



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0219

**Proteín Dbl2 ako nový regulátor stability a dynamiky genómu v kvasinkách
Schizosaccharomyces pombe**

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Silvia Bágel'ová Poláková, PhD.**

Príjemca **Centrum biovied SAV, v. v. i. - Ústav biochémie a genetiky
živočíchov**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum biovied SAV
Biomedicínske centrum SAV
Chemický ústav SAV
Univerzita Komenského v Bratislave – Vedecký park

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Department of Cell Biology, Faculty of Science, Charles University, 128 00 Praha 2, Czechia

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

Publikácie v recenzovaných zahraničných časopisoch

1. Dorothea Anrather, Silvia Bagelova Polakova, Lubos Cipak, and Juraj Gregan. : SILAC-Based Proteomic Analysis of Meiosis in the Fission Yeast Schizosaccharomyces pombe. Methods in Molecular Biology, 2023. 2603:19-29. doi: 10.1007/978-1-0716-2863-8_2.
2. Selicky T, Jurcik M, Mikolaskova B, Pitelova A, Mayerova N, Kretova M, Osadska M, Jurcik J, Holic R, Kohutova L, Bellova J, Benko Z, Gregan J, Bagelova Polakova S, Barath P, Cipak L, Cipakova I. : Defining the Functional Interactome of Spliceosome-Associated G-Patch Protein Gpl1 in the Fission Yeast Schizosaccharomyces pombe. Int J Mol Sci. 2022. 23(21):12800. doi: 10.3390/ijms232112800. 2021: 6.208 - IF
3. 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 I., Bagelova Polakova S.: Repression of a large number of genes requires interplay between homologous recombination and HIRA. Nucleic Acids Res. 2021. 49(4):1914-1934. doi: 10.1093/nar/gkab027. 2020: 16.971 - IF
4. Huraiova, B., Kanovits, J., Polakova, S. B., Cipak, L., Benko, Z., Sevcovicova, A., Anrather, D., Ammerer, G., Duncan, C. D. S., Mata, J., Gregan, J.: Proteomic analysis of meiosis and characterization of novel short open reading frames in the fission yeast Schizosaccharomyces pombe. Cell Cycle, 2020.

<https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1779470>. 2019: 3.699 - IF

5. Mayerová, N., Čipák, L., Gregáň, J.: Cohesin Biology: From Passive Rings to Molecular Motors. Trends in Genetics, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.03.001> 2019: 11.33 - IF

Vedecké práce publikované v nerefenzovaných zborníkoch a časopisoch v zahraničí:

1. Piteľová, A.: Represia génovej expresie závislá od homologickej rekombinácie (2022) Informační listy, vyd. Genetická spoločnosť Gregora Mendela, vol. 57, 17-19.

Vedecké práce publikované v nerefenzovaných zborníkoch a časopisoch v SR:

1. Piteľová, A. a Bágelová Poláková, S.: Zapínanie a vypínanie génov (2022) Quark, vol.6, 40

Ocenenia

• Mgr. Alexandra Piteľová získala s našou prácou Cenu Ľudovíta Drobnicu.

Drobnicov memoriál (2. - 4.9.2021, Trenčín) - Drobnicov memoriál je stretnutie mladých vedcov s tými skúsenejšími za účelom zdieľania nových výsledkov a podpory mladých vedcov. Súčasťou je aj súťaž mladých vedeckých pracovníkov, kde nominovaná so svojou prácou s názvom: Delícia génov homologickej rekombinácie je u *S. pombe* sprevádzaná rozsiahlou zmenou génovej expresie a celkovej štruktúry chromatinu získala 1. miesto a Cenu Ľudovíta Drobnicu. Zborník abstraktov -

<http://dm2021.vedaazivot.sk/ZbornikDM2021.pdf>; str. 27

• Mgr. Alexandra Piteľová získala s našou prácou Cenu dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej (15.12. 2021, Bratislava). Cena je každoročne udeľovaná Občianskym združením NATURA (v spolupráci s Prírodovedeckou fakultou Univerzity Komenského) za výnimočnú publikáciu v oblasti genetiky.

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky boli publikované v prestížnych časopisoch a slúžili ako podklad pre získanie grantu APVV-21-0210.

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

V priebehu evolúcie si eukaryoty vyvinuli dve dráhy zodpovedné za opravu dvojvláknových zlomov počas mitózy: spájanie nehomologických koncov a homologickú rekombináciu. V procese homologickej rekombinácie je pre správnu lokalizáciu helikázy Fbh1 v bunkách kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* potrebný proteín Dbl2. V našom výskume sme zistili, že proteín Dbl2 v bunke interaguje najmä s komplexami, ktoré vykazujú helikázovú alebo endonukleázovú aktivitu, konkrétne Fml1-MHF, SCFFbh1, Rqh1-Top3-Rmi1 a Mus81-Eme1. Analýza genetických interakcií ukázala, že Dbl2 pravdepodobne podporuje tvorbu rekombinantných medziproduktov, ktoré sú neskôr spracované pomocou helikázy Fbh1. In vitro sa Dbl2 viaže na DNA s preferenciou pre rozvetvené molekuly, ako sú D-slučky, mobilné Hollidayove spoje a replikačné vidlice. Proteín Dbl2 je teda schopný interakcie s DNA a niekoľkými DNA opravnými faktormi, čo umiestňuje Dbl2 do centra replikácie a DNA opravy. Naš najnovší výskum ukázal, že u kvasiniek *S. pombe* nesúcich delíciu génov homologickej rekombinácie ako sú *dbl2*, *mus81*, *rad51* dochádza k zvýšenej expresii z viac ako 500 lokusov. Zvýšené hladiny transkripcie boli detegované najmä v oblasti LTR elementov, subtelomerických génov a antisense transkriptov. Lokalizácia aberantne exprimovaných génov významne korelovala s repetitívnymi úsekmi DNA, ako sú aj LTR oblasti. Porovnanie expresných profilov ďalej odhalilo, že proteíny zahrnuté v dráhe homologickej rekombinácie potláčajú expresiu rovnakých génov ako histón chaperónový komplex HIRA. Zaujímavé je, že neprítomnosť týchto proteínov dokáže obnoviť správnu hladinu expresie u HIRA mutantov v oblasti centromér, čo naznačuje, že tieto proteíny by mohli pôsobiť v danej dráhe pred proteínovým komplexom HIRA. V tejto práci sme ako prví priniesli dôkaz o prepojení medzi dráhou opravy DNA a histón chaperónovým komplexom HIRA, ktorý bol donedávna spájaný prevažne s ukladaním nukleozómov po transkripcii alebo s utlmovaním aktivity retroelementov, ktoré predstavujú evolučné pozostatky vírusovej infekcie.

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

In the course of evolution, eukaryotes have developed two pathways responsible for the repair of double-strand breaks during mitosis: non-homologous end joining and homologous recombination. During homologous recombination, Dbl2 protein is required for localisation of Fbh1, an F-box helicase that efficiently dismantles Rad51-DNA filaments. Here, we identified Dbl2 as a potential interactor of the complexes exhibiting either helicase or endonuclease activity, namely Fml1-MHF, SCFFbh1, Rqh1-Top3-Rmi1, and Mus81-Eme1. Epistasis analysis shows that deletion of *dbl2* suppresses the CPT and MMS sensitivity of *fbh1Δ* mutant cells, suggesting that Dbl2 promotes the formation of recombination intermediates that are processed by Fbh1. In vitro, Dbl2 binds to DNA with a preference for branched molecules, such as D-loops, mobile HJs, and fork structures. Thus, the Dbl2 protein is capable of interaction with DNA and several DNA repair factors what supports placement of Dbl2 at the centre of replication and recombination repair. Our latest research showed that deletion of *dbl2*, *mus81* and *rad51* results in upregulation of more than 500 loci in *Schizosaccharomyces pombe*. Compared with the loci with no change in expression, the misregulated loci are closer to long terminal and long tandem repeats. Furthermore, the misregulated loci overlap with antisense transcripts, retrotransposons, meiotic genes and genes located in subtelomeric regions. A comparison of the expression profiles revealed that proteins involved in homologous recombination repress the same type of genes as the HIRA histone chaperone complex. Although the deletion of HR gene does not alleviate centromeric or telomeric silencing, it suppresses the silencing defect at the outer centromere caused by deletion of *hip1* and *slm9* genes encoding subunits of the HIRA complex. In this work, we are the first to report a link between the DNA repair pathway and the histone chaperone complex HIRA, which until recently has been associated only with post-transcriptional nucleosome maintenance or transcriptional silencing of retroelements, which represent evolutionary remnants of viral infection.