

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biologických a lékařských věd

Název diplomové práce:

Optimalizace metod pro stanovení aktivace receptoru CD44.

CD44 je transmembránový glykoprotein přítomný na většině buněčných typů, který je zapojen do řady fyziologických i patologických procesů, taktéž představuje hlavní receptor pro kyselinu hyaluronovou (HA). HA je nesulfatovaný glykosaminoglykan, přítomný ve velké míře v extracelulární hmotě, kde zajišťuje hydrataci buněk, je zapojen do nádorových procesů, ovlivňuje buněčnou migraci, podporuje angiogenezi, podílí se na hojení ran. V této práci jsme se zaměřili na optimalizaci metod sledujících aktivaci, množství a štěpení receptoru CD44 u buněčné linie HT-29.

Pomocí metod Western Blot, ELISA a průtokové cytometrie jsme pozorovali množství celkového receptoru a jeho rozštěpených domén. K aktivaci jsme využili HA o molekulové hmotnosti 71 kDa a PMA (Phorbol-12-Myristate-13-Acetate). Po aktivaci došlo k časově závislým změnám množství celkového CD44 i jeho fragmentů. Sledovali jsme také buněčnou smrt v závislosti na přítomnosti HA a PMA. Neprokázali jsme žádný významný vliv těchto látek na viabilitu buněk. Pro vizuální vyhodnocení translokace odštěpené intracelulární domény do jádra jsme použili fluorescenční a konfokální mikroskopii. Po vlivu PMA jsme pozorovali, jak se v čase přesouvá GFP-značená intracelulární doména směrem k jádru.

V této práci se nám podařilo přispět k optimalizaci postupů, kterými je možné sledovat aktivaci receptoru CD44 u buněčné linie HT-29.

Klíčová slova: kyselina hyaluronová, CD44, Western Blot, ELISA, průtoková cytometrie, mikroskopie