

Abstrakt

Intramembránová proteolýza je součástí celé řady buněčných drah a procesů. Je katalyzována specializovanými enzymy – intramembránovými proteázami (IMPR), které svůj substrát štěpí v rámci jeho transmembránové domény pod povrchem membrány. Rhomboidní proteázy jsou serinové IMPR. Vyskytují se napříč celým spektrem živých organismů a co do transmembránové topologie a sekvenčních motivů jsou evolučně konzervovány. Avšak navzdory dlouhodobé snaze, fyziologickou úlohu většiny rhomboidních proteáz doposud neznáme. RHBDL4 je savčí rhomboidní proteáza nacházející se v endoplasmatickém retikulu. Podílí se na vzniku kolorektálního karcinomu, což podtrhuje význam jejího studia. Fyziologická úloha RHBDL4 je však převážně neobjasněna. Za účelem jejího hlubšího prozkoumání jsem zavedla a následně aplikovala metodu proximální proteomiky označovanou APEX2. Je založena na značení proteinů v blízkosti vybraného cíle biotinem, a to ve fyziologickém prostředí živých neporušených buněk. Značené proteiny jsou následně izolovány a detekovány pomocí hmotnostní spektrometrie. Analýzou proximálního proteomu proteázy RHBDL4 je možné odhalit její interakční partnery, substráty či lépe definovat konkrétní podoblast ER, kde se vyskytuje. V rámci tří nezávislých experimentů v buněčné linii HCT116 se tři proteiny opakovaně nacházely v blízkosti RHBDL4: ANXA7, ITGB1 a PLIN3, což naznačuje potenciální úlohu RHBDL4 v buněčném transportu a metabolismu lipidů.

Klíčová slova: intramembránová proteolýza, rhomboidní proteáza, RHBDL4, endoplasmatické retikulum, proximální proteomika, APEX2