



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0068

Využitie biodiverzity kvasiniek na odhalenie nových mechanizmov udržiavania telomér eukaryotických chromozómov

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 Bratislava
Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Lineberger Comprehensive Cancer Center, University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA [prof. Jack D. Griffith]
Children's Medical Research Institute, Head of the Genome Integrity Group, University of Sydney, Austrália [prof. Anthony J. Cesare]
University of Szeged, Maďarsko [prof. Attila Gácsér]
Department of Cell Biology and Radiobiology, Institute of Biophysics of the Czech Academy of Sciences, Brno, Česká republika [dr. Vratislav Peška]
Central European Institute of Technology, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika [prof. Zbyněk Zdráhal]
University of Sherbrook, Kanada [prof. Raymund J. Wellinger]

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

Projekt mal charakter základného výskumu, aktuálne z neho nevyplynuli praktické aplikácie.

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

Počas riešenia projektu bolo spolu publikovaných 15 prác v zahraničných peer-review časopisoch indexovaných v databázach WoS/Scopus, ktorých výsledky súviseli so stanovenými cieľmi. Pre účely záverečnej karty je vybraných týchto päť prác:

1. Tomáška, Ľ., Cesare, A.J., Alturki, T.M., Griffith, J.D. (2020). Twenty years of t-loops: a case study for the importance of collaboration in molecular biology. DNA Repair 94: 102901; <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2020.102901>

Komplexný prehľad problematiky nukleoproteínovej štruktúry koncov chromozómov.

-

2. Červenák, F. Sepšiová, R., Nosek, J., Tomáška, Ľ. (2021). Step by step evolution of yeast telomeres. Genome Biology & Evolution 13(2): evaa268; <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa268>

Analýza heterogeneity telomerických repetícií jadrových chromozómov askomycétnych kvasiniek obsahujúca hypotézy spôsoboch ich ko-evolúcie s ostatnými komponentami

telomér.

-

3. Frankovský, J., Keresztesová, B., Bellová, J., B., Kunová, N., Čanigová, N., Hanáková, K., Bauer, J.A., Ondrovičová, G., Lukáčová, V., Siváková, B., Zdráhal, Z., Pevala, V., Procházková, K., Nosek, J., Baráth, P., Kutejová, E., Tomáška, L. (2021). The yeast mitochondrial succinylome: Implications for regulation of mitochondrial nucleoids. *Journal of Biological Chemistry* 297(4): 101155; <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101155>

Proteomická analýza sukcinylácie mitochondriálnych proteínov kvasiniek s detailným štúdiom efektu tejto post-translačnej modifikácie na DNA-väzobné charakteristiky proteínu Abf2 zodpovedného za zbaľovanie mitochondriálneho genómu.

-

4. Brzáčová, Z., Petřková, M., Veljačiková, K., Zajíčková, T., Tomáška, L. (2021). Reconstruction of human genome evolution in yeast: An educational primer for use with "systematic humanization of the yeast cytoskeleton discerns functionally replaceable from divergent human genes". *Genetics* 219(2): iyab118; <https://doi.org/10.1093/genetics/iyab118>
Práca popisujúca "humanizáciu" kvasiniek ako experimentálnu stratégiu pre štúdium ľudských proteínových komplexov s implikáciami pre detailné porozumenie ľudských patológií.

-

5. Petřík, T., Brzáčová, Z., Sepšiová, R., Veljačiková, K., Tomáška, L. (2024). Pros and cons of auxin-inducible degron as a tool for regulated depletion of telomeric proteins from *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, prijaté do tlače; <https://doi.org/10.1002/yea.3971>
Systematická analýza využitia auxínového degrónového systému pre štúdium mechanizmov udržiavania telomér u kvasiniek.

-

Medzi významné výstupy projektu patrí aj niekoľko pozvaných prednášok na zahraničných a domácich medzinárodných konferenciách:

Tomáška et al. (2022). A runaway evolution of telomeres in ascomycetous yeasts. 1st Polish Yeast Conference, Rzeszów, Poland, June 22-24, 2022, Abstract Book p. 100.

Tomáška et al. (2022). The yeast mitochondrial succinylome: Implications for regulation of mitochondrial nucleoids. Yeast genetics Meeting, August 17-21, 2022, University of California, Los Angeles, Abstract Book, p. 70.

Sepšiová et al. (2023). Poly-ADP-ribosylation: a novel post-translational modification in yeast *Yarrowia lipolytica*. 47th Annual Conference on Yeasts. Smolenice, May 16-19, 2023, Abstract Book p. 53.

Tomáška et al. (2023). Inventory of yeast mitochondrial post-translational modifications: Twenty thousand and counting. 47th Annual Conference on Yeasts. Smolenice, May 16-19, 2023, Abstract Book p. 46.

Červenák et al. (2024). Co-evolution of telomeric repeats and telomere-binding proteins in yeasts. 48th Annual Conference on Yeasts. Smolenice, May 14-17, 2024, Abstract Book p. 48.

Petrík et al. (2024). Pros and cons of auxin-inducible degron as a tool in telomere research. 48th Annual Conference on Yeasts. Smolenice, May 14-17, 2024, Abstract Book p. 49.

Sepšiová et al. (2024). Identification of the first poly (ADP-ribose) polymerase in yeasts and its involvement in telomere maintenance. EMBO Workshop on Telomere function and evolution in health and disease. May 6-11, 2024 Rome, Italy, Abstract Book p. 43.

Tomáška, L. (2024). Runaway evolution of telomeres in yeasts. FIRCI Institute of Molecular Oncology, Miláno, Taliansko, April 5, 2024 [pozvaná prednáška, hosťiteľ: Y. Doksani]

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu ilustrujú význam využitia biodiverzity askomycétnych húb pre získanie komplexného pohľadu na fenomény týkajúce sa eukaryotickej bunky. Riešenie projektu umožnilo identifikovať molekulárne nástroje udržiavania telomér a vlastností DNA-viažucich proteínov, ktoré nie sú prítomné u konvenčných modelových organizmov. To má nielen heuristický, ale potenciálne aj technologický význam. Napríklad, proteín kvasinky *Yarrowia lipolytica* Tay1 vykazujúci vysokú afinitu k telomerickému repetíciu TTAGGG sa ukázal byť nádejným nástrojom pre obohacovanie telomerických fragmentov z ľudských buniek. Ďalším príkladom je identifikácia prvej poly-(ADP-riboza) polymerázy (PARP) kvasiniek. Inhibítory PARP sú využívané v chemoterapii niektorých ľudských onkologických ochorení, môžu sa

stať kvasinky nástrojom na skrining nových typov anti-PARP liečiv. V rámci projektu tiež boli získané viaceré výsledky (viď nižšie), ktoré predstavujú základ pre nové smery výskumu v našom laboratóriu. To je ilustrované aj tým, že výsledky projektu prispeli k úspešnosti štyroch nových žiadostí o grantovú podporu z agentúr APVV a VEGA. Dvaja členovia riešiteľského projektu tiež žiadajú o grantovú podporu v rámci výzvy APVV pre mladých vedeckých pracovníkov (VV MVP 2024). Okrem vedeckých výsledkov mal projekt i edukačné prínosy, medzi ktoré patrí: (1) sedem projektov dizertačných doktorandských prác riešených v jeho rámci, z ktorých štyri boli úspešne obhájené; (2) takmer 25 obhájených diplomových prác v študijných programoch genetika a biochémia; (3) prezentácia výsledkov v rámci magisterských kurzov vedených riešiteľmi projektu; a (4) séria popularizačných aktivít v printových, resp. audiovizuálnych médiách.

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

V kontexte plánovaných cieľov projektu sme (1) uskutočnili systematickú analýzu telomerických repetícií jadrových chromozómov kvasiniek a popísali možné spôsoby ich ko-evolúcie s ostatnými komponentami udržiavania telomér; (2) identifikovali prvú poly-(ADP-ribóza) polymerázu u askomycetných húb a identifikovali jej majoritné substráty, ako aj jej úlohu v udržiavaní telomér kvasinky *Yarrowia lipolytica*; (3) pripravili kolekciu mutantov umožňujúcich analýzu alternatívnych mechanizmov udržiavania telomér v bunkách kvasiniek *Yarrowia lipolytica* bez funkčnej telomerázy; (4) identifikovali prvý proteín (YIGbp2) s potenciálnou úlohou v stabilizácii jednovláknového prečnievania na 3' konci teloméry kvasinky *Yarrowia lipolytica*; (5) uskutočnili komparatívnu biochemickú analýzu DNA-väzobných vlastností teloméru-viažúcich proteínov kvasiniek; (6) rozpracovali experimentálnu stratégiu pre reprogramovanie telomerázy kvasiniek a využili ju na štúdium evolučných mechanizmov ko-evolúcie telomerických repetícií a teloméru-viažúcich proteínov; (7) systematicky analyzovali možnosti využitia auxínového degrónového systému pre štúdium mechanizmov udržiavania telomér u kvasiniek; (8) optimalizovali protokol obohacovania telomerických fragmentov prostredníctvom proteínu YITay1; (9) popísali mitochondriálny succinylóm kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a odhalili možnú úlohu succinylácie v regulácii úrovne zbalovania mitochondriálnej DNA; (10) skompletizovali viac ako 20 000 post-translačných modifikácií mitochondriálnych proteínov kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*; (11) pripravili edukačný materiál vysvetľujúci význam tzv. "humanizácie" kvasiniek pre biomedicínsky výskum.

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

In the context of the planned objectives of the project we: (1) carried out a systematic analysis of the telomeric repeat sequences of the nuclear chromosomes of yeast and described the possible ways of their co-evolution with other components involved in telomere maintenance; (2) identified the first poly-(ADP-ribose)-polymerase in ascomycetous fungi and identified its major substrates as well as its role in maintaining telomeres in *Yarrowia lipolytica*; (3) prepared a collection of mutants allowing analysis of alternative mechanisms of telomere maintenance in *Yarrowia lipolytica* cells lacking functional telomerase; (4) identified the first protein (YIGbp2) with a potential role in stabilization of single-stranded 3' telomeric overhang of *Yarrowia lipolytica*; (5) performed a comparative biochemical analysis of the DNA-binding properties of yeast telomere-binding proteins; (6) elaborated the experimental strategy for the re-programming of the yeast telomerase and used it to study the mechanisms of co-evolution of telomeric repeats and telomere-binding proteins; (7) systematically analyzed the possibilities of using auxin degron system for studying mechanisms of telomere maintenance in yeasts; (8) optimized the enrichment protocol of pulldown of telomeric fragments using YITay1 protein; (9) described mitochondrial succinylome of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and revealed a possible role of succinylation in regulating the compaction of mitochondrial DNA; (10) catalogized more than 20,000 post-translational modifications of mitochondrial proteins of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*; (11) prepared educational material explaining the meaning of the so-called "humanization" of yeast for biomedical research.