

Katedra biológie:

Témy magisterských prác AR 2021/2022

Téma 1: Detekcia a molekulárna variabilita vírusu mozaiky melónu (rod Potyvirus)

Školiteľ: Ing. Miroslav Glasa, DrSc. (miroslav.glasa@ucm.sk)

Anotácia: Čeľad' Cucurbitaceae zahŕňa hospodársky dôležité plodiny (napr. uhorky, tekvice, melóny), ktoré sú v našich podmienkach hosťiteľmi mnohých závažných vírusových patogénov. Vírus mozaiky melónu (watermelon mosaic virus, WMV) je mechanicky a voškami prenosný patogén patriaci do rodu Potyvirus. Pre potyvírusy je charakteristická vysoká miera mutácií a náchylnosť k rekombináciám genómu, čoho dôsledkom je ich vysoký evolučný potenciál. Cieľom diplomovej práce je zhodnotenie výskytu WMV v porastoch tekvicovitých rastlín na vybraných lokalitách Slovenska pomocou štandardných detekčných techník (ELISA, RT-PCR). Amplifikované fragmenty vybraných vzoriek budú sekvenované a získané parciálne genomické sekvencie budú bioinformaticky analyzované, pričom sa zhodnotí ich fylogenetická príbuznosť s dostupnými WMV sekvenciami v databázach a molekulárna diverzita vírusových izolátov cirkulujúcich na Slovensku.

Téma 2: Emergentné patogény vybraných vodných tokov Slovenska

Emergent pathogens of selected waters in Slovakia

Školiteľ: doc. RNDr. Milan Seman, CSc. (milan.seman@ucm.sk)

Anotácia: Za emergentné patogény sú považované mikrobiálne infektanty, ktoré sú v určitom období novo sa objavujúcimi alebo znovu sa objavujúcimi patogénmi tak v klinickom, ako aj environmentálnom materiály a predstavujú dosiaľ nepoznané zdravotné a hygienické riziká. V súčasnosti ide predovšetkým o baktérie (*E. coli* O157, acinetobaktery, aeromonády, kampylobaktery, legionely), ktoré nachádzame v rôznych typoch vôd. Problémovými sú nielen povrchové vody, kde mnohé z nich slúžia ako prírodné kúpaliská (rieky, jazerá, štrkoviská) či závlahové vody, ale aj pitné vody (tvorba legionelových biofilmov v distribučnej vodovodnej sieti, aeromonády v studniach).

Cieľom diplomovej práce bude izolácia baktérií z taxonomickej skupiny Vibrionaceae izolovaných z povrchových vôd Slovenska a ich identifikácia s využitím širšieho spektra fenotypových (biochemická identifikácia, MALDI-TOF-MS systém) a prípadne molekulárnych metód (PCR analýzy)

Kľúčové slová: emergentné patogény, Vibrionaceae, izolácia, identifikácia

Téma 3: Sledovanie distribúcie vírusu obyčajnej mozaiky fazule (BCMV) vo vybraných odrodách fazule (*Phaseolus vulgaris* L.)

Distribution of bean common mosaic virus (BCMV) in selected bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.)

Školiteľ: RNDr. Michaela Mrkvová, PhD. (michaela.mrkvova@ucm.sk)

Anotácia: Strukoviny predstavujú významný zdroj bielkovín tak vo výžive človeka ako aj hospodárskych zvierat, ich pestovanie je však ohrozované vírusovými patogénmi znižujúcimi vitalitu rastlín a kvalitu úrody. Vírus obyčajnej mozaiky fazule (BCMV, rod Potyvirus) je voškami a semenom prenosný patogén cirkulujúci na Slovensku. Cieľom diplomovej práce je zhodnotiť odrodovú vnímavosť fazule voči BCMV a analyzovať schopnosť vírusu systematicky sa šíriť v hostiteľských rastlinách. Vybrané geneticky odlišné slovenské odrody fazule budú experimentálne mechanicky inokulované BCMV. Následne sa bude sledovať prítomnosť vírusu, jeho distribúcia v rôznych orgánoch rastliny (koreň, listy, kvety, semená) a možné rozdiely v akumulácii obalového proteínu vírusu pomocou špecifických protilátok v imunoblotingu. Výsledky prispievajú k porozumeniu vzťahu vírus/rastlina a môžu byť využité pri optimalizácii diagnostických procedúr.

Téma 4: Charakterizácia izolátov kokálnych cyanobaktérií z chladiacich veží

Školiteľ: RNDr. Lenka Raabová, PhD. (lenka.raabova@ucm.sk)

Anotácia: Cieľom práce je identifikácia a charakterizácia kokálnych cyanobaktérií izolovaných z chladiacich veží jadrovej elektrárne v Jaslovských Bohuniciach. Súčasťou práce bude ich izolácia, identifikácia pomocou morfológických znakov a na základe génu pre 16S rRNA. Taktiež sa bude študovať ich potenciál pre bioakumuláciu ťažkých kovov z prostredia.

Téma 5: Indukcia bielych mutantov bičíkovca *Euglena gracilis* fluorochinolónom ofloxacín a štúdium reziduálnych plastidových génov v nich

Induction of white mutants of the flagellate *Euglena gracilis* by fluoroquinolone ofloxacin and study of residual plastid genes in them

Školiteľ: prof. RNDr. Juraj Krajčovič, CSc. (juraj.krajcovic@ucm.sk)

Školiteľ špecialista: Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD.
(dominika.veselenyiova@ucm.sk)

Ciele:

- Zosumarizovať informácie o spôsoboch akými antibakteriálne účinné látky indukujú vybielovanie zeleného bičíkovca *Euglena gracilis* s akcentom na degradáciu funkčných chloroplastov a ich genómov;
- Dlhodobým ovplyvňovaním antibakteriálnym chemoterapeutikom ofloxacín pripraviť nové biele mutanty z pôvodne fotosyntetizujúceho bičíkovca *E. gracilis* ;
- Selekcia mutantov na základe sfarbenia kolónií (biele versus ružovkasté), ich veľkosti, tvaru a línie okrajov, ako aj mikroskopických pozorovaní (prítomnosť stigmy a rudimentov plastidov);
- Posúdenie stupňa degradácie plastómu v novoindukovaných bielych mutantoch a porovnať ho so stavom plastidovej DNA v bunkách divého typu *E. gracilis* molekulárno-biologickými metódami (klasická PCR a kvantitatívna Real Time PCR);

- Pomocou celogenómového sekvenovania posúdiť prítomnosť a stav zbytkových plastidových génov ako aj ich lokalizáciu či už v rudimentoch plastidov, resp. ich prípadných kópií presunutých do jadra.
-

Téma 6: *In silico* a *in vitro* analýza enzýmu β -1,3-glukán syntáza u bičíkovca *Euglena gracilis*

In silico* and *in vitro* analysis of the enzyme β -1,3-glucan synthase in the flagellate *Euglena gracilis

Školiteľ: Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD. (dominika.veselenyiova@ucm.sk)

Konzultant: Mgr. Martina Kešeláková (keselakova1@ucm.sk)

Anotácia: Paramylon je charakteristickým zásobným polysacharidom modelového organizmu *Euglena gracilis*. Ide o lineárny β -1,3-glukán, ktorý je akumulovaný v granulách v cytoplazme bunky. Biosyntéza paramylonu je iniciovaná pomocou enzýmu β -1,3-glukán syntáza, ktorý je aktívny v aeróbných podmienkach. Paramylon má mnohé biotechnologické aplikácie, a vďaka svojim protizápalovým, antimikrobiálnym, antivirálnym a hepatoprotektívnym vlastnostiam je významný z medicínskeho aj veterinárneho hľadiska

Ciele:

- Zosumarizovať informácie o syntéze zásobných polysacharidov u zástupcov skupiny Euglenida;
 - Pomocou detailnej bioinformatickej analýzy charakterizovať enzým β -1,3-glukán syntázu u bičíkovcov patriacich do skupiny Euglenida;
 - Prostredníctvom fylogenetickej analýzy objasniť evolučné vzťahy medzi týmito enzýmami u rôznych skupín organizmov
 - Štúdium génov pre β -1,3-glukán syntázu v bunkách divého typu *E. gracilis* molekulárno-biologickými metódami;
 - Analýza expresie génov pre β -1,3-glukán syntázu v bunkách divého typu *E. gracilis* v rôznych podmienkach pomocou moderných molekulárno-biologických metód
-

Téma 7: Analýza proteínov získaných extrakciou z bičíkovca *Euglena gracilis* **Analysis of proteins extracted from the flagellate *Euglena gracilis***

Školiteľ: doc. RNDr. Lúbia Uváčková, PhD. (lubica.uvackova@ucm.sk)

Anotácia: Bičíkovec *Euglena gracilis* je modelový organizmus pre mnohé transkriptomické štúdie. Ešte viac je však zaujímavý aj z pohľadu proteomiky. Cieľom proteomických štúdií je identifikácia proteínov, ktoré sa podieľajú na modifikácii bunkového metabolizmu, ktorý umožňuje prežitie buniek v rôznych podmienkach prostredia.

Cieľ:

Cieľom diplomovej práce bude analýza proteínov získaných z *Euglena gracilis*. Tento hlavný cieľ je možné rozdeliť na čiastkové ciele:

- vypracovanie literárneho prehľadu na získanie najnovších poznatkov
 - čistenie proteínov získaných fenolovou extrakčnou metódou z buniek *E. gracilis*
 - separácia izolovaných proteínov dvojrozmernou elektroforézou
 - analýza 2-DE gélov počítačovým softvérom PDQuest a výber zaujímavých proteínových škvŕn z hľadiska ich rozdielnej akumulácie v oboch porovnávaných vzorkách (svetlo vs. tma)
 - vyrezanie proteínov z gélov, analýza hmotnostnou spektrometriou a identifikácia proteínov bioinformatickými metódami
-

Téma 8: Pululanázy z alfa-amylázovej rodiny GH13 - sekvencie, štruktúry a evolúcia

Školiteľ: doc. Ing. Štefan Janeček, DrSc. (stefan.janecek@ucm.sk)

Anotácia: Práca bude teoretická, t.j. na počítači – *in silico* (bez experimentov v klasickom laboratóriu). Hlavnou náplňou práce bude štúdium primárnych a terciárnych štruktúr pululanáz (EC 3.2.1.41) z rôznych taxonomických zdrojov, ktoré sú v súčasnosti klasifikované v tzv. CAZy databáze (Carbohydrate Active enZymes; <http://www.cazy.org/>) do podrodín GH13_12, GH13_13 a GH13_14 v rámci hlavnej alfa-amylázovej rodiny GH13 (viac ako 30 rôznych enzýmových špecificít a 120 tisíc sekvenovaných amylolytických enzýmov a hypotetických proteínov). Dôraz bude na porovnávanie aminokyselinových sekvencií a priestorových štruktúr s cieľom identifikovať unikátne sekvenčno-štruktúrne črty a detailné doménové usporiadanie, ktoré by boli jedinečné pre jednotlivé skupiny pululanáz, ako aj poukázať na ich evolučné vzájomné vzťahy s ostatnými príbuznými amylolytickými enzýmami z rodiny GH13.

Kľúčové slová: alfa-amylázová rodina GH13; pululanázy; škrob-viažuce domény; CAZy databáza; sekvenčno-štruktúrne vzťahy; evolúcia proteínov.

Téma 9: Molekulárno genetická diagnostika génov asociovaných s celiakiou

Školiteľ: RNDr. Michal Konečný, PhD. (michal.konecny@ucm.sk)

Anotácia: Celiakia je systémová choroba sprostredkovaná imunitnými reakciami, ktorá je spôsobená trvalou neznášanlivosťou imunitného systému voči gluténu (lepku). Postihuje hlavne tenké črevo a príčinou je abnormálna aktivácia vlastného imunitného systému tela voči prítomnosti gluténu. Aj keď environmentálne faktory ešte nie sú úplne prebádané, predpokladá sa, že okrem gluténu môžu byť spúšťačom ochorenia vírusy (adenovírus 12), parazity, stres, pôrod, prekonanie infekčnej enteritídy. Podobne ako v prípade rôznych alergií na určité látky, imunitný systém jedinca proti nim vytvára protilátky, pretože ich chybné považuje za škodlivé, tak aj v prípade celiakie telo produkuje protilátky proti gluténu. Celiakia sa ako ochorenie môže vyvinúť v akomkoľvek veku, viac u žien ako u mužov. Odhady frekvencie výskytu tejto choroby sa rôznia od 1:3 000 až po 1:100. V Európe výskyt, resp. diagnostikovanie rastie od juhu smerom na sever. Predpokladá sa, že veľká časť ľudí postihnutých celiakiou o tejto poruche nevie a frekventovanou príčinou

tejto choroby môže byť aj genetická predispozícia. Hlavnou genetickou predispozíciou sú určité varianty alely HLA, pričom diagnosticky významné sú HLA molekuly II. triedy, ktoré sú lokalizované na krátkom ramene 6. chromozómu. Prevažná väčšina pacientov s celiakiou (až 95 %) má vo svojom genotype HLA-DQ2 heterodimér, zvyšná časť pacientov vykazuje prítomnosť HLA-DQ8 heterodiméru. Počet pacientov s celiakiou, ktorí nie sú nositeľmi DQ2 alebo DQ8, je len 0,4 %. Napriek tomu, že až 25 – 30 % zdravej populácie je nositeľom týchto heterodimérov v porovnaní s 95 % chorých na celiakiu, ich prítomnosť významne zvyšuje možnosť manifestácie celiakie. V súčasnosti je známych ďalších 27 geneticky rizikových lokusov s miernym rizikom vývoja celiakie, sú však známe aj protektívne genetické lokusy (napr. IL12A, CCR1, CCR2, CCR3, CCR5, LPP, SH2B3, IL18R1, IL18RAP, TAGAP a CTLA4).

Cieľ:

Cieľom práce bude pomocou rôznych molekulárno-biologických prístupov (qPCR, priame sekvenovanie) identifikovať rizikové alely u pacientov s celiakiou, zhodnotiť výsledky týchto analýz a uskutočniť štatistické zhodnotenie súboru v rámci slovenskej populácie pacientov.

Téma 10: Optimalizácia procesu transformácie kmeňov *Ralstonia eutropha* vektorovými DNA pomocou elektroporácie

Optimization of the transformation process of *Ralstonia eutropha* strains by vector DNA by electroporation.

Školiteľ: doc. Ing. Andrej Godány, CSc. (andrej.godany@ucm.sk)

Anotácia: *Ralstonia eutropha* patrí medzi gram negatívne baktérie a je významným producentom polyhydroxyalkanoátov aplikovateľných pri výrobe biologicky degradovateľných plastov. Vývoj a optimalizácia procesov transformácie s vektorovými a rekombinantnými molekulami DNA v značnej miere rozšíri molekulárno-biologický a biotechnologický potenciál týchto bakteriálnych kmeňov.

Cieľ:

- Vypracovanie literárneho prehľadu o možnostiach transformácie kmeňov *Ralstonia eutropha* vektorovými DNA.
 - Optimalizácia podmienok transformácie kmeňov *R. eutropha* vektorovými a rekombinantnými molekulami DNA pomocou elektroporácie.
 - Formulovať závery a vypracovanie diplomovej práce.
-

Téma 11: Potenciál lytickej aktivity endolyzínu EN534-C voči patogénnym bakteriálnym kmeňom

Školiteľ: RNDr. Lucia Bocánová, PhD. (lucia.bocanova@ucm.sk)

Anotácia: Endolyzíny sú lytické enzýmy kódované fágom, ktorých hlavnou úlohou je rozrušenie integrity bakteriálnej bunkovej steny, čím dochádza k usmrteniu baktérie. Tieto vysoko sofistikované molekuly majú vysoký potenciál ako nové liečivá pri bakteriálnych ochoreniach. Cieľom práce bude predovšetkým stanovenie lytickej aktivity endolyzínu

EN534-C zo *Streptococcus agalactiae* voči širokému bakteriálnemu spektru a nájdenie optimálnych podmienok pre lytickú aktivitu endolyzínu.

Téma 12: Komparatívna analýza expresie génu pre mitochondriálny kalpaín u bičíkovca *Euglena gracilis* a jeho stabilného bieleho mutanta

Školiteľ: RNDr. Zuzana Gerši, PhD. (zuzana.gersi@ucm.sk)

Konzultant: Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD. (dominika.veselenyiova@ucm.sk)

Anotácia: Euglenoidné bičíkovce sa radia medzi najstaršie eukaryotické mikroorganizmy a spôsob regulácie expresie ich génov je vo viacerých smeroch unikátny a nie veľmi prebádaný. Cysteínové proteázy, tzv. kalpaíny sú aktivované iónmi Ca^{2+} a zapájajú sa do viacerých bunkových procesov. Doposiaľ bolo popísaných niekoľko génov pre kalpaíny hlavne u živočíchov a eukaryotických mikroorganizmov. U jednobunkových eukaryotov sa vyskytuje dokonca viac génov pre kalpaíny ako u mnohobunkových organizmov, avšak ich funkcia je takmer neznáma. Experimentálna časť diplomovej práce bude venovaná porovnaniu úrovne expresie génu pre kalpaín lokalizovaný v mitochondriách bičíkovca *Euglena gracilis* a jeho stabilného bieleho mutanta.

Ciele práce: Cieľom diplomovej práce bude štúdium expresie génu pre mitochondriálny kalpaín bičíkovca *Euglena gracilis* a jeho bielych mutantov na molekulárnej úrovni pomocou kvantitatívnej Real-Time PCR analýzy.

Kľúčové slová: *Euglena gracilis*, mitochondriálny kalpaín, mutant, RT-PCR

Téma 13: Využitie rastlinných látok na inhibíciu rastu vybraných baktérií

Školiteľ: Ing. Eva Ťurgeová, PhD. (eva.urgeova@ucm.sk)

Anotácia:

Cieľom práce bude testovať účinky vybraných rastlinných látok liečivých rastlín na inhibíciu rastu vybraných baktérií. Hlavným cieľom diplomovej práce bude stanoviť antibakteriálnu aktivitu rastlinných extraktov a silíc vs. čistých látok na vybrané G^+ a G^- baktérie.

Čiastkové ciele:

- spracovanie literárneho prehľadu o prírodných látkach, siliciach a extraktoch rastlín s dôrazom na ich chemické zloženie, obsahové látky, antibakteriálne účinky,
 - testovanie inhibície rastu baktérií diskovou difúznou metódou,
 - stanovenie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) vybraných látok a rastlinných preparátov a porovnanie výsledkov s dostupnými štúdiami.
-