Chem. Listy *113*, 732–737 (2019) Referát

# PROLYLOLIGOPEPTIDASA VE FYZIOLOGII A PATOLOGII

**PAVLA FAJTOVÁ a MARTIN HORN**

*Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6*
*horn@uochb.cas.cz*

Došlo 8.7.19, přijato 8.10.19.
**Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby urychleného publikování.**

Klíčová slova: proteolytické enzymy, serinová peptidasa, prolyloligopeptidasa, fyziologická role

## Obsah

1. Úvod
2. Prolyloligopeptidasa
   2.1. Struktura a katalytický mechanismus prolyloligopeptidas
   2.2. Aktivita a specificita prolyloligopeptidas
   2.3. Biologická role prolyloligopeptidas
3. Inhibitory prolyloligopeptidas
4. Závěr

## 1. Úvod

Proteolytické enzymy (zvané též proteasy nebo peptidasy) hydrolyzují peptidové vazby bílkovin a peptidů. Peptidasy se objevily již v raných fázích biologické evoluce, jelikož i ty nejprimitivnější organismy je využívají pro zpracování vnějších proteinových potravních zdrojů a pro štěpení vlastních bílkovin. Analýzy genomů ukazují, že až 2 % všech genových produktů připadají na peptidasy, což je řadí mezi největší funkční skupiny proteinů.

Peptidasy je možné podle katalytického mechanismu a katalytických aminokyselinových zbytků v aktivním místě dělit do sedmi tříd: na aspartátové, asparaginové, cysteinové, serinové, threoninové, glutamátové, metalopeptidasy a dosud nezařazené peptidasy s neznámým mechanismem. Podle databáze peptidas MEROPS[1] jsou peptidasy rozděleny na základě strukturní a evoluční příbuznosti do rodin a klanů. Rodiny obsahují peptidasy, které vykazují evoluční a sekvenční příbuznost. Klany jsou skupiny peptidas, které mají podobné terciární struktury[1]. Podle lokalizace štěpené peptidové vazby v substrátu se peptidasy dělí na endopeptidasy, štěpící uvnitř polypeptidového řetězce, a na exopeptidasy, štěpící z N-konce (aminopeptidasy) nebo C-konce (karboxypeptidasy) peptidového řetězce. Dipeptidylaminopeptidasy odštěpují dipeptidy z N-konce, peptidyldipeptidasy z C-konce peptidového řetězce substrátu. Oligopeptidasy jsou enzymy, které štěpí peptidy, ale nikoliv proteiny.

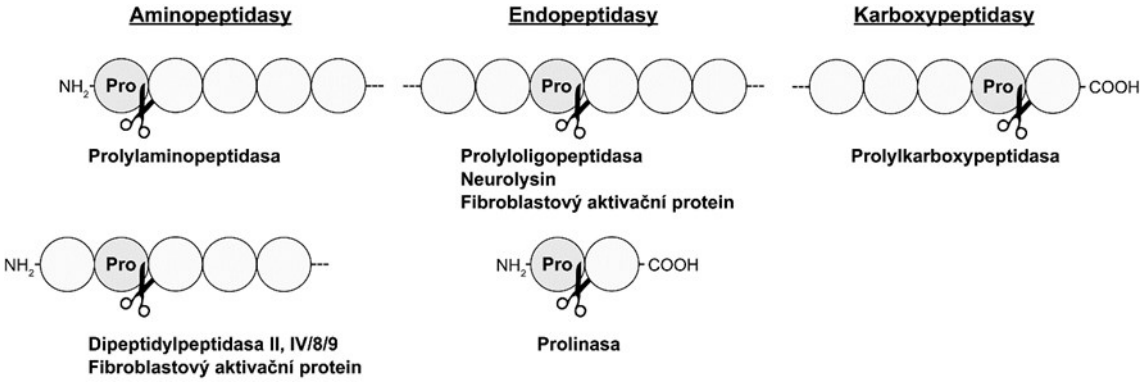
Specificita peptidas je definována vazebnými podmísty, která se nacházejí po obou stranách katalytického centra, ve kterém je štěpena peptidová vazba. Do těchto podmíst, označovaných S4-S3-S2-S1-S1′-S2′-S3′-S4′ se váží aminokyselinové zbytky polypeptidového řetězce substrátu značené od štěpené peptidové vazby směrem k N-konci P1-P4 a k C-konci P1′-P4′. Počet definovaných vazebných podmíst se u jednotlivých peptidas liší. U endopeptidas umožňuje aktivní místo vazbu do všech podmíst, zatímco u exopeptidas je počet podmíst omezen pomocí strukturních prvků, které některá vazebná podmísta blokují.

Schopnost štěpit za zbytkem Pro v pozici P1 je pozorována u peptidas relativně vzácně. Peptidová vazba tvořená prolinovým zbytkem je vůči peptidasám velmi odolná a mnoho peptidas (včetně těch, které nejsou specifické) ji není schopno hydrolyzovat. Prolin je přirozená proteinogenní aminokyselina s unikátními vlastnostmi: neobsahuje primární aminoskupinu (často se proto nazývá iminokyselina) a má postranní řetězec v podobě cyklu (pyrrolidinového kruhu), který omezuje stupeň konformační volnosti. Tyto vlastnosti chrání proteiny a peptidy obsahující prolin před obecnou proteolytickou degradací. Zároveň se v průběhu evoluce u většiny organismů vyvinuly vysoce specifické peptidasy štěpící za prolinem pro regulaci funkce bioaktivních peptidů obsahujících prolin[2]. Podle katalytického mechanismu tyto peptidasy patří mezi metalopeptidasy a serinové peptidasy, podle polohy štěpené vazby v peptidovém řetězci substrátu mezi nimi najdeme endopeptidasy, exopeptidasy a dipeptidasy (obr. 1).

Cílem tohoto přehledného referátu je podat souhrn aktuálních znalostí o prolyloligopeptidase, serinové endopeptidase štěpící peptidovou vazbu za prolinem uvnitř peptidového řetězce substrátu. S ohledem na evoluční konzervovanost prolyloligopeptidas (enzymy z různých organismů mají obdobné strukturně-funkční vlastnosti) se referát zaměřuje především na lidský enzym a jeho biologickou roli ve fyziologii a patofyziologii.

## 2. Prolyloligopeptidasa

Prolyloligopeptidasa, též nazývaná prolylendopeptidasa (EC 3.4.21.26), patří do rodiny S9 serinových peptidas, pro kterou je charakteristická katalytická triáda v pořadí Ser-Asp-His (cit.[3]). Tato rodina dále zahrnuje oligopeptidasu B, dipeptidylpeptidasy IV/8/9, fibroblastový




Obr. 1. **Variabilita peptidas štěpících peptidovou vazbu za zbytkem prolinu.** Prolyloligopeptidasa a neurolysin jsou endopeptidasy, které štěpí uprostřed peptidového řetězce substrátu. Jiné peptidasy působí jako exopeptidasy – prolylaminopeptidasa odštěpuje zbytek prolinu z N-konce peptidového řetězce, dipeptidylpeptidasy II, IV, 8 a 9 dipeptidy, prolylkarboxypeptidasa specificky rozpoznává prolin v předposlední pozici z C-konce řetězce a odštěpuje C-terminální aminokyselinový zbytek. Fibroblastový aktivační protein má jak dipeptidylaminopeptidasovou, tak i endopeptidasovou aktivitu. Prolinasa je dipeptidasa hydrolyzující dipeptidy, které obsahují prolin na N-konci dipeptidu.

aktivační protein, acylaminoacylpeptidasu a glutamylpeptidasu[1]. Dalšími obecnými rysy peptidas této rodiny je strukturní α/β hydrolasový motiv katalytické domény, jejíž aktivní místo je blokováno vrtulovou doménou cylindrického tvaru zvanou „β-propeler“, a schopnost štěpit substrát mezi aminokyselinovými zbytky Pro-Xaa, kde Xaa je jakákoliv aminokyselina.

Prolyloligopeptidasa byla poprvé identifikována v roce 1971 v lidské děloze jako enzym degradující oxytocin[4]. Popsány byly tři typy savčí prolyloligopeptidasy (v cytoplazmě[5], séru[6] a v buněčných membránách[7]), které se lišily některými fyzikálními a enzymologickými vlastnostmi, nicméně se později prokázalo, že se jedná o produkt stejného genu[8]. Ačkoliv je prolyloligopeptidasa velmi dobře charakterizována strukturně a enzymologicky, její přesná fyziologická funkce nebyla dosud objasněna.

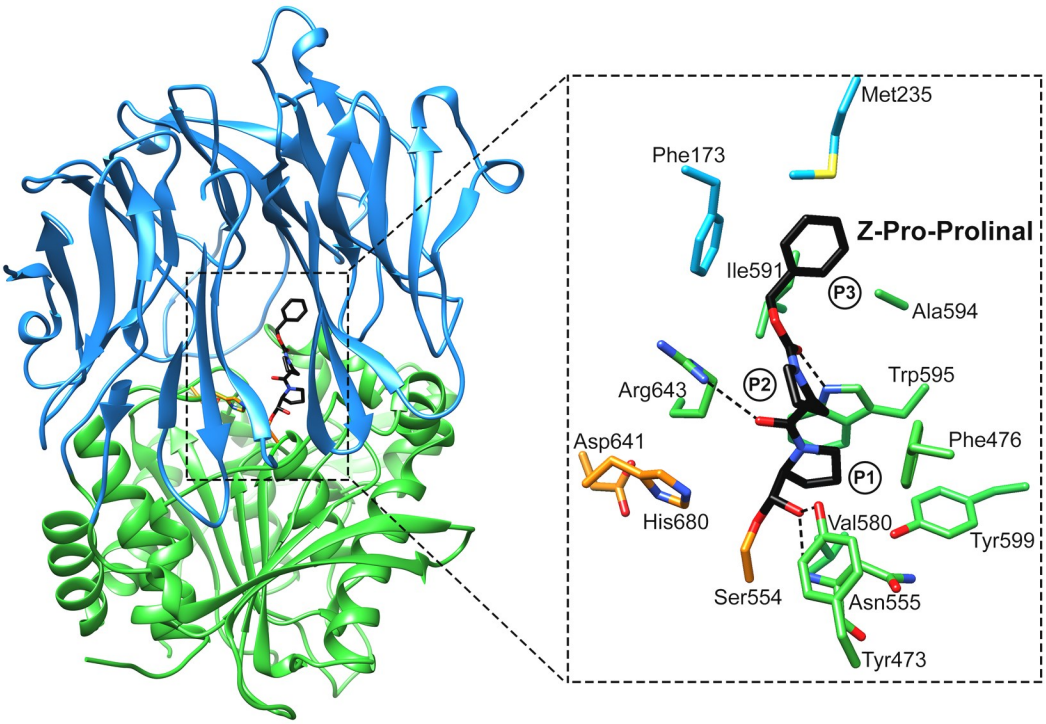
## 2.1. Struktura a katalytický mechanismus prolyloligopeptidas

Prostorová struktura byla vyřešena pro dvě savčí (lidskou a prasečí) prolyloligopeptidasy a pro enzymy z bakterií a hub. U většiny savčích druhů je sekvence prolyloligopeptidas tvořena 710 aminokyselinovými zbytky a neobsahuje žádnou signální sekvenci. Prostorová struktura enzymu má tvar válce o průměru 50 Å a výšce 60 Å. Jedná se o jednořetězcový multidoménový protein složený z peptidasové domény s aktivním centrem, na kterou axiálně navazuje kovalentně vázaná nekatalytická doména β-propeler (obr. 2).

Katalytická peptidasová doména je tvořena N- a C-koncem peptidového řetězce (aminokyselinové zbytky 1-72 a 428-710). Katalytická doména se skládá z osmi vláken středově stočených β-listů obklopených na obou stranách celkem osmi α-helixy[9]. Tento typ strukturního motivu se obecně nazývá α/β hydrolasový motiv, protože mnoho proteinů s touto doménou má hydrolasovou aktivitu[9]. β-Propeler je doména specifická pro peptidasy rodiny S9. V případě prolyloligopeptidasy má strukturu složenou ze čtyř antiparalelních β-listů sedmkrát se opakujících. Listy jsou paprsčitě stočeny okolo osy proteinu a vytvářejí ve svém středu tunel. β-Propeler funguje jako brána ke katalytickému místu enzymu, která propouští substráty do velikosti maximálně 30 aminokyselinových zbytků a chrání tak větší peptidy a proteiny před proteolýzou v cytosolu[9].

Aktivní místo obsahující katalytickou triádu (aminokyselinové zbytky Ser554, Asp641, His680) je uloženo v prostorné dutině na rozhraní obou domén. Hydroxylová skupina Ser554 je vystavena do prostoru, kde je snadno přístupná pro imidazolovou skupinu His680, která zbytek serinu deprotonuje. Na druhé straně deprotonovaný Ser554 nukleofilně atakuje karbonylovou skupinu peptidové vazby mezi zbytkem prolinu a následujícím aminokyselinovým zbytkem štěpeného substrátu. Asp641 je v rovině s imidazolovým kruhem His680, se kterým tvoří vodíkovou vazbu, a tím ho polarizuje. Analogický katalytický mechanismus byl popsán i pro některé další serinové peptidasy, například pro peptidasy rodiny S1 (rodiny chymotrypsinu).

Krystalová struktura prolyloligopeptidasy v komplexu s peptidomimetickým inhibitorem Z-Pro-Prolinalem (Z = benzyloxykarbonyl), reaktivním aldehydem odvozeným od struktury malých syntetických substrátů používaných pro stanovení aktivit prolyloligopeptidas[2], umožnila analyzovat vazbu inhibitorů a substrátů do aktivního místa prolyloligopeptidasy. Nukleofilní skupina Ser554 tvoří kovalentní hemiacetalový adukt s aldehydem inhibitoru. Hydrofobní vazebné podmísto S1, tvořené zbytky Phe476, Val580, Trp595, Tyr599 a Val644 poskytuje nepolární prostředí pro vazbu prolinového zbytku (obr. 2). Specifita vazby je zvýšena stohováním (tzv. „stacking“) mezi zbytkem prolinu a indolovým kruhem Trp595. Vazebné podmísto S2,




Obr. 2. **Prostorový strukturní model prolyloligopeptidasy v komplexu s inhibitorem Z-Pro-Prolinalem (PDB kód: 1QFS).** Prolyloligopeptidasa se skládá ze dvou domén: peptidasové domény (zeleně) s aktivním centrem, ve kterém se nachází katalytická triáda Ser554, Asp641 a His680 (žlutě) a kovalentně vázaný inhibitor (černě), a z β-propeleru (modře), který stéricky blokuje přístup ke katalytickému místu, kam propouští pouze oligopeptidové substráty. Výřez: Detail aktivního místa prolyloligopeptidasy ukazuje interakci se Z-Pro-Prolinalem (černě). Zobrazeny jsou postranní řetězce katalytických zbytků (oranžově) a zbytků tvořících vazebná podmísla P1, P2 a P3 (zeleně a modře podle umístění v peptidasové doméně respektive v β-propeleru). Heteroatomy dusík, kyslík a síra jsou zobrazeny tmavě modře, červeně a žlutě.

tvořené převážně Arg643, je méně specifické a podmísto S3 je tvořeno postranními řetězci nepolárních zbytků (Phe173, Met235, Ile591 a Ala594), což vytváří relativně hydrofobní prostředí.

Substrát přistupuje do aktivního místa prolyloligopeptidasy bočním otvorem mezi β-propelerem a katalytickou doménou. Prolyloligopeptidasa má aktivní konformační dynamiku, nachází se v rovnováze mezi uzavřenou a otevřenou konformací. Vazbou substrátu nebo kompetitivního inhibitoru se posunuje konformace proteinu z otevřené na uzavřenou formu. V blízkosti předpokládaného vstupu do katalytického místa jsou umístěny pružné mobilní smyčky, které regulují vstup do tohoto místa.

## 2.2. Aktivita a specificita prolyloligopeptidas

Prolyloligopeptidasa je endopeptidasa štěpící pouze oligopeptidové substráty, ve kterých hydrolyzuje vazby Pro-Xaa (Xaa je jakákoliv aminokyselina kromě prolinu) [10]. Substrátová specifita prolyloligopeptidasy byla studována pomocí sady syntetických substrátů[10,11]. Tyto studie ukázaly, že aktivní místo enzymu je tvořeno pěti vazebnými podmísty S3, S2, S1, S1′ a S2′. V substrátové pozici P1 preferuje prolyloligopeptidasa kromě prolinu také alanin, ovšem rychlost hydrolýzy vazby Ala-Xaa je o jeden až dva řády nižší než u vazby Pro-Xaa[12,13]. V pozici P2 preferuje bazické, hydrofobní a alifatické aminokyseliny[14], v P1′ hydrofobní aminokyseliny, v pozicích P3 a P2′ nebyla pozorována výrazná preference pro žádnou aminokyselinu[15]. Prolyloligopeptidasy z různých druhů nevykazují podstatné rozdíly v substrátové specifitě[16]. Pro stanovení katalytické aktivity prolyloligopeptidasy se používají malé syntetické chromogenní a fluorogenní substráty, nejčastěji dipeptid Gly-Pro s blokovaným N-koncem a připojenou detekční skupinou. pH optimum aktivity prolyloligopeptidas z různých druhů je mezi pH 7 a 8.

Prolyloligopeptidasa *in vitro* fragmentuje hormony obsahující prolin jako např. vasopresin, oxytocin, bradykinin, angiotensin, neuropeptidy ovlivňující paměť a učení jako substanci P, hormon uvolňující thyreotropin a opoidní neurotransmitery endorfiny a endomorfiny. Detailní seznam biologických peptidů fragmentovaných prolyloligopeptidasou *in vitro* lze nalézt v přehledném článku Garcia-Horsman a spol. (cit.[17]).

Prolyloligopeptidasa neštěpí proteinové substráty jako jsou např. lidský gastrin, kolagen, albumin, imunoglobuli-

ny, elastin nebo hemoglobin. Jedinou známou výjimkou jsou enzymy z parazitů rodu *Trypanosoma* (nazývané Tc80 a Tb80), které degradují fibronektin a kolageny typu I a IV (cit.[18]).

### 2.3. Biologická role prolyloligopeptidas

Prolyloligopeptidasa je široce rozšířena v mikroorganismech, houbách, rostlinách i u živočichů včetně člověka[16]. Ačkoliv jsou savčí prolyloligopeptidasy velmi dobře charakterizovány jak strukturně, tak i enzymologicky, jejich fyziologické funkce nebyly dosud plně pochopeny.

U člověka je prolyloligopeptidasa přítomna ve všech orgánech a tkáních, nejvíce v mozku, ledvinách, varlatech a brzlíku[19]. V lidském mozku byla prolyloligopeptidasa lokalizována výhradně v neuronech v mozkové kůře, oblastech, které jsou spojené s učením a dlouhodobou pamětí[20]. Enzymová aktivita prolyloligopeptidasy byla také nalezena v tělních tekutinách (v krvi a spermatu), v proliferujících buňkách a různých nádorech[19].

Prolyloligopeptidasa *in vitro* degraduje řadu biologicky aktivních peptidů, hormonů a neuropeptidů[17], které jsou úzce spojovány s neurodegenerativními a neurologickými chorobami (s poruchami paměti, depresemi[21], s kognitivní disfunkcí u osob trpících stařeckou demencí, Alzheimerovou a Parkinsonovou chorobou[22]), nebo se podílí na regulaci krevního tlaku[23]. Nicméně modulace aktivit bioaktivních peptidů prolyloligopeptidasou byla prokázána *in vivo* pouze pro substanci P, vasopresin a hormon uvolňující thyreotropin[24,25]. Podle jedné z hypotéz mají inhibitory prolyloligopeptidasy pozitivní vliv při léčbě poruch paměti, učení a mozkových poruch a obnovují sníženou hladinu neuropeptidů spojovanou s procesem stárnutí nebo mají příznivý vliv na progresi neurodegenerativních poruch[26].

Prolyloligopeptidasa by mohla mít prospěšné účinky při léčbě pacientů s celiakií, neboli glutenovou enteropatií, zánětlivým onemocněním sliznice tenkého střeva způsobeným nestráveným lepkem (glutenem), který je bohatý na prolin[27,28]. Momentálně je jedinou léčbou přísná dieta bez glutenových proteinů obsažených v pšenici, žitě a ječmeni. Za výše zmíněný zánět tenkého střeva jsou zodpovědné na prolin bohaté peptidy vzniklé neúplným štěpením lepku pepsinem a pankreatickými peptidasami[29]. Jelikož prolyloligopeptidasa degraduje tyto imunogenní peptidy, mohla by být použita k účinné detoxifikaci lepku.

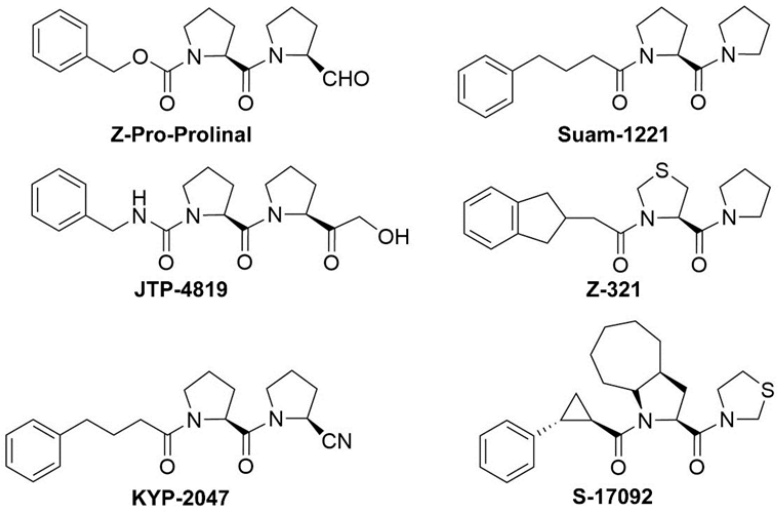
Mnoho funkcí prolyloligopeptidasy je zprostředkováno nikoliv její aktivitou, ale interakcemi s jinými proteiny. Nejvíce studovaná interakce je s α-synukleinem (přehledně shrnuta v článku[30]). Prolyloligopeptidasa *in vitro* akceleruje rychlost agregace α-synukleinu, což je jeden z klíčových faktorů patologie Parkinsonovy nemoci. Ačkoliv proces agregace není spojen s aktivitou enzymu, je možné jej blokovat prostřednictvím inhibitorů prolyloligopeptidasy. Ty pravděpodobně indukují změnu terciární struktury prolyloligopeptidasy a znemožňují tak interakci s α-synukleinem. *In vivo* byly prolyloligopeptidasa a α-synuklein kolokalizovány v buněčných liniích nadměrně produkujících α-synuklein a posmrtně v černé substanci (*substantia nigra*) mozku osob trpících Parkinsonovou nemocí[31]. U buněčného modelu inhibitory prolyloligopeptidasy zabránily kolokalizaci s α-synukleinem a výrazně snížily množství agregovaného α-synukleinu[32]. Prolyloligopeptidasy proto představují potenciální cíl pro léčbu tohoto onemocnění.

Dále je prolyloligopeptidasa považována za potenciální cíl pro léčbu parazitárních chorob: schistosomózy, Chagasovy choroby a spavé nemoci[14,33]. U krevničky, původce schistosomózy, je prolyloligopeptidasa lokalizovaná na povrchu parazita a je zapojena do interakce s hostitelem. Přispívá k modulaci nebo deregulaci homeostatických systémů řízených peptidovými hormony, a tím napomáhá přežití parazita v krevním systému hostitele. Antischistosomální účinek inhibitorů prolyloligopeptidasy byl testován na živých larvách krevničky (tzv. schistosomulách). Při kultivovaci v médiích tyto inhibitory způsobily silnou degeneraci až mortalitu schistosomul[14]. Prolyloligopeptidasa krevničky je proto kritická pro přežití tohoto parazita a řadí se mezi potenciální cílové molekuly pro vývoj antischistosomálních terapeutik na bázi malých inhibitorů[34].

Oproti ostatním prolyloligopeptidasám mají trypanosomální enzymy z protozoálních parazitů *Trypanosoma cruzi* a *T. brucei* (Tc80 a Tb80), původců Chagasovy a spavé nemoci, odlišné fyziologické funkce. Jako jediné prolyloligopeptidasy jsou schopné degradovat proteiny, konkrétně složky extracelulární matrix hostitele, jako jsou kolageny typu I a IV. Jsou vylučovány parazity do hostitele, kde napomáhají degradovat tyto proteiny extracelulární matrix a bazální laminy a přispívají tak k invazi do dalších hostitelských buněk[18,33].

## 3. Inhibitory prolyloligopeptidas

Připraveny a testovány byly stovky účinných syntetických inhibitorů prolyloligopeptidasy, několik z nich bylo aplikováno i v klinických studiích (detailně jsou zpracovány v přehledných referátech[26,35]). Většina těchto inhibitorů jsou analoga malých syntetických substrátů a jsou charakteristické reaktivními deriváty prolinu nebo pyrrolidinovým kruhem v pozici P1. Karboxylová skupina tohoto prolinu je často nahrazena elektrofilní skupinou, jako je např. nitril, aldehyd nebo keton (obr. 3). Prolin nebo jeho deriváty jsou preferovány i v pozici P2 a hydrofobní aromatické cykly v pozici P3. Jedním z prvních syntetických inhibitorů byl aldehyd Z-Pro-Prolinal[36], který se používá jako kanonická sloučenina pro vývoj nových peptidomimetik. Dalšími, často používanými inhibitory jsou reverzibilní kovalentní inhibitory JTP-4819, KYP-2047 a nekovalentní inhibitory jako SUAM-1221, Z-321 a S-17092 (obr. 3). Tyto specifické inhibitory byly navrženy k objasnění funkce prolyloligopeptidasy v biologických a patologických procesech. V klinických testech byly jako terapeutická činidla pro léčbu kognitivních deficitů testovány tři inhibitory prolyloligopeptidasy (S-17092, Z-321 a JTP-4819), nicméně klinické studie byly zastaveny




Obr. 3. **Vybrané syntetické nízkomolekulární inhibitory prolyloligopeptidasy**

z důvodu nízké účinnosti při podávání lidem – aplikace inhibitorů neprokázala výrazné kognitivní zlepšení.

## 4. Závěr

Prolyloligopeptidasa je cytoplasmatická serinová peptidasa, která štěpí biologicky aktivní peptidy (hormony a neuropeptidy) za prolinovým zbytkem. Tento enzym je u savců přítomný téměř ve všech tkáních, relativně vysoká koncentrace se nachází ve tkáních centrálního nervového systému. Přepokládá se proto, že prolyloligopeptidasa je zapojena do neurologických procesů a inhibitory prolyl-oligopeptidasy by mohly zlepšovat kognitivní vlastnosti a mít neuroprotektivní účinek. Nicméně přesná biologická role prolyloligopeptidasy je stále nejasná, a proto není stále dobře definovaným terapeutickým cílem. Pro objasnění její biologické úlohy a pro ověření terapeutického účinku inhibitorů v kognitivních procesech jsou nutné další studie.

*Tato práce vznikla za podpory projektu InterBioMed LO1302 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky a grantového projektu 19-17269S Grantové agentury České republiky.*

LITERATURA

1. Rawlings N. D., Barrett A. J., Thomas P. D., Huang X., Bateman A., Finn R. D.: Nucleic Acids Res. *46*, D624 (2018).
2. Cunningham D. F., O'Connor B.: Biochim. Biophys. Acta *1343*, 160 (1997).
3. Barrett A. J., Rawlings N. D.: Arch. Biochem. Biophys. *318*, 247 (1995).
4. Walter R., Shlank H., Glass J. D., Schwartz I. L., Kerenyi T. D.: Science *173*, 827 (1971).
5. Kato T., Okada M., Nagatsu T.: Mol. Cell. Biochem. *32*, 117 (1980).
6. Dresdner K., Barker L. A., Orlowski M., Wilk S.: J. Neurochem. *38*, 1151 (1982).
7. Gotoh H., Hagihara M., Nagatsu T., Iwata H., Miura T.: Clin. Chem. *34*, 2499 (1988).
8. Tenorio-Laranga J., Venäläinen J. I., Männistö P. T., García-Horsman J. A.: FEBS J. *275*, 4415 (2008).
9. Fülöp V., Böcskei Z., Polgár L.: Cell *94*, 161 (1998).
10. Wilk S.: Life Sci. *33*, 2149 (1983).
11. Nomura K.: FEBS Lett. *209*, 235 (1986).
12. Walter R., Yoshimoto T.: Biochemistry *17*, 4139 (1978).
13. Yoshimoto T., Fischl M., Orlowski R. C., Walter R.: J. Biol. Chem. *253*, 3708 (1978).
14. Fajtová P. a 10 spoluautorů: PLoS Neglected Trop. Dis. *9*, e0003827 (2015).
15. Koida M., Walter R.: J. Biol. Chem. *251*, 7593 (1976).
16. Venäläinen J. I., Juvonen R. O., Männistö P. T.: Eur. J. Biochem. *271*, 2705 (2004).
17. Garcia-Horsman J. A., Männistö P. T., Venäläinen J. I.: Neuropeptides *41*, 1 (2007).
18. Bastos I. M., Motta F. N., Charneau S., Santana J. M., Dubost L., Augustyns K., Grellier P.: Microbes Infect. *12*, 457 (2010).
19. Goossens F., De Meester I., Vanhoof G., Scharpé S.: Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. *34*, 17 (1996).
20. Myöhänen T. T., Venäläinen J. I., Tupala E., Garcia-Horsman J. A., Miettinen R., Männistö P. T.: Neurochem. Res. *32*, 1365 (2007).
21. Maes M., Goossens F., Scharpe S., Calabrese J., Desnyder R., Meltzer H. Y.: Psychiatry Res. *58*, 217 (1995).

22. Toide K., Shinoda M., Iwamoto Y., Fujiwara T., Okamiya K., Uemura A.: Behav. Brain Res. *83*, 147 (1997).
23. Welches W. R., Santos R. A., Chappell M. C., Brosnihan K. B., Greene L. J., Ferrario C. M.: J. Hypertens. *9*, 631 (1991).
24. Toide K., Okamiya K., Iwamoto Y., Kato T.: J. Neurochem. *65*, 234 (1995).
25. Bellemère G., Vaudry H., Morain P., Jégou S.: J. Neuroendocrinol. *17*, 306 (2005).
26. Lawandi J., Gerber-Lemaire S., Juillerat-Jeanneret L., Moitessier N.: J. Med. Chem. *53*, 3423 (2010).
27. Hausch F., Shan L., Santiago N. A., Gray G. M., Khosla C.: Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. *283*, G996 (2002).
28. Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G. M., Sollid L. M., Khosla C.: Science *297*, 2275 (2002).
29. Piper J. L., Gray G. M., Khosla C.: J. Pharmacol. Exp. Ther. *311*, 213 (2004).
30. Lambeir A. M.: CNS Neurol. Disord.: Drug Targets *10*, 349 (2011).
31. Hannula M. J., Myöhänen T. T., Tenorio-Laranga J., Männistö P. T., Garcia-Horsman J. A.: Neuroscience *242*, 140 (2013).
32. Myöhänen T. T., Hannula M. J., Van Elzen R., Gerard M., Van Der Veken P., García-Horsman J. A., Baekelandt V., Männistö P. T., Lambeir A. M.: Br. J. Pharmacol. *166*, 1097 (2012).
33. Bastos I. M., Motta F. N., Grellier P., Santana J. M.: Curr. Med. Chem. *20*, 3103 (2013).
34. Jílková A., Horn M., Mareš M.: Chem. Listy *112*, 3 (2018).
35. Lopez A., Tarrago T., Giralt E.: Expert Opin. Ther. Pat. *21*, 1023 (2011).
36. Yoshimoto T., Kawahara K., Matsubara F., Kado K., Tsuru D.: J. Biochem. *98*, 975 (1985).

**P. Fajtová and M. Horn** *(Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences, Prague):* **Prolyl Oligopeptidase in Physiology and Pathology**

Prolyl oligopeptidase is an atypical serine peptidase which digests bioactive peptides, including hormones and neuropeptides. Prolyl oligopeptidase cleaves internal peptide bonds on the C-terminal side of proline residues. Orthologous enzymes are found in plants, bacteria, fungi, protozoa, invertebrates and vertebrates. This review provides an update on function and structure of prolyl oligopeptidase; it is also focused on its biological role and implication in physiological processes and disorders.

Keywords: proteolytic enzymes, serine peptidase, prolyl oligopeptidase, physiological role

*Acknowledgements*
*This work was supported by the project InterBioMed LO1302 from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and by grant 19-17269S from the Czech Science Foundation.*