

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution Helsingin Yliopiston Biokemian laitos	
Tekijä — Författare Milla Arvola			
Työn nimi — Arbets titel Glutamaattireseptorin rakenne ja toiminta			
Oppiaine — Läroämne Biokemia			
Työn laji — Arbets art Pro gradu -tutkielma		Aika — Datum 12.04.1995	Sivumäärä — Sidoantal 71
Tiivistelmä — Referat <p>Glutamaattireseptorit ovat keskushermoston tärkeimmät synapsien välittäjäainereseptorit. Hermoärsyke vapauttaa hermopäätteestä glutamaattia, joka laukaisee reseptorin ionikanavan aukeamisen, mistä seuraa synaptisen kalvon depolarisoituminen ja sähköimpulsseja eteenpäin siirtävien jänniteherkkien ionikanavien aktivoituminen. Glutamaattireseptorit luokitellaan AMPA-, kainaat-, ja NMDA-reseptoreihin, jotka poikkeavat toisistaan sekä sähköfysiologisten ominaisuuksiensa että alayksiköiden primäärirakenteeltaan osalta.</p> <p>Tutkielman kirjallisessa osuudessa tarkastellaan glutamaattireseptorien rakennetta niiden primäärirakenteen pohjalta sekä reseptorirakennetutkimuksen ongelmia. Kokeellinen osuus liittyy laajempaan tutkimustavoitteeseen ratkaista reseptorin kolmiulotteinen rakenne. Työssä kehitettiin detergentteihin perustuva menetelmä glutamaattireseptorin liuotukseen ja puhdistukseen. Liuotus ja puhdistus tehtiin AMPA-reseptoreihin kuuluvalla GluR-D-glutamaattireseptorille, jota tuotettiin bakulovirusinfektioilla hyönteisoluissa. Reseptori liuotettiin hyönteissolumembraaneista 40-70%sti Triton X-100:aan, ja liuotettu reseptori puhdistettiin keskimäärin 40 kertaisesti nikkeli-metallikelaatio-affiniteettikromatografian avulla. Reseptorin liuotusta ja puhdistusta seurattiin radioligandin sitoutumiskokeiden avulla, ja reseptorin farmakologisia ominaisuuksia kartoitettiin [³H]AMPA-ligandin avulla saturaatio- ja syrjäytymisanalyyseissä. Käytetty puhdistusmenetelmä perustuu reseptorin geeniteknisesti liitetyn, viidestä histidiinistä koostuvan hännän affiniteettiin nikkeli-geelimateriaaliin. Puhdistettu reseptori siirrettiin detergentti-dialyysimenetelmällä fosfolipidivesikkeleihin, joissa radioligandin sitoutumisominaisuudet säilyivät muuttumattomina. Liposomeihin istutettuja reseptoreita voidaan vastaisuudessa käyttää mm. reseptorin toimintamekanismien tutkimisessa ja kolmiulotteisen rakenteen selvittämisessä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord AMPA-selektiivinen glutamaattireseptori, rekombinantti GluR-D, liuottaminen, Triton X-100, puhdistaminen, rekonstituutio.			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter Kirjasto			