

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0084-07**Nadexpresia P-glykoproteínu a s ňou spojené zmeny v hladinách bunkových oligo- a polysacharidov**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Zdena Sulová, CSc.**

Príjemca

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV**Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

1. Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV
2. Ústav pre výskum srdca SAV
3. Mgr. Peter Chalupa - PETRUS
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Seres M, Poláková E, Krizanová O, Hudecová S, Klymenko SV, Breier A, Sulová Z. Overexpression of P-glycoprotein in L1210/VCR cells is associated with changes in several endoplasmic reticulum proteins that may be partially responsible for the lack of thapsigargin sensitivity. Gen Physiol Biophys. 2008, 27, 211-21.
2. Sulová Z, Mislovicová D, Gíbalová L, Vajcnerová Z, Poláková E, Uhrík B, Tylková L, Kovarova A, Sedlák J, Breier A. Vincristine-induced overexpression of P-glycoprotein in L1210 cells is associated with remodeling of cell surface saccharides. J Proteome Res. 2009, 8, 513-20.
3. Sulová Z., Šereš, M., Barančík M., Gíbalová L., Uhrík B., Poleková L., Breier A. Does any

relationship exist between P-glycoprotein-mediated multidrug resistance and intracellular calcium homeostasis. Gen Physiol Biophys. 2009 vol. 28, Focus Issue, p89-95.

4. Sulová Z., Ditte P., Kurucová T., Poláková E., Rogozánová K., Gibalová L., Šereš M., Škvarková L., Sedlák J., Pastorek, J., Breier A. The presence of P-glycoprotein in L1210 cells directly induces down-regulation of cell surface saccharide targets of Concanavalin A. Anticancer Research, 2010, 30, p. 3661-3668.

5. Šereš M., Ditte P., Breier A., Sulová Z. Effect of thapsigargin on P-glycoprotein-Negative and P-glycoprotein-Positive L1210 Mouse Leukaemia Cells. Gen. Physiol. Biophys. 2010, 29, p. 396-401.

Uplatnenie výsledkov projektu

Okrem uvedených publikácií, v rámci projektu boli publikované ďalšie dve práce uverejnené v časopisoch evidovaných v SCI. Riešitelia projektu prezentovali svoje výsledky na celom rade zahraničných a domácich konferencií. A. Breier a Z. Sulová v spolupráci s J. Kopáчком napísali kapitolu o ABC transportéroch do monografie Biomembrány. Na možnosť praktického uplatnenia výsledkov projektu poukazuje aj spolupráca s farmaceutickou firmou Celgene (projekt sa začal riešiť od r. 2009) a účasť riešiteľov projektu v programe štrukturálnych fondov: Štrukturálne fondy EÚ Výskum a vývoj: Diagnostika spoločensky závažných ochorení, založená na moderných biotechnológiách (Evidenčné číslo projektu: 26240220058), koordinátorom tohto projektu je ÚMFG SAV a projekt sa začal riešiť v novembri r. 2010. Ďalším projektom, ktorého téma priamo súvisí s problematikou riešenou v tomto projekte je projekt štrukturálnych fondov Centrum excelentnosti pre glykomiku (Evidenčné číslo projektu: ITMS 26240120031), ktorý sa začal riešiť v roku 2010. Koordinátorom projektu je Chemický ústav SAV, zodpovedný riešiteľ na ÚMFG je Z. Sulová.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Najdôležitejším výsledkom tohto projektu je séria dôkazov, že nadexpresia P-glykoproteínu v bunkách L1210 sama osebe indukuje remodeláciu sacharidov na povrchu buniek. Tieto zmeny je možné detegovať pomocou lektínov. Z vyššie uvedených zistení je možné predpokladať, že nadexpresia P-glykoproteínu (P-gp) v týchto bunkách je spojená s defektnou glykozylnou proteínov. Toto tvrdenie je v súlade so zníženou senzitivitou na tunikamycín (inhibitor N-glykozylnácie) u buniek L1210, ktoré exprimujú P-gp či už po adaptácii na vinkristín, alebo po stabilnej transfekcii génom kódujúcim ľudský P-gp. V P-gp pozitívnych bunkách sme pozorovali zníženú hladinu kalnexínu (na vápniku závislý lektín endoplazmatického retikula), ktorý sa zúčastňuje procesu kontroly kvality proteínov prostredníctvom špecifických glykozylačných reakcií. Teda v bunkách L1210 ktoré exprimujú aktívny P-gp je možné predpokladať zmeny v postranlačnej úprave proteínov. Tapsigargin – látka, ktorá výrazne znižuje hladinu vápnika v lumene endoplazmatického retikula a tým mení aj funkcie kalnexínu pri v procese kontroly kvality proteínov spôsobovala menej výrazný toxický efekt na bunky exprimujúce P-gp. Expresia P-gp bunkách L1210 má za následok aj ďalšie zmeny v bunkových procesoch. Ako príklad môže slúžiť fakt, že účinkom cisplatiny (cytostatikum, ktoré nie je substrátom P-gp) vstupujú P-gp pozitívne bunky do apoptózy v menšej miere ako P-gp negatívne bunky. Toto je spojené so zmenami niektorých parametrov, ktoré sa považujú za markery apoptózy. Pre pochopenie kauzality vyššie popísaných zistení však bude potrebné ďalšie štúdium. Na záver chceme zdôrazniť, že získané výsledky riešenia projektu korešponujú s vytýčenými cieľmi.

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

The most important results of this project represent a series of evidences that overexpression of P-glycoprotein in L1210 cells "per se" induces extensive remodelations of cell surface sugars. These alterations could be effectively monitored with lectins. Defects of protein glycosylation induced by overexpression of P-glycoprotein (P-gp) could be deduced from the above described facts. This suggestion is consistent with a lower sensitivity of L1210 cells overexpressing P-gp due to adaptation to vincristine or due to stabile transfection with human gene encoding P-gp as compared with P-gp negative cells to tunicamycin (inhibitor of N-glycosylation). Lower levels of calnexin (calcium dependent lectin of endoplasmic reticulum active in protein quality control via specific glycosylation) were found in P-gp positive cell variants of L1210 cells. Thus, processes of postratanslational protein folding have to be altered in L1210 cells that contain active P-gp. Thapsigargin – the drug known to induce calcium depletion of endoplasmic reticulum – and due to induced alterations in calnexin functions in protein quality control, brought about less pronounced cell death effect on P-gp positive than P-gp negative cells. Alterations of several other cell processes were found to be induced by overexpression of P-glycoprotein in L1210 cells. For example: cisplatin (cytotoxic drug that is not transportable by P-gp) induced less pronounced entry to apoptosis of P-gp positive than P-gp negative L1210 cells. This is associated with alterations of apoptosis markers. However, a detailed study of changes inducing P-gp overexpression in L1210 cells will be necessary for understanding the causality of above described phenomena. In conclusion, it could be stressed that the results of the project are corresponding to annotated objectives.

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

Zodpovedný riešiteľ

Ing. Zdena Sulová CSc.

V Bratislave 28. 01. 2011

Štatutárny zástupca príjemcu

Doc. Ing. Oľga Križanová DrSc.

V Bratislave 28. 01. 2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu