

KOKKUVÕTE

Antud töös uuriti His-epitoobi mõju *C. imbricata* AOS-LOX liitvalgu AOS-domeeni ekspresseerimisele, aktiivsusele ning puhastamisele.

Valmistati N- ning C-terminaalse histidiin-epitoobiga AOS-i ekspressioonikonstruktid: vastavalt pET-47b/His₆-HRV3C/AOS, pET-11a/His₄-AOS ning pET-11a/AOS-His₄. Saadud konstruktide abil ekspresseeriti His₆-HRV3C-AOS, His₄-AOS ning AOS-His₄ bakteriaalses ekspressioonisüsteemis 10°C ja 15°C juures. Ekspressioonide analüüsi põhjal järeldati, et His-epitooop võib mõjutada AOS-i ekspressioonitaset vähesel määral, kusjuures kõige rohkem valku supernatandis detekteeriti His₄-AOS puhul. Samas supernatanti ja inklusioonkehadesse mineva ensüümi suhted on ekspressioonitemperatuurist sõltuvad: 10°C vastavalt 60:40; 15°C puhul on AOS-l soodumus minna inklusioonkehadesse.

Ekspresseeritud His₆-HRV3C-AOS, His₄-AOS ja AOS-His₄ puhastati nikkel-afiinsuskromatograafia meetodit kasutades. Puhastamise järel saadi His₆-HRV3C-AOS, His₄-AOS ja AOS-His₄ valke vastavalt 2,15 mg/L, 21,17 mg/L ning 24,94 mg/L.

Puhastatud His₆-HRV3C-AOS, His₄-AOS ja AOS-His₄ katalüütilised efektiivsused (k_{cat}) erinevate substraadi kontsentratsioonide juures on võrreldavad. Paikapanevate järelduste tegemiseks His-epitoobi asukoha ja pikkuse mõju kohta AOS-i aktiivsusele eeldab rohkem uurimist.

Võttes arvesse, et AOS-His₄ andis rahuldavaid tulemusi valgu ekspressioonil (10°C juures) ja puhastamisel ning C-terminaalsel His-epitooobil on kõige väiksem tõenäosus mõjutada AOS-i aktiivsust, võiks edaspidi antud informatsiooni kasutada AOS-i suuremas koguses ekspresseerimise ja puhastamise jaoks.