

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Student: Pavlína Rábková

Školitel: PharmDr. Miroslav Kovařík, PhD

Název diplomové práce: Modulace exprese GRK a beta-arrestinů UVB zářením u keratocytární buněčné linie HaCaT a v epidermis

Receptory spřezané s G proteinem (GPCRs) jsou typy receptorů, které slouží k přenosu signálu a ke komunikaci mezi buňkami. Kinázy receptorů spřezané s G proteinem (GRKs) a arrestiny jsou specifické typy receptorů, které jsou schopny desenzitizace těchto GPCRs a zároveň tedy ovlivňují přenos signálu k cílovým buňkám a také délku trvání tohoto signálu. Nedávno bylo také objeveno, že tyto specifické proteiny mohou ovlivňovat migraci buněk, podílí se na karcinogenzi a na UV zářením indukované smrti buněk.

Typ GPCRs receptorů se nachází také v kůži, která představuje ochranný štít před UV zářením. UV vykazuje silný geotoxický efekt a může způsobovat poškození DNA, mutace a v nejhorším případě může také vést k tvorbě nádorů.

Cílem naší práce bylo zjistit, jaký vliv má UV záření na genovou expresi GRKs a beta arrestinu v buněčné linii HaCaT in vitro a v lidské epidermis in vivo. Snažili jsme se také o porovnání různých typů protokolů pro manipulaci s kůží a pro přípravu testovaných vzorků.

Pro tuto práci jsme použili metody jako SDS-PAGE a Western blot, barvení pomocí barviva Coomassie blue pro zjištění proteinového profilu a kvantitativní typ PCR. Pro testování viability buněčné linie HaCaT jsme využili MTT test.

Naše výsledky ukazují, že na proteinové úrovni buněčné linie HaCaT po ozáření UVB zářením, došlo k vzestupu exprese GRK2. Naproti tomu na úrovni mRNA jsme pomocí PCR odhalili zvýšenou regulaci exprese GRK5 a sníženou regulaci exprese β -arresinu 1.

Vzorky kůže byly porovnatelné pouze na úrovni mRNA a tady jsme pozorovali zvýšenou expresi GRK7 a β -arrestinu 2 po ozáření UVB.

Co se protokolů pro přípravu vzorků epidermis týče, tak jsme dospěli k závěru, že nejvhodnějšími jsou vzorky čerstvé epidermis z čerstvé kůže.