

# Punavetika *Gracilaria vermiculophylla* prostaglandiin H süntaasi ekspresseerimine ja puhastamine kristallimise eesmärgil

Magistritöö kokkuvõte

Mari Västra

Prostaglandiin H süntaasid (PGHS-id) on bifunktsionaalsed membraanseotud ensüümid, mis katalüüsivad esimest etappi prostanoidide sünteesis. Kuna prostanoidid osalevad valu, põletiku ja palaviku protsessides, on PGHS-id sihtmärgiks mittesteroidsetele põletikuvastastele ravimitele ning seetõttu omavad olulist tähtsust ravimiarenduses. PGHS-e on leitud ka korallidest ja koorikloomadest. Hiljuti avastati PGHS ka punavetikast *Gracilaria vermiculophylla* (GvPGHS), mis katalüüsib imetajate PGHS-idega sama reaktsiooni, kuid omab järjestuse identsust vaid 20% ulatuses. GvPGHS kristallstruktuuri lahendamine aitaks täpsemalt iseloomustada selle struktuuri iseärasusi ning katalüütilise reaktsiooni mehhanisme. Käesoleva töö eesmärk oli ekspresseerida kristallimiskatseteks puhast, stabiilset ja homogeenset GvPGHS-i. GvPGHS ekspressioon viidi läbi bakteris *Escherichia coli* ja pärmis *Pichia pastoris* ning puhastamine nikkel-afiinsus- ning geelfiltratsioonkromatograafia meetodil. Töö käigus leiti, et parim ekspressioonimeetod GvPGHS ekspresseerimiseks bakteris on autoinduktsioon. Bakteris ekspresseerides saadi nikkel-afiinsuskromatograafia meetodil puhastatud GvPGHS saagiseks 4,5 mg/l. Pärmis ekspresseerides saadi puhta GvPGHS saagiseks 17 mg/l. Seetõttu viidi edasised puhastamise optimeerimise katsed läbi, kasutades selleks pärmi *P. pastoris*. Käesolevas töös optimeeriti GvPGHS solubiliseerimist ja puhastamist, varieerides puhvri pH-d, soola ja detergendi kontsentratsiooni, detergendi tüüpi ning lisandite olemasolu. Tulemused näitasid, et kristallimiskatseteks homogeenset ja stabiilset GvPGHS-i saab puhastades seda nikkel-afiinsuskromatograafia meetodil pH 8 juures 0,5% CHAPS ja 500 mM NaCl juuresolekul.