

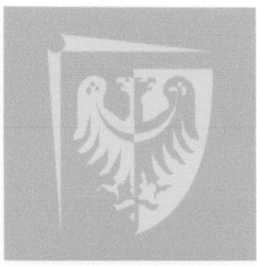
Wrocław, 18.10.2018

## Recenzja

### **rozprawy doktorskiej Pana Mohameda Elderdfi pt. "Interaction of MPP1 with membrane lipids with respect to the regulation of lateral membrane organization."**

Błona biologiczna jest hydrofobową barierą otaczającą fazę wodną o stałych parametrach fizykochemicznych (homeostaza) zapewniających optymalne parametry dla procesów metabolicznych oraz przetwarzania informacji ujętej w „Centralnym dogmacie biologii”. Błona biologiczna jest nie tylko barierą, ale jest także odpowiedzialna za kontrolę przepływu masy oraz spełnia rolę przetwornika wiążącego środowisko z procesami wewnątrzkomórkowymi w tym procesy epigenetyczne. Przetwarzanie informacji docierającej do powierzchni komórki jest możliwe dzięki odpowiednim zmianom jej strukturalnym i topologicznym, w których uczestniczy zarówno błona biologiczna jak i towarzyszące jej struktury białkowe. Uważa się, że mechaniczne sprzężenie pomiędzy błoną biologiczną ze strukturami cytoszkieletu jest czynnikiem epigenetycznym kontrolującym „włączanie” i „wyłączenie” genów, co bezpośrednio przekłada się na funkcje komórki. Sprzężenie funkcjonalne pomiędzy błoną biologiczną i wewnątrzkomórkowymi strukturami jest obecnie przedmiotem intensywnych badań.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska dotyczy właśnie tego obszaru zjawisk, przyczynia się więc do rozwoju ważnego i bardzo aktualnego obszaru wiedzy. Autor rozprawy doktorskiej stawia sobie za cel określenie mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za formowanie domen błonowych, które uważane są za ważny element systemu kontroli procesów, w których zaangażowana jest błona. Jako przedmiot badań wybrano białko MPP1, które uczestniczy w tworzeniu domen lipidowych w błonach erytrocytów. Wcześniejsze badania ograniczały się do badania oddziaływania białka MPP1 z innymi białkami błonowymi. Dane literaturowe wskazują, że palmitoylacja białka MPP1 jest istotna dla tworzenia się domen błonowych. Domeny te wpływają na topologię błony plazmatycznej erytrocytów co ma znaczenie dla funkcjonalności tej komórki. Przesłanki te posłużyły autorowi rozprawy na postawienie tezy, że białko to oddziałuje nie tylko z białkami ale także z dwuwarstwą lipidową błony



plazmatycznej. W celu weryfikacji te tezy autor przeprowadził prace eksperymentalne obejmujące ekspresjonowanie białka MPP1 w komórkach bakteryjnych oraz przeprowadzenie szeregu badań na modelach błony lipidowej w tym monowarstwach i ekstrudowanych liposomach. W wyniku przeprowadzonych prac pokazano po raz pierwszy, że białko MPP1 oddziałuje bezpośrednio z lipidami błonowymi. Pokazano także, że białko MPP1 wiąże lipidy błonowe z wysokim powinowactwem, co stało się punktem wyjścia do zaproponowania nowego mechanizmu molekularnego wskazującego na specyficzne oddziaływania tego białka z lipidami. Pokazano też, że palmitoylacja białka MPP1 (mutant MPP1 C242F) nie wpływa znacząco na jego oddziaływanie z lipidami. Interesującym wynikiem jest wykazanie, że cholesterol wpływa na aktywność wiązania MPP1 z lipidami błonowymi. W oddzielnym doświadczeniu pokazano że, białko MPP1 związane z cholesterolem obniża jego powinowactwo do powierzchni lipidowej co wskazuje na specyficzne oddziaływania cholesterol/MPP1. W dodatkowych doświadczeniach fluorescencyjnych pokazano, że adsorpcja MPP1 z lipidami zmienia organizację molekularną w dwuwarstwie lipidowej. Pokazano także, wykorzystując technikę flotacji, że MPP1 oraz flotellina-1 i flotellina-2 nie konkurują o miejsca wiążące na domach.

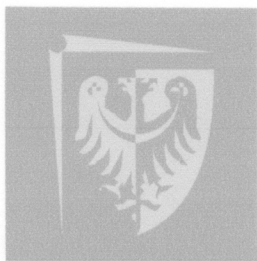
Wyniki zaprezentowane w rozprawie doktorskiej Pana Elderfiego pozwalają na opisanie oddziaływania białka MPP1 ze strukturami błonowymi przyczyniając się w ten sposób na lepszemu zrozumieniu procesów błonowych, w które zaangażowane są cytoplazmatyczne białka peryferyjne.

Zarówno zastosowana metodyka doświadczalna jak i ilościowa analiza oddziaływania białka MPP1 z lipidami sprawiają, że zaprezentowane wyniki spełniają z nadmiarem kryterium nowości.

Na rozprawę doktorską Pana Elderfiego składają się trzy opublikowane prace opatrzone streszczeniem, krótkim wstępem oraz podsumowaniem. W pracy znajdują się także elementy takie jak spis treści i trój-stronnicowa bibliografia.

W krótkim streszczeniu zawarto uzasadnienie i znaczenie prowadzonych badań. Moim zdaniem ograniczenie wstępu do informacji dotyczących bezpośrednio badanego białka, bez wskazania ogólnego kontekstu biologicznego, nie wskazuje na szersze znaczenie uzyskanych wyników. W szczególności mam na myśli brak topologicznego powiązania błony biologicznej ze strukturami wewnątrzkomórkowymi oraz podkreślenie dynamicznego charakteru tego oddziaływania.

Ulokowanie tekstu dotyczącego celu prowadzonych badań pomiędzy publikacjami wydaje mi się posunięciem niezręcznym. Tradycyjnie cel badań umieszcza się zaraz przed lub zaraz po wstępie. Cel pracy ograniczył bym do postawienia tez weryfikowanych w prezentowanych badaniach. Dodanie do tej części rozprawy opisu uzyskanych wyników wydaje się być niepotrzebne. Tym bardziej, że opis ten znajduje się w końcowej części rozprawy.



Trzonem rozprawy są trzy publikacje oraz suplement prezentujące wyniki badań oraz opisujące stosowane techniki i metodologię. Wszystkie załączone publikacje posiadają znaczący indeks cytowań (Chem. Phys. Lipid IF = 2,766; 2 publikacje w Gen. Physiol. Biophys. IF = 1,479).

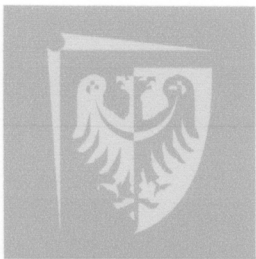
Publikacja w Chem. Phys. Lipids jest wartościowym przeglądem dotyczącym wykorzystania modelu powierzchni lipidów w postaci monowarsty Langmuira. Publikacja ta pokazuje, że autor dogłębnie opanował tą technikę i kompetentnie stosuje ją w badaniach nad oddziaływaniem białka MPP1 z powierzchnią lipidów. Kompetencje te pozwoliły na uzyskanie ilościowych danych dotyczących tego oddziaływania, które są potencjalnie dobrym punktem wyjścia do badań symulacyjnych.

W dwóch pozostałych oryginalnych publikacjach zaprezentowano szczegółowe wyniki badań nad oddziaływaniem białka MPP1 z lipidami. Wykonanie tych badań wymagało od autora znacznych kompetencji w zakresie, trudnej i technicznie wymagającej, techniki wykorzystującej monowarstwę Langmuira jako model powierzchni lipidów. Autor rozprawy wykazał się także umiejętnością posługiwania się spektroskopią fluorescencyjną oraz różnorodnymi technikami biologii molekularnej i biotechnologii.

W ostatnim rozdziale zatytułowanym **podsumowanie i perspektywy na przyszłość** autor przedstawia zestawienie uzyskanych wyników oraz proponuje model koncepcyjny oddziaływania białka MPP1 z dwuwarstwą lipidową skonstruowany poprzez połączenie uzyskanych wyników ze starannie dobranymi danymi z literatury. Jak już pisałem wcześniej brakuje wskazania jakie znaczenie mają uzyskane wyniki w szerszym kontekście fizjologii komórki, takich jak epigenetyka czy transformacja informacji w wyniku reorganizacji błony biologicznej oraz towarzyszącej temu reorganizacja struktur wewnątrzkomórkowych.

Podsumowując, uważam, że Pan Elderfi zaprezentował nowe i ważne wyniki prac dotyczących oddziaływania białka MPP1 z powierzchnią lipidów. Przełożona rozprawa pokazuje, że Pan Elderfi jest sprawnym eksperymentatorem, który opanował technicznie trudne techniki doświadczalne, potrafi przeprowadzić ilościową analizę danych doświadczalnych oraz przedstawić je w kontekście danych literaturowych.

Biorąc wszystko powyższe pod uwagę stwierdzam, że rozprawa Pana Mahomeda Elderfi spełnia wymagania stawiane w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytułach naukowych wraz z późniejszymi poprawkami, stanowi oryginalną pracę naukową, wykazującą na znaczną wiedzę teoretyczną autora, umiejętność samodzielnego projektowania i prowadzenia pracy badawczej oraz posługiwania się zaawansowanymi technikami doświadczalnymi. W związku z po-



# Politechnika Wroclawska

Wydział Podstawowych Problemów Techniki

ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27

50-370, Wrocław

tel. / fax. + 48 (71) 327 77 27

wyższym wnoszę do Rady Naukowej Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pana Mahomeda Eldorfi do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Prof. dr hab. inż. Marek Langner