

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu **APVV –0681–07****Kvasinky ako nástroj pre produkciu biotechnologicky hodnotných steroidov:
biochemický a genetický prístup**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Ivan Hapala, CSc.**Príjemca **Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

1. Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV
2. FChPT STU
- 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. ŠPAŇOVÁ, M - CZABANY, T - ZELLNIG, G - LEITNER, E - HAPALA, I - DAUM, G. Effect of lipid particle biogenesis on the subcellular distribution of squalene in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In Journal of Biological Chemistry, 2010, vol. 285, no. 9, p. 6127-6133.
2. POLONCOVÁ, K – GRIČ, P. Phospholipid transport and remodelling in health and disease: what model organisms can teach us. General Physiology and Biophysics, in press
3. HAPALA, I – MARZA, E - FERREIRA, T. Is fat so bad? Modulation of endoplasmic reticulum stress by lipid droplet formation. Biology of the Cell, submitted (in review)
- 4.

Uplatnenie výsledkov projektu

V prípade, že výsledky projektu povedú ku konštrukcii kvasinkového kmeňa s výraznou akumuláciou skvalénu by sa výsledky projektu mohli uplatniť v priemyselných biotechnológiách

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

V projekte sme skúmali možnosti kvasiniek ako producenta biotechnologicky cenných lipidických látok skvalénu a glykozylovaných sterolov. Oba druhy lipidov nachádzajú uplatnenie v potravinárstve, kozmetike, farmakológii a medicíne. Skvalén je v bunkách kvasiniek syntetizovaný ako prekursor ergosterolu v endoplazmatickom retikule a je uskladňovaný v tzv. lipidových partikulách. Sledovali sme jeho akumuláciu za podmienok zvýšenej produkcie (nadexpresia HMG-CoA reduktázy) resp. zníženého metabolizmu skvalénu v post-skvalénovej dráhe (anaerobióza, hem deficiencia, znížená aktivita enzýmu skvalén epoxidázy účinkom inhibítora terbinafinu resp. účinkom mutácií v géne ERG1). Najvyššiu akumuláciu skvalénu v bunkách kvasiniek sme pozorovali v bunkách nesúcich mutáciu v ERG1 géne resp. pri inhibícii Erg1p terbinafinom. Sledovali sme tiež úlohu lipidových partikul ako skladového kompartmentu pri akumulácii skvalénu v kvasinkách. Kvasinky sú schopné adaptovať sa do určitej miery na zvýšený obsah skvalénu aj v neprítomnosti lipidových partikul. V takých podmienkach sa skvalén nachádza distribuovaný v intracelulárnych membránach. Pri zvýšenej akumulácii skvalénu (napr. pri opracovaní terbinafinom) kapacita membrán na absorbovanie skvalénu nedostačuje, čo sa prejavuje poruchami v raste. Sledovali sme tiež obsah glykozylovaných sterolov v kvasinke *Pichia pastoris* v rôznych kultivačných podmienkach. Zvýšený obsah glykozylovaných sterolov bol pozorovaný pri raste na galaktóze a fruktóze a v stresových podmienkach (zvýšený NaCl, Cu²⁺ ióny, peroxid vodíka). Výsledky projektu naznačujú vysoký potenciál kvasiniek ako mikrobiálneho producenta skvalénu a glykozylovaných sterolov.

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

In the project we have analysed the potential of yeast as producers of biotechnologically valuable lipid compounds squalene and glycosylated sterols. Both lipid species are successfully applied in food industry, cosmetic industry, pharmacology and medicine. Squalene is ergosterol precursor synthesized in yeast cells in the endoplasmic reticulum and is stored typically in so-called lipid particles. We have studied the accumulation of squalene under conditions of increased squalene production (overexpression of HMG-CoA reductase) or reduced squalene metabolism in the post-squalene pathway (anaerobiosis, heme deficiency, inhibition of squalene epoxidase by specific inhibitor terbinafin or by mutations in the ERG1 gene). The highest accumulation of squalene was observed in yeast cells bearing a mutation in the ERG1 gene or in cells treated with terbinafin. We have studied also the role of lipidic particles as a storage compartment for squalene. Yeast cells are able to adapt partially to increased levels of squalene also in the absence of lipid particle. Under those conditions, squalene is found distributed in the intracellular membranes. Increased squalene level, e.g. in lipid particle-less cells treated with terbinafin, squalene cannot exceed a certain threshold level. The "storage" capacity of cell membranes is limited and the high levels of squalene result in cell growth arrest. We have further studied also glycosylated sterol levels in the yeast *Pichia pastoris* under various growth conditions. Increased levels of squalene have been observed during growth on galactose and fructose and under stress conditions (high salt, Cu²⁺, hydrogen peroxide). The results of this project indicate a high potential of yeast as a microbial producer of squalene and of glycosylated sterols.

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

Zodpovedný riešiteľ

RNDr. Ivan Hapala, CSc.

V Ivanke pri Dunaji 30. 01. 2011

Štatutárny zástupca príjemcu

RNDr. Ivan Hapala, CSc.

V Ivanke pri Dunaji 30. 01. 2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu