

Abstrakt

Benzo[a]pyren (BaP) je významným lidským kancerogenem. Je metabolizován řadou enzymových systémů jako jsou cytochromy P450 (CYP) a epoxidhydrólasy. Cílem předkládané diplomové práce bylo studium metabolismu BaP *in vitro* jaterním mikrosomálním systémem potkanů premedikovaných induktory cytochromů P450 a dále lidským cytochromem P450 1A1 (CYP1A1) exprimovaným v eukaryotickém a prokaryotickém systému. Eukaryotický expresní systém byl tvořen mikrosomy izolovanými z hmyzích buněk, zatímco prokaryotický expresní systém tvořily „zlomky“ membrán *E. coli*. V rámci rekombinantního lidského CYP1A1 byl zkoumán vliv cytochromu b₅, NADPH:cytochrom P450 reduktasy (CPR) a epoxidhydrólasy na oxidaci BaP. Izolace a purifikace králičí jaterní CPR byla dalším cílem této práce. Metabolity vzniklé oxidací BaP byly separovány metodou HPLC. Výsledky získané v diplomové práci demonstrují, že jaterní mikrosomální systémy potkanů premedikovaných induktory CYP podrodiny 1A (Sudanem I), podrodiny 2B (fenobarbitalem) a podrodiny 3A (PCN) vykazují vyšší efektivitu oxidovat BaP než mikrosomy kontrolních potkanů. BaP je oxidován lidským CYP1A1 exprimovaným v eukaryotickém systému na šest metabolitů (BaP-9,10-dihydrodiol, metabolit BaP s dosud neurčenou strukturou, BaP-7,8-dihydrodiol, BaP-1,6-dion, BaP-3,6-dion a BaP-3-ol), zatímco oxidací BaP lidským CYP1A1 exprimovaným v prokaryotickém systému vznikají pouze čtyři metabolity (metabolit BaP s dosud neurčenou strukturou, BaP-1,6-dion, BaP-3,6-dion a BaP-3-ol). Cytochrom b₅ nemá významný vliv na oxidaci BaP lidským CYP1A1 exprimovaným v eukaryotickém i prokaryotickém systému. Oxidace BaP lidským CYP1A1 exprimovaným v prokaryotickém systému je ovlivněna množstvím CPR. Nejvyšší efektivitu oxidovat BaP vykazuje systém enzymů rekonstituovaných v poměru CYP:CPR 1:3, t.j. s nejvyšším obsahem CPR. Při poměru CYP:CPR 1:1 oxiduje lidský CYP1A1 exprimovaný v prokaryotickém systému BaP na další metabolit, BaP-7,8-dihydrodiol. Ten je intermediátem vedoucím k torbě kovalentních aduktů s DNA. V přítomnosti epoxidhydrólasy oxiduje lidský CYP1A1 exprimovaný v prokaryotickém systému BaP na dihydrodioly, konkrétně BaP-9,10-dihydrodiol a BaP-7,8-dihydrodiol. Získané výsledky přispívají k poznání metabolismu BaP lidskými cytochromy P450 exprimovanými v modelových expresních systémech.

Klíčová slova:

benzo[a]pyren, metabolismus, cytochrom P450, prokaryotický a eukaryotický expresní systém, cytochrom b₅, NADPH:cytochrom P450 reduktasa, epoxidhydrólasy, HPLC