

## KOKKUVÕTE

Bakalaureuse töö kirjeldab inimese pankrease lipaasi ekspressiooni ja puhastatamist ning selle aktiivsuse uurimist erinevates keskkondades erinevate substraatidega isotermilise tiitrimis-kalorimeetriaga.

Pankrease lipaasi puhastamiseks söötmetest ja järgnevat kontsekreerimiseks leiti et kõige paremini sobib sadestamine ammooniumsulfaadiga, aafiinsuskromatograafia ning hiljem lüofiliseerimine 20 mg/ml albumiini juuresolekul.

Pankrease lipaasi aktiivsus ja katsetingimused on tugevasti mõjutatud substraadist: sama koguse pankrease lipaasi puhul katsel trioleiin *versus* tributüriin vabanes reaktsioonil tributüriiniga rohkem soojust kui trioleiiniga. Kui tributüriini ja trioleiiniga, mis on mõlemad vees mittelahustuvad substraadid, mõõtes osutus albumiin väga tugevalt inhibeerivaks faktoriks, siis reaktsioonil lahustuva substraadiga (DGGR) see aga tõstis lipaasi aktiivsust.

Inimese pankrease lipaasi juures avastati, et juba 6 mg/ml veise seerumi albumiini inhibeerib pankrease lipaasi tööd katsel nii trioleiini kui ka tributüriiniga. Katsel DGGR-i kui vesilahustuva substraadiga leiti, et sellest 2,5x suurem kontsentratsioon ehk 20 mg/ml aga aktiveerib lipaasi, mis tributüriiniga katsel inhibeeris.

Antud tööst võib järeldada, et inimese vereplasmast ei ole võimalik antud tingimustel suurema eeltöötluseta määrata aktiivse pankrease lipaasi kontsentratsiooni isotermilise tiitrimis-kalorimeetriaga, sest seerumis olev albumiin inhibeerib reaktsiooni.

Tööst selgub, et isotermiline tiitrimis-kalorimeetria võimaldab jälgida reaktsiooni pidevalt ning pika aja vältel väga täpselt ning saab mõõta keerulistes tingimustes mittelahustuvate substraatidega. Meetod võimaldab mõõta inhibiitorite ning aktivaatorite mõju ning seda madalatel, pikomolaarsetel, lipaasi kontsentratsioonidel.

Katsel oliiviõli ja (-) epigallokatekiingallaadi, ühe tee flavonoidiga, mis on näidatud varasemates töödes, et see inhibeerib pankrease lipaasi, selgub, et flavanoid algselt aktiveerib lipaasi kuid reaktsiooni kogu eraldatud soojushulk aja jooksul hakkab vähenema. Seega võib selle ühendi inhibeerimismehhanism olla keerulisem.

Bakalaureuse töös püstitati eesmärk mõõta keerulistes segudes ning mittelahustuvate substraatidega ITC-ga õnnestus. Teiseks eesmärgiks oli mõõta pankrease lipaasi aktiivsust inimese vereplasmas kuid uuritud tingimustel see ei õnnestunud. Katsete käigus selgus, et albumiinil võib olla suur roll interaktsioonidele füsioloogilistes keskkondades, mida on plaanis edasi uurida.