

Abstrakt

Title: Vývoj duální-(+1)-fluorescenční korelační spektroskopie pro sledování oligomerizace proteinů vedoucí k tvorbě membránových pórů

Author: Vandana

Department: Biofyzika, chemická a makromolekulární fyzika

Supervisor: doc. RNDr. Radek Šachl, Ph.D.,

Tato disertační práce představuje na příkladu fibroblastového růstového faktoru 2 (FGF2) nový statistický přístup, který dokáže odlišit „funkční“ oligomery vložené do membrán od „nefunkčních“ proteinových agregátů spojených s membránami. Jeho použití se rozšiřuje nejen na FGF2, ale i na mnoho dalších proteinů asociovaných s membránami, které vyvolávají tvorbu membránových pórů. Princip tohoto přístupu je založen na dvoubarevné fluorescenční korelační spektroskopii (FCS) aplikované na jednotlivé obří unilamelární vezikuly (GUV). Analýzou jasu a difúzních vlastností fluorescenčně značených proteinů poskytuje zásadní poznatky o velikosti oligomerů proteinů, difúzních koeficientech, povrchových koncentracích a propustnosti membrán na volně stojících částech membrán GUVs. Pracuje v širokém rozsahu povrchových koncentrací proteinů, což umožňuje hlubší zkoumání oligomerizace proteinů. Metoda dual-(+1)-FCS, speciálně přizpůsobená pro studium membránových proteinů, vyniká schopností komplexně analyzovat více parametrů v jediném experimentu. Celkově naše metodika představuje robustní nástroj pro korelaci oligomerizace membránových proteinů s tvorbou membránových pórů a otevírá nové možnosti pro porozumění multimodálním distribucím oligomerních stavů běžně získávaným pomocí mikroskopických metod s citlivostí na jednotlivé molekuly.

Klíčová slova: dual-(+1)-FCS, FGF2, oligomerizace, membrána, tvorba pórů

