

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0022**
Nukleo-proteínové interakcie ako základ udržiavania stability genómu

Zodpovedný riešiteľ **prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc.**
Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Prírodovedecká fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave
Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Central European Institute of Technology, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika
(doc. Lukáš Trantírek; doc. Zbyněk Zdráhal)
Lineberger Comprehensive Cancer Center, University of North Carolina, Chapel Hill, USA
(prof. Jack D. Griffith)
Micalis Institute, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, Francúzsko
(dr. Cécile Neuvéglise)
Department of Genetics, The Silberman Institute of Life Sciences, The Hebrew University of
Jerusalem, Safra Campus, Jerusalem, Izrael (prof. Yehuda Tzfati)
Department of Microbiology and Infectiology, RNA Group, Faculty of Medicine and Health
Sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Kanada (prof. Raymund J.
Wellinger)
Department of Oncology, Hematology and Rheumatology, University Hospital Bonn, Bonn,
Nemecko (dr. Katrin Paeschke)
Department of Microbiology, University of Szeged Interdisciplinary Excellence Centre,
Szeged, Maďarsko (dr. Attila Gácsér)

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

Patenty neboli podané/udelené.

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

Zahrančné vedecké publikácie:

1. Jakúbková, M., Džugasová, V., Abelovská, L., Fričová, D., M., Bhatia-Kiššová, I., Valachovič, M., Klobočníková, V., Zeiselová, L., Griač, P., Nosek, J., Tomáška, Ľ. (2016). Identification of yeast mutants exhibiting altered sensitivity to valinomycin and nigericin demonstrate pleiotropic effects of ionophores on cellular processes. PLoS One 11(10): e0164175;

[IF(JCR)2018=2,776; JCR/SJR=Q2/Q1]

<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0164175&type=printable>

2. Zeman, I., Neboháčová, M., Gérecová, G., Katonová, K., Jánošíková, E., Jakúbková, M.,

- Centárová, I., Dunčková, I., Tomáška, L., Pryszcz, L., Gabaldón, T., Nosek, J. (2016). Mitochondrial carriers link the catabolism of hydroxyaromatic compounds to the central metabolism in *Candida parapsilosis*. *G3-Genes Genomes Genetics* 6(12): 4047-4058. [IF(JCR)2018=2,630; JCR/SJR=Q2/Q1]
<https://www.g3journal.org/content/ggg/6/12/4047.full.pdf>
3. Rendeková, J., Ward, T.A., Šimoničová, L., Thomas, P.H., Nosek, J., Tomáška, L., McHugh, P.J., Chovanec, M. (2016). Mgm101: A double-duty Rad52-like protein. *Cell Cycle* 15(23): 3169-3176. [IF(JCR)2018=3,259; JCR/SJR=Q3/Q1]
<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/15384101.2016.1231288?needAccess=true>
4. Gajarský, M., Lenarcic Zivkovic, M., Stadlbauer, P., Pagano, B., Fiala, R., Amato, J., Tomáška, L., Šponer, J., Plavec, J., Trantírek, L. (2017). Structure of a stable G-hairpin. *Journal of American Chemical Society* 139(10): 3591-3594. [IF(JCR)2018=14,695; JCR/SJR=Q1/Q1]
<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jacs.6b10786>
5. Cillingová, A., Zeman, I., Tóth, R., Neboháčová, M., Dunčková, I., Hölcová, M., Gérecová, G., Pryszcz, L., Tomáška, L., Gabaldón, T., Gácsér, A., Nosek, J. (2017). Eukaryotic transporters for hydroxyderivatives of benzoic acid. *Scientific Reports* 7: 8998. [IF(JCR)2018=4,011; JCR/SJR=Q1/Q1]
<https://www.nature.com/articles/s41598-017-09408-6.pdf>
6. Červenák, F., Juríková, K., Sepšiová, R., Neboháčová, M., Nosek, J., Tomáška, L. (2017). Double-stranded telomeric DNA binding proteins: Diversity matters. *Cell Cycle* 16(17): 1568-1577. [IF(JCR)2018=3,259; JCR/SJR=Q3/Q1]
<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/15384101.2017.1356511?needAccess=true>
7. Brejová, B., Lichancová, H., Brázdovič, F., Cillingová, A., Neboháčová, M., Tomáška, L., Vinař, T., Nosek, J. (2017). Draft genome sequence of an obligate psychrophilic yeast *Candida psychrophila* NRRL Y-17665T. *Genome Announcements* 5(15): e00851-17. [IF(JCR)2018=3,517; JCR/SJR=Q2/Q1]
<https://mra.asm.org/content/ga/5/35/e00851-17.full.pdf>
8. Tomáška, L., Nosek, J., Sepšiová, R., Červenák, F., Juríková, K., Procházková, K., Neboháčová, M., Willcox, S., Griffith, J.D. (2019). Single-stranded telomere-binding protein employs a dual rheostat for binding affinity and specificity that drives function. *Frontiers in Genetics* 9: 742. [IF(JCR)2018=3,517; JCR/SJR=Q2/Q1]
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2018.00742/full>
9. Brejová, B., Lichancová, H., Brázdovič, F., Hegedúsová, E., Forgáčová, Jakúbková, M., Hodorová, V., Džugasová, V., Baláž, A., Zeiselová, L., Cillingová, A., Neboháčová, M., Raclavský, V., Tomáška, L., Lang, B.F., Vinař, T., Nosek, J. (2019). Genome sequence of the opportunistic human pathogen *Magnusiomyces capitatus*. *Current Genetics* 65(2): 539-560. [IF(JCR)2018=3,464; JCR/SJR=Q2/Q1]
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00294-018-0904-y>
11. Brejová, B., Lichancová, H., Hodorová, V., Neboháčová, M., Tomáška, L., Vinař, T., Nosek, J. (2019). Genome sequence of an arthroconidial yeast *Saprochaete fungicola* CBS 625.85. *Microbiology Resource Announcements* 8(9): e00094-19. [IF(JCR)2018=3,464; JCR/SJR=Q2/Q1]
<https://mra.asm.org/content/ga/8/15/e00092-19.full.pdf>
12. Benej, M., Danchenko, M., Ovečková, I., Červenák, F., Tomáška, L., Grossmanová, K., Polčicová, K., Golias, T., Tomášková, J. (2019). Quantitative proteomics reveal peroxiredoxin perturbation upon persistent lymphocytic choriomeningitis virus infection in human cells. *Frontiers in Microbiology* 10: 2438. [IF(JCR)2018=4,259; JCR/SJR=Q1/Q1]
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02438/full>
13. Tomáška, L., Nosek, J., Kar, A., Willcox, S., Griffith, J.D. (2019). A new view of the t-loop junction: implications for self-primed telomere extension, expansion of disease-related nucleotide repeat blocks, and telomere evolution. *Frontiers in Genetics* 10: 792. [IF(JCR)2018=3,517; JCR/SJR=Q2/Q1]
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2019.00792/full>
14. Červenák, F., Juríková, K., Devillers, H., Kaffe, B., Khatib, A., Bonnell, E., Sopkovičová, M., Wellinger, R.J., Nosek, J., Tzfati, Y., Neuvéglise, C., Tomáška, L. (2019). Identification

of telomerase RNAs in species of the Yarrowia clade provides insights into the co-evolution of telomerase, telomeric repeats and telomere-binding proteins. Scientific Reports 9: 13365. [IF(JCR)2018=4,011; JCR/SJR=Q1/Q1]
<https://www.nature.com/articles/s41598-019-49628-6.pdf>

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt mal charakter základného výskumu. Zaviedli sme metódu na obohatenie DNA fragmentov nesúcich telomerické repetície vykazujúce podobnosť k motívu 5'-TTAGGG-3'. Metóda, ktorú nazývame Tay1-pulldown je založená na inkubácii zmesnej populácie fragmentov DNA s rekombinantným purifikovaným Tay1p a následnou purifikáciou DNA-proteínových komplexov pomocou afinitnej chromatografie. Metódu bude možné využiť v kombinácii s technikami sekvenovania tretej generácie (TGS) na (1) stanovenie dĺžky telomerických oblastí v genómoch s TTAGGG-podobnými sekvenciami na koncoch chromozómov pomocou metód TGS; (2) stanovenie sekvencií individuálnych koncov chromozómov v genómoch, kde je táto sekvencia ťažko stanoviteľná konvenčnými prístupmi a (3) identifikáciu potenciálnych väzbových miest pre Tay1 v genóme *Yarrowia lipolytica*. Ďalšie výsledky získané v rámci projektu majú potenciálne uplatnenie v biomedicíne pri dizajne terapeutík cielených na mechanizmy udržiavania telomér, ktoré sú závislé, resp. nezávislé od telomerázy. Projekt prispel k výchove mladých vedeckých pracovníkov; na jeho riešení participovalo 7 doktorandov, z ktorých 6 úspešne obhájilo svoje dizertačné práce.

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

V súlade s deklarovateľnými cieľmi projekt prispel k rozšíreniu poznatkov o význame nukleo-proteínových interakcií pri udržiavaní stability genómu nasledovnými výsledkami: (1) prispeli sme k identifikácii nového typu sekundárnej štruktúry tvorenej sekvenciou derivovanou z telomerických repetícií kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*; (2) zistili sme, že jednovláknové oligonukleotidy odvodené z telomerických repetícií *S. cerevisiae* vykazujú rôznu kinetiku skladania do sekundárnych štruktúr a navrhli sme originálny model, ako táto kinetika ovplyvňuje prístupnosť telomér telomeráze; (3) identifikovali sme nový, od telomerázy-nezávislý spôsob replikácie telomér cicavcov založený na tvorbe telomerickéj slučky a využili sme ho ako základ pre scenár evolúcie telomér; (4) predikovali sme sekundárnu štruktúru telomerázovej RNA u druhov kvasiniek z rodu *Yarrowia* a identifikovali sme nový typ štruktúrnych elementov, ktoré sú dôležité pre aktivitu telomerázy *in vivo*; (5) identifikovali sme gény, ktorých expresia sa mení v bunkách *Y. lipolytica* bez funkčnej telomerázy; (6) stanovili sme sekvenciu telomérových repetícií, teloméru-viažúcich proteínov a telomerázy v celogenómových sekvenciách viacerých druhov kvasiniek; (7) participovali sme na charakterizácii proteínu Mgm101, ktorý sa podieľa na stabilizácii mitochondriálneho aj jadrového genómu *S. cerevisiae* a dokázali sme jeho úlohu pri udržiavaní jadrových telomér; (8) na príklade biochemických vlastností teloméru-viažucich proteínov popísaných v našom laboratóriu sme ilustrovali, že evolúcia v prípade väzby proteín-ligand preferuje kompromis medzi afinitou a flexibilitou, čo umožňuje dynamický charakter DNA-proteínových komplexov.

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

The project contributed to our understanding of the roles of nucleo-protein interactions in maintaining genome stability. Namely, we (1) participated on identification of a novel type of secondary structure formed by an oligonucleotide derived from telomeric repeats of *Saccharomyces cerevisiae*; (2) demonstrated that single-stranded telomeric oligonucleotides of *S. cerevisiae* exhibit distinct kinetics of folding into secondary structures and proposed a model how this property affects accessibility of telomeres to telomerase; (3) identified a novel, telomerase-independent mechanism of replication of mammalian telomeres based on the formation of telomeric loop and used it as a basis of an original scenario of telomere evolution; (4) predicted secondary structure of RNA component of telomerase in several species belonging to the *Yarrowia* clade and identified several novel structural elements important for telomerase activity *in vivo*; (5) identified genes whose expression is altered in *Y. lipolytica* cells lacking functional telomerase; (6) determined sequence of telomeric repeats, telomere-binding proteins and telomerase subunits in whole

genome sequences of several yeast species; (7) participated on characterization of the protein Mgm101 involved in stabilization of both mitochondrial and nuclear genome of *S. cerevisiae* and demonstrated its role in telomere maintenance; (8) employed biochemical properties of telomere-binding proteins characterized in our laboratory and showed the evolution of protein-ligand interactions prefers a compromise between affinity and flexibility of binding resulting in a dynamic character of DNA-protein complexes.