

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: Shirin Sayedová

Název práce: Funkční charakterizace MDR pumpy Pdr5p zodpovědné za mnohočetnou lékovou rezistenci u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*

Studijní program a obor: Fyzika, Biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2021

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: Doc. RNDr. Dana Gášková, CSc.

Pracoviště: Matematicko-fyzikální fakulta, Fyzikální ústav UK, Ke Karlovu 5, 121 16 Praha 2

Kontaktní e-mail: gaskova@karlov.mff.cuni.cz

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Diplomová práce Shirin Sayedové byla zadána v kontextu problematiky dlouhodobě řešené v oddělení biofyziky zabývající se činností relativně neselektivních kvasinkových membránových transportérů (pump), z nichž každý se podílí na odstraňování celé řady strukturně i funkčně odlišných látek z cytosolu. Jejich nadprodukce v membráně buněk vede k fenoménu nazývanému mnohočetná léková rezistence, který představuje hlavní klinický problém při léčbě nejenom kvasinkových infekcí.

Hlavním cílem diplomové práce bylo přispět k rozšíření poznatků o uspořádání vazebné kapsy pumpy ScPdr5p, jedné ze tří hlavních MDR pump u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Diplomová práce bezprostředně navazuje na výsledky získané v disertační práci Mgr. Ivy Jančíkové, Ph.D., které se týkají rozdílného uspořádání vazebných kapes pumpy Pdr5p u kvasinek *S. cerevisiae* a *K. lactis*. Zjištění, že potenciometrická fluorescenční sonda diS-C₃(3) se váže do všech tří identifikovaných vazebných míst ve vazebné kapse ScPdr5p, významnou měrou přispělo k možnosti použití diS-C₃(3) fluorescenční metody pro stanovení toho, zdali testovaný substrát interaguje se všemi vazebnými místy nebo pouze s některým/některými a je tudíž umožněna vazba sondy do zbývajících vazebných míst a její kotransport spolu s azolem z buněk. Jak bylo v práci dokázáno, žádný z testovaných azolů se neváže do všech tří vazebných míst ve vazebné kapse ScPdr5p. Stanovení konkrétních vazebných míst, do kterých se testovaný azol váže, bylo provedeno pomocí zónových testů, ve kterých byla studována kompetice azolů s modelovými, tzv. benchmark, substráty vazebných míst 1, 2 a 3. Vzhledem k časové i materiálové náročnosti zónových testů jsme se v první části diplomové práce zaměřili na možnost použití diS-C₃(3) fluorescenční metody jako ekvivalentní náhrady zónového testu, tj. přidání benchmark substrátů jednotlivých vazebných míst, k buňkám po aplikaci azolu. Pouze v případě přidání benchmark substrátu vazebného místa, do kterého se testovaný azol neváže, by mělo dojít k nárůstu inhibice transportu sondy (v ideálním případě k úplné inhibici). Jak však vyplývá z výsledků, není možné diS-C₃(3) fluorescenční metodu zatím v této podobě použít jako samostatný test pro identifikaci vazebných míst, do kterého/kterých se testovaný substrát váže.

Ve druhé části diplomové práce jsme se zaměřili na studium vazebné kapsy pumpy ScPdr5p pomocí tří triazolů: flukonazolu, vorikonazolu a ravukonazolu. Důvodem použití této trojice azolů byla skutečnost, že se jedná o strukturní analogy, což znamená, že mají podobnou strukturu, která se navzájem liší pouze určitou složkou/složkami (substituentem). Výsledky této části práce, které byly získané pomocí vhodně zvolené kombinace diS-C₃(3) fluorescenční metody a zónových testů, jasně ukazují na důležitost jednotlivých funkčních skupin triazolů při interakci s vazebnými místy ve vazebné kapse ScPdr5p. Ačkoliv bude zapotřebí provést mnoho dalších doplňujících měření, které se nepodařilo realizovat vzhledem k nepříznivé situaci v souvislosti s pandemií covid-19, již teď je zřejmý význam dosažených výsledků. Výsledky této diplomové práce tak představují odrazový můstek pro další směry výzkumu oddělení biofyziky FÚ UK.

Diplomantka úspěšně zvládla jak předepsanou literaturu, tak potřebné experimentální metody. Po velmi krátké době byla schopna samostatně provádět experimenty, průběžně navrhovat další postupy a analyzovat výsledky. Práce, která je napsána ve slovenském jazyce, je dobře a přehledně zpracovaná a má velmi dobrou grafickou úpravu.

Vzhledem k vysoké úrovni diplomové práce **Shirin Sayedové** doporučuji její přijetí k obhajobě a navrhuji klasifikovat ji stupněm **výborně**.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/opponenta:

V Praze 6. 9. 2021

Doc. RNDr. Dana Gášková, CSc.