



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0035-11

Komparatívna analýza jadrových telomér

Zodpovedný riešiteľ **prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc.**

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

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave
2. Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. University of North Carolina, Chapel Hill, USA (prof. Jack D. Griffith)
2. Masarykova univerzita, Brno, Česká republika (doc. Lumír Krejčí)
3. Yamaguchi university, Yamaguchi, Japonsko (prof. Isamu Miyakawa)
4. AgroParisTech, UMR1319 Micalis, Jouy-en-Josas (dr. Cécile Neuvéglise)

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

1. neboli
- 2.
- 3.

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

1. Višacká, K., Hofr, C., Willcox, S., Nečasová, I., Pavloušková, J., Sepšiová, R., Wimmerová, M., Šimoničová, L., Nosek, J., Fajkus, J., Griffith, J.D., Tomáška, Ľ. (2012). Synergism of the two Myb domains of Tay1 protein results in high-affinity binding to telomeres. *Journal of Biological Chemistry* 287(38): 32206-32215.
2. Kollár, R., Boďová, K., Nosek, J., Tomáška, Ľ. (2014) Mathematical model of alternative mechanism of telomere length maintenance. *Physical Review E* 89: 032701
3. Šimoničová, L., Dudeková, H., Ferenc, J., Procházková, K., Neboháčová, M., Dušínský, R., Nosek, J., Tomáška, Ľ. (2015). *Saccharomyces cerevisiae* as a model for the study of extranuclear functions of mammalian telomerase. *Current Genetics* 61(4):517-527.

4. Bakkaiová, J., Marini, V., Willcox, S., Nosek, J., Griffith, J.D., Krejčí, L., Tomáška, L. Yeast mitochondrial HMG proteins: DNA-binding properties of the most evolutionarily divergent component of mitochondrial nucleoids. *Boscience Reports*, prijaté do tlače.

5. Bakkaiová, J., Arata, K., Matsunobu, M., Ono, B., Aoki, T., Lajdová, D., Neboháčová, M., Nosek, J., Miyakawa, I., Tomáška, L. (2014). A strictly aerobic yeast *Yarrowia lipolytica* tolerates a loss of a mitochondrial DNA-packaging protein. *Eukaryotic Cell* 13(9): 1143-1157.

Poznámka: Počas celého riešenia projektu bolo publikovaných 13 prác v zahraničných peer-review časopisoch, v ktorých je grant uvedený ako zdroj financovania.

Uplatnenie výsledkov projektu

Riešený projekt mal charakter základného výskumu, a preto nemá bezprostredné aplikačné výstupy. Získané výsledky však môžu mať perspektívne využitie v biomedicíne. Napríklad, (1) identifikácia konzervovaných štruktúrnych elementov telomerázovej RNA bude viesť k lepšiemu pochopeniu biogenézy a vlastností telomerázy, (2) heterológny systém pre štúdium mitochondriálnych funkcií cicavčej katalytickej podjednotky telomerázy (TERT) v bunkách *Saccharomyces cerevisiae* predstavuje unikátnu "in vivo skúmavku", v ktorej je možné analyzovať extratelomerické funkcie tohto enzýmu; (3) charakterizácia biochemických vlastností teloméru-viažucich proteínov kvasiniek a ich porovnanie s cicavčími telomerickými proteínmi má význam pre odhalenie univerzálnych i druhovo-špecifických vlastností telomér; (4) mutanty kvasiniek bez funkčného mtHMG proteínu umožňujú študovať molekulárne mechanizmy zabezpečujúce reguláciu rovnováhy proteínových podjednotiek respiračného reťazca kódovaných jadrovou, resp. mitochondriálnou DNA, ktorá je narušená pri niektorých patologických stavoch cicavčej bunky. Počas riešenia projektu úspešne obhájilo záverečné práce 5 doktorandiek a 13 diplomantov v programoch genetika a biochémia, čím projekt prispel k odbornej príprave mladých vedeckých pracovníkov.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

V kontexte hlavných cieľov projektu sme získali tieto výsledky: (1) Porovnaním biochemických vlastností teloméru-viažucich proteínov kvasiniek a cicavcov sme zistili, že počas evolúcie nedochádzalo k maximalizácii ich afinity k telomerickým sekvenciám, ale k optimalizácii väzobných vlastností zabezpečujúcich ich flexibilitu, ktorá je dôležitá pre reguláciu dynamiky telomér. (2) Identifikovali sme a funkčne charakterizovali telomerázovú RNA (TER) u niekoľkých druhov kvasiniek z rodu *Yarrowia*, ktorá vzhľadom k svojmu umiestneniu na fylogenetickom strome kvasiniek predstavuje unikátnu skupinu s potenciálom odhaliť nové štruktúrne elementy v TER. (3) Pripravili sme unikátny systém pre štúdium mitochondriálnych funkcií katalytickej podjednotky telomerázy (TERT) cicavcov v bunkách *Saccharomyces cerevisiae* a odhalili sme, že protektívny účinok na bunky vystavené oxidačnému stresu nie je limitovaný na TERT, ale vykazuje ho aj nepríbuzná reverzná transkriptáza FOXC2, pokiaľ je artificálne cielená do mitochondrií kvasiniek. (4) Zistili sme, že mitochondriálny HMG box (mtHMG) proteín u striktne aeróbnej kvasinky *Yarrowia lipolytica* je postrádateľný pre vegetatívny rast napriek tomu, že bez jeho prítomnosti dochádza k dramatickému poklesu počtu kópií mitochondriálnej DNA (mtDNA). Zistili sme, že tento defekt je kompenzovaný na (post)translačnej úrovni a tak sme vytvorili modelový systém pre štúdium molekulárnych mechanizmov zabezpečujúcich rovnováhu podjednotiek respiračného reťazca kódovaných jadrovou a mtDNA. (5) Na základe porovnávacjej analýzy DNA-väzbových vlastností mtHMG proteínov kvasiniek sme revidovali model zbaľovania mtDNA do mitochondriálnych nukleoidov založený na väzbe mtHMG proteínu k rekombinačným intermediátom.

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

Within the context of the main aims of the project: (1) We compared biochemical properties of telomere-binding proteins from various yeast species and their mammalian counterparts and

we demonstrated that their evolution was not accompanied by maximalization of their affinities to telomeric sequences, but to optimization of flexibility of their binding to the substrate that is important for regulation of telomere dynamics. (2) We identified and characterized RNA component of telomerase (TER) from several *Yarrowia* species that (due to their position on the phylogenetic tree) represent a group of organisms suitable for uncovering novel structural features of TER. (3) We have prepared a unique experimental system for study of mitochondrial functions of mammalian catalytic subunit of telomerase (TERT) in cells of *Saccharomyces cerevisiae* and we showed that the protective effect on cells exposed to oxidative stress is not limited to TERT, but is also exhibited by unrelated reverse transcriptase FOXC2 when it is artificially targeted to yeast mitochondria. (4) We demonstrated that a lack of mitochondrial HMG box containing (mtHMG) protein in strictly aerobic yeast *Yarrowia lipolytica* does not interfere with its vegetative growth in spite of the fact that the mutants contain substantially lower amount of mitochondrial DNA (mtDNA). We discovered that this defect is compensated on (post)translational level and thus we created a model system for investigation of mechanisms preventing mito-nuclear imbalance in the respiratory chain subunits encoded by nuclear and mtDNA, respectively. (5) Based on comparative biochemical analysis of DNA-binding properties of mtHMG from several yeast species we revised the model of mtDNA compaction that is based on mtHMG binding to DNA recombination intermediates.

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

Zodpovedný riešiteľ

prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc.

V Bratislave 23.01.2016

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. RNDr. Karol Mičieta, PhD.
rektor Univerzity Komenského v Bratislave

V Bratislave 25.01.2016

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu