

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci Adama Miszty *Ellipsometry and Fluorescence Microscopy Applied to Model Membranes*

Předložená disertační práce A. Miszty se zabývá studiem lipidových dvojvrstev imobilizovaných na pevných površích (SPB), jakožto modelových systémů pro biologické membrány, a jejich interakce s membránově aktivními peptidy. Z tohoto hlediska jde nepochybně o téma vysoce aktuální a zajímavé, a získané výsledky mohou přispět zejména k dalšímu rozvoji poznání v oblasti biofyzikálně orientovaného základního výzkumu. Práce shrnuje výsledky čtyř publikací, z toho dvě byly otištěny v respektovaných mezinárodních časopisech (Langmuir, J. Peptide Sci.), a dále i formou šesti sdělení na mezinárodních vědeckých setkáních (z toho jedno plakátové sdělení získalo první cenu asociace evropských biofyzikálních společností). Není tedy sporu o významu práce pro další rozvoj vědních oborů na pomezí biologie, chemie a fyziky, ani o tom, že disertant přinesl nové a originální vědecké poznatky o studované problematice.

Formálně pěkně a čistě vypravená práce je sepsána v jazyce anglickém, je relativně dosti čtivá, k čemuž přispívá i značné množství ilustrací (24 obr.). Rozsah práce (54 stran textu + 10 str. seznamu literatury; celkem 150 lit. odkazů) považuji za vcelku přiměřený formě "komentovaného přehledu prací", za určitý nedostatek v tomto smyslu považuji fakt, že nejsou přiloženy kopie alespoň hlavních původních prací autora (I-IV). K posuzování jazykové stránky disertace se necítím dostatečně kompetentní, ovšem považuji ji za celkově za velmi dobrou až na několik drobností, které jsem vyznačil v textu a probral s autorem. Jde spíše o překlady a drobná opomenutí, které nesnižují ani úroveň práce, ani její celkovou srozumitelnost.

Práce je členěna v zásadě na dva oddíly, které sledují logiku experimentů provedených autorem - v první části se věnuje elipsometrickému studiu vlivu ethanolu na lipidové dvojvrstvy, ve druhé pak studiu interakce s membránově aktivními peptidy (cryptidin 4, magainin 2, melitin) s využitím elipsometrie, laserové skanující mikroskopie a FCS. Úvodní část obou kapitol je věnována stručnému úvodu do použití těchto metod, včetně vysvětlení techniky Z-skanování, která byla vyvinuta v laboratoři školitele, prof. Hofa. Tyto pasáže mají v zásadě přiměřený rozsah, místy by ovšem podle mého soudu neuškodilo poněkud podrobnější vysvětlení. Vlastní výsledky získané autorem na zmíněný výklad bezprostředně navazují, v několika případech je autor poněkud ke své škodě zahrnul již do metodických pasáží a trochu tak oslabil celkové vyznění práce (viz např. obr. 8).

Autoreferát disertace je sepsán přehledně a v odpovídajícím celkovém rozsahu. i když se nemohu zbavit dojmu, že namísto popisu metod v tomto případě mohlo být věnováno poněkud více místa vlastním výsledkům, které autor prezentuje v disertační práci, a které v autoreferátu přišly dosti zkrátka (necelé tři strany textu).

Použité experimentální metody a postupy považuji vzhledem k vytčeným cílům práce za adekvátní a vhodně aplikované, získané výsledky pak za důvěryhodné a relevantní. (Koneckonců je tento závěr podpořen i již výše zmíněnými publikacemi autora disertace.) Přípomínky a dotazy, které uvádím v následujícím textu, nesnižují nijak úroveň disertace, která podle mého soudu dostatečně dokumentuje předpoklady autora k samostatné tvořivé práci. Proto doporučuji její přijetí k obhajobě a dalšímu řízení.

Svoje připomínky a dotazy bych rád rozdělil na část formální a věcnou:

1. Za drobnější formální nedostatek považuji nejednotnost v citaci použité literatury (kolísání mezi celými názvy a zkratkami, a to i pro stejný časopis, viz např. citace 1, 8, 29, 105, 135, 138, 140,), nedůslednost v uvádění odkazu na číslo časopisu v rámci volumu nebo ve formátu, např. cit. 5, 10, 40, 150). Některé odkazy zdá se obsahují drobné chyby nebo jsou neúplné (12, 16, 50, 130).

2. Za poněkud závažnější formální nedostatek považuji to, že formát citace v textu ne vždy sleduje stejnou konvenci. Týká se to odkazů na práce ze stejné laboratoře (Beneš 2004, Miszta 2007), které se vyskytují v popisech obrázků a názvech tabulek. Protože jinak je používáno číselných referencí (a seznam citované literatury pak logicky není uspořádaný podle abecedy), je vyhledání příslušných prací pro čtenáře poněkud náročnějším úkolem.

3. Publikace disertanta pod číslem III je nejednotně citována, v seznamu literatury je (pod číslem 146) uvedena jako zasláná do BBA-Biomembranes, v seznamu prací disertanta pod číslem III jako zasláná do Chem. Phys. Lipids. Mohl by disertant v rámci obhajoby zpřesnit tento údaj, příp. informovat o osudu práce?

4. Autor se v textu prakticky neodkazuje na práci uvedenou v úvodu pod číslem IV. Publikace je navíc citována zřejmě neúplně (chybí např. rok vydání). Také v tomto případě by bylo vhodné údaje pro účely obhajoby doplnit, přimlouval bych se i za doplnění ve vlastní práci.

Z věcného hlediska nemám žádné závažnější připomínky, chtěl bych však položit disertantovi dva dotazy:

1. Čím si lze vysvětlit zjištěné rozdíly ve vlivu ethanolu na volné a vázané (SPB) dvojvrstvy? V práci je tento rozdíl víceméně pouze konstatován, mohl by tedy disertant naznačit uvažovaný mechanismus?

2. K pochopení interakce použitých peptidů s lipidy by jistě přispělo, kdyby autor v práci uvedl více údajů o těchto sloučeninách (např. sekvenci, nebo alespoň stručnou charakteristiku - hydrofobicitu/amfifilicitu, celkové rozměry atd.) Bylo by možno tato data doplnit při obhajobě?

3. K hlavním výsledkům práce bezesporu patří zjištění, že se vázané dvojvrstvy (SPB) chovají jinak, než volné. Sám autor v této souvislosti zpochybňuje vhodnost jejich užití jako modelových systémů (např. na str. 23, odst. 2). Jaká je z tohoto pohledu relevance výsledků, získaných při studiu interakce s peptidy, pro reálné biologické systémy?

Závěrem chci znovu zdůraznit, že práci považuji za zdařilou a doporučuji její přijetí k obhajobě.

V Praze, 4. prosince 2009

Prof. RNDr. Jiří Hudeček, CSc.
katedra biochemie PřF UK Praha