

Oponentský posudek doktorské (PhD) disertační práce Mgr. Radka Macháně:

**Supported Phospholipids Bilayers and their Interactions with Proteins Studied
by Ellipsometry, Atomic Force Microscopy and Confocal Fluorescence
Microscopy**

Předložené Matematicko-fyzikální Fakultě University Karlovy v Praze v roce 2011

Disertační práce byla vypracována v Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR v Praze pod vedením Prof. Martina Hofa, DrSc. a autorem předložena oborové radě F-4 „Biofyzika, chemická a makromolekulární fyzika“ na MFF UK pro získání titulu Dr. (Ph.D.). Téma předložené práce je součástí širší snahy laboratoře Prof. Hofa studovat strukturu a fyzikální vlastnosti buněčných membrán a jejich modelových systémů spolu s mechanizmy jejich interakcí s proteiny a s dalšími bio-funkčními molekulami. Obsah předložené disertace tak zapadá do vysoko aktuální tématiky studia mechanizmů interakce antimikrobiálních peptidů s modelovými membránami typu podporovaných lipidových dvojvrstev, což je v současné době přímo „horké téma“ vzhledem k rychle se rozšiřující rezistenci mikroorganismů vůči antibiotikům a vzhledem k naději vkládané do budoucího terapeutického využití antimikrobiálních proteinů. Práce je věnována mikroskopii a spektroskopickému studiu podporovaných lipidových dvojvrstev a přináší nové poznatky o jejich interakci s antimikrobiálními proteiny; výsledky jsou důležité z hlediska základního výzkumu a jsou relevantní pro perspektivní aplikace v bio-medicíně.

Předložená disertace shrnuje výsledky a opírá se o pět vědeckých publikací autora. Čtyři z těchto prací byly již publikovány v renomovaných, impaktovaných časopisech (2008, 2010, 2010, 2011) a pátá přiložená práce je kompletním rukopisem dalšího článku. Radek Macháň je ve čtyřech případech prvním autorem a v jednom případě spoluautorem. Jeden z článků kde je Radek Macháň prvním autorem (viz. Attachement I z r. 2010) je review v BBA indikující, že práce autora v dané oblasti je vědeckou komunitou již respektována. Navíc je zřejmé, že autor během svého doktorandského studia podílel na řadě dalších experimentálních studií a následných publikacích, takže předložená disertace zahrnuje pouze část jeho vědeckých výsledků.

Disertace nejprve popisuje a kriticky hodnotí všechny použité experimentální techniky. Poté doplňuje, komentuje a shrnuje experimentální výsledky studia interakcí lipidových dvojvrstev s několika vybranými typy antimikrobiálních peptidů a diskutuje rozdíly a souvislosti. Tato část práce má 70 stran, obsahuje bohatou literaturu (222 citací) a je doplněna seznamem zkratek, obsahem a dalšími formálními stránkami. Následující část disertace tvoří 5 příloh - plné texty výše zmíněných publikací.

Celá práce je sepsána velice jasně a přehledně, v dobré angličtině. Pro pohodlí čtenáře by snad v kapitole 4.2 bylo vhodné, vedle uvedených citací původní literatury, uvést i obrázek uspořádání kyvety používané pro skenovací mikroskopii lipidových dvojvrstev. Rozhodně však zpracování celé disertace svědčí o dobrých pedagogických schopnostech autora.

Je zřejmé, že autor interpretuje své nové poznatky s hlubokou znalostí literatury, aktuálních výsledků domácích i zahraničních spolupracujících laboratoří a se širokým přehledem v mezioborové problematice. Zároveň si je autor dobře vědom limitů a nedostatků použitých mikroskopických a spektroskopických metod. Tento přístup autora zajišťuje solidnost predložených interpretací.

Doporučuji, aby se autor při obhajobě vyjádřil k následujícím aspektům práce:

- 1) Klasickou otevřenou otázkou u všech studií podporovaných lipidových dvojvrstev je, zda na měřených vzorcích je na povrchu skutečně jediná dvojvrstva, či několik dvojvrstev na sobě a nebo ostrůvky s různým počtem dvojvrstev na sobě. Mohla tato skutečnost ovlivnit některé presentované výsledky a jak?
- 2) Na str. 36-37 autor uvádí fyzikální význam pozitivní a negativní hodnoty průsečíku „Humplíčkové“ závislosti pro $t=0$. Zatímco hodnota průsečíku = 0 indikuje, že jde o volnou difusi, kladná či záporná hodnota může odlišovat dva typy laterálních nehomogenit. Může autor tyto dvě situace blíže vysvětlit a komentovat případná omezení platnosti této interpretace?
- 3) Na str. 40-41 disertace je uveden přehled antimikrobiálních peptidů, spolu s jejich charakteristikami, které byly vybrány ke studiu jejich interakce s lipidovými dvojvrstvami. I když jsou důvody pro výběr těchto AMP z některých hledisek zřejmé (např. různé náboje), může autor na základě získaných dat doporučit a zdůvodnit další, cílený výběr (z mnoha existujících) animikrobiálních peptidů k následnému studiu?
- 4) Jakou vidí autor možnost přímého studia (a zobrazování) flexibilních nanotrubic vystupujících z dvojvrstvy, které se zřejmě vytvářejí v důsledku interakce melittinu s lipidovou dvojvrstvou?

S potěšením zavěrečně konstatuji, že předložená disertační práce přináší celou řadu nových, kompetitivních vědeckých výsledků a práce jasně svědčí o schopnosti autora samostatně vědecky pracovat, volit strategii výzkumu a tomu odpovídající výzkumné prostředky, vše kriticky vyhodnotit a dospět k solidně podepřené interpretaci výsledků. Plně doporučuji, aby Mgr. Radkovi Macháňovi byl v uvedeném oboru udělen Karlovou Universitou v Praze titul "Doktor" (Ph.D.).



Vlastimil Fidler

ponent

Brown University, v Providenci, RI, USA

30. prosince 2011

Doc. RNDr. Vlastimil Fidler, CSc.

Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze

Nám. Sítná 3105, 272 01 Kladno, ČR

fidler@fbmi.cvut.cz

a

Department of Chemistry, Brown University

324 Brook Street, Providence, RI 02912, USA

vlastimil_fidler@brown.edu