



Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0286-12**

Proteosyntéza a bioenergetika v mitochondriách trypanozomatíd a euglén

Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Anton Horváth, CSc.**

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

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Katedra biochémie, PriF UK
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Parazitologický ústav, Biologické centrum AVČR, Česká republika
2. Katedra biológie, Kalifornská univerzita - Riverside, Riverside, USA
- 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. Comparative analysis of respiratory chain and oxidative phosphorylation in *L. tarentolae*, *C. P. serpens* and procyclic stage of *T. brucei*, *Mol. Biochem. Parasitol.* Vol. 193, Iss. 1 (2014), 55-65, Z. Verner, P. Čermáková, I. Škodová, B. Kováčová, J. Lukeš, A. Horváth
2. Lineage-specific activities of a multipotent mitochondrion of trypanosomatid flagellates, *Molec. Microbiol.* 96, 55–67; (2015); I. Škodová-Sveráková, Z. Verner, T. Skalický, J. Votýpka, A. Horváth, J. Lukeš
3. The ADP/ATP Carrier and Its Relationship to Oxidative Phosphorylation in Ancestral Protist *T. brucei*. *Eukaryotic Cell*, Vol. 14, No. 3, s. 297-310, (2015), A. Gnipová, K. Šubrtová, B. Panicucci, A. Horváth, J. Lukeš, A. Zíková
4. Identification of the mitochondrially encoded subunit 6 of F1FO ATPase in *T. brucei*, *Mol.*

Biochem. Parasitol 201, 135–138, (2015), I. Škodová-Sveráková, A. Horvath, D.A. Maslov
5. Characterization of oxidative phosphorylation enzymes in *Euglena gracilis* and its white mutant strain WgmZOflL, FEBS Letters 589, 687–694, (2015), K. Krnáčová, I. Rýdlová, M. Vinarčíková, J. Krajčovič, M. Vesteg, A. Horváth

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu sú potenciálne využiteľné v medicínskom a farmaceutickom aplikovanom výskume.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Charakterizovali sme oxidačnú fosforyláciu 4 modelových trypanozomatíd dlhodobu pestovaných v laboratóriách. V dôsledku neprirodzených životných podmienok v nich boli pozorované zmeny metabolizmu. Štúdium sme rozšírili o druhy, ktoré boli z prírody izolované len nedávno. Analýza získaných dát ukázala, že fylogenetické vzťahy založené na jadrových genómoch nekorelujú s úrovňou ich bioenergetiky. Metabolizmus mitochondrie (mt) sa viac prispôsobuje konkrétnym životným podmienkam, ako jadrovému genómu. Pokračovanie v týchto štúdiách môže pomôcť aj chápaniu vzniku patogénnych kmeňov striedajúcich dvoch hostiteľov z relatívne neškodných skupín parazitujúcich len v hmyze. Štúdium dýchacieho reťazca zelenej *E. gracilis* a jej bielených mutantov ukázalo, že odstránenie chloroplastovej DNA nemá významný vplyv na metabolizmus mt. Spoločné znaky oxidačnej fosforylácie trypanozomatíd a euglén ukazujú, že štúdium euglén môže priniesť výsledky napomáhajúce lepšiemu poznaniu aj patogénnych trypanozomatíd. Naladili sme podmienky na rádioaktívne značenie proteínov syntetizovaných „in organelo“ transláciou v izolovaných mt *E. gracilis*. Ukázali sme, že mt translácia nie je závislá na membránovom potenciáli. Zaviedli sme metódu na nerádioaktívne značenie peptidov termináciou ich translácie pomocou OP-PURO. Metóda umožňuje naviazať označené proteíny na streptavidín-agarózu a precipitovať ich. Izolované proteíny budú podrobené sekvenovaniu hmotnostnou spektrometriou. Získané sekvencie budú experimentálnym dôkazom realizácie mtDNA euglén. Môžu aj rozšíriť počet proteínov, ktoré podľa *in silico* analýzy kóduje mtDNA *E. gracilis*.

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

We have characterized the oxidative phosphorylation of 4 model trypanosomatids, which have long been grown in laboratories. Changes in their metabolism have been observed due to unnatural living conditions. We expanded our study to species that have been isolated from nature only recently. Analysis of obtained data showed that phylogenetic relationships based on nuclear genomes do not correlate with their bioenergetics. Metabolism of the mitochondria (mt) are more adapted to the specific living conditions than to the nuclear genome. Continuing these studies can also help our understanding of the formation of pathogenic strains alternating between two hosts from relatively harmless insect-parasitic groups. Study of the green *E. gracilis* and its bleached mutant showed that removal of chloroplast DNA has no significant effect on mt metabolism. Common features of the oxidative phosphorylation of trypanosomatids and euglena suggest that the study of non-pathogenic euglena can yield results that help to better understanding also pathogenic trypanosomatides. We have laid down conditions for radioactive labeling of proteins by "in organelo" translation in isolated mt of *E. gracilis*. We have proved that mt translation is not dependent on membrane potential. We have introduced a method for non-radioactive labeling of peptides by terminating their translation by OP-PURO. This method allows to bind the labeled proteins to streptavidin-agarose and precipitate them. Isolated proteins will be subjected to mass spectrometry sequencing. The obtained sequences will be experimental demonstration of *E. gracilis* mt DNA expression. They may also extend the number of proteins which according in *silico* prediction *E. gracilis* mtDNA encodes.

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

Zodpovedný riešiteľ

doc. RNDr. Anton Horváth, CSc.

V Bratislave 24. 10. 2017

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. RNDr. Karol Mičieta, PhD.

V Bratislave 26. 10. 2017

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu