

PDI (z angl. „potato cathepsin D inhibitor“) a NID (z angl. „novel inhibitor of cathepsin D“) z lilku brambor (*Solanum tuberosum*) patří do proteinové rodiny Kunitzových inhibitorů (rodina I3 podle databáze Merops). Tyto isoinhibitory s molekulovou hmotností cca 20 kDa a typickou prostorovou architekturou β -trojlístku inhibují aspartátové a serinové peptidasy. Byly připraveny konstrukty pro rekombinantní expresi PDI a NID v kvasinkovém expresním systému *Pichia pastoris* a vybrány kolonie pro jejich účinnou produkci. Oba proteiny byly identifikovány v kultivačním médiu pomocí hmotnostní spektrometrie a N-koncového sekvenování. Pro PDI byl navržen isolační protokol se třemi chromatografickými kroky. Purifikovaný rekombinantní PDI byl porovnán s nativním PDI z přírodního zdroje a byly prokázány analogické funkční vlastnosti. Analýza inhibiční specifity dále ukázala, že PDI inhibuje vybrané aspartátové peptidasy rodiny A1 a serinové peptidasy rodiny S1 včetně relevantního enzymu hmyzího původu. To podporuje hypotézu o funkci Kunitzových inhibitorů jako obranných molekul rostlin proti herbivornímu hmyzu. Připravené inhibitory budou využity pro analýzu reaktivních center proti cílovým peptidasám pomocí proteinové krystalografie.

Klíčová slova: proteolytické enzymy, aktivita a inhibice enzymů, aspartátové a serinové peptidasy, inhibitory peptidas, Kunitzovy inhibitory, rekombinantní exprese proteinů, chromatografická purifikace proteinů