

## Abstrakt

V metabolismu velkého množství endogenních látek i xenobiotik hraje zásadní roli systém oxygenas se smíšenou funkcí (MFO systém). Tento membránový systém je tvořen cytochromy P450, NADPH:cytochrom P450 oxidoreduktasou (CPR), cytochromem  $b_5$  a NADH:cytochrom  $b_5$  oxidoreduktasou ( $b_5R$ ). Cytochrom P450 katalyzuje monooxygenaci substrátu a CPR a cytochrom  $b_5$  představují jeho redoxní partnery. Cytochrom  $b_5$ , jehož redoxním partnerem je  $b_5R$ , ovlivňuje reakce katalyzované MFO systémem, a to ne zcela objasněným mechanismem.

Tato práce se zabývá purifikací  $b_5R$  a CPR z jater králíka domácího. Diferenční centrifugací bylo získáno 18 ml mikrosomální frakce o obsahu proteinů 42 mg/ml.

Z prvního dílu mikrosomální frakce byla pomocí chromatografie na kolonách DEAE-Sepharosy, CM-Sepharosy a 5'-ADP agarosy izolována  $b_5R$  s výtěžkem 0,3 % ferrikyanid-reduktasové aktivity a obsahující několik kontaminantů o molekulových hmotnostech 50-70 kDa. Při druhé purifikaci  $b_5R$  byla použita kombinace chromatografie na koloně DEAE-Sepharosy s přímým napojením na kolonu 5'-ADP agarosy, z níž byla získána  $b_5R$  s výtěžkem 10,9 % a obsahující rovněž několik kontaminantů v intervalu molekulových hmotností 50-70 kDa. Preparát redukoval cytochrom  $b_5$  v přítomnosti NADH.

Při obou purifikacích byla rovněž získána CPR pomocí chromatografií na kolonách DEAE-Sepharosy a 2', 5'-ADP-Sepharosy. V prvním případě byla získána CPR v elektroforeticky čisté formě s molekulovou hmotností 78 kDa, s výtěžkem cytochrom c-reduktasové aktivity 3,4 %. V druhém případě byl výtěžek 4,7 %, ale preparát obsahoval z části formu CPR bez membránové kotvy (72 kDa).

**Klíčová slova:** cytochrom  $b_5$  reduktasa, cytochrom P450 reduktasa, purifikace, králík