

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0334-12****Charakterizácia funkcií kohezínu v meióze.**Zodpovedný riešiteľ **doc. Mgr. Juraj Gregáň, PhD.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Katedra genetiky, Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta
- 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. Phadnis N, Cipak L, Polakova S, Hyppa RW, Cipakova I, Anrather D, Karvaiova L, Mechtler K, Smith GR, Gregan J. Casein Kinase 1 and Phosphorylation of Cohesin Subunit Rec11 (SA3) Promote Meiotic Recombination through Linear Element Formation. 2015; PLoS Genet;11(5):e1005225.
2. Polakova S, Molnarova L, Hyppa RW, Benko Z, Misova I, Schleiffer A, Smith GR, Gregan J. Dbl2 Regulates Rad51 and DNA Joint Molecule Metabolism to Ensure Proper Meiotic Chromosome Segregation. PLoS Genetics, 2016 Jun 15;12(6):e1006102. doi: 10.1371. <http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1006102#ack>
3. Polakova S, Benko Z, Zhang L, Gregan J. Mal3, the Schizosaccharomyces pombe homolog of EB1, is required for karyogamy and for promoting oscillatory nuclear movement

during meiosis. Cell Cycle. 2013;13(1). doi: 10.4161/cc.26815.

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cc.26815>

4. Cojoc G, Roscioli E, Zhang L, García-Ulloa A, Shah JV, Berns MW, Pavin N, Cimini D, Tolic IM, Gregan J. Laser microsurgery reveals conserved viscoelastic behavior of the kinetochore. J Cell Biol. 2016 Mar 28;212(7):767-76. doi: 10.1083.

<http://jcb.rupress.org/content/212/7/767.long#ack-1>

5. Sanyal S, Molnarova L, Gregan J. Promoter interactions direct chromatin folding in embryonic stem cells. Nat Struct Mol Biol. 2017 Jun 6;24(6):494-495. doi: 10.1038/nsmb.3421.

<http://www.nature.com/nsmb/journal/v24/n6/full/nsmb.3421.html?foxtrotcallback=true>

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu boli prezentované na konferenciách a publikované v odborných časopisoch, čo umožní vedeckej komunite využiť tieto výsledky pri ďalšom výskume.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

V tomto projekte sme sa zamerali na reguláciu kohezínového komplexu pomocou proteínov interagujúcich s kohezínom a tiež post-translačnými modifikáciami v modelovom organizme - kvasinke *Schizosaccharomyces pombe*. Na identifikáciu nových proteínov interagujúcich s kohezínom a post-translačných modifikácií sme vypurifikovali kohezínový komplex z ramien chromozómov (pomocou Rec11-TAP) a z oblastí centromér (pomocou Psc3-TAP) pomocou optimalizovanej "tandem-affinity" purifikácie. Analýza purifikovaných komplexov pomocou hmotnostnej spektrometrie odhalila nové proteíny kopurifikujúce s kohezínom. Pripravili sme delečné mutanty v génoch kódujúcich tieto proteíny a analyzovali sme ich fenotypy. Naše predbežné výsledky ukázali, že minimálne jeden z týchto mutantov má defekt v segregácii chromozómov počas meiózy.

Pomocou hmotnostnej spektrometrie sme tiež identifikovali nové post-translačné modifikácie na kohezíne. Našli sme nové miesta fosforylácie na Rec11 a ukázali sme, že fosforylácia Rec11 a casein kinase 1 umožňujú meiotickú rekombináciu formovaním lineárnych elementov. Zistili sme tiež, že Psm1 podjednotka kohezínu je metylovaná a mutácie zabraňujúce tejto metylácii spôsobujú mierny defekt v segregácii chromozómov počas meiózy. Keďže štúdie zamerané na funkciu metylácie kohezínu zatiaľ neboli publikované, predpokladáme, že naše výsledky budú mať významný vplyv na ďalšie smerovanie v odbore biológie chromozómov.

Na záver chceme ešte zdôrazniť, že tento projekt bol dôležitý pre vybudovanie výskumnej skupiny Dr. Gregaña na Katedre genetiky, Univerzity Komenského v Bratislave.

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

In this project, we focused on the regulation of the cohesin complex by cohesin-interacting proteins and post-translational modifications using the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* as a model organism. To identify new interaction partners and post-translational modifications on cohesin, we purified the cohesin complex from chromosome arms (using Rec11-TAP as a bait) and from centromeric regions (using Psc3-TAP) using optimized tandem-affinity purifications. Analysis of the purified complexes by mass-spectrometry revealed new proteins co-purifying with cohesin. We mutated genes encoding these proteins and analyzed their phenotypes. Our initial analysis suggested that at least one of these mutants is defective in chromosome segregation during meiosis.

In addition, our mass-spectrometry analysis revealed new post-translational modifications on the cohesin. We found new phosphorylation sites on Rec11 and showed that casein kinase 1 and Rec11 phosphorylation promote meiotic recombination through linear element formation. We also found that the cohesin subunit Psm1 is methylated on K536 and K1200. Next, we asked whether the absence of Psm1 methylation on lysines 536 and 1200 has any consequences for meiosis. We found that double mutant *psm1-K536A/K1200A* shows mild chromosome segregation defects during meiosis. To our knowledge, this is the first study of cohesin methylation with important implications for the field of chromosome biology. Finally, this project was essential for establishing Dr. Gregan's research group at the Department of Genetics, Comenius University in Bratislava.

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

Zodpovedný riešiteľ

doc. Mgr. Juraj Gregáň, PhD.

V

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. RNDr. Karol Mičieta, PhD

V

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu