

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Mgr. Vendula Pelcová

Školitel: Prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Název rigorózní práce: Purifikace a charakterizace membránově vázané reduktasy z lidské jaterní tkáně.

Tato práce byla zaměřena na zavedení experimentálních technik pro purifikaci lidské jaterní mikrosomální frakce. Byly zvoleny tři základní kroky purifikačního schématu. Jako první krok byla zařazena iontově výměnná chromatografie na silném anexu následována dvěma separacemi na koloně pro gelovou filtraci. Před purifikací bylo nutno mikrosomální frakci solubilizovat, aby se uvolnily proteiny z vazby na membránu a podmínky optimalizovat. Jednotlivé najímané frakce byly následně inkubovány se specifickým substrátem reduktas oracinem a množství vzniklého metabolitu 11-dihydrooracinu bylo stanoveno pomocí achirální HPLC analýzy. U nejaktivnějších frakcí byla provedena SDS-PAGE a určena velikost hledaného enzymu. Použitím protilátky na 11beta-HSD1 byla vyloučena přítomnost této reduktasy v analyzovaných frakcích. S využitím popsaných purifikačních technik se podařilo zakoncentrovat frakci s dosud nepopsanou lidskou jaterní reduktasou.