

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ:	Prof. RNDr. Július Šubík, DrSc.,	Evidenčné číslo projektu:	APVV-20-000604
Názov projektu:	Mutačná analýza regulačných génov mnohonásobnej rezistencie v kvasinkách		
Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra mikrobiológie a virológie		
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Institute of Biomolecular Chemistry, Chemical Research Center, Hungarian Academy of Sciences, H-1025 Budapest Pusztaszeri ut 59-67, Hungary Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, Paris, France Medical University, Vienna Biocenter, Vienna, Austria		
Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	neboli		
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	Cernicka J, Subik J. (2006) Resistance mechanisms in fluconazole-resistant <i>Candida albicans</i> isolates from vaginal candidiasis. <i>Int J Antimicrob Agents</i> 27 ; 414-419. Bialkova A, Subik J (2006) Biology of the pathogenic yeast <i>Candida glabrata</i> (Review). <i>Folia Microbiol</i> 51 ; 3-20. Cernicka J, Kozovska Z, Hnatova M, Valachovic M, Hapala I, Riedl Z, Hajos Gy, Subik J (2007) Chemosensitization of drug resistant and drug sensitive yeast cells to antifungals. <i>Int J Antimicrob Agents</i> 29 ; 170-178. Sidorova M, Drobna E, Dzugasova V, Hikkel I, Subik J. (2007) Loss-off-function pdr3 mutations convert Pdr3p transcription activator to protein suppressing multidrug resistance in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>FEMS Yeast Res</i> 7 ; 254-264. Borecka S, Kozovska Z, Dzugasova V, Hikkel I, Subik J, (2008) <i>RPD3</i> and <i>ROM2</i> are required for multidrug resistance in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>FEMS Yeast Res</i> , in press.		
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	V skvalitňovaní magisterského a doktorandského štúdia v odbore Mikrobiológia na PRIF UK a vo vývoji nových spôsobov boja proti multirezistentným fungálnym patogénom.		

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas ku zverejneniu údajov v nej uvedených.

Podpis riešiteľa:

Dátum: 25.1.2008

Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVV-20-000604

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Cieľom projektu bolo prispieť k hlbšiemu porozumeniu molekulárnych mechanizmov regulácie mnohonásobnej rezistencie voči antifungálnym látkam u kvasiniek. Dôraz sa kládol na analýzu vzťahov medzi štruktúrou a funkciou transkripčných regulátorov mnohonásobnej rezistencie, ktorých funkcia je esenciálna pre rozvinutie tohto obranného mechanizmu bunky. V priebehu riešenia projektu sa vypracoval prehľad o transkripčných faktoroch kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*, ktoré majú vzťah k rezistencii voči antifungálnym látkam. Na základe komparatívnej analýzy genómov sa porovnal regulačný potenciál siedmich druhov kvasiniek a poukázalo sa na rozdiely v bunkovej výbave transkripčných faktorov medzi jednotlivými druhmi. Podal sa tiež prehľad o taxonomických, fyziologických, biochemických a genetických vlastnostiach patogénnej kvasinky *Candida glabrata*, ktorá je evolučne príbuzná kvasinkám *S. cerevisiae*. Zistilo sa, že za rezistenciu voči flukonazolu u klinických izolátov *Candida albicans* sú zodpovedné viaceré molekulárne mechanizmy, ktoré zahrňovali eflux liečiv z buniek a zmeny tak v štruktúre ako aj v bunkovom obsahu demetylázy 14-alfa-lanosterolu. Skriningom knižnice syntetických látok sa identifikovala zlúčenina CTBT, ktorá v dôsledku interferencie s homeostázou sterolov scitlivovala bunky rôznych druhov kvasiniek na cykloheximid a azolové antimykotiká. Izolovali sa a molekulárne charakterizovali dve mutantné alely génu *PDR3*, ktoré špecifikovali nefunkčný transkripčný faktor Pdr3p a ktoré ako multikópiové supresory boli schopné scilivovať bunky kvasiniek na antifungálne látky. Transpozónovou mutagenézou genómu kvasiniek sa identifikovali gény *RPD3* a *ROM2*, ktoré po prerušení spôsobili zvýšenie citlivosti kvasiniek na antifungálne látky v dôsledku interferencie s normálnou expresiou génu *PDR5*, ktorý kóduje efluxný systém buniek pre liečivá. Získané poznatky sú využiteľné pri optimalizácii spôsobov boja proti multirezistentným fungálnym patogénom človeka a iných druhov. Prispeli tiež k skvalitneniu magisterského a doktorandského štúdia na našej univerzite a umožnili ďalšie zvyšovanie kvalifikácie spoluriešiteľov projektu.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

The project was aimed at a better understanding of molecular mechanisms of multidrug resistance regulation in yeast. The attention has been paid to the study of relationships between the structure and function of transcriptional regulators involved in the control of multidrug resistance whose function is essential for the development of this defense cellular mechanism. During the studies a review about *Saccharomyces cerevisiae* transcription factors having relation to multidrug resistance in yeast has been elaborated. Using comparative genome analyses the regulatory capabilities of seven yeast species were summarized and differences in transcription factor inventory among species were stressed. The basic taxonomic, morphological, physiological and genetic information about the pathogenic yeast *Candida glabrata* that is evolutionarily very closely related to baker's yeast were also described. It was found that fluconazole resistance in clinical isolates of *Candida albicans* resulted from combination of several molecular mechanisms involving drug efflux and alterations in the structure or cellular amount of 14-alfa-lanosterol demethylase. From the library of synthetic substances one compound named CTBT has been identified that was able to sensitize drug-resistant and drug sensitive yeast cells to antifungals due to interference with cellular sterol homeostasis. Two mutant alleles of the *PDR3* gene have been isolated and characterized at molecular level. They specified the loss-of-function forms of Pdr3p transcriptional activator and acted as multicopy suppressors of drug resistance. Genome-wide transposon mutagenesis has led to identification of the *RPD3* and *ROM2* genes that after disruption enhanced the sensitivity of yeast cells to antifungals due to interference with expression of the *PDR5* gene specifying drug efflux transporter in yeast cells. These results may be used at development of more efficient tools to combat drug resistant fungal pathogens of human and other species. They also improved the graduate and postgraduate studies at our University and allowed to increase the qualification of fellow workers.

Podpis riešiteľa: