

Abstrakt

Využití kyselých proteáz z láčkovek pro účely vodík/deuteriové výměny

Petra Darebná

*(Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Karlova v Praze, Česká republika)*

Láčkovky (*Nepenthes*), vyskytující se převážně na Borneu a Sumatře, jsou jedny z mála masožravých rostlin produkujících si své vlastní proteolytické enzymy (nepenthesin I a nepenthesin II), zajišťující rostlině náhradní zdroj dusíku a dalších živin v případě růstu na půdách tyto živiny postrádajících. Tyto aspartátové proteázy jsou schopné proteolýzy při nízkém pH, které je ustaveno v trávicí láčkové tekutině po odchytu hmyzu a ve spolupráci s dalšími proteiny se účastní digesce kořisti.

Předkládaná práce se zabývá zpracováním trávicí tekutiny, izolované z láček masožravých rostlin rodu *Nepenthes* a jejím možným použitím jako nástroje při studiu proteinů pomocí vodík/deuteriové výměny. Izoláty trávicích tekutin byly očištěny od hrubých nečistot centrifugací, aktivovány okyselením a ultrafiltračně koncentrovány. U získaných preparátů byl sledován obsah proteinů, jejich proteinový profil a byla u nich enzymatickou esejí stanovena aktivita kyselých proteáz. Následně byly u preparátů na modelových proteinech pomocí hmotnostní spektrometrie s kapalinovou chromatografií studovány preference štěpení za podmínek vhodných pro experimenty vodík/deuteriové výměny. Vybrané preparáty byly srovnávány jak vzájemně, dle rodu rostlin a parametrů šťáv při odběru, tak i s pepsinem, coby standardní proteázou nejběžněji využívanou pro experimenty vodík/deuteriové výměny.

U studovaných preparátů byla pozorována zajímavá odlišnost ve štěpných preferencích nepenthesinů ve srovnání s pepsinem, spočívající ve štěpení za bazickými aminokyselinami a prolinem, jakož i vysoká enzymatická aktivita preparátů. Tyto vlastnosti předurčují nepenthesiny jako vhodného kandidáta pro uplatnění při experimentech vodík/deuteriové výměny.

Klíčová slova: nepenthesin, hmotnostní spektrometrie (MS), vodík/deuteriová výměna