

## Posudek školitele


Studentka Přírodovědecké fakulty UK, katedry biochemie, Alena Randáková pracovala na své diplomové práci „Vliv alkuronia na spřáhování muskarinových receptorů s G-proteiny“ na oddělení neurochemie Fyziologického ústavu AVČR letech 2007-2008.

Během celé doby studia se slečna Randáková jevila jako velmi talentovaná, cílevědomá a pilně pracující studentka. Jako spoluautorka posterového sdělení se zúčastnila konferenc FENS v Ženevě (2008). Cílem její práce bylo studium vlivu alosterického ovlivnění afinity vazby klasického muskarinového agonisty na spřáhování (přenos signálu přes membránu do buňky) muskarinových receptorů s různými G-proteiny. Ke svým pokusům použila jako zdroj jednotlivých podtypů muskarinových receptorů geneticky upravené linie CHO (Chinese Hamster Ovary) buněk, které selektivně exprimují vždy jen jeden z pěti známých podtypů muskarinového receptoru, a studovala vliv alosterického modulátoru alkuronia na spřáhování receptorů s G-proteiny vyvolané agonistou karbacholem, který je nehydrolyzovatelným analogem přirozeného mediátoru acetylcholinu. Získané výsledky porovnávala se známým vzájemným alosterickým ovlivněním afinity vazby karbacholu a alkuronia. Během experimentální práce úspěšně zvládla a uplatnila metody pěstování buněčných linií, přípravy membrán, saturační analýzy vazby ligandů a jejího zpracování, vazby  $\text{GTP}\gamma^{[35]\text{S}}$  na membrány jako funkčního stanovení přenosu signálu přes membránu a jejího zpracování a rutinní spektrofotometrické a enzymatické analýzy. Vypracovala metodu pro oddělení jednotlivých  $\alpha$ -podjednotek G proteinů pomocí imunoprecipitace.

Diplomová práce Aleny Randákové přináší zajímavé původní výsledky. Zjistila, že alosterické snížení afinity muskarinových receptorů podtypu  $M_1$ ,  $M_2$  a  $M_4$  pro karbachol je podle předpokladu doprovázeno srovnatelným zvýšením koncentrace karbacholu potřebné pro vyvolání poloviční maximální stimulace vazby  $\text{GTP}\gamma^{[35]\text{S}}$ . V případě  $M_3$  receptoru však desetinásobný pokles afinity karbacholu v přítomnosti alkuronia neměl vliv ani na karbacholem vyvolanou stimulaci vazby  $\text{GTP}\gamma^{[35]\text{S}}$  na membrány (všechny aktivované G-proteiny), ani na izolované  $G_{q/11}$  a  $G_{i/o}$   $\alpha$ -podjednotky preferenčních a nepreferenčních G-proteinů.

Jako externí školitel Aleny Randákové bez jakýchkoliv výhrad doporučuji obhájení její diplomové práce.

Praha, 10. září 2008



MUDr. Vladimír Doležal, DrSc.  
Oddělení neurochemie  
Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.  
Václavská 1083, 14220 Praha