



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0282-10

ABC transportné proteíny v mnohonásobnej rezistencii kvasiniek a fyziológii vláknitých húb

Zodpovedný riešiteľ **prof. RNDr. Yvetta Gbelská, CSc.**

Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave
2. Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU
3. -
4. -
5. -

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. -
2. -
3. -

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

1. -
2. -
3. -

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Hodurova Z, Ferreira L, Sánchez-Juanes F, Dominguez A, Gbelska Y. Cytosolic proteome of *Kluyveromyces lactis* affected by the multidrug resistance regulating transcription factor KIPDR1p. *J Proteomics* 2012; 75: 5316-5326
2. Culakova H, Dzugasova V, Perzelova J, Gbelska Y, Subik J. Mutation of the CgPDR16 gene attenuates azole tolerance and biofilm production in pathogenic *Candida glabrata*. *Yeast*. 2013; 30 (10): 403-413.
3. Goffa E, Balazfyova Z, Toth Hervay N, Simova Z, Balazova M, Griac P, Gbelska Y.

Isolation and functional analysis of the KIPDR16 gene. FEMS Yeast Res. 2014; 14: 337-345.

4. Olejníková, P., Švorc, L., Olšovská, D., Panáková, A., Vihonská, Z., Kovaryová, K., Marchalín, Š. Antimicrobial activity of novel C2-substituted 1,4-Dihydropyridine analogues (2014) Scientia Pharmaceutica, 82 (2), pp. 221-232.

5. Nižňanský, L., Kryštofová, S., Vargovič, P., Kaliňák, M., Šimkovič, M., Varečka, L. Glutamic acid decarboxylase gene disruption reveals signalling pathway(s) governing complex morphogenic and metabolic events in *Trichoderma atroviride* (2013) Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology, 104 (5), pp. 793-807.

Uplatnenie výsledkov projektu

V možnosti využitia zlúčeniny CTBT v kombinovanej terapii infekcií vyvolaných fungálnymi patogénmi rezistentnými na komerčne používané antifungálne látky na základe výsledkov získaných počas riešenia projektu. Vo vzdelávacom procese v magisterskom a doktorandskom stupni štúdia na Prírodovedeckej fakulte UK v Bratislave ako aj na Fakulte chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Výsledky, získané počas riešenia projektu ukázali, že Zn₂Cys₆ transkripčné faktory kvasiniek *C. glabrata* a *K. lactis* CgPdr1p a KIPdr1p, sú hlavné transkripčné regulátory, ktoré kontrolujú expresiu génov pre efluxné pumpy. V oboch druhoch modelových hemiaskomycetných kvasiniek sa podarilo izolovať a charakterizovať mutované formy transkripčného regulátora Pdr1p. Nadexpresia KIPdr1p v bunkách štandardného typu indukuje zvýšenú produkciu proteínov zahrnutých v odpovedi buniek na stres ako aj proteínov zabezpečujúcich redoxnú homeostázu u *K. lactis*. Proteín Pdr16p, ktorý patrí do rodiny fosfatidylinozitol prenášajúcich proteínov, je zahrnutý v metabolizme lipidov a v kontrole mnohonásobnej rezistencie eukaryotickej bunky *S. cerevisiae*, *C. glabrata* a *K. lactis*. Neprítomnosť Pdr16p vedie u všetkých študovaných kvasiniek k zvýšenej citlivosti voči antifungálnym azolom, ktorá je najpravdepodobnejšie dôsledkom zmien v biofyzikálnych vlastnostiach cytoplazmatickej membrány.

Študovali sa tiež funkčné aspekty fungálnych ABC transportérov a ich úloha vo fyziológii, mykoparazitizme, rezistencii a sekundárnom metabolizme mykoparazitickej huby *T. atroviride*. Vykonala sa detailná bioinformatická analýza genómov 7 druhov rodu *Trichoderma*, ktorá odhalila výrazné rozdiely v počte ABC transportérov u mykoparazitických a nemykoparazitických druhov, v prospech mykoparazitických. Transkriptomické analýzy ukázali, že mykoparazitická huba *T. atroviride* má v genóme viaceré gény pre ABC transportéry, ktorých expresia sa menila v odpovedi na antifungálne látky, počas mykoparazitizmu, konídiácie a produkcie polyketidov. Jeden z týchto génov sa vyznačoval konštitutívnou expresiou v prítomnosti ako aj neprítomnosti antifungálnych látok. S cieľom identifikovať nové biologicky aktívne látky sa testovali potenciálne antifungálne inhibitory a biologická aktivita hydroxyantrachinónov produkovaných *T. atroviride* na mikrobiálnych a živočíšnych modeloch.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The results obtained has shown that the Zn₂Cys₆ transcriptional regulators in *C. glabrata* and *K.lactis* yeast CgPdr1p and KIPdr1p, represent the main transcriptional regulators controlling expression of efflux pumps encoding genes. We have isolated and characterized mutant forms of transcription factor Pdr1p in both pathogenic and non-pathogenic yeast species. Overexpression of KIPDR1 gene in wild type cells led to increased amount of proteins

involved in the stress defence and redox homeostasis in *K. lactis* cells. Pdr16p belonging to phosphatidylinositol transfer proteins is involved in lipid metabolism and controls the susceptibility of yeast *S. cerevisiae*, *C. glabrata* and *K. lactis* cells to antifungal azoles. The absence of Pdr16p in all yeast species studied increased their susceptibility to antifungal compounds resulting most probably from changes in biophysical properties of their plasma membrane.

The project covered also the study of several traits of the fungal ABC transporters in physiology, mycoparasitism, resistance and secondary metabolism in mycoparasite *T. atroviride*. The detailed bioinformatic analysis ABC transporter genes in 7 sequenced *Trichoderma* genomes revealed that the number of the ABC transporter genes did not vary between mycoparasitic and non-mycoparasitic *Trichoderma* species. The large portion of the project had been aimed on the transcriptomic analysis of the ABC transporter genes in *T. atroviride*. The transcriptomic profiles showed that the ABC transporters responded differentially to various external stimuli, such as antifungal drugs, during mycoparasitic attack, conidiation and production of polyketides. One of the ABC transporters exhibited constitutive expression both in absence and presence of antifungal drugs. *T. atroviride* polyketides along with new potentially bioactive compounds were tested on microbial organisms and mammalian cell lines.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

prof. RNDr. Yveta Gbelská, CSc.

V Bratislave 21. 11. 2014

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. RNDr. Karol Mičieta, PhD.

V Bratislave 25. 11. 2014

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu