

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-16-0120****Objasnenie mechanizmov posttranslačnej regulácie faktorov zostrihu RNA pri udržiavaní stability genómu**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Ľuboš Čipák, PhD.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej onkológie**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej onkológie (Riešiteľská organizácia)
2. Prírodovedecká fakulta UK (Spoluriešiteľská organizácia)
3. Centrum biovied SAV - Ústav biochémie a genetiky živočíchov (Spoluriešiteľská organizácia)

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Advanced Microscopy Facility, VBCF, Vienna Biocenter (VBC), 1030 Vienna, Austria
2. Department of Medicine, Stanford Prevention Research Center, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, USA

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

-

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

1. Mikolaskova B, Jurcik M, Cipakova I, Selicky T, Jurcik J, Bagelova Polakova S, Stupenova E, Dudas A, Sivakova B, Bellova J, Barath P, Aronica L, Gregan J, Cipak L (2021) Identification of Nrl1 domains responsible for interactions with RNA-processing factors and regulation of Nrl1 function by phosphorylation. International Journal of Molecular Sciences, 22(13), 7011 . DOI: 10.3390/ijms22137011.
2. Misova I, Pitelova A, Budis J, Gazdarica J, Sedlackova T, Jordakova A, Benko Z, Smondrkova M, Mayerova N, Pichlerova K, Strieskova L, Prevorovsky M, Gregan J, Cipak L, Szemes T, Bagelova Polakova S (2021) Repression of a large number of genes requires interplay between homologous recombination and HIRA. Nucleic Acids Research, 49(4), 1914-1934. DOI: 10.1093/nar/gkab027.
3. Sivakova B, Jurcik J, Lukacova V, Selicky T, Cipakova I, Barath P, Cipak L (2021) Label-free quantitative phosphoproteomics of the fission yeast Schizosaccharomyces pombe using strong anion exchange- and porous graphitic carbon-based fractionation strategies. International Journal of Molecular Sciences, 22(4), 1747. DOI: 10.3390/ijms22041747.
4. Jurcik J, Sivakova B, Cipakova I, Selicky T, Stupenova E, Jurcik M, Osadska M, Barath P, Cipak L (2020) Phosphoproteomics meets chemical genetics: approaches for global mapping and deciphering the phosphoproteome. International Journal of Molecular Sciences, 21(20), 7637. DOI: 10.3390/ijms21207637.

5. Cipakova I, Jurcik M, Rubintova V, Borbova M, Mikolaskova B, Jurcik J, Bellova J, Barath P, Gregan J, Cipak L (2019) Identification of proteins associated with splicing factors Ntr1, Ntr2, Brr2 and Gpl1 in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell Cycle*, 18(14), 1532-1536. DOI: 10.1080/15384101.2019.1632126.

6. Mikolaskova B, Jurcik M, Cipakova I, Kretova M, Chovanec M, Cipak L (2018) Maintenance of genome stability: the unifying role of interconnections between the DNA damage response and RNA-processing pathways. *Current Genetics*, 64(5), 971-983. DOI: 10.1007/s00294-018-0819-7.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Projekt mal charakter základného výskumu a dosiahnuté výsledky predstavujú platformu pre ďalšie vedecko-výskumné aktivity v oblasti štúdia posttranslačnej regulácie proteínov zúčastnených procesov zostrihu pre-mRNA a s tým spojených mechanizmov udržiavania stability genómu. Okrem získania originálnych vedeckých výsledkov a ich publikovania v zahraničných recenzovaných vedeckých časopisoch, projekt umožnil aj zapojenie sa do riešenia projektu a odborné vzdelávanie mladých vedeckých pracovníkov a študentov magisterského a doktorandského štúdia v študijných programoch biochémia a genetika.

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

Projekt bol zameraný na štúdium a objasnenie úlohy posttranslačných modifikácií pri regulácii proteínov komplexu zostrihu pre-mRNA kvasinky *S. pombe*, ktorých úlohou je kontrola expresie génov a stabilizácia genómu prostredníctvom potlačania akumulácie genóm ohrozujúcich R-slučiek. Získané výsledky projektu zahŕňajú (a) detailnú charakterizáciu interaktómov Nrl1, Brr2, Ntr1 a Ntr2 proteínov, (b) identifikáciu a detailnú analýzu interaktómu novoidentifikovaného G-path domény obsahujúceho Gpl1 faktora zostrihu pre-mRNA, (c) zmapovanie fosforylačných miest Nrl1, Brr2, Ntr1, Ntr2 a Gpl1 proteínov, (d) prípravu nefosforylovateľných a fosforyláciu napodobňujúcich mutantov študovaných faktorov zostrihu pre-mRNA a ich fenotypovú analýzu, (e) optimalizáciu protokolu pre neznačenú kvantitatívnu fosfoproteomickú analýzu celobunkových lyzátoov kvasinky *S. pombe*, (f) identifikáciu interakčných domén/regiónov Nrl1 proteínu zodpovedných za jeho interakcie s vybranými faktormi zostrihu pre-mRNA a (g) objasnenie dôležitosti fosforylácie N-koncovkej časti Nrl1 proteínu pre správnu reguláciu zostrihu pre-mRNA a účinnú expresiu špecifickej skupiny génov a nekódujúcich RNA. Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že ciele projektu boli splnené a riešenie projektu prinieslo nové poznatky o molekulárnych mechanizmoch posttranslačnej regulácie vybraných proteínov podieľajúcich sa na procesoch zostrihu pre-mRNA a na udržiavaní stability genómu.

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

Project was aimed to study and analyse the role of post-translational modifications of splicing and spliceosome-associated factors of the fission yeast *S. pombe*, which are known to regulate the gene expression and stabilize the genome by suppressing the accumulation of genome-threatening R-loops. The results of the project include (a) detailed characterization of the interactomes of Nrl1, Brr2, Ntr1 and Ntr2 proteins, (b) identification and detailed analysis of the interactome of the newly identified G-path domain containing splicing factor Gpl1, (c) mapping of phosphorylation sites of Nrl1, Brr2, Ntr1, Ntr2 and Gpl1 proteins, (d) generation of non-phosphorylatable and phosphorylation mimicking mutants of the studied pre-mRNA splicing factors and their phenotypic analysis, (e) optimization of the protocol for label-free quantitative phosphoproteomics analysis of whole cell lysates of *S. pombe*, (f) identification of domains/regions of the Nrl1 protein responsible for its interactions with selected pre-mRNA splicing factors and (g) elucidation of the importance of phosphorylation of the N-terminal region of the Nrl1 protein for proper regulation of pre-mRNA splicing and efficient expression of a specific group of genes and non-coding RNAs. Based on the obtained results, we can state that the objectives of the project were met and the project revealed novel molecular mechanisms of post-translational regulation of studied proteins involved in pre-mRNA splicing and in maintenance of genome stability.