

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Lucie Ženklová

Školitelé: Prof. Fabio Altieri Ph.D. a PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.

Název diplomové práce: Involvement of PDIA3 in oxidative stress response

PDIA3 je členem rodiny protein disulfid isomeráz (PDI) a jedná se o protein, uplatňující se při odpovědi organismu na stres. Dále je zapojen do různých buněčných signálních drah a má v buňce nejrůznější funkce. Jeho nejznámější role je v endoplazmatickém retikulu, kde plní funkci hlavně při skládání a kontrole kvality glykoproteinů. Nicméně jeho existence byla popsána také v mnoha jiných buněčných kompartmentech, například v jádře, mitochondriích, na buněčném povrchu nebo v cytosolu, kde zasahuje do nejrůznějších procesů (fúze spermií s vajíčkem, negenomická odpověď na vitamín D3, příjem vápníku buňkou, transkripční faktor v jádře atd.). Zatímco v některých případech musí být mechanismus jeho působení potvrzen dalšími studiemi, četná pozorování potvrzují jeho účast v přenosu různých signálů z buněčného povrchu (např. kooperace se STAT proteiny) a v regulačních procesech v jádře. V nedávných studiích byla také potvrzena jeho zvýšená exprese při různých patologických procesech.

Cílem naší práce bylo zjistit, jaká je úloha PDIA3 proteinu při vystavení buňky stresu, a to v buněčných liniích MDA-MB 468 a MCF-7. Obě linie jsme po vypočítání optimální koncentrace vzhledem k mortalitě, vystavily oxidačnímu stresu v podobě tert-butyl hydroperoxidu (tBOOH) a poté sledovali pomocí metody Western blot expresi PDIA3 proteinu v časových intervalech 3, 6 a 24 hodin spolu s kontrolním vzorkem. V dalším experimentu jsme buňky před vystavením stresu ošetřili 17 β -estradiolem, protože se předpokládá, že rozdílné hladiny exprese proteinu v obou buněčných liniích po vystavení stresu souvisí právě s tím, zda jsou buňky 17 β -estradiol receptor (ERec) pozitivní nebo negativní (MDA-MB 468 jsou ERec negativní, MCF-7 jsou ERec pozitivní). Naše studie tedy rozšiřuje poznatky o proteinu PDIA3 a osvětluje procesy při stresové odpovědi v buněčných liniích MDA-MB 468 a MCF-7. Zatímco exprese proteinu u buněčné linie MCF-7 se po vystavení tBOOH se téměř neliší, u MDA-MB

468 dochází k významným změnám. Rozdíl lze pozorovat také po předchozím ošetření buněk 17 β -estradiolem.