

# SpTip1 a YITay1 ako noví hráči v udržiavaní telomér a ich prepojenie s bunkovým delením u netradičných druhov kvasiniek

Tomáš Eichler<sup>1,2</sup>, Juraj Kramara<sup>1</sup>, Ľuboš Čipák<sup>2,3</sup>, Juraj Gregáň<sup>2</sup>,  
Ľubomír Tomáška<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta, Katedry genetiky a biochémie, Mlynská dolina, B1, CH1, 842 15 Bratislava, <sup>2</sup>University of Vienna, Max F. Perutz Laboratories, Department of Chromosome Biology, Dr. Bohr Gasse 9, 1030 Vienna, Austria,

<sup>3</sup>Slovenská akadémia vied, Ústav experimentálnej onkológie, Laboratórium rakovinovej genetiky, Vlárská 7, 833 91 Bratislava, [echtom@gmail.com](mailto:echtom@gmail.com)

Teloméry sú nukleoproteínové štruktúry na koncoch lineárnych chromozómov, ktoré ich chránia pred vzájomnou fúziou ako aj pred stratou genetického materiálu v dôsledku tzv. koncového replikačného problému. Zároveň sa podieľajú na lokalizácii chromozómov v jadre, či ich zhľukovaní a párovaní počas meiózy [1, 2]. Tieto funkcie sprostredkujú predovšetkým špecifické teloméry-viažuce proteíny (TBP), pričom časť z nich sa viaže priamo na dvojláknovú (ds), resp. jednoláknovú telomerickú DNA prostredníctvom konzervovaných domén (Myb, resp. OB-fold). Identifikovali sme ds DNA TBP u kvasinky *Yarrowia lipolytica* – Tay1 (Telomere associated in *Y. lipolytica* 1) [3] a jeho homológ u kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*, tzv. SpTip1 (*Tay 1 in S. pombe 1*), ktorý obsahuje dve Myb domény vykazujúce vysokú mieru homológie ku Myb doménam hlavných ľudských TBP (akými sú TRF1, TRF2). *sptip1+* je esenciálnym génom nadexprimovaným počas meiózy, čo naznačuje jeho ďalšie funkcie, na dôvažok ku udržiavaniu telomér. Pre štúdium potenciálnych telomérických funkcií SpTip1 sme (1) najprv sledovali jeho subcelulárnu lokalizáciu využitím jeho fúzie so zeleným fluorescenčným proteínom (GFP) a lokalizovali tak SpTip1-GFP v jadre. (2) V rámci analýzy proteínových interakcií SpTip1 proteínu sme modifikovali endogénny lokus *sptip1+* génu TAP-značkou, ktorá bola použitá pre purifikáciu proteínových interagujúcich partnerov asociovaných s SpTip1. Niektoré z kopurifikovaných proteínov sa ukázali byť (inými autormi [4, 5]) zahrnutými v udržiavaní koncov chromozómov a v bunkovom delení. (3) Biochemické štúdie demonštrujúce DNA-väzobné vlastnosti SpTip1 sú v štádiu riešenia. Pre overenie DNA-väzobných vlastností Myb domén SpTip1 sme odstránili Myb1, Myb2, alebo obe Myb domény pre kontrolné experimenty. Tieto konštrukty budú použité pre analýzu gélovými retardáciami a elektrónovou mikroskopiou. (4) *In vivo* sme analyzovali dĺžky telomér v heterozygotnom mutantovi *sptip1+/sptip1Δ* pomocou Southern-blotu, čo poukázalo na mierne zmenenú dĺžku telomér u mutantu. Tieto údaje naznačujú, že proteíny YITay1 a SpTip1 a ich homológy môžu predstavovať novú rodinu telomérických faktorov, ktorých analýza bude užitočnou pre pochopenie funkcie a evolúcie TBPs a evolúcie telomér. Navyše, uvedené stratégie môžu prispieť k objasneniu funkcie SpTip1 v bunkovom delení, či párovaní homologických chromozómov v meióze.

Táto práca bola podporená grantmi Nadácie Orange (41-ŠpT/2009, 74-ŠpT/2010), Nadácie SPP (122/2010) (T.E.) a grantmi APVT (20-001604) a VEGA (1/0132/09) (L.T.).

[1] McEachern, Krauskopf, Blackburn, *Annu Rev Genet.*, **2000**, 34, 331–358.

[2] Scherthan, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **2001**, 2, 621–627.

[3] Kramara, Willcox, Gunisova, et al., *J Biol Chem.*, **2010**, 285, 38078–38092.

[4] Liu, Han, Du, et al., *Cell Res.*, **2010**, 8, 963–965.

[5] Mak, Pillus, Ideker, *Genome Res.*, **2009**, 19, 1014–1025.