

## KOKKUVÕTE

Käesolevas töös teostati *C. imbricata* cHPL järjestuses aminohapete asendusi, et uurida nende mõju reaktsiooniaktiivsusele. Eelnevalt oli cHPL ja cAOS järjestuste ning struktuuride võrdluses leitud aminohappelised erinevused, millest antud töös teostati eraldi mutatsioonid neljale positsioonile, R56G (arginiin 56 cHPL-s asendati glütsiiniga cAOS-st), ME59-60LK, P65A, YS176-177NL.

Mutatsioonide sisestamiseks kasutati kohtspetsiifilist mutageneesi meetodit, mille käigus rakendati koguplasmiidi PCR-i. Mutatsioonide sisseviimise õnnestumist hinnati restriksioonianalüüsil ja sekveneerimisega.

Kõik mutandid ekspresseeriti bakteriaalses ekspressioonisüsteemis, puhastati Ni-afiinsus kromatograafia meetodil ning kvantifitseeriti spektrofotomeetriliselt 406 nm juures. Kõikidele mutantidele määrati kineetilised parameetrid,  $k_{cat}$ ,  $K_m$  ning suhe  $k_{cat}/K_m$ .

Kõikide mutantide puhastamisel saadi võrdses koguses valku, 200-300 µg valku 1 L söötme kohta.

Kineetilistest mõõtmiste tulemustest selgus, et kõik aminohappelised asendused mõjutasid cHPL-i reaktsiooni efektiivsust. cHPL YS176-177NL puhul toimus katalüütilise efektiivsuse märkimisväärne tõus, mis vajab edasist uurimist.

Kokkuvõtvalt saab antud tulemuste põhjal järeldada, et valitud aminohapped mõjutavad cHPL-i reaktsiooni efektiivsust ning on olulised reaktsiooni läbiviimiseks.