

TURUN YLIOPISTO
Lääketieteellinen tiedekunta

Marttunen, Katja: Työkaluja koronaaritauditutkimukseen: ApoM, ApoJ ja PON-1 proteiineja tunnistavien vasta-aineiden kehitys ja karakterisointi

Pro Gradu - tutkielma, 75s.
Biolääketiede
Huhtikuu 2016

Pro Gradu -tutkimukseni sekä kirjallisuuden alustavien tuloksien ja perusteella HDL-hiukkasista löytyvien lipoproteiinien: ApoJ, ApoM tai PON1, esiintyvyydessä ja muodoissa saattaa olla eroja koronaaritautipotilaiden ja terveiden henkilöiden välillä. Näin ollen nämä kolme lipoproteiinia voisivat toimia hyvin merkkiaineina, joilla erilaiset sairaudet, kuten ateroskleroosi, olisi helppo diagnosoida esimerkiksi verikokeesta tehdyllä määrityksellä.

Tutkimuksessani etsin uusia vasta-aineita ApoM:n, ApoJ:n ja PON1:n tunnistamiseen hyödyntäen Turun yliopiston biotekniikan laitoksella valmistettua synteettistä vasta-ainekirjastoa. Kohdeproteiineja tunnistavia vasta-aineita seulottiin faaginäyttötekniikan avulla. Kun sitovia vasta-aineita oli rikastettu tarpeeksi, kloonattiin vasta-ainegeenit liukoiseen muotoon sekä yksittäisinä klooneina että polyklonaalisina vasta-aineseoksina niiden tarkempaa erittelyä ja ominaisuuksien tarkastelua varten. Lopuksi kehitettyjen vasta-aineiden avulla vertailtiin koronaaritautipotilaiden ja kontrolliryhmien HDL-partikkeleita erilaisissa koeasetelmissa, esimerkiksi useissa erilaisissa mikrotitterilevymäärityksissä ja dot blot -analyysien avulla. Lisäksi tutkittiin, kuinka hyvin vasta-aineet tunnistavat ApoM:ää, ApoJ:tä tai PON1:tä.

Sain kehitettyä erityisesti ApoM:ää tunnistavia vasta-aineita. ApoJ:tä tunnistavat vasta-aineet epäonnistuiivat huonolaatuisen ApoJ-antigeenin vuoksi. PON1:n tunnistus saatiin toimimaan erityisen hyvin dot blot -analyysissä, mutta PON1:n sitoutumisen toiminta mikrotitterilevymäärityksissä jäi kesken ajan puutteen vuoksi. Kaikki vasta-aineet tunnistivat sekä puhtaan rekombinantti antigeenin että veressä esiintyvän luonnollisen antigeenin dot blot - tekniikalla. Mikrotitterilevymääritykset tarvitsevat vielä lisää optimointia muun muassa näytematriksin, eli seerumin tai plasman, aiheuttaman taustasignaalin kontrolloimiseksi. Kolmella ApoM-vasta-aineella saatiin kaksoisvasta-ainemääritys toimimaan melko hyvin ja optimoimalla määritystä sitä voitaisiin mahdollisesti käyttää tutkimustyössä.

Asiasanat: PON1, ApoM, ApoJ ja HDL