

Cytochromy P-450 (P450) náleží do superrodiny hemoproteinů a v organismu se podílejí na metabolismu široké škály látek, mezi které patří některá léčiva a karcinogeny. V systému oxygenasy se smíšenou funkcí plní P450 funkci terminální oxygenasy. Nezbytnou součástí je také NADPH: cytochrom P450 reduktasa (CPR), která je zodpovědná za přenos dvou elektronů na P450 v průběhu jeho katalytického cyklu. Druhý elektron může místo CPR přenášet na P450 také cytochrom b5 (cyt b5). Pro pochopení reakčního mechanismu P450 je nezbytná znalost jeho terciární struktury. V současnosti je v naší laboratoři k dispozici homologní model cytochromu P-450 2B4 (CYP 2B4). Presentovaná diplomová práce měla za cíl označení vazebné domény CYP 2B4 pro cyt b5. Ke studiu bylo použito síťovací činidlo EDC tvořící amidickou vazbu mezi aminokyselinami s opačně nabitými bočními řetězci. Pomocí hmotnostní spektrometrie se nám podařilo nalézt pět párů kovalentně propojených aminokyselin.

K ověření a ke zpřesnění modelu CYP 2B4 byla použita metoda fotoafinitního značení se sondou N-(p-azidobenzyl)-N-methyl-p-aminophenylaminu. Tato sloučenina se ligandově váže na centrální atom železa hemu. Po fotoaktivaci byl pomocí MS techniky nalezen adukt argininu 197 s fotoaktivovanou sondou.

Oba presentované výsledky ukazují správnost zvolených metodických přístupů a objasňují molekulární mechanismus interakcí CYP 2B4-ligand a CYP 2B4-cyt b5.