

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biochemických věd

Kandidát: Andrea Křížová

Školitel: PharmDr. Juraj Lenčo, Ph.D.

Název diplomové práce: Identifikace purifikovaných biotransformačních enzymů pomocí hmotnostní spektrometrie

Biotransformační enzymy se podílejí na metabolismu řady endogenních látek a xenobiotik. Mnoho těchto enzymů nebylo dodnes ve vztahu k metabolismu xenobiotik charakterizováno vůbec nebo jen velmi okrajově. Pro poznání a pochopení, jak působí na sloučeniny ovlivňující chod organismu jako celku, je důležité biotransformační enzymy purifikovat, identifikovat a podrobně charakterizovat.

Klasická elektroforéza má stále nezastupitelné místo v oblasti purifikace a charakterizace proteinů a ve spojení s hmotnostní spektrometrií představuje neodmyslitelný tandem k jejich identifikaci. K získání nezpochybnitelných výsledků z hmotnostně-spektrometrické (MS) identifikace proteinů je zásadní vyvarovat se kontaminaci vzorku během jeho zpracování.

Striktním používáním jednorázových pracovních pomůcek, chemikálií v MS čistotě, filtrací roztoků apod. byly na pracovišti Katedry biochemických věd zavedeny zásady pro přípravu vzorků k MS analýze. Data získaná z MS analýz ukázala, že při dodržování těchto zásad lze připravit vzorky v celém rozsahu bez rizika kontaminace. Vypracované zásady a optimalizovaný postup přípravy vzorku byl následně aplikován při identifikaci enzymu AKR1C3 získaného afinitní purifikací z lidských hepatocytů.