

Abstrakt

Cytochromy P450 jsou jedny z hlavních enzymů přeměňujících xenobiotika. Jsou řazeny mezi monooxygenasy se smíšenou funkcí (MFO). Isoforma 1A1 je extrahepatální forma nacházející se hlavně v plicích, minoritně i v jiných orgánech. Je výrazně indukována polycyklickými aromatickými uhlovodíky a jejich deriváty prostřednictvím Ah receptoru. Jako markerové reakce pro tento enzym lze využít hydroxylace Sudanu I, který se dříve hojně používal jako barvivo v průmyslu. V 80. letech byl prokázán jeho negativní vliv na organismus. NADPH:cytochrom P450 reduktasa je hlavním donorem elektronů pro monooxygenační reakce katalyzované cytochromy P450. Dalším přenašečem elektronů pro reakce katalyzované cytochromy P450 je pak cytochrom b₅. Jak již bylo dokázáno, vzájemný poměr reduktasy a cytochromu b₅ může mít vliv na přeměnu řady xenobiotik tedy i na hydroxylaci Sudanu I.

Tato práce se zabývá vlivem vzájemných poměrů NADPH:cytochrom P450 reduktasy a cytochromu b₅ vůči cytochromu P450 1A1 na hydroxylaci Sudanu I. Hlavním úkolem tedy je charakterizovat vliv poměrů elektronového donoru a elektronového přenašeče na hydroxylaci Sudanu I, konkrétně určit kinetické parametry K_M a V_{MAX} pro vybrané poměry proteinů. Dílčími úkoly práce pak bylo charakterizovat využívané proteiny a případně je purifikovat, optimalizovat metody přípravy vzorků a zpřesnit kvalitativní a kvantitativní stanovení metabolitů Sudanu I.

Klíčová slova: cytochrom P450, NADPH:cytochrom P450 oxidoreduktasa, cytochrom b₅, protein-protein interakce, Sudan I, HPLC, enzymová kinetika