

Abstrakt

Cytochromy P450 jsou rozsáhlou skupinou proteinů metabolizujících široké množství substrátů. Řada z nich se významně podílí na metabolismu léčiv či jiných xenobiotik včetně řady chemických karcinogenů.

Hemoprotein cytochrom b_5 je jedno-elektronový přenašeč elektronů spolupracující s NADPH:cytochrom P450 reduktasou a NADH:cytochrom b_5 reduktasou 3, který je spjatý s metabolismem zprostředkovaným cytochromy P450. Cytochrom b_5 je schopen prostřednictvím modulace aktivity cytochromů P450 ovlivňovat metabolismus řady látek.

Cílem disertační práce bylo využít místně cílenou mutagenезi cytochromů P450 rodiny 1 k lepšímu porozumění mechanismu jejich nitroreduktasové aktivity. Dále byla studována interakce cytochromu b_5 s cytochromy P450 podrodiny 1A pomocí místně cílené mutagenезe jejich předpokládaného kontaktního rozhraní. V rámci práce byly také, za použití kombinace experimentu a teoretických přístupů, studovány rozdíly v redukci lidských cytochromů P450 v intaktních bakteriálních buňkách během jejich heterologní exprese.

Z výsledků vyplývá, že nitroreduktasová aktivita CYP1A1, CYP1A2 a CYP1B1 je zprostředkována hydroxylovou skupinou v aktivním místě a jejím zavedením lze u CYP1B1 uměle vyvolat nitroreduktasovou aktivitu. Pomocí mutagenезe byly také identifikovány aminokyseliny, které se pravděpodobně účastní interakce lidského membránového cytochromu b_5 s CYP1A1 a CYP1A2. Dále bylo také zjištěno, že některé cytochromy P450 produkované v bakteriálním systému jsou prakticky kompletně redukovány přímo v hostitelské buňce, zatímco jiné jsou redukovány jen minimálně. Proteinem, podílejícím se na tomto jevu je pravděpodobně bakteriální flavoprotein - flavodoxin.