**

Miksi Bowman jättää Discovery One -avaruusaluksen Jupiteriin?

**Tulos**

Missä musta monoliitti esiintyy tarinassa ensimmäisen kerran?

**Tulos**

Mikä on tohtori Heywood Floydin tehtävä Clavius-tukikohdassa?

**Tulos**

Minne Pan-Am-avaruuslentokone vie tohtori Heywood Floydin?

**Tulos**

Minkä vuoksi ihmisapinaheimo joutui kohtaamaan nälkää ja kilpailua?

**Tulos**

Miten Bowman pääsee takaisin alukseen sen jälkeen, kun HAL on lukinnut hänet ulos?

**Tulos**

Minne Discovery One on matkalla?

**Tulos**

Mikä on Discoveryn tietokoneiden nimi?

**Tulos**

Mistä huhusta Floydin neuvostoliittolainen ystävä ja kollega puhui?

**Esimerkki 3.71**

Yhdysvaltain laivaston lentäjä LT Pete "Maverick" Mitchell ja hänen tutkalennonjohtoupseerinsa LTJG Nick "Goose" Bradshaw lentävät F-14A Tomcatilla USS Enterprisella (CVN-65). Yhdessä Maverickin siipimiehen "Cougar" ja hänen RIO "Merlininsä" kanssa he pysäyttävät kuvitteellisia Mikoyan-Gurevich MiG-28-koneita Intian valtameren yllä. Taistelun aikana Maverick lentää Tomcatillaan yhden MiG:n rinnalla ja kääntää koneensa ylösalaisin osoittaakseen toiselle lentäjälle sormea, mikä lisää hänen jo ennestään hurjaa mainettaan. Cougar joutuu kuitenkin melkein yhden vihamielisen koneen tappamaksi ja on sen jälkeen liian järkyttynyt laskeutuakseen, vaikka polttoaine on vähissä. Käskyjä uhmaten Maverick keskeyttää laskeutumisen ja saattaa Cougarin takaisin lentotukialukselle, koska polttoaine on vähissä. Cougar luopuu siivistään vedoten vastasyntyneeseen lapseensa, jota hän ei ole koskaan nähnyt. Huolimatta siitä, että CAG "Stinger" ei pidä Maverickin holtittomuudesta, hän lähettää hänet ja Goose, joka on nyt hänen huippumiehistönsä, Top Gun -kouluun NAS Miramariin.Maverick lentää holtittomasti osittain hyvittääkseen isäänsä Duke Mitchelliä, joka oli merivoimien lentäjä VF-51:ssä USS Oriskanyn (CV-34) aluksella Vietnamin sodan aikana. Vanhempi Mitchell kuoli, kun hänen F-4 Phantom II:nsa ammuttiin alas välikohtauksessa, jonka Maverick ei suostu uskomaan olevan hänen syytään. Goose on varovainen ja omistautunut vaimolleen Carolille ja lapselleen. Upseerit ovat kuitenkin läheisiä ystäviä ja tehokkaita kumppaneita. Top Gunin käynnistymistä edeltävänä päivänä Maverick lähestyy Goosea avustamalla baarissa epäonnistuneesti naista. Seuraavana päivänä hän saa tietää, että nainen on Charlotte "Charlie" Blackwood, astrofyysikko ja Top Gunin siviilikouluttaja. Kun nainen kuulee, että Maverick on lentäjä, joka käännytti MiG-28-lentäjän ympäri (ja kumosi siten hänen tietonsa, joiden mukaan MiG-28:n kyky suorittaa "negatiivinen G-punnerrus" oli rajoittunut "käänteislentosäiliöiden ongelman" vuoksi), hän kiinnostuu heti enemmän Maverickistä. Maverickin holtiton lentäminen sekä ärsyttää että tekee vaikutuksen komentaja Rick "Jester" Heatherlyyn ja muihin kouluttajiin. Hän voittaa Jesterin taistelussa, mutta rikkoo samalla kahta ohjesääntöä; hänestä tulee huippuoppilas LT Tom "Iceman" Kazanskin kilpailija, joka pitää Maverickin menetelmiä "vaarallisina"; ja hän jatkaa Charlien jahtaamista. Tunnilla hän analysoi Maverickin taistelua Jesterin lentokoneen kanssa ja kutsuu sitä "esimerkiksi siitä, mitä ei pidä tehdä". Myöhemmin Charlie myöntää hänelle ihailevansa hänen taktiikkaansa, mutta kritisoi niitä salatakseen tunteensa häntä kohtaan muilta, ja he aloittavat romanttisen suhteen.Harjoituslennon aikana Maverick hylkää siipimiehensä "Hollywoodin" jahdatakseen pääkouluttaja CDR Mike "Viper" Metcalfia. Maverick vastaa vanhempaa lentäjää liikkeestä toiseen, mutta Viper ohjaa Maverickin asemaan, josta hänen siipimiehensä Jester, joka on jo voittanut Hollywoodin, voi ampua Maverickin alas takaapäin, mikä osoittaa tiimityön arvon yksilöllisen kyvykkyyden sijaan.Lähellä harjoitusohjelman loppua Maverick ja Iceman jahtaavat molemmat Jesteriä; jälkimmäinen yrittää saada ohjuslukituksen kohteeseen. Maverick on tarpeeksi lähellä ampuakseen Jesterin aseillaan ja painostaa Icemania keskeyttämään taistelun ja puhdistamaan laukauksensa. Maverickin F-14 lentää Icemanin koneen suihkupesun läpi ja molemmat moottorit sammuvat, jolloin Maverickin kone joutuu korjauskelvottomaan tasakierrokseen. Maverick ja Goose heittäytyvät ulos, mutta heittoiskun voima iskee Goosen pään lentokoneen kuomuun ja tappaa hänet välittömästi.Vaikka tutkintalautakunta vapauttaa Maverickin vastuusta Goosen kuolemasta, hän tuntee syyllisyyttä ja menettää aggressiivisuutensa lentäessään. Charlie ja muut yrittävät lohduttaa häntä, mutta Maverick harkitsee eläkkeelle jäämistä. Epävarma tulevaisuudestaan, hän kysyy neuvoa Viperilta. Viper paljastaa palvelleensa Maverickin isän kanssa VF-51:ssä ja kertoo Maverickille salaisia yksityiskohtia, jotka todistavat, että Duke Mitchell kuoli sankarillisesti. Hän ilmoittaa Maverickille, että hän voi valmistua Top Gunista, jos hän saa itseluottamuksensa takaisin. Maverick päättää valmistua, mutta Iceman voittaa parhaan lentäjän palkinnon. valmistujaisjuhlissa Iceman, Hollywood ja Maverick saavat käskyn palata välittömästi Enterpriselle hoitamaan "kriisitilannetta", antamaan ilmatukea vihamielisille vesille ajautuneen viestintäaluksen pelastamiseen. Maverick ja Merlin määrätään toiseen kahdesta F-14-koneesta Icemanin ja Hollywoodin lentämien koneiden tueksi, vaikka Iceman suhtautuu varauksella Maverickin mielentilaan. Hollywood ammutaan alas kuuden MiG:n kanssa käydyssä viholliskohtauksessa, ja Maverick joutuu katapulttivian vuoksi yksin lentoon ja melkein vetäytyy joutuessaan samanlaisiin olosuhteisiin kuin ne, jotka aiheuttivat Goanen kuoleman. Kun Iceman vihdoin liittyy Icemanin seuraan, he ampuvat alas neljä MiGiä, pakottavat muut pakenemaan ja palaavat voitokkaasti Enterpriselle. Maverickille tarjotaan mitä tahansa tehtävää, mutta hän päättää palata Top Guniin kouluttajaksi.Miramarin baarissa Maverick ja Charlie tapaavat jälleen.

**Tulos**

Kuka sai surmansa harjoitteluharjoituksessa epäonnistuneessa irrotuksessa?

**Tulos**

Miten Maverickin isä kuoli?

**Tulos**

Mitä yllättävää tietoa Maverick saa Charlotte Blackwoodista toisen kerran kohdatessaan hänet?

**Tulos**

Mitä Viper paljasti Maverickille isästään?

**Tulos**

Kenet Maverick epäonnistuu viettelemään baarissa?

**Tulos**

Miten Goose kuolee?

**Tulos**

Mitä Viper antaa Maverickille tehtäväksi harjoittelun aikana?

**Tulos**

Minkä manööverin Maverick teki, joka herätti Charlie Blackwoodin huomion?

**Tulos**

Miksi Cougar lopettaa hävittäjälentäjän uransa?

**Tulos**

Mikä aiheutti Maverickin F-14:n molempien moottoreiden liekkeihin syttymisen Goanen kuolemaan johtaneessa välikohtauksessa?

**Tulos**

Mikä aiheuttaa Maverickin F-14:n liekkien sammumisen ja tasakierron?

**Tulos**

Mikä on Goanen oikea nimi ja titteli?

**Tulos**

Miksi Maverick lentää koneensa rinnakkain ja kääntää sen ylösalaisin?

**Tulos**

Mikä on Nick Bradshaw'n lempinimi?

**Tulos**

Kuka saattaa Cougarin takaisin lentotukialukselle, kun se jäätyy harjoitustehtävän aikana?

**Tulos**

Mikä oli se kriisitilanne, joka toi Maverickin ja Icemanin yhteen lentotehtävään tarinan lopussa?

**Tulos**

Minkä tehtävän Maverick valitsee suoritettuaan onnistuneesti viimeisen tehtävänsä tässä tarinassa?

**Tulos**

Minkä tehtävän Maverick valitsee tarinan loppupuolella?

**Tulos**

Kuka voittaa parhaan pilotin valmistumisen yhteydessä?

**Tulos**

Kuka antaa Maverickille tietoja, jotka tukevat hänen uskomustaan siitä, että hänen isänsä onnettomuus ei ollut hänen isänsä vika?

**Tulos**

Kuka voittaa parhaan lentäjän palkinnon Top Gun -akatemian valmistumisen yhteydessä?

**Tulos**

Minkä vesistön yllä hahmot pysäyttävät MiG-28:t?

**Tulos**

Kuka lähetetään Top Gun -kouluun Maverickin kanssa?

**Tulos**

Millä lentotukialuksella Maverickin isä palveli Vietnamin sodan aikana?

**Tulos**

Kuka on Duke Mitchell suhteessa Maverickiin?

**Tulos**

Kuka Top Gunin kouluttajista lensi Maverickin isän kanssa?

**Tulos**

Missä Maverick ja Charlie tapaavat jälleen?

**Tulos**

Kuka kutsuu Maverickin sitoutumista Jesterin kanssa "esimerkiksi siitä, mitä ei pidä tehdä"?

**Tulos**

Kumpi Goose ja Maverick ovat varovaisempia lentotehtävissä?

**Esimerkki 3.72**

Tarina sijoittuu myyttiseen Calivadan kaupunkiin, jossa Lightnin' Bill Jones, tai oikeammin hänen vaimonsa, pyörittää melko rähjäistä hotellia, joka sijaitsee Kalifornian ja Nevadan osavaltioiden rajan tuntumassa, mikä on kätevää niille, jotka etsivät nopeaa avioeroa Nevadasta. Hän on saanut lempinimen Lightnin, koska, kuten paikallinen postimestari asian ilmaisi, kutsumme häntä Lightniniksi, koska hän ei ole Lightnin. Lightnin Bill, sisällissodan veteraani, joka kehuskelee kehuskelleensa neuvoneensa kenraali Ulysses S. Grantia, väittää myös olevansa kaikkien alojen ammattilainen, sillä hän on ollut joskus tuomari, keksijä, etsivä ja mehiläishoitaja. Jälkimmäisestä ammatistaan hän kertoo, että hän ajoi kerran parven preerian poikki keskellä talvea menettämättä yhtään mehiläistä. Kun Lightnin Billiä painostetaan, hän myöntää, että ajon aikana häntä on saatettu pistää kerran tai kahdesti.Lightnin Bill viettää päivät ja yöt mieluummin kavereidensa kanssa riehuen kuin kotona vaimonsa ja adoptiotyttärensä kanssa. Kun hän kieltäytyy suostumasta hotellin myyntiin ulkopaikkakuntalaisille liikemiehille, hänen vaimonsa raivostuu ja hakee avioeroa. Oikeudessa Lightnin Bill pystyy nuoren John Marvinin avustuksella todistamaan, että ostajat ovat häikäilemättömiä roistoja, ja voittaa vaimonsa rakkauden takaisin.

**Tulos**

Ketä Lightnin' Bill kehuu neuvovansa?

**Tulos**

Kuka sanoi: "Kutsumme häntä Lightniniksi, koska hän ei ole Lightnin'"?

**Tulos**

Kuka väitti olevansa tuomari, keksijä, etsivä ja mehiläishoitaja?

**Tulos**

Kuka auttoi Lighnin' Billiä oikeudessa?

**Tulos**

Ketä Lighnin' Bill kehui neuvoneensa?

**Tulos**

Mitä kenraalia Bill väitti neuvoneensa sodan aikana?

**Tulos**

Minkä eläimen Bill väitti kerran ajaneensa preerian halki talvella ilman, että yksikään eläin olisi menettänyt henkensä?

**Tulos**

Minkä osavaltion rajalla hotelli sijaitsee?

**Tulos**

Mitä tapahtui Billin ja hänen vaimonsa väliselle suhteelle tarinan lopussa?

**Tulos**

Missä sodassa Bill väitti palvelleensa?

**Tulos**

Missä oli hotelli, jota Bill ja hänen vaimonsa pitivät?

**Tulos**

Miksi Billin vaimo haki avioeroa?

**Tulos**

Mitä Lightnin' Bill Jones ja hänen vaimonsa tekevät työkseen?

**Tulos**

Mitä tapahtui, kun Lighnin' Bill kieltäytyi myymästä hotelliaan?

**Tulos**

Missä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Miksi Lighnin' Bill ei ollut kotona vaimonsa ja adoptiotyttärensä kanssa?

**Tulos**

Miksi Lighnin' Bill väitti olevansa kaikkien alojen asiantuntija?

**Tulos**

Kuka haluaa ostaa hotellin?

**Tulos**

Millaisia lapsia Billillä on?

**Tulos**

Mikä oli postimestarin selitys Billin lempinimelle?

**Tulos**

Miten Lighnin' Bill ja John Marvin voittivat jutun?

**Tulos**

Millaista liiketoimintaa Lightnin' Bill Jones ja hänen vaimonsa harjoittivat?

**Tulos**

Mitä Bill teki mieluummin "yötä päivää" kuin vietti aikaa perheensä kanssa?

**Tulos**

Kuka auttoi Billiä voittamaan oikeusjutun?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Lighnin' Bill voittaa oikeusjuttunsa?

**Tulos**

Kuka auttaa Lightnin' Billiä saamaan vaimonsa rakkauden takaisin?

**Tulos**

Mitä Lightnin' Bill tekisi mieluummin kuin viettäisi aikaa perheen kanssa?

**Tulos**

Kuka on sisällissodan veteraani?

**Tulos**

Mitä paikallinen postimestari sanoi Bill Jonesista?

**Tulos**

Kuka hakee avioeroa?

**Esimerkki 3.73**

Justice (Janet Jackson) on nuori nainen, joka asuu Los Angelesin South Centralissa. Hän sai nimen Justice edesmenneeltä äidiltään, joka synnytti hänet opiskellessaan lakia. Poikaystävänsä Markellin (Q-Tip) ammuskelusurman jälkeen Justice vaipuu syvään masennukseen. Hän viettää suurimman osan ajastaan isoäidiltään perimässään talossa kissansa White Boyn kanssa ja käy vain töissä paikallisessa kampaamossa. Justice on lahjakas runoilija, ja hän lukee monia runojaan elokuvan aikana sekä muille hahmoille että ääninäyttelijöille.Justice on eräänä päivänä kampaamossa töissä, kun nuori postimies Lucky (Tupac Shakur) tulee sisään ja alkaa flirttailla hänen kanssaan. Hän torjuu miehen lähentelyt naispuolisen pomonsa avustuksella; molemmat naiset teeskentelevät olevansa lesboja ja pilkkaavat Luckya "suhteellaan." Lucky on kokenut elämässään myös tragedioita: hänen pääpainopisteensä on nuoren tyttärensä Keishan hoitaminen. Hän joutui väkisin ottamaan tytön pois äitinsä Angelin, crack-riippuvaisen narkomaanin, hoidosta, joka käytti huumeita ja harrasti seksiä huumediilerinsä kanssa jättäen lapsen vartioimatta asuntoon. Lucky haaveilee musiikin ammattilaisurasta ja on lupaava, mutta hän vaatii, että hänen serkkunsa on todellinen lahjakkuus.Justicen ystävä Iesha (Regina King) onnistuu suostuttelemaan Justicen lähtemään Oaklandiin Ieshan poikaystävän Chicagon (Joe Torry), Luckyn postikonttorissa työskentelevän työkaverin, kanssa. Justice suostuu varovaisesti, koska hänen on mentävä Oaklandiin hiusnäytökseen, ja hänen autonsa kuolee viime hetkellä. Justice ei tiedä, että Lucky on Chicagon työkaveri, joka on myös matkalla, ja hän joutuu nyt jakamaan postipakettiauton hänen ja heidän kahden yhteisen ystävänsä kanssa. Aluksi he riitelevät, mutta elokuvan kuluessa he pehmenevät toisiaan kohtaan, kun he huomaavat yhtäläisyytensä.Nelikko tekee pari kiertotietä, joista ensimmäinen on perheen jälleennäkemisen grillijuhla, jonka kyltit he näkevät tiellä. Täällä käy selväksi (vaikka aiemmin oli runsaasti vihjeitä), että Ieshan ja Chicagon suhde on ongelmallinen. Iesha flirttailee avoimesti muiden miesten kanssa grillijuhlissa, ja Chicago hautoo mietteliäänä hänen käytöstään. Iesha ja Chicago riitelevät postiautossa, kunnes Justice puhuu Ieshalle tämän käyttäytymisestä alkoholin kanssa. Iesha oksentaa ja itkee Justicen päälle ja pyytää häneltä anteeksi. Toinen pysähdyspaikka on uimaranta, jossa jokainen neljästä hahmosta pohtii sisäisissä monologeissa omaa tilannettaan. Seuraavaksi he pysähtyvät afrikkalaisilla kulttuurimessuilla, jossa Lucky ja Justice lähentyvät keskustellessaan elämästään. Messuilta lähdettyään Chicagon ja Ieshan välinen kitka räjähtää, kun Iesha ilmoittaa Chicagolle, että hän on seurustellut jonkun toisen kanssa, ja Iesha hyökkää Chicagon kimppuun fyysisesti. Lucky päättää aluksi olla sekaantumatta tappeluun, kunnes Justice puolustaa Ieshaa potkaisemalla Chicagoa nivusiin, ja Chicago kääntää fyysisen raakuutensa kostoksi Justicea vastaan. Lucky, Justice sekä vertavuotava ja järkyttynyt Iesha jättävät Chicagon tien varteen ja jatkavat matkaansa. Lucky pysäyttää postiauton rannalle, ja Justice lähtee katsomaan, mikä hätänä. Isea alkaa avautua miehelle elämästään, ja Lucky alkaa tuntea myötätuntoa. He jakavat suudelman, ja Justice lähtee pois ilmeisen epävarmana tunteistaan Luckya kohtaan. Kun kolmikko saapuu Oaklandiin, he saavat kuulla, että Luckyn serkku, jonka kanssa hän oli työskennellyt musiikin äänittämiseksi, on tapettu. Lucky syyttää itseään siitä, ettei ollut Oaklandissa aikaisemmin, sillä hän uskoo, että olisi voinut estää ampumisen, jos olisi ollut kaupungissa. Hän kääntää vihansa Justicea vastaan ja syyttää tätä vihaisesti siitä, että tämä häiritsi häntä, kun he olivat matkalla. Jessie antaa Justicelle ja Ieshalle neuvoja miehistä ennen hiusnäytöstä, ja Luckyn setä ja täti antavat Luckylle serkkunsa äänityslaitteet, ja hän päättää olla palaamatta töihin ja huolehtia Keishasta. on kulunut joitakin kuukausia, ja Lucky ja Keisha tapaavat Justicen jälleen kampaamossa, juuri sillä hetkellä kun Lucky tuo tyttärensä Keishan sisään. Lucky on katuvainen Oaklandin käytöksestään ja julmista sanoista, joita hän sanoi siellä Justicelle, ja pyytää anteeksi. Lucky hymyilee hänelle ja he jakavat intohimoisen suudelman. Justice hymyilee kainosti ja kääntää sitten huomionsa Keishaan, jonka hiuksia hän pörrää. Justicen ja Luckyn katseet kohtaavat Keishan pään yllä, ja he hymyilevät, heidän yhteytensä on yhtä vahva kuin ennenkin.

**Tulos**

Miksi Keisha asuu Luckyn kanssa?

**Tulos**

Missä Justice työskentelee ja mitä hän tekee?

**Tulos**

Missä Justice törmää Luckyyn ja Keishaan palattuaan Oaklandiin?

**Tulos**

Missä oikeus asuu?

**Tulos**

Mistä Justice sai nimensä?

**Tulos**

Mihin kaupunkiin Justice, Lucky, Lesha ja Chich ovat matkalla?

**Tulos**

Mitä Justice ja hänen pomonsa teeskentelevät olevansa, kun Lucky tulee kampaamoon, ja miksi?

**Tulos**

Missä Justice kohtaa Luckyn?

**Tulos**

Miksi Justice loukkaantuu matkalla?

**Tulos**

Miksi Chicago iskee leshaan?

**Tulos**

Miksi Justice menee Oaklandiin?

**Tulos**

Mitä Markellille tapahtui, että Justice joutui masennukseen?

**Tulos**

Minne ryhmä menee matkalla Oaklandiin ensimmäisellä kiertotiellä (sen jälkeen, kun he näkevät kyltit tiellä)?

**Tulos**

Mistä Lucky tuntee Chicagon?

**Tulos**

Mistä Justice on saanut nimensä?

**Tulos**

Kuka jää matkan varrelle?

**Tulos**

Missä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Kun ryhmä pääsee Oaklandiin, miksi Lucky suuttuu Justicelle?

**Tulos**

Kuka antaa Luckylle hänen äänityslaitteensa?

**Tulos**

Mitä tapahtuu Justicen poikaystävälle?

**Tulos**

Mitä Leshalle ja Chicagolle tapahtuu grillijuhlissa?

**Tulos**

Mikä tapahtuma saa Poeticin vaipumaan masennuskierteeseen?

**Tulos**

Mihin ryhmä (Lucky, Justice ja Iesha) jättää Chicagon?

**Tulos**

Kuka on Keisha?

**Tulos**

Kenen talossa Justice asuu ja miten hän sai sen?

**Tulos**

Miksi Justice ja Lucky viettävät aikaa erillään oltuaan yhdessä?

**Tulos**

Mikä on Justicen erityinen lahjakkuus?

**Tulos**

Mitä tapahtuu Luckyn serkulle?

**Esimerkki 3.74**

Tarinan alussa Helinä ja Chubbins ovat eksyneet "suureen metsään". He törmäävät "tuxixiin", olentoon, joka näyttää piikkikilpikonnalta, mutta on todellisuudessa "taikuri, velho, velho ja noita yhdessä... ja voitte kuvitella, miten kauhea asia se olisi". Paha tuxix loitsuaa lapset ja muuttaa heidät pieniksi linnun kaltaisiksi olennoiksi, joilla on oma pää, mutta joiden vartalot ovat kiurujen. (Ne muistuttavat venäläisen kansanperinteen ihmispäisiä, linturunkoisia sirinejä, alkonosteja ja gamayuneja.) Poliisimies Sinitiainen, metsän lintumaailman järjestyksen ylläpitäjä, johdattaa kaksi lapsi-korentoa lennolle taivaan halki; hän löytää ne vaahteran sisällä olevasta hylätystä sirrin pesästä ja hakee ystävällisen kotkan avulla heidän piknik-korinsa (jotta heidän ei tarvitsisi syödä ötököitä, matoja ja toukkia).Tuiki ja Pupu tutustuvat uusiin vaahterapuun naapureihinsa, oravaan, pöllöön ja opossumiin, ja poliisi Sinitiainen esittelee heidät lintuyhteisölle. Lapset näkevät, että metsän elävien olentojen maailmassa on rakenteita, suhteita ja konflikteja. He kuulevat tarinoita ihmisten julmuudesta eläimiä kohtaan, ja pian he näkevät sen omakohtaisesti, kun metsästäjät tulevat metsään. Metsästäjät tappavat rouva 'Opossumin ja rouva Hootawayn sekä orava Wiskin; Tuiki yrittää protestoida, mutta saa aikaan vain pilkkijän sirityksen. Metsästäjien koira melkein nappaa Tuiki-Tuiki, mutta sen ja Chubbinsin pelastaa heidän ystävänsä kotka, joka syöksyy alas, tappaa koiran ja johdattaa heidät turvaan - tai ainakin suhteellisen turvaan: kotka vie kaksi kuikkalasta luolaansa, jossa nälkäiset poikaset haluavat syödä heidät aamiaiseksi. (Baum myöntää, että eläimet joutuvat selviytyäkseen saalistamaan toisiaan.) Se ei ole kuitenkaan ainoa keino, jolla ne voivat elää. Silti hän väittää, että "rakkaus" on metsän suuri laki.) Poliisi Bluejay saattaa lapset turvallisempaan paikkaan. Pian hän vie heidät lintujen paratiisiin, jonne metsän riidat ja väkivalta eivät koskaan tunkeudu. Lapset saavat tutustua sen loistoon ja tapaavat Paratiisin kuningaslinnun. Paratiisin "esikaupunkialueella" lapset tutustuvat mehiläisyhteisöön ja tapaavat mehiläiskuningattaren, ja he todistavat perhosten upeaa lentoa.Paratiisin ulkopuolella, "karkeassa ulkomaailmassa", lintumaailmassa on ongelmia; poliisimies Sinitiainen joutuu selviytymään variksen kapinasta, joka tekee muista linnuista orjiaan. Yhdistymällä pienemmät linnut voittavat varikset taistelussa. Paratiisin kuningaslintu ja hänen kuninkaallinen nekromantikkonsa ovat kertoneet lapsille, että he voivat palauttaa itsensä ihmismuotoon syömällä hedelmän nimeltä "kihelmöiviä marjoja". He tekevät niin ja palaavat normaaleihin kehoihinsa, vaikka Chubbins meinaa juuttua puoliväliin. Seikkailu on ohi, ja lapset lähtevät kotiin illan hämärtyessä.

**Tulos**

Kuka pelastaa lapset metsästyskoiralta?

**Tulos**

Kuka auttaa suojelemaan lapsia ja saattamaan heidät turvallisiin paikkoihin?

**Tulos**

Mitä haetaan, jotta lasten ei tarvitse syödä ötököitä, matoja ja toukkia?

**Tulos**

Minkälaiset linnunruumiit lapsilla lopulta on?

**Tulos**

Kuka pelastaa Twinklesin ja Chubbinin metsästäjiltä?

**Tulos**

MIKÄ ON METSÄN SUURI LAKI?

**Tulos**

KUKA PELASTAA TUIKI JA TUIKI KOIRALTA?

**Tulos**

Mikä on metsän suuri laki?

**Tulos**

Kuka melkein juuttuu puoliväliin muuttuessaan takaisin ihmiseksi?

**Tulos**

Minkälaiseen olentoon Helinä ja Chubbins törmäsivät "suuressa metsässä"?

**Tulos**

MITÄ TUXIX TEKEE LAPSILLE?

**Tulos**

Minne Chubbins ja Twinkle ovat eksyneet tarinan alussa?

**Tulos**

Minkä kuningattaren Helinä ja Chubbins tapaavat?

**Tulos**

Kuka hakee lasten piknik-korin?

**Tulos**

Kuka tappaa metsästäjän koiran?

**Tulos**

Mikä on lintumaailman ongelma, jota Poilcemand Bluejay joutuu käsittelemään?

**Tulos**

Miten lapset voivat muuttua takaisin ihmisiksi?

**Tulos**

Millaiseksi lapsiin kohdistuva paha loitsu muuttaa heidät?

**Tulos**

JOKA HALUAA TEHDÄ MUISTA LINNUISTA ORJIAAN?

**Tulos**

KUN TAAS METSÄSSÄ MISSÄ LAPSET ASUVAT?

**Tulos**

Mihin turvalliseen paikkaan poliisi Bluejay vie lapset?

**Tulos**

KUKA ON TARINAN LINTUMAAILMAN JÄRJESTYKSEN YLLÄPITÄJÄ?

**Tulos**

Miltä smokki näyttää?

**Tulos**

Keitä ovat Tuikun ja Chubbinsin uudet naapurit?

**Tulos**

KETKÄ OVAT TARINAN PÄÄHENKILÖT?

**Tulos**

MITÄ HE KOHTAAVAT EKSYESSÄÄN METSÄÄN?

**Tulos**

MILLAISEKSI ELÄIMEKSI LAPSET MUUTTUVAT?

**Tulos**

Minkä kuninkaan esittelee Twinkle ja Chubbins?

**Tulos**

Mitä Baum uskoo "suureen lakiin", jota hän ylläpitää metsässä?

**Tulos**

MITEN LAPSET VOIVAT KUMOTA HEIHIN KOHDISTUNEEN LOITSUN?

**Esimerkki 3.75**

Andy Kaufmanin (Jim Carrey) "ulkomaalainen mies" ilmestyy mustavalkoisena ja julistaa, että (massiivisen leikkauksen vuoksi) tämä on itse asiassa elokuvan loppu, ei sen alku. Hän soittaa äänilevyä lopputekstien ohella ennen kuin kävelee synkkänä pois. Sitten Kaufman palaa takaisin, ja normaalilla äänellään, väittäen, että "hänen oli päästävä eroon ihmisistä, jotka eivät ymmärrä minua eivätkä halua yrittää", hän jatkaa elämäntarinansa esittämistä filmiprojektorilla alkaen lapsuudenkodistaan Great Neckissä, New Yorkissa, noin vuonna 1957: Kaufman on vaikeuksissa oleva esiintyjä, jonka esitys epäonnistuu yökerhoissa, koska vaikka yleisö haluaa komediaa, hän laulaa lastenlauluja eikä suostu kertomaan perinteisiä vitsejä. Kun yleisö alkaa uskoa, että Kaufmanilla ei ehkä ole todellista lahjakkuutta, hänen omituinen "ulkomaalainen miehensä" pukee päälleen strassitakin ja esittää totaalisen Elvis-imitaation ja -laulun. Yleisö räjähtää suosionosoituksiin tajutessaan, että Kaufman oli huijannut heitä. hän kiinnittää huomionsa kykyjenetsijä George Shapiroon (Danny DeVito), joka ottaa Kaufmanin asiakkaakseen ja hankkii hänelle heti tv-sarjan Taxi, Kaufmanin kauhuksi, sillä hän inhoaa komediasarjoja. Rahan, näkyvyyden ja lupauksen, että hän voi tehdä oman tv-erikoisohjelmansa, vuoksi Kaufman hyväksyy roolin Taxissa ja muuttaa ulkomaalaisen miehen Latka Gravas -nimiseksi mekaanikoksi. Salaa hän kuitenkin vihaa sarjan tekemistä ja ilmaisee halunsa lopettaa.Kutsuttuaan yökerhoon katsomaan erästä toista esitystä Shapiro todistaa töykeän, kovaäänisen loungelaulajan Tony Cliftonin esityksen, jonka Andy haluaa vierailevaksi tähdeksi Taksiin. Cliftonin huonoa asennetta vastaa hänen kamala ulkonäkönsä ja käytöksensä. Mutta kun Clifton tapaa Shapiron lavan takana, hän ottaa aurinkolasit pois ja paljastaa olevansa oikeasti Kaufman. Clifton on Kaufmanin ja hänen luovan kumppaninsa Bob Zmudan (Paul Giamatti) luoma "roistohahmo". Jälleen kerran pila kohdistuu yleisöön.Kaufmanin maine kasvaa hänen Saturday Night Live -esiintymisiensä myötä, mutta hänellä on ongelmia uuden maineensa kanssa. Kun hän matkustaa yliopistojen kampuksilla, yleisö ei pidä hänen oudosta huumorintajustaan ja vaatii häntä esiintymään Latka-nimellä, joten hän tahallaan suututtaa heidät lukemalla Suuri Gatsby ääneen alusta loppuun. Kaufman ilmestyy Taksin kuvauspaikalle Cliftonina ja aiheuttaa kaaosta, kunnes hänet poistetaan studiolta. Hän kertoo Shapirolle, ettei hän koskaan tiedä tarkalleen, miten viihdyttää yleisöä "paitsi lavastamalla oman kuolemani tai sytyttämällä teatterin tuleen." Kaufman päättää ryhtyä ammattilaispainijaksi, mutta painiakseen "roistomaisen" näkökulman korostamiseksi hän painisi vain naisten kanssa (palkattujen näyttelijättärien kanssa) ja haukkuisi heitä voitettuaan julistautuakseen "Sukupuoltenvälisen painin mestariksi". Hän ihastuu erääseen painimaansa naiseen, Lynne Marguliesiin (Courtney Love), ja he aloittavat romanttisen suhteen.Ongelmia syntyy, kun esiintyminen suorassa TV-komediashow'ssa, ABC:n Perjantaisin, muuttuu fiaskoksi, kun Kaufman kieltäytyy puhumasta vuorosanojaan. Myös painiva Kaufman nauttii yleisön kiihottamisesta ja riitelee julkisesti Jerry Lawlerin, miespainin ammattilaisen kanssa, joka haastaa Kaufmanin "oikeaan" painiotteluun, jonka Kaufman hyväksyy. Lawler voittaa Kaufmanin helposti ja vahingoittaa häntä vakavasti, minkä seurauksena koomikko joutuu käyttämään niskatukea. Lawler ja loukkaantunut Kaufman esiintyvät NBC:n Late Night with David Letterman -ohjelmassa teoriassa solmiakseen aselevon, mutta Lawler loukkaa Kaufmania, joka heittää painijan juomalla ja puhuu ilkeän haukkumasanan. Myöhemmin kuitenkin paljastuu, että Kaufman ja Lawler olivat itse asiassa hyviä ystäviä ja lavastivat koko riidan, mutta siitä huolimatta Andy joutuu kärsimään, kun hänen painiaskareisiinsa kyllästynyt yleisö äänestää hänet ulos Saturday Night Livestä. Shapiro neuvoo Kaufmania ja Lawleria olemaan työskentelemättä enää yhdessä, ja myöhemmin hän soittaa Kaufmanille ilmoittaakseen, että Taksi on peruttu.Komediaklubilla pidetyn show'n jälkeen Kaufman soittaa Lynnen, Zmudan ja Shapiron yhteen ja kertoo, että hänellä on diagnosoitu harvinainen keuhkosyöpä ja että hän saattaa kuolla pian. He eivät ole varmoja, pitäisikö tätä uskoa, sillä he ajattelevat, että kyseessä voisi olla jälleen yksi Kaufmanin temppu, ja Zmuda itse asiassa uskoo, että tekokuolema olisi loistava kepponen. Koska Kaufmanilla on vain vähän aikaa elinaikaa, hän saa varauksen Carnegie Halliin, unelmiensa esiintymispaikkaan. Esitys on ikimuistoinen menestys, joka huipentuu siihen, että Kaufman kutsuu koko yleisön ulos maitoa ja keksejä syömään. Hänen terveytensä heikkenee. Epätoivoissaan hän lähtee Filippiineille etsimään lääketieteellistä "ihmettä" (itse asiassa psyykkistä kirurgiaa), jossa lääkärit muka vetävät tartunnan saaneita elimiä ulos kehosta; hän saa selville huijauksen ja nauraa ironiaa. Hän kuolee pian sen jälkeen. Ystävät ja läheiset laulavat Andyn hautajaisissa lauluvideon kanssa.Vuotta myöhemmin, vuonna 1985, Tony Clifton esiintyy Andy Kaufmanin muistotilaisuudessa The Comedy Storen päälavalla esittäen kappaleen "I Will Survive". Kamera panoroi yleisön yli ja paljastaa Zmudan yleisössä. Lopputekstien aikana Kaufman kurkistaa taas lyhyesti mustavalkoisena.

**Tulos**

Kuka oli George Shapiro Andy Kaufmanille?

**Tulos**

Miksi Kaufmanin yökerhonumero epäonnistuu sen lisäksi, että hän laulaa lastenlauluja?

**Tulos**

Minkä painijan kanssa Andy Kaufmanilla oli romanttinen suhde?

**Tulos**

Kun Kaufmanista tulee painija, mitä rajoituksia hän asettaa?

**Tulos**

Minkä urheilulajin ammattilaiseksi Kaufman päättää ryhtyä?

**Tulos**

Mistä Andy Kaufman on kotoisin?

**Tulos**

Mitä mieltä Kaufman on komediasarjoista?

**Tulos**

Mitä Kaufman joutuu käyttämään painivamman seurauksena?

**Tulos**

Missä ohjelmassa Kaufman on, kun hän kieltäytyy puhumasta vuorosanojaan?

**Tulos**

Minkä kutsun Kaufman esittää yleisölle Carnegie Hall -esityksensä jälkeen?

**Tulos**

Mitä Kaufmanilla todettiin?

**Tulos**

Mihin Kaufman menee hakemaan lääketieteellistä ihmettä?

**Tulos**

Mikä oli Jerry Lawlerin ammatti?

**Tulos**

Kuka oli Tony Clifton?

**Tulos**

Missä tv-sarjassa Kaufman ottaa vastaan roolin?

**Tulos**

Esiintymiset missä komediaohjelmassa lisäävät Kaufmanin mainetta?

**Tulos**

Mitä laulajaa Kaufman imitoi "ulkomaalainen mies" -hahmonsa kautta?

**Tulos**

Mikä on Kaufmanin unelmapaikka?

**Tulos**

Missä ohjelmassa Andy Kaufman heitti juoman Jerry Lawlerin päälle?

**Tulos**

Miten Andy on saanut porttikiellon Saturday Night Liveen?

**Tulos**

Kuka joutuu tappeluun Lawlerin kanssa David Lettermanin ohjelmassa?

**Tulos**

Kuka ilmoittaa Kaufmanille, että Taxi on peruttu?

**Tulos**

Mikä oli Andy Kaufmanin unelmapaikka?

**Tulos**

Mitä roolia Andy Kaufman näytteli komediasarjassa "Taxi" ?

**Tulos**

Mikä kuolemaan johtava sairaus Andy Kaufmanilla todettiin?

**Tulos**

Mitä Kaufman kieltäytyy tekemästä ABC:n suorassa ohjelmassa?

**Tulos**

Kuka on Bob Zmuda Andy Kaufmanille?

**Tulos**

Mitä mieltä Kaufman on Taxista?

**Tulos**

Missä Kaufman tapaa Lynnen?

**Tulos**

Minkä romaanin Kaufman lukee ääneen ärsyttääkseen tarkoituksella yleisöään?

**Esimerkki 3.76**

Billy (Marina Zudina), FX-maskeeraaja, jolla ei ole fyysistä kykyä puhua, työskentelee Moskovassa siskonsa poikaystävän Andyn (Evan Richards) ohjaaman pienen budjetin slasher-elokuvan parissa. Eräänä yönä Billy palaa kuvauspaikalle hakemaan erästä varustetta seuraavan päivän kuvauksia varten, kun hän jää vahingossa lukkojen taakse studioon. Koska Billy ei pysty puhumaan, mutta hänellä on kyky kommunikoida siskonsa Karenin (Fay Ripley) kanssa, hän soittaa useita puheluita, mutta hänen puhelunsa keskeytyy, kun hän huomaa pienen kuvausryhmän työskentelevän työajan jälkeen kuvaamassa halpaa pornoelokuvaa. Näkymättömänä katsojana Billy on huvittunut, kunnes esitetty seksi muuttuu sadistiseksi. Kun naamioitunut näyttelijä vetää veitsen esiin ja puukottaa näyttelijää (Olga Tolstetskaja), Billy reagoi ja jää kiinni. Hän pakenee murhanhimoisen elokuvaryhmän takaa-ajamana. Billy pääsee täpärästi pakoon ja onnistuu kertomaan tarinansa siskolleen ja poliisille, mutta snuff-elokuvaryhmä onnistuu vakuuttamaan viranomaiset siitä, että ruudulla tapahtunut "murha" oli elokuvallinen erikoistehoste. Tapahtumat tuovat kuitenkin esiin Larsenin (Oleg Jankovski), peitetehtäviin erikoistuneen etsivän, joka jäljittää salakuvafilmiryhmän toimintaa ja heidän yhteyttään hämäräperäiseen rikollismestariin nimeltä "Viikatemies". Viikatemies (Alec Guinness) on kansainvälisen maanalaisen snuff-ringin rahoittaja. Hän kertoo rikolliselle kuvausryhmälle, että Billy on todistaja ja hänet on eliminoitava, mikä motivoi snuff-elokuvan ohjaajaa, hänen roistoavustajansa ja joukon apurikollisia hakemaan tytöltä kadonneen tietokonelevyn ja lähettämään sen. Kun yhä useammat ryhmittymät sekaantuvat Billyn tappamiseen ja pelastamiseen, toiminta muuttuu hurjaksi ja fantastiseksi, ja on vaikea erottaa, mikä on totta ja mikä elokuvataikaa.

**Tulos**

Kuka sanoo, että Billy on tapettava?

**Tulos**

Mikä on Billyn fyysinen vamma?

**Tulos**

Kuka ei voi puhua?

**Tulos**

Missä Billy oli, kun hän näki murhan?

**Tulos**

Miksi Billy pakenee studiosta?

**Tulos**

Ketä puukotetaan studiossa?

**Tulos**

Missä maassa Billy työskentelee tarinan alussa?

**Tulos**

Missä kaupungissa Billy työskentelee?

**Tulos**

Kuka on peitetehtävissä toimiva etsivä?

**Tulos**

Mitä miehistö teki Billyn ollessa lukittuna studioon?

**Tulos**

Minkälainen leffa se oli, jota tehtiin työajan jälkeen?

**Tulos**

Mitä rikolliset yrittävät hakea Billyltä?

**Tulos**

Mikä fyysinen vamma Billyllä on?

**Tulos**

Mitä naamioitunut mies tekee, että Billy reagoi?

**Tulos**

Miksi Billy ei enää huvittunut katsellessaan heidän pornoelokuvan tekoa?

**Tulos**

Mikä on salaisen etsivän nimi?

**Tulos**

Kuka on viikatemiestä jäljittävä peiteetsivä?

**Tulos**

Kenelle Billy työskentelee?

**Tulos**

Mitä miehistö vakuutti poliisille, että homoside oli?

**Tulos**

Mikä on hämäräperäisen rikollisen päämiehen peitenimi?

**Tulos**

Mitä Billy tekee Moskovassa?

**Tulos**

Kenelle muulle kuin siskolleen Billy kertoo tarinansa?

**Tulos**

Minkä niminen oli rikollinen neropatti?

**Tulos**

Kenen kanssa Billy voi kommunikoida?

**Tulos**

Kuka on Billyn siskon poikaystävä?

**Tulos**

Mikä on Billyn siskon nimi?

**Tulos**

Mikä on Billyn ammatti?

**Tulos**

Mihin Billy joutui lukkojen taakse?

**Tulos**

Mitä viikatemies rahoittaa?

**Esimerkki 3.77**

Ihmeellinen vierailu kertoo, kuinka enkeli viettää hieman yli viikon Etelä-Englannissa. Häntä luullaan aluksi linnuksi häikäisevän monivärisen höyhenpeitteensä vuoksi, sillä hän ei ole "uskonnollisen tunteen eikä kansanuskon enkeli", vaan "italialaisen taiteen enkeli". Tämän seurauksena harrastelija-ornitologi, Siddermotonin kirkkoherra K. Hilyer, metsästää ja ampuu hänet siivilleen, minkä jälkeen hän ottaa hänet vastaan ja hoitaa häntä kirkkoherranvirastossa. Olento on kotoisin "unelmien maasta" (enkelin käyttämä termi myös meidän maailmastamme), ja vaikka se on "viehättävän ystävällinen", se on "täysin tietämätön sivilisaation alkeellisimmista tosiasioista". Lyhyen vierailunsa aikana hän tyrmistyy yhä enemmän siitä, mitä hän oppii maailmasta yleensä ja erityisesti elämästä viktoriaanisen ajan Englannissa. Kun hän suhtautuu yhä kriittisemmin paikallisiin tapoihin, hänet tuomitaan lopulta "sosialistiksi". Hänen isäntänsä, kirkkoherra, joutuu sillä välin pappien, naapureiden ja jopa palvelijoiden hyökkäyksen kohteeksi, koska hän pitää majoituksessaan huonomaineista hahmoa (kirkkoherraa lukuun ottamatta kukaan muu ei usko, että tämä on tullut toisesta maailmasta, ja ihmiset kutsuvat häntä "herra Angeliksi"). Enkelin ainoa lahjakkuus on hänen taivaallinen viulunsoittonsa, mutta hän joutuu huonoon valoon vastaanotolla, jonka Lady Hammergallow suostuu järjestämään, kun selviää, ettei hän osaa lukea nuotteja ja tunnustaa ymmärtäväiselle kuulijalle, että hän on kiinnostunut kirkkoherran palvelustytöstä Deliasta. Parantumisen sijaan hänen siipensä alkavat surkastua. Paikallinen lääkäri, tohtori Crump, uhkaa panna hänet vankilaan tai hullujenhuoneelle. Kun enkeli tuhoaa piikkilankaa paikallisen paronetin tilalla, Sir John Gotch antaa kirkkoherralle viikon aikaa lähettää enkeli pois, ennen kuin hän aloittaa oikeudenkäynnin häntä vastaan. pastori Hilyer suunnittelee valitettavasti, miten hän vie enkelin Lontooseen ja yrittää sijoittaa hänet sinne, kun kaksi katastrofia keskeyttää suunnitelman. Ensin enkeli, joka "oli hengittänyt tämän meidän olemassaolosta käymämme kamppailun myrkyllistä ilmaa jo yli viikon ajan", hakkaa raivoissaan Sir John Gotchia Gotchin omalla ruoskalla sen jälkeen, kun paikallinen maanomistaja on röyhkeästi käskenyt häntä poistumaan mailtaan. Hätääntyneenä luullessaan (erehdyksessä) tappaneensa miehen hän palaa kylään ja löytää kirkkoherran talon liekeissä. Palvelustyttö Delia on mennyt palavaan rakennukseen pelastaakseen enkelin viulun: tämä erikoinen teko on enkelille ilmestys. "Silloin hän näki salamana kaiken, näki tämän taistelun ja julmuuden synkän pienen maailman, joka kirkastui enkelimaata paremmaksi loistoksi, joka täyttyi yhtäkkiä ja sietämättömän loistavasti rakkauden ja uhrautumisen ihmeellisestä valosta." Enkeli yrittää pelastaa Delian, joku näyttää nähneen "kahden siivekkään hahmon" välähtävän ja katoavan liekkien sekaan, ja outo musiikki, joka "alkoi ja päättyi kuin oven avautuminen ja sulkeutuminen", viittaa siihen, että enkeli on palannut sinne, mistä oli tullutkin, Delian saattelemana. Jälkisanat paljastavat, että Siddermortonin hautausmaalla olevien Thomas Angelin ja Delia Hardyn nimiä kantavien kahden valkoisen ristin alla "ei ole mitään" ja että kirkkoherra, joka ei enää koskaan saanut enkelin lähdön jälkeen takaisin itsevarmuuttaan, kuoli vuoden sisällä tulipalosta.

**Tulos**

Minkä enkeli se oli?

**Tulos**

Mitä pastori Hilyer valitettavasti suunnittelee?

**Tulos**

Minne pastori Hilyer haluaa viedä enkelin asumaan?

**Tulos**

Kuka on haudattu hautausmaalle lopussa?

**Tulos**

Kuka ampui enkelin?

**Tulos**

Kuka uskoo, että enkeli tulee toisesta maailmasta?

**Tulos**

Miksi ihmiset hyökkäävät kirkkoherran kimppuun?

**Tulos**

Mikä on Delian työtehtävä?

**Tulos**

Miksi enkeliä pidetään sosialistina?

**Tulos**

Miksi enkeli kutsuu maailmaamme?

**Tulos**

Mitä Siddermortonin hautausmaalla makaa?

**Tulos**

Miten kirkkoherra kuoli?

**Tulos**

Millä enkeli voittaa Gothin?

**Tulos**

Mihin paikkoihin tohtori Crump uhkasi laittaa enkelin?

**Tulos**

Mitä enkeli ajattelee siitä, mitä hän oppii maailmasta yleensä?

**Tulos**

Millä nimellä ihmiset alkoivat kutsua enkeliä, vaikka kaikki eivät uskoneet hänen olevan toisesta maailmasta?

**Tulos**

Minkä väriset ovat enkelien siivet?

**Tulos**

Miksi enkeli pidätetään?

**Tulos**

Kuinka kauan enkeli viipyi Etelä-Englannissa?

**Tulos**

Mikä on enkeli, joka julistaa, että hänestä tulee kriittinen paikallisia tapoja kohtaan?

**Tulos**

Kuka yrittää pelastaa viulun?

**Tulos**

Mitä on Siddermortonin hautausmaan kahden valkoisen ristin alla?

**Tulos**

Missä Hilyer ampui enkelin?

**Tulos**

Mikä on enkelin termi maailmallemme?

**Tulos**

Mihin enkeli erehtyy tarinan alussa?

**Tulos**

Miksi kukaan ei usko, että enkeli osaa soittaa viulua?

**Tulos**

Miksi enkeli diskreditoitiin vastaanotossa?

**Tulos**

Missä enkeli on lahjakas?

**Tulos**

Mitä enkeli näki palattuaan kylään?

**Esimerkki 3.78**

Vampyyri nimeltä Louis kertoo 200 vuotta kestäneen elämäntarinansa toimittajalle, jota kutsutaan yksinkertaisesti "pojaksi" (hahmon nimi paljastuu Daniel Molloyksi elokuvassa The Queen of the Damned). Vuonna 1791 Louis on nuori indigoplantaasin omistaja, joka asuu New Orleansin eteläpuolella. Hurskaan veljensä kuoleman järkyttämänä hän etsii kuolemaa kaikin mahdollisin tavoin. Louisia lähestyy vampyyri nimeltä Lestat de Lioncourt, joka haluaa Louisin seuraan. Lestat muuttaa Louisin vampyyriksi, ja heistä tulee kuolemattomia kumppaneita. Lestat viettää aikaa syömällä paikallisen plantaasin orjia, kun taas Louis, joka pitää moraalisesti vastenmielisenä ihmisten murhaamista selviytyäkseen, syö eläimistä. Louis ja Lestat joutuvat lähtemään, kun Louisin orjat alkavat pelätä hirviöitä, joiden kanssa he elävät, ja lietsovat kapinaa. Louis sytyttää oman plantaasinsa tuleen; hän ja Lestat tuhoavat plantaasin orjat estääkseen sanan leviämisen Louisianassa elävistä vampyyreistä. Vähitellen Louis taipuu Lestatin vaikutuksen alaiseksi ja alkaa syödä ihmisistä. Hän tottuu hitaasti vampyyriluontoonsa, mutta häntä myös yhä enemmän kammoksuu se, että Lestat ei hänen mielestään tunne myötätuntoa saalistamiaan ihmisiä kohtaan.Pakomatkalla New Orleansiin Louis syö ruttoon sairastunutta viisivuotiasta tyttöä, jonka hän löytää äitinsä ruumiin vierestä. Louis alkaa miettiä Lestatin jättämistä ja omille teilleen lähtemistä. Tätä peläten Lestat tekee tytöstä vampyyri-"tyttären" heille, jotta Louis saisi syyn jäädä. Tytölle annetaan sitten nimi Claudia. Louis on aluksi kauhuissaan siitä, että Lestat on tehnyt lapsesta vampyyrin, mutta pian hän alkaa välittää Claudiasta. Claudia tottuu tappamiseen helposti, mutta hän alkaa ajan mittaan tajuta, ettei hän voi koskaan kasvaa aikuiseksi; hänen mielensä kypsyy älykkääksi ja itsevarmaksi naiseksi, mutta hänen ruumiinsa pysyy nuoren tytön ruumiina. Claudia syyttää Lestatia tilastaan, ja 60 vuoden yhteiselon jälkeen hän hautoo juonen tappaakseen Lestatin myrkyttämällä tämän ja leikkaamalla tämän kurkun auki. Claudia ja Louis heittävät Lestatin ruumiin läheiseen suohon. Kun Louis ja Claudia valmistautuvat pakenemaan Eurooppaan, Claudian hyökkäyksestä toipunut Lestat ilmestyy ja hyökkää vuorostaan heidän kimppuunsa. Louis sytyttää heidän kotinsa tuleen ja pääsee hädin tuskin karkuun Claudian kanssa jättäen raivostuneen Lestatin liekkien nielemäksi.Eurooppaan saapuessaan Louis ja Claudia etsivät lisää kaltaisiaan. He matkustavat ensin Itä-Euroopassa ja kohtaavat vampyyrejä, mutta nämä vampyyrit näyttävät olevan pelkkiä aivottomia eläviä ruumiita. Vasta Pariisiin saavuttuaan he kohtaavat kaltaisiaan vampyyreja, erityisesti 400 vuotta vanhan vampyyri Armandin ja hänen vampyyrikoplansa Th tre des Vampiresissa. Muinaisessa teatterissa asuva Armand ja hänen vampyyrikoplansa naamioituvat ihmisiksi ja syövät eläviä, kauhuissaan olevia ihmisiä näytelmissä elävän ihmisyleisön edessä (joka luulee, että tappaminen on vain hyvin realistinen esitys). Claudia inhoaa näitä vampyyrejä ja heidän halpamaisina pitämiään teatteriesityksiä, mutta Louis ja Armand tuntevat vetoa toisiinsa. Claudia on vakuuttunut siitä, että Louis jättää hänet Armandin vuoksi, ja suostuttelee Louisin muuttamaan pariisilaisen nukentekijän, Madeleinen, vampyyriksi, jotta hän voisi toimia hänen korvaavana kumppaninaan. Louis, Madeleine ja Claudia elävät yhdessä lyhyen aikaa, mutta teatterivampyyrit sieppaavat eräänä yönä kaikki kolme. Lestat on saapunut paikalle, sillä hän on selvinnyt hengissä New Orleansin tulipalosta. Hänen syytöksensä Louisia ja Claudiaa vastaan johtavat siihen, että Louis lukitaan arkkuun kuolemaan nälkään, kun taas Claudia ja Madeleine suljetaan avoimeen pihaan. Armand saapuu paikalle ja vapauttaa Louisin arkusta, mutta Madeleine ja Claudia palavat kuoliaaksi nousevassa auringossa. Tuhoutunut Louis löytää Claudian ja Madeleinen tuhkaiset jäännökset. Hän palaa teatteriin myöhään seuraavana yönä, polttaa sen maan tasalle ja tappaa kaikki sisällä olevat vampyyrit ja poistuu Armandin kanssa. Yhdessä he matkustavat Euroopan halki useiden vuosien ajan, mutta Louis ei koskaan toivu täysin Claudian kuolemasta, ja hänen ja Armandin välinen tunneside katoaa nopeasti. Vanhaan maailmaan kyllästynyt Louis palaa New Orleansiin 1900-luvun alussa. Yksinäisenä elävänä hän ruokkii kaikkia tielleen osuvia ihmisiä, mutta elää varjoissa, eikä koskaan luo itselleen toista kumppania. 1920-luvun New Orleansissa tapahtuneesta viimeisestä kohtaamisesta Lestatin kanssa Louis päättää tarinansa. 200 vuoden jälkeen hän on kyllästynyt kuolemattomuuteen ja kaikkeen siihen tuskaan ja kärsimykseen, jota hän on joutunut todistamaan. Poika kuitenkin näkee vain vampyyrille annetut suuret voimat ja anelee, että hänestä itsestään tehtäisiin vampyyri. Louis on vihainen siitä, ettei hänen haastattelijansa oppinut mitään hänen tarinastaan, ja kieltäytyy, hyökkää pojan kimppuun ja katoaa jäljettömiin. Tämän jälkeen poika lähtee etsimään Lestatia siinä toivossa, että tämä voisi antaa hänelle kuolemattomuuden.

**Tulos**

Mitä Louisia haastatteleva poika haluaa?

**Tulos**

Minne Louis ja Claudia heittävät Lestatin ruumiin?

**Tulos**

Mikä oli Madelinen ammatti?

**Tulos**

Miksi Lestat puri Claudiaa?

**Tulos**

Minkä kaupungin lähellä Louis asui?

**Tulos**

Mitä Louis ja Claudia tekivät, kun he saapuivat Eurooppaan?

**Tulos**

Miksi orjat teurastettiin?

**Tulos**

Miten Madeleine ja Claudia tapettiin?

**Tulos**

Kuinka monta rakennusta Louis poltti?

**Tulos**

Mistä Louis ja Claudia löytävät itsensä kaltaisia vampyyrejä?

**Tulos**

Mitä Lestat teki antaakseen Louisille syyn jäädä?

**Tulos**

Kenen vuoksi Claudia oli vakuuttunut, että Louis jättäisi hänet?

**Tulos**

Kuka vapautti Louisin arkusta?

**Tulos**

Mikä on sen nuoren tytön nimi, jota Lestat puree?

**Tulos**

Miten Claudia aikoo tappaa Lestatin?

**Tulos**

Kuka sieppasi Madeleinen, Claudian ja Louisin?

**Tulos**

Ketä poika yritti lopulta jäljittää toivoen, että hänestä tehtäisiin vampyyri?

**Tulos**

Minkälaiseksi pariisilainen nukentekijä muuttui?

**Tulos**

Kuka yritti tappaa Lestatin Louisianassa?

**Tulos**

Milloin Louis palaa New Orleansiin?

**Tulos**

Mitä Louis piti Lestatissa vastenmielisenä?

**Tulos**

Kuka oli lukittuna arkkuun?

**Tulos**

Kuka tekee Louisista vampyyrin?

**Tulos**

Kuinka vanha Claudia oli, kun hänestä tuli vampyyri?

**Tulos**

Kuinka vanha vampyyri Louis oli tarinan alussa?

**Tulos**

Mikä oli sen teatterin nimi, jossa vampyyrit esiintyivät?

**Tulos**

Kun Louis vangitaan ja lukitaan arkkuun, kuka pelastaa hänet?

**Tulos**

Missä kaupungissa Louis kohtasi Lestatin viimeksi?

**Tulos**

Kuka sieppasi Louisin, Claudian ja Madelienen?

**Tulos**

Milloin Louis palasi Amerikkaan?

**Esimerkki 3.79**

Stanley Jobson (Hugh Jackman) on hakkeri. Hän on istunut vankilassa tartutettuaan FBI:n Carnivore-ohjelmaan tietokoneviruksen ja on nyt ehdonalaisessa, mutta häntä on kielletty koskemasta tietokoneisiin. Hänen alkoholisoituneella ex-vaimollaan Melissalla (Drea de Matteo), joka meni naimisiin rikkaan pornotuottajan kanssa ja on nykyään osa-aikainen pornonäyttelijä, on heidän tyttärensä Hollyn yksinhuoltajuus ja lähestymiskielto, joka estää Jobsonia vierailemasta tyttärensä luona. Eräänä päivänä Ginger Knowles (Halle Berry), joka puhuu pomonsa Gabriel Shearin (John Travolta) puolesta, pyytää häntä hakkerointitaidoista. Hän menee tapaamaan Gabrielia Los Angelesiin, jossa hänen on murrettava hallituksen suojattu palvelin minuutissa samalla, kun häntä uhataan aseella ja hän saa suihinottoa. Onnistuneena Gabriel tarjoaa Stanleylle 10 miljoonaa dollaria, jotta hän voisi ohjelmoida monipäisen madon, "hydran", joka imuroisi 9,5 miljardia dollaria useista hallituksen huuhtelurahastoista.Stanley aloittaa työnsä ja saa selville, että Gabriel johtaa Black Cell -ryhmää, joka on J. Edgar Hooverin perustama salainen ryhmä, jonka tehtävänä on käynnistää kostohyökkäyksiä Yhdysvaltoja uhkaavia terroristeja vastaan. Hän saa myös yksityisesti selville, että Ginger on DEA:n agentti, joka työskentelee peitetehtävissä, ja lisäksi hän yllättyy löytäessään Gabrielin näköisen ruumiin. Hän lähtee saattamaan Hollya kotiin koulusta, mutta huomaa, että häntä seuraa FBI:n agentti J.T. Roberts (Don Cheadle), joka oli aiemmin ottanut Stanleyn kiinni. Vaikka Roberts tarkkailee Stanleytä tarkasti, hän on kiinnostuneempi Gabrielista, koska hän ei näy missään hallituksen tietokannassa, ja saatuaan tietää, että Gabrielin miehet olivat tappaneet toisen hakkerin, Axl Torvaldsin (Rudolf Martin), hän varoittaa Stanleytä olemaan varovainen. Stanley päättää salaa koodata hydraansa takaoven, joka peruuttaa rahansiirron lyhyen ajan kuluttua. Samaan aikaan Black Celliä valvova senaattori Reisman (Sam Shepard) saa tietää, että FBI on alkanut jäljittää Gabrielia, ja käskee häntä vetäytymään. Gabriel kieltäytyy ja välttyy täpärästi Reismanin määräämältä salamurhayritykseltä. Gabriel tappaa Reismanin henkilökohtaisesti kostoksi ja jatkaa suunnitelmaansa. Stanley toimittaa Hydran Gabrielille ja lähtee tapaamaan Hollya, mutta huomaa, että Gabriel on tappanut Melissan ja tämän aviomiehen ja siepannut Hollyn lavastaen Stanleyn syylliseksi. Stanleylla ei ole muuta vaihtoehtoa kuin osallistua pankkiryöstöön saadakseen Hollyn takaisin. Gabriel ja hänen miehensä rynnäköivät Worldbancin konttoriin ja ottavat sen työntekijät ja asiakkaat panttivangeiksi ja varustavat jokaisen Claymore-miinojen kaltaisilla kuulalaakeripohjaisilla räjähteillä. Kun poliisi ja FBI piirittävät konttorin, Gabriel vie Stanleyn kadun toisella puolella sijaitsevaan kahvilaan tapaamaan Robertsia, mutta Gabriel käyttää ajan keskustellakseen elokuvasta Dog Day Afternoon ja harhautuksen luonteesta. Palattuaan takaisin pankkiin Gabriel antaa yhden miehistään saattaa panttivangin tilanteen havainnollistamiseksi. Tarkka-ampuja tappaa miehen, ja muut agentit vetävät panttivangin pois pankista, jolloin pommi räjähtää, tuhoaa rakennuksia ja ajoneuvoja kadulla ja tappaa useita ihmisiä, kohtaus, joka näytetään medias res -tilassa elokuvan alussa.Gabriel käskee Stanleytä laukaisemaan Hydran ja luovuttaa Hollyn hänelle, kun se on valmis. Stanleyn takaovi laukeaa kuitenkin ennen kuin he ehtivät lähteä pankista, ja Stanley otetaan kiinni, kun taas Holly pelastetaan. Gabriel uhkaa tappaa Gingerin, jonka hän tietää olevan DEA:n agentti, ellei Stanley siirrä rahoja takaisin Monte Carlon pankkiin. Tästä huolimatta Gabriel ampuu Gingerin. Gabriel miehineen lastaa panttivangit bussiin ja vaatii lentokonetta odottamaan heitä paikallisella lentokentällä, mutta matkalla S-64-lentokone nostaa bussin pois ja laskeutuu paikallisen pilvenpiirtäjän katolle. Gabriel deaktivoi pommit ja lähtee eloonjääneiden miestensa kanssa odottavaan helikopteriin, jonka Stanley ampuu alas bussissa olleella rakettikranaatilla.Roberts vie Stanleyn tarkistamaan löytämänsä ruumiin, sillä hän uskoo, että Gabriel oli Mossadin agentti, vaikka Ginger-nimisestä DEA:n agentista ei ole tietoja. Stanley tunnistaa ruumiin aiemmin löytämänsä ruumiin ja tajuaa itse, että koko skenaario oli harhautus. Gabriel oli paennut eri reittiä, ja Gingerillä oli ollut luotiliivit ja hän työskenteli Gabrielin kanssa. Roberts järjestää Stanleylle Hollyn täyden huoltajuuden, ja he kiertävät yhdessä Yhdysvaltoja. Monte Carlossa Gabriel ja Ginger nostavat rahat, ja myöhemmin he katsovat, kun merellä oleva jahti räjähtää. Elokuvan lopputeksteissä uutisraportissa kerrotaan, että tunnetun terroristin kuljettaman jahdin tuhoutuminen oli kolmas vastaava tapaus yhtä monen viikon aikana.

**Tulos**

Mikä Ginger Knowles todella on?

**Tulos**

Mistä Stanley Jobson istui vankilassa?

**Tulos**

Kuka on Holly?

**Tulos**

Mitä Melissalle tapahtui?

**Tulos**

Minne Stanley ja Holly menevät?

**Tulos**

Mitä varten Black Cell luotiin?

**Tulos**

Kuka valvoo Black Celliä?

**Tulos**

Miten Gabriel pakenee pankkiryöstöä?

**Tulos**

Mitä Monte Carlossa tapahtuu?

**Tulos**

Mikä on J. Edgar Hooverin perustaman salaisen organisaation nimi, jonka tarkoituksena oli käynnistää terroristien vastaisia hyökkäyksiä?

**Tulos**

Miten Stanley neutralisoi Gabrielille toimittamansa Hydra-ohjelman?

**Tulos**

Mistä Stanley tietää, että Gabriel ei todennäköisesti ole kuollut, kun hän on ampunut Gabrielin helikopterin alas rakettikranaatilla?

**Tulos**

Kuka loi Black Cellin?

**Tulos**

Kuka lopulta saa rahat?

**Tulos**

Miksi Stanley ei voi tarinan alkupuolella vierailla tyttärensä Hollyn luona?

**Tulos**

Mitä Black Cell tekee?

**Tulos**

Miten Gabriel Shear lavasti Stanley Jobsonin pakottaakseen hänet osallistumaan pankkiryöstöön?

**Tulos**

Kenellä on tarinan lopussa Hollyn huoltajuus?

**Tulos**

Miksi Gabriel Shear halusi palkata Stanley Jobsonin?

**Tulos**

Miksi Stanley suostuu auttamaan Gabrielia Worldbancin ryöstössä sen jälkeen, kun tämä on pettänyt hänet?

**Tulos**

Los Angelesissa Gabriel testaa Stanleyn hakkerointitaitoja pyytämällä Stanleytä murtautumaan hallituksen suojattuun palvelimeen alle minuutissa, kun hänellä on kaksi häiriötekijää, jotka häiritsevät häntä.

**Tulos**

Missä pankissa ryöstö tapahtui?

**Tulos**

Minkä tempun avulla Gabriel saa Stanleyn kääntämään takaoven ja saamaan varastetut rahat takaisin haltuunsa?

**Tulos**

Miksi senaattori Reisman yritti salamurhata Gabrielin?

**Tulos**

Ketkä hahmot ovat hakkereita?

**Tulos**

Mitä työtä Stanley Jobsonin entisellä vaimolla Melissalla oikeastaan on?

**Tulos**

Mitä Gabriel tekee aiheuttaakseen Stanleylle ongelmia sen jälkeen, kun Stanley on toimittanut Hydran?

**Tulos**

Miksi Stanley ei saa käyttää tietokonetta?

**Tulos**

Kenet Gabriel sieppaa, joka pakottaa Stanleyn jatkamaan työtään hänelle?

**Tulos**

Millä Stanley Jobson aikoi varastaa rahat Gabriel Shearille?

**Tulos**

Kenelle Ginger todella työskentelee tarinassa?

**Tulos**

Kuka ampuu Gingerin?

**Tulos**

Kuka ampuu helikopterin alas?

**Tulos**

Millä Stanley ampuu helikopterin alas?

**Tulos**

Miksi Gabriel ei tappanut Gingeriä?

**Tulos**

Mitä Stanleyn on tehtävä saadakseen Hollyn takaisin?

**Tulos**

Kenen kanssa Ginger työskentelee?

**Tulos**

Mitä tarinan lopussa vihjataan, kun Gabriel ja Ginger katsovat jahdin räjähdystä merellä, jota seuraa uutisraportti?

**Tulos**

Miksi Stanley oli vankilassa?

**Esimerkki 3.80**

Nimettömän iäkkään räätälin muistot muodostavat vertauksen siitä kaukaisesta vuodesta, jolloin hän työskenteli kyläkoulun opettajana ja tapasi morsiamensa Evan, lastenhoitajan. Tapahtumapaikkana on fiktiivinen protestanttinen Eichwaldin kylä Saksassa heinäkuusta 1913 elokuun 9. päivään 1914, jossa paikallinen pastori, lääkäri ja paroni hallitsevat alueen naisia, lapsia ja talonpoikia. puritaaninen pastori pitää rippikoulun konfirmaatiotunteja ja antaa murrosikäisille lapsille huonon omantunnon näennäisesti pienistä rikkomuksista. Hän panee heidät pitämään valkoisia nauhoja muistutuksena viattomuudesta ja puhtaudesta, josta he ovat poikenneet. Kun hänen poikansa tunnustaa epäpuhtaan koskettelun, pastori sitoo pojan kädet joka ilta sängyn kehykseen. Lääkäri, leskimies, kohtelee kylän lapsia ystävällisesti, mutta nöyryyttää taloudenhoitajaansa (paikallista kätilöä) ja hänet löydetään öisin teini-ikäisen tyttärensä kanssa. Paroni, joka on kartanon herra, kustantaa sadonkorjuujuhlat kyläläisille, joista monet ovat hänen maatilansa työntekijöitä. Hän irtisanoo Evan ilman näkyvää syytä, mutta puolustaa kuitenkin viljelijän koskemattomuutta, jonka poika on tuhonnut paronin kaalipellon.Koulunopettajan ystävyys Evan kanssa johtaa siihen, että hänet kutsutaan Evan perheen kotiin joululomalla, ja he saavat Evan vanhemmilta luvan mennä naimisiin vuoden kestäneen kihlauksen jälkeen.Tapahtuu selittämättömiä tapahtumia. Kahden puun väliin on pingotettu vaijeri, joka aiheuttaa lääkärille kauhean putoamisen hevosensa selästä. Maanviljelijän vaimo kuolee sahalla, kun lahot lattialaudat antavat periksi; hänen sureva aviomiehensä hirttäytyy myöhemmin. Paronin nuori poika katoaa sadonkorjuujuhlina ja löytyy seuraavana aamuna sahalta sidottuna ja pahoin ruoskittuna. Kartanon lato palaa. Paronitar kertoo miehelleen olevansa rakastunut toiseen mieheen. Talonmiehen tytär näkee väkivaltaista unta kätilön vammaisesta pojasta, minkä jälkeen pojan kimppuun hyökätään ja hänet melkein sokeutetaan. Pian sen jälkeen, kun pastorin tytär avaa papukaijan häkin sakset kädessään, pastori löytää linnun julmasti seivästettynä. Paronin kartanon isännöitsijä pieksee poikansa pikkuvarkaudesta, ja kätilö ottaa opettajalta polkupyörän, jolla hän lähtee kaupunkiin väittäen, että hänellä on poikansa antamia todisteita poliisille. Kätilöä ja hänen poikaansa ei enää nähdä, ja myös lääkärin perhe on lähtenyt tiloista, ja hänen vastaanotonsa on suljettu. Koulunopettajan kasvavat epäilyt johtavat yhteenottoon pastorin pappilassa, jossa hän vihjaa, että pastorin lapset olisivat tienneet etukäteen paikallisista levottomuuksista. Loukkaantuneena pastori uhkailee koulunopettajaa ja varoittaa, että tämä joutuu oikeustoimiin, jos hän toistaa syytöksensä.Elokuva päättyy siihen aikaan, kun Itävalta Unkari julistaa sodan Serbialle, ja loppuratkaisu tapahtuu kirkossa kertojan tulevan appiukon vierailupäivänä. Kylässä vallitsee edelleen levottomuus. Kertoja lähti Eichwaldista palaamatta koskaan takaisin.

**Tulos**

Minkä traagisen tapahtuman jälkeen maanviljelijä kuoli?

**Tulos**

Mikä on vertauksen tapahtumapaikka?

**Tulos**

Miksi pastori antaa lasten pitää valkoisia nauhoja?

**Tulos**

Miksi maanviljelijä hirtti itsensä?

**Tulos**

Miten kätilö sai polkupyörän opettajalta?

**Tulos**

Kuka nai Evan?

**Tulos**

Mikä on rangaistus, jonka pastorin poika joutuu kärsimään sopimattomasta kosketuksesta?

**Tulos**

Kuinka kauan opettaja ja lastenhoitaja (Eva) olivat kihloissa ennen avioliittoa?

**Tulos**

Kuinka kauan Eva oli kihloissa opettajan kanssa?

**Tulos**

Miksi lääkäri putosi hevosen selästä?

**Tulos**

Ketä lääkäri nöyryytti?

**Tulos**

Mikä sota julistetaan tarinan lopussa?

**Tulos**

Kuka antoi kätilölle todisteita oudoista tapahtumista?

**Tulos**

Mitä pastori teki, kun hänen poikansa tunnusti "epäpuhtaan koskettelun"?

**Tulos**

Kenen koulunopettaja epäili olleen etukäteen tietoinen paikallisista ongelmista?

**Tulos**

Mitä kätilö lainasi opettajalta mennäkseen kaupunkiin?

**Tulos**

Mikä on ensimmäinen selittämätön tapahtuma, joka mainitaan tarinassa?

**Tulos**

Miksi paronin tilan isännöitsijä löi poikaansa?

**Tulos**

Kuka puhuu pastorin kanssa epätavallisista tapahtumista?

**Tulos**

Mikä on Evan työ?

**Tulos**

Mitä pastori laittaa lapset pitämään päällään muistutuksena viattomuudesta, johon he olivat eksyneet?

**Tulos**

Miten lääkäri kaatuu?

**Tulos**

Mitä tapahtui sinä päivänä, jolloin paronin nuori poika katosi?

**Tulos**

Miten maanviljelijän vaimo kuolee?

**Tulos**

Kenen kanssa lääkäri löydettiin yöllä?

**Tulos**

Miksi pastori laittoi lapset pitämään valkoisia nauhoja?

**Tulos**

Mikä sota mainitaan tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on opettajan kihlatun nimi?

**Tulos**

Miten pastorin papukaija tapettiin?

**Tulos**

Miten lääkäri kohteli kylän lapsia tarinan alussa?

**Esimerkki 3.81**

Tutkija tohtori Peyton Westlake kehittää uudenlaista synteettistä ihoa, joka auttaa happopalovammojen uhreja. Hän on turhautunut virheeseen, joka aiheuttaa ihon nopean hajoamisen 99 minuutin kuluttua. Hänen tyttöystävänsä, asianajaja Julie Hastings, löytää Bellasarious Memorandum - raskauttavan asiakirjan, joka todistaa, että korruptoitunut rakennuttaja Louis Strack on lahjonut kaavoituslautakunnan jäseniä. Ennen lähtöään Westlake kosii tyttöä, mutta tämä epäröi. Kun hän kohtaa Strackin, tämä tunnustaa, mutta näyttää Julielle, mitä hän on suunnitellut: Suunnitella upouusi kaupunki, joka loisi huomattavan määrän uusia työpaikkoja. Hän myös varoittaa Julieta olemaan varuillaan, sillä mafioso Robert Durant haluaa asiakirjan.Takaisin Westlaken laboratoriossa tohtori Westlake on suorittamassa koetta, kun valot sammuvat. Tohtori Westlake ja hänen assistenttinsa Yakatito huomaavat hämmästyksekseen, että synteettinen iho on vakaa 100 minuutin kuluttua. Westlake päättelee, että synteettinen iho on valoherkkä. Heidän ilonsa jää lyhyeksi, kun Durant ja hänen kätyriensä ilmestyvät paikalle ja vaativat Bellasarious-muistion, josta Westlake ei tiedä mitään. Asiakirjaa etsiessään Durant ja hänen jenginsä tappavat Yakatiton. Sitten jengi jatkaa Westlaken pahoinpitelyä, polttaa hänen kätensä koneella ja kastaa hänen kasvonsa happoon, mikä runtelee hänet. Löydettyään asiakirjan he virittävät laboratorion räjähtämään, ja Julie seuraa räjähdystä. Räjähdys heittää Westlaken katon läpi jokeen. Julie luulee Westlakea kuolleeksi, mutta hän selviää hengissä, mutta saa hirvittäviä palovammoja. Hänet tuodaan sairaalaan ja hänelle tehdään radikaali hoito, joka katkaisee spinotalamuksen hermot, jolloin hän ei enää tunne fyysistä kipua. Hän menettää kuitenkin myös tuntoaistinsa. Näiden aistimusten poistaminen antaa hänelle lisämunuaisen ylikuormituksen ansiosta lisää voimaa ja estää vammojaan lamaantumasta, mutta se myös horjuttaa häntä henkisesti. surtuaan laboratorionsa menetystä ja tajuttuaan, miten pahasti hän on palanut, Westlake perustaa laboratorion uudelleen purettavaksi tuomittuun rakennukseen ja luo digitalisoinnin avulla naamion alkuperäisistä kasvoistaan. Prosessi on pitkä, ja sillä välin Westlake suunnittelee kostoa Durantille ja hänen miehilleen. Hän tappaa Durantin suosikkikätyrin Rickin, mutta ei ennen kuin pakottaa tämän paljastamaan asianosaisten henkilöllisyydet sekä heidän rikollisen toimintansa. Westlake tutkii sitten vihollisiaan, jotta hän voi alistaa heidät ja esittää heitä. Kun hänen kasvonaamionsa on valmis, Westlake onnistuu vakuuttamaan Julielle, että hän on todellakin elossa ja että hän oli koomassa eikä kuollut. Hän on tietoinen siitä, että Julie näki Strackin tämän oletetun kuoleman jälkeen, ja lopulta hän kohtaa tämän, johon tämä vastaa, että Strack vain lohdutti häntä. Westlake ei kerro Julielle hänen tilastaan, vaan kysyy häneltä erilaisia kysymyksiä siitä, hyväksyisikö hän hänet ulkonäöstään huolimatta. Westlakella on nyt täysi kellotaulu: Ihon saaminen kestämään yli 99 minuuttia, Julien tapaaminen, vihollistensa tutkiminen ja jopa heidän äänimuotojensa matkiminen. Seuraavalla retkellään hän esittää itse Durantia, mikä aiheuttaa hämmennystä mafioson ja hänen kätyriensä keskuudessa. seuraavalla kerralla Westlakella ja Juliella on treffit tivolissa, ja riita saa Westlaken menettämään malttinsa ja paljastaa Julielle tahattomasti, että hänessä on todellakin jotain vikaa. Westlake seuraa miestä tämän paetessa (hänen 99 minuuttinsa olivat kuluneet umpeen), ja kun Westlake saa selville, että mies käytti naamioita peittääkseen todelliset kasvonsa, Westlake huutaa Peytonille, että hän rakastaa miestä siitä huolimatta. Myöhemmin Julie kertoo Strackille, että hän ei voi enää nähdä häntä, ja löydettyään Bellasarious-muistion Strackin työpöydältä tämän puhuessa puhelimessa hän vahvistaa, että Strack teki koko ajan yhteistyötä Durantin kanssa. Hän kertoo, että Westlake on yhä elossa, mutta Strack kertoo, että niin kauan kuin muistio on hänen hallussaan, syytteitä ei voida nostaa. Kun Julie lähtee, Durant astuu sisään, ja Strack käskee häntä ottamaan Julien kiinni ja tappamaan Westlaken. Westlake onnistuu lopulta tappamaan Durantin ja kaikki hänen kätyriensä (paitsi sen, jolla oli puupyssyn jalka ja jonka kohtalosta ei ole tietoa). Westlake esittää Durantia vielä viimeisen kerran, kun hän tapaa Strackin ja vangitun Julien, kun Strack suunnittelee tekevänsä kaupungista "yhden asianajajan vähemmän". Strack murtaa Westlaken juonen ja taistelee häntä vastaan keskeneräisen rakennuksen lattialla 650 metrin korkeudessa maanpinnasta, kun Strack paljastaa hänen naamionsa. Kun Westlake saa yliotteen, Strack sanoo, että Westlaken tappaminen ei olisi asia, jonka kanssa hän voisi elää. Westlake pudottaa Strackin kuolemaan sanoen itselleen: "Opin elämään monien asioiden kanssa." Julie yrittää vakuuttaa Westlakelle, että hän voi vielä palata vanhaan elämäänsä, mutta Westlake sanoo hänelle, että hän on muuttunut niin sisältä kuin ulkoa, eikä voi altistaa ketään uudelle ilkeälle luonteelleen. In the final scene, he runs away from Julie as they exit an elevator, and is seen from behind pulling on a mask which, when he turns around, reveals the face of Bruce Campbell. Tämän kohtauksen aikana Westlake kuuluu ruudun ulkopuolelta: "Minä olen kaikki enkä kukaan. Kaikkialla. En missään. Kutsu minua... Darkmaniksi."

**Tulos**

Mikä on tarinan tiedemiehen nimi?

**Tulos**

Kenen kanssa Strack teki yhteistyötä koko tarinan ajan?

**Tulos**

Mikä on Robert Durantin yhdistys?

**Tulos**

Kuka on tohtori Westlaken tyttöystävä?

**Tulos**

Kuka rumentaa tohtori Westlaken?

**Tulos**

Mitä tohtori Westlake yrittää luoda tarinassa?

**Tulos**

Mitä varten synteettinen iho on kehitetty?

**Tulos**

Mikä on sen miehen nimi, joka tuhosi tohtori Westlaken laboratorion?

**Tulos**

Mikä on Julie Hastingsin ammatti?

**Tulos**

Kuka on ensimmäinen henkilö, jota tohtori Westlake esittää?

**Tulos**

Mikä on tohtori Westlaken assistentin nimi?

**Tulos**

Miten Strack tapetaan?

**Tulos**

Mihin ongelmaan tohtori Westlake törmää synteettistä ihoa luodessaan?

**Tulos**

Mitä Bellasriousin muistiossa on?

**Tulos**

Mitä radikaalia hoitoa Westlake saa sairaalassa laboratorioräjähdyksen jälkeen?

**Tulos**

Mitä Julie sanoo, kun hän saa tietää, että Westlaken kasvot ovat epämuodostuneet?

**Tulos**

Keneksi Westlake tekeytyy kostaakseen?

**Tulos**

Mikä on aluksi synteettisen ihon suurin ongelma?

**Tulos**

Missä Westlaken ja Strackin välinen taistelu käydään?

**Tulos**

Miksi iho hajoaa 99 minuutin kuluttua?

**Tulos**

Miten Westlake piilottaa epämuodostuneet kasvonsa?

**Tulos**

Mitä Louis Strack teki, minkä vuoksi Julie Hastings halusi ilmiantamaan hänet?

**Tulos**

Millä nimellä tohtori Westlake vaatii tarinan lopussa kutsua itseään?

**Tulos**

Mitä sivuvaikutuksia on sillä, että tohtori Westlake menettää tuntoaistinsa?

**Tulos**

Miksi Durant ja hänen miehensä runteli ja yritti tappaa Westlaken?

**Tulos**

Mitä Strack suunnitteli, joka sai Julien pidättäytymään ilmiantamasta häntä?

**Tulos**

Kuinka kauan professori Wetlaken alkuperäinen synteettinen iho kestää?

**Tulos**

Miksi Westlake ei palaa vanhaan elämäänsä, kun kaikki on ohi?

**Tulos**

Mitä Westlake pyysi Julieta tekemään ennen kuin hän lähti hänen laboratoriostaan ennen kuin hänet poltettiin?

**Esimerkki 3.82**

Näytelmän keskiössä ovat Don Rodrigue ja Chim ne. Rodriguen isä, Don Di gue, on Kastilian kuningaskunnan vanha nousukas kenraali, joka on ohittanut parhaat päivänsä, kun taas Chimnen isä on menestynyt nykyinen kenraali, kreivi de Gormas. Rodrigue ja Chim ne rakastavat toisiaan, mutta kaikki avioliittomahdollisuudet menevät raa'asti pieleen, kun Chim nen isä loukkaa Rodriguen isää. Rodrigue joutuu kamppailemaan rakkautensa Chim neen ja velvollisuutensa kostaa isänsä kunnia, mutta hän valitsee jälkimmäisen ja kohtaa kenraalin kaksintaistelussa, jossa Don Gormas kuolee. Kieltämättä rakkauttaan Chim ne pyytää kuninkaalta Rodriguen päätä.Kun maurit hyökkäävät, Rodrigue saa tilaisuuden lunastaa henkensä kansan silmissä, ja mikä tärkeintä, hän saa tilaisuuden voittaa Chim ne takaisin kunnialla. Hänen voittonsa taistelukentällä tuovat hänelle kansan maineen, "Cidin" arvonimen ja kuninkaan kiitollisuuden. chim ne lähestyy kuningasta ja pyytää, että yksi hänen ritareistaan ottaisi Rodriguen kanssa kaksintaistelun hänen kunniansa vuoksi, jotta hän saisi Rodriguen pään. Chim ne valitsee mestarikseen Don Sanchen; vaikka hän inhoaa tätä, hän suostuu menemään naimisiin sen kanssa, joka voittaa kaksintaistelun kuolemaan asti. Kuningas suostuu kaksintaisteluun tyytymättömänä (hän ei halua ottaa riskiä menettää Rodrigueta). Rodrigue puhuu Chim ne:lle kahden kesken ja sanoo, ettei hän aio puolustautua symbolisesti "hänen" kättään vastaan. Lopulta Rodriguez suostuttelee hänet tekemään parhaansa, sillä jos hän voittaa, he menevät naimisiin.Kaksintaistelun jälkeen Don Sanche (Chimnen mestari), jolla on verinen miekka, tulee sinne, missä Rodriguez odottaa. Chim ne olettaa pahinta antamatta hänelle tilaisuutta puhua. Kun hän menee kuninkaan eteen, hän tuntee vihdoin olevansa vapaa tunnustamaan rakkautensa Rodrigueta kohtaan, koska hän uskoo tämän kuolleen. Don Sanche selittää sitten, että Rodrigue riisui hänet aseista ja antoi hänelle armoa. Kaksintaistelun jälkeen Rodrigue palaa suoraan kuninkaan luo ja jättää Don Sanchen viemään miekkansa Chim ne:lle. vaikka he rakastavat toisiaan, Chim ne ja Rodrigue ovat vastahakoisia menemään naimisiin historiansa vuoksi, mutta kuningas sanoo, että vaikka se tuntui aluksi mahdottomalta, olosuhteet ovat osoittaneet, että heidät on tarkoitettu yhteen. Silti hän ymmärtää, että he tarvitsevat aikaa sopeutua. Chim ne määrää hääpäivän, jopa vuosi etukäteen. Sillä välin Rodrigue, joka tunnetaan nimellä Cid, käy sotaa maureja vastaan heidän omalla alueellaan.

**Tulos**

Mikä hyökkäys antaa Rodriquelle mahdollisuuden lunastaa henkensä?

**Tulos**

Miksi Chimenen ja Rodriquen avioitumismahdollisuudet ovat häiriintyneet?

**Tulos**

Keneen Rodrique on rakastunut?

**Tulos**

Miksi Chimene ja Rodrique eivät halua mennä naimisiin?

**Tulos**

Mitä ChimĂ¨ne näkee, joka saa hänet uskomaan, että Rodrige on kuollut?

**Tulos**

Kun Chimene suunnittelee häitä, mitä Rodrigue tekee?

**Tulos**

Jos Rodrigue voittaa kaksintaistelun, mitä hän voittaa?

**Tulos**

Kuka on El Cid?

**Tulos**

Mikä on tämän teoksen mahdollinen teema?

**Tulos**

Mitä ChimĂ¨ne pyytää kuninkaalta?

**Tulos**

Mikä on kaksintaistelun lopputulos?

**Tulos**

Kuka hyökkää Kastilian alueelle?

**Tulos**

Miten Chimenen isä tapetaan?

**Tulos**

Miksi Rodrique tappaa Chimenen isän?

**Tulos**

Missä tämä tarina tapahtuu?

**Tulos**

Miksi Don Sanche ei kuollut kaksintaistelussa?

**Tulos**

Minkä arvonimen Rodrige saa taisteluvoittojensa ansiosta?

**Tulos**

Kuka on tämän tarinan päähenkilö?

**Tulos**

Mitä Chimene pyytää kuninkaalta isänsä kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Mitä kuningas katsoo olosuhteiden todistaneen?

**Tulos**

Mitä Chimene pyytää kuningasta tekemään?

**Tulos**

Mitä Rodrigre ja ChimĂ¨ne ajattelevat toisistaan?

**Tulos**

Minkä ritarin ChimĂ¨ne valitsee mestarikseen?

**Tulos**

Mikä tapahtuma antaa Rodrigelle mahdollisuuden voittaa ChimĂ¨ne takaisin?

**Tulos**

Mitä ChimĂ¨ne suostuu tekemään Rodrigen ja Don Sanchen välisen kaksintaistelun jälkeen?

**Tulos**

Mitä ChimĂ¨nen isä tekee, joka saa Rodrigen vaatimaan tyydytystä?

**Tulos**

Kuka tappaa Chimenen isän?

**Tulos**

Kuka on Chimenen isä?

**Tulos**

Mitä Don Gormasille tapahtuu?

**Esimerkki 3.83**

Newcastlessa syntynyt gangsteri Jack Carter on asunut Lontoossa vuosia järjestäytyneen rikollisuuden pomojen Gerald ja Sid Fletcherin palveluksessa. Jack makaa Geraldin tyttöystävän Annan kanssa ja aikoo paeta hänen kanssaan Etelä-Amerikkaan. Ensin hänen on kuitenkin palattava Newcastleen ja Gatesheadiin osallistuakseen väitetyssä rattijuopumusonnettomuudessa kuolleen veljensä Frankin hautajaisiin. Viralliseen selitykseen tyytymätön Jack tutkii asiaa itse. Hautajaisissa Jack tapaa teini-ikäisen veljentyttärensä Doreenin ja Frankin välttelevän rakastajattaren Margaretin. Myöhemmin annetaan ymmärtää, että Doreen saattaa itse asiassa olla Jackin tytär.Jack lähtee Newcastlen kilparadalle etsimään vanhaa tuttavaansa Albert Swiftiä saadakseen tietoja veljensä kuolemasta, mutta Swift huomaa Jackin ja väistää häntä. Jack tapaa toisen vanhan tuttavan, Eric Paicen, joka kieltäytyy kertomasta Jackille, kuka palkkaa hänet autonkuljettajaksi. Ericin jäljittäminen johtaa hänet rikollispomo Cyril Kinnearin maalaistalolle. Jack tunkeutuu pokeria pelaavan Kinnearin luokse, mutta ei saa häneltä juuri mitään selville. Hän tapaa myös lumoavan juopuneen naisen Glendan. Lähtiessään Eric varoittaa Jackia vahingoittamasta Kinnearin ja Fletcherien välisiä suhteita. Takaisin kaupungissa Jackia uhkaavat kätyrit, jotka haluavat hänen lähtevän kaupungista, mutta hän taistelee heitä vastaan, ottaa yhden kiinni ja kuulustelee häntä saadakseen selville, kuka haluaa hänen lähtevän. Jack tuntee Cliff Brumbyn liikemiehenä, jolla on määräysvaltaa paikallisissa merenrantojen pelihalleissa. Vieraillessaan Brumbyn talossa Jack saa selville, ettei mies tiedä hänestä mitään, ja uskoen, että hänet on lavastettu, hän lähtee. Seuraavana aamuna paikalle saapuu kaksi Jackin lontoolaista kollegaa, jotka Fletcherit ovat lähettäneet hakemaan Jackia takaisin, mutta Jack pakenee. Jack tapaa Margaretin puhuakseen Frankista, mutta Fletcherin miehet odottavat häntä ja jahtaavat häntä. Glenda pelastaa Jackin ja vie hänet urheiluautollaan tapaamaan Brumbya hänen uuteen ravintolaansa, joka sijaitsee parkkihallin huipulla. Brumby ilmoittaa Kinnearin olevan Frankin kuoleman takana ja selittää myös, että Kinnear yrittää ottaa hänen liiketoimintansa haltuunsa. Hän tarjoaa Jackille 5 000 dollaria rikollispomon tappamisesta, mistä tämä kieltäytyy jyrkästi.Jack harrastaa seksiä Glendan kanssa tämän asunnossa, jossa hän löytää ja katsoo pornofilmin, jossa Doreen pakotetaan harrastamaan seksiä Albertin kanssa. Elokuvan muut osallistujat ovat Glenda ja Margaret. Tunteiden vallassa Jack raivostuu ja työntää Glendan pään veden alle tämän ollessa kylvyssä. Tyttö kertoo, että elokuva oli Kinnearin ja hän uskoo, että Eric "veti" Doreenia. Jack pakottaa Glendan autonsa tavaratilaan ja lähtee etsimään Albertia. Jack etsii Albertin vedonlyöntiliikkeestä. Albert tunnustaa kertoneensa Brumbylle, että Doreen oli todellakin Frankin tytär. Brumby näytti Frankille elokuvan yllyttäen häntä soittamaan poliisin Kinnearin perään. Eric ja kaksi hänen miestään järjestivät Frankin kuoleman. Tietoja saatuaan Jack puukottaa Albertin kuolettavasti. Jackin kimppuun hyökkäävät lontoolaiset gangsterit ja Eric, joka on kertonut Fletcherille Jackin ja Annan suhteesta. Jack ampuu yhden heistä kuoliaaksi. Kun Eric ja muut pakenevat, he työntävät urheiluauton jokeen, jossa Glenda on loukussa. Palatessaan parkkipaikalle Jack löytää Brumbyn, hakkaa hänet tajuttomaksi ja heittää hänet laidan yli kuolemaan. Sen jälkeen hän lähettää pornofilmin Scotland Yardin siveyspoliisille Lontooseen.Jack sieppaa Margaretin aseella uhaten. Hän soittaa Kinnearille kesken villien juhlien, kertoo, että elokuva on hänen hallussaan, ja tekee sopimuksen, jonka mukaan Kinnear antaa hänelle Ericin vastineeksi tämän vaikenemisesta. Kinnear suostuu ja lähettää Ericin sovittuun paikkaan, mutta soittaa sen jälkeen palkkamurhaajalle, joka hoitaa Jackin. Jack ajaa Margaretin Kinnearin kartanon alueelle, tappaa hänet tappavalla ruiskeella ja jättää ruumiin sinne. Sen jälkeen hän soittaa poliisille, joka ratsastaa Kinnearin juhlat.Jack jahtaa Ericiä pitkin rantaa. Hän pakottaa Ericin juomaan täyden pullon viskiä, kuten teki Frankille, ja hakkaa hänet sitten kuoliaaksi haulikollaan. Kun Jack kävelee rantaviivaa pitkin, palkkamurhaaja ampuu häntä päähän tarkka-ampujakiväärillä.

**Tulos**

Miten Jack saa Kinnearin suostumaan Ericin luovuttamiseen?

**Tulos**

Missä Jack tapaa Glendan?

**Tulos**

Kuka kutsuu palkkamurhaajan?

**Tulos**

Missä Jack käveli?

**Tulos**

Kuka tappoi Jackin?

**Tulos**

Kuka on jumissa urheiluautossa, kun se putoaa jokeen?

**Tulos**

Minne Jack ja Anna aikovat paeta?

**Tulos**

Brumby tarjoaa Jackille 5000 puntaa vaihdossa mihin?

**Tulos**

Doreenin annetaan olla kenen tytär?

**Tulos**

Kuka on Annan poikaystävä?

**Tulos**

Minne Jack ja Anna aikovat karata?

**Tulos**

Kuka tappaa Jackin?

**Tulos**

Kenen kanssa Jack makaa?

**Tulos**

Keitä olivat rikollispomot?

**Tulos**

Miten Jack tappoi Margaretin?

**Tulos**

Missä Jack löytää Albertin?

**Tulos**

Kenen kanssa Doreen pakotetaan harrastamaan seksiä?

**Tulos**

Kenen hautajaisiin Jack osallistuu?

**Tulos**

Miksi Jack palaa Newcastleen?

**Tulos**

Kuka lähtee Etelä-Amerikkaan?

**Tulos**

Miten Glenda kuolee?

**Tulos**

Kuka on Jack Carter?

**Tulos**

Kuka tappoi Frankin?

**Tulos**

Kenen Brumby sanoo olevan Frankin kuoleman takana?

**Tulos**

Miten Frank muka kuoli?

**Tulos**

Kenelle Jack työskentelee?

**Tulos**

Miten Jack tappoi Margaretin?

**Tulos**

Kuka on Jackin veli?

**Tulos**

Kuka kertoi Fletcherille Jackin ja Annan suhteesta?

**Tulos**

Missä Glenda on loukussa joessa?

**Esimerkki 3.84**

Stewart "Stew" Smith (Robert Williams), Postin huipputoimittaja, saa tehtäväkseen saada jutun playboy Michael Schuylerin (Donald Dillaway) viimeisimmästä seikkailusta, joka on kuorotyttö Gloria Goldenin lupauksen rikkomista koskeva kanne, jonka hylkäämisestä hänelle on maksettu. Toisin kuin kilpaileva Daily Tribunen toimittaja Bingy Baker (Walter Catlett), hän kieltäytyy Schuylerien asianajajan Dexter Graysonin (Reginald Owen) 50 dollarin lahjuksesta olla kirjoittamatta mitään. Hän teeskentelee, että Michaelin sisaren Annen (Jean Harlow) pyynnöt saavat hänet uskomaan, mutta sitten hän soittaa häpeilemättä toimittajalleen ja kertoo jutun, mikä saa Schuylersit kauhistumaan.Stew palaa taloon palauttamaan Schuylersien kirjastosta viemänsä Conrad-kirjan. Hovimestari Smythe (Halliwell Hobbes) yrittää saada hänet lähtemään, mutta Anne näkee hänet. Stew yllättää Annen esittämällä hänelle Michaelin rakkauskirjeet Glorialle, joka oli aikonut käyttää niitä kiristääkseen Schuylereilta lisää rahaa. Anne tarjoaa Stewille 5 000 dollarin shekkiä, josta tämä kieltäytyy. Stew kysyy, miksi hän ilmoitti puvusta mutta ei rakkausviesteistä. Stew selittää, että toinen oli uutinen, toinen kiristys. Myöhemmin Stew kertoo kirjoittavansa näytelmää. Anne miettii kiinnostuneena, voisiko hän tehdä miehestä herrasmiehen. Hän kutsuu Stew'n talon juhliin. he rakastuvat ja karkaavat pian, mikä kauhistuttaa Annen leskeksi jäänyttä äitiä, rouva Schuyleria (Louise Closser Hale), joka on mahtipontinen leskirouva ja joka väheksyy Stew'n alemman luokan taustaa. Michael ottaa asian rennosti ja kertoo Stewille, ettei hän ole niin paha kuin kaikki luulevat. Kilpaileva Daily Tribune -lehti uutisoi häistä, mikä suututtaa päätoimittaja Conroyn (Edmund Breese). Vielä enemmän Stew'n paras ystävä Gallagher (Loretta Young), "nyyhkytyssisko" -kolumnisti, joka haikailee salaa Stew'n perään. Conroy pilkkaa Stew'ta "linnuksi kultaisessa häkissä". Rohkeudestaan huolimatta Stew on järkyttynyt siitä, ettei hän ole enää oma itsensä, ja hän vannoo, ettei aio elää Annen rahoilla. Anne kuitenkin suostuttelee Stew'n muuttamaan kartanoon ja ryhtyy muokkaamaan häntä, ostaa hänelle sukkanauhoja (Stew'n vastustuksesta huolimatta) ja palkkaa palvelijan, Dawsonin (Claud Allister).Kun Schuylerit järjestävät vastaanoton Espanjan suurlähettiläälle, Gallagher toimii seurapiiritoimittajan sijaisena ja juttelee Stew'n kanssa. Anne on yllättynyt kuullessaan, että hänen miehensä paras ystävä (jonka hän oli olettanut olevan mies) on itse asiassa ihastuttava nuori nainen, ja hän kohtelee Gallagheria jäisesti. Sitten Bingy kertoo Stewille, että Tribune antaa hänelle kolumnin, jos hän allekirjoittaa sen "Anne Schuylerin aviomies". Loukkaantuneena Stew lyö Bingyä, kun tämä kutsuu häntä Tuhkimomieheksi. Seuraavana aamuna rouva Schuyler on kauhuissaan huomatakseen, että Stew'n tappelu on päässyt etusivulle. näytelmänsä kanssa painiskeleva Stew kutsuu Gallagherin ja toisen ystävänsä, Hankin (Eddy Chandler) Joe'sista. He saapuvat paikalle Joen ja useiden baarin asiakkaiden kanssa, ja jopa Bingy ilmestyy paikalle pyytämään anteeksi. Seurauksena on riehakkaat juhlat. Sillä välin Stew ja Gallagher pohtivat näytelmää ja päättävät perustaa sen Stew'n avioliittoon. Anne, rouva Schuyler ja Grayson palaavat juhlien ollessa täydessä vauhdissa. Stew pyytää anteeksi, että on antanut juhlien riistäytyä käsistä, mutta protestoi, että hän voi kutsua ystäviä "minun talooni". Anne vastaa: "Sinun talossasi?" Stew palaa Gallagherin kanssa omaan asuntoonsa. Matkalla hän antaa kodittomalle miehelle kalliit sukkanauhansa. Grayson pysähtyy sanomaan, että Anne maksaa hänelle elatusmaksuja, jolloin Stew lyö häntä (aiemmin Stew oli varoittanut Graysonia, että kahdeskymmenes loukkaus toisi hänelle "sukan nenään"). Stew kertoo Gallagherille, että näytelmä voisi päättyä siihen, että päähenkilö eroaa rikkaasta vaimostaan ja menee naimisiin naisen kanssa, jota hän on aina rakastanut tajuamatta sitä. Hätääntyneenä Gallagher halaa häntä.

**Tulos**

Missä sanomalehdessä Stew työskentelee?

**Tulos**

Kenen rakkauskirjeitä Stew antaa Annelle?

**Tulos**

Miksi Anne on mustasukkainen Stew'n parhaalle ystävälle Gallagherille?

**Tulos**

Kenelle suurlähettiläälle Schuylerit järjestävät vastaanoton?

**Tulos**

Mitä Stew esittelee Annalle?

**Tulos**

Kuka kauhoo häät?

**Tulos**

Miten Anne yrittää palkita Stew'n Michaelin rakkauskirjeiden palauttamisesta?

**Tulos**

Kuka yrittää lahjoa häntä olemaan kirjoittamatta mitään?

**Tulos**

Paljonko lahjus, josta Stew kieltäytyy?

**Tulos**

Miten Stew aikoo päättää näytelmänsä?

**Tulos**

Miksi Stew lyö Bingyä?

**Tulos**

Miksi Stew tutkii playboy Michael Schuylerin elämää?

**Tulos**

Miksi Stew palaa Schuylerin taloon raportoituaan tarinan?

**Tulos**

Kuka tarjoaa Stewille lahjuksen?

**Tulos**

Kuka karkaa?

**Tulos**

Mikä sanomalehti kauhistelee häistä?

**Tulos**

Kuka saa tehtäväkseen hankkia jutun Michael Schuylerin viimeisimmästä karkailusta?

**Tulos**

Miten Stew selittää Annelle, miksi hän kirjoitti tarinan mutta palauttaa kirjeet?

**Tulos**

Mikä on Annen palkkaaman palvelijan nimi?

**Tulos**

Mitä Anna tarjoaa Stewille?

**Tulos**

Kenen hän teeskentelee vaikuttavansa?

**Tulos**

Miten Anne reagoi, kun Stew väittää, että hän voi kutsua ystävänsä kotiinsa, jos haluaa?

**Tulos**

Miten Schuylerin asianajaja yrittää estää Stew'ta kirjoittamasta tarinaansa?

**Tulos**

Miksi Stew lyö Graysonia?

**Tulos**

Paljonko Anne tarjoaa Stewille sekkiä?

**Tulos**

Miten Conroy pilkkaa Stew'ta tämän mentyä naimisiin Annen kanssa?

**Tulos**

Mitä Stew antaa kodittomalle miehelle?

**Esimerkki 3.85**

Zuleika Dobson, "vaikkei hän olekaan varsinaisesti kaunis", on valloittavan viehättävä nuori nainen Edwardin aikakaudella, todellinen kohtalokas nainen, joka on ammatiltaan arvovaltainen salamurhaaja, entinen kotiopettajatar. Zuleikan nykyinen ammatti (mutta ehkä vielä tärkeämpää on hänen hurmaava kauneutensa) on tehnyt hänestä jonkinlaisen pikkujulkkiksen, ja hän onnistuu pääsemään Oxfordin yliopiston etuoikeutettuun, vain miehiä edustavaan piiriin, koska hänen isoisänsä on Judas Collegen (joka perustuu Merton Collegeen, Beerbohmin alma materiin) johtaja. Siellä hän rakastuu ensimmäistä kertaa elämässään Dorsetin herttuan, snobistisen, emotionaalisesti etäisen opiskelijan, joka turhautuneena tunteittensa hallitsemattomuuteen joutuu tyttöä nähdessään myöntämään, että tämä on myös hänen ensirakkautensa, ja kosii häntä impulsiivisesti. Koska hän kuitenkin tuntee, ettei voi rakastaa ketään, ellei tämä ole hänen viehätykselleen vastustuskyvytön, hän hylkää kaikki kosijansa ja tekee samoin hämmästyneen herttuan kanssa. Herttua saa nopeasti selville, että myös Noaks, toinen Oxfordin opiskelija, väittää rakastuneensa häneen, vaikka ei ole koskaan ollut edes tekemisissä hänen kanssaan. Ilmeisesti miehet rakastuvat häneen heti nähdessään hänet. Herttua, joka on ensimmäinen, joka saa vastakaikua rakkauteensa (joskin lyhyeksi aikaa), päättää tehdä itsemurhan symboloidakseen intohimoaan Zuleikaan ja toivoen, että hän herättää Zuleikan tietoisuuteen Zuleikan lumoavan viehätyksen hirvittävän voiman, sillä hän jatkaa viattomasti miesten kiintymyksen murskaamista. Zuleika pystyy keskeyttämään herttuan ensimmäisen itsemurhayrityksen jokiveneestä, mutta hänellä näyttää olevan romanttinen käsitys miehistä, jotka kuolevat Zuleikan vuoksi, eikä hän vastusta itsemurhaa lainkaan. Herttua sen sijaan lupaa tappaa itsensä seuraavana päivänä, minkä Zuleika enemmän tai vähemmän sallii, ja syö illallista samana iltana seurapiirinsä kanssa, jossa muutkin jäsenet vahvistavat rakkautensa Zuleikaan. Kun herttua kertoo heille suunnitelmastaan kuolla, muutkin suostuvat yllättäen tekemään itsemurhan Zuleikan vuoksi. Tämä ajatus saavuttaa pian kaikkien Oxfordin ylioppilaiden mielen, jotka väistämättä rakastuvat Zuleikaan ensisilmäyksellä. herttua päättää lopulta, että ainoa keino estää kaikkia ylioppilaita tappamasta itseään on olla tekemättä itse itsemurhaa, ja toivoo, että he seuraavat hänen esimerkkiään. Muinaisen perinteen mukaan Dorsetin herttuan kuoleman aattona kaksi mustaa pöllöä tulee ja istahtaa Tankerton Hallin, suvun kotipaikan, rintamalinnoitukselle; pöllöt jäävät sinne huhuilemaan läpi yön, ja aamunkoitteessa ne lentävät pois tuntemattomaan paikkaan. Pohdittuaan, tekisikö hän itsemurhan, ja päätettyään lopulta hyväksyä elämänsä yhtä arvokkaana kuin Zuleikan, herttua saa hovimestariltaan Tankertonista sähkeen, jossa kerrotaan pöllöjen paluusta. Herttua tulkitsee heti, että enne on merkki siitä, että jumalat ovat määränneet hänen kohtalonsa. Herttua kertoo ylpeänä Zuleikalle, että hän aikoo silti kuolla, mutta ei enää Zuleikan vuoksi. Zuleika suostuu, kunhan herttua saa aikaan sen vaikutelman, että hän kuolee Zuleikan vuoksi huutamalla Zuleikan nimeä, kun hän hyppää jokeen. Myöhemmin samana päivänä ukkosmyrsky peittää alleen kasiviikon venekilpailut, kun herttua hukkuu Isisjokeen yllään sukkanauharitarin kaavut. Kaikki Oxfordin opiskelijatoverit, yhtä lukuun ottamatta, seuraavat heti perässä.Kaikki Oxfordin opiskelijat ovat nyt kuolleet, mukaan luettuna, hieman viiveellä, pelkurimainen Noaks, ja Zuleika keskustelee koettelemuksesta isoisänsä kanssa, joka paljastaa, että hänkin oli rakastunut kaikkiin, kun hän oli hänen ikäisensä. Kun Oxfordin akateeminen henkilökunta tuskin huomaa, että lähes kaikki opiskelijat ovat kadonneet, Zuleika päättää tilata seuraavaksi aamuksi erikoisjunan ... joka lähtee Cambridgeen.

**Tulos**

Minne Zuleika menee tämän tapahtumasarjan päätteeksi?

**Tulos**

Missä herttua lopulta kuolee ja mitä hänellä on yllään?

**Tulos**

Miten Zuleika estää herttuan ensimmäisen itsemurhayrityksen?

**Tulos**

Mitä herttualla on yllään, kun hän hukkuu Isisjokeen?

**Tulos**

Kuka keskeyttää herttuan ensimmäisen itsemurhayrityksen?

**Tulos**

Mitä Dorsetin herttua päättää tehdä yllyttääkseen Zuleikaa ottamaan vastuun mahtavista voimistaan?

**Tulos**

Kuka sanoo, että hän tekee itsemurhan symboloidakseen intohimoaan Zuleikaa kohtaan?

**Tulos**

Kun monet opiskelijat ovat kuolleet, miten Zuleika päättää matkustaa pois Oxfordista?

**Tulos**

Mikä on enne, joka osoittaa, että Dorsetin herttua on kuolemassa?

**Tulos**

Mihin oppilaitokseen Zuleika on hyväksytty?

**Tulos**

Miksi Zuleika hylkää Dorsetin herttuan kosinnan?

**Tulos**

Mikä on Zuleikan nykyisen ammatin nimi?

**Tulos**

Mihin yliopistoon Zuleika pääsee?

**Tulos**

Millä aikakaudella Zuleika Dobson elää?

**Tulos**

Minne Zulika menee, kun hän lähtee Oxfordista?

**Tulos**

Kuka on tarinan päähenkilö?

**Tulos**

Missä Zuleika käy koulua?

**Tulos**

Kuka lähettää herttualle sähkeen?

**Tulos**

Kuka estää aluksi Dorsetin herttuaa tappamasta itseään ensimmäisellä itsemurhayrityksellään?

**Tulos**

Miten herttua päättää estää opiskelijoita tekemästä itsemurhaa rakkaudesta Zuleikaan?

**Tulos**

Tarinan lopussa Zuleika lähtee Oxfordista ja suuntaa minne?

**Tulos**

Keneen Zuleika rakastuu ensimmäisenä?

**Tulos**

Kuka oli ensimmäinen Oxfordin yliopistoon hyväksytty nainen?

**Tulos**

Mitä Zuleika haluaa Herttuan huutavan, kun hän hyppää jokeen?

**Tulos**

Mitkä fyysiset ominaisuudet erottavat Zuleikan muista Oxfordin yliopiston opiskelijoista?

**Tulos**

Mistä enteestä Tankerton Hallin hovimestari varoittaa Dorcetin herttua?

**Tulos**

Kuinka moni ihminen tekee lopulta itsemurhan Zuleikan puolesta?

**Tulos**

Mikä oli Zuleika Dobsonin ammatti ennen kuin hänestä tuli arvokirjoittaja?

**Tulos**

Keneen Zuleika rakastuu koulussa ollessaan?

**Tulos**

Miksi Zuleika torjuu herttuan?

**Tulos**

Missä mustapöllöt istuvat koko yön?

**Tulos**

Ketkä ovat Zuleikan merkittävimmät kosijat?

**Tulos**

Kuka on Zuleikan isoisä?

**Tulos**

Kuinka monta mustaa pöllöä tässä tarinassa on?

**Tulos**

Missä tapahtuu Dorsetin herttuan ensimmäinen itsemurhayritys?

**Tulos**

Mitä tapahtuu perimätiedon mukaan Dorsetin herttuan kuolemaa edeltävänä yönä?

**Tulos**

Kuka on Zuleikan ensirakkaus?

**Tulos**

Kun Zuleika saa tietää, että koko Oxfordin yliopiston opiskelijakunta on nyt tehnyt itsemurhan, minne hän päättää mennä?

**Tulos**

Missä Zuleika ja hänen kosijansa tapaavat?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun herttua hukuttaa itsensä?

**Esimerkki 3.86**

Nuori peloton kullankaivaja Roy Glenister ja hänen vanhempi kumppaninsa Dextry ovat matkalla takaisin Nomeen kauden ensimmäisellä laivalla, ja he ovat innokkaita palaamaan suojelemaan Midas-nimistä kultaesiintymäänsä, joka lupaa heille suuria rikkauksia. Matkalla he puolustavat laivaan nousevaa nuorta naista takaa-ajajiltaan, joka myös haluaa päästä mahdollisimman pian Nomeen. Glenister alkaa heti ihastua nuoreen kaunottareen, joka osoittautuu Helen Chesteriksi, tuomari Arthur Chesterin veljentyttäreksi, joka on äskettäin nimitetty Alaskan territorion ensimmäiseksi liittovaltion tuomariksi "laki" on tulossa villille pohjoiselle rajalle. Paitsi että laki osoittautuu kieroksi. Tuomari ja liittovaltion sheriffi ovat todellisuudessa vahvan poliitikon Alexander McNamaran käsissä. Saavuttuaan Nomeen McNamara onnistuu nimittämään itsensä alueen kaikkien tuottoisimpien kaivosvaateiden pesänhoitajaksi, mikä perustuu vilpillisiin kiistoihin kaivostyöläisten vaateiden oikeellisuudesta. Glenister, Dextry ja joukko naiiveja ruotsalaisia menettävät maansa. Kaivosmiehet palkkaavat lakimiehiä taistelemaan oikeudellisella puolella, ja he myös perustavat omankädenoikeudellisen ryhmän taistelemaan "lakia" vastaan. McNamara hallitsee häikäilemättömästi ja johtaa kaivoksia itse. Glenister vaipuu epätoivoon uskoen, että Helen on mukana salaliitossa kaivostyöläisiä vastaan, ja hän on vähällä menettää osuutensa Midasissa holtittomassa uhkapeliyössä. Hänet pelastaa siltä vain Cherry Malotte, jonka vastaton rakkaus Glenisteriin on tuonut hänet Nomeen. Helen saa hitaasti tietää McNamaran, setänsä ja muiden juonittelusta, ja samalla hänen kiintymyksensä jakautuu Glenisterin ja McNamaran välille.

**Tulos**

Kuka on Alexander McNamara?

**Tulos**

Kuka haluaa Glenisterin rakastavan häntä?

**Tulos**

Keneen Glenister on rakastunut?

**Tulos**

Miksi Roy masentuu?

**Tulos**

Miksi Roy Glenister ja Dextry ovat matkalla Alaskan alueelle?

**Tulos**

Kuka pelasti Glenisterin menettämästä Midas-oikeuttaan?

**Tulos**

Kuka huijaa kaivostyöläisiä heidän maastaan?

**Tulos**

Mikä on Roy Glenisterin ja Dextryn suhde?

**Tulos**

Miten Roy melkein menetti osuutensa Midasissa?

**Tulos**

Mikä on Royn kumppanin nimi?

**Tulos**

Miten Roy ja Dextry tapaavat Helen Chesterin?

**Tulos**

Miksi Cherry Malotte muutti Alaskan alueelle?

**Tulos**

Kuka oli Helen Chester?

**Tulos**

Mikä on roy ja Dextry gold claims nimeltään?

**Tulos**

Kuka nimitettiin Alaskan ensimmäiseksi liittovaltion tuomariksi?

**Tulos**

Kenellä poliitikolla oli valtaa liittovaltion marshallin suhteen?

**Tulos**

Miksi Roy ja Dextry olivat menossa Nomeen?

**Tulos**

Miten Glenister melkein menetti vaatimuksensa Midakseen?

**Tulos**

Kuka nimitetään Alaskan alueen ensimmäiseksi liittovaltion tuomariksi?

**Tulos**

Miten Roy matkustaa Nomeen?

**Tulos**

Kuka oli Alexander McNamara?

**Tulos**

Keneen Glenister rakastuu laivalla?

**Tulos**

Miten Roy Glenister melkein menettää oikeutensa Midasin kaivokseen?

**Tulos**

Kuka on Helen Chester?

**Tulos**

Milloin osa alkuperäisruotsalaisista menetti maansa?

**Tulos**

Mitä kaivostyöläiset tekivät taistellakseen kieroa tuomaria ja liittovaltion sheriffiä vastaan?

**Tulos**

Mikä on Alexander McNamaran tavoite Alaskan alueella?

**Tulos**

Miten kaivostyöläiset reagoivat, kun McNamara ottaa heidän maansa haltuunsa?

**Tulos**

Mikä on Royn kultasaaliin nimi?

**Esimerkki 3.87**

Tonnison ja Berreggnog tekevät kalastusmatkan Irlannin maaseudulla sijaitsevaan Kraightenin syrjäiseen kylään. Kolmantena lomapäivänä he törmäävät suuren järven rannalla sijaitsevan oudon muotoisen talon raunioihin. He löytävät Reclusen, tuntemattoman miehen, joka kirjasi ylös viimeiset päivänsä talossa ennen sen tuhoutumista, homehtuneen päiväkirjan. Recluse aloittaa päiväkirjansa kuvauksilla siitä, miten hän hankki talon, sekä päivittäisestä elämästään sisarensa ja uskollisen koiransa Pepperin kanssa. Hän aloitti päiväkirjan kirjaamaan talossa ja sen ympäristössä tapahtuneita outoja kokemuksia ja kauhuja. Recluse kertoo näystä, jossa hän matkustaa syrjäiselle ja laajalle areenalle, "Hiljaisuuden tasangolle", jota ympäröivät vuoret, joiden rinteillä on mytologisten petojumalien, demonien ja muiden "eläimellisten kauhujen" kuvauksia. Tasangon keskellä seisoo talo, joka on lähes samanlainen kuin hänen oma talonsa, paitsi että areenalla sijaitseva talo on paljon suurempi ja näyttää olevan tehty vihreästä jademaista ainetta muistuttavasta aineesta. Matkan varrella hän näkee valtavan, uhkaavan humanoidin, jolla on sikamaiset piirteet.Pian "areenan" näkemisen jälkeen hänen kimppuunsa hyökkäävät humanoidiset sikamaiset olennot, joita hän kutsuu nimellä "sika-oliot" ja jotka näyttävät tulevan talon alla olevan suuren kuilun syvyyksistä. Kamppailu näiden olentojen kanssa kestää useita öitä, joiden raivokkuus kasvaa, mutta mies tappaa useita olentoja ja ajaa ne pois. Etsiessään sikaolentojen alkuperää mies löytää puutarhan takaa kuopan, jossa joki laskeutuu maan sisään. Sieltä hän löytää tunnelin, joka johtaa suureen kuiluun. Kallioluiska patoaa kuilun veden. Mies jää loukkuun, mutta Pepper pelastaa hänet. Talo kuljettaa erakon tuntemattomaan paikkaan nimeltä "Unen meri", jossa hän tapaa hetkeksi kadonneen rakkautensa.Tonnisonin ja Berreggnogin on lopetettava lukeminen tähän, sillä talon romahdus on tuhonnut suuren osan päiväkirjasta. Arvoituksellista katkelmaa lukuun ottamatta kirja muuttuu lukukelvottomaksi "Unen merta" kuvaavan kohdan ja myöhemmän "Yön melu" -nimisen merkinnän välillä. He tajuavat, että padotun kuilun vesi on valunut yli ja synnyttänyt järven. He arvelevat, että tuhoutunut päiväkirjan kohta on saattanut selittää muita taloa koskevia mysteerejä." Kun erakko jatkaa tarinaansa, hän huomaa, että päivän ja yön kulku on nopeutunut ja lopulta hämärtynyt loputtomaksi hämäräksi. Hänen katsellessaan ympäristö hajoaa ja hajoaa pölyksi. Kuollut maailma pysähtyy hitaasti ja aurinko sammuu useiden miljoonien vuosituhansien jälkeen. Kun maailma loppuu, mies leijuu avaruuden halki ja näkee enkeli-, ihmis- ja demonimuodot kulkevan hänen silmiensä ohi. Myöhemmin hän löytää itsensä takaisin omasta työhuoneestaan Maasta, jossa kaikki on ilmeisesti palannut normaaliksi yhtä poikkeusta lukuun ottamatta: Pahansuopa sikapeto, joka oli mukana hänen aiemmilla matkoillaan "areenalla", on seurannut häntä takaisin hänen omaan ulottuvuuteensa. Olento tartuttaa miehen uuden koiran valovoimaiseen sienitautiin. Vaikka mies ampuu kärsivän eläimen, myös hän saa taudin. Käsikirjoitus päättyy siihen, että mies, joka on tuolloin jo osittain sienikasvuston peitossa, on lukittuna (vain ulkopuolelta) työhuoneeseensa, kun olento tulee kellarissa olevan luukun kautta talon alla olevasta kuilusta. Kun mies miettii itsemurhaa lopettaakseen kärsimyksensä, olento yrittää avata työhuoneen oven, ja päiväkirja loppuu äkillisesti. tonnison ja Berreggnog etsivät tietoa miehestä ja hänen olosuhteistaan. He saavat tietää, että taloa pidettiin pitkään pahana ennen kuin seuraton vanhus ja hänen iäkäs sisarensa hankkivat sen. Kuukausittaisia tarvikkeita toi mies, joka ei suostunut kertomaan mitään erakosta. Useiden vuosien jälkeen mies palasi eräänä päivänä aikaisin toimitusmatkaltaan ja kertoi, että talo oli mystisesti pudonnut kuiluun. Kaksi matkustajaa lähti Kraightenista eivätkä koskaan palanneet. Romaani päättyy viiden säkeen runoon "Suru", joka löytyy päiväkirjan etusivun takaa.

**Tulos**

Miten uusi koira kuoli?

**Tulos**

Kuka seurasi miestä hänen omiin jäljitelmiinsä?

**Tulos**

Mikä runo löytyi päiväkirjasta?

**Tulos**

Missä erakko tapaa kadonneen rakkautensa?

**Tulos**

Mitä erakko tajuaa ammuttuaan koiransa?

**Tulos**

Mitä tapahtuu erakon näyn jälkeen?

**Tulos**

Mitä järven rannalla sijaitsevan talon raunioista löytyi?

**Tulos**

Miksi mies harkitsi itsemurhaa?

**Tulos**

Mikä loi järven?

**Tulos**

Missä Recluse tapaa kauan sitten kadonneen rakkautensa?

**Tulos**

Mikä on Reclusen koiran nimi?

**Tulos**

Mitä Tonnison ja Berreggnog löytävät kolmantena päivänä Kraightenissa?

**Tulos**

Mikä hyökkäsi Reclusen kimppuun?

**Tulos**

Mikä on valtava areena, jossa on vuoria, demoneita ja myyttisiä jumalia?

**Tulos**

Miten käsikirjoitus päättyy?

**Tulos**

Mitä Tonnison ja Berreggnog lopulta saivat selville talosta?

**Tulos**

Miksi mies aloitti päiväkirjan?

**Tulos**

Mitä tapahtuu sen jälkeen, kun Recluse palaa avaruudesta?

**Tulos**

Kenelle peto tartutti sienitaudin ensimmäisenä?

**Tulos**

Milloin päiväkirja yhtäkkiä loppuu?

**Tulos**

Mitä ihmismäinen sikamainen olento tekee miehelle?

**Tulos**

Kuinka kauan kesti, ennen kuin aurinko sammui?

**Tulos**

Mitä lehden lopussa on?

**Tulos**

Mitä mies sanoi talosta, kun hän palasi toimitusmatkaltaan?

**Tulos**

Mikä on ainoa ero, kun kaikki näyttää palaavan normaaliksi loputtomalta tuntuvan hämärän jälkeen?

**Tulos**

Kuka harkitsi itsemurhaa?

**Tulos**

Mihin uusi koira sai tartunnan?

**Tulos**

Mitä tapahtuu auringolle sen jälkeen, kun maailma on siirtynyt hämärään?

**Tulos**

Mikä oli Reclusen koiran nimi?

**Tulos**

Milloin matkustajat palaavat Kraightoniin?

**Esimerkki 3.88**

Emmeline sijoittuu Pembrokeen, Walesiin, ja sen keskiössä on samanniminen sankaritar. Hänen vanhempansa ovat molemmat kuolleet, ja häntä on elättänyt isänsä veli, lordi Montreville, Mowbrayn linnassa. Romaanin alussa annetaan ymmärtää, että Emmelinen vanhemmat eivät olleet naimisissa hänen syntyessään, mikä tekee hänestä aviottoman. Lordi Montreville on tämän perusteella vaatinut Mowbray Castlea itselleen ja perheelleen. Emmeline on jäänyt palvelijoiden kasvatettavaksi, mutta lukemisen kautta hänestä on tullut sivistynyt ja taitava, ja hän kiinnittää lordi Montrevillen pojan, lordi Delameren huomion. Delamere rakastuu häneen ja kosii häntä, mutta Emmeline kieltäytyy, koska hänen isänsä ei hyväksy häntä ja koska hän tuntee vain sisarellista kiintymystä häntä kohtaan. Paetakseen Delameren rakkaudentunnustuksia Emmeline jättää Mowbrayn linnan ja asuu ensin rouva Staffordin ja sitten rouva Ashwoodin luona, jossa Delamere jatkaa hänen peräänsä. Emmeline torjuu myös muiden rikkaiden miesten pukuja, mikä hämmentää häntä ympäröiviä ihmisiä.Croftin perheellä, lakimiehillä, jotka yrittävät nousta yhteiskunnassa, on vaikutusvaltaa lordi Montrevilleen ja he valvovat häntä. Nuorempi Croft-poika nai salaa vanhimman Montreville-tyttären varmistaakseen omaisuuden, mikä on lordi Montrevillen näkökulmasta erittäin epäonninen liitto.Delamere sieppaa Emmelinen: hän yrittää viedä tämän Skotlantiin ja pakottaa hänet naimisiin kanssaan. Sairastuttuaan kuumeeseen Delamere saa kuitenkin miehen luopumaan suunnitelmistaan. Kun Delameren äiti, Lady Montreville, sairastuu, hänen on pakko käydä perheensä luona. Auttaakseen äitiä toipumaan hän lupaa olla tapaamatta Emmelineä vuoteen. Jos Emmeline sen jälkeen yhä rakastaa häntä, hänen vanhempansa lupaavat antaa hänen mennä naimisiin Emmelinen kanssa, ja Emmeline suostuu vastahakoisesti.Emmeline ystävystyy Augustan, Delameren sisaren, kanssa. Augusta menee naimisiin lordi Westhavenin kanssa, joka sattumalta on Emmelinen uuden maalaistuttavan Adelinan veli. Adelina jätti hajamielisen aviomiehensä rakastajan vuoksi, joka hylkäsi hänet lapsen kanssa. Hän on niin järkyttynyt, että nähdessään veljensä, lordi Westhavenin, hän pelkää tämän rangaistusta niin paljon, että hän tulee hetkeksi hulluksi. Emmeline hoitaa häntä ja hänen lastaan; samalla hän tapaa Adelinan toisen veljen, Godolphinin. Croftit levittävät huhuja Emmelinen uskottomuudesta Delamereen, ja kun tämä käy Adelinan luona ja näkee hänet Adelinan lapsen kanssa, Emmeline luulee, että lapsi on hänen omansa, ja hylkää hänet. Tämän jälkeen Emmeline matkustaa rouva Staffordin ja Augustan kanssa Ranskaan, jossa hän saa tietää, että hänen vanhempansa olivat oikeasti naimisissa ja että hän ansaitsee periä Mowbrayn linnan. Lordi Montreville luovuttaa kartanon hänelle, kun hän huomaa, että Croftit ovat huijanneet häntä. Delamere sairastuu huomatessaan, ettei Emmeline ollut koskaan pettänyt häntä. Hän hoitaa häntä, mutta kieltäytyy menemästä naimisiin. Hänen äitinsä kuolee hänen tilansa aiheuttamaan huoleen, ja Delamere kuolee kaksintaistelussa sisarensa rakastajasta. Lopulta Emmeline menee naimisiin Godolphinin kanssa.

**Tulos**

Minne lordi Delamere aikoo viedä Emmelinen kaappauksen jälkeen?

**Tulos**

Kenet Emmeline nai?

**Tulos**

Miksi Emmeline kieltäytyy Delemaren ehdotuksesta?

**Tulos**

Kuka sieppaa Emmelinen?

**Tulos**

Mitä Emmeline löytää Ranskassa?

**Tulos**

Koska Emmeline on orpo, kuka tuki häntä?

**Tulos**

Miten Lady Montreville kuolee?

**Tulos**

Mitä huhuja Croftit levittävät?

**Tulos**

Kuka on Augusta?

**Tulos**

Missä Emmelinen vanhemmat ovat?

**Tulos**

Kuka on Godolphinin sisar?

**Tulos**

Minne Emmeline matkustaa rouva Staffordin ja Augustan kanssa?

**Tulos**

Kenet lordi Delameren sisar Augusta nai?

**Tulos**

Kenet Emmeline nai?

**Tulos**

Kenelle Augusta on sukua?

**Tulos**

Mitä Delamere lupaa äidilleen tämän sairastuttua?

**Tulos**

Mikä on perheen kodin nimi?

**Tulos**

Miksi Adelina tulee hulluksi?

**Tulos**

Missä Emmeline asuu?

**Tulos**

Miten Delamere kuolee?

**Tulos**

Kuka on lordi Delemare?

**Tulos**

Kuka on lordi Montrevillen poika?

**Tulos**

Kuka on Croftin perhe?

**Tulos**

Miksi lordi Montreville luovutti kartanon Emmelinelle?

**Tulos**

Miten Delemare kuoli?

**Tulos**

Kuka tukee Emmelineä?

**Tulos**

Mitä Croftit tekevät työkseen?

**Tulos**

Mikä on Emmelineen rakastuneen lordi Montrevillen pojan nimi?

**Tulos**

Miksi Emmeline ei voinut alun perin periä Mowbrayn linnaa?

**Esimerkki 3.89**

Italialaiset kalastajat pelastavat Välimereltä tajuttoman amerikkalaisen (Matt Damon), jolla on kaksi ampumahaavaa selässään. He hoitavat haavoja, ja kun mies herää, he huomaavat, että hänellä on dissosiatiivinen muistinmenetys. Hän ei muista omaa henkilöllisyyttään, mutta hän säilyttää puheensa ja kykenee kehittyneisiin taistelutaitoihin ja hallitsee sujuvasti useita kieliä. Kippari löytää miehen lantion alta pienen laserprojektorin, joka aktivoituaan antaa Z richissä sijaitsevan tallelokeron numeron. Laskeuduttuaan mies lähtee tutkimaan laatikkoa. Saavuttuaan pankkiin mies huomaa, että laatikossa on suuri summa rahaa eri valuutoissa, lukuisia passeja ja henkilökortteja, joissa kaikissa on hänen kuvansa, sekä käsiase. Mies ottaa kaiken muun paitsi aseen ja lähtee pois käyttäen amerikkalaisessa passissa olevaa nimeä Jason Bourne.Bournen lähdön jälkeen pankin työntekijä ottaa yhteyttä CIA:n salaisen operaation Operaatio Treadstone -ohjelmaan. Treadstonen johtaja Alexander Conklin (Chris Cooper) aktivoi kolme agenttia ottamaan Bournen kiinni: Castel (Nicky Naude), Manheim (Russell Levy) ja Professori (Clive Owen), samalla kun hän hälyttää paikallisen poliisin ottamaan Bournen kiinni. Samaan aikaan CIA:n apulaisjohtaja Ward Abbott (Brian Cox) ottaa yhteyttä Conkliniin epäonnistuneesta salamurhayrityksestä, joka kohdistuu maanpaossa olevaan afrikkalaiseen diktaattoriin Nykwana Wombosiin (Adewale Akinnuoye-Agbaje). Conklin lupaa Abbottille, että hän hoitelee epäonnistuneen Treadstone-agentin. bourne yrittää kiertää Sveitsin poliisia menemällä Yhdysvaltain passilla Yhdysvaltain konsulaattiin, mutta vartijat löytävät hänet. Hän pakenee kiinniottoa, poistuu suurlähetystöstä ja antaa saksalaiselle naiselle, Marie Kreutzille (Franka Potente), 20 000 dollaria, jotta tämä ajaisi hänet Pariisissa sijaitsevaan osoitteeseen, joka on hänen ranskalaisessa ajokortissaan. Osoitteessa, joka on asunto, hän painaa puhelimen uudelleenvalintaa ja pääsee hotelliin. Siellä hän tiedustelee passeissaan olevia nimiä ja saa tietää, että "John Michael Kane" oli rekisteröity, mutta kuoli kaksi viikkoa aiemmin auto-onnettomuudessa. Castel hyökkää Bournen ja Marien kimppuun asunnossa, mutta Bourne saa yliotteen. Sen sijaan, että Castel antaisi kuulustella itseään, hän heittäytyy ikkunasta kuolemaan. Marie löytää etsintäkuulutettuja julisteita Bournesta ja itsestään, ja tuskastuttuaan suostuu jatkamaan Bournen auttamista. Takaa-ajon jälkeen, jossa Bourne pakenee Pariisin poliisia Marien autolla, karkurit viettävät yön yhdessä pariisilaisessa hotellissa, ja sillä välin Wombosi jatkaa pakkomielteenomaisesti murhayritystä. Conklin, joka on ennakoinut tämän, on asettanut Pariisin ruumishuoneelle ruumiin esiintyäkseen hyökkääjänä, mutta Wombosia ei huijata ja hän uhkaa tehdä asiasta ilmoituksen. Professori murhaa Wombosin Conklinin käskystä. Kaneina esiintyvä Bourne saa tietää Wombosin jahdista ja siitä, että hyökkääjää oli ammuttu pakomatkan aikana kahdesti selkään, aivan kuten häntä. Bourne pitää nyt itseään hyökkääjänä. Hän ja Marie hakeutuvat Marie-velipuolensa Eamonin (Tim Dutton) ja tämän lasten kotiin Ranskan maaseudulle. Abbottin painostamana Conklin jäljittää Bournen olinpaikan ja lähettää professorin sinne, mutta Bourne ampuu häntä kahdesti Eamonin haulikolla ja haavoittaa häntä kuolettavasti. Professori paljastaa heidän yhteisen yhteytensä Treadstoneen ennen kuolemaansa. Bourne lähettää Marien, Eamonin ja Eamonin lapset pois heidän suojelukseensa ja ottaa sitten yhteyttä Conkliniin professorin puhelimen kautta sopiakseen tapaamisesta. Sovitun paikan lähellä Pariisissa sijaitsevalta katolta Bourne näkee, että Conklin on tuonut apujoukkoja, joten hän keskeyttää tapaamisen, mutta käyttää tilaisuutta hyväkseen asettaakseen jäljityslaitteen Conklinin autoon, joka johtaa Bournen Treadstonen turvataloon. bourne murtautuu sisään ja uhkaa aseella Conklinia ja logistiikkateknikko Nicolette "Nicky" Parsonsia (Julia Stiles). Kun Conklin alkaa painostaa häntä muistelemaan menneisyyttään, Bourne palauttaa mieleen yrityksensä murhata Wombosi peräkkäisten takaumien kautta. Kaneina ja Treadstonen käskystä Bourne tunkeutui Wombosin jahdille, mutta ei saanut itseään tappamaan Wombosia, kun Wombosin lapset olivat paikalla, vaan pakeni, ja hänet ammuttiin pakomatkalla. Bourne ilmoittaa irtisanoutuvansa Treadstonesta, eikä häntä saa seurata. Kun agentit laskeutuvat turvataloon, Bourne taistelee tiensä vapaaksi. Kun Conklin poistuu turvatalosta, Abbottin käskystä toimiva Manheim tappaa hänet. Abbott sulkee Treadstonen. Abbott raportoi valvontakomitealle, että Treadstone on "lähes poistettu käytöstä", ennen kuin keskustelu siirtyy uuteen projektiin, jonka koodinimi on "Blackbriar". Loppukohtauksessa Bourne löytää Marien vuokraamasta skoottereita turisteille Mykonoksella, ja he tapaavat jälleen.

**Tulos**

Kuka on CIA:n johtaja, joka lakkautti Treadstone-operaation?

**Tulos**

Mikä on Marien lankomiehen nimi, jonka luona Borne ja Marie asuvat Ranskan maaseudulla?

**Tulos**

Miten Bourne pakenee Sveitsin poliisia?

**Tulos**

Kuka tappaa Conkinin?

**Tulos**

Mitä uutta hanketta luodaan sen jälkeen, kun Treadstone on poistettu käytöstä?

**Tulos**

Paljonko Jason antaa Marie Kreutzille siitä, että tämä toimittaa hänet Pariisiin?

**Tulos**

Mistä Jason Bourne löytyy tajuttomana tarinan alussa?

**Tulos**

Kuka tappaa Conklinin?

**Tulos**

Kuka laittoi ruumiin Pariisin ruumishuoneelle?

**Tulos**

Kuka kuolee Bournen, Marien ja Castelin välisessä taistelussa?

**Tulos**

Mitä tallelokeron sisällä on?

**Tulos**

Ketkä ovat ne kolme agenttia, jotka on lähetetty kaatamaan Bourne?

**Tulos**

Mikä on niiden miesten ammatti, jotka pelastavat tajuttoman amerikkalaisen?

**Tulos**

Minne Conkinin jäljityslaite johtaa Bournen?

**Tulos**

Mikä on Treadstonen korvaavan uuden hankkeen nimi?

**Tulos**

Kun Bournen lonkan alla oleva laser aktivoituu, mitä se näyttää?

**Tulos**

Miksi Bourne päättää olla tapaamatta Conkinia?

**Tulos**

Mikä oli sen miehen nimi, joka lähetti agentteja tappamaan Bournen?

**Tulos**

Mitä tajuttomasta amerikkalaisesta löytyvä laserprojektori tekee?

**Tulos**

Mitä Bourne löytää tallelokerosta?

**Tulos**

Millainen haava Bournen selässä on?

**Tulos**

Mitä veneen kippari löysi Jason Bournesin lonkasta?

**Tulos**

Kuka oli maanpaossa oleva afrikkalainen diktaattori, jonka CIA halusi salamurhata?

**Tulos**

Mistä kalastaja löysi Jason Bournen?

**Tulos**

Kenen Ranskan maaseudulla sijaitsevaan kotiin Bourne ja Marie asuvat?

**Tulos**

Kuka oli Wombosin murhannut agentti?

**Tulos**

Miten Bourne saa selville Treadstonen turvatalon sijainnin?

**Tulos**

Mikä on sen CIA:n salaisen operaation nimi, joka haluaa vangita Jason Bournen?

**Tulos**

Mitä Marie tekee, kun Bourne löytää hänet tarinan lopussa?

**Esimerkki 3.90**

Vuonna 2379, kaksisataa vuotta Alien 3:n tapahtumien jälkeen, sotilastiedemiehet USM Auriga -avaruusaluksella luovat Ellen Ripleyn kloonin käyttämällä ennen hänen kuolemaansa otettujen verinäytteiden DNA:ta. Alien-kuningattaren DNA:ta sekoitettiin Ripleyn DNA:han, ja klooni kasvaa alkio sisällään. Tiedemiehet irrottavat alkion, kasvattavat sen ja keräävät sen munat. Ripleyn klooni pidetään elossa jatkotutkimuksia varten. Hänen sisällään olevan muukalais-DNA:n seurauksena hänelle kehittyy vahvemmat voimat ja refleksit, hänellä on hapanta verta ja psyykkinen yhteys muukalaisiin. Lisäksi avaruusolennon geneettisen muistin ansiosta kloonilla on osa Ripleyn muistoista.ryhmä palkkasotureita, Elgyn, Johner, Christie, Vriess, Hillard ja Call, saapuu Aurigaan aluksellaan Betty. He toimittavat useita kidnapattuja ihmisiä staasiin. Sotilaalliset tiedemiehet käyttävät ihmisiä muukalaisten isäntinä ja kasvattavat useita aikuisia muukalaisia tutkittavaksi.Betty-miehistö kohtaa pian Ripleyn. Call tunnistaa hänen nimensä ja yrittää tappaa hänet, koska epäilee, että häntä saatetaan käyttää uusien Alienien luomiseen. Alienit ovat jo aikuistuneet ja pakenevat vankeuttaan tappamalla yhden omistaan ja polttamalla happaman veren avulla aitauksensa läpi. Ne vahingoittavat Aurigaa ja tappavat miehistön jäsenet, jotka eivät evakuoidu, mukaan lukien kenraali Perez ja Elgyn. Sotatieteilijä tohtori Wren paljastaa, että aluksen oletuskäsky hätätilanteessa on palata Maahan. Koska Ripley, palkkasoturit, Wren, DiStephano-niminen merijalkaväen sotilas ja Alienin eloonjäänyt isäntä Purvis ymmärtävät, että tämä vapauttaa Alienit Maahan, he päättävät suunnata Bettyyn ja käyttää sitä Aurigan tuhoamiseen. Matkalla Ripley kohtaa epäonnistuneiden kloonausyritysten irvokkaita tuotteita. Eloonjäänyt niistä rukoilee Ripleytä tappamaan hänet armosta, ja Ripley suostuu siihen.Kun ryhmä pääsee vaurioituneen aluksen läpi, he uivat tulvivan keittiön läpi. Kaksi muukalaista jahtaa heitä. Toinen heistä kuolee, ja toinen nappaa Hillardin. Kun he pakenevat keittiöstä, muukalainen palaa ja sokeuttaa Christien, joka uhrautuu tappaakseen muukalaisen, jotta muut voivat paeta. Kun Wren pettää ryhmän, Call paljastuu androidiksi. Käyttämällä kykyään toimia Aurigan järjestelmien kanssa Call asettaa sen törmäyskurssille Maahan ja toivoo tuhoavansa Alienit törmäyksessä. Hän katkaisee Wrenin pakoreitin ja ohjaa muukalaiset häntä kohti. Ripley jää muukalaisten vangiksi, kun taas muut suuntaavat Bettyyn. Wren ampuu Purvisin ja ottaa Callin panttivangiksi ja vaatii häntä keskeyttämään törmäyksen. Loukkaantunut Purvis hyökkää Wrenin kimppuun ja pakottaa tämän pään rintaansa vasten juuri, kun hänen mukanaan kuljettamansa Alien-alkio puhkeaa hänen rintakehänsä läpi, jolloin se menee Wrenin pään läpi ja tappaa heidät molemmat. Selviytyjät ampuvat alkion.Ripley viedään Alienin pesään, jossa kuningatar, jolla on nyt kohdun hallussaan geneettisen sekoituksen seurauksena, synnyttää vastasyntyneen, Xenomorphin, jolla on ihmisen piirteitä. Hybridi Alien tunnistaa Ripleyn äidikseen, tappaa kuningatar Alienin ja tohtori Jonathan Gedimanin, tiedemiehen, joka oli aiemmin vangittu ja koteloitu. Ripley käyttää häiriötekijää hyväkseen paetakseen ja pääsee Bettyyn. vastasyntynyt saavuttaa Bettyn ja hyökkää Callin kimppuun. Se tappaa DeStephanon, kun tämä yrittää auttaa häntä. Ripley löytää tiensä alukselle ja pelastaa Callin harhauttamalla Newbornin. Happaman verensä avulla Ripley sulattaa ikkunan lasin ja työntää Newbornin kohti reikää. Se imeytyy rajusti reiän läpi dekompression vuoksi. lähtölaskenta Aurigalla jatkuu, kun eloonjääneet pakenevat Bettyyn. Auriga törmää Maahan aiheuttaen suuren räjähdyksen. Call ja Ripley katsovat alas Maahan, ja kun Call kysyy, mitä Ripley haluaa tehdä seuraavaksi, hän sanoo: "Olen itsekin vieras täällä." Hän sanoo: "Olen itsekin vieras täällä." Vaihtoehtoisessa lopussa, jota käytetään joissakin laajennetuissa versioissa, Betty laskeutuu raunioituneeseen Pariisiin.

**Tulos**

Miten avaruusolennot pääsivät pakenemaan vankilasta?

**Tulos**

Mitä DNA:ta sekoitettiin Ripleyn kanssa hänen luomisekseen?

**Tulos**

Mikä oli aluksen oletuskomento hätätilanteessa?

**Tulos**

Mihin sotilastiedemiehet käyttivät siepattua ihmistä?

**Tulos**

Kuka otti Callin panttivangiksi?

**Tulos**

Kenet sotilastiedemiehet kloonasivat?

**Tulos**

Mitä kuningatar synnyttää?

**Tulos**

Mitä Aurigalle tapahtui, kun se törmäsi Maahan?

**Tulos**

Mitä imetään reiän läpi dekompressioon?

**Tulos**

Kuka tappoi Wrenin?

**Tulos**

Mitä sotilastiedemiehet tekevät siepatuille ihmisille?

**Tulos**

Miten avaruusolennot pääsevät ulos koteloistaan?

**Tulos**

Miksi Auriga oli palaamassa maahan?

**Tulos**

Minä vuonna Ellen kuoli?

**Tulos**

Mikä on palkkasoturien aluksen nimi?

**Tulos**

Mikä on aluksen oletuskomento hätätilanteessa?

**Tulos**

Kuka kloonattiin USM Aurigassa?

**Tulos**

Kuka oli Call?

**Tulos**

Kuka laittoi Aurigan törmäyskurssille Maan kanssa?

**Tulos**

Kuka paljastuu androidiksi?

**Tulos**

Kuka tappaa merijalkaväen sotilaan?

**Tulos**

Kuka Wrenin ohella kuolee, kun Alienin alkio puhkeaa Wrenin rintakehän läpi?

**Tulos**

Mitä Aurigalle tapahtuu?

**Tulos**

Mistä Call tunnistaa Ripleyn?

**Tulos**

Mikä oli ensimmäinen suunnitelma Aurigan tuhoamiseksi?

**Tulos**

Jos he tappavat miehistön jäsenet, jotka eivät paenneet, mistä tri Jonathan Geidman tuli?

**Tulos**

Ketkä palkkasoturit ovat elossa, kun he saapuvat Maahan?

**Esimerkki 3.91**

Lähitulevaisuudessa Kuu on asutettu ja sen pinnalla on asema. Mayflower One -nimellä tunnettua kuusukkulaa ollaan kiirehtimässä Houstonista laukaisemaan. Maahenkilökunnan päällikkö The Sarge (Chuck Connors) ei pidä tapahtumista, mutta hän alistuu lentoyhtiön johtoon.Lentohenkilökuntaan kuuluvat kapteeni Clarence Oveur (Peter Graves), navigaattori/perämies Unger (Kent McCord) ja ensimmäinen upseeri/lentoinsinööri Dunn (James A. Watson, Jr.). Mukana on myös tietokonevastaava Elaine Dickinson (Julie Hagerty). Elaine on jo kauan sitten jättänyt Ted Strikerin (Robert Hays) ja on nyt kihloissa yhden lentomiehistön jäsenen Simon Kurtzin (Chad Everett) kanssa. Striker on tällä välin joutunut mielisairaalaan, sillä hänet julistettiin henkisesti vajaavaltaiseksi oikeudenkäynnissä, joka käytiin Tedin ohjaaman koelennon jälkeen, jossa kuunsukkula syöksyi maahan. Striker uskoo, että oikeusjuttua käytettiin hänen vaientamisekseen, koska hän tiesi, että kuusukkulassa oli ongelmia, jotka tekivät siitä vaarallisen, ja häntä kummittelevat jälleen kerran hänen tekonsa "Sodassa" - mikä aiheuttaa hänen "juomisongelmansa" uusiutumisen, erityisesti "Macho Granden" yllä tapahtuneet tapahtumat, joissa hän menetti koko laivueensa. Kun Striker lukee tulevasta kuunsukkulan laukaisusta, hän pakenee mielisairaalasta ja ostaa lipun lennolle. lennon aikana Mayflower One kärsii oikosulusta, joka saa tekoälytietokoneen ROK:n sekoamaan ja lähettämään aluksen kohti aurinkoa. Unger ja Dunn yrittävät sammuttaa tietokoneen, mutta heidät ammutaan ulos ilmalukosta. Oveur yrittää pysäyttää ROK:n, mutta tietokone kaasuttaa hänet. Kurtz hylkää Elainen ja lähtee ainoalla pelastuskapselilla. Jälleen kerran Strikeria pyydetään pelastamaan tilanne, mutta ensin hänen on keksittävä, miten tietokone saadaan luopumaan hallinnasta. Lennonjohtaja Steve McCroskey (Lloyd Bridges) paljastaa, että matkustaja nimeltä Joe Seluchi (Sonny Bono) oli noussut Mayflower Oneen pommi salkussaan aikomuksenaan tehdä itsemurha, jotta hänen vaimonsa voisi periä vakuutusrahat. Striker onnistuu riistämään pommin Seluchilta ja räjäyttää sillä ROK:n ja ottaa kurssin Kuuhun, kuten alun perin oli tarkoitus. pommin käyttäminen tietokoneen tuhoamiseen aiheuttaa sukkulalle sivullisia vahinkoja, mikä tarkoittaa, että lento ei ole vielä vaaraton. Matkalla Kuuhun lennon hallinta siirtyy kuutukikohdalle, jota komentaja Buck Murdock (William Shatner) komentaa. Hän halveksii Strikeria Macho Granden takia, mutta suostuu kuitenkin auttamaan. He onnistuvat laskeutumaan aluksella Kuuhun. Ted ja Elaine rakastuvat uudelleen ja menevät lopussa naimisiin. Häiden jälkeen Seluchi katsoo ohjaamoon ja pyytää salkkunsa takaisin. postcredit-kohtauksessa näytetään ruutu, jossa lukee "Coming From Paramount Pictures: "Airplane III". Murdockin nähdään sitten sanovan: "Juuri sitä he odottavat meidän tekevän!".

**Tulos**

Miksi Joe Seluchi nousi Mayflower Oneen pommin kanssa?

**Tulos**

Mille vaaralliselle kurssille sukkula lähetetään?

**Tulos**

Mitä Joella on matkalaukussaan?

**Tulos**

Miten Striker saa pommin Joelta?

**Tulos**

Kuka menee naimisiin tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on Strikerin kokeman tapahtuman nimi, joka jätti hänet kummittelemaan?

**Tulos**

Mistä Mayflower One lähti liikkeelle?

**Tulos**

Millä Striker pysäyttää sekopäisen tietokoneen?

**Tulos**

Mikä on Kuuhun matkalla olevan sukkulan nimi?

**Tulos**

Miksi Striker uskoi, että oikeusjuttua käytettiin hänen vaientamiseensa?

**Tulos**

Mitä tavaraa Joe pyytää tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on aluksella olevan tietokonevastaavan nimi?

**Tulos**

Milloin Striker osti liput kuunsukkulan laukaisuun?

**Tulos**

Miksi Striker uskoo, että häntä vastaan on nostettu kanne?

**Tulos**

Miksi Striker pakeni mielisairaalasta?

**Tulos**

Mitä tapahtuu, kun Mayflower One kärsii oikosulusta?

**Tulos**

Miten Striker joutui mielisairaalaan?

**Tulos**

Mikä on tarinan kuunsukkulan nimi?

**Tulos**

Mitä Striker tiesi Tedin ohjaamasta koelennosta?

**Tulos**

Mikä on Mayflower One -aluksella olevan tekoälyn nimi?

**Tulos**

Milloin Striker pakeni mielisairaalasta?

**Tulos**

Mikä on ROK?

**Tulos**

Mitä tapahtui Strikerille Macho Grandessa?

**Tulos**

Mitä tarinan alussa tapahtuu, mistä kessu ei pidä?

**Tulos**

Miksi Joe halusi tehdä itsemurhan?

**Tulos**

Mihin Striker oli sitoutunut Elainen lähdön jälkeen?

**Tulos**

Kuka paljasti, että Seluchilla oli pommi Mayflower 1:llä?

**Tulos**

Miten Striker räjäytti ROK:n?

**Tulos**

Miksi Joe-matkustaja otti pommin lentokoneeseen?

**Tulos**

Kuka meni naimisiin tarinan lopussa?

**Esimerkki 3.92**

Monet romaanin tapahtumista kerrotaan kahteen kertaan: ensin "toimittaja", joka kertoo tosiasioista niin kuin hän ne ymmärtää, ja sitten "syntisen" itsensä sanoin.Toimittajan kertomus alkaa vuonna 1687, jolloin Rabina Orde menee naimisiin paljon vanhemman George Colwanin, Dalcastlen lairdin, kanssa. Rabina halveksii uutta aviomiestään, koska tämä ei vastaa hänen äärimmäisiä uskonnollisia vakaumuksiaan, rakastaa tanssia ja juo mielellään alkoholia. Aluksi hän pakenee miestä, mutta hänen isänsä pakottaa hänet takaisin, ja he asuvat erillään samassa talossa. Rabina synnyttää kaksi poikaa. Ensimmäinen, George, on kiistatta lairdin poika, mutta on vahvasti vihjailtu, vaikkakaan ei koskaan vahvistettu, että hänen toisen poikansa Robertin isä oli pastori Wringhim, Rabinan hengellinen neuvonantaja ja läheinen luottamusmies.Lairdin kasvattamasta Georgesta tulee suosittu nuori mies, joka nauttii urheilusta ja ystäviensä seurasta. Äitinsä ja adoptioisänsä Wringhimin kasvattama Robert kasvatetaan seuraamaan Wringhimin radikaalia antinomianistista kalvinistista lahkolaisuutta, jonka mukaan vain tietyt valitut ihmiset ovat ennalta määrättyjä saamaan Jumalan pelastuksen. Nämä harvat valitut saavat taivaallisen palkkion riippumatta siitä, miten he elävät.Veljekset tapaavat nuorina miehinä Edinburghissa, jossa Robert alkaa seurata Georgea läpi kaupungin, pilkata ja provosoida häntä ja häiritä hänen elämäänsä. Hänellä näyttää olevan kyky ilmestyä sinne, missä George on. Kun George on kukkulan laella, hän näkee näyn veljestään taivaalla ja kääntyy huomatakseen Robertin olevan hänen takanaan valmistautumassa heittämään hänet alas jyrkänteeltä. Robert torjuu kaikki veljensä ystävälliset tai rauhoittavat lähentelyt. lopulta George murhataan puukolla selkään, ilmeisesti kaksintaistelun aikana erään ryyppytuttavansa kanssa. Murhan ainoat todistajat olivat prostituoitu ja hänen halveksittava asiakkaansa, jotka väittävät, että syyllinen oli Robert, jota auttoi ilmeisesti Georgen ystävän kaksoisolento. Ennen kuin Robert voidaan pidättää, hän katoaa.Romaanin toinen osa koostuu Robertin kertomuksesta elämästään. Sen väitetään olevan osittain käsinkirjoitettu ja osittain painettu asiakirja, joka löydettiin hänen kuolemansa jälkeen. Siinä kerrotaan hänen lapsuudestaan pastori Wringhimin vaikutuksen alaisena ja kerrotaan, miten hän joutuu arvoituksellisen kumppanin, joka sanoo nimekseen Gil-Martin, orjaksi. Tämä muukalainen, jota voidaan pitää paholaisena, ilmestyy sen jälkeen, kun Wringhim on julistanut Robertin kuuluvan "valittujen" joukkoon ja olevan siten ennalta määrätty ikuiseen pelastukseen. Gil-Martin, joka pystyy muuttamaan ulkonäköään mielensä mukaan, ohjaa pian kaikki Robertin jo olemassa olevat taipumukset ja uskomukset pahoihin tarkoituksiin ja vakuuttaa hänelle, että hänen tehtävänsä on katkaista syntiset miekalla ja että murha voi olla oikea toimintatapa. Gil-Martinin kerskaillessa kannattajiensa määrällä ja valtakuntansa koolla Robert lankeaa harhakuvitelmiin, että hän on Venäjän Pietari Suuri, joka vieraili Englannissa samoihin aikoihin.Tunnustuksessa seurataan Robertin asteittaista vajoamista epätoivoon ja hulluuteen, kun hänen epäilyksensä aatteensa oikeellisuudesta saavat vastapainokseen Gil-Martinin yhä suuremman määräysvallan hänen elämässään. Lopulta Robert menettää oman identiteettinsä hallinnan ja jopa ajantajun. Näiden kadonneiden viikkojen ja kuukausien aikana Gil-Martinin oletetaan omaksuvan Robertin ulkonäön tehdäkseen uusia rikoksia. Tekstissä on kuitenkin myös viitteitä siitä, että "Gil-Martin" on Robertin mielikuvituksen tuotetta ja vain osa hänen omaa persoonallisuuttaan: esimerkiksi kun "syntinen" kirjoittaa: "Minusta tuntuu kuin olisin sama henkilö" (kuin Gil-Martin). Robert pakenee, mutta paholaiset jahtaavat ja piinaavat häntä, ja hän löytää turvaa vain paimenena. Lopulta hän hirttää itsensä ruohoköydellä, jossa annetaan ymmärtää, että paholaiset ovat auttaneet häntä. romaani päättyy paluuseen "Toimittajan kertomukseen", jossa selitetään, miten syntisen muistelmat löydettiin hänen haudastaan. Hogg esiintyy tässä jaksossa omana itsenään ja ilmaisee halveksuntaa haudan avaamishanketta kohtaan.

**Tulos**

Miksi Rabina halveksii miestään?

**Tulos**

Miten Robert kuolee?

**Tulos**

Miten George kuoli?

**Tulos**

Kuka Robert uskoo olevansa?

**Tulos**

Kuinka monta poikaa Rabinalla on?

**Tulos**

Kuka kasvattaa Rabinan poikaa Georgea?

**Tulos**

Mikä on totta kalvinistisesta lahkosta?

**Tulos**

Mitkä ovat Rabinan kahden pojan nimet?

**Tulos**

Mitä Robert aikoi tehdä, kun Yrjö näki hänet näyssä?

**Tulos**

Kenen uskotaan olevan Rabinan pojan Robertin isä?

**Tulos**

Kuka Robert luulee olevansa jossain vaiheessa, kun hänellä on harhaluuloja?

**Tulos**

Mikä kyky Robertilla on?

**Tulos**

Kenen uskotaan olevan Robertin isä?

**Tulos**

Kenen Robert väittää olevan hänen arvoituksellinen kumppaninsa?

**Tulos**

Mikä on erityisen erikoista siinä, miten tapahtumia kuvataan?

**Tulos**

Kuka pakottaa Rabinan takaisin?

**Tulos**

Kuka kertoo tarinan?

**Tulos**

Kuka kasvattaa Georgen?

**Tulos**

Mitä Robert voi tehdä ulkonäöllään?

**Tulos**

Mihin harhakuvitelmiin Robert sortuu ?

**Tulos**

Kuka on ottanut vallan Robertin elämässä ?

**Tulos**

Kenen ulkonäköä Gill-Martin olettaa?

**Tulos**

Kuka on Rabinan George?

**Tulos**

Kuka on Robertin kumppani, joka vaikuttaa paholaiselta?

**Tulos**

Kuka todistajien mukaan murhasi Georgen?

**Tulos**

Missä veljekset tapaavat?

**Tulos**

Miten George murhataan?

**Tulos**

Missä kaupungissa veljekset tapasivat ensimmäisen kerran?

**Esimerkki 3.93**

1820-luvulla Eugene Onegin on tylsistynyt pietarilainen dandy, jonka elämä koostuu tanssiaisista, konserteista ja juhlista, ei mistään muusta. Eräänä päivänä hän perii enoltaan kartanon. Kun hän muuttaa maalle, hän ystävystyy naapurinsa, nuoren runoilijan Vladimir Lenskin kanssa. Eräänä päivänä Lenski vie Oneginin syömään kihlattunsa, seurallisen mutta melko ajattelemattoman Olga Larinan perheen luo. Tapaamisessa hän näkee vilaukselta myös Olgan siskon Tatjanan. Tatjana on hiljainen, varhaiskypsä romantikko ja Olgan täydellinen vastakohta, mutta hän alkaa tuntea voimakasta vetoa Oneginiin. Pian sen jälkeen hän paljastaa sielunsa Oneginille kirjeessä, jossa hän tunnustaa rakkautensa. Vastoin odotuksia Onegin ei vastaa kirjeeseen. Kun he tapaavat henkilökohtaisesti, hän torjuu tytön lähentelyt kohteliaasti, mutta torjuvasti ja alentuvasti. Tätä kuuluisaa puhetta kutsutaan usein Oneginin saarnaksi: hän myöntää, että kirje oli koskettava, mutta sanoo kyllästyvänsä nopeasti avioliittoon ja voivansa tarjota Tatjanalle vain ystävyyttä; hän neuvoo kylmästi hillitsemään tunteitaan tulevaisuudessa, jottei joku toinen mies käyttäisi hyväkseen Tatjanan viattomuutta.Myöhemmin Lenski kutsuu Oneginin ilkikurisesti Tatjanan nimipäivän juhlaan, jossa luvataan järjestää pieni juhla, johon osallistuisivat vain Tatjana, Olga ja heidän vanhempansa. Kun Onegin saapuu paikalle, hän löytää sen sijaan riehakkaat maalaistanssiaiset, jotka ovat maaseudulla tapahtuva parodia ja vastakohta Pietarin seurapiiritanssiaisille, joihin hän on kyllästynyt. Onegin on ärsyyntynyt vieraista, jotka juoruilevat hänestä ja Tatjanasta, sekä Lenskyyn, joka suostutteli hänet tulemaan. Hän päättää kostaa tanssimalla ja flirttailemalla Olgan kanssa. Olga on tunteeton sulhastaan kohtaan ja ilmeisesti ihastunut Oneginiin. Vilpitön ja kokematon Lenski haavoittuu sisimmässään ja haastaa Oneginin kaksintaisteluun; Onegin suostuu vastahakoisesti, sillä hän tuntee, että sosiaaliset käytännöt pakottavat hänet siihen. Kaksintaistelun aikana Onegin tappaa vastentahtoisesti Lenskin. Sen jälkeen hän jättää maalaiskartanonsa ja matkustaa ulkomaille turruttaakseen katumuksen tunteensa.Tatjana vierailee Oneginin kartanossa, jossa hän tutkii Oneginin kirjoja ja muistiinpanoja marginaaleihin ja alkaa pohtia, onko Oneginin hahmo vain kollaasi erilaisista kirjallisuuden sankareista ja eikö "oikeaa Oneginia" olekaan.Kuluu useita vuosia, ja tapahtumapaikka siirtyy Pietariin. Onegin on saapunut osallistumaan merkittävimpiin tanssiaisiin ja olemaan tekemisissä vanhan venäläisen yhteiskunnan johtajien kanssa. Hän näkee kauneimman naisen, joka vangitsee kaikkien huomion ja on keskeisessä asemassa yhteiskunnan pyörteissä, ja tajuaa, että kyseessä on sama Tatjana, jonka rakkauden hän oli aikoinaan torjunut. Nyt hän on naimisissa iäkkään ruhtinaan (kenraalin) kanssa. Nähdessään Tatjanan uudelleen hänellä on pakkomielle voittaa Tatjanan kiintymys, vaikka tämä on naimisissa. Hänen yrityksensä kuitenkin torjutaan. Hän kirjoittaa Tatjalle useita kirjeitä, mutta ei saa vastausta. Lopulta Onegin onnistuu tapaamaan Tatjanan ja esittää tälle mahdollisuuden karata vihdoin, kun he ovat tutustuneet uudelleen. Haluaako Tatjana Tatjana vain tämän varallisuuden ja aseman vuoksi? Tatjana muistelee päiviä, jolloin he olisivat voineet olla onnellisia, mutta se aika on mennyt. Onegin toistaa rakastavansa häntä. Hetken epäröivä nainen myöntää rakastavansa häntä yhä, mutta hän ei anna miehen pilata itseään, vaan julistaa päättäväisesti pysyvänsä uskollisena miehelleen. Hän jättää miehen katuen katkeraa kohtaloaan.

**Tulos**

Missä Onegin tapasi Tatjanan uudelleen?

**Tulos**

Kuka rakastuu Eugeneen?

**Tulos**

Miten Eugene kohteli Tatjanaa hyvin, kun tämä ilmaisi hänelle rakkautensa?

**Tulos**

Kenet Eugene näkee vuosia myöhemmin?

**Tulos**

Mitä mieltä Eugene on heitetyistä palloista?

**Tulos**

Keneltä Eugene perii tämän?

**Tulos**

Kenen kanssa Eugene alkaa flirttailla?

**Tulos**

Milloin tarina tapahtui?

**Tulos**

Kun Onegin ja Tatjana tapaavat henkilökohtaisesti, mitä neuvoja Onegin antaa Tatjanalle?

**Tulos**

Kun Lenski kutsuu Oneginin Tatjanan nimijuhliin, keitä hän sanoo kutsutun?

**Tulos**

Miksi Lenski haastoi Oneginin kaksintaisteluun?

**Tulos**

Miten Onegin tapaa Vladimir Lenskin?

**Tulos**

Miten Eugene Onegin sai rikkautensa?

**Tulos**

Kun Onegin pyytää Tatjanaa karkaamaan kanssaan, miksi Tatjana luulee, että Onegin yhtäkkiä rakastaa häntä?

**Tulos**

Missä Eugene Onegin asuu?

**Tulos**

Mitä Tatjana sai selville Oneginista vieraillessaan hänen maalaiskartanossaan?

**Tulos**

Mitä Eugene perii?

**Tulos**

Kenen kanssa Tatjana haluaa olla?

**Tulos**

Mitä Onegin oli saanut selville Tatjanasta?

**Tulos**

Kenen kanssa Onegin ärsyyntyy Tatjanan nimijuhlissa?

**Tulos**

Kun Onegin ja Tatjana tapaavat henkilökohtaisesti, minkä selityksen Onegin antaa Tatjanalle hylkäämiselleen?

**Tulos**

Kuka on Olga Larina?

**Tulos**

Miksi Lenski haastaa Oneginin kaksintaisteluun?

**Tulos**

Kuka kuolee kaksintaistelussa?

**Tulos**

Kuka on Lenskyn sulhanen?

**Tulos**

Kenen kanssa Tatjana oli naimisissa?

**Tulos**

Mitä Onegin peri sedältään?

**Tulos**

Mistä Eugene Onegin on kotoisin?

**Tulos**

Miten Onegin vietti suurimman osan ajastaan?

**Esimerkki 3.94**

Out of Time's Abyss on suora jatko-osa tarinoille The Land That Time Forgot ja The People That Time Forgot, ja se jatkaa aiemmissa tarinoissa alkanutta kadonneen maailman saagaa. Se yhdistää kaksi edellistä osaa toisiinsa ja tuo mukaan kummassakin osassa esitellyt hahmot. Burroughs saattaa päätökseen kadonneen maailman ainutlaatuisen biologisen järjestelmän paljastamisen, josta edellisessä osassa oli vain vihjailtu ja jossa evoluution hidas eteneminen ulkomaailmassa kerrotaan uudelleen yksilöllisenä metamorfoosina. Tämä järjestelmä muodostaa temaattisen elementin, joka toimii yhdistävänä tekijänä kolmessa muuten varsin löyhästi toisiinsa liittyvässä Caspak-tarinassa." Kirja alkaa Bradleystä, joka oli ensimmäisessä romaanissa lähtenyt Fort Dinosauriin tutkimusmatkalle eikä koskaan palannut. Bradley ja hänen seurueensa yrittävät palata Fort Dinosauriin. Matkan varrella he kohtaavat olennon, joka vaikuttaa lentävältä kuolleelta mieheltä. Osa seurueen jäsenistä pitää sitä aaveena tai bansheena. Tippet on vakuuttunut siitä, että hän kuolee pian, ja seuraavana päivänä Tyrannosaurus tappaa hänet. Aavemainen olento nähdään uudelleen, ja Smilodon tappaa Jamesin. Bradley katoaa yön aikana, ja loput seurueen jäsenet pääsevät turvallisesti Fort Dinosauriin. aavemainen olento oli vanginnut Bradleyn, joka paljastuu pian luonnostaan siivekkääksi ihmiseksi, joka kuuluu ihmiskunnan alaryhmään, joka tunnetaan nimellä Wieroo. Wieroo vie Bradleyn Oo-ohin saarelle, joka sijaitsee Caspakin sisämeressä. Se yrittää pitää Bradleyn vankilassa, mutta hän pakenee salakäytävää pitkin. Hän tapaa Co-Tanin, joka kuuluu Caspakin mantereen korkeimpaan ihmisrotuun, Galuihin, joka on täysin inhimillinen ja jonka kulttuuritaso on neoliittinen. He menevät Wieroo-kuninkaan, rodun valtavan jäsenen, kammioon, ja Bradley tappaa olennon sen omalla miekalla. co-Tan ja Bradley pakenevat Wieroo-kaupungista ja elävät useita kuukausia Oo-ohin metsäisellä rannikolla. Lopulta Wieroo kuitenkin löytää heidät. He onnistuvat vangitsemaan kaksi Wieroota ja pakottamaan ne lentämään mantereelle, yksi mukanaan kumpikin ihminen.Caspakian mantereella Co-Tan ja Bradley tapaavat kahden edellisen kirjan ulkomaailmasta tulleen seurueen, ja he palaavat kotiin Amerikkaan, jossa Bradley menee naimisiin Co-Tanin kanssa.

**Tulos**

Mihin ryhmään aavemainen olento kuuluu?

**Tulos**

Mikä on Bradleyn ja hänen seurueensa alkuperäinen määränpää tarinassa?

**Tulos**

Miten Bradley pääsee vankilasta?

**Tulos**

Kuka tappaa Wieroo-kuninkaan?

**Tulos**

Missä meressä Oo-ohin saari sijaitsee?

**Tulos**

Mitä Bradleyn ryhmän jäsenet uskovat siivekkään olennon olevan?

**Tulos**

Mihin ryhmään Co-Tan kuuluu?

**Tulos**

Missä Burroughsin romaaneista hän täydentää kadonneen maailman ainutlaatuisen biologisen järjestelmän paljastuksen?

**Tulos**

Mihin rotuun Co-Tam kuuluu?

**Tulos**

Kenet Bradley aikoo naida Amerikassa?

**Tulos**

Miten Bradley ja Co-Tan pääsevät takaisin mantereelle?

**Tulos**

Mikä on Co-Tanin rotu?

**Tulos**

Miten James tapetaan?

**Tulos**

Mitä Bradley aikoo tehdä palattuaan takaisin Amerikkaan?

**Tulos**

Keitä ovat Wieroo?

**Tulos**

Mikä eläin tappaa Tippetin?

**Tulos**

Mihin ihmiskunnan alaryhmään luonnostaan siivekäs ihminen kuuluu?

**Tulos**

Millä Bradley tappaa Wieroo-kuninkaan?

**Tulos**

Millä saarella Wieroo vie Bradleyn?

**Tulos**

Kuka oikein vakuuttaa itsensä omasta kuolemastaan tarinan alussa?

**Tulos**

Minne Bradley ja hänen seurueensa ovat matkalla tarinan alussa?

**Tulos**

Miten Bradley pakenee vankilasta?

**Tulos**

Miten Bradley ja Co-Tan pakenivat Oo-ohin metsästä?

**Tulos**

Kuka tappaa Jamesin?

**Tulos**

Millä aseella Bradley tappaa Wieroo Kingin?

**Tulos**

Mistä Tippet on vakuuttunut nähtyään lentävän kuolleen miehen?

**Tulos**

Kuinka monta Wieroota Bradley ja Co-Tan vangitsevat?

**Tulos**

Missä Co-Tan ja Bradley asuvat useita kuukausia Wieroo-kaupungista paettuaan?

**Tulos**

Millaiseksi osoittautuu olento, jota tarinan alussa luultiin aaveeksi ja bansheeksi?

**Tulos**

Miten Bradley tappaa Wieroo-kuninkaan?

**Esimerkki 3.95**

Kesällä 1962 San Fernandon laaksossa päähenkilö Scott "Scotty" Smalls muuttaa äitinsä ja isäpuolensa Billin kanssa uuteen kaupunkiin ja yrittää liittyä naapuruston baseball-joukkueeseen, joka pelaa paikallisella hiekkakentällä. Joukkueen kapteenin Benjamin Franklin Rodriguezin, jonka muut tuntevat Bennyksi, avulla Smallsista tulee taitava pelaaja. Smalls liittyy uusien ystäviensä Benny Rodriguezin, Hamilton "Ham" Porterin, Michael "Squints" Palledoruksen, Alan "Yeah-Yeah" McClennonin, Bertram Grover Weeksin, Kenny DeNunezin, Timmy Timmonsin ja Tommy "Repeat" Timmonsin joukkoon ja kokee monia vastoinkäymisiä, joihin kuuluu muun muassa porttikielto uima-altaaseen, pitkäaikaisen kilpailijan joukkueen voittaminen ja sairastuminen huvipuiston kyydissä.Sitten hän saa tietää, että monet joukkueen pesäpalloista ovat päätyneet herra Mertlen romuttamolle hiekkakentän taka-aidan taakse, jota suojelee jättiläiskoira nimeltä "Peto", jonka väitetään syöneen sinne menneen lapsen, joka on ollut tarpeeksi hölmö. Eräänä päivänä, kun Benny lyö joukkueen viimeisestä pallosta nahan pois, Smalls korvaa sen isäpuolensa arvokkaasta kokoelmasta. Kun tämäkin pallo häviää aidan yli, Smalls paljastaa, että pallo on erityinen. Joukkueen kauhuksi he saavat tietää, että pallossa on Babe Ruthin nimikirjoitus, mikä tekee siitä arvokkaan - jotain, mitä Smalls ei tiennyt ottaessaan pallon. Joukkue rakentaa yhä monimutkaisemman sarjan koneita saadakseen pallon takaisin etänä, mutta jokainen yritys epäonnistuu ja pallo itsessään vaurioituu yhä enemmän Pedon huomion vuoksi.Samalla kun Smalls valmistautuu saamaan isäpuoleltaan kurinpitoa signeeratun pesäpallon menettämisen vuoksi, Benny näkee unta, jossa Babe Ruth rohkaisee häntä seuraamaan sydäntään. Idolinsa innoittamana Benny kiipeää seuraavana päivänä aidan yli päättäen hakea pallon itse, mutta häntä kohtaa Peto, suuri englantilainen mastiffi. Pallon takaisin saatuaan Benny johdattaa Pedon pitkälliseen takaa-ajoon ympäri naapurustoa, joka päättyy hiekkakentän aidan sortumiseen, jolloin koira jää kiinni. Smalls ja Benny voittavat koiraa kohtaan tuntemansa pelon, vapauttavat Pedon ja palauttavat koiran omistajalleen, herra Mertlelle, joka paljastaa, ettei hän ollutkaan sellainen ihminen, jollaiseksi joukkue häntä luuli. Ymmärtäen Smallsin vaikean tilanteen nyt vaurioituneen pallon kanssa, herra Mertle paljastaa olevansa eläkkeellä oleva Negro League -pesäpalloilija, joka tunsi Babe Ruthin henkilökohtaisesti, ja tarjoaa Smallsille toisen pesäpallon, jonka on allekirjoittanut koko vuoden 1927 Yankees-joukkue, Ruth mukaan lukien. Smalls esittelee Murderers' Row'n signeeraaman pesäpallon isäpuolelleen, joka on vaikuttunut korvaavasta pallosta mutta silti vihainen siitä, että hän varasti ensimmäisen pallon. Smalls ei ole kovin pahoillaan, kun Bill antaa hänelle vain viikon pelikieltoa loppuelämän sijasta, ja heidän välinsä korjaantuvat.Hiekkakentällä asuvat lapset jatkavat baseballin pelaamista kesäisin, ja joukkueen maskottina toimii Peto, joka tunnetaan nyt oikealla nimellään Hercules.Lapset kasvavat lopulta aikuisiksi. Yeah-Yeah lähetetään sotilaskouluun, Bertram innostuu 60-luvusta eikä häntä enää koskaan nähdä, Timmystä ja Tommysta tulee arkkitehti ja urakoitsija, Squints menee naimisiin hengenpelastaja Wendyn kanssa, saa tämän kanssa yhdeksän lasta ja ryhtyy kaupungin apteekin omistajaksi, Hamista tulee ammattilaispainija, joka tunnetaan nimellä "The Great Hambino", Kenny pelaa Triple-A:ta (baseball), mutta ei pääse valioliigaan, ja Bennystä paljastuu, että hänestä on tullut tähtipelaaja MLB:ssä (ja hän ansaitsee lempinimen "The Jet"), kun taas Smallsista on tullut urheilujuontaja. Elokuva päättyy siihen, kun Benny juoksee nopeasti, varastaa kotipesän ja voittaa Los Angeles Dodgersin mestaruuden. Yleisö hurraa. Benny katsoo Smallsia kuuluttaja-aitiossa ja osoittaa hänelle peukkua ylöspäin, ja Smalls osoittaa myös Kennylle peukkua ylöspäin. Smalls hymyilee ja katsoo seinällä olevaa valokuvaa, jossa hän ja jengi seisovat yhdessä Sandlotissa.

**Tulos**

Mitä unta Bennyllä on?

**Tulos**

Mikä on Pedon oikea nimi?

**Tulos**

Minkä rotuinen peto on?

**Tulos**

Mihin suurin osa pesäpalloista on päätynyt?

**Tulos**

Minne Scotty Smalls muutti kesällä 1962?

**Tulos**

Minkälainen eläin suojelee herra Mertlen romuttamoa?

**Tulos**

Mitä erityistä Smallsin vaihtopallossa on?

**Tulos**

Kenestä tulee baseball-ammattilainen?

**Tulos**

Kenen kanssa Scotty muutti San Fernandon laaksoon vuonna 1962?

**Tulos**

Minkä kuuluisan baseball-pelaajan nimikirjoitus on yhdessä romuttamolle päätyneistä palloista?

**Tulos**

Kenen pallon Smalls ottaa sen jälkeen, kun Benny on lyönyt viimeisen pallon pois?

**Tulos**

Kuka on tarinan päähenkilö?

**Tulos**

Mikä koiraa nipistää?

**Tulos**

Mikä on eläin, joka suojelee herra Mertlen romuttamoa ?

**Tulos**

Kenen nimi oli kirjoitettu aidan yli kadonneeseen erikoispalloon?

**Tulos**

Mihin joukkueeseen Scotty halusi liittyä paikallisella hiekkakentällä vuonna 1962?

**Tulos**

Mistä pojat on kielletty?

**Tulos**

Mikä on "Peto"?

**Tulos**

Mihin monet Scottyn pesäpallot ovat eksyneet?

**Tulos**

Mikä on Smallsin rangaistus pallon menettämisestä?

**Tulos**

Mikä on Junkyardia suojelevan jättiläiskoiran lempinimi?

**Tulos**

Mikä ammatti Bennystä on tullut?

**Tulos**

Mikä on Mertlen ammatti?

**Tulos**

Mikä on romuttamoa vartioivan koiran oikea nimi?

**Tulos**

Kuka omistaa romuttamon?

**Tulos**

Kuka on joukkueen kapteeni hiekkakentällä?

**Tulos**

Minne Jee-Jee menee tarinan lopussa?

**Tulos**

Mikä on Scott Smallsin lempinimi?

**Tulos**

Mitä joukkue rakentaa saadakseen pallon takaisin?

**Tulos**

Kuka on allekirjoittanut pallon, joka korvaa hänen menettämänsä pallon?

**Esimerkki 3.96**

Kirja alkaa yhdeksänvuotiaan Philip Careyn rakastetun äidin Helen Careyn kuolemasta. Philipillä on puujalka, ja hänen isänsä oli kuollut muutamaa kuukautta aiemmin. Nyt hän on jäänyt orvoksi, ja hänet lähetetään asumaan Louisa-tätinsä ja William Carey-setänsä luokse.Ensimmäiset luvut kertovat Philipin kokemuksista setänsä pappilassa. Louisa-täti yrittää olla Philipille äiti, mutta setä suhtautuu häneen kylmän viileästi. Philipin sedällä on laaja kirjakokoelma, ja Philip nauttii lukemisesta löytääkseen keinoja paeta arkipäiväistä elämäänsä. Vajaa vuosi myöhemmin Philip lähetetään sisäoppilaitokseen. Hänen setänsä ja tätinsä toivovat, että hän pääsisi lopulta Oxfordiin. Philipin vamman ja herkän luonteen vuoksi hänen on vaikea sopeutua muiden oppilaiden joukkoon. Philipille kerrotaan, että hän olisi voinut saada stipendin Oxfordiin, mitä sekä hänen setänsä että koulun rehtori pitävät viisaana, mutta Philip vaatii lähtöä Saksaan.Saksassa Philip asuu täysihoitolassa muiden ulkomaalaisten kanssa. Hän nauttii oleskelustaan Saksassa. Philipin huoltajat päättävät ottaa asiat omiin käsiinsä ja suostuttelevat hänet muuttamaan Lontooseen oppisopimuskoulutukseen. Hän ei pärjää siellä hyvin, sillä työtoverit paheksuvat häntä, koska he pitävät häntä "herrasmiehenä". Hän lähtee erään johtajansa kanssa työmatkalle Pariisiin ja saa matkalta inspiraation opiskella taidetta Ranskassa. Ranskassa Philip osallistuu taidekursseille ja saa uusia ystäviä, muun muassa Fanny Pricen, köyhän ja päättäväisen mutta lahjaton taideopiskelijan, joka ei tule hyvin toimeen ihmisten kanssa. Fanny Price ihastuu Philipiin, mutta tämä ei tiedä eikä tunne häntä kohtaan mitään; Fanny Price tekee sittemmin itsemurhan, ja Philip tajuaa, ettei hänestä koskaan tule ammattitaiteilijaa. Hän palaa setänsä luokse Englantiin opiskelemaan lääketiedettä ja jatkamaan edesmenneen isänsä alaa. Hän kamppailee lääketieteellisessä ja törmää Mildrediin, joka työskentelee tarjoilijana teekaupassa. Hän rakastuu epätoivoisesti Mildrediin, ja he seurustelevat säännöllisesti, vaikka Mildred ei osoita minkäänlaista kiintymystä häntä kohtaan. Mildred kertoo Philipille menevänsä naimisiin toisen miehen kanssa, jolloin Philipin sydän murtuu; tämän jälkeen Philip aloittaa suhteen Norah Nesbitin kanssa, joka on ystävällinen ja herkkä romaanien kirjoittaja. Myöhemmin Mildred palaa takaisin raskaana ja tunnustaa, että mies, jonka vuoksi hän oli hylännyt Philipin, ei koskaan mennyt hänen kanssaan naimisiin. Philip katkaisee suhteensa Norahiin ja tukee Mildrediä taloudellisesti, vaikka hänellä ei ole siihen varaa. Philipin kauhuksi Mildred rakastuu vauvan synnyttyä Mildredin hyvään ystävään Harry Griffithsiin ja karkaa tämän kanssa. Noin vuotta myöhemmin Philip törmää Mildrediin uudelleen ja ottaa hänet jälleen luokseen, koska tuntee myötätuntoa tätä kohtaan. Vaikka hän ei enää rakasta Mildrediä, hän kiintyy tämän vauvaan. Kun Mildred torjuu Mildredin lähentelyt, Mildred suuttuu hänelle, tuhoaa suurimman osan Mildredin omaisuudesta ja lähtee lopullisesti. Philip lähtee häpeissään ja rahansa nopeasti loppuessa lopullisesti pois talosta. Hän tapaa Mildredin vielä kerran romaanin loppupuolella, kun tämä pyytää Mildrediltä tämän lääkärinlausuntoa. Koska Mildred sairastaa luultavasti kuppausta, joka on seurausta hänen työstään prostituoituna, Philip neuvoo Mildrediä luopumaan tästä elämästä. Mildred kieltäytyy ja poistuu juonesta, hänen kohtalonsa jää tuntemattomaksi. työskennellessään sairaalassa Philip ystävystyy perheenisä Thorpe Athelnyn kanssa. Athelny on asunut Espanjan Toledossa. Hän on innostunut maasta ja kääntää Ristin Johanneksen teoksia. Samaan aikaan Philip sijoittaa kaivoksiin, mutta jää lähes pennittömäksi buurisodan tapahtumien vuoksi. Koska hän ei pysty maksamaan vuokraansa, hän vaeltaa kaduilla useita päiviä, kunnes Athelnys ottaa hänet luokseen ja löytää hänelle tavaratalotyöpaikan, jota hän vihaa. Hänen piirustustaitonsa huomataan, ja hän saa ylennyksen ja palkankorotuksen, mutta hänen aikansa tavaratalossa jää lyhyeksi. Kun hänen William-setänsä kuolee, Philip perii tarpeeksi rahaa, jotta hän voi saattaa lääketieteen opinnot päätökseen, ja hänestä tulee lopulta laillistettu lääkäri. Philip ottaa väliaikaisen työpaikan sairaalassa tohtori Southin luona, vanhan, kärttyisän lääkärin luona, jonka vaimo on kuollut ja jonka tytär on katkaissut yhteyden häneen. Tohtori South kuitenkin ihastuu Philipin huumorintajuiseen ja sympaattiseen luonteeseen, ja lopulta hän tarjoaa Philipille kumppanuutta lääkärin vastaanotollaan. Vaikka Philip on imarreltu, hän kieltäytyy, koska hän aikoo matkustaa Espanjaan. Pian hän lähtee Athelnyjen kanssa pienelle kesälomalle, jossa hän poimii humalaa Kentin maaseudulla. Siellä hän huomaa, että yksi Athelnyn tyttäristä, Sally, pitää hänestä. Eräänä iltana he harrastavat seksiä romanttisen heittäytymisen hetkellä, ja kun tyttö luulee olevansa raskaana, Philip päättää naida Sallyn ja hyväksyä tohtori Southin tarjouksen sen sijaan, että hän matkustaisi maailmalla, kuten hän oli suunnitellut. He tapaavat Kansallisgalleriassa, jossa Philip menee kihloihin Sallyn kanssa, vaikka saa tietää, että kyseessä oli väärä hälytys, ja toteaa, että "yksinkertaisin malli, jossa ihminen syntyi, työskenteli, meni naimisiin, sai lapsia ja kuoli, oli myös kaikkein täydellisin". Hän lakkaa etsimästä onnea ja päättää tyytyä kohtaloonsa.

**Tulos**

Miten Filipin setä kohteli häntä?

**Tulos**

Miksi Fanny Price tekee itsemurhan?

**Tulos**

Kuka rakastuu Philipiin, mutta tekee lopulta itsemurhan?

**Tulos**

Minkä harrastuksen Phillip aloittaa tuodakseen jännitystä elämäänsä?

**Tulos**

Kun Phillip lähetetään sisäoppilaitokseen, miksi hänen on vaikea sopeutua kouluun?

**Tulos**

Mitä hänen työtoverinsa Lontoossa uskovat, että Philip on?

**Tulos**

Miten Mildred särkee Philipin sydämen?

**Tulos**

Kuka on tarinan ensimmäinen romanttinen hahmo?

**Tulos**

Kenen luokse Phillip lähetettiin asumaan äitinsä kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Mitä Mildred kertoi Phillipille, kun hän jätti Phillipin ensimmäisen kerran sydänsuruisena?

**Tulos**

Kun Philip asuu Saksassa, mihin häntä kannustetaan muuttamaan?

**Tulos**

Kenet Phillip lopulta nai?

**Tulos**

Miten Louisa-täti kohtelee Phillipiä?

**Tulos**

Miksi Philip aluksi hylkäsi tohtori Athelnyn kumppanuustarjouksen?

**Tulos**

Missä Phillip asuu Geramyssa ollessaan?

**Tulos**

Mistä elämäntavasta Phillip rohkaisee Mildrediä luopumaan?

**Tulos**

Missä maassa Philip tapaa Fanny Pricen?

**Tulos**

Mitä Phillip opiskelee palattuaan asumaan setänsä luokse?

**Tulos**

Mitä Norah tekee työkseen?

**Tulos**

Missä Philip tapasi Athelnyn?

**Tulos**

Miksi Phillip lopettaa suhteensa Norah Nesbitin kanssa?

**Tulos**

Mitä Philipin Williams-sedän perintö antaa hänelle mahdollisuuden tehdä loppuun?

**Tulos**

Kuinka vanha Philip on, kun hänen äitinsä kuolee?

**Tulos**

Mikä on Phillipsin ura?

**Tulos**

Kenen kanssa Mildred karkaa, kun hän saa lapsensa?

**Tulos**

Kenen kanssa Philip lopulta kihlautuu?

**Tulos**

Miksi Phillip päättää olla matkustamatta ympäri maailmaa?

**Tulos**

Kenen kanssa Mildred karkaa?

**Tulos**

Miksi Phillip menee asumaan tätinsä ja setänsä luokse?

**Tulos**

Miksi Mildred sairastui kuppaiseen?

**Esimerkki 3.97**

Katen ja John Colemanin (Vera Farmiga ja Peter Sarsgaard) avioliitto on vaikeuksissa, kun heidän kolmas lapsensa syntyy kuolleena. Menetys on erityisen raskas Katelle, joka on myös toipumassa alkoholismista. Pariskunta päättää adoptoida 9-vuotiaan venäläistytön Estherin (Isabelle Fuhrman) paikallisesta orpokodista. Katen ja Johnin kuuro tytär Max (Aryana Engineer) ottaa Estherin heti avosylin vastaan, mutta heidän poikansa Daniel (Jimmy Bennett) ei ole yhtä vastaanottavainen. Kate epäilee, että Estherin taustassa saattaa olla ongelmia, kun Estherin tietämys seksistä ulottuu ikäistään laajemmalle. Epäilyt syvenevät, kun Esther satuttaa toista tyttöä, joka oli kiusannut häntä koulussa. kate huolestuu entisestään, kun orpokodin johtaja sisar Abigail (C. C. H. Pounder) varoittaa häntä siitä, että Estherin seurassa tapahtuu pahoja asioita. Esther kuulee tämän ja suunnittelee Maxin avulla harhauttavansa sisar Abigailia ja sitten tappavansa hänet. Esther työntää Maxin sisar Abigailin auton tielle ja pakottaa tämän väistämään tieltä. Sitten Esther tappaa sisar Abigailin vasaralla ja pakottaa Maxin auttamaan häntä piilottamaan aseen heidän puumajassaan. Kate on vakuuttunut siitä, että Estherissä on jotain pahasti vialla, mutta John ei usko häntä. Kate löytää Estherin kätkemän Raamatun ja saa selville, että se on peräisin Virossa sijaitsevasta Saarne-instituutista, mielisairaalasta. Hän lähettää heille sähköpostitse kuvan Estheristä ja pyytää lisätietoja. kun Daniel saa tietää sisar Abigailin kuolemasta, hän kertoo Maxille suunnitelmastaan hakea vasara takaisin todistaakseen Estherin syyllisyyden. Esther kuulee tämän ja kohtaa Danielin puumajassa ja sytyttää sen sitten tuleen tappaakseen hänet ja tuhotakseen todisteet. Daniel putoaa puusta yrittäessään paeta ja menettää tajuntansa. Esther yrittää tappaa hänet, mutta Max pysäyttää hänet. Kun Daniel on sairaalahoidossa, Esther livahtaa hänen huoneeseensa ja tukehduttaa hänet tyynyllä, jolloin hänen sydämensä pysähtyy; lääkärit elvyttävät hänet nopeasti. Kate tajuaa, mitä tapahtui, ja hyökkää Estherin kimppuun, mutta hänet pidätetään ja rauhoitetaan.Sinä yönä provosoivasti pukeutunut Esther yrittää vietellä humalaisen Johnin, joka lopulta tajuaa, että Kate oli oikeassa. Hän kertoo Estherille, että hänen tulevaisuutensa Colemanien kanssa on vaakalaudalla, mikä järkyttää Estheriä. Kate saa puhelun Saarne-instituutin johtajalta tohtori V ravalta (Karel Roden), joka paljastaa, että Esther on itse asiassa 33-vuotias Leena Klammer -niminen nainen, jolla on hypopituitarismi, hormonihäiriö, joka on hidastanut hänen fyysistä kasvuaan, ja että hän on viettänyt suurimman osan elämästään esiintymällä pikkutyttönä ja antamalla ihmisten adoptoida hänet tavoitteenaan viettiä isä ja solmia seksisuhde tämän kanssa. Lääkärin mukaan Leena on murhannut ainakin seitsemän ihmistä. Edellisen perheen, johon hänet adoptoitiin, hän tappoi, koska isä oli torjunut hänen seksuaaliset lähentelyt. Kate yrittää päästä takaisin kotiin pysäyttääkseen Estherin ja estääkseen perheensä kärsimästä samaa kohtaloa. Leena saa raivokohtauksen, kun John on torjunut hänet, ja penkoo hänen huoneensa, poistaa "pikkutyttö"-meikin ja paljastaa pakkopaidan arvet ja ränsistyneen ihon.Leena puukottaa ja tappaa Johnin. Max näkee tämän ja piiloutuu. Kate ryntää kotiin ja löytää Johnin kuolleena. Leena hakee Johnin kassakaapista aseen ja ampuu Katea käsivarteen. Kate onnistuu ottamaan aseen ja pakenemaan Maxin kanssa. Leena löytää Katen ja Maxin jäätyneen lammen läheltä. Hän syöksyy Katen kimppuun ja heittää molemmat jäähän. Kate kiipeää osittain ulos lammesta; Leena, joka palaa "Esther"-persoonaansa, rukoilee Katea olemaan antamatta hänen kuolla piilottaen veitsen selkänsä taakse. Kate tappaa Leenan potkaisemalla häntä kasvoihin, jolloin hänen niskansa murtuu. Poliisi kohtaa Maxin ja Katen hetkeä myöhemmin.

**Tulos**

Mitä tohtori Varava paljastaa Esteristä?

**Tulos**

Mikä on Saarne-instituutti?

**Tulos**

Kuka adoptoitiin orpokodista yhdeksänvuotiaana?

**Tulos**

Mikä vamma Maxia vaivaa?

**Tulos**

Minne Kate ja Max päätyvät pakenemisen jälkeen?

**Tulos**

Kuka on Ester?

**Tulos**

Mitä sairautta Kate sairastaa?

**Tulos**

Miten Ester yrittää tappaa Danielin toisen kerran?

**Tulos**

Miksi Esther sytyttää puumajan tuleen?

**Tulos**

Miksi Katella ja Johnilla on avio-ongelmia?

**Tulos**

Mikä on Estherin oikea nimi?

**Tulos**

Kuka on puumajassa, kun se sytytetään tuleen?

**Tulos**

Mitä sisar Abigail kertoo Katelle?

**Tulos**

Mikä on Estherin todellinen ikä?

**Tulos**

Miksi Esther tappaa sisar Abigailin?

**Tulos**

Mitä Kate saa selville Esterin raamatusta?

**Tulos**

Mistä riippuvuudesta Kate on toipumassa?

**Tulos**

Kuinka vanha Estherin on todettu olevan?

**Tulos**

Mikä on Estherin hormonihäiriön nimi?

**Tulos**

Miten Esther/Leena kuolee?

**Tulos**

Kuka on Esther, kun Colemanit tapaavat hänet ensimmäisen kerran?

**Tulos**

Miten Esther yrittää tappaa Danielin sairaalassa?

**Tulos**

Mitä John poistaa Leenan meikin?

**Tulos**

Ketä Esther yrittää vietellä?

**Tulos**

Mitä sisar Abigail tekee, minkä vuoksi Esther haluaa tappaa hänet?

**Tulos**

Miten Daniel suhtautuu aluksi Esteriin?

**Tulos**

Mikä on Colemanin avio-ongelmien yllyttävä syy?

**Tulos**

Mihin Esther ja Max piilottavat vasaran?

**Esimerkki 3.98**

FBI-harjoittelija Clarice Starling joutuu FBI-akatemiassa Quanticossa, Virginiassa, FBI:n käyttäytymistieteellisen yksikön Jack Crawfordin johdolla pois koulutuksesta. Hän antaa hänelle tehtäväksi haastatella Hannibal Lecteriä, entistä psykiatria ja vangittua kannibalistista sarjamurhaajaa, jonka oivalluksista voisi olla hyötyä "Buffalo Bill" -nimistä sarjamurhaajaa jahdattaessa, sillä hän nylkee naisuhriensa ruumiit.Starling matkustaa Baltimoren osavaltion mielisairaalaan, jossa Frederick Chilton johdattaa hänet Lecterin eristyshuoneeseen. Vaikka Lecter on aluksi miellyttävä ja kohtelias, hän käy kärsimättömäksi Starlingin yrityksiin "leikellä" häntä ja torjuu hänet. Kun Starlinger on lähdössä, yksi vangeista heittää siemennestettä hänen päälleen. Lecter, joka pitää tätä tekoa "sanoinkuvaamattoman rumana", kutsuu Starlingin takaisin ja kehottaa häntä etsimään erään vanhan potilaansa. Tämä johdattaa hänet varastoon, jossa hän löytää miehen irtileikatun pään, jonka kurkkuun on juuttunut sfinksin koi. Hän palaa Lecterin luo, joka kertoo, että mies liittyy Buffalo Billiin. Hän tarjoutuu profiloimaan Buffalo Billin sillä ehdolla, että tämä siirretään pois Chiltonin luota, jota hän inhoaa.Buffalo Bill sieppaa Yhdysvaltain senaattorin tyttären, Catherine Martinin. Crawford valtuuttaa Starlingin tarjoamaan Lecterille tekaistua sopimusta, jossa luvataan vankilasiirto, jos hän antaa tietoja, jotka auttavat löytämään Buffalo Billin ja pelastamaan Catherinen. Sen sijaan Lecter vaatii Starlingilta vastapalvelusta tarjoamalla vihjeitä Buffalo Billistä vastineeksi henkilökohtaisista tiedoista. Starling kertoo Lecterille isänsä murhasta, kun hän oli kymmenenvuotias. Chilton nauhoittaa keskustelun salaa ja paljastaa Starlingin petoksen ennen kuin tarjoaa Lecterille Chiltonin itse tekemää sopimusta. Lecter suostuu ja hänet lennätetään Memphisiin, Tennesseehen, jossa hän kiusaa sanallisesti senaattori Ruth Martinia ja antaa tälle harhaanjohtavia tietoja Buffalo Billistä, mukaan lukien nimen "Louis Friend". starling huomaa, että "Louis Friend" on anagrammi sanasta "iron sulfide", hölmöläisen kulta. Hän vierailee Lecterin luona, jota pidetään nyt Tennesseen oikeustalossa häkkimäisessä sellissä, ja pyytää totuutta. Lecter kertoo hänelle, että kaikki hänen tarvitsemansa tiedot löytyvät jutun kansiosta. Sen sijaan, että Lecter antaisi hänelle oikean nimen, hän vaatii, että he jatkavat vastapalvelusta, ja Lecter kertoo lapsuuden traumaattisesta tapahtumasta, jossa hän heräsi kevätlampaiden teurastuksen ääneen sukulaisensa maatilalla Montanassa. Starling myöntää, että hän herää yhä joskus luulemaan kuulevansa karitsojen huutoa, ja Lecter arvelee, että hänellä on motivaatio pelastaa Catherine siinä toivossa, että se lopettaisi painajaiset. Lecter antaa Starlingille takaisin Buffalo Billiä koskevat kansiot sen jälkeen, kun Chilton ja poliisi keskeyttävät heidän keskustelunsa ja saattavat Starlingin ulos rakennuksesta. Myöhemmin samana iltana Lecter tappaa vartijansa, pakenee sellistään ja katoaa. starling analysoi Lecterin merkintöjä tapausasiakirjoihin ja tajuaa, että Buffalo Bill tunsi ensimmäisen uhrinsa henkilökohtaisesti. Starling matkustaa uhrin kotikaupunkiin ja saa selville, että Buffalo Bill oli räätäli, jonka puvut ja pukumallit olivat identtisiä jokaisesta uhrista poistettujen ihopalojen kanssa. Hän soittaa Crawfordille kertoakseen, että Buffalo Bill yrittää muokata "naispukua" oikeasta ihosta, mutta Crawford on jo matkalla tekemään pidätystä, kun hän on vertaillut Lecterin muistiinpanoja sairaalan arkistoihin ja löytänyt Jame Gumb -nimisen miehen, joka aikoinaan haki tuloksetta sukupuolenvaihdosleikkausta. Starling jatkaa Buffalo Billin ensimmäisen uhrin ystävien haastattelua Ohiossa, kun taas Crawford johtaa FBI:n taktisen ryhmän Gumbin osoitteeseen Illinoisissa. Illinoisin talo on tyhjä, ja Starling johdatetaan "Jack Gordonin" talolle, josta hän taas sfinksikoiraa löytämällä tajuaa, että kyseessä on oikeasti Jame Gumb. Hän jahtaa miestä tämän monihuoneiseen kellariin, jossa hän huomaa, että Catherine on yhä elossa, mutta loukussa kuivuneessa kaivossa. Sammutettuaan kellarin valot Gumb väijyy Starlingia pimeässä yönäkölasien avulla, mutta paljastaa sijaintinsa, kun hän laukaisee revolverinsa. Starling reagoi juuri ajoissa ja ampuu kaikki luodit Gumbia kohti tappaen hänet. jonkin aikaa myöhemmin, FBI-akatemiansa valmistujaisjuhlissa, Starling saa puhelun Lecteriltä, joka on Biminin lentokentällä. Hän vakuuttaa, ettei aio jahdata häntä, ja pyytää häntä tekemään vastapalveluksen, mihin hän sanoo, ettei voi suostua. Sitten Lecter sulkee puhelimen ja sanoo, että hänellä on "vanha ystävä illallisella", ja alkaa seurata juuri saapunutta Chiltonia ennen kuin katoaa väkijoukkoon.

**Tulos**

Mistä Hannibal Lecter on ollut vangittuna?

**Tulos**

Mikä ääni piinaa Claricen unia?

**Tulos**

Mistä Buffalo Bill yrittää tehdä puvun?

**Tulos**

Mistä koulutusohjelmasta Clarice vedetään pois tarinan alussa?

**Tulos**

Minne Hannibal siirretään?

**Tulos**

Missä Hannibal Lecter on vangittuna?

**Tulos**

Mitä "Buffalo Bill" tekee naisuhreille?

**Tulos**

Miksi FBI haluaa haastatella Hannibal Lecteriä?

**Tulos**

Mitä toinen vanki heittää Claricelle sairaalassa?

**Tulos**

Mihin sairaalaan Clarice matkustaa?

**Tulos**

Kenen isä murhattiin?

**Tulos**

Kenet Buffalo Bill sieppaa?

**Tulos**

Minne Lecter suostuu heittäytymään?

**Tulos**

Ketä Claricen on määrä haastatella?

**Tulos**

Millä välineellä Gumb väijyy Starlingia?

**Tulos**

Mikä oli Hannibalin entinen ammatti?

**Tulos**

Mikä on Buffalo Billin oikea nimi?

**Tulos**

Mikä on Clarice Starlingin ammatti?

**Tulos**

Mitä Clarice saa selville nimestä "Louis Friends"?

**Tulos**

Mitä eräs vanki väläyttää Claricelle tämän poistuessa sairaalasta?

**Tulos**

Mikä oli sen miehen nimi, joka haki epäonnistuneesti sukupuolenvaihdosleikkausta?

**Tulos**

Mitä Hannibal pyytää vastineeksi Claricen auttamisesta?

**Tulos**

Ketä Clarice Starling lähetetään haastattelemaan?

**Tulos**

Minkä tehtävän Clarice saa Claricen pomolta?

**Tulos**

Mikä on sen sarjamurhaajan nimi, jonka nappaamisessa Hannibal Lecter voisi auttaa?

**Tulos**

Mitä traumaattista Clarice muistelee joskus nukkuessaan?

**Tulos**

Mitä Hannibal vaatii tyypillisen haastattelun sijaan?

**Tulos**

Mikä paljastaa Jamen, kun hän väijyy Claricea?

**Tulos**

Mitä Buffalo Bill tekee uhreilleen?

**Esimerkki 3.99**

Elokuva alkaa ruudulla olevalla tekstillä, jossa sanotaan: "Tosi tarina". On elokuu 1941, ja natsien Einsatz-Gruppen (erikoisjoukot) pyyhkäisevät läpi Itä-Euroopan ja tappavat järjestelmällisesti juutalaisia. Niiden eloonjääneiden joukossa, joita ei ole tapettu tai joita ei ole suljettu ghettoihin, ovat puolanjuutalaiset Bielskin veljekset: Tuvia (Daniel Craig), Zus (Liev Schreiber), Asael (Jamie Bell) ja Aron (George MacKay). Heidän vanhempansa ovat kuolleet, paikallinen poliisi on tappanut heidät miehittävien saksalaisten käskystä. Veljekset pakenevat Nalibokin metsään ja vannovat kostavansa vanhempiensa puolesta. he kohtaavat metsässä piileskeleviä juutalaisia pakolaisia, jotka veljekset ottavat suojelukseensa ja johtajakseen. Seuraavan vuoden aikana he antavat suojaa yhä useammalle pakolaiselle, ryöstävät paikallisia maatiloja saadakseen ruokaa ja tarvikkeita ja siirtävät leiriään aina, kun yhteistyöhön osallistuva poliisi löytää heidät. Tuvia tappaa paikallisen apupoliisin päällikön, joka on vastuussa hänen vanhempiensa kuolemasta, ja veljekset järjestävät iskuja saksalaisia ja heidän yhteistyökumppaneitaan vastaan. Juutalaisten tappiot saavat Tuvian kuitenkin harkitsemaan uudelleen tätä lähestymistapaa, koska siitä aiheutuu riski piileskeleville juutalaisille. Kahden vanhimman veljeksen, Tuvian ja Zusin, pitkäaikainen sisaruskilpailu lietsoo heidän välilleen erimielisyyttä tulevaisuudestaan: talven lähestyessä Zus päättää jättää veljensä ja leirin ja liittyä paikalliseen neuvostoliittolaisten partisaanien komppaniaan, kun taas hänen vanhempi veljensä Tuvia jää leirille leirin johtajaksi. Näiden kahden ryhmän välillä tehdään sopimus, jossa neuvostopartisaanit suostuvat suojelemaan juutalaisleiriä tarvikkeita vastaan.Sairauksien, nälänhädän, petosyritysten ja jatkuvan piileskelyn sävyttämän talven jälkeen leiri saa tietää, että saksalaiset ovat hyökkäämässä heihin voimalla. Neuvostoliittolaiset kieltäytyvät auttamasta heitä, ja he evakuoivat leirin saksalaisten syöksypommittajien iskiessä. Asaelin johtama viivytysjoukko jää jäljelle hidastamaan saksalaisten maajoukkoja. Puolustus ei kestä kauaa; vain Asael ja leiriläinen Sofiya selviytyvät ja palaavat muun ryhmän luo, joka metsän reunalla kohtaa läpipääsemättömältä vaikuttavan suon. He ylittävät suon vain yhdellä tappiolla, mutta saksalaisjoukkue hyökkää välittömästi kimppuunsa Panzer III -jalkaväkipanssarivaunun tukemana. Juuri kun kaikki näyttää olevan menetetty, saksalaisia vastaan hyökkää takaa Zusin johtama partisaanijoukko, joka on ilmeisesti hylännyt neuvostoliittolaisen perääntymispaikan liittyäkseen ryhmään.Kun eloonjääneet pakenevat metsään, elokuva päättyy, kun ruudulla oleva teksti kertoo, että he elivät metsässä vielä kaksi vuotta, rakensivat sairaalan, lastentarhan ja koulun ja kasvoivat lopulta yhteensä 1200 juutalaiseksi. Elokuvassa näytetään alkuperäisiä valokuvia tosielämän henkilöistä, mukaan lukien Tuvia Puolan armeijan univormussaan, ja kerrotaan heidän lopullisesta kohtalostaan: Asael liittyi Neuvostoliiton armeijaan ja kaatui pian taistelussa, eikä koskaan saanut nähdä isänsä lasta; Tuvia, Zus ja Aron selvisivät sodasta ja muuttivat Amerikkaan perustamaan menestyksekkään kuorma-autoyrityksen New Yorkiin. Jälkisanoissa todetaan myös, että Bielskin veljekset eivät koskaan hakeneet tunnustusta tekemisistään ja että heidän pelastamiensa ihmisten jälkeläisiä on nykyään kymmeniä tuhansia.

**Tulos**

Kuka Bielskin veljeksistä haki tunnustusta teoistaan?

**Tulos**

Miten juutalaiset leiripakolaiset ruokkivat itsensä?

**Tulos**

Miten veljekset selvisivät saksalaisten hyökkäyksestä sen jälkeen, kun he olivat ylittäneet suon?

**Tulos**

Mihin vuoteen tämä sijoittuu?

**Tulos**

Kenet Tuvia tappaa?

**Tulos**

Miksi veljekset pakenivat Nalibokin metsään?

**Tulos**

Kenen seuraan Zus liittyy lähtiessään juutalaisleiriltä?

**Tulos**

Kuinka suuri ryhmästä tuli?

**Tulos**

Mitä Einsatz-Gruppen on?

**Tulos**

Mitä alkutekstissä lukee?

**Tulos**

Minkä veljen kanssa Tuvialla on sisaruskilpailu?

**Tulos**

Kuinka monta ihmistä on juutalaisten pakolaisleirin jäseniä, kun he lopulta lähtevät metsästä?

**Tulos**

Mikä maa kieltäytyy talvella auttamasta, kun saksalaisten hyökkäys on havaittu?

**Tulos**

Mitä kansallisuutta Bielskin veljekset ovat?

**Tulos**

Minkä yrityksen Tuvia, Zus ja Aron perustavat New Yorkiin muutettuaan?

**Tulos**

Kuka veljistä tappaa paikallisen apupoliisin päällikön, joka on vastuussa heidän vanhempiensa kuolemasta?

**Tulos**

Miksi Zus lähti leiriltä liittyäkseen neuvostoliittolaisiin?

**Tulos**

Minkä ammatin Bielskin veljekset harjoittavat sodan päätyttyä ja Amerikkaan muuton jälkeen?

**Tulos**

Kuka tappoi eloonjääneiden vanhemmat?

**Tulos**

Kuinka kauan eloonjääneet elivät metsässä?

**Tulos**

Kuinka kauan juutalaiset viipyivät metsässä tarinan tapahtumien jälkeen?

**Tulos**

Missä ovat Bielskin veljesten vanhemmat?

**Tulos**

Miksi veljekset lopettivat hyökkäykset saksalaisia ja heidän yhteistyökumppaneitaan vastaan?

**Tulos**

Mikä on Asaelin lopullinen kohtalo?

**Tulos**

Miksi Asael ei saanut nähdä lastaan?

**Tulos**

Miten juutalaisleiri sai ruokaa ja tarvikkeita?

**Tulos**

Kuka määräsi heidän vanhempansa tapettaviksi?

**Tulos**

Miksi Neuvostoliiton partisaanit suostuvat suojelemaan juutalaisten pakolaisleiriä?

**Tulos**

Kuinka monta Bielskin veljestä on olemassa?

**Tulos**

Miksi Neuvostoliiton partisaanit suostuivat alun perin suojelemaan juutalaisleiriä?

**Esimerkki 3.100**

Samanniminen sankaritar, Isabel Thorne, on nuori nainen, puoliksi britti, puoliksi italialainen, joka työskentelee Italian salaisessa palvelussa. Hänen tehtävänään on saada aikaan vihollisen pääkaupungissa salaisen sopimuksen allekirjoittaminen kaikkien asianomaisten maiden, sekä eurooppalaisten että amerikkalaisten, edustajien kesken. Hänen veljensä, keksijä, on keksinyt salaisen aseen, jolla voidaan laukaista ohjuksia sukellusveneistä (ks. myös syvyyspommi) ja jonka toivotaan varmistavan sotilaallisen ylivallan muuhun maailmaan nähden.Yhdysvaltain salaisen palvelun jäsenet, jotka on hälytetty paikalle, saavat tehtäväkseen estää tämän "latinankielisen sopimuksen" allekirjoittamisen ja saattaa oikeuden eteen ne asianosaiset, joilla ei ole diplomaattista koskemattomuutta. Eräs nuori edustaja nimeltä Grimm kuitenkin rakastuu, vaikka onkin ehdottoman lojaali hallitukselleen, kauniiseen ulkomaiseen agenttiin Thorneen. lopulta Thorne, joka vastaa ihailijansa rakkauteen, vieraantuu työnantajastaan, Italian hallituksesta, koska hän ei halua, että salaliittolaisten vangiksi joutunut ja kaikki salaisuudet tunteva Grimm murhataan. Kaikesta vallastaan ja omaisuudestaan riistetty Isabel yhdistyy romaanin lopussa Isabelin kanssa, eikä hän ole enää vaikeasti tavoitettavissa.Aikansa triviaalina romaanina tunnettu Elusive Isabel on nykyään yleisesti saatavilla.

**Tulos**

Mikä on latinankielinen kompakti?

**Tulos**

Mitä salaisen palvelun jäsenet yrittävät estää?

**Tulos**

Mitä Grimmille on tapahtunut?

**Tulos**

Kenen kanssa Thorne yhdistyy tarinan lopussa?

**Tulos**

Miksi Thorne vieraantuu Italian hallituksesta?

**Tulos**

Mitä hänen veljensä keksi?

**Tulos**

Mille hallitukselle Thorne työskentelee?

**Tulos**

Mikä on Isabelin veljen luoman aseen tarkoitus?

**Tulos**

Kenelle Thorne työskentelee?

**Tulos**

Mikä on tämän salaisen aseen tavoite?

**Tulos**

Mitä Grimmille tapahtui?

**Tulos**

Milloin Grimm tapaa Isabelin?

**Tulos**

Keneen Grimm rakastuu?

**Tulos**

Kuka yrittää estää tämän sopimuksen allekirjoittamisen?

**Tulos**

Minkälainen perintö Thorne on?

**Tulos**

Millä osastolla Isabel Thorne työskentelee?

**Tulos**

Mikä oli Thornen veljen kehittämän salaisen aseen tarkoitus?

**Tulos**

Kuka on sankaritar?

**Tulos**

Mitä Isabel Thornelle tapahtuu romaanin lopussa?

**Tulos**

Mitä Isabelin veli tekee työkseen?

**Tulos**

Yhdysvaltain salainen palvelu yritti tuoda oikeutta kenelle?

**Tulos**

Miksi Isabel Thorne irrottautuu hallituksestaan?

**Tulos**

Miten tarinassa viitataan salaiseen sopimukseen, jossa Isabel on mukana?

**Tulos**

Mitä hänen työtehtävänsä edellyttävät häneltä?

**Tulos**

Mikä oli sen sopimuksen nimi, jonka parissa Thorne työskenteli?

**Tulos**

Minkä ammatin Thornen veli on?

**Tulos**

Mikä on Isabel Thornen etninen alkuperä?

**Tulos**

Keneen Isabel rakastuu tarinassa?

**Tulos**

Kenelle Isabel Thorne työskentelee?

**Tulos**

Miksi Isabel jättää Italian salaisen palvelun?

**Tulos**

Millainen ammatti hänen veljellään on?

**Tulos**

Mitä Thornen veli keksi?

**Tulos**

Kuka rakastuu Thorneen?

**Tulos**

Minkä etnisen alkuperän Isabel Thorne on?

**Tulos**

Minkä organisaation palveluksessa Grimm tarinan mukaan työskenteli?

**Tulos**

Missä Isabel työskentelee?

**Tulos**

Kuka kehitti salaisen aseen ?

**Tulos**

Yhdysvaltain salainen palvelu yritti estää mitä?

**Tulos**

Mistä edustajien odotetaan jutun mukaan allekirjoittavan salaisen sopimuksen?

**Tulos**

Mistä maista Isabelin vanhemmat ovat tarinan mukaan kotoisin?

**Esimerkki 3.101**

Näytelmä alkaa Theban palatsin edessä, ja Dionysos kertoo tarinansa alkuperästään ja syistä, joiden vuoksi hän on tullut kaupunkiin. Dionysos kertoo, että hän syntyi ennenaikaisesti, kun Hera sai Zeuksen lähettämään salaman, joka tappoi raskaana olleen Semelen ja aiheutti synnytyksen. Hän toteaa, että jotkut Thebassa eivät usko tätä tarinaa. Itse asiassa Semelen sisaret Autonoe, Agave ja Ino väittävät, että se on valhe, jonka tarkoituksena on peittää se tosiasia, että Semele tuli raskaaksi jollekin kuolevaiselle; heidän mukaansa Zeuksen salama oli rangaistus valheesta. Dionysos paljastaa ajaneensa kaupungin naiset hulluiksi, myös kolme tätiään, ja johdattaneensa heidät vuorille seuraamaan rituaalisia juhliaan. Hän selittää, että vaikka hän esiintyy tällä hetkellä kuolevaiseksi naamioituneena, hän aikoo oikeuttaa äitinsä esiintymällä koko Theban edessä jumalana, Zeuksen poikana, ja perustamalla pysyvän kannattajakultin. dionysos poistuu vuorille, ja kuoro astuu sisään. He tanssivat ja laulavat, juhlivat Dionysosta ja lisäävät yksityiskohtia hänen syntymästään ja dionyysisistä rituaaleista. Sitten ilmestyy Tiresias, sokea ja iäkäs näkijä. Hän koputtaa palatsin oveen ja kutsuu Kadmuksen, Theban perustajan ja entisen kuninkaan. Nämä kaksi kunnianarvoisaa vanhaa miestä aikovat liittyä vuorilla pidettäviin juhliin, kun Kadmuksen pojanpoika Pentheus, nykyinen kuningas, astuu sisään. Kun hän näkee kahden vanhan miehen juhlapuvuissa, hän paheksuu heitä ja käskee sotilaitaan pidättämään kaikki dionyysiseen jumalanpalvelukseen osallistuvat. Hän haluaa, että "ulkomaalainen", jota hän ei tunnista valepukuiseksi Dionysokseksi, vangitaan. Pentheus aikoo kivittää hänet kuoliaaksi, mutta vartijat palaavat pian itse Dionysoksen kanssa. Hänen kätensä on sidottu, ja hän on naamioitunut papiksi ja Aasian maenadien johtajaksi. Pentheus kuulustelee häntä, ja hänen sanoistaan käy ilmi sekä hänen skeptisyytensä että hänen kiinnostuksensa dionyysisiä riittejä kohtaan. Dionysoksen vastaukset pitävät merkityksen piilossa ja vihjaavat vain totuudesta, jota Pentheus ei voi nähdä. Raivostuneena Pentheus käskee viedä hänet kahleissa ja lukita talliinsa, jossa vartijat kiinnittävät vangin kahleiden toisen pään vihaisen sonnin sorkkaan. Dionysos, joka on jumala ja voimakas, vapautuu ja aiheuttaa lisää tuhoa tuhoamalla palatsin maanjäristyksellä ja tulella. Dionysos on kohtaamassa Pentheuksen, kun paikalle saapuu paimen Kithaeron-vuoren huipulta, jossa hän oli paimentanut karjaansa. Hän kertoo havainneensa vuorella naisia, jotka käyttäytyivät oudosti. Ensinnäkin jotkut nukkuivat hiljaa tai joivat viiniä kuunnellen huilumusiikkia. Jotkut menivät metsään "rakkauden perässä". Jotkut naiset laittoivat käärmeitä hiuksiinsa, jotkut imettivät villejä susia ja gaselleja. Jotkut saivat veden, viinin tai maidon nousemaan maasta. Erään naisen tyrskystä tihkui hunajaa. Paimentolaiset ja paimenet tekivät suunnitelman, jonka tarkoituksena oli vangita yksi tietty juhlija, Pentheuksen äiti. Mutta kun he hyppäsivät piilostaan nappaamaan häntä, asetelma kääntyi, ja naiset ajoivat miehiä takaa. Miehet pääsivät pakoon, mutta heidän karjansa ei ollut yhtä onnekas, sillä naiset syöksyivät eläinten kimppuun ja repivät ne paljain käsin kappaleiksi. Naiset jatkoivat matkaa ja ryöstivät kaksi kylää, jotka sijaitsivat kauempana vuorta alempana, varastamalla pronssia, rautaa ja jopa vauvoja. Kun kyläläiset yrittivät taistella vastaan, naiset ajoivat heidät pois käyttäen vain seremoniallisia fenkolista tehtyjä sauvojaan. Sitten he palasivat vuorenhuipulle ja peseytyivät, kun käärmeet nuolivat heidät puhtaiksi. Dionysos, joka oli yhä naamioituneena, suostutteli Pentheuksen luopumaan suunnitelmastaan kukistaa naiset ja teurastaa heidät aseellisella joukolla. Hän sanoo, että olisi parempi ensin vakoilla heitä naamioituneena naispuoliseksi maenadiksi välttääkseen paljastumisen. Dionysos pukee Pentheuksen naiseksi, antaa hänelle tyrskyn ja hirvennahat ja johdattaa hänet ulos talosta. Tässä vaiheessa Pentheus ei näytä olevan täysin järjissään, sillä hän luulee näkevänsä taivaalla kaksi aurinkoa ja uskoo, että hänellä on nyt voimaa repiä vuoria paljain käsin. Hän on myös alkanut nähdä Dionysoksen kuolevaisen valepuvun läpi, sillä hän näkee jumalan päästä lähtevät sarvet. He lähtevät pois.Eräs sanansaattaja saapuu kertomaan, että kun he olivat päässeet Cithaeron-vuorelle, Pentheus halusi kiivetä ikivihreään puuhun saadakseen paremman näköalan, ja muukalainen käytti jumalallista voimaa taivuttaakseen korkean puun alas ja asettaakseen kuninkaan sen korkeimpiin oksiin. Sitten Dionysos, joka paljasti itsensä, huusi seuraajilleen ja osoitti puuhun istuvan miehen. Tämä sai maenadit villiintymään. Hänen äitinsä Agaven johdolla he pakottivat loukkuun jääneen Pentheuksen alas puun latvasta, repivät häneltä raajat ja pään irti ja repivät ruumiin palasiksi." Kun sanansaattaja oli välittänyt tämän uutisen, Agave saapuu paikalle kantaen poikansa päätä. Riivattuna hän uskoo, että se on puuman pää. Hän esittelee sitä ylpeänä isälleen, Kadmokselle, ja on hämmentynyt, kun tämä ei iloitse hänen palkinnostaan, vaan hänen kasvonsa vääntyvät kauhusta. Sitten Agave kutsuu Pentheusta ihmettelemään hänen urotekoaan ja naulaa pään ovensa yläpuolelle, jotta hän voi näyttää sen koko Thebaan. Dionysoksen riivauksen vaikutus alkaa kuitenkin hiipua, ja Kadmus pakottaa hänet tunnustamaan tekonsa. Näytelmän päättyessä Pentheuksen ruumis on koottu uudelleen niin hyvin kuin mahdollista, kuninkaallinen perhe on tuhoutunut ja tuhoutunut. Agave ja hänen sisarensa lähetetään maanpakoon, ja Dionysos määrää, että Kadmus ja hänen vaimonsa Harmonia muuttuvat käärmeiksi ja johtavat barbaarilaumaa ryöstämään Hellaksen kaupunkeja.

**Tulos**

Mitä Pentheukselle tapahtuu, kun Maenadit löytävät hänet?

**Tulos**

Miten Semele tapettiin?

**Tulos**

Miten Dionysos aikoo puolustaa äitiään?

**Tulos**

Kuka pukee Pentheuksen naiseksi?

**Tulos**

Millaisen synnytyksen Semele synnytti?

**Tulos**

Mitä Dionysos tekee Kithaeron-vuorella kukistaakseen Pentheuksen?

**Tulos**

Kuka on Agaven ja Cádmuksen poika?

**Tulos**

Mitä Agave uskoo ensin, että pää, jonka sanansaattaja tuo hänelle takaisin, on?

**Tulos**

Mikä on Pentheuksen alkuperäinen suunnitelma, josta Dionysos luopuu?

**Tulos**

Mitä Agave paljastaa Cademukselle?

**Tulos**

Mitä Pentheus inhoaa?

**Tulos**

Mitä Dionysos antaa Pentheukselle sen jälkeen, kun hän on naamioitunut naiseksi ja lähettänyt hänet matkaan?

**Tulos**

Miksi Pentheus oli naamioitunut naispuoliseksi Maenadiksi?

**Tulos**

Cadmusin ja Harmonian kohtalona on muuttua millaiseksi olennoksi?

**Tulos**

Kenen päätä Agave uskoo kantavansa?

**Tulos**

Mitä tapahtuu Agavelle ja hänen sisarilleen Pentheuksen kuoleman jälkeen?

**Tulos**

Mikä on Semelen sisarten mukaan syy siihen, että Zeus lähetti salaman iskemään Semeleen?

**Tulos**

Mihin Pentheus ehdottaa naamioitumista välttääkseen paljastumisen?

**Tulos**

Kuka tappoi Pentheuksen?

**Tulos**

Minne naiset menevät katsomaan Dionysoksen rituaaleja?

**Tulos**

Mihin Pentheus naamioituu?

**Tulos**

Kuka on Theban entinen kuningas?

**Tulos**

Kuka Dionysoksen kertomassa alkuperäisessä tarinassa käskee Zeusta lähettämään salaman Semeleen?

**Tulos**

Kuka sai Zeuksen lähettämään salaman alas?

**Tulos**

Mikä nuoli naiset puhtaaksi?

**Tulos**

Kenet Pentheus haluaa pidättää?

**Tulos**

Mikä on sen kaupungin nimi, johon Cadmus ja Harmonia johtavat barbaarilauman?

**Tulos**

Miksi Zeus iski Semeleen salamaniskulla?

**Tulos**

Kenen pojanpoika on nykyinen kuningas?

**Esimerkki 3.102**

Barry Egan on yksinelävä mies, joka omistaa yrityksen, joka markkinoi teemakäyttöön tarkoitettuja wc-pönttöjä ja muita uutuustuotteita. Hänellä on seitsemän päällekäyvää sisarta, jotka pilkkaavat ja pahoinpitelevät häntä henkisesti säännöllisesti, ja hän elää yksinäistä elämää, jota katkovat raivokohtaukset ja ahdistus. Yhden aamun aikana hän joutuu todistamaan selittämätöntä auto-onnettomuutta, hakee kadulta hylätyn huuliharpun ja tapaa Lena Leonardin, siskonsa työkaverin. Lena on järjestänyt tämän tapaamisen nähtyään hänet siskonsa Elizabethin perhekuvassa.Yksinäisyyttään selvitäkseen Barry soittaa puhelinseksipuhelimeen, mutta puhelinvastaava yrittää kiristää häneltä rahaa ja lähettää perimään rahat neljältä kätyreiltään, jotka ovat veljeksiä. Tämä hankaloittaa hänen orastavaa suhdettaan Lenaan sekä hänen suunnitelmaansa käyttää hyväkseen Healthy Choice -kampanjan porsaanreikää ja kerätä miljoona lentopistettä ostamalla suuria määriä vanukasta. Kun Lena lähtee työmatkalle Havaijille, Barry päättää seurata häntä. Hän saapuu paikalle ja soittaa yhdelle manipuloivista siskoistaan saadakseen tietää, missä Lena asuu. Kun hänen siskonsa alkaa jälleen pahoinpidellä häntä, Barry hermostuu ja vaatii Lena antamaan hänelle tiedot, minkä tämä myös tekee. Lena on riemuissaan nähdessään Barryn, ja myöhemmin he harrastavat seksiä. Aluksi Barry selittää olevansa Havaijilla sattumalta työmatkalla, mutta pian hän myöntää tulleensa vain Lena takia. Romantiikka kehittyy edelleen, ja Barry tuntee vihdoin helpotusta kärsimästään emotionaalisesta eristäytyneisyydestä.Heidän palattuaan kotiin neljä veljestä törmäävät autollaan Barryn autoon, jolloin Lena loukkaantuu lievästi. Kun hänen uudelleen löytämänsä vapaus yksinäisyydestä on vaarassa, yllättävän aggressiivinen ja itsevarma Barry taistelee taitavasti kaikkia neljää roistoa vastaan muutamassa sekunnissa käyttäen aseena rengasrautaa. Epäillessään Lenan jättävän hänet, jos tämä saa tietää puhelinseksifiaskosta, Barry jättää Lenan sairaalaan ja yrittää lopettaa häirinnän soittamalla uudelleen puhelinseksilinjalle ja puhumalla "valvojan" kanssa, joka osoittautuu Dean Trumbelliksi, joka on myös patjakaupan omistaja. Barry matkustaa Utahin Provossa sijaitsevaan patjaliikkeeseen kohdatakseen Deanin kasvokkain. Dean, joka ensin yrittää pelotella Barrya, huomaa Barryn olevan paljon pelottavampi, ja Barry pakottaa Deanin jättämään hänet rauhaan. barry päättää kertoa Lenalle puhelinseksi-episodistaan ja anoo häneltä anteeksiantoa, lupaa olla hänelle uskollinen ja käyttää kanta-asiakasmailinsa käyttääkseen hänen mukanaan Lenan kaikilla tulevilla työmatkoillaan. Lena suostuu mielellään, ja he syleilevät onnellisina. Lena lähestyy Barrya tämän toimistossa tämän soittaessa huuliharppua. Hän laittaa kätensä miehen ympärille ja sanoo: "No niin, nyt mennään."

**Tulos**

Mitä Barry tekee sen jälkeen, kun Lena lähtee Havaijille?

**Tulos**

Miksi Barry osti niin paljon vanukasta?

**Tulos**

Mitä Barry lupaa tehdä Lenan hyväksi?

**Tulos**

Miten Lena tuntee Barryn ennen kuin he tapaavat?

**Tulos**

Mistä Barry kärsii tarinassa?

**Tulos**

Mikä on Barryn ja Elizabethin suhde?

**Tulos**

Mitä Barryn yritys myy?

**Tulos**

Mitä Barry tekee ensimmäisenä nähtyään auto-onnettomuuden?

**Tulos**

Miten Lena loukkaantuu?

**Tulos**

Mitä Barry salaa Lenalta?

**Tulos**

Kuka on Lena Leonard tarinan alussa?

**Tulos**

Miksi Barry matkustaa Utahin Provoon?

**Tulos**

Millä Barry torjuu neljä veljestä?

**Tulos**

Dean on puhelinseksibisneksen esimies ja mitä muuta?

**Tulos**

Kuinka monta siskoa Barrylla on?

**Tulos**

Minne Barry seuraa Lenaa?

**Tulos**

Kuka kiristää Barrya?

**Tulos**

Mitä Barryn siskot tekevät hänelle?

**Tulos**

Millä Barry taistelee neljää roistoa vastaan?

**Tulos**

Mitä Barry Egan myy?

**Tulos**

Mitä Barry antaa Lenalle tulevia työmatkoja varten?

**Tulos**

Mikä on puhelinseksilinjan esimiehen nimi?

**Tulos**

Miten Lena loukkaantuu?

**Tulos**

Minne Barry seuraa Lenaa, kun tämä lähtee työmatkalle?

**Tulos**

Missä Lena näkee Barryn ensimmäisen kerran ennen tapaamistaan?

**Tulos**

Kenet Barry tapaa, joka työskentelee hänen siskonsa kanssa?

**Esimerkki 3.103**

Matoja esiintyy monissa paikoissa metsänpohjasta vuorille ja monissa paikoissa ympäri maailmaa. Vaikka niitä pidetäänkin maaeläiminä, ne ovat itse asiassa puoliksi vesieläimiä, kuten muutkin matoeläimet; ne kuolevat nopeasti ilmassa mutta selviytyvät kuukausia vedessä. Vaikka ne eivät ole päivisin aktiivisia, ne tulevat joskus yöllä ulos koloistaan. Sepelkyyhkyt ja muut linnut syövät niitä suuria määriä, koska ne makaavat lähellä pintaa. Niillä on hyvin kehittyneet lihakset, hermosto, verenkierto ja ruoansulatusjärjestelmä, joista jälkimmäinen on ainutlaatuinen. Vaikka niillä ei ole silmiä, ne reagoivat valon voimakkuuteen ja kestoon. Ne reagoivat hitaasti myös lämpötilaan. Niillä ei ole kuuloa, mutta ne ovat herkkiä värähtelyille. Niiden hajuaisti on heikko, mutta ne pystyvät löytämään suosikkiruokansa. Ne ovat kaikkiruokaisia eläimiä, jotka nielevät paljon maata ja ottavat siitä ravintoa. Madot elävät pääasiassa puoliksi mädäntyneillä lehdillä, jotka on osittain sulatettu haimaliuoksella ennen nielemistä. Tämä vatsan ulkopuolinen ruoansulatus ei poikkea siitä, mitä Darwin oli aiemmin kuvaillut hyönteissyöjäkasveilla tapahtuvaksi. Kuvataan kastematojen kalkkirauhasten rakennetta ja fysiologiaa. Niiden toiminnasta on esitetty monia hypoteeseja; Darwin uskoi niiden olevan ensisijaisesti erittäviä ja toissijaisesti ruoansulatuksen apuvälineitä. ohuisiin lehtiin tartutaan suulla, kun taas paksuja lehtiä vedetään luomalla tyhjiö. Lehtiä ja kiviä käytetään kolon tukkimiseen. Tämä voi pelotella saalistajia, pitää veden poissa ja/tai pitää kylmän ilman poissa (jälkimmäinen on Darwinin suosima toiminto). Lehdet vedetään sisään lähinnä kärjistä, mikä on helpoin tapa, mutta kun pohja on kapeampi, madot muuttavat käyttäytymistään. Ne vetävät männyn neulaskimput sisään tyvestä. Petioleja käytetään kolojen tukkimiseen ja ravinnoksi. Madot vetävät kokeellisia paperikolmioita kärkipisteestä suurimman osan ajasta, eivätkä ne luota kokeilemiseen. Madot kaivavat koloja kuluttamalla materiaalia tai mieluiten työntämällä sitä pois. Ne kuluttavat pääasiassa maaperää ravinteiden saamiseksi. Niitä tavataan jopa kuuden tai useamman metrin syvyydessä, erityisesti ääriolosuhteissa. Matoilla on useita tehtäviä, ja ne päättyvät kammioon, joka on vuorattu kivillä tai siemenillä. Matoja esiintyy kaikkialla maapallolla, jotkut jopa syrjäisillä saarilla; miten ne ovat päätyneet sinne, on mysteeri. Darwin hyödyntää kirjeenvaihtoa eri puolilla maailmaa asuvien ihmisten, kuten brasilialaisen Fritz M llerin, kanssa. matojen pinnalle nostaman maan määrää voidaan arvioida maan pinnalla olevien esineiden hautautumisnopeuden perusteella ja punnitsemalla tietyn ajan kuluessa esiin nostettu maa. Maanviljelijöiltä saatujen tietojen perusteella Darwin pystyi tekemään laskelmia muun muassa maan sisään vajoavasta mullasta ja häkästä. Hän teki 29 vuotta kestäneen kokeen liidulla kotinsa lähellä sijaitsevalla pellolla. Kaikenlaiset esineet "työskentelevät alaspäin", kuten maanviljelijät sanovat. Suuret kivet vajoavat, koska madot täyttävät mahdolliset onkalot heitteillä, heittävät ne sitten ulos kehän ulkopuolelle ja maa niiden ympärillä alkaa nousta. Hän vieraili Stonehengessä ja löysi joitakin ulompia kiviä, jotka olivat osittain hautautuneet, ja turve oli noussut niitä vasten (ks. kuva 7). Darwin punnitsi valukiviä ja antoi ystäviensä tehdä niin muissa maissa. Hän myös punnitsi valukiviä pinta-alayksikköä kohti vuodessa ja laski sitten, kuinka paksun kerroksen valukivet muodostaisivat verrattuna vajoamisnopeuteen. Lisäksi hän selvitti, kuinka paljon valuja on painanut matoa kohti vuodessa.Madot ovat säilyttäneet maan alla monia muinaisia esineitä. Darwin kuvailee muinaisen roomalaisen huvilan Abingerissa, Surreyssä. Madot ovat tunkeutuneet betoniseiniin ja jopa laastiin. Samanlaista vajoamista tapahtui Hampshiren Beaulieun luostarissa, jossa madot tunkeutuivat laattojen välisiin rakoihin. Hänen poikansa Francis ja Horace vierailivat Chedworthin roomalaisessa huvilassa Gloucestershiressä, kun taas William raportoi Bradingin roomalaisesta huvilasta Isle of Wightilla. Darwin kertoo yksityiskohtaisesti hyvin säilyneistä Silchesterin roomalaiskaupungin raunioista Hampshiressä pastori J. G. Joycen avustuksella. Lopuksi hän käsittelee Viroconiumin roomalaisen kaupungin raunioita Wroxeterissa, Shropshiressä, tohtori H. Johnsonin avustuksella, joka teki havaintoja muun muassa kasvihomeen syvyydestä. Hän päättelee, että sekä madot että muut syyt, kuten pölyn laskeutuminen ja maaperän huuhtoutuminen, ovat haudanneet tällaiset rauniot.Denudaatio (aineen siirtyminen alemmalle tasolle) johtuu pääasiassa ilman ja veden liikkeistä. Madojen tuottamat humushapot hajottavat kalliota; niiden kaivautuminen nopeuttaa tätä. Mutta kun maakerros paksuuntuu, prosessi hidastuu. Madot nielevät kovia esineitä (esim. kiviä) ruuansulatuksen helpottamiseksi, mikä aiheuttaa tällaisten esineiden kulumista. Tällä on geologista merkitystä erityisesti pienempien partikkeleiden kannalta, jotka muuten eroosio tapahtuu hyvin hitaasti. sade saa heittomadot liikkumaan kaltevuutta alaspäin; Darwin laski, kuinka paljon paino liikkuu tietyn matkan tietyssä ajassa. Osa niistä myös vierii alas ja kerääntyy viemäreihin jne. tai niitä puhaltaa. Tropiikissa sateiden lisääntyminen vaikuttaa enemmän valukappaleiden liikkumiseen. Hienoin maa huuhtoutuu pois. Mäkien rinteiden jyrkänteet, joiden aiemmin uskottiin johtuvan laiduntavista nisäkkäistä, johtuvat osittain valukerrostumista. Voimakkaat tuulet, erityisesti myrskytuulet, ovat lähes yhtä tehokkaita kuin rinne tai sade valuaineksen siirtämisessä. Aiemmin kynnettyjen maiden kruunut ja uurteet häviävät hitaasti, kun ne ovat laitumella, mikä johtuu matojen toiminnasta, mutta hitaammin, kun ei ole kaltevuutta. Hienojakoinen maa huuhtoutuu alas rinteiltä ja muodostaa matalan kerroksen. Kalkin liukeneminen tuottaa uutta maata." Darwin kirjoittaa lopuksi, että madoilla "on ollut tärkeämpi rooli maailman historiassa kuin useimmat ihmiset aluksi olettaisivat". Ne ovat tärkeitä monista syistä, kuten niiden rooli kivien hajoamisessa, maan asteittaisessa paljastumisessa, arkeologisten jäännösten säilymisessä ja maaperän olosuhteiden parantamisessa kasvien kasvua varten. Alkeellisista aistielimistöstään huolimatta ne käyttäytyvät monimutkaisesti ja joustavasti.

**Tulos**

Matoja pidetään usein maaeläiminä? Millaisia ne oikeastaan ovat?

**Tulos**

Mikä oli Francisin ja Horatiuksen suhde Darwiniin?

**Tulos**

Vaikka madoilla ei ole korvia, ne pystyvät aistimaan mitä?

**Tulos**

Mikä on termi aineen siirtämiselle alemmalle tasolle?

**Tulos**

Miksi kutsutaan aineen siirtämistä alemmalle tasolle?

**Tulos**

Mikä on denudation pääasiallinen syy?

**Tulos**

Mikä matojen tuottama esine voi hajottaa kiveä?

**Tulos**

Mistä denudaatio pääasiassa johtuu?

**Tulos**

Vaikka matoja pidetäänkin maanpäällisinä, mitä ne oikeastaan ovat?

**Tulos**

Mitä esineitä madot nielevät ruoansulatuksen helpottamiseksi?

**Tulos**

Mitä on denudaatio?

**Tulos**

Millä madot tukkivat kolonsa?

**Tulos**

Mitä madot käyttävät pääasiassa ravintonaan?

**Tulos**

Millaisia eläimiä matoja pidetään?

**Tulos**

Miksi madot nielevät kovia esineitä?

**Tulos**

Milloin madot tulevat ulos koloistaan?

**Tulos**

Mihin lehtipuita käytetään?

**Tulos**

Millaisia esineitä madot nielevät ruuansulatuksen helpottamiseksi?

**Tulos**

Millaisia esineitä madot voivat säilyttää maan alla?

**Tulos**

Mihin suuntaan sade saa valun liikkumaan rinteessä?

**Tulos**

Millä on madon kuopan päässä oleva kammio vuorattu?

**Tulos**

Madot parantavat maaperän olosuhteita, mikä auttaa minkä elävän organismin kasvua?

**Tulos**

Matoja pidetään maaeläiminä, mutta todellisuudessa ne ovat?

**Tulos**

Ohuet lehdet tarttuvat matojen suuhun, paksut lehdet raahautuvat miten?

**Tulos**

Madot reagoivat valoon ja valon kestoon, vaikka niillä ei ole mitä elintä?

**Tulos**

Kun madot kaivavat koloja, ne joskus kuluttavat materiaalia, mutta mieluummin?

**Tulos**

Miten madot hajottavat kiveä?

**Tulos**

Mille madot ovat herkkiä, koska niillä ei ole kuuloa?

**Tulos**

Minkälaista kasvua madot edistävät parantamalla maaperäolosuhteita?

**Tulos**

Kuinka kauan Darwin teki kokeen kotonaan?

**Esimerkki 3.104**

Ammattirikollinen Neil McCauley (Robert De Niro) ja hänen miehensä Chris Shiherlis, Michael Cheritto ja Trejo palkkaavat Waingron auttamaan heitä ryöstämään 1,6 miljoonan dollarin haltijavelkakirjat panssariautosta. Ryöstön aikana Waingro tappaa impulsiivisesti vartijan, mikä saa McCauleyn kiihottumaan. Kun ryhmä yrittää tappaa Waingron, tämä pakenee.McCauleyn aituri Nate ehdottaa, että McCauley myy varastetut velkakirjat takaisin niiden alkuperäiselle omistajalle, rahanpesijä Roger Van Zantille. Van Zant suostuu, mutta käskee miehiään väijymään McCauleya tapaamisessa. McCauley selviää väijytyksestä ja vannoo kostoa Van Zantille. LAPD:n komisario Vincent Hanna (Al Pacino) tutkii yhdessä ylikonstaapeli Druckerin sekä etsivien Sammy Casalsin, Mike Boskon ja Danny Schwartzin kanssa ryöstöä ja tunnistaa McCauleyn porukan tekijöiksi. He huomaavat, että heidän seuraava kohteensa on jalometallivarasto. Yksikkö tarkkailee varastoa ja tarkkailee käynnissä olevaa rikosta, mutta hälyttää McCauleyn vahingossa paikalle. McCauley luopuu murrosta. Hanna, joka on tyytymätön todisteiden puutteeseen, päästää McCauleyn porukan pakoon.Lisääntyneestä poliisivalvonnasta huolimatta McCauleyn porukka suostuu viimeiseen röyhkeään pankkiryöstöön 12 miljoonan dollarin arvosta turvatakseen taloudellisen tulevaisuutensa. Waingro lähestyy Van Zantia tiedoilla McCauleyn ryhmän eliminoimisesta. McCauley aloittaa suhteen kahvilassa tapaamansa suunnittelijan Eadyn (Amy Brenneman) kanssa. Hanna muuttaa hotelliin saatuaan tietää, että hänen vaimollaan Justinella (Diane Venora) on suhde. hanna pysäyttää McCauleyn moottoritiellä ja kutsuu hänet kahville. Kasvotusten ikääntyvät ammattilaiset keskustelevat henkilökohtaisista ongelmistaan: Hannan huoli masentuneesta tytärpuolista Laurenista ja hänen työstä johtuvista epäonnistuneista avioliitoista sekä McCauleyn yksinäinen elämä ammattirikollisena, joka kiintymyssuhteet kieltävä ja liikkuvuutta vaativa elämäntapa tekee hänen romanttisista suhteistaan arveluttavia. Molemmat miehet vahvistavat uudelleen sitoutumisensa työhönsä ja siihen, että he käyttävät tarvittaessa tappavaa voimaa pysäyttääkseen toisen.Kahvin jälkeen Hanna saa tietää, että McCauleyn ryhmä on välttänyt heidän tarkkailunsa. Kun Trejo vetäytyy ryöstöstä, McCauley värvää entisen vangin Donald Breedanin (Dennis Haysbert) miehistöönsä. Hannan yksikkö saa luottamuksellisen vihjeen ja keskeyttää McCauleyn porukan kesken pankkiryöstön. Seuraavassa tulitaistelussa useita poliiseja, Bosko mukaan lukien, kuolee, ja McCauleyn ryhmä menettää Breedanin ja Cheritton. Shiherlis haavoittuu, mutta pakenee McCauleyn kanssa. McCauley jättää Shiherlisin lääkärin hoitoon. Hän murtautuu Trejon taloon ja löytää Trejon lähes kuolleena. Trejo paljastaa, että Waingro hälytti Van Zantin heidän pankkiryöstöstään, joka ilmoitti siitä poliisille. McCauley lopettaa Trejon omasta pyynnöstään ja tappaa sitten Van Zantin tämän kotona. McCauley lähestyy Eadya, joka on hyväksynyt hänen rikollisen toimintansa, suunnitelmanaan paeta Uuteen-Seelantiin. hanna määrää Waingron poliisin tarkkailtavaksi ja vuotaa hänen sijaintinsa rikollisille kanaville, koska hän epäilee McCauleyn yrittävän tappaa hänet ennen kaupungista lähtöä. Shiherlisin vieraantunut vaimo Charlene pidätetään poliisin turvatalossa, jossa Drucker uhkaa häntä rikossyytteillä, jos hän ei petä Shiherlisiä poliisille. Charlene suostuu, mutta kun Shiherlis ilmestyy paikalle naamioituneena, hän varoittaa häntä salaa, jolloin Shiherlis pääsee livahtamaan verkon läpi. hanna löytää Laurenin hotellihuoneestaan tajuttomana itsemurhayrityksen jäljiltä ja kiidättää hänet sairaalaan. McCauley ja Eady ajavat lentokentälle, kun hän saa tiedon Waingron sijainnista läheisessä hotellissa. Aluksi torjuvasti, McCauley päättää vaarantaa vapautensa kostaakseen. Hän tunkeutuu hotelliin, laukaisee palohälyttimen häiritäkseen vartijoita ja kohtaa Waingron ennen tämän tappamista. Hetki ennen pakoa hän huomaa Hannan lähestyvän väkijoukon läpi ja joutuu hylkäämään Eadyn vapautensa vuoksi. hanna jahtaa McCauleya LAX:n rahtiterminaalin ulkopuolella olevalle pellolle. Kissa ja hiiri -ammuskelussa McCauley paljastuu, ja Hanna haavoittaa häntä kuolettavasti. Lähellä kuolemaa McCauley tarjoaa kättään Hannalle, joka tarttuu siihen ja katsoo kunnioittavasti vastustajansa kuolemaa.

**Tulos**

Mikä on panssariautossa olevien haltijavelkakirjojen arvo?

**Tulos**

Kenelle Nate ehdottaa McCauleyn myyvän joukkovelkakirjat?

**Tulos**

Miten McCauley harhautti Waingron hotellin vartijoita loppupuolella?

**Tulos**

Kenet Neil McCauley palkkaa auttamaan häntä ja hänen miehiään ryöstämään 1,6 miljoonan dollarin haltijavelkakirjat panssariautosta?

**Tulos**

Kuka pidätetään poliisin turvatalossa ja häntä uhataan rikossyytteillä, jos hän ei petä Shiherlisiä poliisille?

**Tulos**

Kuka on Waingron autosta varastettujen joukkovelkakirjojen alkuperäinen omistaja?

**Tulos**

Mikä on Neil McCauleyn ammatti?

**Tulos**

Mitä McCauley palkkaa Waingron tekemään?

**Tulos**

Miksi Vincent Hanna muuttaa hotelliin?

**Tulos**

Mitä Hanna tekee, kun hän pysäyttää McCauleyn moottoritiellä?

**Tulos**

Kenet McCauley värvää miehistöönsä Trejon vetäydyttyä ryöstöstä?

**Tulos**

Kenet Hanna näkee kuolevan haavoitettuaan häntä kuolettavasti?

**Tulos**

Missä McCauley sanoo, että hän aikoo paeta Eadyn kanssa keskustelussa sen jälkeen, kun tämä on tappanut Van Zantin?

**Tulos**

Kuka Neil McCauleyn miehistöstä ei osallistunut pankkiryöstöön?

**Tulos**

Kenelle Vincent Hanna työskentelee?

**Tulos**

Missä McCauley tapaa Eadyn, jonka kanssa hän aloittaa suhteen?

**Tulos**

Kenet Hanna löytää hotellihuoneestaan tajuttomana itsemurhayrityksestä?

**Tulos**

Kuka tappoi ensimmäisen vartijan panssariauton ryöstöstä?

**Tulos**

Kuka on McCauleya ja hänen miehiään tutkiva LAPD:n komisario?

**Tulos**

Mihin maahan McCauley ja Eady aikoivat paeta?

**Tulos**

Kuka oli ainoa McCauleyn miehistön jäsen, jota ei tapettu?

**Tulos**

Mitä McCauley tarjosi luutnantti Hannalle, kun tämä makasi kuolemaisillaan?

**Tulos**

Kuka oli McCauleyn miehistön väijytyksen takana, kun he menivät vaihtamaan haltijavelkakirjoja?

**Tulos**

Mikä on McCauleyn seuraava suunniteltu ryöstö panssariauton ryöstön jälkeen?

**Tulos**

Miksi luutnantti Hanna kiidätti Laurenin sairaalaan?

**Tulos**

Kuka on Lauren?

**Tulos**

Kuka on Nate?

**Tulos**

Kuka pysäyttää McCauleyn moottoritiellä ennen kuin kutsuu hänet kahville?

**Tulos**

Kuinka paljon rahaa McCauleyn porukan odotettiin ryöstävän pankissa?

**Esimerkki 3.105**

Romaani alkaa nimettömän kertojan saapumisesta Wyomingin Medicine Bowiin idästä ja hänen kohtaamisestaan vaikuttavan pitkän ja komean muukalaisen kanssa. Muukalainen osoittautuu taitavaksi hevosten köytämisessä sekä peluri Trampasin kohtaamisessa, joka kutsuu häntä sonofabitchiksi. (Tuohon aikaan tämä sana ei ollut hyväksyttävä loukkaus missään yhteiskunnassa, paitsi vitsailevien ystävien kesken.) Muukalainen laskee pistoolin pöydälle ja uhkaa lempeästi: "Kun kutsut minua tuolla nimellä, hymyile!". Muukalainen, joka tunnetaan vain nimellä Virginian, osoittautuu kertojan saattajaksi tuomari Henryn tilalle Sunk Creekiin, Wyomingiin. Kun kaksikko matkustaa 263 mailia tilalle, kertoja, lempinimeltään "helläjalkainen", ja Virginialainen alkavat tutustua toisiinsa, kun helläjalkainen alkaa hitaasti ymmärtää lännen elämän luonteen, joka on hyvin erilaista kuin hän odotti. Tämä tapaaminen on alku elinikäiselle ystävyydelle ja lähtökohta sille, että kertoja kertoo Virginianin elämän keskeisistä jaksoista." Romaani pyörii Virginianin ja hänen elämänsä ympärillä. Sen lisäksi, että Wister kuvaa Virginianin konfliktia vihollisensa Trampasin kanssa ja hänen romanssiaan kauniin opettajatar Molly Stark Woodin kanssa, hän kutoo tarinan toiminnasta, väkivallasta, vihasta, kostosta, rakkaudesta ja ystävyydestä. Eräässä kohtauksessa Virginian joutuu osallistumaan hänen läheisen ystävänsä, tunnustetun karjavarkaan hirttämiseen. Hirttäminen esitetään välttämättömänä vastatoimena hallituksen korruptiolle ja toimettomuudelle, mutta Virginian kokee sen kauheaksi velvollisuudekseen. Häntä koskettaa erityisesti se rohkeus, jolla varas kohtaa kohtalonsa, ja se raskas taakka, jonka teko asettaa hänen sydämeensä, muodostaa tarinan emotionaalisen ytimen. kohtalokas ampumavälikohtaus ratkaisee jatkuvan konfliktin Trampasin kanssa viiden vuoden vihanpidon jälkeen. Kun Trampas ampuu ensin kaksintaistelussa, Virginialainen ampuu Trampasin (itsepuolustukseksi) ja lähtee naimisiin nuoren morsiamensa kanssa. The Virginian ja Molly lähtevät yhdessä viettämään kuukautta vuoristossa ja palaavat sitten itään Vermontiin tapaamaan Mollyn perhettä. Woodin lähisuku ottaa heidät vastaan hieman jähmeästi, mutta Mollyn isotäti ottaa heidät lämpimästi vastaan. Uusi pariskunta palaa Wyomingiin, ja Virginianista tehdään osakas tuomari Henryn tilalla. Kirjan lopussa todetaan, että Virginianista tuli tärkeä mies alueella ja että hänellä oli onnellinen perhe. 1908 Owen Wister puolustaa todellista Virginiania "Charles D Skirden", joka on tässä vaiheessa poliisi Philadelphiassa, PA:ssa. Charles Skirdeniä syytetään Shamokin Streetin jengiin kuuluneen John Bradleyn murhasta marraskuussa 1908. Bradley on James Bradleyn ja Letitia Gallagherin (Squire Patrick Gallagherin tytär) poika. Hänet pidätetään perheen pyynnöstä, mutta Owen Wister ja muut tulevat Skirdenin avuksi. Sen jälkeen Charles Skirden ottaa vuonna 1911 vastuulleen riistansuojelualueen Long Islandilla.

**Tulos**

Mikä oli opettajan nimi?

**Tulos**

Missä on Virginian saattaja tenderfoot?

**Tulos**

Kenelle Virginialainen teki Tampasin ampumisen jälkeen?

**Tulos**

Kuka on Virginian rakkauden kohde?

**Tulos**

Kuka on Trampas?

**Tulos**

Missä kohdattu muukalainen on erityisen hyvä?

**Tulos**

Kun Virginialainen on voittanut Trampasin ja mennyt naimisiin Mollyn kanssa, minne he matkustavat?

**Tulos**

Minne Virginian ja Molly matkustavat?

**Tulos**

Miten Virginialainen lopulta voittaa Trampasin?

**Tulos**

Kuinka pitkä matka tenderfootin ja Virginianin tilalle oli?

**Tulos**

Kuka on varsinainen Virginialainen?

**Tulos**

Mihin Virginian oli pakko osallistua?

**Tulos**

Millä nimellä muukalainen tunnetaan?

**Tulos**

Mikä saa Mollyn haluamaan käydä Vermontissa?

**Tulos**

Kuinka monta vuotta vihanpito kesti Virginian ja Trampasin välillä?

**Tulos**

Missä Virginian ja Molly päättävät asua?

**Tulos**

Missä pariskunta tapasi Mollyn perheen?

**Tulos**

Kuka on Trampas Virginialaiselle?

**Tulos**

Mikä Virginialaiseen iskee hirttämisen aikana?

**Tulos**

Mikä ratkaisee Virginian ja hänen vihollisensa Trampasin välisen riidan?

**Tulos**

Minkä vuoksi Virginiansin läheinen ystävä hirtettiin?

**Tulos**

Mitä fyysisiä piirteitä muukalaisella oli?

**Tulos**

Mistä tarina alkaa?

**Tulos**

Mikä oli karjavarkaan kohtalo?

**Tulos**

Kuka on tarinan päähenkilö?

**Tulos**

Minne Virginain saattaa Tenderfootin?

**Tulos**

Mistä muukalainen tunnetaan?

**Tulos**

Kenen murhasta Charlesia syytettiin?

**Tulos**

Missä asioissa muukalainen oli taitava?

**Tulos**

Kuka Mollyn perheenjäsen otti pariskunnan lämpimästi vastaan?

**Esimerkki 3.106**

Kun päähenkilö soittaa trumpettia palavassa huoneessa, hänen äänensä kuuluu kertojana. Hänen tarinansa alkaa, kun hän esiintyy "Danny Parkerina", metamfetamiiniriippuvaisena speed-friikkinä, joka hengailee kavereidensa kanssa huumeita nauttien. Hän toimii myös kuutamolla kahden korruptoituneen poliisin, Gus Morganin (Doug Hutchison) ja Al Garcettin (Anthony LaPaglia), tiedonantajana. Hän yrittää järjestää suuren metamfetamiinikaupan pahamaineisen huumekauppiaan Pooh Bearin (D'Onofrio) kanssa, joka on eksentrinen psykopaatti, joka menetti nenänsä liiallisen "Gakin" (metamfetamiinin) nuuskaamisen takia, ja yrittää samalla järjestää Morganille ja Garcettille salakuvaoperaation.Kotiin palattuaan Danny riisuu vaatteensa ja persoonallisuutensa ja paistattelee menneessä elämässään trumpetisti "Tom Van Allenina". Hän paljastaa pahoinpidellylle naapurilleen Colettelle (Deborah Kara Unger), että hän oli kerran onnellisesti naimisissa, mutta joutui vain katsomaan, kun naamioituneet varkaat ampuivat hänen vaimonsa Salton Sea -saarella.Tavatessaan Puh-karhun kanssa Danny alkaa pelätä Puh-karhun outoja murhanhimoisia käytösnäytöksiä, joten hän teippaa aseen pöydän pohjalle. dannyn appivanhemmat jäljittävät Dannyn, koska he uskovat, että hän on vajonnut masennukseen vaimonsa kuoleman jälkeen, mutta Danny kertoo heille, ettei halua heidän apuaan. Kaupan lähestyessä selviää, että Danny ei työskentele vain poliisille vaan FBI:n agenteille, jotka pyrkivät saamaan kiinni Morganin ja Garcettin, jotka ovat tehneet useita murhia. Paljastuu myös, että he olivat ne miehet, jotka tappoivat hänen vaimonsa ja haavoittivat häntä, kun he ryöstivät huumekauppiaan. Danny oli aloittanut oman tutkinnan, kun hän sai selville, kuka Morgan oli, ja syventyi huumeiden alamaailmaan uskottavaksi narkkariksi. kauppayönä Danny johdattaa parhaan ystävänsä Jimmyn (Peter Sarsgaard) avustuksella FBI:n väärään paikkaan. Samaan aikaan Danny saapuu Puh-karhun taloon. Ruokapöydässä, Puh-karhun aseistettujen ystävien ympäröimänä, jännitteet nousevat, ja yksi Puh-karhun miehistä yrittää tappaa Dannyn, joka hakee aiemmin kätkemänsä aseen ja ampuu loput jengistä. Puh Karhu ampuu Dannya rintaan, ja Danny lyyhistyy lattialle. jalkaan haavoittunut Puh Karhu lähtee ottamaan amfetamiinia mutisten sekavasti. Morgan ja Garcetti saapuvat paikalle, huomaavat verilöylyn, ja Garcetti tappaa Puh Karhun, jonka huumeiden täyttämä hypo putoaa lattialle. Garcettin tappaa sitten Danny, jonka hengen pelasti luotiliivi. Danny ampuu Morgania kahdesti ja paljastaa Morganille tietävänsä murhanneensa vaimonsa. Morgan onnistuu nappaamaan Dannyn aseen pois, mutta löytää sen tyhjänä. Danny löytää lattialta Puh-karhun ruiskun ja työntää sen Morganin kaulaan, ottaa sitten pistoolin ja harkitsee hetken aikaa itsemurhaa, mutta ampuu sitten Morgania useita kertoja ja pakenee. takaisin asunnossaan hän pukeutuu jälleen Tom Van Allen -identiteettiinsä, mutta hänet ampuu Coletten "poikaystävä" (Luis Guzman), joka on itse asiassa agentti, jonka tehtävänä on kostaa Meksikon pojille, joiden johtajan Danny ilmiantoi poliisille ennen elokuvan nykypäivän aikajanan tapahtumia. Collette kertoo, että hänen oli pakko pettää Danny, koska hänen tytärtään pidettiin panttivankina. Huone syttyy tuleen, ja Danny soittaa vielä yhden sävelen trumpetillaan ennen kuin pyörtyy. hän palaa tajuihinsa ja huomaa, että Jimmy on pelastanut hänet tulipalosta ja vienyt hänet sairaalaan. Toipumisensa jälkeen hän jättää kaupungin ja Dannyn ja Tomin identiteetit taakseen.

**Tulos**

Missä Dannyn ensimmäinen vaimo ammuttiin?

**Tulos**

Kuka jäljittää Dannyn?

**Tulos**

Kuka tappoi Dannyn vaimon?

**Tulos**

Kuka käytti luotiliivejä huumekaupan aikana, josta tuli verilöyly?

**Tulos**

Mihin huumausaineeseen Danny Parkerin väitettiin olevan riippuvainen?

**Tulos**

Kuka pelasti päähenkilön tulipalolta?

**Tulos**

Mihin huumausaineeseen Danny on koukussa?

**Tulos**

Mitä Morgan saa selville aseesta, jota Danny pitää kädessään?

**Tulos**

Mitä tapahtui Dannyn ensimmäiselle vaimolle?

**Tulos**

Mitä Danny kertoi naapurille vaimonsa kuolemasta?

**Tulos**

Mikä on Saltonin meren merkitys?

**Tulos**

Miten päähenkilön vaimo kuoli?

**Tulos**

Kuka menetti nenänsä nuuskaamalla liikaa "gakia"?

**Tulos**

Kuka johtaa FBI:n väärään paikkaan?

**Tulos**

Miksi Colette kääntyi Dannya vastaan?

**Tulos**

Miksi Danny ei kuollut rintaan osuneeseen laukaukseen?

**Tulos**

Mihin Danny piilotti pistoolin tavatessaan Puh-karhun?

**Tulos**

Kuka on Tom Van Allen?

**Tulos**

Mihin Danny piilottaa aseen ennen huumekauppaa Puh-karhun kanssa?

**Tulos**

Minkä ruumiinosan Puh-karhu menetti huumeidenkäytön takia?

**Tulos**

Mitä soitinta päähenkilö soittaa tarinan alussa?

**Tulos**

Kuka on Colette?

**Tulos**

Kenelle naapuri Danny kertoo vaimonsa tarinan?

**Tulos**

Kuka on Danny Parker?

**Tulos**

Mitä Danny teippasi taulukon pohjalle?

**Tulos**

Miksi Dannyn appivanhemmat jäljittivät hänet?

**Tulos**

Kuka tappoi Puh-karhun?

**Tulos**

Kuka on vahingoittanut ääntään nuuskaamalla paljon metaa?

**Tulos**

Kuka pelastaa Dannyn tulipalolta?

**Tulos**

Keneen Danny työntää metamfetamiiniruiskun?

**Esimerkki 3.107**

Cal Weaver (Steve Carell) on keski-ikäinen mies, joka saa tietää, että hänen vaimonsa Emily (Julianne Moore) on pettänyt häntä työkaverinsa David Lindhagenin (Kevin Bacon) kanssa ja haluaa erota. Muutettuaan omaan asuntoonsa Cal käy illasta toiseen baarissa puhumassa kovaan ääneen avioerostaan, kunnes hän herättää Jacob Palmer -nimisen nuoren miehen (Ryan Gosling) huomion. Jacob Palmer (Ryan Gosling) on naistenmies, joka paneskelee naisia joka ilta, vaikka nuori nainen nimeltä Hannah (Emma Stone) oli hiljattain hylännyt hänen lähentelyt. Jacob säälii Calia ja tarjoutuu opettamaan hänelle, miten naisia isketään. Jacobin oppeja hyödyntäen Cal viettelee Katen (Marisa Tomei) baarissa. Tämän kohtaamisen jälkeen Cal onnistuu viettelemään onnistuneesti muitakin naisia baarissa. Hän näkee Emilyn uudelleen heidän poikansa Robbien (Jonah Bobo) vanhempainillassa. Vuorovaikutus sujuu hyvin, kunnes he huomaavat, että Robbien opettaja on Kate, joka paljastaa Emilylle, että hän ja Cal ovat maanneet yhdessä. Tämän jälkeen Cal tunnustaa maanneensa monien naisten kanssa. Emily lähtee inhoten ja alkaa aktiivisesti seurustella Davidin kanssa. Samaan aikaan Hannah, vastavalmistunut oikeustieteen opiskelija, odottaa poikaystävänsä Richardin (Josh Groban) kosivan häntä, kun he juhlivat asianajajatutkinnon läpäisyä, mutta mies ei kosikaan, vaan tarjoaa hänelle paikkaa asianajotoimistostaan. Loukkaantuneena ja loukkaantuneena Hannah palaa baariin, jossa hän alun perin torjui Jacobin lähentelyt, ja suutelee Jacobia intohimoisesti. He palaavat Jacobin kotiin harrastamaan seksiä, mutta päätyvät puhumaan toisilleen koko yön ja löytävät yhteyden. Jacob aloittaa suhteen Hannahin kanssa, ja hän etääntyy Calista. samaan aikaan Robbie tekee lukuisia suuria eleitä yrittäessään voittaa 17-vuotiaan lapsenvahtinsa Jessica Rileyn (Analeigh Tipton) sydämen, joka itse asiassa on ihastunut Caliin. Luokkatoverinsa Madisonin (Julianna Guill) neuvojen perusteella hän ottaa itsestään alastonkuvia, jotka hän lähettää Calille, ja piilottaa ne kirjekuoreen lipastonsa laatikossa. Myöhemmin, kun Emily soittaa Calille sillä verukkeella, että hän tarvitsee apua talon sytytyslampun kanssa, Cal päättää yrittää voittaa hänet takaisin. Samaan aikaan Jacob vastaa Calin puheluihin ja pyytää neuvoja oikean suhteen aloittamiseen ja tyttöystävänsä vanhempien tapaamiseen. Jessican äiti Claire (Beth Littleford), joka ei pidä Calista, löytää Jessican alastonkuvat lipaston laatikosta ja näyttää ne Jessican isälle Bernielle (John Carroll Lynch). Bernie oli Calin paras ystävä ennen kuin Claire sai hänet lopettamaan heidän ystävyytensä eron jälkimainingeissa. Bernie ryntää Weaverin asunnolle puhumaan hänelle kuvista, ja Jessica lähtee perään. Cal ja hänen lapsensa perustavat takapihalleen tilapäisen minigolfpelin muistuttamaan Emilyä heidän ensitreffeistään. Kokoontumisen aikana Jacob ja Hannah ilmestyvät taloon, ja Hannah paljastuu Calin ja Emilyn ensimmäiseksi tyttäreksi. Cal on tyrmistynyt siitä, että Jacob seurustelee hänen tyttärensä kanssa, ja kieltää häntä tapaamasta häntä. Samassa vaiheessa Bernie ilmestyy paikalle ja hyökkää Calin kimppuun. Jessica saapuu paikalle ja kertoo isälleen, ettei Cal tiennyt kuvista mitään. Sitten David saapuu paikalle palauttamaan Emilyn puseron edellisiltä treffeiltä. Jacob kysyy Davidilta, onko hänen nimensä Lindhagen, ja kun David vastaa "kyllä", Jacob lyö häntä kasvoihin Calille aiheuttamansa tuskan vuoksi. Cal, Jacob, David ja Bernie joutuvat tämän jälkeen tappeluun, jonka poliisi pian lopettaa. Cal alkaa jälleen viettää aikaa baarissa ja saa vieraakseen Jacobin, joka tunnustaa olevansa rakastunut Hannahiin. Cal vastaa olevansa iloinen siitä, että Jacob on muuttunut mies, mutta ei voi hyväksyä Jacobin ja Hannahin suhdetta nähtyään Jacobin entisen elämäntavan. Jacob ei kanna pahaa mieltä, vaan kunnioittaa Calia ja kehuu tätä siitä, että hän on hyvä isä. 8. luokan päättäjäisissä Robbie on tervehdyssoittaja ja pitää pessimistisen puheen siitä, kuinka hän ei enää usko tosirakkauteen ja sielunkumppaneihin. Cal pysäyttää hänet ja alkaa sen sijaan kertoa yleisölle seurustelustaan Emilyn kanssa ja sanoo, että vaikka hän ei tiedä, onnistuuko se, hän ei koskaan luovuta Emilyn suhteen. Uudistuneen uskon vallassa Robbie vakuuttaa uudelleen rakkautensa Jessicaan yleisön suosionosoitusten saattelemana. Seremonian jälkeen Cal antaa Jacobille ja Hannahille siunauksensa. Jessica antaa Robbielle kirjekuoren, jossa on alastonkuvia itsestään, jotka oli alun perin tarkoitettu Calille "lukion yli". Cal ja Emily naureskelevat puhuessaan viime vuoden tapahtumista ja vihjaavat, että he saattavat palata yhteen.

**Tulos**

Keneltä Cal kieltää tyttärensä seurustelun?

**Tulos**

Missä Emily teeskentelee Calille tarvitsevansa apua?

**Tulos**

Kuka löysi Jessican kuvat?

**Tulos**

Miltä Jacobista tuntuu, kun Cal ei halua, että hän tapailee tytärtään, vaikka hän on muuttunut mies?

**Tulos**

Mitä Cal ja hänen lapsensa pystyttivät takapihalle Emilyn nähtäväksi?

**Tulos**

Kuka tunnustaa olevansa rakastunut Hannaan?

**Tulos**

Mihin lapsenvahti Jessica piilottaa alastonkuvansa Calille?

**Tulos**

Missä Cal tapasi Jacobin?

**Tulos**

Miksi Cal on viime aikoina ollut sinkku?

**Tulos**

Kenen sydämen Robbie yrittää voittaa?

**Tulos**

Kuka antoi Jessicalle neuvoja Calin houkuttelemiseksi?

**Tulos**

Mitä Cal kieltää Hannaa?

**Tulos**

Mitä Emily teki Calille?

**Tulos**

Missä Cal tapaa jälleen vaimonsa?

**Tulos**

Kuka Jessicaa oikeasti viehättää?

**Tulos**

Miten Jacob auttaa Calia?

**Tulos**

Mitä Emily halusi Calilta?

**Tulos**

Kenen kanssa Emily petti?

**Tulos**

Missä Robbie sijoittui valmistumisluokassaan?

**Tulos**

Ketkä ovat Hannahin vanhemmat?

**Tulos**

Miksi Richard satuttaa Hannahia?

**Tulos**

Kuka oli Robbien isä?

**Tulos**

Miten Richard särki Hannahin sydämen?

**Tulos**

Kuka opettaa Calia iskemään naisia?

**Tulos**

Mihin Robbie ei enää usko tervehdyspuheessaan?

**Tulos**

Mitä David palauttaa Emilylle edellisiltä treffeiltä?

**Tulos**

Kuka oli Robbien ihastus?

**Tulos**

Mikä on Calin, Katen ja hänen poikansa välinen suhde?

**Tulos**

Kuka on Calin ja Emilyn ensimmäinen tytär?