

KOKKUVÕTE

Tänapäeva inimeste elustiili ja suure rasvasisaldusega toidu tarbimise tõttu on suurenenud ülekaalulisega inimeste arv. Seoses selle ja uute avastustega lipiidide metabolismis, on vajadus uurida inimese pankrease lipaasi (PNLIP), kuna see on peamiseks sihtmärgiks rasvtõvega patsientide ravimisel.

Antud töös kirjeldati pPIC9/PNLIP vektori konstrueerimist, selle transformeerimist *P. pastoris* tüvesse ja funktsionaalse rekombinantse PNLIP ekspresseerimist nii afiinsusmärgisega kui ka ilma.

PNLIP järjestust amplifitseeriti edukalt PCR meetodil ja tehti pPIC9/PNLIP konstruktid. Vektorid paljundati üles *E. coli* DH5 α ja TOP10F' tüvedes. Ülespaljundatud plasmiidid sekveneeriti, kontrolliti restriksioonanalüüsiga ja puhastati. *P. pastoris* GS115 tüvesid transformeeriti saadud vektoritega sferoplastide meetodil. Saadud rakuliine kasutati rekombinantse PNLIP ekspressiooniks.

Valgu ekspressiooni indutseeriti metanooliga. Aktiivne valk oli sekreteeritud ekspressioonisöötmesse. PNLIP aktiivsust mõõdeti spektrofluoromeetriga kasutades DGGRi substraadina. Afiinsusmärgisega valku puhastati Ni-afiinsuskromatograafia meetodil, afiinsusmärgiseta valku puhastati geelfiltratsiooni meetodil. SDS-PAGE analüüs näitas, et saadud rekombinantne valk vastab teoreetilisele molekulmassile 51 kDa.

PNLIP Ekspressiooni tase 3 päeva metanooliga indutseerimise järel oli suurem, kui 5 päeva suurema metanooli kogusega indutseerimise järel. Esimesel juhul oli puhastatud lipaasi saagis 30,98 mg/l. Teisel juhul oli 17,16 mg/l.

Saadud tulemused näitavad, et töös kirjeldatud meetodil saab pärmis toota küllaltki suuri koguseid rahuldava puhtusega inimese PNLIP. Käesoleva bakalaureuse töö raames ekspresseeritud ja puhastatud PNLIP kasutati Bioorgaanilise keemia õppetoolis uurimaks Angptl4 mõju PNLIP-ile.