

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Bc. Barbora Hejtmánková

Školitel: PharmDr. Miroslav Kovařík, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Martina Hrabínová, Ph.D.

Název diplomové práce: Betasekretasa: Produkce a *in vitro* testování inhibitorů

Betasekretasa 1 hraje klíčovou roli v amyloidní teorii vzniku Alzheimerovy choroby. Kde za patologických podmínek společně s γ -sekretasou štěpí amyloidový prekurozorový protein za vzniku amyloidu β ($A\beta_{1-42}$), který se hromadí v extracelulárním prostoru mozku ve formě amyloidových plaků. Ty jsou rozeznány imunitním systémem jako antigeny a vzniká zánětlivá reakce vedoucí až k neurodegeneraci. Alzheimerova choroba je závažné onemocnění projevující se narušením kognitivních funkcí. Je to progresivní onemocnění, které má fatální následky a váže postiženého jedince k péči ostatních členů rodiny.

Tato diplomová práce zahrnuje produkci, purifikaci a validaci vlastního enzymu β -sekterasy 1. Purifikace byla provedena s využitím Ni-NTA agarózy. K jeho charakterizaci byla určena koncentrace proteinu a k identifikaci byla použita metoda western blot.

Rekombinantně připravená β -sekretasa 1 byla použita pro *in vitro* stanovení inhibiční účinnosti u 19 vybraných látek pomocí fluorescenční spektrofotometrické metody. U nejúčinnějšího inhibitoru K1142 byla stanovena hodnota IC_{50} , která byla porovnána s hodnotou IC_{50} standardního inhibitoru Verubecestatu. Bohužel látka K1142 nedosáhla lepší inhibiční účinnosti než Verubecestat. Pro tuto látku byla učena hodnota pK_a , ze které bylo spočteno BBB skóre a predikována prostupnost do mozku.

Klíčová slova: inhibitory, *in vitro* testování, betasekretasa, Alzheimerova choroba, produkce proteinů