

Posudek disertační práce Mgr. Marie Olšinové

„The effect of peptides derived from protein transmembrane domains on membranes“

Předložená disertace se zabývá studiem modelových lipidových membrán a to včetně role transmembránových peptidů pomocí metod zahrnující řadu různých fluorescenčních technik. Výsledky jsou shrnuty ve třech publikovaných článcích v mezinárodních časopisech a jednom odeslaném článku zveřejněném na bioRxiv. Na dvou těchto článcích je kandidátka první autorkou.

Vlastní práce se skládá z poměrně rozsáhlého úvodu, kde jsou nejprve uvedeny lipidové membrány s peptidy a jejich biologického významu. Dále pokračuje přehledný popis různých fluorescenčních technik od základů až po možnosti jejich využití při studiu membrán a proteinů. Následuje přehled výsledků a obsáhlý seznam literatury. V prvním článku se autorka zabývá charakterizací nových fluorescenčních sond, jejich umístěním v membránách a jejich orientací v závislosti na lipidovém složení. Druhý článek se věnuje přítomnosti a charakterizaci membránových nanodomén/heterogenit při zvyšujícím se množství sfingolipidu, ale v koncentracích ještě před makroskopickou separací lipidových fází. Další článek popisuje možnosti fluorescenčních technik pro orientaci peptidu, na což navazuje poslední článek rozkrývající roli hrubosti povrchu peptidů při kontaktu s lipidy. Bylo pozorováno, že peptid a jeho hrubost souvisí se zpomalením okolních lipidů a lokální snížení množství cholesterolu.

Předložená práce je na vysoké úrovni a nemám k ní žádné závažné výhrady.

K diskusi mám následující dotazy:

1. Jak lze ověřit citlivost nových sond na fázovou změnu chování lipidů, když je změna střední doby života přibližně lineární s teplotou, a to jak v blízkosti fázového přechodu, tak dále od něj – obrázek 14 B? Jak přesné je určení polohy sond v membráně (3,6 a 3,3 nm vzdálenost mezi jednotlivými vrstvami)?
2. Jsou pozorované nanodomény s měnící se koncentrací sfingolipidu v Ld nebo Lo fázi? Závisí fáze na velikosti domény?
3. Lze pouze na základě změny spektrálního posunu a relaxačního času sondy rozpoznat peptidy orientující se paralelně nebo kolmo na rovinu membrány? Jak si autorka vysvětluje rozdíly v chování LAT a LW21 peptidů? Konkrétně, že pro LWP21 nedochází ke změně relaxace při poměru 1:100 a dochází k velké (1,18 ns) změně u poměru 1:10, ale pro LAT dochází k malé (0,13 ns) změně relaxace již při poměru 1:100 a jen další mírné (0,16 ns) změně při poměru 1:10 (tabulka 7).
4. U radiální distribuční funkce cholesterolu v okolí peptidu, dochází k dalekosáhlým fluktuacím – dále než 3 nm (obrázek 26 C). Čím je tato dalekosáhlost způsobena? Změnily by aromatické residua chování cholesterolu?

Práci jsem prostudoval a doporučuji ji k obhajobě.

V Brně 10.4.2018

Doc. RNDr. Robert Vácha, Ph.D.
CEITEC a Přírodovědecká fakulta
Masarykova univerzita
+420 549 496 846
robert.vacha@mail.muni.cz