

ABSTRAKT

Táto štúdia sa zaoberá cysteínovými peptidázami cercárií motolice *Diplostomum pseudospataceum*. Naväzuje na doterajší výskum, ktorý u cercárií biochemicky a hmotnostnou spektrometriou potvrdil prítomnosť cysteínovej peptidázy o veľkosti približne 24 kDa a postuloval jej histolytickú funkciu pri penetrácii tkanív cercáriami.

Pri pokuse o purifikáciu danej peptidázy a charakterizáciu jej peptidolytickej aktivity bolo zistené, že v homogenáte cercárií sa nachádza viac rôznych cysteínových peptidáz, líšiacich sa ich pI. Podľa peptidolytickej aktivity a testov jej inhibície ide o cathepsin L-like peptidázy, so širokým spektrom pH v ktorom sú aktívne a optimom aktivity pri slabom až neutrálnom pH.

Pomocou degenerovaných primerov vytvorených na základe konzervovaných miest cysteínových peptidáz bola získaná čiastočná sekvencia troch génov pre katepsíny L *D. pseudospataceum* (DpCL1, 2 a 3). Následne boli získané kompletne sekvencie génov DpCL2 a 3 a čiastočná sekvencia bez 5' konca DpCL1 pomocou RACE PCR.

Pre potvrdenie funkcie daných peptidáz bol uskutočnený pokus imunolokalizovať ich. Predpoklad bol, že sa nachádzajú v penetračných fázách. Preliminárne výsledky naznačujú, že by sa niektoré z katepsínov mohli nachádzať hlbšie v revách cercárií.

Pre detailnejšiu biochemickú charakterizáciu a imunolokalizáciu bol vytvorený rekombinantný katepsín DpCL3, ktorý je pravdepodobne cercáriami exprimovaný najviac.

Kľúčové slová

motolice, cercária, *Diplostomum*, proteáza, peptidáza, penetrácia, katepsín L