

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: Tomáš Bartl

Název práce: Analýza uspořádání vazebné kapsy MDR pumpy Cdr1p patogenní kvasinky *Candida albicans* – hlavního přispěvatele ke klinické lékové rezistenci

Studijní program a obor: Fyzika, Biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2022

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 Tomáše Bartla se zabývá vědecky i klinicky aktuální tematikou – činností relativně neselektivních membránových pump patogenní kvasinky *Candida albicans*, *CaCdr1p* a *CaCdr2p*, které jsou zodpovědné za odstraňování širokého spektra různorodých látek/léků z buněk. Nadměrná exprese těchto transportérů, která vede k fenoménu nazývanému mnohočetná léková rezistence, je totiž nejčastější příčinou klinicky významné rezistence patogenních kvasinek na běžně používaná antimykotika, azoly. K překonání této rezistence lze použít tzv. kombinovanou terapii, při níž je lék podáván spolu s další látkou účinně inhibující export léčiva MDR pumpou, což vede díky zvýšené intracelulární koncentraci podávaného léku k úspěšné léčbě kandidóz.

Současné znalosti o inhibitech a substrátech pump *CaCdr1p* a *CaCdr2p* jsou založeny hlavně na studiích prováděných buď se sbírkou mutantních kmenů *C. albicans* homologně exprimujícími tyto pumpy, nebo souborem nepatogenních kmenů *S. cerevisiae* s heterologně exprimovanými pumpami z kvasinky *C. albicans*, zejména *CaCdr1p* a *CaCdr2p*, ale také *CaMdr1p*. I přesto, že bylo pomocí nepatogenního systému dosaženo celé řady významných výsledků při studiu vazebných kapes pump *CaCdr1p* a *CaCdr2p*, vyskytují se v literatuře často výhrady k použití tohoto systému vzhledem k odlišnému metabolismu kvasinek *C. albicans* a *S. cerevisiae*.

Ačkoliv bylo hlavním cílem diplomové práce přispět k rozšíření poznatků o uspořádání vazebné kapsy pumpy *CaCdr1p* pomocí kmene AD/CDR1 heterologně exprimujícího tuto pumpu, bylo nezbytné nejprve prokázat, že použití kmenů s heterologní expresí MDR pump kvasinky *C. albicans* je pro funkční charakterizaci těchto pump stejně vhodné jako použití mutantních kmenů *C. albicans*. Pro tyto srovnávací studie byly použity dvě hlavní metody, zónový test a diS-C₃(3) fluorescenční metoda. Jak vyplynulo z porovnání výsledků první a druhé části práce získaných pomocí kmenů s heterologně exprimovanými pumpami *CaCdr1p* a *CaCdr2p* (popř. *CaMdr1p*) s výsledky dosaženými při použití mutantních kmenů *C. albicans* v disertační práci Mgr. Ivy Jančíkové, Ph.D., jsou tyto kmeny stejně vhodné pro stanovení substrátové specifity pump *CaCdr1p* a *CaCdr2p*, vyhledání jejich účinných inhibitorů a studium uspořádání vazebných míst v jejich vazebné kapse jako mutantní kmeny *C. albicans*, v mnoha případech dokonce i výhodnější. Bezesporu velkou výhodou těchto kmenů se ukázala být nadprodukce MDR pump v membráně kvasinek stejně jako u buněk klinického izolátu CY1123 rezistentního na flukonazol.

Třetí, stěžejní část diplomové práce se soustředila na analýzu vazebných míst ve vazebné kapse pumpy *CaCdr1p* pomocí série triazolů s podobnou strukturou – ravukonazol a všechny intermediáty vzniklé při jeho syntéze, vorikonazol a flukonazol. Důvodem jejich použití byla skutečnost, že se jedná o chemické analogy, tzn., jsou si strukturně velmi podobné a navzájem se liší pouze substituenty. Výsledky, které byly i v této části získané pomocí vhodně zvolené kombinace diS-C₃(3) fluorescenční metody a zónových testů, jasně prokázaly přítomnost alespoň dvou vazebných míst ve vazebné kapse pumpy *CaCdr1p*, každé zodpovědné za vazbu jiné části/skupiny triazolů. Jedno vazebné místo bylo identifikováno pomocí benzonitrilové skupiny, druhé, popř. třetí, vazebné místo pomocí alespoň jedné ze dvou společných funkčních skupin triazolů (1,2,4-triazolová a/nebo 1,3-difluorobenzenová skupina).

Ačkoliv bude zapotřebí provést ještě některá další doplňující měření, již teď je zřejmý význam dosažených výsledků. O kvalitě a důležitosti výsledků diplomové práce svědčí rovněž skutečnost, že jsou součástí připravované publikace.

Diplomant úspěšně zvládl jak předepsanou literaturu, tak potřebné experimentální metody. Po velmi krátké době byl schopen samostatně provádět experimenty, průběžně navrhopvat další postupy a analyzovat výsledky. Práce, která je napsána v českém jazyce, je dobře a přehledně zpracovaná a má velmi dobrou grafickou úpravu.

Vzhledem k vysoké úrovni diplomové práce **Tomáše Bartla** 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/oponenta:

V Praze 25. 1. 2022

Doc. RNDr. Dana Gášková, CSc.