

## ABSTRAKT

Lidské karbonátlyázy jsou metaloenzymy, které se účastní mnoha fyziologických pochodů v organismu, ale hrají také roli v patogenezi řady chorob. Karbonátlyáza IX (CAIX) se, narozdíl od ostatních 15 izoenzymů lidských karbonátlyáz, za normálních podmínek vyskytuje v organismu jen v omezené míře, avšak v hypoxických nádorech je vysoce exprimovaným znakem na povrchu buněk. Z tohoto důvodu je tento enzym dobrým cílem pro terapii a diagnostiku nádorů a proto jsou proti CAIX vyvíjeny různé monoklonální protilátky i specifické inhibitory.

V této práci byla ověřována možnost využít polymerní konjugát nesoucí specifický inhibitoru CAIX ke fluorescenčnímu značení rakovinných buněk. Prostřednictvím průtokové cytometrie a konfokální mikroskopie byla testována specifická vazba polymerního konjugátu na různých buněčných liniích a schopnost vazby tohoto polymerního konjugátu byla srovnávána s CAIX specifickou monoklonální protilátkou M75 a jejím jednořetězcovým fragmentem scFv M75.

Dále byly zjišťovány schopnosti testovaného konjugátu inhibovat enzymovou aktivitu CAIX. Pro tyto experimenty byl připraven a purifikován rekombinantní protein CAII, který byl dále též využit pro účely proteinové krystalizace. Testy inhibičních aktivit rovněž umožnily vytipovat nové inhibitory CAIX, které by mohly být díky lepším inhibičním vlastnostem využity pro vznik dalších účinnějších polymerních konjugátů. Úspěšné krystalizační pokusy a následná RTG strukturní analýza poskytly strukturní informaci o vazbě vybraných inhibitorů do aktivního místa CAII. Na základě těchto struktur bylo možné navrhnout vhodné místo pro připojení ke kopolymeru pro budoucí vývoj polymerních konjugátů druhé generace.