

Opravný lístek bakalářské práce PŘF UK

Ondrej Bača

Vybrané potravinové doplňky jako modulátory biotransformačních enzymů

Praha 2022

Chybný text (str. 33)

Typ inhibice NAT byl určován pro oba kroky katalýzy. V obou případech byl v reakční směsi rekombinantní enzym NAT1 o koncentraci $2,4 \times 10^{-3}$ mg/ml, resp. NAT2 o koncentraci $4,8 \times 10^{-3}$ mg/ml a inhibitor přidáný ze zásobního roztoku v rozsahu konečných koncentrací 0-100 $\mu\text{mol/l}$. Inhibitory byly rozpuštěny v DMSO, který byl v reakční směsi zastoupen 4,76 objemovými procenty. V případě inhibice druhého kroku NAT2 byl DMSO ale zastoupen až 7,14 objemovými procenty.

V případě určení inhibice prvního kroku katalýzy bylo do směsi, po 5 minutách inkubace při 37 °C a míchání 450 RPM, přidán AcSCoA v rozsahu konečných koncentrací 62,5-500 $\mu\text{mol/l}$, čím byla reakce aktivována.

V druhém případě byl do reakční směsi přidán druhý substrát (PABA pro NAT1 a SMZ pro NAT2) v rozsahu konečných koncentrací 62,5-500 $\mu\text{mol/l}$, která byla inkubována 5 minut při 37 °C a míchání 450 RPM. Následně byla reakce aktivována přidáním AcSCoA, jehož koncentrace v reakční směsi byla 380 $\mu\text{mol/l}$.

Oprava:

Vliv inhibitorů na katalytickou aktivitu NAT byl určován v závislosti na koncentraci prvního substrátu, při konstantní koncentraci druhého substrátu, tak i v závislosti na koncentraci druhého substrátu, při konstantní koncentraci prvního substrátu na počátku reakce. V obou případech byl v reakční směsi rekombinantní enzym NAT1 o koncentraci

$2,4 \times 10^{-3}$ mg/ml, resp. NAT2 o koncentraci $4,8 \times 10^{-3}$ mg/ml a inhibitor přidaný ze zásobního roztoku v rozsahu konečných koncentrací 0-100 $\mu\text{mol/l}$. Inhibitory byly rozpuštěny v DMSO, který byl v reakční směsi zastoupen 4,8 % (V/V). V případě inhibice druhého kroku NAT2 byl DMSO ale zastoupen až 7,1 % (V/V).

Při sledování vlivu inhibitorů na reakci katalyzovanou NAT v závislosti na koncentraci prvního substrátu byl v reakční směsi druhý substrát (PABA pro NAT1 a SMZ pro NAT2) o konečné celkové koncentraci 238 $\mu\text{mol/l}$. Po 5 minutách preinkubace při 37 °C a míchání 450 RPM byl přidán první substrát AcSCoA v rozsahu konečných koncentrací 62,5-500 $\mu\text{mol/l}$, čím byla reakce aktivována.

Při sledování vlivu inhibitorů na reakci katalyzovanou NAT v závislosti na koncentraci druhého substrátu (PABA pro NAT1 a SMZ pro NAT2) byl druhý substrát přidán do reakční směsi v rozsahu konečných koncentrací 62,5-500 $\mu\text{mol/l}$, která byla preinkubována 5 minut při 37 °C a míchání 450 RPM. Následně byla reakce aktivována přidáním AcSCoA, jehož celková počáteční koncentrace v reakční směsi byla 380 $\mu\text{mol/l}$.

Chybný text (str. 34):

Množství vznikajícího HS-CoA do času 25 minut přibližně stejné a byla ověřena linearita pro oba isoformy do času čase 25 minut, pro dané složení reakční směsi za daných podmínek popsaných v kapitole 3.3.1.

Oprava:

Byla ověřena linearita tvorby produktu v čase 0-25 minut pro obě isoformy enzymu NAT v reakční směsi za podmínek popsaných v kapitole 3.3.1.

Chybný text (str. 36):

Obr. č. 10 Inhibice prvního kroku katalýzy NAT1 flavonoidem MYR. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 10 Vliv inhibitoru MYR na reakci NAT1 v závislosti na koncentraci prvního substrátu při konstantní koncentraci druhého substrátu. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Chybný text (str. 36):

Obr. č. 11 Inhibice prvního kroku katalýzy NAT1 flavonoidem DMY. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 11 Vliv inhibitoru DMY na reakci NAT1 v závislosti na koncentraci prvního substrátu při konstantní koncentraci druhého substrátu. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Chybný text (str. 37):

Obr. č. 12 Inhibice prvního kroku katalýzy NAT2 flavonoidem MYR. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 12 Vliv inhibitoru MYR na reakci NAT2 v závislosti na koncentraci prvního substrátu při konstantní koncentraci druhého substrátu. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Chybný text (str. 37):

Obr. č. 13 Inhibice prvního kroku katalýzy NAT2 flavonoidem DMY. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 13 Vliv inhibitoru DMY na reakci NAT2 v závislosti na koncentraci prvního substrátu při konstantní koncentraci druhého substrátu. Substrát AcSCoA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Chybný text (str. 38):

Obr. č. 14 Inhibice druhého kroku katalýzy NAT1 flavonoidem MYR. Substrát PABA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 14 Vliv inhibitoru MYR na reakci NAT1 v závislosti na koncentraci druhého substrátu při počáteční celkové koncentraci prvního substrátu 380 $\mu\text{mol/l}$. Druhý substrát PABA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi. Reakce byla zahájena přidáním prvního substrátu AcSCoA.

Chybný text (str. 38):

Obr. č. 15 Inhibice druhého kroku katalýzy NAT1 flavonoidem DMY. Substrát PABA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směs.

Oprava:

Obr. č. 15 Vliv inhibitoru DMY na reakci NAT1 v závislosti na koncentraci druhého substrátu při počáteční celkové koncentraci prvního substrátu 380 $\mu\text{mol/l}$. Druhý substrát PABA byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi. Reakce byla zahájena přidáním prvního substrátu AcSCoA.

Chybný text (str. 39):

Obr. č. 16 Inhibice druhého kroku katalýzy NAT2 flavonoidem MYR. Substrát SMZ byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 16 Vliv inhibitoru MYR na reakci NAT2 v závislosti na koncentraci druhého substrátu při počáteční celkové koncentraci prvního substrátu 380 $\mu\text{mol/l}$. Druhý substrát SMZ byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi. Reakce byla zahájena přidáním prvního substrátu AcSCoA.

Chybný text (str. 39):

Obr. č. 17 Inhibice druhého kroku katalýzy NAT2 flavonoidem DMY. Substrát SMZ byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi.

Oprava:

Obr. č. 17 Vliv inhibitoru DMY na reakci NAT2 v závislosti na koncentraci druhého substrátu při počáteční celkové koncentraci prvního substrátu 380 $\mu\text{mol/l}$. Druhý substrát SMZ byl použit v rozmezí koncentrací 62,5 – 500 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi a inhibitoru o rozsahu koncentrací 0–100 $\mu\text{mol/l}$ v reakční směsi. Reakce byla zahájena přidáním prvního substrátu AcSCoA.