

Ponuka tém magisterských prác – študijný program BIOCHÉMIA pre akademický rok 2019/2020

Zameranie: Všeobecná biochémia (VS)
Klinická biochémia (KL)

PRACOVISKO: Katedra biochémie PriF UK

RNDr. Petra Čermáková, PhD.

petra.cermakova@uniba.sk

Názov témy 1: Izolácia enzýmov dýchacieho reťazca trypanozomatíd (VS)

Anotácia: Najlepšie preštudovanými enzýmovými komplexmi dýchacieho reťazca trypanozomatíd sú komplexy III (cytochróm *c*-reduktáza), IV (cytochróm *c*-oxidáza) a V (ATP-syntáza). Cieľom diplomovej práce bude izolácia a charakterizácia doteraz kontroverzného komplexu I (NADH-dehydrogenázy) a komplexu II (sukcinátdehydrogenázy) z vybraných monoxenických druhov trypanozomatíd. Pre tento účel bude potrebné zvládnutie širokého spektra biochemických metód, vrátane iónomeničovej chromatografie, gélovej filtrácie, hmotnostnej spektrometrie a natívnej a denaturačnej elektroforézy.

doc. RNDr. Anton Horváth, CSc.

anton.horvath@uniba.sk

Názov témy 1: Vplyv lipidov na energetický metabolizmus trypanozomatíd (VS)

Anotácia: Lipidové zloženie membrán má významný vplyv na deje, ktoré v nich prebiehajú. V našom laboratóriu sa zaoberáme bioenergetickým metabolizmom trypanozomatíd, ktorého významnou súčasťou je aj proces oxidačnej fosforylácie prebiehajúci na vnútornej mitochondriálnej membráne. Diplomová práca je pokračovaním tejto témy zameraná na súvislosti medzi zložením membrán a oxidačnou fosforyláciou. Ako model využije niekoľko druhov trypanozomatíd pestovaných za rôznych kultivačných podmienok. Cieľom je získať nové poznatky o vplyve teploty a zloženia rastového média na lipidové zloženie membrán a na aktivity enzýmov dýchacieho reťazca.

doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD.

jana.kordulakova@uniba.sk

Názov témy 1: Úloha proteínu Rv0132c v syntéze ketomykolátov v mykobaktériách. (VS, KL)

Anotácia: Mykolové kyseliny, α -alkyl β -hydroxy mastné kyseliny s veľmi dlhým reťazcom, sú dôležitou štruktúrnou zložkou bunkového obalu *Mycobacterium tuberculosis* - baktérie, ktorá spôsobuje infekčné ochorenie tuberkulózu. Mykolové kyseliny s funkčnými skupinami obsahujúcimi kyslík, ako napr. metoxy- a ketomykoláty navyše zohrávajú dôležitú úlohu aj vo virulencii týchto baktérií. Metoxy- a ketomykolové kyseliny sú syntetizované z hydroxymykolových kyselín a zatiaľ čo metyltransferáza, ktorá katalyzuje tvorbu metoxymykolátov je známa, dehydrogenáza zúčastňujúca sa tvorby ketomykolátov ešte nebola charakterizovaná. Cieľom projektu bude objasniť úlohu proteínu Rv0132c v tomto procese.

RNDr. Marek Mentel, PhD.

marekmentel@yahoo.com

Názov témy 1: Transport adenínových nukleotidov cez vnútornú mitochondriálnu membránu. (VS)

Anotácia: Transport adenínových nukleotidov cez vnútornú mitochondriálnu membránu zabezpečujú proteíny patriace do mnohopočetnej proteínovej rodiny mitochondriálnych prenášačov. Niektoré z nich disponujú na svojom N-konci doménami, ktoré sú schopné viazať vápnik. S využitím kvasinkových modelových organizmov *Saccharomyces cerevisiae* a *Schizosaccharomyces pombe*

a prostredníctvom funkčnej komplementácie by sa potenciálne dalo preukázať, či väzba s vápnikom je esenciálna pre funkčnosť translokátora modulujúceho absolútne množstvo adenínových nukleotidov v matrici mitochondrií.

doc. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.

katarina.mikusova@uniba.sk

Názov témy 1: Príprava nástrojov pre štúdium biosyntézy bunkovej steny mykobaktérií (VS, KL)

Anotácia: Bunková stena bacila spôsobujúceho tuberkulózu vytvára účinnú ochrannú bariéru na povrchu patogéna. Zároveň však táto štruktúra predstavuje jeho Achilovu päť, pretože viacero účinných antituberkulotík pôsobí práve na úrovni výstavby jej zložiek – mykolových kyselín, arabinogalaktánu a peptidoglykánu (mAGP). Napriek tomu, že väčšina enzýmov, ktoré sa zúčastňujú na biosyntéze mAGP je známa, informácie o finálnej fáze konštrukcie tohto zložitého kovalentného komplexu sú nedostatočné. Naším cieľom je pripraviť nástroje (vybrané enzýmy a substráty), ktoré umožnia preskúmať vybrané aspekty biosyntézy mykobakteriálnej bunkovej steny.

Ing. Martina Neboháčová, PhD.

martina.nebohacova@uniba.sk

Názov témy 1: Metabolizmus protokatechuátu v kvasinkách *Candida parapsilosis* (VS)

Anotácia: Kvasinka *Candida parapsilosis* dokáže degradovať niektoré aromatické zlúčeniny pomocou 3-oxoadipátovej (3OAP) alebo gentisátovej (GP) metabolickej dráhy. Väčšinu substrátov 3OAP ale nie je schopná využívať, ak nesie mutáciu v géne *ICL1* kódujúcom izocitrátlyázu, typický enzým glyoxylátového cyklu. Jedinou doteraz známou výnimkou je protokatechuát (3,4-dihydroxybenzoát), ktorý je využívaný ako jediný zdroj uhlíka aj za týchto podmienok. Cieľom diplomovej práce bude charakterizácia metabolizmu protokatechuátu.

Literatúra:

Holesova, Z.; Jakubkova, M.; Zavadiakova, I.; Zeman, I.; Tomaska, L.; Nosek, J., Gentisate and 3-oxoadipate pathways in the yeast *Candida parapsilosis*: identification and functional analysis of the genes coding for 3-hydroxybenzoate 6-hydroxylase and 4-hydroxybenzoate 1-hydroxylase. *Microbiology* 2011, 157, 2152-2163.

prof. RNDr. Jozef Nosek, DrSc. (1-2 študenti)

jozef.nosek@uniba.sk

Názov témy 1: Komparatívna a funkčná analýza genómov nekonvenčných druhov kvasiniek (VS)

Anotácia: Nekonvenčné druhy kvasiniek predstavujú vhodné modelové organizmy pre štúdium atraktívnych biomedicínskych problémov. Projekt diplomovej práce bude zameraný na skúmanie vybraného biologického fenoménu prístupmi komparatívnej a funkčnej analýzy kvasinkových genómov.

Literatúra:

Dujon, B.A.; Louis, E.J., Genome Diversity and Evolution in the Budding Yeasts (Saccharomycotina). *Genetics* 2017, 206(2), 717-750. Dujon, B., Yeast evolutionary genomics. *Nature Reviews in Genetics* 2010, 11(7), 512-24.

doc. Mgr. Peter Polčic, PhD.

peter.polcic@uniba.sk

Názov témy 1: Analýza účinku nízkoteplotnej plazmy na bunky kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*. (1-2 študenti) (VS, KL)

Anotácia: Nízkoteplotná plazma, vznikajúca pri elektrických výbojoch ovplyvňuje živé bunky a môže spôsobovať až ich usmrtenie. Takúto plazmu je preto možné využiť na ciele zabíjanie buniek, napríklad na inaktiváciu mikroorganizmov pri sterilizácii, alebo na usmrcovanie poškodených buniek pri rôznych terapiách. Molekulárne mechanizmy pôsobenia plazmy na bunky však zostávajú málo pochopené. Cieľom diplomovej práce bude identifikácia génov kvasiniek *S. cerevisiae*, ktoré sú pri ich nadexpresii schopné zvyšovať odolnosť buniek voči pôsobeniu plazmy.

Ing. Pavol Sulo, CSc.

pavol.sulo@uniba.sk

Názov témy 1: Zmena poradia génov v mitochondriálnych genómoch kvasiniek. (VS)

Anotácia: Porovnanie sekvencií poukazuje na zmeny poradia génov v mitochondriálnych DNA (mtDNA) počas evolúcie. To nastáva pravdepodobne v dôsledku duplikácií a náhodných delécií redundantných génov. Jedinečnú možnosť štúdia evolučných mechanizmov so všeobecnou platnosťou poskytujú kvasinky, kde evolúcia a divergencia druhov sa dá študovať aj experimentálne, vďaka procesu známemu ako speciácia medzidruhových hybridov. Zámerom práce je preštudovať molekulárne mechanizmy vedúce k zmene druhovo-špecifického poradia génov v mtDNA. Hľadať spôsoby cielene meniť poradie génov v mtDNA, pokúsiť sa skonštruovať mitochondriálny genóm so zmeneným poradím génov. Vysvetliť prečo sa v intermolekulovej rekombinácii uplatňujú mobilné elementy, zatiaľ čo v intramolekulovej rekombinácii GC klastre.

Literatúra:

Solieri L. 2010. Mitochondrial inheritance in budding yeasts: towards an integrated understanding. *Trends Microbiol.* 18: 521-530.
Sulo, P., Szaboova, D., Bielik, P., Polakova, S., Soltys, K., Jatzova, K., et al. (2017). The evolutionary history of *Saccharomyces* species inferred from completed mitochondrial genomes and revision in the 'yeast mitochondrial genetic code'. *DNA Res.* 24, 571-583
Jatzová K. 2017. Mobilné mitochondriálne intróny a podstata speciácie kvasiniek. Dizertačná práca

Názov témy 2: Je mitochondriálna proteosyntéza esenciálna pre uchovanie kompletných mtDNA? (VS)

Anotácia: Biogenéza mitochondrií si vyžaduje súhrn okolo tisíc proteínov kódovaných jadrom s niekoľkými desiatkami génových produktov kódovaných mitochondriálnou DNA (mtDNA). Avšak súlad či nesúlad medzi oboma genómami má zásadný dosah na mitochondriálne funkcie v medzidruhových cybridoch kvasiniek (bunky s jadrom jedného druhu a mitochondriami druhého druhu). Absencia mitochondriálnej proteosyntézy je príčinou rozpadu mtDNA a generovania ρ petite genómov. V medzidruhových cybridoch s jadrom *S. cerevisiae* a mtDNA *S. bayanus* sa mitochondriálne proteíny nedajú detegovať imunochemicky, čo poukazuje na absenciu mitochondriálnej proteosyntézy. Avšak respirácia týchto cybridov sa dá obnoviť ak získajú jadrový genóm *S. bayanus* po krížení s $\rho 0$ mutantami (kde zas absentuje mtDNA). Zámerom práce je pomocou genetických a biochemických experimentov vysvetliť tento paradox a odpovedať na otázku či je mitochondriálna proteosyntéza potrebná na uchovanie kompletných mitochondriálnych genómov?

Literatúra:

Jatzová K. 2017. Mobilné mitochondriálne intróny a podstata speciácie kvasiniek. Dizertačná práca
Sulo, P., Szaboova, D., Bielik, P., Polakova, S., Soltys, K., Jatzova, K., et al. (2017). The evolutionary history of *Saccharomyces* species inferred from completed mitochondrial genomes and revision in the 'yeast mitochondrial genetic code'. *DNA Res.* 24, 571-583

Názov témy 3: Diagnostika patogénov zodpovedných za chronické ochorenia. (KL)

Anotácia: Chronické choroby, ako sú kardiovaskulárne ochorenia a rakovina, sú hlavnými príčinami úmrtí na celom svete. Ochorenia kĺbov, ako artritída alebo Parkinsonova či Alzheimerova choroba, znižujú kvalitu života seniorov a na ich liečbu sú vynakladané ohromné prostriedky. V poslednom čase sa uvažuje, že chronické ochorenia by mohli byť vo všeobecnosti spôsobené akumuláciou a prežívaním patogénov (baktérií alebo vírusov) v erytrocytoch či leukocytoch. Slabinou týchto prác sú limity a hodnovernosť detekcie patogénov. Zámerom práce je preveriť výskyt dormantných foriem patogénov (baktérií i vírusov) u starších ľudí z rôznych zdrojov (krv, cievy, spútum, kosti po operácii) pomocou nested PCR a komplexnej metagenómovej analýzy. Preukázať súvislosť ich výskytu s niektorými chronickými ochoreniami (artritída, ateroskleróza, gastritída atď.)

Literatúra:

Potgieter M., Bester J., Kell D. B., Pretorius E. 2015. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol Rev.* 39: 567 – 591.
Gargano L. M., Hughes J. M. 2014. Microbial origins of chronic diseases. *Annu Rev Public Health.* 35: 65 – 82.

RNDr. Ingrid Sveráková, PhD.

ingrid.sverakova@uniba.sk

Názov témy 1: Štúdium produkcie voľných kyslíkových radikálov enzýmami dýchacieho reťazca *Diplonema papillatum* (VS)

Anotácia: *Diplonema papillatum* patrí do triedy Diplonemae a spolu s triedami Kinetoplastea a Euglenoidea tvoria kmeň Euglenozoa. Prirodzeným prostredím *D. papillatum* sú morské vody, kde dokáže prežívať pri rôznych koncentráciách kyslíka. Voľné kyslíkové radikály (ROS) sú, okrem iného, produktom nedokonalého transportu elektrónov enzýmami dýchacieho reťazca. Cieľom diplomovej práce bude zaviesť metódu pre meranie ROS a stanoviť ich hodnoty pri rôznych kultivačných podmienkach.

Literatúra:

Deavall, D.G., Martin, E.A., Horner, J.M. a Roberts, R. Drug-Induced Oxidative stress and Toxicity. *Journal of Toxicology* (2012), doi:10.1155/2012/645460.

doc. RNDr. Igor Zeman, PhD.

igor.zeman@uniba.sk

Názov témy 1: Membránové transportéry v kvasinkách rodu *Candida*. (VS)

Anotácia: Jedným z najdôležitejších predstaviteľov patogénnych kvasiniek rodu *Candida* je kvasinka *Candida parapsilosis*. Membránový transport patrí medzi esenciálne bunkové procesy. Transportéry konkrétnych metabolitov v *C. parapsilosis* sú do značnej miery neznáme alebo len čiastočne preskúmané. Cieľom práce je charakterizovať gény a proteíny, ktoré sú potrebné pre transport unikátnych rastových substrátov – hydroxyderivátov benzénu a kyseliny benzoovej. Ďalším predmetom výskumu sú transportéry nachádzajúce sa vo vnútornej membráne mitochondrií, ktoré prepájajú metabolické procesy prebiehajúce v mitochondriách a v cytoplazme.

Mgr. Júlia Zemanová, PhD.

julia.zemanova@uniba.sk

Názov témy 1: Využitie moderných sekvenačných techník pri štúdiu *M. tuberculosis*. (VS, KL)

Anotácia: V klinickej mikrobiologickej praxi sa v súčasnosti dostáva do popredia sekvenovanie genómov rôznych patogénov. Celogenómové sekvenovanie poskytuje výhody pri genotypizácii a odhaľovaní nových typov sekvencií zahrnutých v antimikrobiálnej rezistencii. *Mycobacterium tuberculosis* je stále aktuálnym ľudským patogénom. Cieľom práce je využitie moderných sekvenačných techník a analýzy genómu, prípadne transkriptómu, vybraných kmeňov *M. tuberculosis*, na získanie nových poznatkov o tejto baktérii.

PRACOVISKO: Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UK

doc. RNDr. J. Muchová, PhD.

jana.muchova@fmed.uniba.sk

Názov témy 1: Vplyv kombinovanej intervencie (fyzická aktivita a zvýšený príjem proteínov) na molekulárne mechanizmy sarkopénie u potkanov (KL)

Anotácia: Starnutie kostrového svalstva alebo sarkopénia sa prejavuje úbytkom svalovej hmoty. Ak tento úbytok presiahne kritickú hranicu, dochádza k narušeniu funkčnosti pohybového aparátu, čo má veľký vplyv na kvalitu života. Avšak komplexná etiológia a základné biochemické a molekulárne mechanizmy zostávajú stále nejasné. Nedávne dôkazy naznačujú, že počas starnutia dochádza ku iniciácii a progresii svalovej atrofie účinkom rôznych vnútorných (zníženie syntézy proteínov, oxidačný stres, mitochondriálna dysfunkcia a chronický zápal), ako aj vonkajších faktorov (malnutriícia, znížená fyzická aktivita). Projekt je zameraný na identifikáciu a analýzu zmien bunkových funkcií v starnúcom svalu potkana z pohľadu výkonnosti mitochondrie, prítomnosti oxidačného stresu a zmien v bunkovom proteóme. Cieľom diplomovej práce je lepšie pochopenie molekulárnych mechanizmov sarkopénie a štúdium účinkov kombinovanej intervencie na tieto mechanizmy.

Literatúra:

I. Laher (ed.), *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*, DOI 10.1007/978-3-642-30018-9_2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Ďuračková Z. a kol.: *Príroda a zdravie človeka (prírodné látky a ich význam v prevencii liečbe ochorení)*. Bratislava: SAP, 2008

PRACOVISKO: Biomedicínske centrum SAV, Virologický ústav

RNDr. Monika Baráthová, PhD.

monika.barathova@savba.sk

Názov témy 1: Príprava a analýza 3D bunkových systémov integrujúcich viaceré zložky mikroprostredia nádorových buniek. (VS, KL)

Anotácia: Nádorové mikroprostredie je veľmi heterogénne a jeho súčasti aktívne reagujú na zmeny prostredia zapojením signálnych dráh vedúcich k adaptácii buniek na zmenené podmienky. Opakované vystavenie buniek hypoxii vedie často k smrti buniek a k rozvoju nekrotických oblastí, v okolí ktorých sa selektujú bunky schopné adaptácie nové podmienky. Standardné dvojrozmerné bunkové kultúry majú nepochybne veľké výhody, no dostatočne neodzrkadľujú pomery v rámci nádorového mikroprostredia v zmysle gradientov nutričných, odpadových látok, kyslíka a pH. Trojrozmerné (3D) tkanivové kultúry sferoidov vernejšie simulujú nádorové prostredie s ohľadom na morfológiu, vzájomné interakcie buniek s extracelulárnou matrix a interakcie medzi bunkami. Cieľom diplomovej práce bude vytvorenie a zavedenie vhodných 3D modelov ko-kultivácií nádorových epitelových buniek so stromálnymi komponentami (fibroblasty, endotelové bunky, komponenty extracelulárnej matrix) a ich charakterizácia. V takýchto kultúrach budeme sledovať aj vplyv parakrinnej signalizácie na zloženie proteómu, ako aj vplyv stromálnych komponentov na účinnosť chemoterapeutík.

PRACOVISKO: Centrum biovied SAV, Ústav biochémie a genetiky živočíchov

Mgr. Silvia Bágelová Poláková PhD.

bagelova.silvia@gmail.com

Názov témy 1: Charakterizácia nových génov potrebných pre meiotické a mitotické delenie chromozómov. (VS, KL)

Anotácia: Naše laboratórium sa zaoberá rôznymi aspektami bunkového delenia u modelového organizmu kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*. Zameriavame sa na identifikáciu a charakterizáciu nových proteínov zúčastňujúcich sa meiotickej a mitotickej segregácie chromozómov. Cieľom projektu je pochopiť mechanizmy, ktoré vedú k vzniku závažných ľudských ochorení, akými sú napr. Downov syndróm alebo nádorové ochorenia.

Literatúra:

Sanyal S, Molnarova L, Richterova J, Huraiova B, Benko Z, Polakova S, Cipakova I, Sevcovicova A, Gaplovska-Kysela K, Mechtler K, Cipak L, Gregan J. Mutations that prevent methylation of cohesin render sensitivity to DNA damage in *S. pombe*. 2018. *J Cell Sci*. 131(13).

Polakova S, Molnarova L, Hyppa RW, Benko Z, Misova I, Schleiffer A, Smith GR, Gregan J. 2016. Dbl2 Regulates Rad51 and DNA Joint Molecule Metabolism to Ensure Proper Meiotic Chromosome Segregation. *PLoS Genet*. 12:e1006102.

Phadnis N, Cipak L, Polakova S, Hyppa RW, Cipakova I, Anrather D, Karvaiova L, Mechtler K, Smith GR, Gregan J. 2015. Casein Kinase 1 and Phosphorylation of Cohesin Subunit Rec11 (SA3) Promote Meiotic Recombination through Linear Element Formation. *PLoS Genet*. 11:e1005225.

Polakova S, Benko Z, Zhang L, Gregan J. Mal3, the *Schizosaccharomyces pombe* homolog of EB1, is required for karyogamy and to promote oscillatory nuclear movement during meiosis. 2014. *Cell Cycle*. 13:72-7

Mgr. Mária Balážová, PhD.

maria.balazova@savba.sk

Názov témy 1: Vplyv fosfolipidového zloženia membrán na funkcie mitochondrií. (VS, KL)

Anotácia: Mitochondriálne membrány reprezentujú vysoko špecializovanú funkčnú jednotku

pozostávajúcu z dvoch rozdielnych lipidových dvojrvtiev. Špecifickými lipidmi týchto membrán sú kardiolipín a jeho prekurzor fosfatidylglycerol (PG). Pre bunkovú homeostázu kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* je okrem iného dôležité, aby bola hladina PG v ich membránach udržiavaná na nízkej úrovni. K takému stavu výrazne prispieva proteín Pgc1, ktorý vďaka fosfolipázovej aktivite typu C špecificky štípe PG na diacylglycerol a glycerol-3-fosfát (Šimočková a kol., 2008). PG však nepredstavuje len prebytočnú molekulu, ktorú je potrebné odstrániť. Je veľmi dôležitý, pretože je medziproduktom a zároveň priamym prekurzorom mitochondriálneho kardiolipínu a za určitých podmienok ho dokonca nahrádza v niektorých jeho funkciách. Jeho vysoká akumulácia v mitochondriách má však negatívny vplyv na ich morfológiu a funkciu (Pokorná a kol., 2016) a vyžaduje sa jeho degradácia. Otázka úlohy Pgc1 vo fyziológii kvasiniek *S. cerevisiae* však zostáva stále otvorená.

Literatúra:

Pokorná, P., Čermáková, A., Horváth, M.G., Baile, S.M., Claypool, P., Griač, J., Malínský, M., Balážová, Specific degradation of phosphatidylglycerol is necessary for proper mitochondrial morphology and function, *Biochim. Biophys. Acta.* (2015). doi:10.1016/j.bbabo.2015.10.004.
Šimočková, M., Holic, R., Tahotná, D., Patton-Vogt, J., and Griač, P. (2008). Yeast Pgc1p (YPL206c) controls the amount of phosphatidylglycerol via a phospholipase C-type degradation mechanism. *J. Biol. Chem.* 283, 17107–17115.

RNDr. Peter Griač, CSc.

Peter.Griac@savba.sk

Názov témy: Štúdium mitochondriálnych fosfolipidov u kvasiniek (VS)

Anotácia: Mitochondrie sú dôležité organely eukaryotických buniek nielen ako energetické centrum bunky, ale ovplyvňujú významným spôsobom vnútrobunkovú signalizáciu, bunkový cyklus, apoptózu...Lipidové zloženie mitochondriálnych membrán silno ovplyvňuje takmer všetky mitochondriálne procesy. Na modelovom eukaryotickom organizme kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* preskúmame niektoré neznáme aspekty biogenézy mitochondriálnych lipidov. Zameriame sa najmä na regulovanú degradáciu a prestavbu mitochondriálnych lipidov.

Literatúra:

Praharaj PP et al. (2018) Intricate role of mitochondrial lipid in mitophagy and mitochondrial apoptosis: its implication in cancer therapeutics., *Cell Mol Life Sci.* 2018 doi: 10.1007/s00018-018-2990-x.
Virčíková V et al (2018) Schizosaccharomyces pombe cardiolipin synthase is part of a mitochondrial fusion protein regulated by intron retention. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 1863(10):1331-1344. doi: 10.1016/j.bbalip.2018.06.019

RNDr. Ivan Hapala, CSc.

ivan.hapala@savba.sk

Názov témy: Úloha prekurzorov ergosterolu v biogenéze lipidových partikul u kvasiniek (VS)

Anotácia: Lipidové partikuly (LP) hrajú dôležitú úlohu u eukaryotických buniek pri udržavaní homeostázy lipidov, v energetickom metabolizme a v ochrane buniek pred toxickým účinkom niektorých lipidov. Poruchy v biogenéze LP a v ich funkciách je spojená s prejavmi lipotoxicity a závažnými metabolickými poruchami u ľudí. Podľa súčasných predstáv je hlavným faktorom spúšťajúcim biogenézu LP akumulácia triglyceridov (TG) v endoplazmatickom retikule. V menšej miere môže byť tvorba LP udržiavaná aj syntézou sterol esterov (SE). V LP sa okrem triglyceridov a sterol esterov uskladňuje aj prekurzor sterolov skvalén, ktorý je komerčne mimoriadne zaujímavou lipidickou látkou. V našom laboratóriu sme dokázali, že u mutantov kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* s vyradenou syntézou TG a SE, ktoré nie sú schopné tvoriť LP, je skvalén lipotoxický. Ani masívna akumulácia skvalénu však nie je schopná spúšťať tvorbu LP. Diplomová práca bude zameraná na sledovanie tvorby LP v podmienkach indukovanej akumulácie skvalénu (mutanty s narušenou biosyntézou ergosterolu, opracovanie inhibítorom skvalénepoxidázy terbinafinom) pri kontrolovanej expresii acyltransferáz zúčastnených v syntéze TG a SE. Budeme sledovať, ako bude tvorba LP ovplyvnená hladinou a povahou esterifikovaných sterolov (prekurzory ergosterolu a cudzorodé steroly ako napr. cholesterol sú v kvasinkách esterifikované s vysokou účinnosťou) a hladinou akumulovaného skvalénu. Využitie pri tom budú základné metódy molekulárnej biológie (izolácia a klonovanie génov, príprava expresných vektorov, analýza expresie vybraných génov pomocou PCR a imunodetekcie

proteínov), biochémie (izolácia a analýza lipidov pomocou HPLC, plynovej a tenkovrstvovej chromatografie) a bunkovej biológie (fluorescenčná mikroskopia, izolácia a analýza subcelulárnych frakcií kvasiniek). Cieľom práce bude pochopiť mechanizmy kontroly biogenézy LP na molekulárnej úrovni, čo by umožnilo zvýšiť biotechnologickú produkciu skvalénu v kvasinkách a redukovať jeho prípadnú lipotoxicitu.

Literatúra:

- Garaiová M., Hapala I. (2018) Skvalén: od tradičnej medicíny k moderným aplikáciám. *Chemické Listy* 112, 427-433
- Olzmann J.A., Carvalho P. (2018). Dynamics and functions of lipid droplets *Nature Reviews in Cellular and Molecular Biology* doi: 10.1038/s41580-018-0085-z. [Epub ahead of print]
- Valachovic, M., Garaiova, M., Holic, R., & Hapala, I. (2016). Squalene is lipotoxic to yeast cells defective in lipid droplet biogenesis. *Biochemical and biophysical research communications*, 469(4), 1123-1128.
- Wilfling, F., Haas, J. T., Walther, T. C., Farese Jr, R. V. (2014). Lipid droplet biogenesis. *Current opinion in cell biology*, 29, 39-45.

Mgr. Martin Valachovič, PhD.

martin.valachovic@savba.sk

Názov témy 1: Interakcia lipidového metabolizmu s bunkovou stenou kvasiniek. (VS)

Anotácia: Diplomant bude študovať vplyv bunkovej steny pri utilizácii cudzoroďného sterolu v stresových podmienkach. Zaujímať ju/ho bude predovšetkým príjem cicavčieho cholesterolu a rastlinných sterolov - sitosterolu a stigmasterolu v podmienkach s narušenou syntézou natívneho ergosterolu vplyvom hypoxie alebo antimykotík. Napriek tomu, že sú známe kandidátne proteíny bunkovej steny, ktoré sa podieľajú na tomto procese a bunková stena je „miesto prvého kontaktu“, jej účasť pri utilizácii externého sterolu je len veľmi málo preskúmaná. Diplomant bude skúmať schopnosť týchto proteínov viazať steroly a overiť potenciálnu interakciu bunkovej steny s ostatnými bunkovými lipidmi.

PRACOVISKO: Chemický ústav SAV – Centrum glykomiky

Ing. Marek Nemčovič, PhD.

chemnem@savba.sk

Názov témy 1: Hmotnostná spektrometria v glykoprofilovaní pacientov so zriedkavými dedičnými poruchami metabolizmu. (VS, KL)

Anotácia: Témou diplomovej práce bude aplikácia hmotnostnej spektrometrie v profilovaní oligosacharidov viazaných na proteíny vo vzorkách pacientov podozrivých na dedičné poruchy glykozylácie (CDG). Dedičné poruchy glykozylácie patria medzi zriedkavé poruchy metabolizmu. Najčastejší typ CDG ochorenia, zapríčinený mutáciou fosfomanomutázy-2 (PMM2-CDG), má prevalenciu 1:50000. V súčasnosti je celosvetovo definovaných viac než 100 typov CDG ochorení spôsobených zmenou v biosyntéze a modifikácii oligosacharidov. Aplikácia hmotnostnej spektrometrie pri analýze oligosacharidových profilov sér môže pomôcť pri diagnostike známych, ako aj nových typov CDG ochorení.

PRACOVISKO: Neuroimunologický ústav SAV

Ing. Ondrej Cehlár, PhD.

ondrej.cehlar@savba.sk

Názov témy 1: Mechanizmus agregácie tau proteínov (VS, KL)

Anotácia: Proteín tau je prirodzene neusporiadaný proteín a zohráva zásadnú úlohu v patogenéze Alzheimerovej choroby a iných tauopatií. Hoci proteín tau nenadobúda vo fyziologickom stave pevnú trojrozmernú štruktúru, v priebehu ochorenia agreguje a vytvára usadeniny tvorené vláknami s pevnou trojrozmernou štruktúrou ich jadra. Mechanizmus patologickej premeny a agregácie tau proteínu je možné priblížiť sledovaním *in vitro* agregácie rôznych foriem tau proteínu. Pripravené agregované vzorky budú použité na NMR merania v pevnom stave a kryoelektrónovú mikroskopiou, čo umožní objasnenie ich štruktúr. Študent získa skúsenosti s rôznymi biochemickými

a biofyzikálnymi metódami.

PharmDr. Andrej Kováč, PhD.

andrej.kovac@savba.sk

Názov témy 1: Vývoj systémov pre transport liečiv cez hematoencefalickú bariéru (VS, KL)

Anotácia: V oblasti vývoja nových terapeutík centrálnej nervovej sústavy predstavuje hematoencefalická bariéra veľkú prekážku a je jedným z najvýznamnejších limitujúcich faktorov. Až 100% vysokomolekulových liečiv ako napríklad peptidy, rekombinantné proteíny, monoklonálne protilátky, liečivá na báze RNAi, ako i liečivá génovej terapie a takmer 98% nízkomolekulových liečiv nie je schopných prechádzať cez HEB. Mnohé súčasné terapeutické činidlá pre neurodegeneratívne ochorenia majú nežiaduce vedľajšie účinky, nízku stabilitu v *in vivo* podmienkach a predovšetkým neposkytujú dostatočne vysokú koncentráciu v cieľovom tkanive-mozgu, aby sa umožnil maximálny terapeutický účinok. Téma diplomovej práce bude zameraná na vývoj nového peptidového systému pre transport liečiv cez hematoencefalickú bariéru do mozgu. Téma bude zahŕňať systematický skrining fágovej peptidovej knižnice na primárnych mozgových endotelových bunkách, identifikáciu peptidov špecificky rozpoznávajúcich bunky hematoencefalickej bariéry resp. peptidov internalizujúcich sa do buniek, syntézu identifikovaných peptidov, stanovenie permeability peptidov cez *in vitro* model hematoencefalickej bariéry, objasnenie mechanizmu ich transportu. Hľadanie peptidov, ktoré sú schopné účinne transportovať látky cez hematoencefalickú bariéru, patrí medzi významné kroky vývoja nových terapeutických a diagnostických prístupov v oblasti liečby neurodegeneratívnych a neurologických ochorení. Peptidy môžu v budúcnosti slúžiť ako základ pre predklinické a klinické skúšanie nových liečiv.

Názov témy 2: Štúdium vzťahu medzi diabetom a Alzheimerovou chorobou (VS, KL)

Anotácia: Tauopátie, medzi ktoré patrí i Alzheimerova choroba predstavujú heterogénnu skupinu neurodegeneratívnych ochorení, ktorých hlavným znakom je intracelulárna agregácia tau proteínu za vzniku neurofibrilárnych kľbiek. Pacienti s diabetom 2. typu majú značne vyššiu pravdepodobnosť vývinu Alzheimerovej choroby, cievnej demencie, resp. iných typov demencií. Výskum ukázal, že až 70% tých, ktorí majú diabetes 2. typu zaznamenávajú prudký pokles kognitívnych funkcií, ktorý vedie k vývinu demencie. Pre diabetes 2. typu a proces neurodegenerácie, aký vidíme u pacientov s Alzheimerovou chorobou, sú charakteristické prítomnosť a navodenie inzulínovej rezistencie, indukcia neurozápalu a oxidačného stresu, porušenie signalizačného mechanizmu glykogén syntázy kinázy (GSK3 β), dysregulácia aktivity acetylcholinesterázy, tvorba nerozpustných extracelulárnych amyloidných plakov z amyloidového prekursorového proteínu (APP) a intracelulárnych neurofibrilárnych kľbiek z tau proteínu. Nedávne štúdie zaznamenali rastúci záujem o štúdium neurodegenerácií a moduláciu neurodegeneratívnych procesov použitím protektívnych neuropeptidov s cieľom vyvinúť nové terapeutiká. Použitie neuropeptidov v *in vitro* a *in vivo* štúdiách viedlo k účinnej inhibícii oxidačného stresu, aktivácii gliových buniek, sekrécie prozápalových cytokínov, infiltrácie leukocytov z periférneho prostredia do mozgového tkaniva a bunkovej smrti. Detailnejšie pochopenie prepojenia tauopatií a diabetu 2. typu, ako i použitie protektívnych neuropeptidov by mohlo v budúcnosti prispieť k rozvoju nových terapeutických prístupov v liečbe neurodegeneratívnych ochorení, ktoré by mohli byť použité v klinickej praxi.

Názov témy 3: Modulácia neurofibrilárnej patológie Alzheimerovej choroby pomocou PACAP neuroprotektívneho peptidu (VS, KL)

Anotácia: V posledných desaťročiach sa vyvinulo úsilie o štúdium neurodegenerácií a moduláciu patológie použitím protektívnych neuropeptidov v snahe vyvinúť nové terapeutické postupy. Jedným z protektívnych neuropeptidov je polypeptid aktivujúci neuropeptid hypofýzy adenylát cyklázy (PACAP). PACAP pozostáva z 38 aminokyselín a je produkovaný bunkami hypotalamu. Hlavnou úlohou PACAP peptidu je stimulovať aktivitu adenylát- cyklázy a zabezpečiť produkciu cAMP v bunkách hypofýzy. Mnohé *in vitro* a *in vivo* štúdie využívajúce animálne modely ukázali neuroprotektívnu úlohu PACAP peptidu v procesoch neurozápalu a neurodegenerácií. PACAP

inhiboval aktiváciu mikroglíí, produkciu prozápalových cytokínov a chemokínov, ako i infiltráciu leukocytov z periférie do mozgu. PACAP môže priamo pôsobiť na mikroglie a inhibovať produkciu prozápalových chemokínov (MIP-1, MIP-2, RANTES) a cytokínov (TNF- α , IL-1 β , IL-6). PACAP inhibuje tvorbu reaktívnych foriem kyslíka a zabraňuje bunkovej smrti neurónov. Cieľom diplomovej práce bude modulovať neurodegeneratívne procesy (fosforylácia a agregácia tau proteínu, bunková smrť, neurozápal) indukované expresiou tau proteínu pomocou PACAP protektívneho neuropeptidu v potkaňom animálnom modeli.

Názov témy 4: Tryptofán kynurenínová signálna dráha v tauopátiách a jej neuroprotektívna úloha s využitím v terapii (VS, KL)

Anotácia: Rozvojom metód analytickej chémie, proteomiky a metabolomiky máme možnosť detailne študovať procesy, ktoré môžu viesť k vzniku neurofibrilárnej patológie, resp. môžu byť jej dôsledkom a stať sa tak dôležitými pre rozvoj nových a účinných terapií. Patrí sem i štúdium kynurenínovej signálnej dráhy. V procese neurodegenerácie počas Alzheimerovej choroby, Parkinsonovej choroby, Huntingtonovej choroby a iných dochádza k porušeniu špecifickej dráhy metabolizmu tryptofánu. Väčšina tryptofánu vstupuje do metabolickej dráhy kynurenínu za vzniku L-kynurenínu, ktorý je v ďalších krokoch metabolizovaný za vzniku neuroprotektívnej kynurenínovej kyseliny alebo naopak neurotoxickej quinolínovej kyseliny a NAD (nikotínamid adenín dinukleotid) molekúl. V súvislosti s Alzheimerovou chorobou bolo u pacientov popísané zvýšené množstvo kynurenínu v krvi a cerebrospinálnej tekutine. Zvýšená koncentrácia quinolínovej kyseliny bola nájdená v kortikálnych a hipokampálnych neurónoch, v oblastiach postihnutých neurofibrilárnou patológiou. Stimulácia neurónov quinolínovou kyselinou vedie k zvýšenej regulácii génov zúčastňujúcich sa na abnormálnej hyperfosforylácii tau proteínu a môže mať úlohu v tvorbe neurofibrilárnej patológie. Ovplynvenie metabolizmu kynurenínu smerom k produkcii neuroprotektívnej kyseliny kynurenínovej by sa mohlo stať základom vzniku terapeutických stratégií, resp. novej účinnej prevencie voči neurodegeneráciám.

RNDr. Rostislav Škrabana, PhD.

rostislav.skrabana@savba.sk

Názov témy 1: Štruktúrne a biofyzikálne aspekty interakcie laktoferínu s plazminogénom (VS, KL)

Anotácia: Laktoferín je multifunkčný proteín z rodiny transferínov. Nachádza sa napr. v materskom mlieku alebo krvnej plazme, kde predstavuje dôležitý komponent prirodzenej ochrany organizmu proti infekciám, nádorovým ochoreniam či alergiám. Naše nedávne výsledky ukázali, že laktoferín viaže plazminogén – zymogén plazmínu, čo je serínová proteáza zapojená do mnohých biochemických procesov. Laktoferín zohráva dôležitú úlohu pri regulácii plazmínu za patologických podmienok. Predmetom práce bude charakterizácia vzájomnej interakcie laktoferínu a plazminogénu metódami štruktúrnej biológie a biofyziky. Študent získa zručnosti v technikách práce s proteínmi. Využívané metódy budú zahŕňať röntgenovú kryštalografiu proteínov, stanovenie väzobných a aktívnych konštant proteínov, biofyzikálnu charakterizáciu proteínov.

Názov témy 2: Cílené modulovanie afinity a selektivity protilátky interagujúcej s biomedicínsky významnou oblasťou tau proteínu (VS, KL)

Anotácia: Prirodzene neusporiadaný proteín tau je intímne zapojený do patogenézy Alzheimerovej choroby a príbuzných tauopátií. Centrálna, mikrotubuly-viažuca doména (MVD) proteínu tau sa priamo podieľa na patologickej agregácii pri neurodegenerácii a na šírení patológie v mozgu pacientov. MVD proteínu tau je dôležitým cieľom pre vývoj nových foriem diagnózy a liečby tauopátií. V diplomovej práci sa zameriame na pochopenie podstaty interakcie špecifickej monoklónovej protilátky reagujúcej s MVD, smerujúc k zvýšeniu jej afinity a selektivity. Študent si prehĺbi zručnosti v experimentálnych a *in silico* metódach štruktúrnej biológie. V praktickej časti budeme využívať metódy röntgenovej kryštalografie proteínov, NMR proteínov, molekulového modelovania proteínov, bioinformatiky. Projekt má bezprostredný výstup do praxe.

PRACOVISKO: Ústav molekulárnej biológie SAV

Mgr. Nina Kunová, PhD.

nina.kunova@savba.sk

Názov témy 1: Posttranslačné modifikácie DNA-väzobných proteínov mitochondriálneho nukleoidu (VS)

Anotácia: Mitochondrie patria k významným eukaryotickým organelám, ktoré sa okrem prepojenia s esenciálnymi bunkovými procesmi, ako sú dýchanie, starnutie a apoptóza, vyznačujú aj prítomnosťou vlastného mitochondriálneho genómu. Mitochondriálna DNA (mtDNA) spolu s rôznymi skupinami proteínov vytvára vyššie štruktúry, nukleoidy. Tieto neustále podliehajú dynamickým zmenám, čím je zabezpečená dostupnosť mtDNA pre replikáciu, opravu či transkripciu a zároveň udržiavaná mitochondriálna homeostáza. V našej práci sa venujeme prepojeniu vybraných nukleoid viažucich proteínov s mitochondriálnou ATP-závislou proteázou Lon, ich vzájomnej regulácii a vplyvu posttranslačných modifikácií na tieto interakcie. Lon proteáza *in vivo* zabezpečuje kontrolu kvality proteínov, a to degradáciou poškodených, zle zložených alebo nezložených proteínov, ako aj degradáciu prirodzene nestabilných regulačných proteínov. Diplomová práca bude zameraná na expresiu, purifikáciu a prípravu posttranslačne modifikovaných proteínov mitochondriálneho nukleoidu. Pomocou modifikácií tak budeme sledovať ich vplyv na reguláciu sprostredkovanú degradačnou aktivitou Lon proteázy, ktorá môže napomôcť pochopeniu a bližšiemu objasneniu dynamických zmien mitochondriálneho nukleoidu *in vivo*.

Literatúra:

1. Kunová N., Ondrovičová G., Bauer J., Bellová J., Ambro L., Martináková L., Kotrasová V., Kutejová E., Pevala V. (2017). The role of Lon-mediated proteolysis in the dynamics of mitochondrial nucleic acid-protein complexes. *Sci. Rep.* 7, 631
2. Kereiche S., Kováčik L., Bednár J., Pevala V., Ambro L., Bellová J., Kunová N., Ondrovičová G., Kutejová E., Raška I. (2016). The N-terminal domain plays a crucial role in the structure of a full-length human mitochondrial Lon protease. *Sci. Rep.* 6, 33631

Mgr. Renáta Nováková, CSc.

renata.novakova@savba.sk

Názov témy 1: Modifikácie biosyntézy aromatických polyketidov u Streptomycét. (VS)

Anotácia: Streptomycéty predstavujú rozmanitú skupinu baktérií, široko rozšírených v pôde, vode a iných prírodných enviromentoch. Ich populácia v ekosystéme je určená mnohými fyzikálnymi, chemickými a biologickými faktormi (Hasani a kol., 2014). Streptomycéty patria medzi významných producentov sekundárnych metabolitov s rozmanitými štruktúrami a biologickými aktivitami. Medzi takéto sekundárne metabolity patria polyketidy, ktoré reprezentujú veľkú skupinu prírodných produktov, ktoré sú z farmakologického hľadiska dôležitým zdrojom nových terapeutík, ktoré sa využívajú v medicíne väčšinou ako antibiotiká (80%), imunosupresíva, protinádorové liečivá. Okrem antibiotík, streptomycéty produkujú aj ďalšie zlúčeniny, ktoré sú využiteľné v medicíne alebo priemysle. Rýchly nástup rezistencie voči jednotlivým antibiotikám, variabilita mechanizmov rezistencie a existencia MDR (multi-drug resistance) mikroorganizmov naznačuje potrebu vývinu nových a efektívnejších liečiv. Syntetická biológia sa zameriava na syntézu nových metabolitov, alebo modifikáciu už existujúcich. Jej prístupy umožňujú kombináciu viacerých biosyntetických dráh, čo umožňuje syntézu nových zlúčenín (Gomez-Escribano a Bibb, 2014).

Literatúra:

- Hasani, A., Kariminik, A., Issazadeh, K. (2014) Streptomycetes: Characteristic and their antimicrobial activities. *Int J Adv Biol Biom Res* 2, 63-75
- Gomez-Escribano, J.P. and Bibb, M.J. (2014) Heterologous expression of natural products biosynthetic gene cluster in *Streptomyces coelicolor*: from genome mining to manipulation of biosynthetic pathways. *J Ind Microbiol Biotechnol* 41, 425-431