



Doctoral Thesis

## Heterogeneity of cytochrome P-450 biochemical and biophysical studies

**Author(s):**

Keck-Oertle, Maja

**Publication Date:**

1986

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000363919> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 8007

# HETEROGENEITY OF CYTOCHROME P-450

---

BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL STUDIES

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY

for the degree of  
Doctor of Natural Sciences

presented by  
Maja Keck-Oertle  
Dipl. Natw. ETH  
born 5th July, 1958  
citizen of Zurich

accepted on the recommendation of  
Prof. K.H. Winterhalter, examiner  
Prof. A. Fiechter, co-examiner  
Dr. E.E. Di Iorio, co-examiner

Zurich 1986

### ZUSAMMENFASSUNG

Kinetische Untersuchungen ueber die Bindung von Kohlenmonoxid an phenobarbitalinduziertes Cytochrom P-450<sub>b</sub> aus Rattenleber Microsomen, sowie an P-420<sub>b</sub>, eine enzymatisch inaktive Form davon, wurden mit Hilfe von Blitzlicht-Photolyse durchgefuehrt. Unter Beruecksichtigung der Tatsache, dass in einer Probe beide Formen vorhanden sind und gleichzeitig mit Kohlenmonoxid reagieren koennen, findet man zwei bimolekulare Prozesse, die durch folgende Geschwindigkeitskonstanten charakterisiert sind:

$$P-450_b: 1.2 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}; 1.4 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$P-420_b: 1.7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}; 1.5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

Die Resultate von kinetischen Studien ueber das Binden von Kohlenmonoxid an P-450<sub>b</sub> unter verschiedenen experimentellen Bedingungen und Vergleiche von Resultaten mit unterschiedlichen P-450 Isozymen fuehrten zur Folgerung, dass das Binden von Kohlenmonoxid an reduziertes P-450<sub>b</sub> ein einfacher bimolekularer Prozess ist und dass die beobachtete Biphazizitaet Heterogenitaeten innerhalb der Proteinpraeparationen zugeschrieben werden muss. Diese Interpretation widerspricht anderen Veroeffentlichungen, in denen komplexe Mechanismen fuer das Binden von Kohlenmonoxid an P-450<sub>b</sub> vorgeschlagen werden.

Unsere obige Folgerung konnte durch kinetische Studien der

Kohlenmonoxidassoziation an P-450<sub>b</sub> Unterfraktionen, die auf Agarose IEF Gelen unter nicht denaturierenden Bedingungen mit CHAPS als Detergenz gereinigt wurden, verifiziert werden. P-450<sub>b</sub> kann in fuenf Banden fokussiert werden. Diese Subfraktionen von P-450<sub>b</sub> reagieren mit Kohlenmonoxid in einem einfachen bimolekularen Mechanismus. Alle fuenf zeigen unterschiedliche spezifische Aktivitaeten gegenueber 7-Ethoxycoumarin und p-Nitroanisol.