

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Rudolf Andrýs

Vedoucí práce: prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace purifikace lidské membránově vázané karbonylreduktasy

Enzymy redukující karbonylové skupiny se účastní metabolismu mnohých endogenních i exogenních látek. Většina dosud popsanych enzymů účastnících se metabolismu xenobiotik je cytosolických, jediným takovým zatím známým mikrosomálním enzymem je 11 β -hydroxysteroiddehydrogenasa 1 (11 β -HSD1). Podílí se také na metabolismu oracinu, prochirálního protinádorového léčiva, které je redukováno na (+) a (-) 11-dihydrooracin (DHO). Na základě rozdílů stereospecifit mezi lidskou mikrosomální frakcí a 11 β -HSD1 se předpokládá podíl dalšího mikrosomálního enzymu na biotransformaci oracinu. Cílem této práce je potvrzení přítomnosti a purifikace tohoto nového lidského mikrosomálního enzymu.

Lidské jaterní mikrosomy byly solubilizovány a odsoleny. Jako první purifikační krok byla využita Q-sepharosa. Vybraná frakce Q2, získaná touto metodou, byla podrobena druhému purifikačnímu kroku na Phenyl-sepharose. Jedna ze získaných frakcí splňující požadavky byla dále přečištěna gelovou filtrací. Ve všech frakcích získaných během purifikace byla stanovena redukční aktivita vůči oracinu, stereospecifita redukce a koncentrace bílkovin. Byla získána frakce, která podle původních předpokladů tvoří 80 % (+)-DHO.

Je zřejmé, že značně purifikovaná frakce obsahuje neznámou mikrosomální karbonylreduktasu, účastnící se metabolismu oracinu, lišící se od 11 β -HSD1. Je pravděpodobné, že kromě oracinu se tento enzym bude podílet i na metabolismu podobných léčiv jako je např. doxorubicin a daunorubicin a je tedy nutné jej identifikovat.