

## ABSTRAKT

Částečnou purifikací z listů tabáku (*Nicotiana tabacum* L.) byla získána  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasa o specifické aktivitě  $1,72 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  se substrátem p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-glukosaminid. Izoelektrická fokusace a nativní elektroforéza odhalila jedinou izoformu enzymu. Byla stanovena relativní molekulová hmotnost gelovou chromatografií ( $M_R$  275 000) a nativní elektroforézou ( $M_R$  285 000). Dále byl stanoven izoelektrický bod (pI 5,3). Aktivita  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy byla stanovena se substráty p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-galaktosaminid i p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-glukosaminid, a dále se substráty N,N'-diacetylchitobiosa, p-nitrofenyl-N,N'-diacetylchitobiosid a N,N',N''-triacetylchitotriosa, pro které byla optimalizována metoda stanovení pomocí kapilární elektroforézy. S jednotlivými substráty bylo stanoveno pH (4,3-5,0) i teplotní optimum (50-55 °C), byl zdokumentován průběh reakce a identifikovány produkty reakcí. Aktivita  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy byla nejvyšší se substrátem p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-glukosaminid a nejnižší se substrátem N,N',N''-triacetylchitotriosa (35% při relativním srovnání). Se substráty p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-glukosaminid, p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-galaktosaminid a N,N'-diacetylchitobiosa byla stanovena maximální rychlost reakce a Michaelisova konstanta  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy. Se substrátem p-nitrofenyl- $\beta$ -N-acetyl-D-glukosaminid byla pozorována inhibice  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy nadbytkem substrátu, která u rostlinných  $\beta$ -N-acetylhexosaminidas dosud nebyla popsána, a byla stanovena konstanta inhibice nadbytkem substrátu. Byl stanoven typ inhibice a inhibiční konstanty  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy pro sacharidy D-galaktosamin, D-glukosamin, N-acetyl-D-galaktosamin a N-acetyl-D-glukosamin.

### **Klíčová slova:**

$\beta$ -N-acetylhexosaminidasa, kapilární elektroforéza, inhibice nadbytkem substrátu, N,N'-diacetylchitobiosa, p-NP-N,N'-diacetylchitobiosid, N,N',N''-triacetylchitotriosa