

Organizace

Umeå University
Department of Chemistry, Umeå, SE
&
Univerzita Karlova,
Přírodovědecká fakulta, Praha, CZ

Typ dokumentu

Disertační práce

Datum vydání

únor 2012

Autor

Radek Šachl

Název práce

Lokalizace fluorescenčních značek a určování velikostí lipidových nanodomén pomocí moderních fluorescenčních metod

Abstrakt

Disertace je rozdělena do dvou hlavních částí. První část se zabývá lokalizací značek v lipidových/polymerních dvojvrstvách a v G_{M1} micelách. V práci prezentujeme nový přístup založený na přenosu/migraci elektronické energie (FRET/DDEM), jež umožňuje efektivně určovat vertikální pozici fluorescenčních molekul uvnitř lipidové dvojvrstvy. Tato metoda byla použita k lokalizaci nově syntetizovaných lipidových značek značených na konci *sn-2* acylového řetězce s různou délkou v DOPC dvojvrstvách.

Analytické modely popisující FRET existují pouze pro limitovaný počet základních geometrií. Kombinace FRETu s Monte Carlo simulacemi nicméně umožňuje lokalizaci značek v bicelách a v dvojvrstvách obsahujících póry, tj. v lipidových systémech s proměnlivým zakřivením a v nehomogenních lipidových útvarech. Tento přístup umožnil např. zjistit, zda kuželovitě tvarované značky mají zvýšenou afinitu k vysoce zakřiveným oblastem dvojvrstvy, což by umožnilo preferenční značení pórů.

Lokalizovány byly rovněž tři deriváty 2-pyridonů (potencionálních léčiv) v G_{M1} micelách za použití jednoduchého modelu zohledňujícího FRET mezi donory a akceptory nacházejícími se v micelách. Lokalizace léčiv v nanočásticích ovlivňuje kinetiku uvolňování (release kinetics) a množství látky solubilizované v micelách (loading efficiency).

Druhá část se především zabývá určováním velikostí lipidových nanodomén pomocí FRETu, který stále zůstává nejvíce výkonnou metodou v této oblasti. Zkoumány byly limitace FRETu v určování lipidových nanodomén. Ukázalo se, že tato omezení jsou především způsobena nízkou afinitou značek buď k L_o nebo k L_d fázi. V navazující studii jsme poskytnuli detailní dynamickou a strukturní studii formace nanodomén indukované crosslinkerem. Objevili jsme dva typy domén: a) domény, jejichž velikost se zvětšuje s rostoucím množstvím přidaného cholera toxinu (CTxB) a k nimž se CTxB váže pevně a b) domény vzniklé v membránách se zvýšeným množstvím sfingomyelinu (ve srovnání s a)), jejichž velikost se nemění během titrace dodatečným CTxB a k nimž se CTxB váže méně pevně.

Hesla

Elektronický přenos/migrace energie, FRET, FCS, Monte Carlo simulace, relaxace rozpouštědla, lipidová dvojvrstva, rafty, micely, BODIPY, fázový diagram.

Jazyk: Angličtina

ISBN: 978-91-7459-390-7

Počet stránek: 46 + 7 publikací