



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0441-10

Biogenéza zložiek podmieňujúcich patogenitu mykobaktérií.

Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD.**

Príjemca

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

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

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Département Mécanismes Moléculaires des Infections Mycobactériennes, Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS), Toulouse, Francúzsko
2. Department of Microbiology, Immunology and Pathology, Colorado State University (CSU), Fort Collins, USA
3. Department of Microbiology and Immunology Program, Yong Yoo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapur
4. Center for Infection and Immunity of Lille, Univ Lille Nord de France, Institute Pasteur, Lille, Francúzsko
5. Unité de Microbiologie Structurale, Institute Pasteur, Paríž, Francúzsko

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. Grzegorzewicz, A. E., Korduláková, J., Jones, V., Born, S. E., Belardinelli, J. M., Vaquié, A., Gundi, V. A., Madacki, J., Slama, N., Laval, F., Vaubourgeix, J., Crew, R. M., Gicquel, B., Daffé, M., Morbidoni, H. R., Brennan, P. J., Quémard, A., McNeil, M. R., Jackson, M. (2012) A common mechanism of inhibition of the Mycobacterium tuberculosis mycolic acid biosynthetic pathway by isoxyl and thiacetazone. Journal of Biological Chemistry 287: 38434-38441.

[Počet citácií vo WoS: 10]

2. Grzegorzewicz, A. E., Pham, H., Gundi, V. A. K. B., Scherman, M. S., North, E. J., Hess, T., Jones, V., Gruppo, V., Born, S. E. M., Korduláková, J., Chavadi, S. S., Morisseau, C., Lenaerts, A. J., Lee, R. E., McNeil, M. R., Jackson, M. (2012) Inhibition of mycolic acid transport across the Mycobacterium tuberculosis plasma membrane. *Nature Chemical Biology* 8: 334-341. [Počet citácií vo WoS: 40]

3. Ang, M. L., Siti, Z. Z., Shui, G., Dianiškova, P., Madacki, J., Lin, W., Koh, V. H., Martinez, Gomez, J. M., Sudarkodi, S., Bendt, A., Wenk, M., Mikušova, K., Korduláková, J., Pethe, K., Alonso, S. (2014) An ethA-ethR-deficient Mycobacterium bovis BCG mutant displays increased adherence to mammalian cells and greater persistence in vivo, which correlate with altered mycolic acid composition. *Infection and Immunity* 82: 1850-1859.

4. Madacki, J., Kopal, M., Jackson, M., Kordulakova, J (2013): Investigation of the effect of tuberculosis drug isoxyl on selected mycobacterial epoxide hydrolases

Conference: 38th Congress of the Federation-of-European-Biochemical-Societies (FEBS)

Location: Saint Petersburg, RUSSIA Date: JUL 06-11, 2013

FEBS JOURNAL Volume: 280 Special Issue: SI Supplement: 1 Pages: 355-356

5. Madacki, J., Laval, F., Mikušová, K., Jackson, M., Laneelle, M. A., Korduláková, J. Úloha proteínu MSMEG_4280 v metabolizme mykolových kyselín Mycobacterium smegmatis.

24. biochemický zjazd SSBMB a ČSBMB. Zborník prednášok a posterov: Bratislava, SSBMB, 2014. - ISBN 978-80-970164-6-3. - S. 184

Uplatnenie výsledkov projektu

Identifikácia a charakterizácia proteínov katalyzujúcich reakcie, v ktorých sú produkované modifikované mykolové kyseliny kľúčové pre virulenciu mykobakteriálnych patogénov prinášajú významné poznatky pre vývoj nových účinných antimykobakteriálnych liečiv.

Chemická validácia týchto proteínov - inhibícia ich aktivity priamo v mykobakteriálnych bunkách pôsobením novosyntetizovaných, respektíve už existujúcich látok potvrdzuje ich zasiahnutelnosť účinnou terapiou.

Nové identifikované látky inhibujúce biosyntézu oxygenovaných mykolových kyselín, respektíve transport mykolátov cez plazmatickú membránu predstavujú kandidátov pre nové liečivá v terapii tuberkulózy.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Po prvýkrát sme dokázali enzýmovú aktivitu metyltransferázy Hma, ktorá je kľúčová pre biosyntézu oxygenovaných mykolových kyselín v *M. tuberculosis*. Charakterizovali sme úlohu tohto proteínu pri pôsobení antituberkulotík izoxyly a tiacetazónu a prispeli sme k objasneniu mechanizmu pôsobenia týchto liečiv. Identifikovali sme látku, ktorá v *M. tuberculosis* inhibuje proteín MmaA3 katalyzujúci metyláciu produktu Hma. Ukázali sme, že monooxygenáza EthA sa zúčastňuje nielen aktivácie klinicky významných antituberkulotík, ale zohráva úlohu aj v metabolizme mykolových kyselín ovplyvňujúcich adhérenciu a perzistenciu *M. bovis* BCG v cicavčích bunkách. Dokázali sme, že študované proteíny EphD a MSMEG_4280 majú epoxidhydrolázovú aktivitu a že v bunkách nepatogénneho kmeňa *M. smegmatis* katalyzujú degradáciu konkrétnych foriem mykolových kyselín za vzniku doteraz nepozorovaných metabolitov. Navrhli sme účasť týchto proteínov v regulácii profilu mykolových kyselín v závislosti od podmienok vonkajšieho prostredia a identifikovali sme ich interakčného partnera - monooxygenázu, ktorá sa pravdepodobne zúčastňuje rovnakej metabolickej dráhy. Prispeli sme k identifikácii a charakterizácii pre mykobaktérie kľúčového transportéra MmpL3 prenášajúceho cez plazmatickú membránu mykolové kyseliny viazané na trehalózu. V súčasnosti existuje niekoľko účinných antimykobakteriálnych látok inhibujúcich práve MmpL3. Objavili sme produkt metylačnej aktivity izolovaného proteínu Rv3787c, ktorý ako

substrát využíva hydrofóbny lipid nachádzajúci sa v spektre pomaly, ako aj rýchlo rastúcich mykobakteriálnych kmeňov. Chemická charakterizácia tohto produktu bude viesť k identifikácii príslušnej metabolickej dráhy.

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

For the first time we proved enzymatic activity of methyltransferase Hma that is essential for the biosynthesis of oxygenated mycolic acids in *M. tuberculosis*. We have characterized the role of this protein in the antimycobacterial activity of antituberculosis drugs isoxyl and thiacetazone and we have contributed to the elucidation of the mechanism of action of these drugs. We identified a compound inhibiting protein MmaA3 catalyzing the methylation of the Hma product in *M. tuberculosis*. We showed that monooxygenase EthA not only activates clinically relevant antituberculosis drugs, but it also participates in metabolism of mycolic acids affecting adherence and persistence of *M. bovis* BCG in mammalian cells.

We have shown that the studied proteins EphD and MSMEG_4280 have epoxidhydrolase activity and in a non-pathogenic strain *M. smegmatis* they catalyze degradation of the specific forms of mycolic acids to the previously unknown metabolites. We suggested that depending on environmental conditions these proteins participate in the regulation of mycolic acid profile and we have identified their interaction partner - monooxygenase, which is probably involved in the same pathway.

We have contributed to the identification and characterization of the key membrane protein MmpL3 transporting mycolic acids bound to trehalose through the plasma membrane. At present, there are several effective antimycobacterial agents that inhibit MmpL3. We discovered the product of methylation activity of isolated protein Rv3787c, which as a substrate uses a hydrophobic lipid found in the spectrum of slow and fast growing mycobacterial strains. Chemical characterization of this product will lead to the identification of corresponding metabolic pathway.

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

Zodpovedný riešiteľ

doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD.

V Bratislave 21.11. 2014

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. RNDr. Karol Mičieta, PhD.

V Bratislave 26.11. 2014

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu