

## Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Ing. Eva Kutejová, CSc.	Evidenčné číslo projektu: APVT-51-029604
Názov projektu: Mechanizmus rozpoznávania substrátov Lon proteázou	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Ústav molekulárnej biológie SAV
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Spolupráca nebola zahrnutá do grantového projektu je len neformálna

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>	<p>Lu, B., Yadav, S., Shah, P.G., Liu, T., Tian, B., Pukszta, S., Villaluna, N., Kutejová, E., Newlon, C.S., Santos, J.H., Suzuki, C.K. Roles for the human ATP-dependent Lon protease in mitochondrial DNA maintenance. <i>J Biol Chem.</i> 2007 Jun 15;282(24):17363-74. Epub 2007</p> <p>Ondrovicova, G., Liu, T., Singh, K., Tian, B., Li, H., Gakh, O., Perecko, D., Janata, J., Granot, Z., Orly, J., Kutejova, E.*, Suzuki, C.K.*: Cleavage site selection within a folded substrate by the ATP-dependent Lon protease. <i>J. Biol. Chem.</i>, 280 (26), 25103-25110, 2005</p> <p>„Likvidátori alebo pomocníci?“ Nobelova cena za chémiu 2004. E. Kutejová, <i>Quark</i>(1) (2005).</p> <p>“ATP-dependent proteases“, editor Dr. Eva Kutejová. Knižka je pripravená do tlače do vydavateľstva Research Signpost, India, <a href="http://www.reassign.com">http://www.reassign.com</a>. Knižka vznikla na základe výzvy zo strany vydavateľstva.</p> <p>Ondrovičová, G., Adamušková, H., Kutejová, E. Lon protease – new aspects in structure and function In Abstract book of 7th International Conference of AAA Protein, Royal Agricultural College in Cirencester, England, September 9-13, 2007, oral presentation</p>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Výsledky projektu môžu prispieť k lepšiemu pochopeniu funkcie ATP-závislých proteáz v mitochondriách.

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

Podpis riešiteľa: .....

Dátum: 30.1.2008.....

## Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVT-51-029604

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

ATP-závislé proteázy hrajú dôležitú úlohu v odpovedi na stresové podmienky, patogenicitu, bunkovej diferenciácii, medzibunkovej komunikácii, pri homeostáze a biogenéze organel. Pre ATP-závislé proteázy (Clp, FtsH, HslUV) sa predpokladá, že substrát po naviazaní na ATP-azový subkomplex resp. doménu je rozbalený, transportovaný do proteolytického subkomplexu resp. domény a tam poštiepený. Časová závislosť tvorby štiepných produktov oboch endogénnych substátov Lon proteázou nám umožnila detailne charakterizovať spôsob degradácie týchto bielkovín. Analýza vniknutých petidov ukázala, že k počiatočnému štiepeniu dochádza na povrchu foldovaných endogénnych substrátov v oblasti hydrofóbnych aminokyselín obklopených nabitými aminokyselinami. Naše výsledky ukazujú, že Lon využíva pre ňu špecifický mechanizmus degradácie substrátov. Ak substráty Lon predstavujú podjednotky komplexov tieto sú pred degradáciou chránené pokiaľ sa nachádzajú vo funkčnom komplexe. Zistili sme, že jednotlivé domény Lon proteázy sú esenciálne ako pre aktivitu, tak aj pre stabilizáciu multimernej štruktúry. Podieľali sme sa na štúdiu väzby ľudskej Lon proteázy (hLon) na mt DNA. Štúdiá ukázali, že hLon sa viaže na G-bohaté oblasti kódujúce mitochondriálne bielkoviny prednostne na LSP. Pozorovali sme inhibíciu Lon proteázy proteazómovými inhibítormi MG132, clasto-lactacystin  $\beta$ -lactone. Zhodné výsledky ale boli pomerne skoro publikované v zahraničí, a preto sme ich nemohli využiť my. Experimenty s LonA proteázou z *B. stearothermophilus* ukázali, že napriek tomu, že ide o termofilnú Lon proteázu je táto proteáza nestabilná. Vytvára prednostne diméry, ktoré multimerizujú a pri vyššej koncentracii sa tvoria agregáty. Pripravili sme tiež kryštaly proteolytickej domény hLon.

Na podnet vydavateľa Research Signpost, India, sme pripravili knižku „ATP-dependent proteases“. Knižka je detailným prehľadom o ATP závislých proteázach (Lon, Clp, FtsH, HslUV) s kapitolami venovanými aj mitochondriálnym membránovým proteázam a proteázam v chloroplastoch.

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

ATP-dependent proteases play an important role in response to stress, pathogenity, cell differentiation, quorum sensing and in homeostasis and biogenesis of organelles. Mechanism that employ ATP-dependent proteases (Clp, FtsH, HslUV) for degradation suppose the binding of the substrate to the ATP-ase sub-complex (domain), unfolding and translocation to the proteolytic cavity and degradation. Time course of peptide cleavage products resulting from the degradation of the endogenous substrates by the Lon protease unable us to characterize the Lon protein degradation process. The degradation initially occurs on a surface of folded proteins within the hydrophobic amino acids surrounded by charged amino acids. Our results demonstrate that the Lon protease employs unique mechanism of degradation of endogenous substrates. Once the substrates are subunits of the complexes they are protected against degradation forming the functional protein. Structural domains of Lon are essential not only for the ATPase and proteolytic activity of the protease but also for stabilization of its multimer structure. We participated on the binding studies of hLon to the mtDNA. Lon protease was shown to bind G-rich domains in mitochondrial protein coding region of mtDNA, preferentially to LSP. We found that proteasome inhibitors MG132, clasto-lactacystin  $\beta$ -lactone inhibits also Lon mediated degradation. Similar results were unfortunately soon published by other research group. Experiments with LonA protease from *B. stearothermophilus* have shown that this thermophile protease is pretty unstable forming preferentially dimers and later multimers even aggregates at higher concentration. We also prepare the crystals of protease domain of the human Lon.

Based on initiative of publisher Research Signpost, India, we have edited the book „ATP-dependent proteases“. The book is detail review about the ATP-dependent proteases (Lon, Clp, FtsH, HslUV) including chapters about the mitochondrial membrane proteases and chloroplast proteases.

Podpis riešiteľa: .....