

Errata

Diplomová práce: Bc. Vojtěch Pavluch
Studium signalizace a cytoprotektivního potenciálu kanabinoidních GPR55 receptorů v PC12 buňkách

Seznam oprav:

Strana 21, řádek 13, 15, 19: termín „diabetes mellitus 2“

– správně má být: „diabetes mellitus 2. typu“

Strana 24, odstavec „Buněčná linie PC12“ (1. věta)

„Pro tuto práci byla využívána buněčná linie PC12, která byla poprvé připravena v laboratoři profesora Greenea v Nové Anglii ve Spojených státech amerických v roce 1976 z krysího nádoru dřeně nadledvin, feochromocytomu.“

– správně má být: „Pro tuto práci byla využívána buněčná linie PC12, která byla poprvé připravena v laboratoři profesora Greenea v Nové Anglii ve Spojených státech amerických v roce 1976 z potkaního nádoru dřeně nadledvin, feochromocytomu.“

Strana 33, řádek 22: termín „diabetes mellitus 1“

– správně má být: „diabetes mellitus 1. typu“

Strana 51, „Statistické zpracování výsledků“ (opraven celý odstavec)

– správně má být: „Pro statistické vyhodnocení dat byly zpracovány vždy výsledky měření ze tří buněčných replikátů. Vyhodnocení naměřených dat probíhalo v programu Microsoft Excel. Výsledky byly vyjádřeny jako aritmetický průměr s připojením příslušné směrodatné odchylky. Statistická významnost rozdílů byla vyhodnocena pro všechna data pomocí jednofaktorového ANOVA testu na hladině významnosti $p < 0,05$.“

Strana 37, odstavec „Fosforylace“, poslední věta (doplnění odkazu na Tab. 1):

„Do jednotlivých kultivačních lahví byly přidány ligandy dle následujících tabulek.“

– správně má být: „Do jednotlivých kultivačních lahví byly přidány ligandy dle následujících tabulek (Tab. 1).“

Strana 39, 1. a 2. řádek (doplnění odkazu na Tab. 2):

„Po centrifugaci byl PBS odpipetován a do jednotlivých falkon bylo napipetováno 250 μ l ledového lyzačního pufru.“

– správně má být: „Po centrifugaci byl PBS odpipetován a do jednotlivých falkon bylo napipetováno 250 μ l ledového lyzačního pufru (Tab. 2).“

Strana 41, odstavec „Analýza exprese proteinů pomocí metody imunoblotingu“ (doplnění odkazu na Tab. 3):

„Aplikace ligandů, CoCl_2 a zpracování buněk“ byly po vyjmutí z mrazáku ihned resuspendovány ve 250 μ l lyzačního pufru a uloženy na ledu po dobu 30 minut.“

– správně má být: „Aplikace ligandů, CoCl_2 a zpracování buněk“ byly po vyjmutí z mrazáku ihned resuspendovány ve 250 μ l lyzačního pufru (Tab. 3) a uloženy na ledu po dobu 30 minut.“

Strana 42, 3. a 4. Řádek (doplnění odkazu na Tab. 4 a 5):

„Ke stanovení proteinů byly použity tři roztoky a dva standardy hovězího sérového albuminu (BSA).“

– správně má být: „Ke stanovení proteinů byly použity tři roztoky a dva standardy hovězího sérového albuminu (BSA) (Tab. 4 a 5).“

Strana 42: Tabulka 5 – správně má být celá jen na straně 42:

Tab. 5: Koncentrační řada standardů BSA pro stanovení kalibrační křivky

| Standard č. | | BL | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|------------------|----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|----|-----|----|----|----|----|
| µg BSA | | 0 | 0,2 | 0,5 | 1 | 1,5 | 2,5 | 4 | 6 | 10 | 15 | 20 | 30 | 50 |
| BSA (0,1 µg/µl) | µl | - | 2 | 5 | 10 | 15 | 25 | 40 | 60 | 100 | - | - | - | - |
| BSA (1 µg/µl) | µl | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 15 | 20 | 30 | 50 |
| H ₂ O | µl | 100 | 98 | 95 | 90 | 85 | 75 | 60 | 40 | - | 85 | 80 | 70 | 50 |

Strana 44: poslední řádek (doplnění odkazu na Tab. 6):

– správně má být na konci odstavce věta: „Pro přípravu SDS-PAGE elektroforézy byly připraveny roztoky dle tabulky 6.“

Strana 47: poslední řádek 2. odstavce (doplnění odkazu na Tab. 7 a 8):

– správně mají být na konci odstavce tyto dvě věty: „Pro přípravu western blottingu a imunodetekce byly připraveny roztoky dle tabulky 7. Ředění protilátek znázorňuje tabulka 8.“

Strana 48: bod 9 (doplnění odkazu na Tab. 9):

„Byla připravena koncentrační řada standardů 1,1,3,3-tetrametoxypropanu podle tabulky:“

– správně má být: „Byla připravena koncentrační řada standardů 1,1,3,3-tetrametoxypropanu podle tabulky (Tab. 9):“

Strana 49: bod 17 (doplnění odkazu na Tab. 10):

– správně má být za tímto bodem přidána věta: „Nezbytné roztoky pro kolorimetrické stanovení peroxidace lipidů jsou uvedeny v tabulce 10.“

Strana 50: bod 17 (doplnění odkazu na Tab. 11):

– správně má být za tímto bodem přidána věta: „Nezbytné roztoky pro kolorimetrické stanovení karbonylace proteinů jsou uvedeny v tabulce 11.“

Strana 52: 2. a 3. řádek (doplnění odkazu na Tab. 12):

„Vzorky byly naředěny na stejnou koncentraci proteinů 0,1 µg · µl⁻¹.“

– správně má být: „Vzorky byly naředěny na stejnou koncentraci proteinů 0,1 µg · µl⁻¹ (Tab. 12).“

Strana 52: 10. a 11. řádek (doplnění odkazu na Tab. 13):

„Byla vypočtena podle vzorce $\sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n-1)}}$, kde x je střední hodnota výběru průměr a n je velikost hodnoty.“

– správně má být: „Byla vypočtena podle vzorce $\sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n-1)}}$, kde x je střední hodnota výběru průměr a n je velikost hodnoty (Tab. 13).“

Strana 52: Opravená tabulka 12 (doplněné chybějící řádky):

Tab. č. 12: Ředění vzorků pro analýzu karbonylace proteinů

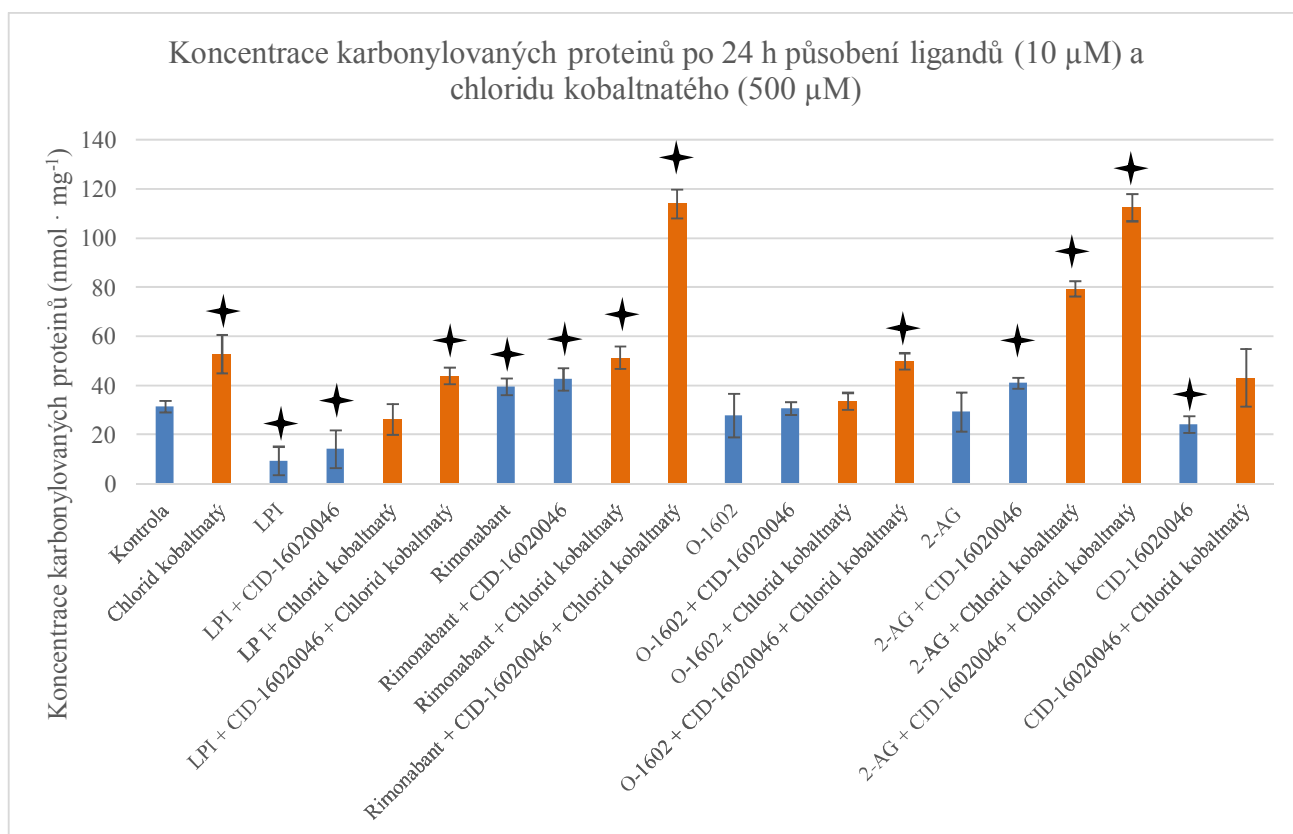
| | Proteiny ($\mu\text{g} \cdot \text{ul}^{-1}$) | Vzorek (μl) | H ₂ O (μl) | Naředěný vzorek ($0,1 \mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) (μl) |
|---|---|--------------------------|------------------------------------|--|
| LPI | 0,815 | 36,8 | 263,2 | 300,0 |
| LPI + CID-16020046 | 1,085 | 27,7 | 272,3 | 300,0 |
| LPI + CoCl ₂ | 0,552 | 54,4 | 245,6 | 300,0 |
| LPI + CoCl ₂ + CID-16020046 | 0,594 | 50,5 | 249,5 | 300,0 |
| Rimonabant | 1,091 | 27,5 | 272,5 | 300,0 |
| Rimonabant + CID-16020046 | 0,678 | 44,3 | 255,7 | 300,0 |
| Rimonabant + CoCl ₂ | 0,436 | 68,8 | 231,2 | 300,0 |
| Rimonabant + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,168 | 178,6 | 121,4 | 300,0 |
| O-1602 | 1,17 | 25,6 | 274,4 | 300,0 |
| O-1602 + CID-16020046 | 0,662 | 45,3 | 254,7 | 300,0 |
| O-1602 + CoCl ₂ | 0,678 | 44,3 | 255,7 | 300,0 |
| O-1602 + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,31 | 96,8 | 203,2 | 300,0 |
| 2-AG | 1,175 | 25,5 | 274,5 | 300,0 |
| 2-AG + CID-16020046 | 0,884 | 33,9 | 266,1 | 300,0 |
| 2-AG + CoCl ₂ | 0,273 | 109,9 | 190,1 | 300,0 |
| 2-AG + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,176 | 170,5 | 129,5 | 300,0 |
| CID-16020046 | 1,345 | 22,3 | 277,7 | 300,0 |
| CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,627 | 47,9 | 252,1 | 300,0 |
| Kontrola | 0,657 | 45,7 | 254,3 | 300,0 |
| CoCl ₂ | 0,315 | 95,2 | 204,8 | 300,0 |

Strana 53: Opravená tabulka 13 (doplněné chybějící řádky):

Tab. 13: Absorbance a koncentrace karbonylovaných proteinů

| | Průměr absorbancí | Koncentrace karbonylovaných proteinů ($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$) | Směrodatná odchylka koncentrací |
|---|-------------------|---|---------------------------------|
| LPI | 0,0043 | 9,56 | 2,55 |
| LPI + CID-16020046 | 0,0065 | 14,34 | 7,80 |
| LPI + CoCl ₂ | 0,0120 | 26,47 | 5,84 |
| LPI + CoCl ₂ + CID-16020046 | 0,0200 | 44,11 | 7,64 |
| LPI + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,0180 | 39,70 | 6,24 |
| Rimonabant | 0,0193 | 42,64 | 3,37 |
| Rimonabant + CID-16020046 | 0,0233 | 51,46 | 3,37 |
| Rimonabant + CoCl ₂ | 0,0517 | 113,95 | 4,59 |
| Rimonabant + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,0127 | 27,94 | 4,59 |
| O-1602 | 0,0140 | 30,88 | 5,84 |
| O-1602 + CID-16020046 | 0,0153 | 33,82 | 8,91 |
| O-1602 + CoCl ₂ | 0,0227 | 49,99 | 2,55 |
| O-1602 + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,0133 | 29,41 | 3,37 |
| 2-AG | 0,0187 | 41,17 | 3,37 |
| 2-AG + CID-16020046 | 0,0360 | 79,40 | 7,95 |
| 2-AG + CoCl ₂ | 0,0510 | 112,48 | 2,21 |
| 2-AG + CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,0110 | 24,26 | 3,12 |
| CID-16020046 | 0,0197 | 43,37 | 5,55 |
| CID-16020046 + CoCl ₂ | 0,0143 | 31,61 | 3,37 |
| Kontrola | 0,0240 | 52,93 | 11,67 |
| CoCl ₂ | 0,0043 | 9,56 | 2,55 |

Strana 53: opravený graf 1 (pořadí upraveno pořadí testovaných vzorků):



Graf 1: Koncentrace karbonylovaných proteinů po 24 h působení ligandů (10 μM) a CoCl₂ (500 μM)

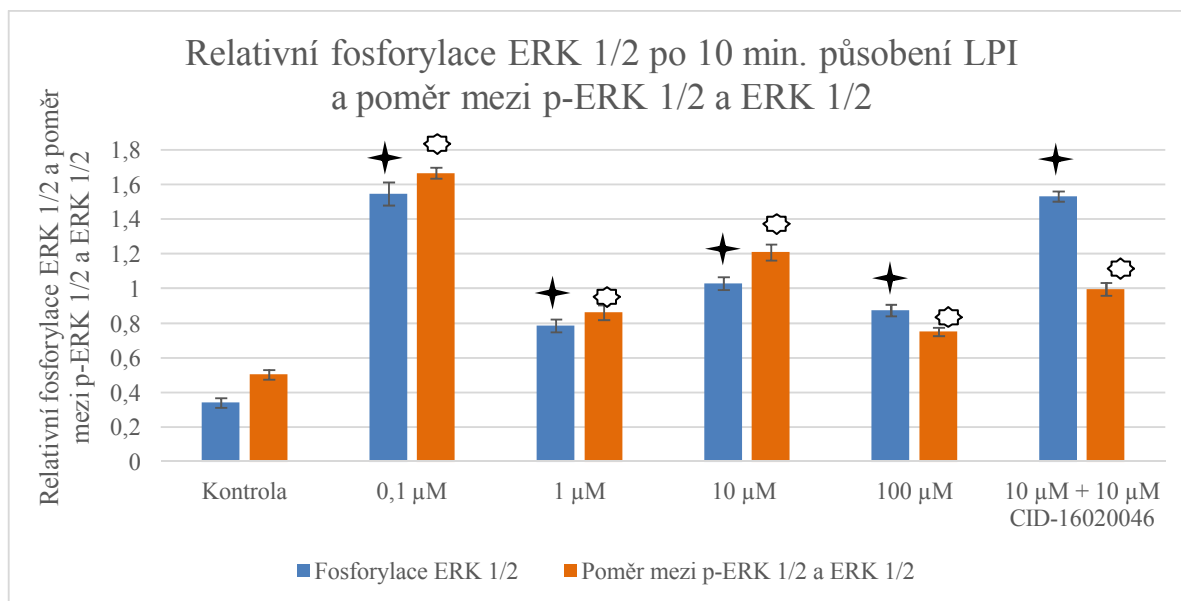
Strana 54: popis ke Grafu 1 – správně má být na straně 53

Strana 55: 16. a 17. řádek (doplnění odkazu na Tab. 14 a 15):

„Byla vypočtena podle vzorce $\sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n-1)}}$, kde \bar{x} je střední hodnota výběru průměr a n je velikost hodnoty.“

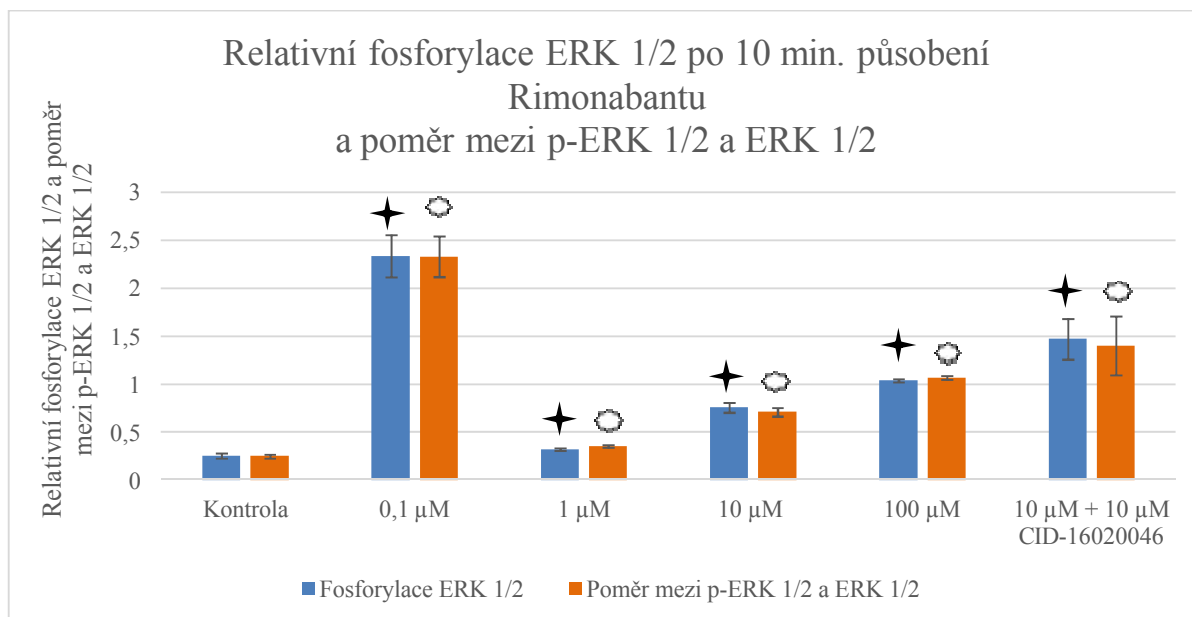
– správně má být: “Byla vypočtena podle vzorce $\sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n-1)}}$, kde \bar{x} je střední hodnota výběru průměr a n je velikost hodnoty (Tab. 14 a 15).“

Strana 57: opravený graf 4 (doplněna osa y):



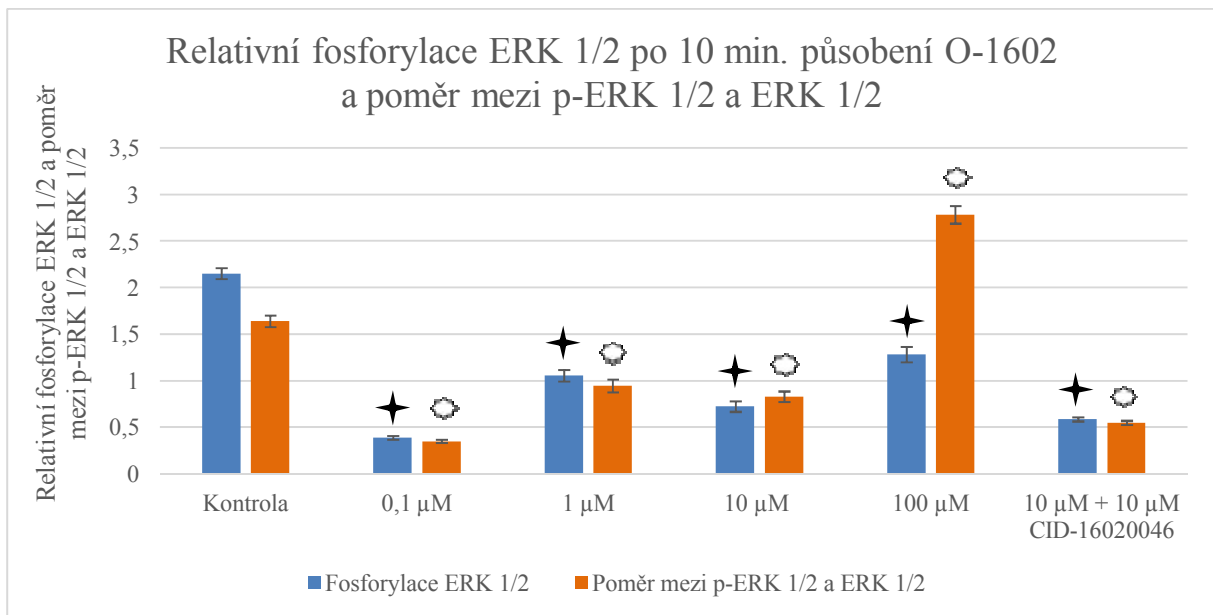
Graf. 4: Relativní fosforylace ERK 1/2 po 10 min- působení LPI a poměr mezi p-ERK 1/2 a ERK 1/2

Strana 58: opravený graf 5 (doplněna osa y):



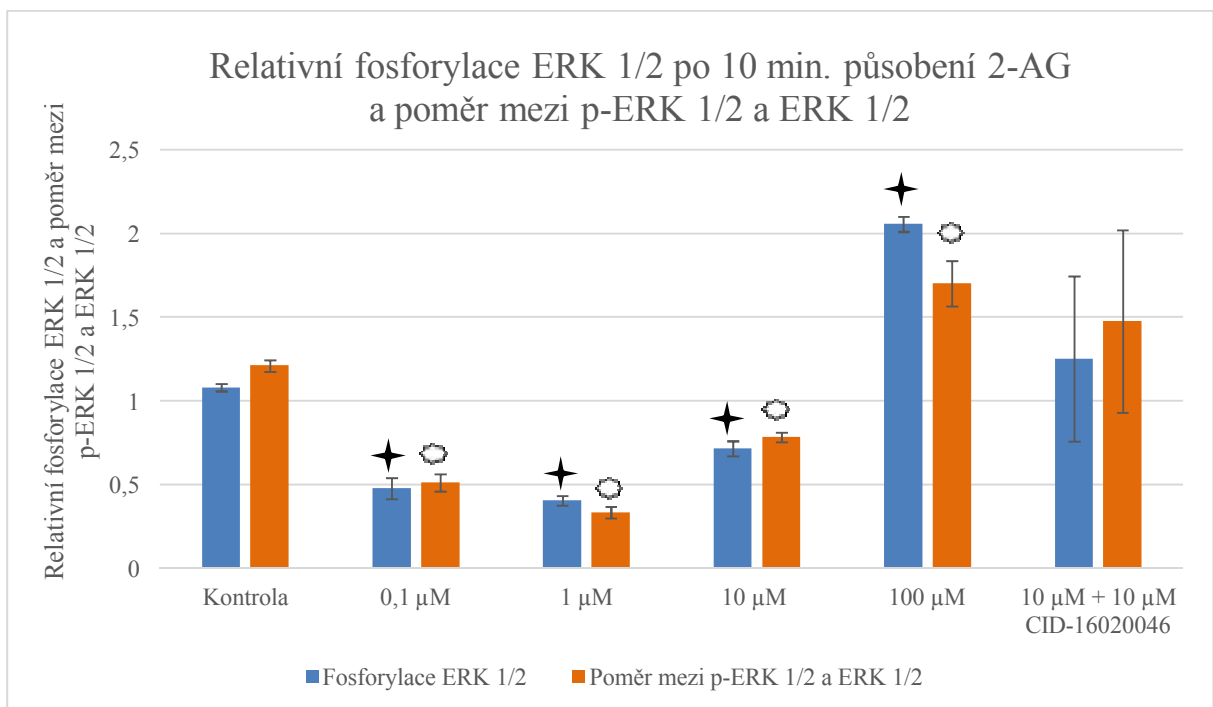
Graf. 5: Relativní fosforylace ERK 1/2 po 10 min- působení LPI a poměr mezi p-ERK 1/2 a ERK 1/2

Strana 59: opravený graf 6 (doplněna osa y):



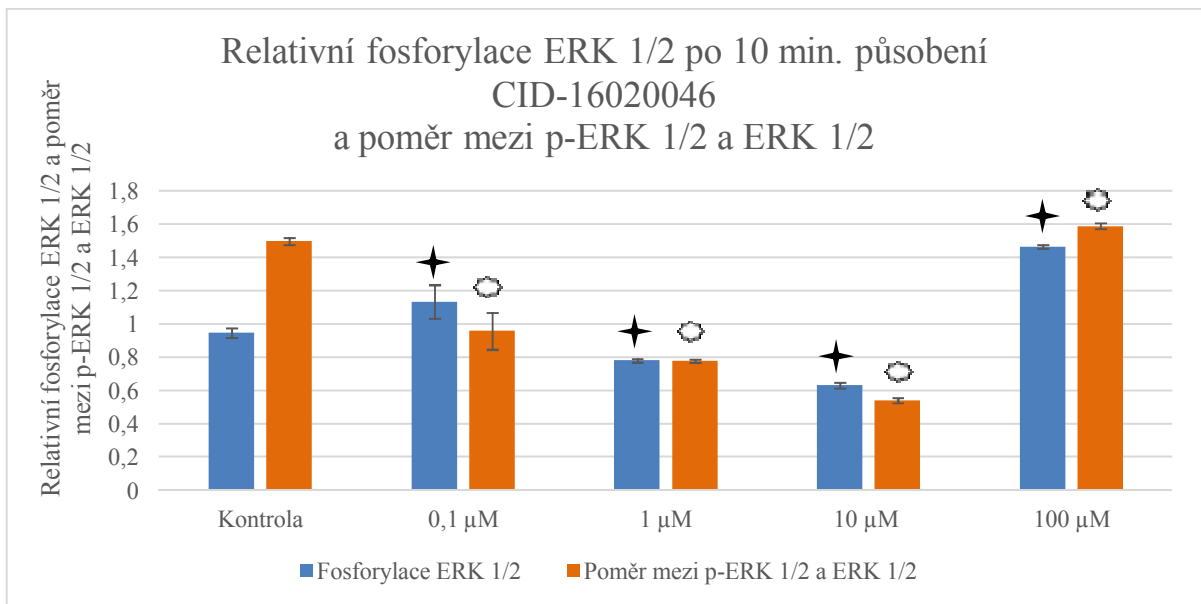
Graf 6: Relativní fosforylace ERK 1/2 po 10 min. působení O-1602 a poměr mezi p-ERK 1/2 a ERK 1/2

Strana 60: opravený graf 7 (doplněna osa y):



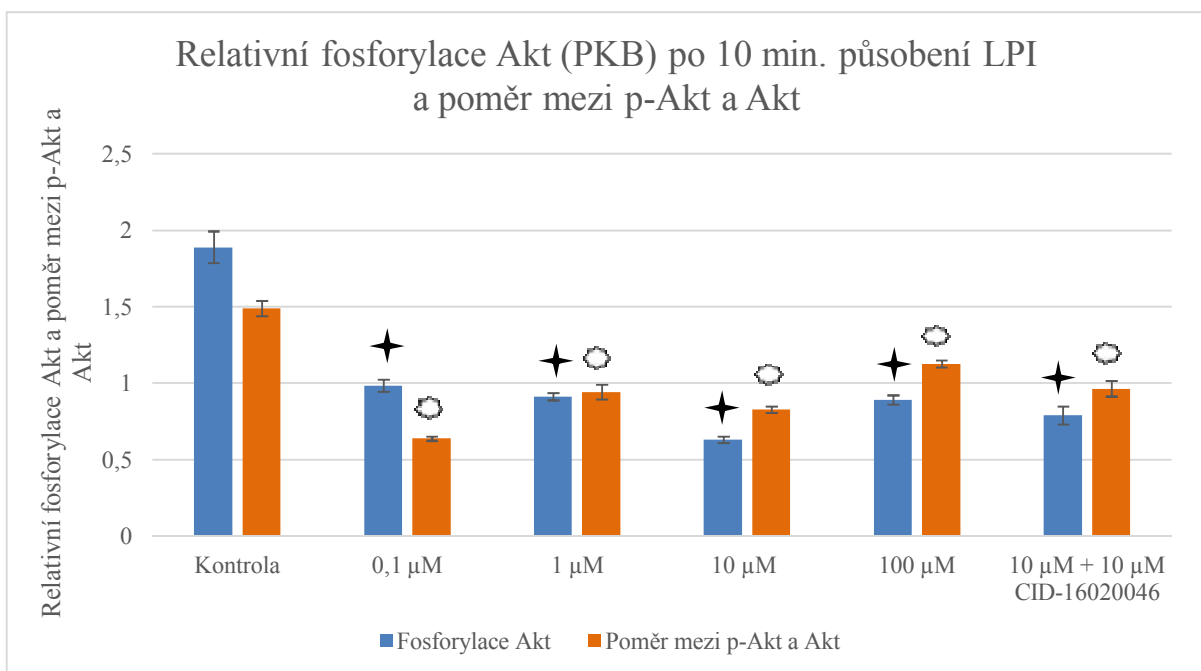
Graf 7: Relativní fosforylace ERK 1/2 po 10 min. působení 2-AG a poměr mezi p-ERK 1/2 a ERK 1/2

Strana 61: opravený graf 8 (doplněna osa y):



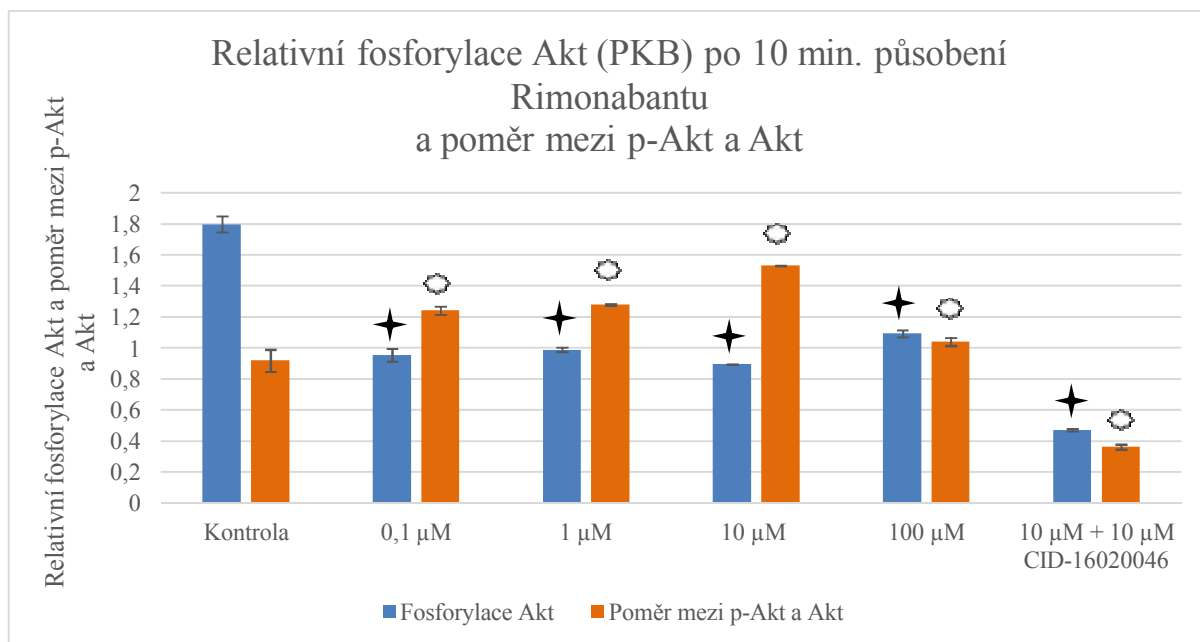
Graf 8: Relativní fosforylace ERK 1/2 po 10 min. působení CID-16020046 a poměr mezi p-ERK 1/2 a ERK 1/2

Strana 62: opravený graf 9 (doplněna osa y):



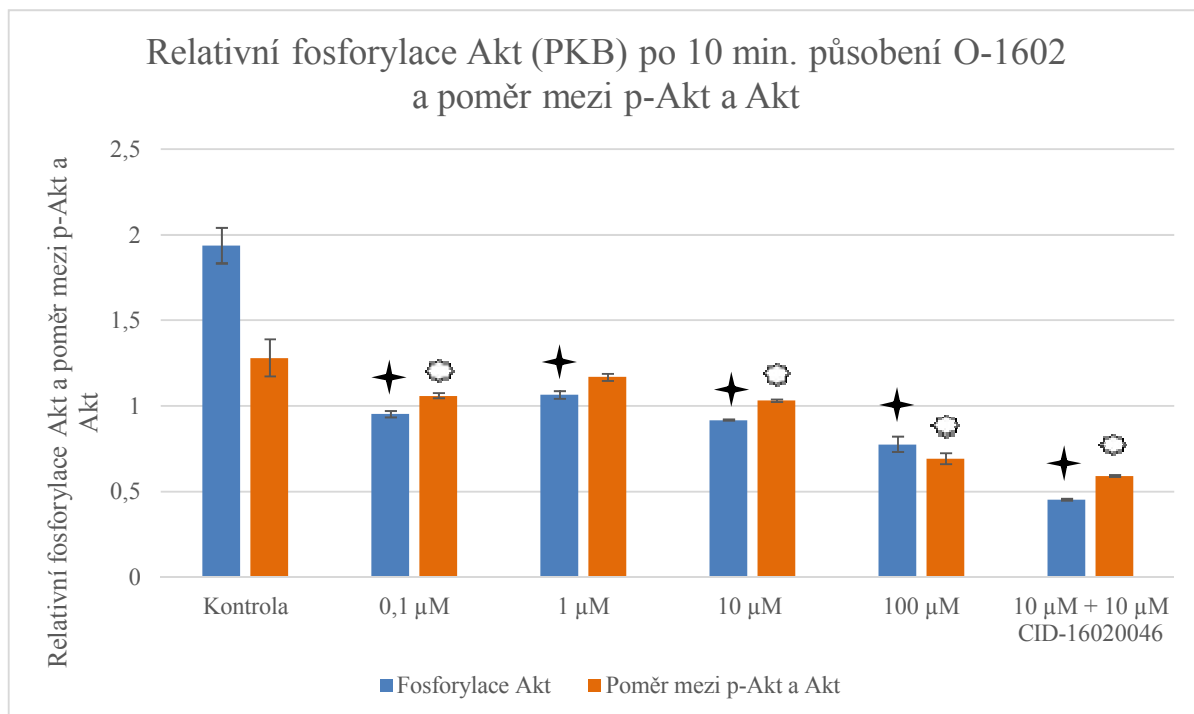
Graf 9: Relativní fosforylace Akt po 10 min. působení LPI a poměr mezi p-Akt a Akt

Strana 63: opravený graf 10 (doplněna osa y):



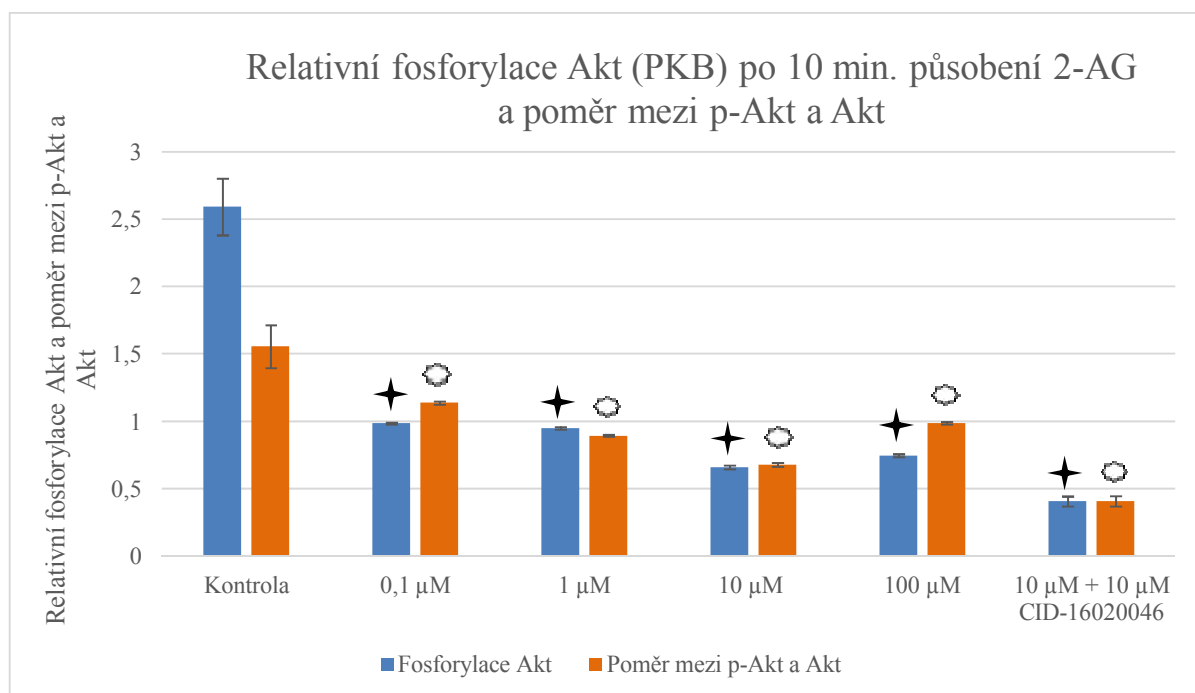
Graf 10: Relativní fosforylace Akt po 10 min. působení Rimonabantu a poměr mezi p-Akt a Akt

Strana 64: Graf 11 opraven:



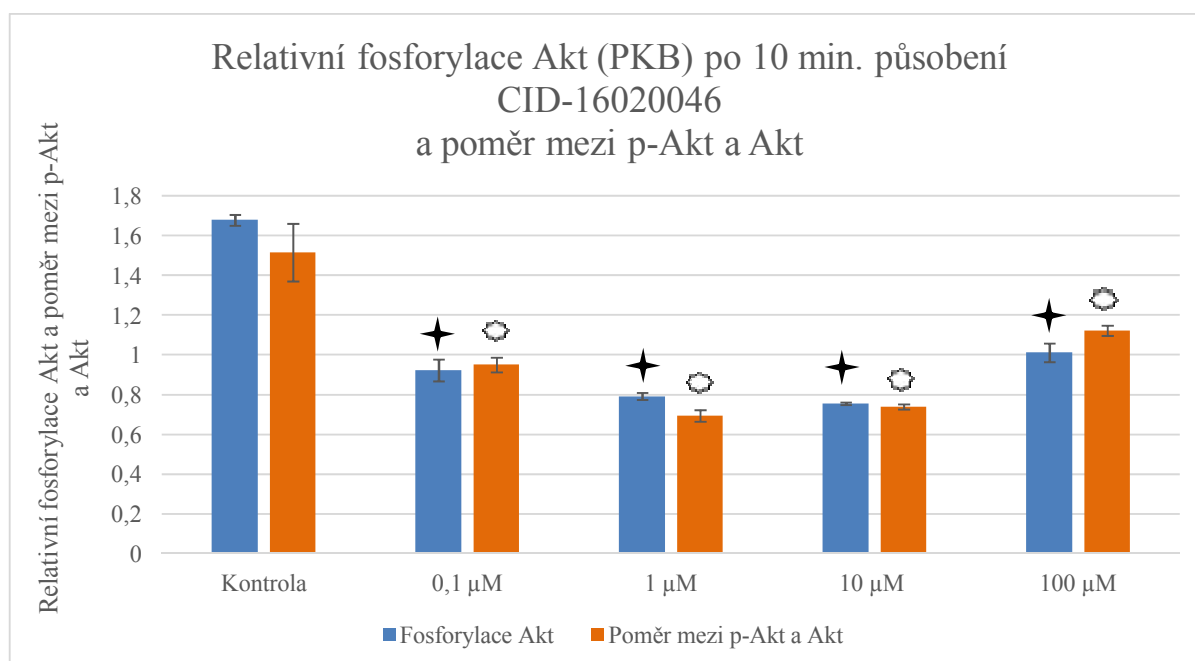
Graf 11: Relativní fosforylace Akt po 10 min. působení O-1602 a poměr mezi p-Akt a Akt

Strana 65: opravený graf 12 (doplněna osa y):



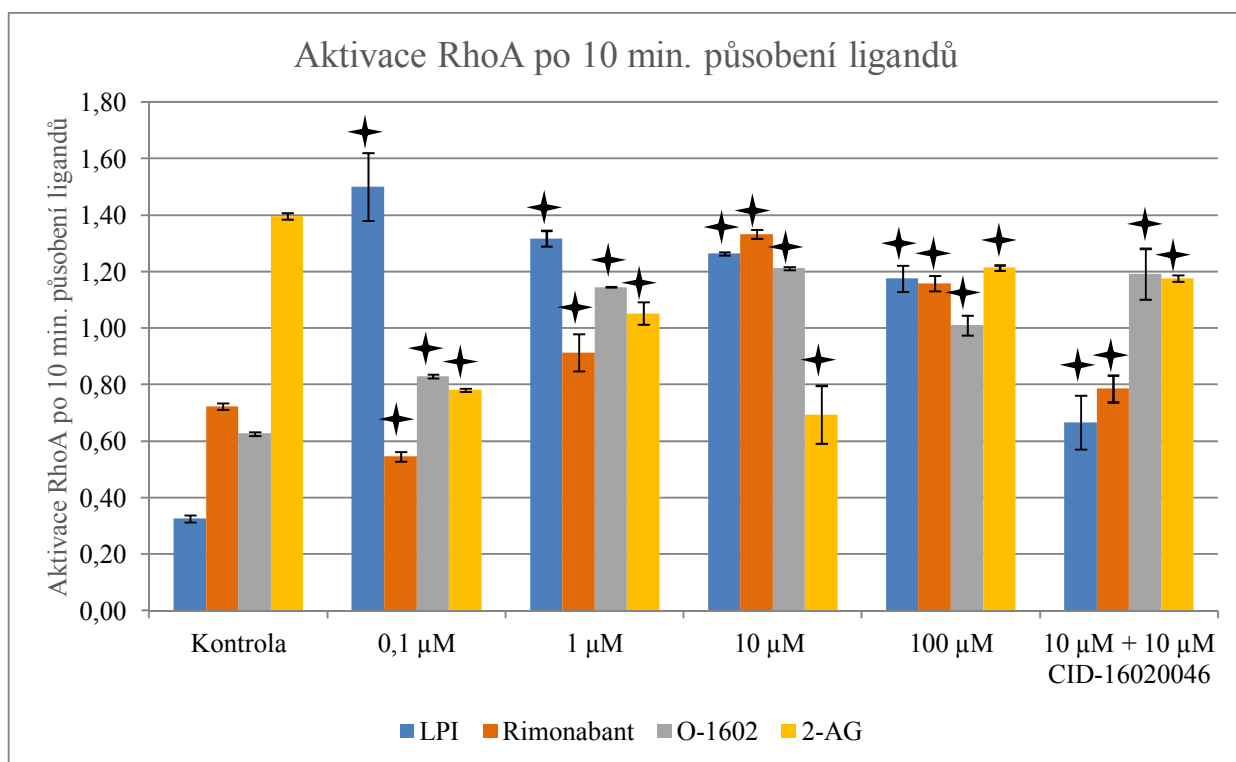
Graf 12: Relativní fosforylace Akt po 10 min. působení 2-AG a poměr mezi p-Akt a Akt

Strana 66: opravený graf 13 (doplněna osa y):



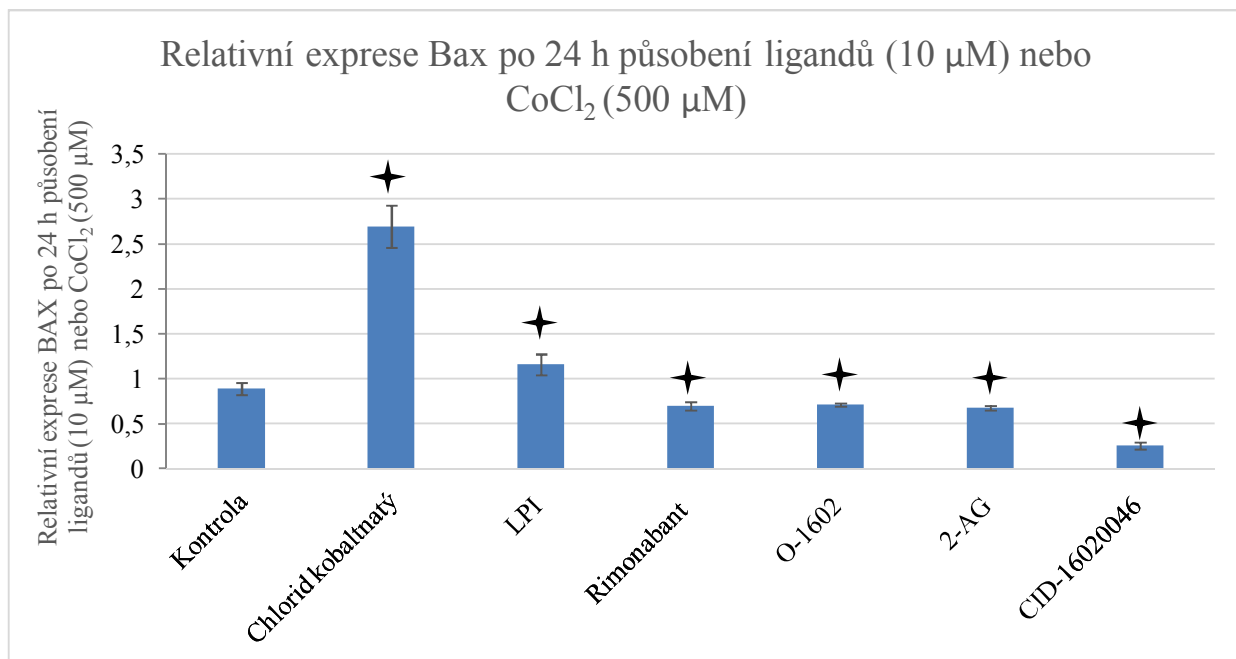
Graf 13: Relativní fosforylace Akt po 10 min. působení CID-16020046 a poměr mezi p-Akt a Akt

Strana 68: opravený graf 14 (doplněna osa y):



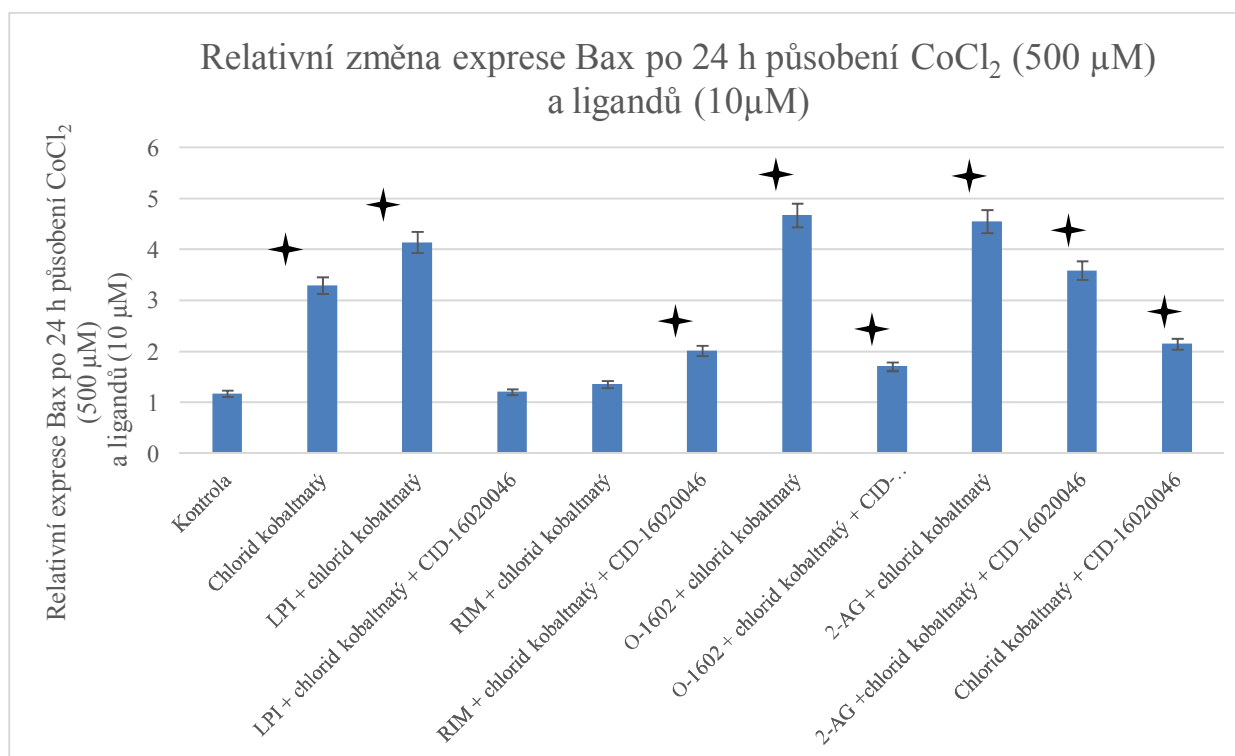
Graf 14: Aktivace RhoA po 10 min. působení ligandů

Strana 69: opravený graf 15 (doplněna osa y):



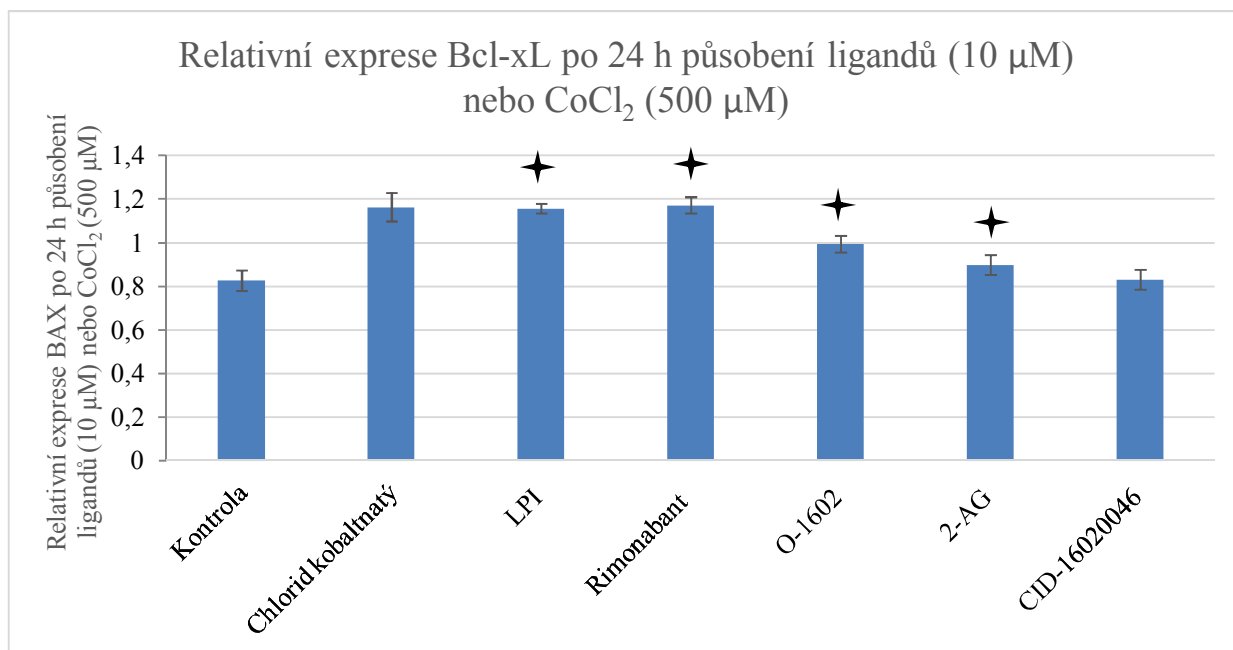
Graf 15: Relativní exprese Bax po 24 h působení ligandů (10 μM) nebo CoCl₂ (500 μM)

Strana 70: opravený graf 16 (doplněna osa y):



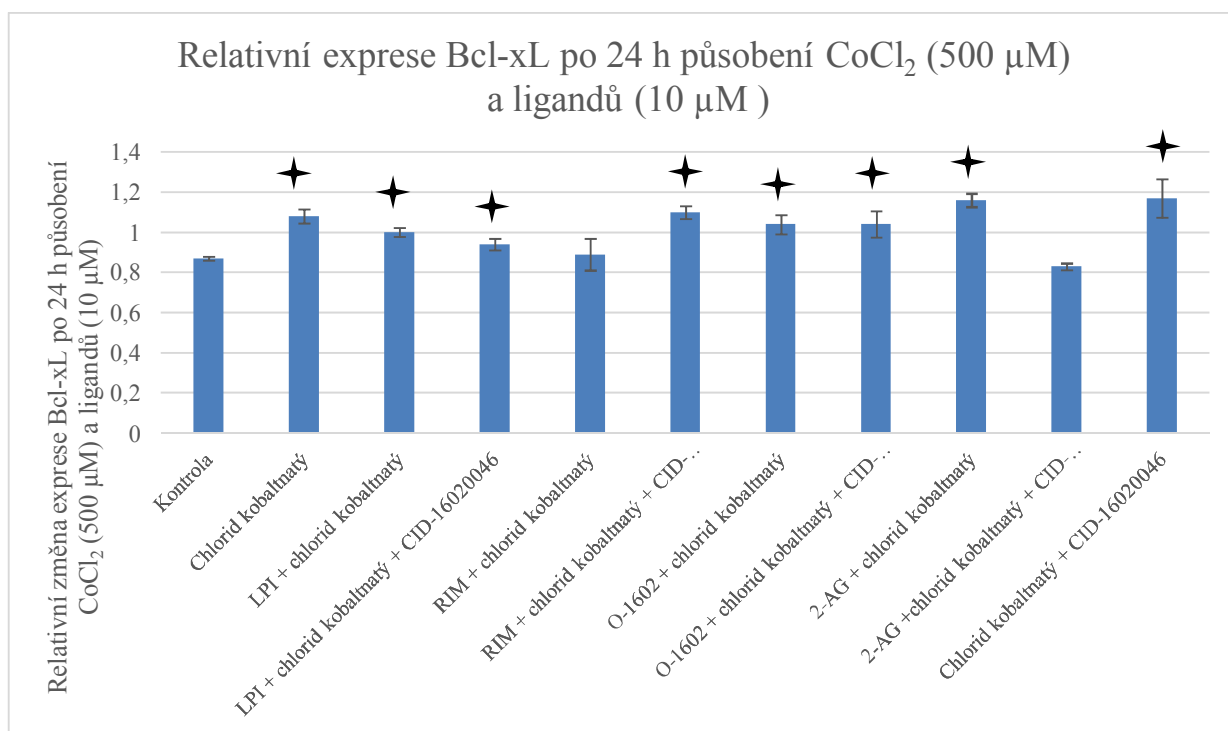
Graf 16: Relativní exprese Bax po 24 h působení CoCl₂ (500 μM) a ligandů (10 μM)

Strana 71: opravený graf 17 (doplněna osa y):



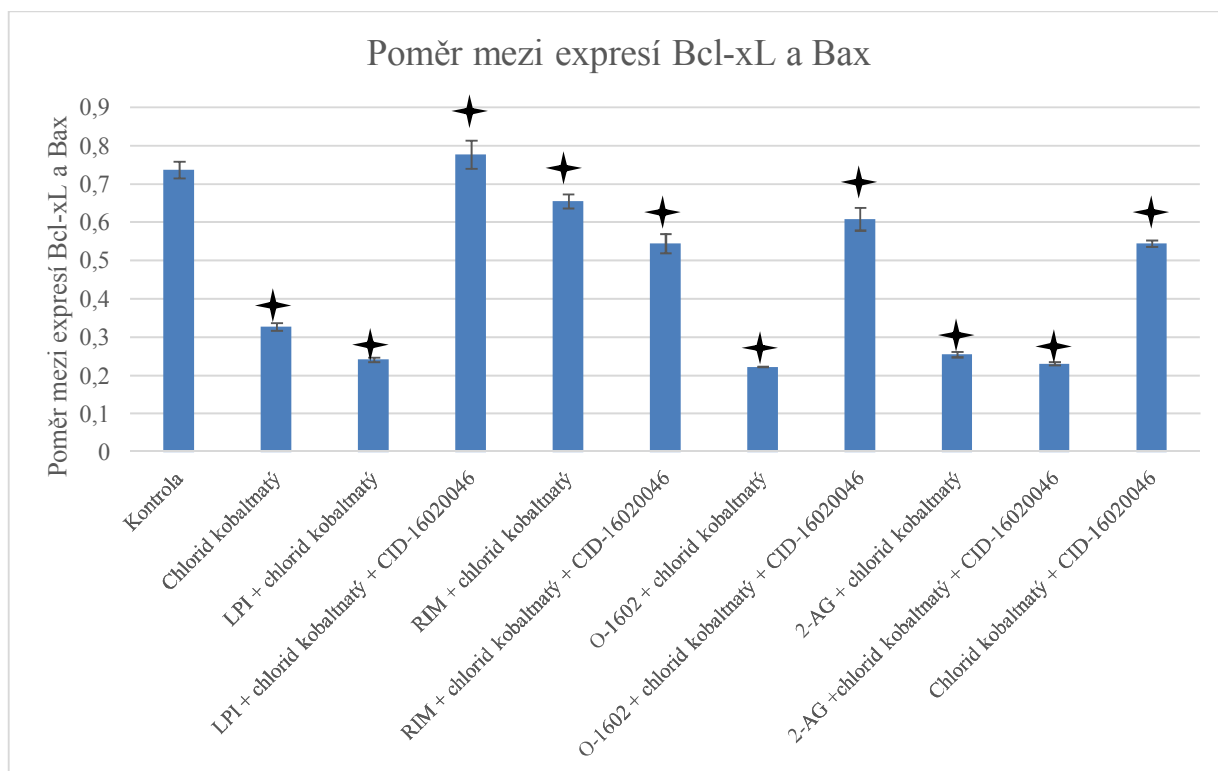
Graf 17: Relativní exprese Bcl-xL po 24 h působení ligandů (10 μM) nebo CoCl₂ (500 μM)

Strana 72: opravený graf 18 (doplněna osa y):



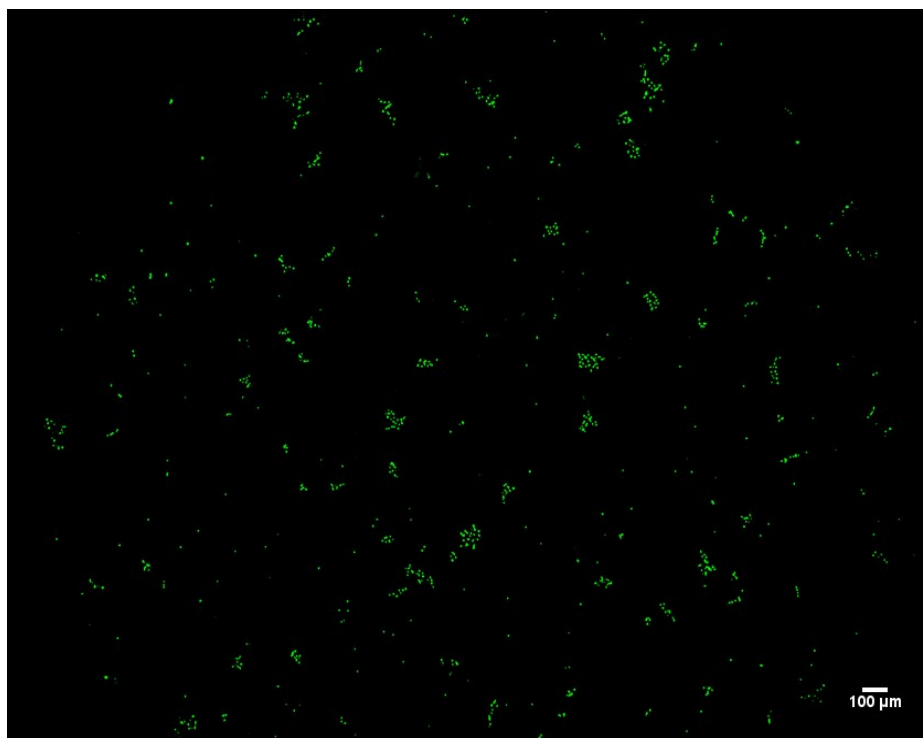
Graf 18: Relativní exprese Bcl-xL po 24 h působení CoCl₂ (500 μM) a ligandů (10 μM)

Strana 73: opravený graf 19 (doplněna osa y):

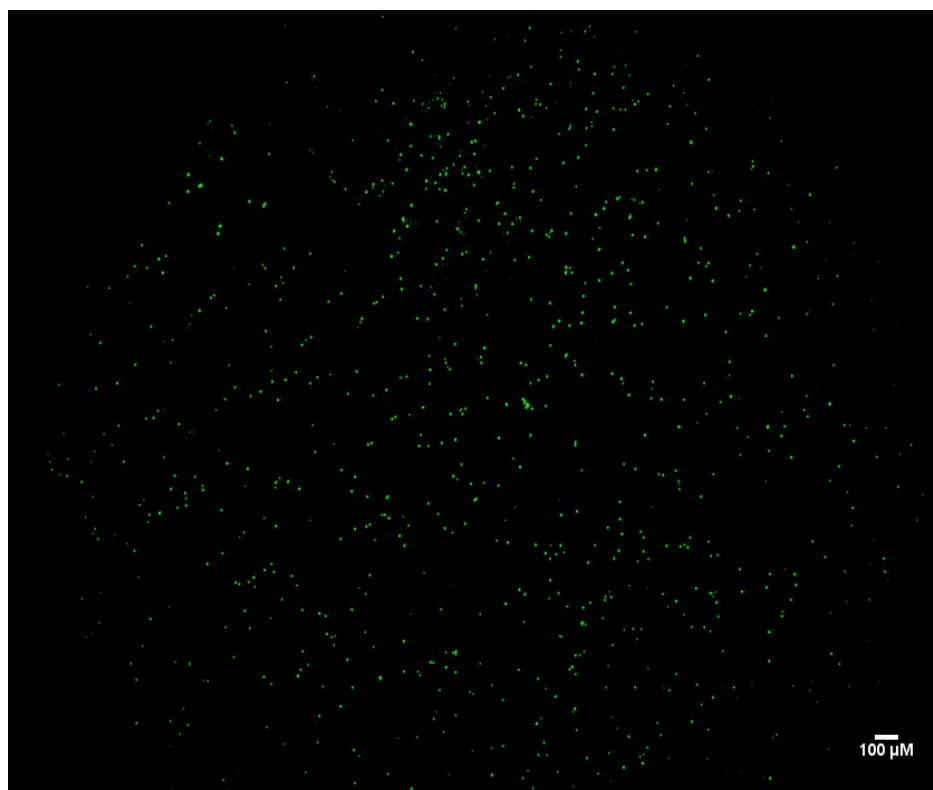


Graf 19: Poměr mezi expresí Bcl-xL a Bax po 24 h působení CoCl₂ (500 μM) a ligandů (10 μM)

Strana 74: obr. 29 a 30 (přidáno měřítko):



Obr. 29: Kontrolní vzorek buněk PC12. Jádra jsou obarvena 20 μM dihydrofluoresceinem 30 minut před pozorováním



Obr. 30: PC12 buňky po 24 h inkubace s 500 μM CoCl₂. Jádra jsou obarvena 20 μM dihydrofluoresceinem 30 minut před pozorováním