

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Kristýna Šperková

Školitel: RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.

Název diplomové práce: Příprava lidského DHRS1 enzymu a jeho základní charakterizace

Dehydrogenasa/reduktasa SDR rodiny člen 1 (DHRS1, SDR19C1) je nedokonale charakterizovaný zástupce nadrodiny dehydrogenas/reduktas s krátkým řetězcem (SDR). Lidské SDR enzymy katalyzují především NADPH-dependentní reakce s mnoha rozličnými substráty a hrají důležitou roli v biochemických procesech souvisejících s metabolismem lipidů, aminokyselin, steroidních hormonů, retinoidů nebo prostaglandinů. Kromě fyziologických procesů jsou lidské SDR enzymy zapojeny do patofyziologických procesů a detoxifikace xenobiotik. Předpokládá se, že i doposud necharakterizovaní zástupci SDR nadrodiny by mohli mít podobnou či překryvnou funkci. I lidská DHRS1 vykazuje fylogenetickou podobnost s enzymy hrajícími významnou roli v lidském organismu, ale zatím neexistují dostatečné informace, které by tuto úlohu DHRS1 potvrzovaly.

Cílem této práce bylo stanovit základní biochemické vlastnosti lidské DHRS1 a zjistit, zda je aktivní vůči substrátům s karbonylovou skupinou. Aktivita byla testována i na základě bioinformatických dat, podle kterých se usuzuje možné zapojení lidské DHRS1 do redukčních reakcí. Pro testování katalytické aktivity byla připravena rekombinantní forma DHRS1 pomocí metody klonování nezávislého na ligase a bakulovirového expresního systému. Ze získaných výsledků rekombinantní formy DHRS1 vyplývá, že se jedná o mikrosomální periferní protein, který interaguje s membránou endoplasmatického retikula na její vnější straně s orientací polypeptidového řetězce do cytosolu. Katalytickou aktivitu se podařilo detekovat vůči některým ligandům s karbonylovou skupinou, jako např.: estron, kortison, glukosa monohydrát, prednison, ketotifen nebo 4-benzoylpyridin.