

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Hana Danková

Školitelé: Prof. Ago Rinke, PhD.

MSc. Tõnis Laasfeld

PharmDr. Ivan Vokřál, PhD.

Téma diplomové práce: Charakterizace vázání ligandů na M₁ muskarinový receptor s použitím metody fluorescenční anisotropie

Muskarinové acetylcholinové receptory (mAChR), které jsou členy superrodiny receptorů spřažených s G-proteiny, regulují životně důležité fyziologické procesy a jsou významnými cílovými receptory ve výzkumu léčiv. Identifikováno bylo pět subtypů těchto receptorů (M₁ – M₅). M₁ mAChR jsou lokalizovány převážně v centrální nervové soustavě a jsou spojovány s patofyziologií neurodegenerativních onemocnění. V posledních letech byly metody s použitím fluorescence často využívány ve studiích ligandů vázajících se na receptory. Fluorescenční anisotropie (FA) je homogenní metoda, která je používána na charakterizaci vázání ligandů na receptory.

V této práci jsme vyhodnocovali FA metodu s použitím fluorescenčního ligandu MK342 vázajícího se na M₁ mAChR exprimovaný na bakulovirusových částicích. Fluorescenční ligand se vázal s vysokou afinitou (4,4 nM) na M₁ receptory exprimované v bakulovirusovém vzorku. Screenovány byly afinity (pK_i) jedenácti ortosterických a tří bitopických ligandů, které byly porovnány s dříve publikovanou literaturou. Ve většině případů byly hodnoty afinity zjištěné FA metodou nižší než dříve publikované, ale lineární korelace s $R^2 = 0,95$ dokazuje, že FA metodu je možné použít ve studiích charakterizace vázání ligandů. On-line monitoring kompetitivního vázání bitopických ligandů ukazuje komplexnější způsob vázání, a proto se jeví, že MK342 je možné použít taky ve studiích alosterické modulace.