



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0096

Kotranskripčné formovanie pre-mRNA štruktúry, model štruktúrnych motívov nevyhnutných pre definíciu exónu.

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Jana Kráľovičová, PhD.**

Príjemca **Centrum biovied SAV, v. v. i. - Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum biovied SAV, v.v.i.
Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Žiadne zahraničné pracovisko sa priamo nepodieľalo na riešení projektu.

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:

Alu RNA fold links splicing with signal recognition particle proteins.

Borovská I, Vořechovský I, Kráľovičová J. Nucleic Acids Res. 2023 Jun 13;gkad500.
doi:10.1093/nar/gkad500.

5 ročný impaktový faktor 16,4

Exonic splicing code and protein binding sites for calcium.

Pengelly RJ, Bakhtiar D, Borovská I, Kráľovičová J, Vořechovský I. Nucleic Acids Res. 2022 Jun 10;50(10):5493-5512.

doi: 10.1093/nar/gkac270.

5 ročný impaktový faktor 16,4; počet citácií k júlu 2023: 1

Restriction of an intron size en route to endothermy.

Kráľovičová J, Borovská I, Pengelly R, Lee E, Abaffy P, Šindelka R, Grutzner F, Vořechovský I. Nucleic Acids Res. 2021 Mar 18;49(5):2460-2487.

doi: 10.1093/nar/gkab046.

5 ročný impaktový faktor 16,4; počet citácií k júlu 2023: 2

Transposon clusters as substrates for aberrant splice-site activation.

Alvarez MEV, Chivers M, Borovská I, Monger S, Giannoulatou E, Kralovicova J, Vorechovsky I. RNA Biol. 2021 Mar;18(3):354-367.

doi: 10.1080/15476286.2020.1805909.

5 ročný impaktový faktor 4,9; počet citácií k júlu 2023: 4

Cancer-Associated Substitutions in RNA Recognition Motifs of PUF60 and U2AF65 Reveal Residues Required for Correct Folding and 3' Splice-Site Selection.

Kralovicova J, Borovska I, Kubickova M, Lukavsky PJ, Vorechovsky I. Cancers (Basel). 2020 Jul 11;12(7):1865.

doi: 10.3390/cancers12071865.

5 ročný impaktový faktor 6,3; počet citácií k júlu 2023: 5

Prednášky:

KRÁLOVIČOVÁ, Jana - BOROVSÁ, Ivana - VOŘECHOVSKÝ, Igor. Vplyv genomickej variability na reguláciu alternatívneho zostrihu RNA. In Biochemické dni 2019 : Zborník abstraktov z konferencie. Editor Gabriela Gavurníková. - Bratislava : Centrum vedecko-technických informácií, 2019, s. 40. ISBN 978-80-89965-27-4.

Poster:

BOROVSÁ, Ivana - KRÁLOVIČOVÁ, Jana - KUBÍČKOVÁ, Monika - LUKAVSKÝ, Peter J. - VOŘECHOVSKÝ, Igor. Mutations in RNA Recognition Motifs of PUF60 and U2AF65 Occuring in Cancer and their Impact on 3' Splice Site Selection. In 16th Horizons in Molecular Biology : International PhD Student Symposium and Career Fair for Life Sciences, 9th-12th September 2019. - Göttingen : Cuvillier Verlag, 2019, p. 98. ISBN 978-3-7369-9611-3

Uplatnenie výsledkov projektu

Vzhľadom na orientáciu projektu na základný výskum nemajú dosiahnuté výsledky priame uplatnenie v praxi, avšak znamenajú významný prínos k objasneniu princípov regulácie génovej expzie na úrovni RNA zostrihu. Zároveň prispievajú k charakterizácii mutácií zostrihových faktorov, ktoré boli asociované s nádorovými ochoreniami.

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

Charakterizovali sme funkčné substitúcie asociované s nádormi, ktoré boli lokalizované v RNA-interakčných doménach (RRM) zostrihových faktorov PUF60 a U2AF65. Identifikovali sme aminokyselinové reziduá podmieňujúce správne skladanie uvedených proteínov a výber 3' zostrihových miest a predstavili sme relatívne jednoduchý spôsob detekcie klonálnych mutácií v RRM, ktoré zvyšujú diverzitu izoform mRNA. Identifikovali sme molekulárne mechanizmy, ktoré regulujú zostrih vzájomne sa vylučujúcich exónov 4a a 4b génu OGDH (2-oxoglutarátdehydrogenáza). Ukázali sme, že kodóny pre aminokyselinové reziduá, ktoré kriticky prispievajú k väzbovým miestam proteínov pre Ca²⁺ a iné dvojmocné kovy, podmieňujú inklúziu exónov, ktorá odzrkadľuje Irving-Williamsovú afinitnú sériu a spája vývoj pomocných zostrihových motívov v exónoch s metalómom. S využitím aktualizovanej databázy obsahujúcej nové miesta zostrihu indukované patogénnymi mutáciami (DABASS), sme identifikovali nové klastre transpozónov (TE), ktoré uľahčili selekciu TE exónov. Štrukturálne štúdie s použitím kombinácie SHAPE, DMS a enzymatického štiepenia nám umožnili stanoviť, do akej miery si takéto TE exóny zachovávajú sekundárnu štruktúru RNA svojich progenitorov. Ukázali sme, že výsledok zostrihu týchto exónov možno lepšie predpovedať na základe zmien konformácie RNA ako na základe zastúpenia pomocných regulačných motívov zostrihu. Ďalej sme odhalili zapojenie heterodiméru SRP9/14 (častice na rozpoznávanie signálu) do regulácie zostrihu Alu-derivovaných exónov a poukázali na možnú chaperónovú aktivitu SRP9/14.

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

We reported functional cancer-associated substitutions in RNA Recognition Motifs of PUF60 and U2AF65, revealed residues required for the correct folding of each protein and 3' splice-site selection. We also provide relatively simple tools to detect clonal RRM mutations that enhance the mRNA isoform diversity.

We uncover molecular mechanisms that regulate the splicing of mutually exclusive OGDH (2-oxoglutarate dehydrogenase) exons 4a and 4b. We further showed that codons for residues critically contributing to protein binding sites for Ca²⁺ and other divalent metals confer the exon inclusion order that mirrors the Irving-Williams affinity series, linking the evolution of auxiliary splicing motifs in exons to metallome constraints.

Employing an updated repository of new exon-intron boundaries induced by pathogenic

mutations, termed DBASS, we identify novel transposon element (TE) clusters that facilitated exon selection. We carried out structural studies using a combination of SHAPE, DMS, and enzymatic probing to explore the extent to which such TE exons maintain the RNA secondary structure of their progenitors. We showed that the splicing outcome of such exons can be predicted by RNA conformation changes better than by computationally derived splicing regulatory motifs. We also demonstrate the involvement of SRP9/14 (signal recognition particle) heterodimer in splicing regulation of Alu-derived exons, identify conserved pre-mRNA structures involved in exon selection and point to a possible chaperone activity of SRP9/14 outside the mammalian signal recognition particle.