

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0783**

Chemoterapiou indukované poškodenia DNA a štúdium ich opravy v modelovom organizme *Saccharomyces cerevisiae*

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Miroslav Chovanec, PhD.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej onkológie**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Oddelenie onkológie, Weatherall inštitút molekulárnej medicíny, Univerzita v Oxforde, Nemocnica Johna Radcliffa, Oxford, Veľká Británia.
2. Národné centrum pre biomolekulárny výskum, Masarykova univerzita v Brne, Česká republika.
3. Centrum pre pracovné a environmentálne zdravie, Univerzita v Manchestri, Manchester, Veľká Británia.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

žiadne.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Publikácie:

1. Rendeková J, Ward TA, Šimoničová L, Thomas PH, Nosek J, Tomáška L, McHugh PJ, Chovanec M (2016) Mgm101: A double-duty Rad52-like protein. *Cell Cycle* 15 (23): 3169-3176.
2. Durdíková K, Chovanec M (2017) Regulation of non-homologous end joining via post-translational modifications of components of the ligation step. *Current Genetics* 63 (4): 591-605.
3. Mikolášková B, Jurčík M, Čipáková I, Kretová M, Chovanec M, Čipák L (2018) Maintenance of genome stability: the unifying role of interconnections between the DNA damage response and RNA processing pathways. *Current Genetics*, 64:971-983.

Ďalšie publikácie:

1. Jurkovicova D, Smolkova B, Magyerkova M, Sestakova Z, Horvathova Kajabova V, Kulcsar L, Zmetakova I, Kalinkova L, Krivulcik T, Karaba M, Benca J, Sedlackova T, Minarik G, Cierna Z, Danihel L, Mego M, Chovanec M, Fridrichova I (2017) Down-regulation of traditional oncomiRs in plasma of breast cancer patients. *Oncotarget*, 8:77369-77384.
2. Rendeková J, Vlasáková D, Arsenyan P, Vasiljeva J, Nasim MJ, Witek K, Domínguez-Álvarez E, Żesławska E, Mániková D, Tejchman W, Saleem RSZ, Rory K, Handzlik J,

Chovanec M (2017) The selenium-nitrogen bond as basis for reactive selenium species with pronounced antimicrobial activity. *Current Organic Synthesis*, 14:1082-1090.

3. Misak A, Grman M, Bacova Z, Rezuchova I, Hudecova S, Ondriasova E, Krizanova O, Brezova V, Chovanec M, Ondrias K (2018) Polysulfides and products of H₂S/S-nitrosoglutathione with comparison to H₂S and antioxidant Trolox are potent scavengers of superoxide anion radical and produce hydroxyl radical by decomposition of H₂O₂. *Nitric Oxide*, 76:136-151.

4. Mániková D, Šestáková Z, Rendeková J, Vlasáková D, Lukáčová P, Paegle E, Arsenyan P, Chovanec M (2018) Resveratrol-inspired bezno[b]selenophenes act as anti-oxidants in yeast. *Molecules*, 23:507.

Prednášky a vývesky:

1. Durdíková K, Slabá Z, Vigašová D, Krejčí L, Chovanec M. Post-translational modifications in the ligation step of NHEJ. In 7th DNA repair workshop: book of abstracts. Brno: Tribun EU, s.r.o., 2016, p. 36. ISBN 978-80-263-1042-6 (prednáška).

2. Rendeková J, Ward TA, Chovanec M, McHugh PJ. Rad1/Rad10 is a candidate for incision during S-phase specific DNA interstrand cross-link repair in *Saccharomyces cerevisiae*. In 7th DNA repair workshop : book of abstracts. - Brno: Tribun EU, s.r.o., 2016, p. 36. ISBN 978-80-263-1042-6 (poster).

3. Goffa E, Rendeková J, Ward TA, Chovanec M, McHugh PJ. Rad1/Rad10 is a candidate nuclease for incision during S phase-specific DNA interstrand cross-link repair in yeast. In FEBS DNA repair workshop: book of abstracts. Bratislava: MY3, s.r.o., 2017, p. 120. ISBN 978-80-972247-3-8 (vybraná krátka prednáška).

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky majú charakter nových originálnych poznatkov, a preto ich uplatnenie mimo oblasť vedy, výskumu a vzdelávania je limitované. Avšak ich súvis s klinickou onkológiou má potenciál prispieť k novým smerovaniam, inováciám a koncepciám v tejto oblasti. Predovšetkým sa nám javí veľmi nádejné ich uplatnenie pri vývoji nových terapeutických stratégií, pretože terapeutické ovplyvnenie procesov opravy DNA cez molekulárne mechanizmy študované v rámci grantu, by pri súčasnom podávaní štandardnej chemoterapie malo výrazne prispieť k lepšej liečiteľnosti nádorov.

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

Slx4 a Saw1 proteíny sa nejavia byť akcesórne faktory Rad1 proteínu v oprave medzireťazcových krížnych väzieb DNA (ICLs) počas S fázy bunkového cyklu. Tieto faktory sme sa snažili následne identifikovať analýzou Rad1 interaktómu. Analyzovaných bolo 11 kandidátnych proteínov, z ktorých tri (Rad51, Rev3 a Mec3) zapadali do nami revidovaného modelu opravy ICLs v S fáze bunkového cyklu. Zahrnutie proteínov Rad51 a Rev3 bolo geneticky overené. Zisťuje sa aj prepojenie Rad1-závislej dráhy opravy ICLs s dvoma ďalšími dráhami opravy ICLs, Pso2-závislou dráhou a dráhou vykazujúcou podobnosť s Fanconi anémiou dráhou. Ďalej sme zistili, že SUMOylácia inhibuje pritiahnutie Lif1 proteínu (komponent komplexu DNA ligázy IV) k miestu dvojláknového zlomu DNA (DSB). Tento fakt pravdepodobne zodpovedá za účinnejšiu opravu DSBs prostredníctvom spájania nehomologických koncov DNA (NHEJ), ktorú sme pozorovali v lif1-K301R mutantoch neschopných SUMOylácie Lif1 proteínu. lif1-K301R mutáciu sme spriahli aj s nej1-K181R mutáciou (ovplyvňujúcou SUMOyláciu Nej1, ďalšieho komponenta komplexu DNA ligázy IV), aby sme zistili, či súčasná SUMOylácia dvoch komponentov toho istého biochemického kroku NHEJ má rovnaký alebo iný fenotypický dopad na proces NHEJ v porovnaní s individuálnou SUMOyláciou jeho jednotlivých komponentov. Sledovali sme tiež opravu DNA buniek *S. cerevisiae* transformovaných *S. pombe* atl1+ génom po ovplyvnení alkylačnými látkami. Zistili sme, že Atl1 proteín sa v bunkách *S. cerevisiae* viaže na O6-alkylguanín, čím eliminuje aktivitu Mgt1 proteínu a stimuluje nukleotidovú excíziu opravu.

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

The Slx4 and Saw1 proteins do not appear to be accessory factors of the Rad1 protein in DNA interstrand cross-link (ICL) repair during the S cell cycle phase. These factors were subsequently tempted to be identified by analysis of the Rad1 interactome. 11 candidate

proteins were analyzed, three of which, Rad51, Rev3 and Mec3, fit into our revised ICL repair model during the S phase. An involvement of the Rad51 and Rev3 proteins was genetically verified. A possibility of association of the Rad1-dependent ICL repair pathway with two additional ICL repair pathways, Pso2-dependent pathway and pathway showing similarity to Fanconi anemia pathway, is being examined. Furthermore, we have found that SUMOylation affects recruitment of the Lif1 protein (the DNA ligase IV complex component) to the DNA double-strand break (DSB) site. This is likely to be the basis of more efficient DSB repair by non-homologous end-joining (NHEJ) seen in the lif1-K301R mutants that are unable to SUMOylate the Lif1 protein. The lif1-K301R mutation was also coupled with the nej1-K181R mutation (affecting the SUMOylation of Nej1, another component of the DNA ligase IV complex) to check if simultaneous SUMOylation of two components of the same biochemical step of NHEJ has the same or different phenotypical effect on the NHEJ process compared to an individual SUMOylation of these two individual components. We also monitored repair in *S. cerevisiae* cells transformed with the *S. pombe* atl1+ gene after treatment with alkylating agents. We found that the Atl1 protein binds to O6-alkylguanine in *S. cerevisiae* cells, thereby blocking action of the Mgt1 protein and stimulating nucleotide excision repair.

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

Zodpovedný riešiteľ

Mgr. Miroslav Chovanec, PhD.

Štatutárny zástupca príjemcu

prof., RNDr. Silvia Pastoreková, DrSc.

V dňa

V dňa

.....
Podpis zodpovedného riešiteľa

.....
Podpis štatutárneho zástupcu príjemcu