

Utveckling av en metod att studera interaktioner mellan proteiner hos *Giardia lamblia* Sandra Birkestedt

Varje år infekteras fler än 250 miljoner människor av tarmparasiten *Giardia lamblia*. Parasiten koloniserar epitelcellerna i tunntarmen och orsakar giardiasis, vilket ger symptom som diarré, magkramp och trötthet, men det går att vara bärare utan att ha några symptom alls. Giardiasis kan botas med antibiotika men hur parasiten orsakar sjukdom är inte helt känt. Genom att studera proteiner i *Giardia* kan mer kunskap om sjukdomsmekanismen erhållas.

Hela ytan av *Giardia* är täckt av variabla ytproteiner som ständigt byts ut mot nya med annan struktur. Tack vare dessa ytproteiner klarar parasiten av att överleva i miljön som råder i tunntarmen. De variabla ytproteinerna sitter i membranet på parasiten, fästa vid ytan via en del som är väldigt lik hos de olika varianterna. Bortsett från att den änden håller ytproteinerna på plats har forskning visat att den även har en viktig funktion i att transportera de variabla ytproteinerna till ytan på parasiten. Om man på något sätt kan störa transporten av dessa ytproteiner till ytan försvinner parasitens skydd och den kan därmed inte överleva i tunntarmen. Med dessa aspekter i åtanke är de variabla ytproteinerna intressanta för vidare studier.

Nedbrytning av skadade proteiner och proteiner som inte behövs längre sker i stora proteinkomplex kallade proteasomer. Det har även visats att proteasomer är viktiga för tillväxt och differentiering i många parasiter och de kan därför vara intressanta målproteiner för utveckling av nya läkemedel. Man vet inte riktigt hur proteasomen ser ut i *Giardia*, men man har lyckats identifiera en underenhet av proteasomen genom konventionell rening. Hur hela proteasomen ser ut är fortfarande osviss. Ett sätt att få mer kunskap om komponenter i *Giardia* är att överuttrycka proteiner för att sedan rena fram dem med hjälp av någon reningsmetod.

Målet med detta examensarbete var att studera interaktioner mellan proteiner i *Giardia lamblia* genom affinitetsrening. Affinitetsrening är en reningsmetod vilken innefattar konstruktion av proteinbitar, som binder till det protein du vill rena fram. För detta ändamål krävs verktyg i form av vektorer som gör att gener lätt kan överföras till *Giardia*. Arbetet delades upp i tre delar där olika vektorsystem konstruerades och analyserades. I den första delen studerades interaktioner med de variabla ytproteinerna. Rening av dessa proteiner resulterade i att även chaperonproteiner renats fram. Dessa har till uppgift att ta hand om missveckade proteiner. I den andra delen konstruerades en ny uppsättning av vektorer, med andra typer av proteinbitar, där målet var att rena fram proteasomer. Vid jämförelse med konventionellt renade *Giardia* proteasomer tyder reningsresultaten på att delar av proteasomen renats fram. De vektorer som användes till de två första delarna var styrda av promotorer vars uttryck av proteiner var på hela tiden. Detta kan medföra att proteiner blir för starkt uttryckta, vilket skapar ofysiologiska förhållanden. Av den anledningen utvecklades även vektorer där uttrycket av proteiner gick att reglera. Dessa konstruerades på samma sätt och proteasomen var målproteinet även där. Resultaten visade dock att inducering av proteinuttryck inte lyckades med det system som testades.

Förmågan att överuttrycka och rena fram proteinkomplex ökar möjligheterna till att hitta och analysera nya målproteiner för utveckling av läkemedel. Med hjälp av de vektorer som konstruerats i detta examensarbete kommer analys av sjukdomsmekanismen hos *Giardia lamblia* att underlättas.