


OPONENTSKÝ POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI
Mgr. VLADIMÍRA RUDAJEVA

Předložená doktorská disertační práce Mgr. Vladimíra Rudajeva si kladla za cíl optimalizaci podmínek pro izolaci detergent- rezistentních membránových domén a tak určit míru lokalizace receptorů spřažených s triménními G proteiny a ostatních komponent této signální dráhy v lipidových raftech a též i po dlouhodobém působení hormonů. V práci byly použity buněčné linie HEK293 stabilně exprimující prostacyklinový receptor a thyreotropní receptor. Byla určována submembránová distribuce obou receptorů a taktéž hladina a distribuce různých G proteinů a s rafty asociovanými proteiny. Dále byly izolovány pomocí různých detergentů plasmatické membrány z kryšihho kortexu, které byly charakterizovány detekcí řady bílkovin pomocí radioligandových studií a immunochemicky. V tritonových doménách byla sledována lokalizace receptorů, triménních G proteinů, raftových a neraftových bílkovin. V předložené práci autor použil široké spektrum moderních metod jako je 2D elektroforéza, Western blot, radioligandová vazebná měření, elektronová mikroskopie, měření funkční aktivity triménních G-proteinů apod. Celkový rozsah předkládané práce je zcela dostatečný, rovněž množství citovaných referencí je adekvátní. Bylo získáno velké množství výsledků, které byly publikovány ve významných mezinárodních časopisech s výborným ohlasem.

Stanovené cíle v této doktorské disertační práci se podařilo docílit, přesto bych měl několik dotazů:

- 1/ jak závisí kritická micelární koncentrace detergentu na iontové síle pufru
- 2/ jak se tato závislost liší u ionogenních a neionogenních detergentů
- 3/ rafty jsou relativně stabilní komplexy, co způsobuje jejich odolnost vůči různým druhům detergentů
- 4/ zda-li byly vzorky pro elektronovou mikroskopii fixovány např. formaldehydem a jaký byl vliv fixace na stabilitu membrán

Závěrem lze shrnout, že autor prokázal schopnosti k samostatné vědecké činnosti. Doktorskou disertační práci Mgr. Vladimíra Rudajeva proto doporučuji jednoznačně k veřejné obhajobě.


Ing. Jan Teisinger CSc

15. března 2007