

## Abstrakt

Cytochromy P450 jsou důležité enzymy účastníci se metabolických pochodů, které využívají exogenní i endogenní látky jako substráty pro různé enzymatické reakce. Tyto enzymy mohou také jako substrát využít prekarcinogeny a aktivovat je na karcinogeny, což může vést k rozvoji rakoviny. Některé chemopreventivní látky mohou zvyšovat aktivitu cytochromů P450, a tím i riziko rozvoje rakoviny. Proto je důležité věnovat náležitou pozornost studiu mechanismu účinku těchto enzymů a vlivu chemopreventivních sloučenin na jejich aktivitu.

mRNA exprese většiny isoform cytochromů P450 je pozorovatelná ve zdravých (netransformovaných) tkáních, například játrech, mozku, srdci, tlustém střevě, ledvinách či placentě. Přesto existuje několik cytochromů P450, jejichž mRNA jsou v netransformovaných tkáních exprimovány málo, zatímco jejich exprese v transformovaných tkáních je znatelně vyšší. Jedním z takovýchto enzymů je CYP2W1, který může být použit jako prognostický marker kolorektální rakoviny - proto je užitečné mít schopnost detekovat přítomnost tohoto enzymu v různých tkáních. Detekce cytochromů P450 může být dosaženo metodou Western blot. V této metodě je imunodetekce provedena s využitím specifických protilátek. Pro tyto účely jsou nejčastěji používány savčí protilátky (IgG), ale protilátky izolované z vaječného žloutku (IgY) se v posledních letech stávají také populárními.

Během této diplomové práce byly z primární struktury CYP2W1 vybrány dvě peptidové sekvence, které byly navázány na keyhole limpet hemocyanin (KLH). Po imunizaci slepic tímto imunogenem byly izolovány IgY precipitační metodou s chloridem sodným. Dalším krokem byla purifikace afinitní chromatografií, kterou byly získány specifické protilátky. Nakonec byly purifikované IgY použity pro imunodetekci CYP2W1 v buněčných lysátech a jejich účinnost byla srovnána s účinností králičích protilátek.