

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

| | |
|---|--|
| Riešiteľ: Doc. RNDr. Katarína Mikušová, PhD. | Evidenčné číslo projektu: RP-EU-0012-06 |
| Názov projektu: Biosyntéza mykobakteriálneho galaktánu | |

| | |
|--|--|
| Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený: | Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave |
| | |
| | |
| | |
| Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát): | Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, CNRS, Rennes, France |
| | Alberta Ingenuity Centre for Carbohydrate Science and Department of Chemistry, The University of Alberta, Edmonton, Canada |
| | Členovia konzorcia 6RP EÚ - NM4TB |

| | |
|---|--|
| Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu: | International Application No.: PCT/EP2009/055735 Peltier, P., Daniellou, R., Nugier-Chauvin, C., Mikusova, K., Lowary, T., Ferrieres, V.: (WO/2009/141249) USE OF NUCLEOTIDE FURANOSSES AS AN AGENT FOR INHIBITING FURANOSYL TRANSFERASES |
| | |
| | |
| Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i> | Beláňová, M., Dianišková, P., Brennan, P. J., Completo, G. C., Rose, N. L., Lowary, T. L., Mikušová, K.: Galactosyl transferases in mycobacterial cell wall synthesis, Journal of Bacteriology 190, 2008, pg 1141-1145. |
| | |
| | |
| V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu: | Prispieva k rozšíreniu základných vedomostí o fyziológii mykobaktérií, a to v oblasti biosyntézy bunkovej steny, ktorá predstavuje atraktívny cieľ pre vývoj nových antituberkulotík. |

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

| |
|---|
| <p>Grant bol viazaný na projekt 6RP-EÚ s názvom NM4TB (New Medicines for Tuberculosis). Štúdium biogenézy mykobakteriálnej bunkovej steny, a to najmä mykolyyl-arabino-galaktánového komplexu je veľmi atraktívne z hľadiska vývoja nových liečiv, nakoľko syntéza arabinánu a mykolových kyselín je inhibovaná etambutolom a izoniazidom, ktoré v súčasnosti patria k najúčinnjším liekom proti tuberkulóze. V tomto projekte sme sa zamerali na biosyntézu galaktánovej zložky.</p> <p>V rámci riešenia projektu sme dokázali, že galaktofuranozyltransferáza Rv3782 je bifunkčný enzým, ktorý pripája prvú a druhú galaktózu na glykolipid 2 - dekaprenyl-P-P-GlcNAc-Rha, čím zahajuje</p> |
|---|

polymerizáciu galaktánu. Dokázali sme, že produkt reakcie katalyzovanej Rv3782 je substrátom ďalšej bifunkčnej galaktofuranosyltransferázy Rv3808c. Na základe ich funkcií sme tieto enzýmy nazvali GlfT1 a GlfT2, čo bolo akceptované databázou Tuberculist. Potvrdili sme, že GlfT1 je esenciálny v *M. smegmatis* a podľa osobného oznámenia Prof. Tanye Parish esencialita bola dokázaná aj v *M. tuberculosis* H37Rv, a teda predstavuje perspektívny cieľ pre vývoj nových antituberkulotík.

Ďalším cieľom projektu bolo zistenie funkcie predpokladaného ABC transportéra polysacharidov Rv3781/Rv3783 z klastra biosyntézy arabinogalaktánu. Výsledky našej experimentálnej práce naznačujú, že tento transportér je zapojený do metabolizmu výstavby galaktánu, na základe štúdia *in vitro* reakcií s kmeňom disruptovaným v membránovej doméne (MSMEG_6369, homológ Rv3783) u *M. smegmatis*, ako aj na základe priameho stanovenia transportu predpokladaného substrátu cez membrány vezikúl. Zapojenie sa proteínu Rv3781 - ATP-viažúcej domény do metabolizmu galaktánu sa dá predpokladať na základe priamej interakcie galaktozyltransferázy GlfT1 a homológu tohto proteínu z *M. smegmatis* - MSMEG_6366.

Summary of the project results and the fulfillments of the project goals (max. 20 lines) -english:

The grant was associated with the 6th FW EU project entitled NM4TB (New Medicines for Tuberculosis). Investigation of the biogenesis of mycobacterial cell wall, and particularly its mycolyl-arabinogalactan complex is attractive for the development of the new drugs, because the most efficient medicines against tuberculosis at present, ethambutol and isoniazid, inhibit the synthesis of arabinan and mycolic acids, respectively. In this project we focused on the galactan biosynthesis.

We have shown that galactosyltransferase Rv3782 is a bifunctional enzyme, which attaches the first and the second galactose units to glycolipid 2 - decaprenyl-P-P-GlcNAc-Rha, thus initiating galactan polymerization. We proved that the product of the Rv3782-catalysed reaction serves as a substrate for the next bifunctional galactosyltransferase Rv3808c. We named the enzymes GlfT1 and GlfT2, respectively, which was accepted by the Tuberculist database. The gene is essential in both *M. smegmatis* and *M. tuberculosis* (Prof. Tanya Parish, personal communication) and thus can serve as the perspective target for the drug development.

We have investigated the function of the predicted ABC transporter of polysaccharides - Rv3781/Rv3783, located in the arabino-galactan biosynthetic cluster. Our results suggest that this transporter takes part in the metabolism of galactan build-up, based on the *in vitro* reactions with the strain disrupted in membrane domain of the transporter (MSMEG_6369, homolog of Rv3783) in *M. smegmatis*, as well as the direct transport assay of the predicted substrate across the membrane of the everted vesicles. Involvement of Rv3781 protein (ATP-binding domain) in the metabolism of galactan precursors can be predicted from the protein-protein interaction between GlfT1 and MSMEG_6366, homolog of Rv3781 in *M. smegmatis*.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:

Podpis štatutárneho zástupcu:

Dátum:

Pečiatka: