

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Mgr. Martin Valachovič, PhD.	Evidenčné číslo projektu: APVT-51-029504
Názov projektu: Kvasinky ako model patologických porúch lipidovej homeostázy eukaryotických buniek	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
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>	<p>(prednáška na medzinárodnej konferencii:) VALACHOVIČ, M. „Sterol uptake. Reaching the plasma membrane.“ 8th Yeast Lipid Conference. Máj 2007, Torino (Taliansko).</p> <p>HRONSKÁ, L., VALACHOVIČ, M., MRÓZOVÁ, Z., HAPALA, I. „Hypoxia as stress: Adaptations of lipid biogenesis to lack of oxygen in the facultative anaerobe <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.“ Chemistry and physics of lipids. September 2006, vol. 143, p. 83.</p> <p>(pripravovaná publikácia:) MRÓZOVÁ, Z., CZABANY, T., ŠPÁŇOVÁ, M., HAPALA, I. „Slim yeast on high-fat diet: Effect of oxygen and heme on the storage of lipids in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.“</p> <p>MRÓZOVÁ, Z., CZABANY, T., VALACHOVIČ, M., HAPALA, I. „Slim Yeast on high-fat diet“: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> as a model in obesity research? Zborník abstraktov '1st symposium on lipid and membrane biology' Marec 2006, Graz (Rakúsko), str. 16.</p> <p>(pripravovaná publikácia:) VALACHOVIČ, M., KOHÚT, P., HRONSKÁ, L., HAPALA, I. „Sterol uptake. Reaching the plasma membrane.“</p>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Výsledky projektu potvrdzujú, že kvasinky môžu slúžiť ako modelový organizmus pri skúmaní niektorých aspektov lipidového metabolizmu u eukaryotických buniek.

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

Podpis riešiteľa:

Dátum: 15.01.2008

Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVT-51-029504

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

Riešený grant sa zaoberal využitím kvasinky *S. cerevisiae* pri štúdiu molekulárnych mechanizmov lipidovej homeostázy u eukaryotických buniek. Nosnou časťou bolo štúdium príjmu sterolu do buniek prostredníctvom ABC transportérov a následne jeho intracelulárnej distribúcie a využitia. Naše výsledky ukazujú, že potenciálne importéry sterolu, Aus1p a Pdr11, sú esenciálne už v prvej etape príjmu sterolu - pri vstupe sterolu do plazmatickej membrány. Doteraz publikované práce uvádzali, že tento proces je spontánny a Aus1 a Pdr11 sú potrebné na ďalšiu internalizáciu sterolu. V podmienkach príjmu sterolu sme pozorovali vysokú afinitu ergosterolu k zatiaľ neidentifikovaným komponentom bunkovej steny. Bunková stena tak pravdepodobne sprostredkováva externé steroly proteínom plazmatickej membrány, Aus1 a Pdr11. Podobná interakcia substrátu s proteínmi v medzimembránovom priestore bola pozorovaná aj pri využitií nutrientov u baktérii. U živočíchov je zasa export cholesterolu ABC proteínmi závislý na lipoproteínoch. Zdá sa teda, že interakcia ABC transportérov s extracelulárnymi komponentmi môže byť všeobecný jav. Podľa našich pôvodných predstáv sa na ďalšom osude prijatého externého sterolu mal podieľať aj kvasinkový proteín Ncr1, homológ ľudského esenciálneho proteínu *NPC1*. Štúdium lokalizácie Ncr1 dokázalo jeho prítomnosť vo sférických štruktúrach asociovaných s vakuolami. Poruchy v distribúcií lipidov, pozorované pri ľudskom ochorení Niemann Pick typu C pri poruche funkcie NPC1, sa nám nepodarilo u *ncr1* mutanta identifikovať. V ďalšej časti sme zistili, že pri inhibícii syntézy mastných kyselín cerulenínom, kvasinky nie sú schopné syntetizovať triglyceridy z externých mastných kyselín. Podobný účinok cerulenínu bol pozorovaný na myšiach chovaných na diéte s vysokým tukom. Kontrolné mechanizmy lipidového zloženia eukaryotických membrán sme chceli sledovať prostredníctvom Sfh1 proteínu. Metodika tejto časti projektu bola zameraná na hľadanie syntetických letálov v kombinácii s mutantom v géne kódujúcom Sfh1 proteín. Overenie všetkých pozitívnych kandidátov však ukázalo, že sa jednalo o falošne pozitívne mutácie. Všeobecne môžeme povedať, že kvasinky môžu byť vhodným modelom pre štúdium niektorých aspektov biogenézy lipidov v eukaryotických bunkách.

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

The overall aim of the project was to study the mechanisms that control lipid homeostasis in eukaryotic cells. We studied selected evolutionary conserved processes connected to intracellular lipid transport in the model organism yeast *Saccharomyces cerevisiae* with stress put on sterol uptake and its distribution. We showed that potential sterol importers, encoded by *AUS1* and *PDR11* are essential in the initial steps of sterol uptake. Our results showed that incorporation of sterol molecule into the plasma membrane is not spontaneous as suggested by others but requires assistance of Aus1 and Pdr11. In addition, cell wall play specific role in this process. We observed high affinity of ergosterol, yeast natural sterol, to anaerobic cell wall in contrast to very low binding of animal cholesterol to yeast cell wall. Our results suggest that cell wall feed sterol from the media to the plasma membrane proteins, Aus1 and Pdr11, which afterwards transport sterol molecule across the plasma membrane. One of the aims of the project was to investigate distribution of sterol once it is internalized. Indications from animals suggest that Ncr1, a homolog of the animal Npc1 might be involved in this process. Using fluorescence microscopy we localized Ncr1-GFP fusion protein into spherical bodies associated with vacuoles. However, we were unable to identify any phenotype associated with *ncr1* mutant, observed in the Nieman Pick type C disease with non functional Npc1. Investigate metabolism of storage lipids, steryl esters (SE) and triacylglycerol (TAG) was one of the minor goals of the project. Within this part of the project we showed that TAG synthesis from external fatty acids is inhibited in cells treated with cerulenin. Similar effect of cerulenin was observed when mice were fed on high fat diet. With the use of *sfh1* mutant we planed to investigate the lipid homeostasis of eukaryotic membranes. Search for synthetic lethality to *sfh1* revealed eight possible candidates which later turned to be false positives. Our results showed that yeast can be a model organism to study at least some aspects of lipid metabolism in eukaryotic cells.

Podpis riešiteľa: