

## ABSTRAKT

---

Cytochrom  $b_5$  (CYB5) je hemový protein schopný redukce cytochromů P450 (CYP) nebo jiných enzymů. Jeho regulační schopnost však byla rovněž pozorována i v apo formě, tedy bez přítomnosti hemové prostetické skupiny v aktivním centru. CYB5 je schopný přijetí elektronu z cytochrom  $b_5$  reductasy (CYB5R) nebo cytochrom P450 reductasy (CYPOR). Samotná CYPOR je redukována NADPH a je rovněž schopná odevzdání elektronu CYP nezávisle na CYB5. CYB5R je naopak redukována NADH.

Schopnost CYB5 přijmout a odevzdat elektron byla studována *in vitro* na pěti různých substrátech – testosteronu, Sudanu I, aristolochové kyselině I (AAI), ellipticinu a vandetanibu. Tyto substráty byly vybrány podle jejich charakteristických reakcí, jež jsou katalyzovány příslušnými isoformami CYP. Experimenty s těmito substráty byly prováděny v prostředí s rekombinantními CYP připravenými v hmyzích buňkách nebo *E. coli* nebo v prostředí s jaterními mikrosomy izolovanými z různých organismů. Potkani, z nichž byla většina mikrosomů izolována, byly zároveň premedikovány různými induktory CYP. Pro prokázání schopnosti CYB5 redukovat CYP nezávisle na CYPOR byly experimenty prováděny v prostředí s NADH nebo NADPH. Tímto způsobem byla prokázána schopnost CYB5 a CYB5R sloužit jako zdroj elektronů při metabolismu testosteronu (CYP3A4) a Sudanu I (CYP1A1). Vznik metabolitů v prostředí s NADH byl rovněž pozorován při substrátech ellipticinu a vandetanibu. Naopak při substrátu AAI v prostředí s NADH nebyl pozorován vznik žádného metabolitu. V prostředí s NADPH byl CYB5 schopný stimulovat aktivitu CYP při metabolismu testosteronu (CYP3A4), Sudanu I (CYP1A1) a vandetanibu (CYP1A2). Naopak, inhibiční efekt CYB5 v prostředí s NADPH byl pozorován při metabolismu vandetanibu isoformou CYP1A1. Vyšší aktivita CYP v prostředí s NADH oproti NADPH nebyla pozorována v žádném z provedených experimentů. V rámci předkládané diplomové práce byl prokázán vliv CYB5 na aktivitu CYP, přičemž tento vliv závisel na konkrétní isoformě CYP i na daném substrátu.

**Klíčová slova:** cytochrom  $b_5$ , cytochromy P450, benzo[*a*]pyren, ellipticin, vandetanib, aristolochová kyselina, Sudan I