

Abstrakt

Klk5 patří mezi nejvýznamnější proteolytické enzymy v pokožce a podílí se na procesech jako je deskvamace, štěpení antimikrobiálních peptidů nebo indukce zánětlivé reakce. Role Klk5 v epidermis byla dosud popisována na základě experimentů *in vitro*, je proto nezbytné potvrdit jeho funkci *in vivo*. Tato práce si kladla za cíl vytvořit metodické postupy pro zacílení genové exprese myších kalikreinů do svrchní vrstvy pokožky a připravit transgenní myši model exprimující mKlk5 v pokožce. Prvním krokem byla příprava transgenních myši exprimujících fluorescenční marker tdTomato pod kontrolou upraveného involukrinového promotoru. Vytvořené transgenní myši vykazovaly expresi proteinu tdTomato výhradně ve svrchních vrstvách pokožky, čímž byla potvrzena vhodnost upraveného involukrinového promotoru pro cílení genové exprese do diferencovaných keratinocytů. Dále byly úspěšně připraveny transgenní myši exprimující mKlk5. Dvě transgenní linie vykazovaly 6-9 násobnou overexpresi mKlk5 na mRNA i proteinové úrovni v porovnání s wt zvířaty, transgenní mKlk5 byl ovšem za fyziologických podmínek přítomen pouze ve formě neaktivního zymogenu. Transgenní myši byly proto podrobeny dvěma modelům způsobujícím defekty v epidermální bariéře a potenciálně vedoucím aktivaci proteáz. Při modelu atopické dermatitidy a hojení ran ovšem nebyly prokázány rozdíly proti wt myším. Celkově byly úspěšně připraveny dvě transgenní myši linie a byl vyvinut nový přístup pro cílení genové exprese do svrchních vrstev pokožky. Pro zacílení aktivní proteázy do těchto kompartmentů je třeba dalších technických úprav.