

Abstrakt

Glutamátkarboxypeptidasa II (GCPII) je membránová metalopeptidasa, jež je u člověka exprimována v mnoha tkáních, zejména pak v prostatě, centrální nervové soustavě a tenkém střevě. V centrální nervové soustavě GCPII hydrolyzuje nejrozšířenější peptidový neurotransmitter N-acetyl-L-aspartyl- α -L-glutamát na N-acetyl-aspartát a volný glutamát. Volný glutamát je významný excitační neurotransmitter a jeho uvolněním do synaptické štěrbině se GCPII podílí na glutamátové neurotoxicitě při patologických stavech. Inhibice této proteolytické aktivity byla prokázána na potkaních modelech jako neuroprotektivní. V lidském tenkém střevě GCPII odštěpuje koncové glutamátové zbytky z poly- γ -glutamylovaných folátů, čímž umožňuje jejich vstřebávání. Funkce GCPII v prostatě je stále neznámá, avšak díky velmi vysoké expresi v nádorech prostaty se GCPII využívá jako marker pro diagnózu nádorových onemocnění prostaty. GCPII by tak mohla být nejenom diagnostickým markerem, ale i perspektivním cílem pro terapii nádorových onemocnění i pro léčbu mozkových poruch způsobených glutamátovou excitotoxicitou.

Pro vývoj a testování nových léků a léčebných metod je nutné mít vhodný zvířecí model. Vhodným modelovým organismem je např. myš (*Mus musculus*), která je hojně užívána v mnoha vědeckých studiích. Přesto dosud nebyla provedena žádná studie týkající se porovnání myší a lidské GCPII co se týče jejich enzymové aktivity, inhibičního profilu a tkáňové distribuce. Případné rozdíly v expresi či aktivitě/inhibici mezi lidským a myším orthologem by mohly být velmi relevantní pro testování nových léčiv či nových léčebně-diagnostických metod založených na GCPII (jak protinádorových, tak neuroprotektivních).

Rekombinantní myší GCPII byla klonována, exprimována, purifikována afinitní chromatografií a následně charakterizována. V porovnání s rekombinantní lidskou GCPII vykazuje myší GCPII podobnou aktivitu, substrátovou specifitu i citlivost ke specifickému inhibitoru lidské GCPII. Protilátky vytvořené proti denaturované lidské GCPII rozpoznávaly i myší GCPII. Naopak protilátky vytvořené proti nativní lidské GCPII neinteragovaly s myší GCPII. U několika myších a lidských tkání byly pozorovány velké rozdíly v expresi GCPII svědčící o poněkud odlišné tkáňové distribuci GCPII v obou organismech. Dále se podařilo vytvořit stabilní savčí buněčnou linii inducibilně exprimující myší GCPII. Během krystalizačních pokusů byly připraveny mikrokrystaly myší GCPII; podmínky budou dále optimalizovány pro získání dostatečně velkých krystalů a následné vyřešení trojrozměrné struktury myší GCPII rentgenovou krystalografií.