

Oponentský posudek diplomové práce Vladimíra Palivce „Computer modeling of ion interactions: Allosteric effects of phenolic ligands and ions on insulin hexamer structure“

Vlastnosti, struktura a interakce inzulinu jsou už téměř sto let aktuálním problémem biomedicínského a biochemického výzkumu. Ve své diplomové práci se autor zabývá teoretickým studiem této problematiky metodami molekulové dynamiky a to zejména dvěma okruhy problémů: jednak vazbami čtyř kationtů (Zn^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ a K^+) na dva inzulinové hexamery (T6 a T3R3) a interakcemi dvou neurotransmiterů (serotoninu a dopaminu) jako vhodných fenolických ligandů se zmíněnými hexamery inzulinu.

Diplomová práce je členěna obvyklým způsobem. Úvodní část podává stručnou charakteristiku inzulinu, jeho vzniku, struktury, interakcí a využití v medicíně. Druhá kapitola je věnována nástinu metod molekulové dynamiky, potřebnému kvantověchemickému aparátu a pokročilým vzorkovacím metodám počítačového modelování. Zahrnuje rovněž přípravu a parametrizaci všech parametrů jednotlivých studovaných subsystémů potřebných pro MD simulace. Poslední tři kapitoly předkládají výsledky práce, jejich diskusi a stručný závěr. Seznam literatury zahrnuje 92 citací.

Autor na základě molekulových simulací metodami molekulové dynamiky prokázal výrazný rozdíl mezi interakcemi dikationtů a monokationtů s inzulinem, kdy dikationty jsou mnohem výrazněji lokalizovány uprostřed hexameru. Na rozdíl od monokationtů oba dikationty vykazují vysokou nábojovou hustotu, což stabilizuje strukturu vody uvnitř kavity a vede k významnému zpomalení difuze molekul vody. Ve druhé části práce týkající se vlivu fenolických ligandů, autorovy výsledky predikují odlišný účinek obou neurotransmiterů: Serotonin se jeví jako fenolický ligand, dopamin nikoliv. Závěrem práce autor formuloval řadu zajímavých otázek s výrazným biomedicínským a farmakologickým dopadem a naznačuje cestu, jež by mohla vést k jejich zodpovězení.

Práce je sepsána v angličtině přehledně a vcelku srozumitelně s pěknou grafickou úpravou a s minimálním počtem drobných nedostatků spíše formální povahy. K metodické části práce nemám žádné zásadnější výhrady a omezím se pouze na dvě drobnější připomínky a předložím několik otázek k diskusi.

1. V literární části považuji za zbytečné rozepisovat se o Hartreeho-Fockově metodě, naproti tomu by bylo účelné stručně shrnout předchozí MD studie inzulinu a některých jeho interakcí.
2. Chybí citace na v textu zmiňovanou experimentální práci, jež slouží k porovnání struktury serotoninu uvnitř fenolické kapsy předpovězené MD simulacemi s krystalograficky stanovenou strukturou (viz obr. 4.1).
3. Je známo, že při nízkých koncentracích, např. v krvi, se hexamer inzulinu rozkládá na dimery a pak na monomery, jež jsou krevním řečištěm transportovány. Jak tento jev ovlivňuje interakce s ionty?
4. Některé experimenty (např. MS) ukazují, že hexamer inzulinu je přednostně vázán se dvěma kationty Zn^{2+} , avšak byly pozorovány i vazby se třemi a čtyřmi ionty Zn^{2+} . Jaká vazebná místa lze v těchto případech očekávat?
5. Konverze mezi různými formami hexameru probíhá prostřednictvím vazeb s fenolickými ligandy a ionty (včetně přítomných aniontů). Jsou anionty Cl^- vázány pouze v blízkosti kovových iontů nebo přicházejí v úvahu i jiná vazebná místa?
6. Některá inzulinová analoga tvoří (za určitých farmakologických podmínek) multihexamerové komplexy (včetně řetězců), jejichž koncový hexamer se opět rozpadá na dimery a monomery. Uvažoval jste ve své práci možnost vzniku multihexamerů?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená diplomová práce Vladimíra Palivce představuje velmi hodnotný a obsáhlý příspěvek k aktuální problematice struktury a interakcí hexameru inzulinu. Protože práce splňuje všechny požadavky na diplomové práce kladené, rád ji doporučuji k obhajobě a navrhuji klasifikaci známkou výborně.

Doc. RNDr. Jiří Fišer
KFMCh PŘF UK

Praha, 17.5. 2016

