

Záverečná karta projektu

Názov projektu **DNA helikázy XPB/XPB: štruktúrno-funkčné štúdiá a úloha v apoptóze** Evidenčné číslo projektu **APVV-0208-07**

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Milan Škorvaga, CSc.**
Príjemca **Ústav experimentálnej onkológie SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav experimentálnej onkológie SAV
- 2.
- 3.
- 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. 1. Rybanská I., Gurský J., Fašková M., Salazar E.P., Kimlíčková-Polakovičová E., Kleibl K., Thompson L.H., Piršel M.: Newly identified CHO ERCC3-XPB mutations and phenotype characterization. *Mutagenesis* 2010, 2: 179-185.
2. 2. Mydlíková Z., Gurský J., Piršel M.: Transcription factor IHH – the protein complex with multiple functions. *Neoplasma* 2010, 57: 287-290.
3. 1. Mydlíková Z., Gurský J., Rybanská I., Polakovičová E., Piršel M: DNA repair, apoptosis and cell cycle control in ERCC3/XPB mutant cell lines (prednáška). EU-US DNA Repair Workshop, Book of Abstracts, p. 18, May 23-27, 2010, Smolenice, Slovakia.
4. 2. Gurský J., Mydlíková Z., Fašková M., Piršel M: Different UV-sensitivity of ERCC3/XPB mutants is due to diverse processing of unrepaired lesions (poster). EU-US DNA Repair

Workshop, Book of Abstracts, p. 40, May 23-27, 2010, Smolenice, Slovakia.

5. 3. Gurský J., Mydlíková-Šestáková Z., Rybanská I., Polakovičová E., Fašková M., Chalupa I., Piršel M: Involvement of the ERCC3 protein as a part of TFIIH multi-subunit complex in the cell cycle control and apoptosis (poster). Responses to DNA Damage: from Molecular Mechanism to Human Disease, Book of Abstracts, p. 93, April 3-8, 2011, Egmond aan Zee, The Netherlands.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky nášho projektu významným spôsobom prispievajú k poznatkom základného výskumu o účasti XPB helikázy v procesoch opravy DNA, apoptózy a na kontrole bunkového cyklu.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Prvú časť nášho projektu, týkajúcu sa štruktúrno-funkčných analýz XPD, sa nám nepodarilo naplniť. Izolovali sme o vysokej čistote a v dostatočných množstvách termostabilné, solubilné NER proteíny z *P.abyssi*: XPD, XPB1, XPB2, Bax1, XPG a XPF. Ukázali sme, že XPD divého typu je aktívna DNA helikáza a jeho 10 mutantných foriem sa významne líši vo svojej schopnosti katalyzovať rozpletanie DNA. Druhú časť projektu - štúdium účasti XPB/ERCC3 helikázy na apoptóze - sme splnili. Je známe, že XPB/ERCC3 DNA helikáza je zahrnutá ako v oprave DNA tak i v apoptóze. Zistili sme, že jej účasť v apoptóze je nepriama. Pre kontrolu apoptózy je totiž podstatné, či je neporušený celý holokomplex TFIIH, ktorého je XPB/ERCC3 helikáza podjednotkou. V paralelnom grantovom projekte sme zistili, že nenarušená 3D štruktúra TFIIH je podstatná pre kontrolu bunkového cyklu. TFIIH kontroluje bunkový cyklus prostredníctvom svojej CAK podjednotky. Ak mutácia v XPB/ERCC3 proteíne spôsobí zmenu vlastnej 3D štruktúry, zmení sa následne 3D štruktúra a stabilita celého TFIIH holokomplexu a tým aj jeho funkčnosť. Heterogenita v prežívaní mutantných bunkových línií je spôsobená práve rozdielnym miestom mutácie v rámci XPB/ERCC3 proteínu a jej charakterom, t.j. typom zamenenej aminokyseliny alebo skrátením celého proteínu. Ak mutácia nemá vplyv na 3D štruktúru XPB/ERCC3 proteínu, nedochádza ani k zmene 3D štruktúry TFIIH a ten je funkčný v kontrole bunkového cyklu po poškodení DNA. Oprava poškodení sa potom uskutoční iným spôsobom (poreplikačnou opravou) a hynutie buniek (apoptóza) má rozdielnu kinetiku kvôli rozdielnemu množstvu dvojreťazcových zlomov, ktoré sa indukujú počas replikácie DNA v poškodených bunkách a sú hlavným spúšťačom apoptózy.

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

We did not fulfilled the goals within the first part of our project, dealing with XPD structure-function analyses. We isolated highly pure and sufficient amounts of thermostable, soluble NER proteins of *P.abyssi*, namely: XPD, XPB1, XPB2, Bax1, XPG and XPF. We demonstrated that wild-type XPD is an active DNA helicase and its ten mutant forms significantly differ in their ability to unwind DNA. To a large extent, we fulfilled the goals of the second part of our project – study of the role of XPB/ERCC3 helicase in apoptosis. It has been known that XPB/ERCC3 DNA helicase is involved in both DNA repair and apoptosis. We found that its role in apoptosis is indirect. During the control of apoptosis, it is essential that the entire TFIIH complex, in which XPB is one of its subunits, remains undistorted. Previously, we discovered that undisturbed 3D structure of TFIIH is essential for cell cycle control. If a mutation in XPB/ERCC3 protein results into the change of its own 3D structure, subsequently it induces the alteration of 3D structure and stability of entire TFIIH holocomplex as well as its functionality. Survival heterogeneity of mutant cell lines might be caused by a different mutation location within XPB/ERCC3 protein and by its character, i.e. the type of altered amino acid or truncation of the protein. A mutation not affecting 3D structure of XPB/ERCC3 protein does not result into a change of 3D structure of TFIIH and this complex

is functional in cell cycle control following DNA damage. The repair of DNA lesions may be then accomplished by a different pathway (postreplication repair) and apoptosis may acquire a different kinetics due to a different amount of double-stranded breaks – major triggers of apoptosis - induced during DNA replication in damaged cells.

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

Zodpovedný riešiteľ

RNDr. Milan Škorvaga, CSc.

V Bratislave 29.07.2011

Štatutárny zástupca príjemcu

RNDr. Ján Sedlák, DrSc.

V Bratislave 29.07.2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu