

Lidská žaludeční šťáva obsahuje zejména aspartátové proteasy - pepsin A a pepsin C. Oba pepsiny jsou produkovány v žaludeční sliznici jako inaktivní pepsinogeny (pepsinogen A a pepsinogen C), které se liší svými fyzikálněchemickými a imunologickými vlastnostmi. Oba pepsinogeny obsahují několik izozymogenů. K aktivaci pepsinogenů na příslušné pepsiny dochází v kyselém prostředí žaludku. (...) Téma dizertační práce je součástí projektu zabývajícího se zejména vypracováním metody pro separaci žaludečních aspartátových proteas, která by byla vhodná pro sledování jejich změn během zmíněných onemocnění. Dizertační práce se konkrétně zabývala přípravou vhodných afinitních sorbentů pro separaci pepsinů a pepsinogenů. Při výběru vhodného afinitního ligandu pro tyto proteasy jsme vycházeli ze známého substrátu N-acetyl-L-fenylalanyl-3,5-dijod-L-tyrosinu, pomocí kterého lze stanovit aktivitu pepsinu A ve směsi s pepsinem C. Byly připraveny tři afinitní sorbenty: jodovaná L-tyrosin-Sepharosa, 3,5-dijod-L-tyrosin-Sepharosa a N-acetyl-L-fenylalanin-Sepharosa. Připravené sorbenty byly charakterizovány pomocí modelového enzymu (prasečího pepsinu A). Při studiu interakce prasečího pepsinu A a jeho komplexu s pepstatinem A s připravenými sorbenty bylo prokázáno, že se aktivní místo enzymu nepodílí na jeho interakci s těmito sorbenty. Dále byla prokázána účast fosfátové skupiny v molekule pepsinu na jeho interakci s N-acetyl-L-fenylalanin-Sepharosou. Všechny připravené sorbenty byly použity k separaci pepsinu A a pepsinu C z okyseleného homogenátu lidské žaludeční sliznice pacientů s různými žaludečními chorobami, případně žaludeční šťávy zdravého jedince. Výsledky ukázaly, že nejvhodnějším sorbentem pro separaci pepsinů je N-acetyl-L-fenylalanin-Sepharosa. Pomocí tohoto sorbentu se také podařilo částečně separovat jeden z izozymogenů pepsinogenu A z lidské žaludeční sliznice.