

Abstrakt

Složitá struktura buněčných membrán vyvolává mnoho otázek týkajících se mechanismu procesů relevantních pro správnou funkci membrán. Dizertační práce představuje čtyři články zabývající se organizací lipidových membrán a interakcemi mezi lipidy a peptidy. Experimenty byly prováděny na modelových lipidových membránách. Tyto zjednodušené systémy napodobující buněčné membrány umožňují studium protein-lipidových interakcí na molekulární úrovni a studium fyzikálně-chemických vlastností membrán kontrolovaným způsobem. Pro charakterizaci systému byly použity pokročilé fluorescenční techniky jako FCS, TDFS, FLIM a anizotropie. První publikace popisuje nově navržené fluorescenční značky založené na struktuře boron dipyrromethenu, tzv. molekulární rotory, které jsou využívány jako sondy pro měření viskozity. Podrobná analýza doby života excitovaného stavu molekulárních rotorů zanořených do lipidových membrán ukázala na různou inkorporaci jednotlivých značek do membrány a na změnu orientace fluoroforů v membránách o různé rigiditě. Druhá část práce se zabývá studiem vzniku lipidových nanodomén v membráně v přítomnosti cross-linkeru. Přestože standardní fluorescenční mikroskopické techniky neumožňují přímou vizualizaci nanodomén, jejich existenci jsme byli schopni detekovat pomocí FCCS a FLIM-FRET technikami. Naše závěry byly podpořeny Monte-Carlo simulacemi. Studie ukazuje dva mechanismy vzniku nanodomén v závislosti na složení lipidové membrány a koncentraci cross-linkeru. Ve třetím článku byla nově použita metoda TDFS pro stanovení orientace peptidu vzhledem k normále membrány. Předchozí výsledky poskytly základ pro čtvrtý článek věnující se studiu vlivu transmembránových peptidů na dynamiku membrán. Experimentální a výpočetní data ukazují, že zvyšující se množství peptidu v membráně zpomaluje rychlost difuze všech membránových složek v důsledku dočasněho zachycení lipidových acylových řetězců hrubém povrchu peptidu. Přidání cholesterolu do studovaného systému ukázalo na vyloučení cholesterolu z blízkosti peptidu. Protože hrubý povrch je vlastní doslova všem integrálním membránovým proteinům, výsledky naší práce lze zobecnit na většinu eukaryotických buněčných membrán. Distribuce membránových proteinů a cholesterolu v buněčných membránách by proto mohla ovlivnit celou řadu intermolekulárních interakcí nebo kinetiku buněčných procesů odehrávajících se na membráně a tím ovlivňovat životně důležité funkce živých buněk.