

Abstrakt:

V rámci zaměření naší laboratoře na studium vlivu glykosylace na proteinovou architekturu a biologickou aktivitu plísňových hexosaminidase jsem pro experimenty zvolila enzym z *Penicillium oxalicum*. Jeho hlavní výhodou je relativně homogenní glykosylace, propeptid tohoto enzymu je přirozeně glykosylovaný pouze na dvou místech, asparaginu 11 a serinu 66. Katalytická podjednotka a propeptid enzymu hexosaminidasy z *Aspergillus oryzae* byly pro rekonstituční experimenty odděleny od sebe. Cílenou mutagenesí byly v propeptidové části enzymu izolovaného z *Penicillium oxalicum* vyměněny asparagin 11 a serin 66 za cystein vhodný ke glykosylaci. Velkou nadějí pro účinné navrácení (rekonstituci) enzymové aktivity představoval nově syntetizovaný propeptidový derivát celobiosy, který je nejvíce podobný přirozeně se vyskytujícímu cukru chitobiose. Glykosylovaný propeptid byl oddělen od neglykosylovaného. Pomocí rekonstitučních experimentů jsme zjišťovali vliv glykosylace na enzymovou strukturu a aktivitu s využitím různě glykosylovaných propeptidů. Největší účinnost nastala při rekonstituci s původním propeptidem. V dalších pokusech byly zahrnuty kombinace synteticky glykosylovaných propeptidů, z nichž největší účinnost měla celobiosa (Asn¹¹) - manosa (Ser⁶⁶) a N-acetylglukosamin (Asn¹¹) - manosa(Ser⁶⁶). Ostatní varianty dosahovaly po rekonstituci nižší enzymové aktivity.