

ABSTRAKT

Glutamátcarboxypeptidasa II (GCPII) je transmembránový glykoprotein skládající se z krátké intracelulární a transmembránové domény a velké extracelulární domény, která vykazuje karboxypeptidasovou aktivitu. GCPII se podílí na neuromodulaci v mozku a absorpci folátů v tenkém střevě. Kromě těchto tkání se GCPII též vyskytuje v prostatě a ledvinách. Zde je ale její role neznámá. Za účelem zjištění funkce GCPII se několik vědeckých skupin pokusilo inaktivovat gen *Folh1* (kódující GCPII) v myši. Tyto experimenty však vedly k rozporuplným výsledkům. Zatímco dvě studie ukázaly, že inaktivace genu *Folh1* v myši vede k embryonální letalitě, jiné dvě studie publikovaly, že i po zmíněné inaktivaci jsou myši stále viabilní a navíc nevykazují žádný výrazný fenotyp. Cílem tohoto projektu bylo pokusit se připravit a charakterizovat myši s inaktivovaným *Folh1* genem pomocí alternativní metody genetické modifikace.

Za tímto účelem byly vytvořeny TALENy, které specificky cílily 11. exon genu *Folh1* v myších zygotách genetického pozadí C57BL/6NCrl. Narozená mláďata generace F0 byla analyzována pro přítomnost mutací v rámci genu *Folh1* a myši, které dohromady nesly 5 různých delecí, byly vybrány pro vytvoření mutantních linií. Linie, které nesly mutantní varianty genu *Folh1* na obou alelách, neobsahovaly detekovatelnou hladinu GCPII. Bylo potvrzeno, že myši s vyřazeným genem pro GCPII jsou viabilní, nemají reprodukční problémy a obecně nevykazují žádný výrazný fenotyp.

Modifikované myši byly použity pro zkoumání funkce GCPII v urogenitálním systému. Bylo zjištěno, že starší myši s vyřazeným genem pro GCPII mají zvýšený sklon k obstrukci semenných váčků. Zdroj tohoto fenotypu se ale nepodařilo objasnit. Ledviny starších modifikovaných myši nevykazovaly patologické změny a metabolomická analýza moči poukázala pouze na 3 ze 193 možných metabolitů, jejichž hladiny se u modifikovaných myši a myši divokého typu významně lišily.

Kromě prokázání, že myši s vyřazeným genem pro GCPII jsou viabilní, by tento disertační projekt mohl napomoci k odhalení potenciální role GCPII v reprodukci. Pravděpodobný omezený vliv GCPII na funkci ledvin by poté mohl být užitečný pro vývoj protirakovinových léků cílených na GCPII.