

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0654****Úloha medziorganelových interakcií v lipidovej homeostáze**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Ivan Hapala, CSc.**Príjemca **Centrum biovied SAV - Ústav biochémie a genetiky živočíchov**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Centrum biovied SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- University College, London (Veľká Británia)
- Max F. Perutz Laboratories, Vienna Biocenter (Rakúsko)
- University of Alberta (Kanada)
- Ústav experimentálnej medicíny AV ČR, Praha (ČR)

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

1. GARAILOVA, M., MIETKIEWSKA, E., WESELAKE, R. J., HOLIC, R. (2017). Metabolic engineering of *Schizosaccharomyces pombe* to produce puniceic acid, a conjugated fatty acid with nutraceutical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(21): 7913-7922
2. HOLIC, Roman, XU, Yang, CALDO, Kristian Mark P., SINGER, Stacy D., FIELD, Catherine J., WESELAKE, Randal J., CHEN, Guangqun (2018). Bioactivity and biotechnological production of puniceic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(8): 3537-3549
3. PEVALOVÁ, Zuzana - PEVALA, Vladimír - BLUNSOM, Nicholas J. - TAHOTNÁ, Dana - KOTRASOVÁ, Veronika - HOLIČ, Roman - POKORNÁ, Lucia - BAUER, Jacob - KUTEJOVÁ, Eva - COCKCROFT, Shamshad - GRIAČ, Peter (2019) Yeast phosphatidylinositol transfer protein Pdr17 does not require high affinity phosphatidylinositol binding for its cellular function. *Biochimica et Biophysica Acta : Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(10): 1412-1421.
4. KUBALOVÁ, Dominika - KÁŇOVIČOVÁ, Paulína - VESELÁ, Petra - AWADOVÁ, Thuraya - DŽUGASOVÁ, Vladimíra - DAUM, G. - MALÍNSKÝ, Ján - BALÁŽOVÁ, Mária (2019). The lipid droplet protein Pgc1 controls the subcellular distribution of phosphatidylglycerol. *In FEMS Yeast Research*. 19(5): art. no. foz045.
5. VIRČÍKOVÁ Veronika, POKORNÁ Lucia, TAHOTNÁ Dana, DŽUGASOVÁ Vladimíra, BALÁŽOVÁ Mária, GRIAČ Peter. (2018) *Schizosaccharomyces pombe* cardiolipin synthase

is part of a mitochondrial fusion protein regulated by intron retention. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1863(10):1331-1344.

6. PAPAY M., KLEIN C., HAPALA I., PETRISKOVA L., KUCHLER K., VALACHOVIC M. (2020) Mutations in the nucleotide-binding domain of putative sterol importers Aus1 and Pdr11 selectively affect utilization of exogenous sterol species in yeast. *Yeast* 37(1): 5-14 yea.3456

7. CSÁKY, Z., GARAIÓVÁ, M., KODEDOVÁ, M., VALACHOVIČ, M., SYCHROVÁ, H., HAPALA, I. (2020). Squalene lipotoxicity in a lipid droplet-less yeast mutant is linked to plasma membrane dysfunction. *Yeast* 37(1): 45-62 yea.3454.

8. HAPALA, I., GRIAC, P., HOLIC, R. (2020). Metabolism of storage lipids and the roles of lipid droplets in the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Lipids* 55: 513–535

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt "Úloha medziorganelových interakcií v lipidovej homeostáze" bol projektom základného výskumu a väčšina dosiahnutých výsledkov nemá uplatnenie v krátkodobom horizonte. Počas riešenia projektu sme získali viaceré prioritné výsledky, ktoré boli publikované v 11 článkoch v impaktovaných časopisoch evidovaných vo WoS databázach. U niektorých výsledkov vidíme možnosť uplatnenia v nasledujúcich oblastiach:

- V oblasti biotechnológií by výsledky týkajúce sa produkcie kyseliny punikovej a skvalénu a ich potenciálnej lipotoxicity mohli prispieť k zvýšenej produkcii týchto komerčne zaujímavých lipidov v kvasinkách.
- Poznanie mechanizmov toxicity akumulovaného skvalénu by tiež mohlo prispieť k optimalizácii fungicídneho účinku terbinafínu ako antimykotika široko využívaného v klinickej praxi.
- Projekt mal tiež významný edukačný dopad, keď v rámci jeho riešenia bolo školených 8 diplomantov a 9 doktorandov.

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

Riešenie projektu bolo rozdelené do troch oblastí: (1) úloha fosfatidylinozitol (PI) transferových proteínov v homeostáze membránových fosfolipidov; (2) úloha medziorganelových interakcií v homeostáze mitochondriálnych lipidov, a (3) interakcie lipidových partikul (LP) s endomembránami v homeostáze kvasinkových sterolov. Výsledky dosiahnuté v jednotlivých oblastiach ukázali esenciálnu úlohu interorganelových interakcií vo všetkých študovaných procesoch:

(1) Pdr17p je člen rodiny PI-transferových proteínov, ktorý sa ako súčasť Psd2 komplexu podieľa na dekarboxylácii fosfatidylserínu (PS) na fosfatidyletanolamín (PE) v membránach endozomov/Golgi. Naše výsledky dokazujú, že Pdr17p neslúži v tomto procese ako prenášač lipidov, ale ako regulátor interakcií jednotlivých proteínov PS-dekarboxylačného komplexu s membránami ER a endozómov.

(2) Pri štúdiu homeostázy mitochondriálneho fosfatidylglycerolu (PG) v bunkách kvasiniek sme sledovali úlohu PG-špecifickej fosfolipázy Pgc1p v udržiavaní hladiny a intracelulárnej distribúcie PG. Zistili sme, že Pgc1p je prednostne lokalizovaný v LP ako neaktívny proteín a táto interakcia s LP je dôležitá z hľadiska kontroly obsahu PG v kvasinkách.

(3) LP a membrány ER sú funkčne prepojené v biosyntéze ergosterolu ako aj prostredníctvom syntézy a skladovania sterol esterov (SE). V projekte sme dokázali, že primárnou funkciou uskladňovania SE a prekursora ergosterolu skvalénu v LP je ochrana pred ich potenciálnymi toxickými účinkami, čo sme potvrdili aj analýze príjmu externých sterolov z média v hypoxických podmienkach.

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

The implementation of the project included three topics: (1) the role of phosphatidylinositol (PI) transfer proteins in the homeostasis of membrane phospholipids, (2) the role of interorganelle interactions in the homeostasis of mitochondrial lipids, and (3) interactions of lipid droplets (LD) with intracellular membranes in sterol homeostasis in yeast. Our results confirmed the essential role of interorganelle interactions in all studied processes:

(1) Pdr17p is a member of the PI transfer protein family that is involved in the decarboxylation of phosphatidylserine (PS) to phosphatidylethanolamine (PE) by the Psd2

complex in endosomal/Golgi membranes. Our results have proved that Pdr17p is not involved in this process as lipid transfer protein, but probably as a regulator of the interactions of PS decarboxylation complex with ER and endosomal membranes.

(2) In the study of phosphatidylglycerol (PG) homeostasis in yeast we focused on the role of PG-specific phospholipase Pgc1p in the control of the levels and intracellular distribution of PG. We have found that Pgc1p is localized preferentially on lipid droplets (LD) as an inactive protein and that this interaction with LD is important with respect to the control of PG content in yeast cells.

(3) LD and ER are functionally linked by the biosynthesis of ergosterol as well as by the process of formation and storage steryl esters (SE). In the project we proved that the primary function of the storage of SE and of the ergosterol precursor squalene in LD is the protection from their potential toxic effects. This conclusion was confirmed also in the analysis of the uptake of external sterols under hypoxic conditions.