

## Abstrakt

Ellipticin je alkaloid čeledě Apocynaceae, který vykazuje významný protinádorový a anti-HIV účinek. Na metabolismu ellipticinu se podílí cytochromy P450 (CYP) a peroxidasy za vzniku aktivačních a detoxifikačních metabolitů. Již v dřívějších pracích byly identifikovány jednotlivé isoformy CYP, které se podílí na oxidaci ellipticinu v různých tkáních (játra, plíce, ledviny) laboratorního potkana, vhodného modelu ilustrujícího osud ellipticinu v lidském organismu. V této diplomové práci byl studován vliv ellipticinu na obsah a aktivitu cytochromů P450 a na dalších složek MFO systému v tomto zvířecím modelu. Pro stanovení obsahu CYP a dalších složek MFO systému v izolovaných mikrosomech byly využity spektroskopické a elektrochemické metody. Pro stanovení katalytické aktivity CYP a NADPH:cytochrom P450 reductasy byly využity reakce se specifickými substráty. Z výsledků vyplývá, že u zvířat premedikovaných ellipticinem dochází k zvýšení exprese i katalytické aktivity CYP podrodiny 1A ve všech testovaných orgánech (játra, ledviny, plíce). V játrech navíc dochází vlivem ellipticinu ke zvýšení exprese cytochromu  $b_5$  a zvýšení exprese a katalytické aktivity CYP3A. Podobně se i obsah a katalytická aktivita NADPH:cytochrom P450 reductasy měnila v závislosti na premedikaci zvířat ellipticinem.

Cytochrom P450 2S1 patří mezi cytochromy P450, u kterých doposud není zcela známa jejich fyziologická funkce v organismu. Pro objasnění funkce CYP2S1 a pro provádění metabolických studií bylo nutné CYP2S1 připravit pomocí heterologní exprese. Pro takové experimenty byly užity bakteriální systémy *E. coli*. V rámci diplomové práce byly popsány podmínky pro produkci plasmidu pCMV, který obsahoval gen pro CYP2S1 a z použitých bakteriálních kmenů byla izolována membránová frakce. V membránové frakci nebylo nalezeno žádné absorpční maximum při 450 nm typické pro CYP. Proto byl gen pro CYP2S1 upraven a vložen do expresního plasmidu pBAD-A, který obsahuje arabinosový operon. Pro produkci byly použity bakteriální kmeny vhodné pro tento regulační systém. Nicméně ani produkce v tomto expresním systému nepřinesla požadované výsledky pro produkci CYP2S1.