



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

LPP-0441-09

Mechanizmy zlyhania funkcie ryanodínového receptora

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Alexandra Zahradníková, DrSc.**

Príjemca **Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. žiadne
- 2.
- 3.

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

1. žiadne
- 2.
- 3.

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

1. Hlinková V, Bauer J, Hostínová E, Gašperík J, Beck K, Borko L, Faltinová A, Zahradníková A, Ševčík J. Bioinformatics prediction and homology modeling of human ryanodine receptor 2, In: Bioinformatics - Trends and Methodologies, Mahdavi M.A., (Ed.), ISBN: 978-953-307-282-1, InTech, pp. 325-352, 2011
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu poslúžia ako základ pre ďalšie štúdie vzťahov medzi štruktúrou a funkciou ryanodínového receptora, dôležitých pre porozumenie vápnikom indukovaným arytmiám pri srdcových ochoreniach, akými sú katecholaminergná polymorfná komorová tachykardia ale aj zlyhávanie srdca.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Navrhlí sme dva peptidy, zodpovedajúce sekvenciám ryanodínového receptora (RyR) z N-terminálnej a centrálnej časti tohto proteínu, oblastí s vysokým výskytom mutácií spôsobujúcich stresom vyvolané arytmie typu CPVT, a charakterizovali sme ich interakciu s izolovanými RyR za diastolických podmienok. V súlade s predpokladmi oba peptidy zvyšovali aktivitu RyR, čo sa prejavilo zvýšením pravdepodobnosti otvorenia. V prípade N-terminálneho peptidu však prevažoval neočakávaný účinok na lipidické membrány. Podstatu tohto nového účinku bolo možné na základe meraní cirkulárneho dichroizmu, nízkoúhlového rozptylu, transmisnej elektrónnej mikroskopie a bioinformatických analýz pripísať jeho helikálnej štruktúre, profilu jeho hydrofobicity a priestorovému usporiadaniu pozitívne nabitých, hydrofóbnych a polárnych aminokyselín v helixe. N-terminálny peptid javí podobnosť s antimikrobiálnymi peptidmi, ale odlišuje sa od peptidov odvodených z pór tvoriaceho helixu iónových kanálov. Centrálny peptid vykazoval silný aktivačný účinok (tridsaťnásobné zvýšenie pravdepodobnosti otvorenia, zdanlivá afinita $\sim 20 \mu\text{M}$) a jeho interakcia s RyR sa ukázala ako vhodný model narušenia funkcie RyR pri poškodení myokardu. Na porozumenie vzťahu medzi diastolickou aktiváciou RyR a vápnikovou signalizáciou v bunke sme vyvinuli simulačné prostredie.

Modulácia aktivity RyR centrálnym doménovým peptidom preukázala príspevok alosterického vplyvu peptidu na otváranie RyR kanála k dysregulácii funkcie kanála. Preukázali sme, že alosterická aktivácia RyR počas diastoly vedie ku vzniku arytmogénnych vln a teda sa môže podieľať na patogenéze srdcových arytmií.

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

We have designed two peptides corresponding to specific sequences of the ryanodine receptor (RyR) from the N-terminal and central part of this protein with frequent occurrence of mutations causing stress-induced arrhythmias of the CPVT type. We have characterized their interaction with the isolated RyRs under diastolic conditions. Both peptides, in line with our suppositions, increased RyR activity, leading to an increased RyR open probability. In the case of the N-terminal peptide, however, unexpected effect on the stability of lipid bilayers prevailed. Based on measurements of circular dichroism, small angle light scattering, transmission electron microscopy and bioinformatic analyses, the destabilizing effect of the peptide on lipid bilayers could be attributed to its helical structure, its hydrophobicity profile, and the spatial arrangement of positively charged, polar and hydrophobic amino acids in the helix. The N-terminal peptide shows similarity with the antimicrobial peptides but differs from the peptides derived from the pore-forming segments of ion channels. The central peptide displayed a strong activating effect on the RyR under diastolic conditions (30-fold increase in open probability, apparent affinity of $\sim 20 \mu\text{M}$). Its interaction with the RyR represents a plausible model of RyR dysfunction in the injured myocardium. To understand the relationship between diastolic RyR activity and calcium signalling we developed a simulation environment. Modulation of RyR activity by the central domain peptide provided evidence for involvement of the allosteric effect of the peptide on RyR opening in dysregulation of the channel function. We have shown that allosteric activation of the RyR during the diastole leads to formation of calcium waves and thus may participate in the pathogenesis of cardiac arrhythmias.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Ing. Alexandra Zahradníková, DrSc.

V Bratislave 29. 10. 2012

Štatutárny zástupca príjemcu

V Bratislave 30. 10. 2012

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu