

Abstrakt

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Katedra farmakognosie

Kandidát: Mgr. Jan Kubeš

Školitel: PharmDr. Lenka Tůmová, CSc.

Název disertační práce: Transportní mechanismy sekundárních metabolitů přes membrány rostlinných buněk

V rámci studia metabolismu isoflavonů byla pozornost zaměřena na způsob jejich transportu v rostlinách nebo *in vitro* kulturách. Tento výzkum zahrnuje identifikaci mechanismu přenosu přes membrány buněk nebo vakuol, který se odehrává pomocí transportních proteinů nebo vezikul. Přenos pěti isoflavonů (genistin, genistein, biochanin A, daidzein a formononetin) do živného media byl sledován u suspenzních kultur *Trifolium pratense* L. a *Genista tinctoria* L. Po aplikaci roztoků NH_4VO_3 (1 a $10\mu\text{M}$ koncentrace) došlo u *G. tinctoria* a *T. pratense* po 24 hodinách k zvýšení obsahu isoflavonů v živném mediu. Tento nárůst byl inhibován látkami, které ovlivňují aktivitu různých transportních mechanismů. Na koncentraci většiny isoflavonů v mediu s kulturou *T. pratense* působily převážně látky inhibující ABC proteiny z podskupiny MRP, kdy obsah genisteinu byl spíše ovlivněn MDR inhibitory. Na přítomnost isoflavonů v mediu také negativně působil brefeldin A, který inhibuje vesikulární transport. V sušině byl poté pozorován vzestup obsahu některých těchto isoflavonů. U kultury *G. tinctoria* byl snížený obsah isoflavonů v mediu po aplikaci inhibitorů pozorován ojedinele a nebylo tak možné učinit přesnější závěr. Na koncentraci jednotlivých isoflavonů působily různé látky, jako v případě NH_4Cl u genistinu, který ovlivňuje protonový gradient. V sušině nebyl většinou pozorován statisticky významný nárůst obsahu sledovaných látek ve vzorcích ošetřených inhibitory. Transport genistinu byl zkoumán i na vakuolární membráně, kdy došlo k poklesu jeho absorpce po aplikaci látek ovlivňujících protonový gradient. Přenos tohoto glykosidu tak probíhá pravděpodobně pomocí MATE transportéru. V supernatantu i vakuolách byla také pozorována zvýšená koncentrace genisteinu, který se během pozorování uvolňoval z přidaného glykosidu. Přítomnost tohoto aglykonu ve vakuolách byla ovlivněna inhibitorem protonové pumpy.

