

GPIHBP1 N-TERMINAALSE DOMEENI SPETSIIFILISUSE UURIMINE INTERAKTSIOONIS LIPOPROTEIINLIPAASIGA

Magistritöö

Töö autor: Jette Rindesalu

Juhendaja: Mart Reimund, bioorgaanilise keemia õppetool, doktorant

Kaasjuhendaja: Aivar Lõokene, bioorgaanilise keemia õppetool, juhtivteadur

Lühikokkuvõte

Antud töös uuriti GPIHBP1 N-terminaalse domeeni spetsiifilisust interaktsioonis lipoproteiinlipaasiga. Selleks viidi läbi GPIHBP1 N-terminaalse domeeni selektiivsuse uurimine ning võimalike ligandide tuvastamine inimese vereplasmas ja lipoproteiinivabas plasmas, kasutades pinnaplasmonite resonantsi, afiinsuskromatograafia ning fluorestsentsi anisotroopia meetodeid. Pinnaplasmonite resonantsi meetodil uuriti ka GPIHBP1 N-terminaalse domeeni järjestuse spetsiifilisust, mille puhul oli eesmärgiks uurida, kas interaktsioonis LPL-iga on oluline negatiivselt laetud aminohappejääkide arv või vastavate laengute paiknemine spetsiifilises klastris.

Töö peamised tulemused olid:

- Pinnaplasmonite resonantsi katsetega näidati, et GPIHBP1 N-terminaalne domeen ei interakteeru lipoproteiinivabas plasmas peale LPL-i teiste ligandidega.
- Inimese vereplasmaga afiinsuskromatograafia meetodil läbi viidud eksperimentides ei tuvastatud ühtegi GPIHBP1 N-terminaalse domeeniga interakteeruvat ligandi.
- Fluorestsentsi anisotroopia eksperimentidega näidati, et ükski komponent lipoproteiinivabas plasmas ei mõjuta GPIHBP1 N-terminaalse domeeni ja LPL-i vahelist interaktsiooni.
- GPIHBP1 N-terminaalse domeeni järjestuse spetsiifilisust uuriti pinnaplasmonite resonantsi meetodil, kus negatiivselt laetud aminohappejääkide asetusest muudetud sünteetilise peptiidiga läbi viidud katsed näitasid, et GPIHBP1 N-terminaalse domeeni ja LPL-i vaheline interaktsioon ei sõltu ainult negatiivsete laengute arvust, vaid oluline on negatiivselt laetud klastri moodustumine.

Saadud tulemustest järeldub, et kuigi vereplasmas on üle 300 hepariiniga seostuva valgu, mis võivad heparaansulfaatahelate ja GPIHBP1 N-terminaalse domeeni sarnasuse tõttu interakteeruda ka GPIHBP1 N-terminaalse domeeniga, seob antud domeen plasmast ainult LPL-i. Vastavas interaktsioonis on oluline GPIHBP1 N-terminaalse domeeni negatiivselt laetud klastri olemasolu.