Chem. Listy *101*, 536−541 (2007) Referát

# INHIBITORY PROTEAS V HLÍZE BRAMBORU

**LENKA HANUSOVÁ a VLADISLAV ČURN**

*Biotechnologické centrum, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 13, 370 05 České Budějovice*
*len.hanusova@seznam.cz*

Došlo 20.6.06, přepracováno 9.11.06, přijato 16.11.06.

Klíčová slova: inhibitory proteas, brambor, obrana proti hmyzu, protirakovinné účinky

## Obsah

1. Úvod
2. Klasifikace inhibitorů proteas
3. Role inhibitorů proteas
   3. 1. Úloha inhibitorů proteas v rostlinách
      3.1.1. Inhibitory proteas jako součást obranného mechanismu rostlin
      3.1.2. Inhibitory proteas jako zásobní proteiny
      3.1.3. Inhibitory proteas a jejich úloha při kontrole endogenních proteas
   3. 2. Využití inhibitorů proteas v lékařství
      3.2.1. Využití protirakovinných účinků inhibitorů proteas
      3.2.2. Inhibitory proteas v léčbě dermatitid
      3.2.3. Inhibitory proteas a léčba obezity
4. Závěr

## 1. Úvod

V rozvojových zemích, kde je nízká spotřeba proteinů živočišného původu, tvoří rostliny hlavní zdroj proteinů a uhlovodíků pro výživu lidí i v krmení hospodářských zvířat. Ačkoliv celosvětově hlavními potravinami zůstávají semena (cereálie a leguminózy), využívá se rovněž 5 hlavních hlíznatých rostlin. Brambor (*Solanum tuberosum* L.) je pak nejdůležitější hlíznatou plodinou. Roste i v mírných klimatických podmínkách a je tedy jedinou hlíznatou plodinou rostoucí mimo tropy. Z hlediska produkce se jedná o nejdůležitější hlíznatou plodinu. Zaujímá 45 % z celkové světové produkce všech hlíznatých plodin. Rozšíření bramboru z centra jeho původu (And) do ostatních částí světa a historické souvislosti tohoto rozšíření jsou velmi dobře zdokumentovány[1].

Hlízy představují jedinou využitelnou část celé rostliny bramboru. Morfologicky se jedná o ztlustlé stolony, přestože jsou uloženy převážně pod povrchem země. Celkový obsah vody v hlíze dosahuje průměrně 75 % z celkové hmotnosti hlízy. Zbylých 25 % tvoří sušina, obsahující řadu rozličných látek. Nejdůležitějšími látkami v sušině jsou škrob, polysacharidy a proteiny. Podíl škrobu v hlíze se pohybuje v rozmezí 13 až 24 % v závislosti na odrůdě/genotypu. Polysacharidy (vyjma škrobu) pak představují 0,5 % celkové hmotnosti hlízy[2]. Hlízy bramboru obsahují přibližně 1,5 % proteinu ze své čerstvé váhy[3,4].

Inhibitory proteas (PI´s) představují jednu ze tří skupin rozpustného proteinu v hlíze bramboru, společně s patatinem a skupinou ostatních proteinů[4]. Ačkoliv bylo popsáno, že PI´s tvoří kolem 30 % celkového proteinu[5], přesný poměr zastoupení jednotlivých skupin proteinů zůstává neobjasněn. V rostlinách obecně se PI´s vyskytují často v překvapivě vysokých koncentracích[6].

První skupinu rozpustného proteinu hlízy bramboru představuje patatin, jehož triviální jméno bylo vytvořeno Racusenem a Footem[7]. Očekávaný podíl patatinu na celkovém rozpustném proteinu hlízy bramboru se pohybuje v rozmezí 20 a 40 % (cit.[5,8]). Paiva a spol.[8] demonstroval existenci lineární příbuznosti mezi množstvím patatinu, vyjádřeného jako procentický podíl z celkového rozpustného proteinu, a logaritmem hmotnosti hlízy. Patatin je dimer (homodimer), tvořící 2 identické podjednotky s molekulovou hmotností 40–43 kDa (cit.[4]). Celý protein (dimer) má molekulovou hmotnost okolo 80 kDa (cit.[9]). Patatin je glykoprotein, který může být glykosylován až 2 molekulami sacharidů. Patatin vykazuje celou řadu funkcí a enzymových aktivit. Jednou z nich je lipid acylhydrolasová (LAH) aktivita pro deacylaci lipidů a tvorbu esterů vosků[10]. To naznačuje možné zapojení patatinu v mechanismu obrany rostlin proti patogenům a tuto teorii následně podpořily i zkoušky s biologickým materiálem. Využití patatinu jako umělého krmiva pro hmyz mělo za následek potlačení růstu larev rodu *Diabrotica*[11]. Po ošetření patatinu di-isopropylfluorofosfátem došlo k inhibici jeho fosfolipasové, galaktolipasové a acylhydrolasové aktivity a rovněž byl potlačen jeho negativní vliv na růst larev. Srovnání enzymových a inhibičních vlastností patatinových frakcí z odlišných odrůd bramboru ukázalo, že galaktolipasová aktivita koreluje s inhibicí růstu, na rozdíl od fosfolipasové a acylhydrolasové. Na základě tohoto srovnání se dospělo k závěru, že patatin může působit svým vlivem na metabolismus lipidů jako obrana proti hmyzím škůdcům[12]. Další náznak možné role patatinu v obranném mechanismu rostlin pochází ze studií provedených na tabákových listech, infikovaných virem mozaiky tabáku. Infekce silně podpořila projev tří genů kódujících proteiny podobné patatinu, přičemž jeden z těchto proteinů vykazuje fosfolipasovou A2 aktivitu (PLA2). Zvýšení PLA2 v infikovaných listech, který předchází nahromadění obranných signálů odvozených od mastných kyselin, naznačuje, že PLA2 spouští syntézu těchto signálů uvolňováním mastných kyselin z membránových lipidů[13]. Patati-

nu podobný protein s galaktolipasovou aktivitou byl nalezen rovněž v listech vigny (*Vigna unguiculata*), které byly předtím podrobeny stresu ze sucha[14]. Na základě tohoto zjištění lze usuzovat na možnou širší roli patatinu v odpovědi rostliny na stres[12,14].

Skupina tzv. ostatních proteinů přítomných v hlíze bramboru (vyjma PI´s) zahrnuje proteiny s celkovou molekulovou hmotností vyšší než 40 kDa. Z hlediska důležitosti zaujímají první místo mezi proteiny této skupiny lektiny. Důvodem je jejich zapojení do obranného mechanismu rostlin, kde indukují (navozují) shlukování (aglutinaci) buněk. Některé z lektinů jsou v případě požití toxické i pro savce, neboť procházejí gastrointestinálním ústrojím takřka nezměněny a dokáží přivodit řadu odlišných poruch trávicího traktu[15]. Dalšími příklady proteinů této skupiny jsou polyfenoloxidasy, enzymy podílející se na produkci škrobu a isoenzymy fosforylasy[4].

Třetí, z pohledu našeho výzkumu nejdůležitější, skupinu představují inhibitory proteas (PI´s). Tvoří kolem 30 % z celkového rozpustného proteinu hlízy bramboru[5]. U odrůdy brambor Elkana byl podíl PI´s z celkového množství proteinu ve štávě z hlízy bramboru stanoven na 50 % (cit.[4]). Ve srovnání s patatinem jsou PI´s mnohem více heterogenní skupinou proteinů. Liší se svou molekulovou hmotností, aminokyselinovým složením, pI a inhibiční aktivitou[4]. Základní úlohou PI´s je kontrola proteolýzy. Proteolýza je klíčový proces všech žijících organismů, a proto musí být přísně kontrolována. Nepřekvapí tedy existence přirozeně se vyskytujících PI´s různého původu[16].

## 2. Klasifikace inhibitorů proteas

Přirozeně se vyskytující PI´s jsou primárně klasifikovány na základě typu, popř. typů, enzymů, které inhibují[17]. Proteasy samotné jsou většinou klasifikovány podle aminokyselinového zbytku ve svém aktivním místě.

Proteasy dělíme do 4 tříd: *1*) serinové proteasy (se serinem či histidinem v aktivním místě), *2*) cysteinové proteasy (s cysteinem v aktivním místě), *3*) aspartátové proteasy (s aspartátovou skupinou v aktivním místě) a *4*) metalloproteasy (s kovovým iontem ($Zn^{2+}$, $Mn^{2+}$ apod.) v aktivním místě)[4]. Dělení inhibitorů proteas (PI´s) do tříd vychází z předchozí klasifikace proteas, např. inhibitory serinových proteas.

V některých případech je dělení PI´s do skupin dále komplikováno strukturou aktivního místa nebo homologií sekvencí. V prvním případě se jedná o tzv. double-headed PI´s, které mají ve své struktuře 2 odlišná aktivní místa, a proto mohou inhibovat 2 odlišné enzymy. Tento jev se však při klasifikaci PI´s nebere v úvahu. PI´s ze stejné skupiny mohou být tedy single- i double-headed. Homologie sekvence se naopak jako kritérium při rozdělování PI´s do skupin používá. Příkladem mohou být inhibitory Kunitzova typu.

PI´s lze dále dělit na základě jejich molekulové hmotnosti, stavbě proteinu (monomer či multimer), hodnotě isoelektrického bodu a počtu disulfidových můstků v molekule. Tato kritéria určují, do které skupiny mohou být jednotlivé PI´s zařazeny[4]. Podle těchto kritérií lze tedy PI´s rozdělit do 7 následujících skupin: inhibitor I z bramboru (PI-1), inhibitor II z bramboru (PI-2), inhibitor karboxypeptidasy z bramboru (PCI), inhibitor aspartátových proteas z bramboru (PAPI), inhibitor cysteinových proteas z bramboru (PCPI), inhibitor proteas Kunitzova typu z bramboru (PKPI) a ostatní inhibitory serinových proteas (OSPI). Nejvíce zastoupenými skupinami inhibitorů jsou PI-2 a PCPI, které představují 22 a 12 % ze všech proteinů v hlíze bramboru[4]. Vlastnosti všech výše uvedených rodin PI´s jsou popsány v tabulce I.

Výše zmíněné rozdělení PI´s není příliš hojně využíváno. Doposud se PI´s z hlízy bramboru rozdělovaly spíše do 3 odlišných tříd a skupin[18]. První třídu tvoří bramborový inhibitor I (PI-1), což je inhibitor serinových proteas. Tento protein je pentamer, složený z isoinhibitorových promotorových podjednotek. Jeho celková molekulová hmotnost je 40 kDa (cit.[19]). Představitelem druhé třídy je bramborový inhibitor II (PI-2). Tato skupina je tvořena dimery inhibitorů serinových proteas. Obě podjednotky

Tabulka I
Vlastnosti rodin PI´s, přítomných v hlíze bramboru

| Skupina | Počet podjednotek | MW [kDa] | pI | Inhibované enzymy |
|---|---|---|---|---|
| PI-1 | 5 | 35–40 | 5,1–7,8 | chymotrypsin, trypsin |
| PI-2 | 2 | 20,5 | 5,5–5,9 | trypsin, chymotrypsin |
| PCPI | 1 | 20,1–22,8 | 5,8–9,0 | papain, trypsin, chymotrypsin |
| PAPI | 1 | 19,9 | 8,2 | trypsin, chymotrypsin, cathepsinD |
| PKPI | 1 | 20,2 | 8,0–9,0 | trypsin, chymotrypsin |
| PCI | 1 | 4,3 | – | karboxypeptidasa A |
| Ostatní | 1–2 | 21–24 | 7,5–8,8 | trypsin, chymotrypsin, elastasa |

Pozn.: Hlavní inhibovaný enzym je podtržen

Tabulka II
Rozdělení PI´s do skupin podle hlavní a specifické klasifikace PI´s

| Skupina | MW [kDa] | Podjednotka | Cys / sub. | Inhibované enzymy | Třída a skupina v tzv. potato klasifikaci PI´s |
|---|---|---|---|---|---|
| *Třída inhibitorů serinových proteas* | | | | | |
| Inhibitory Kunitzova typu | 21–23 | 1 | 4 | T,C | III,1 |
| Inhibitor I z bramboru | 40 | 4–5 | 2 | T,C,S | I |
| Inhibitor II z bramboru | 20–21 | 2 | 14 | T,C,E | II |
| *Třída inhibitorů cysteinových proteas* | | | | | |
| Multicystatiny | 85 | 1 | 0 | P | |
| Inhibitory Kunitzova typu | 20–21 | 1 | 4 | T,P,CB,CL | III,2 |
| *Třída inhibitorů asparágových protea* | | | | | |
| Inhibitory Kunitzova typu | 20–22 | 1 | 4 | CD | III,3 |
| *Třída inhibitorů metalloproteas* | | | | | |
| Inhibitor karboxypeptidasy bramboru | 4 | 1 | 6 | CaP | III,4 |

Pozn.: Inhibované enzymy: T – trypsin, C – chymotrypsin, S – subtilisin, E – elastasa, P – papain, CB – kathepsin B, CL – pathepsin L, CD – pathepsin D, CaP – karboxypeptidasa

jsou spojeny disulfidovými můstky na *N*-konci. Protein se chová jako jednodoménový protein[20].

Proteiny o molekulové hmotnosti 20 až 22 kDa jsou členy třetí třídy. Tato třída se dále dělí do 4 odlišných tříd: *1*) inhibitory proteas Kunitzova typu[21], *2*) inhibitory cysteinových proteas[22], *3*) inhibitory aspartátových proteas[23] a *4*) inhibitor karboxypeptidasy[24]. Všechny PI´s zařazené do této třídy jsou monomery. Liší se typem proteasy, kterou inhibují, a počtem cysteinových zbytků na podjednotku. Přehled všech PI´s přítomných v hlíze bramboru je uveden v tabulce II. PI´s jsou zde rozděleny podle hlavní klasifikace PI´s a rovněž podle klasifikace specifické pro PI´s z hlízy bramboru.

## 3. Role inhibitorů proteas

PI´s mohou zaujímat v rostlinách celou řadu odlišných rolí. Mohou působit jako zásobní proteiny, regulátory endogenní proteolytické aktivity[17] i jako součást mnoha vývojových procesů včetně programované buněčné smrti[25]. PI´s tvoří důležitou složku obranného mechanismu rostlin, spojeného s rezistencí rostlin vůči hmyzu a patogenům. Vykazují rovněž mnoho dalších funkcí mimo rostlinu. U řady PI´s je studována možnost jejich využití při léčbě rakoviny, dermatitid, obezity či AIDS[4].

### 3.1. Úloha inhibitorů proteas v rostlinách

#### *3.1.1. Inhibitory proteas jako součást obranného mechanismu rostlin*

Nejdůležitější oblast činnosti PI´s v rostlině představuje jejich zapojení do obranného mechanismu rostliny. V odpovědi na mechanické poranění nebo napadení patogenem či škůdcem dochází u rostlin k nárůstu zastoupení obsahu PI. Tento nárůst může být pozorován jednak v okolí poranění (lokální) a také v celé rostlině (systemický). Z toho lze odvodit možné zapojení PI v obranném mechanismu[26].

První zmínka o možné roli PI´s v obraně rostliny pochází z roku 1947, kdy Mickel a Standish zjistili, že larvy rozličného hmyzu nejsou schopny normálního vývoje, pokud se nachází na produktech ze sóji[27]. Lipke a spol.[28] dokázali, že inhibitor trypsinu přítomný v sóje je toxický pro larvy *Tribolium confusum*. Kromě těchto raných studií byla uvedena celá řada příkladů aktivity inhibitorů proteas proti určitým hmyzím druhům. Většinu PI´s zapojených do obranných mechanismů rostlin tvoří inhibitory serinových proteas. Méně častými jsou inhibitory cysteinových proteas[17]. Existuje pouze málo informací o působení zbývajících dvou tříd inhibitorů proteas (inhibitory aspartátových proteas a inhibitory metalloproteas) v obranných mechanismech rostlin[29].

V souvislosti s PI´s z hlízy bramboru je nutné zmínit práci Johnsona a spol.[30], kteří prokázali, že larvy *Manduca sexta* krmené listy transgenního tabáku exprimující transgen pro PI-2, důležitý inhibitor chymotrypsinu a trypsinu, měly v porovnání s larvami téhož druhu krmenými netransgenním materiálem značně retardovaný růst. Podobné pokusy s listy transgenního tabáku s transgenem pro inhibitor 1 z rajčete, který patří do skupiny PI-1 inhibitorů a je důležitým inhibitorem chymotrypsinu, prokázaly, že tento inhibitor má pouze malý vliv na růst larev. Z těchto výsledků lze odvodit, že největší vliv na růst larev *Manduca sexta* má inhibiční aktivita vůči trypsinu. Podobné

výsledky byly pozorovány při pokusech s larvami druhu *Teleogryllus commodus* a stravou obsahující PI-2 (cit.[4]).

Druhou důležitou třídu PI´s představují inhibitory cysteinových proteas. Mezi členy této třídy se řadí rovněž inhibitor cysteinových proteas Kunitzova typu z bramboru (PKPI). Bylo zjištěno, že hlavní proteasou v trávícím traktu *Diabrotica undecimpunctata howardi* je cysteinová proteasa. Začlenění PKPI do stravy larev tohoto druhu má za následek nárůst mortality a v podstatě rovněž potlačení růstu. To je důkazem, že PKPI může být součástí obranného mechanismu rostliny[31].

*3.1.2. Inhibitory proteas jako zásobní proteiny*

PI´s jsou přítomné v hlízách bramboru v relativně vysokém množství i bez předchozí indukce poraněním či patogenem a tato jejich přítomnost nasvědčuje tomu, že PI´s mohou sloužit i jako zásobní proteiny. Tuto možnou roli naznačil poprvé Pusztai[32]. Dokázal časovou shodu mezi obdobím maximální proteolýzy a obdobím maximálního obsahu inhibitoru proteas v průběhu klíčení fazolu šarlatového.

Derbyshire a spol.[33] stanovili jako hranici pro zásobní protein obsah proteinu 5 % z celkového množství proteinu. Jelikož PI´s tvoří 30 % všech rozpustných proteinů v hlíze bramboru, mohly by být považovány za zásobní proteiny. Problémem je však fakt, že PI´s netvoří homologní skupinu, ale patří do rozdílných tříd a skupin. Další problém představuje kolísání jejich koncentrace v průběhu zrání. Proto PI´s nenaplňují zcela definici zásobního proteinu.

PI´s mohou sloužit jako zdroj síry, nezbytné pro klíčení semen. Obecně jsou PI´s velmi bohaté na zbytky cysteinu, jak je zřejmé z tab. II. To však platí především pro PI´s s nízkou molekulovou hmotností (3−13 kDa)[34].

*3.1.3. Inhibitory proteas a jejich úloha při kontrole endogenních proteas*

Shain a Mayer[35] studovali interakce mezi proteasami podobnými trypsinu a PI´s v semenech salátu. Ve svých studiích dokázali, že PI´s mohou být aktivní vůči endogenním proteasám. Dalším příkladem regulace aktivity endogenních proteas je exprese inhibitorů cysteinových proteas v kukuřici, kde se vyskytují paralelně s hromaděním glutelinu. To je známkou zapojení PI´s do ochrany glutelinu proti hydrolýze[36]. Dále byla popsána schopnost inhibitorů Bowmanova-Birkova a Kunitzova typu ze sóji inhibovat purifikovanou serinovou proteasu rovněž ze sóji[37]. Inhibitory cysteinových proteas, které jsou přítomné v semenech a hlízách v menších množstvích než inhibitory serinových proteas, se účastní regulace fyziologicko-metabolických procesů[38].

## 3.2. Využití inhibitorů proteas v lékařství

PI´s jsou zkoumány i z hlediska využití v lékařském výzkumu. Ačkoliv byly dlouho považovány pouze za antinutriční faktory, dostávají se v posledních letech do popředí zájmu zejména díky svým možným protirakovinným a specifickým dietetickým vlastnostem.

*3.2.1. Využití protirakovinných účinků inhibitorů proteas*

PI´s jsou uznávána jako skupina protirakovinných činidel[39]. Tuto schopnost lze pozorovat u PI´s pocházejících z různých skupin. Jako nejúčinnější se jeví PI´s se schopností inhibovat proteasy podobné chymotrypsinu, ke kterým patří v současnosti nejstudovanější inhibitor Bowmanova-Birkova typu ze sóji (BBI). PI´s z hlízy bramboru v této oblasti nezůstávají pozadu. Obzvláště perspektivními se zdají být PI-1 a PI-2. Současně narůstá zájem o ostatní skupiny PI´s z hlízy bramboru, zejména o inhibitory aktivní vůči cysteinovým proteasám a karboxypeptidase[40].

K nejrozšířenějším formám rakoviny patří karcinomy kůže. V souvislosti s touto formou rakoviny byly studovány účinky PI-1, PI-2 a PCI.

Jednou z příčin nárůstu výskytu karcinomů lidské kůže je sluneční UV záření. Za aktivaci promotoru tumoru v savčích buňkách je zodpovědná aktivace aktivátorového proteinu (AP-1), což je transkripční faktor. Pokusy s PI-1 a PI-2, aplikované na myší epidermální buňky, prokázaly, že tyto PI´s jsou schopny blokovat UV zářením indukovanou aktivaci AP-1. Tato inhibice je navíc specifická pouze pro přenos signálu pro aktivaci AP-1, který byl indukován UV zářením[41].

Jako značně perspektivní v léčbě rakoviny se projevuje rovněž inhibitor karboxypeptidasy z hlízy bramboru (PCI), který je jediným přirozeným antagonistou lidského epidermálního růstového faktoru (EGF). EGF spolu se svým receptorem (EGFR) tvoří součást některých aspektů vývoje nádoru, včetně růstu nádorových buněk, vaskularizace, invazivnosti a tvorby metastáz. PCI soupeří s EGF o vazebné místo na EGFR. V případě, že dojde k navázání PCI na EGFR, je inhibována jeho aktivace a následná proliferace buněk, kterou EGFR indukuje. Příčinou tohoto jevu je pravděpodobně disulfidická smyčka, tzv. T-knot, která se kromě PCI vyskytuje rovněž v mnoha růstových faktorech včetně EGF (cit.[4]).

Další možnost vzniku rakoviny je spojena s funkcí fagocytujících buněk. Ty jsou stimulovány invazí bakterií a následně vytvářejí aktivní kyslíkové druhy. Weitzman a spol.[42] popsali podíl těchto aktivních druhů na vzniku zánětlivých onemocnění, nekróz okolních tkání, mutagenitě a karcenogenitě. Následně bylo dokázáno, že inhibitory chymotrypsinu, obzvláště PI-1, jsou schopny inhibovat tvorbu aktivních kyslíkových druhů v průběhu oxidačního spalování ve stimulovaných lidských leukocytech s polymorfními jádry[38].

*3.2.2. Inhibitory proteas v léčbě dermatitid*

Další možné využití PI´s v medicíně představuje jejich zapojení do léčby kožních onemocnění (dermatitid). Zde se PI´s uplatňují především v léčbě perianálních dermatitid. Ty vznikají často jako následek průjmových nebo jiných gastrointestinálních onemocnění či chirurgického zásahu v břišní krajině, kdy nedochází k dostatečné redukci a naředění proteas, pocházejících z potravy a ze šťáv

z žaludku, slinivky a tlustého střeva. Přebytečné proteasy jsou následně vylučovány exkrementy a navozují vznik dermatitid v okolí konečníku. Pro odstranění této příčiny je potřeba získat zdroj, který zahrnuje PI´s schopné inhibovat všechny typy proteas. Tímto zdrojem by mohly být hlízy bramboru, které uvedený požadavek splňují[43].

*3.2.3. Inhibitory proteas a léčba obezity*

Klíčovou roli v mechanismu nasycení hraje cholecystokinin (CCK), peptid složený z 33 aminokyselin, který stimuluje kontrakce žlučníku a vylučování trypsinogenu ze slinivky. Trypsinogen se ve dvanáctníku přeměňuje na aktivní trypsin, který mechanismem negativního zpětného kroku ovlivňuje uvolňování CCK. Přesný mechanismus tohoto ovlivňování nebyl dosud v lidském organismu dostatečně prozkoumán[44]. Vysoká hladina CCK způsobuje redukci příjmu potravy. Hlavním efektem podávání CCK před jídlem je dřívější nástup pocitu sytosti a lidé proto přestanou dříve jíst[45]. Nejprve bylo tedy vyzkoušeno intravenózní podávání CCK obézním lidem. Tento způsob měl ovšem řadu negativních vedlejších účinků, jako např. nauseu[46]. Owyang a spol.[44] zjistili, že inhibitory serinových proteas jsou schopny udržovat vyšší hladinu CCK v organismu. Použití PI-2 jako doplňku stravy způsobuje tedy nárůst hladiny CCK a tím i redukci příjmu potravy. Současně zmizely zmiňované negativní vedlejší příznaky[47].

## 4. Závěr

Inhibitory proteas (PI´s) jsou nesmírně širokou skupinou proteinů, vyskytující se u rostlin, živočichů i mikroorganismů. Z hlediska klasifikace představují značně heterogenní skupinu. Pravidla klasifikace navíc zůstávají poněkud neurčitá. Působnost PI´s zaujímá velmi široký okruh od zásobních proteinů k složkám obranného mechanismu rostlin. PI´s z hlízy bramboru nejsou výjimkou. Dva nejčastěji zmiňované PI´s (PI-1 a PI-2) jsou studovány s ohledem na možnost jejich zapojení do léčby celé řady chorob a rovněž v souvislosti se zapojením v obranném mechanismu rostlin, obzvláště v obraně vůči hmyzím škůdcům. Proto je nezbytné věnovat PI´s v budoucnu značnou pozornost.

LITERATURA


1. Messer E., v knize: *The Cambridge World History of Food* (Tipple K. F., Ornelas K. C., ed.), kap. Potatoes white. Cambridge University Press, Cambridge 2000.
2. Vokál B., Čepl J., Hausvater E., Rasocha V.: *Pěstujeme brambory*. Grada Publishing, Praha 2003.
3. Lisinska G., Leszcynski W.: *Potato Science and Technology*. Elsevier Applied Science, London 1989.
4. Pouvreau L., Gruppen H., Piersma S. R., van den Broek L. A. M., van Koeningsveld G. A., Vpraven A. G. J.: J. Agric. Food. Chem. *49*, 2864 (2001).
5. Melville J. C., Ryan C. A: J. Biol. Chem. *247*, 3443 (1972).
6. Murdock L. L., Shade R. E.: J. Agric. Food Chem. *50*, 6605 (2002).
7. Racusen D., Foote M.: J. Food Biochem. *1*, 13 (1980).
8. Paiva E., Lister R. M., Park W. P.: Plant Physiol. *71*, 161 (1983).
9. Racusen D., Weller D. L.: Food Biochem. *8*, 103 (1984).
10. Anderson C., Pinsirodom P., Parkin K. L.: J. Food Biochem. *26*, 63 (2002).
11. Strickland J. A., Orr G. L., Walsh T. A.: Plant Physiol. *109*, 667 (1995).
12. Shewry P. R.: Annals of Botany *91*, 755 (2003).
13. Dhont S., Geoffroy P., Stelmach B. A., Legrand M., Heitz T.: Plant J. *23*, 431 (2000).
14. Matos A. R., d´Arcy-Lameta A., FranVa M., Zuily-Fodil Y., Pham-Thi A. T.: Biochem. Soc. Trans. *28*, 779 (2000).
15. Carlini C. R., Grossi-de Sá M. F.: Toxicon *40*, 1515 (2002).
16. Hraška M., Rakouský S., Čurn V.: Chem. Listy *100*, 501 (2006).
17. Ryan C. A.: Ann. Rev. Phytopathol. *28*, 425 (1990).
18. Richardson M.: Methods Plant Biochem. *5*, 259 (1991).
19. Richardson M., Cossins L.: FEBS Lett. *45*, 11 (1974).
20. Lee M. C. S., Scanlon M. J., Craik D. J., Anderson M. A.: Nat. Struct. Biol. *6*, 526 (1999).
21. Walsh T. A., Twitchell W. P.: Plant Physiol. 97, *15* (1991).
22. Krizaj I., Drobnic-Kosorok M., Brzin J., Jerala R., Turk V.: FEBS Lett. *333*, 15 (1993).
23. Ritonja A., Krizaj J., Mesko P., Kopitar M., Lucovnik P., Strukelj B., Pungecar J., Buttle D. J., Barrett A. J., Turk V.: FEBS Lett. *267*, 13 (1990).
24. Hass G. M., Ako H., Grahn D. T:, Neurath H.: Biochemistry *15*, 93 (1976).
25. Solomon M., Belenghi B., Belledonne M., Monachem E., Levine A.: Plant Cell *11*, 431 (1999).
26. Lawrence P. K., Koundal K. R.: J. Biotech. *5* (1), 93 (2002).
27. Mickel C. E., Standish J.: University of Minnessota, Agricultural Experimental Station Technical Bulletin *178*, 1 (1947).
28. Lipke H., Fraenkel G. S., Liener I. E.: Food Chem. *2*, 410 (1954).
29. Wu J., Haard N. F.: Comp. Biochem. Physiol. *127*, 20 (2000).
30. Johnson R., Narvez J., An G., Ryan C.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *86*, 9871 (1989).
31. Fabrick J., Behnke C., Czapla T., Bala K., Rao A. G., Kramer K. J., Reeck G. R.: Insect Biochem. *32*, 405 (2002).
32. Pusztai A.: Planta *107*, 121 (1972).
33. Derbyshire E., Wright D. J., Boulter D.: Phytochemistry *15*, 3 (1976).
34. Jongsma M. A.: *The Resistance of Insects to Plant Proteinase Inhibitors*. Center for Plant Breeding and

Reproduction Research, Wageningen University, Wageningen 1995.
35. Shain Y., Mayer A. M.: Physiol. Plant. *18*, 853 (1965).
36. Abe K., Emori Y., Kondo H., Suzuki K., Arai S.: J. Biol. Chem. *262*, 16793 (1987).
37. Morita S., Fukase M., Hoshino K., Fukuda Y., Yamaguchi M., Morita Y.: J. Biochem. (Tokyo) *119*, 711 (1996).
38. Valeski K., Fernandes S., Campos F. A. P., Do Val R. R., Xavier-Filho J.: Plant Sci. *74*, 179 (1991).
39. Kennedy A. R.: Pharmacol. Ther. *78*, 167 (1998).
40. Billings P. C., Morrow A. R., Ryan C. A., Kennedy A. R.: Carcinogenesis *10*, 687 (1989).
41. Huang C., Ma W.-Y., Ryan C. A., Dong Z.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *94*, 11957 (1997).
42. Weitzman S. A., Weitberger A. B., Clark E. P., Stossel T. P.: Science *1985*.
43. Ruseler-van Embden J. G. H:, van Lieshout L. M. C., Smits S. A., van Kessel I., Laman J. D.: Eur. J. Clin. Invest. *34*, 303 (2004).
44. Owyang C., Louie D. S.,Tatum D.: J. Clin. Invest. *77*, 2042 (1986).
45. Pi-Sunyer X., Kissileff H. G., Thornton J., Smith G. P.: Physiol. Behav. *29*, 627 (1982).
46. Smith G. P., Gibbs J.: Ann. N.Y. Acad. Sci. *499*, 132 (1987).
47. Hill A. J., Perkin S. R., Ryan C. A., Blundell J. A.: Physiol. Behav. *48*, 241 (1990).

**L. Hanusová and V. Čurn** *(Biotechnology Centre, Faculty of Agriculture, South-Bohemian University, České Budějovice):* **Protease Inhibitors in Potato Tuber**

At present, protease inhibitors are one of the most studied natural substances. They represent a very heterogeneous group for which uniform rules for their classification have not yet been established. Protease inhibitors occurring in potato tubers can be classified in two ways: according to general classification of protease inhibitors or specific classification for protease inhibitors from potato tubers. Attention is devoted to protease inhibitors especially for their potential use in plant protection and medicine. Potato-tuber protease inhibitors are active against some insect pests such as larvae of genus Diabrotica. In medicine, they can be active in treatment of cancer, dermatitis and obesity.

**VŠCHT Praha přijme dva techniky/laboranty/ky i absolventy/ky SŠ biologického zaměření, výhodou praxe v biochemické či mikrobiologické laboratoři.**

Nabízíme:
- samostatnou práci na špičkovém pracovišti,
- příležitost k profesnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- pružnou pracovní dobu,
- příspěvek na stravování, návštěvu kulturních a sportovních zařízení, rekreaci, penzijní připojištění.

Nástup: 1. 8. 2007

Kontakt: Ing. Pavla Vlčková, pavla.vlckova@vscht.cz, tel. 220443137