

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu **VMSP-II-0030-09****Využitie fetálnej DNA v maternálnej plazme pre neinvazívnu prenatálnu diagnostiku**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Gabriel Minárik, PhD.**Príjemca **GENETON s.r.o.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Spoločné pracovisko Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a GENETON s.r.o., Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. 1. Repiská G, Sedláčková T, Szemes T, Celec P, Minárik G. Selection of the optimal manual method of cell free fetal DNA isolation from maternal plasma. Clin Chem Lab Med. 2012 Dec 8:1-5. IF - 2,15
2. 2. Kamodyová N, Durdiaková J, Celec P, Sedláčková T, Repiská G, Sviežená B, Minárik G. Prevalence and persistence of male DNA identified in mixed saliva samples after intense kissing. Forensic Sci Int Genet. 2013 Jan;7(1):124-8. Epub 2012 Aug 20. IF - 3,082
- 3.
- 4.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu sú v súčasnosti dostupné vo forme služieb poskytovaných firmou GENETON v oblasti neinvazívnej prenatalnej DNA diagnostiky a neinvazívnych prenatalných DNA testov. Pre odbornú klinickú ako aj všeobecnú verejnosť je dostupná služba stanovenia pohlavia plodu neinvazívnym spôsobom od 9. týždňa tehotenstva. V klinickej verzii testu je prítomnosť mužského plodu verifikovaná prostredníctvom overenia prítomnosti paternálnych Y-STR alel v krvi tehotnej. Obdobná technológia bola transformovaná aj do ďalšej verejne dostupnej služby poskytovanej firmou GENETON ako neinvazívny informatívny prenatalný test otcovstva. Zároveň prebieha v súčasnosti patentová rešerš pre identifikáciu potenciálu podania patentovej prihlášky na výrobu kitu na neinvazívny test pohlavia plodu s kontrolou kontaminácie vzorky počas laboratórnych analýz. Vďaka nadviazaniu spolupráce so spoločnosťou Medirex prebieha validácia neinvazívneho prenatalného určovania RhD statusu plodu, ktorá bude po ukončení validácie využívaná v rutinej klinickej praxi v prípadoch potenciálnej RhD inkompatibility matky a plodu. Rovnako aj v projekte optimalizovaný protokol pre kvantifikáciu cffDNA bude po ukončení validácie využitý v rutinej prenatalnej starostlivosti v prípade špecifických patologických stavov u tehotných žien.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Počas projektu bolo analyzovaných viac ako 450 vzoriek od tehotných žien. V preanalytickej fáze bol úspešne validovaný odberový systém Vacutainer EDTA pre odber venóznej krvi tehotných žien. Priamym porovnaním kitov učeným a využívaným pre účely izolácie cffDNA z maternálnej plazmy boli preukázané najlepšie výsledky kitov Qiagen Circulating Nucleic Acid Kit a Qiagen DSP Virus Kit. Úspešne boli testované tri odlišné koncentračné metódy, následne použité pri Y-STR multiplex PCR analýze a kvantifikácii cffDNA s využitím jednokópiového SRY detekčného systému. Boli validované vysokosenzitívne eseje založené na analýze mutlikópiového DYS detekčného systému, ktorý sa v súčasnosti využíva v rutinej praxi rámci neinvazívneho prenatalného testu pohlavia. Na základe získaného know-how a na podklade DYS detekčného systému bol zavedený postup na detekciu kontaminácie cffDNA vysokomolekulárnou DNA, ktorého potenciálna patentová ochrana sa v súčasnosti skúma. Po optimalizácii RhD detekčného systému na arteficiálne pripravených vzorkách bola zahájená validácia neinvazívneho testu RhD statusu plodu, ktorá bude po ukončení validácie začlenená do klinickej praxe. Na základe aktuálneho výskumu v oblasti analýzy cffDNA bola do projektu doplnená problematika analýzy miRNA. Na základe pilotných miRNA panelových analýz 6 reprezentatívnych vzoriek boli identifikované kandidátne miRNA, ktoré by mohli reprezentovať molekulové markery využiteľné na pozitívnu identifikáciu ženského plodu pri neinvazívnom teste pohlavia plodu. V súčasnosti prebieha validácia výsledkov pilotných štúdií na ďalších viac ako 250 vzorkách od tehotných žien, z toho 90 reprezentujúcich vzorky od žien s patologickým priebehom tehotenstva, u ktorých prebieha kvantifikácia cffDNA.

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

In the project, more than 450 samples from pregnant women were analyzed. During preanalytical phase blood draw system EDTA Vacutainer was successfully validated. Direct comparison of kits used for cffDNA isolation was performed and best results were achieved with Qiagen CNA Kit and Qiagen DSP Virus Kit. Three different methods of cffDNA concentration were tested and then used in the Y-STR multiplex PCR analyses and cffDNA quantification using singlecopy SRY detection system. Protocol for highly sensitive assay based on mutlicopy DYS detection system was optimized and implemented into routine clinical practice in non-invasive prenatal gender test. Based on the know-how gained and with the sensitive DYS-based detection system technology for the detection of cffDNA

contamination with DNA of high molecular weight was designed and tested. The potential of patenting this contamination detecting procedure is currently under review. After optimization of RhD detection system on artificially prepared samples clinical validation of non-invasive prenatal test of fetal RhD status was launched. Based on the recent research in the field the miRNA analysis of maternal plasma was introduced to the project for identification of molecular marker positively determining female gender fetus. Based on the pilot miRNA study 6 candidates have been identified and their applicability in positive identification of female fetuses in the non-invasive fetal gender test is in validation phase. Validation of results of pilot studies performed during project is currently underway on additional more than 250 samples from pregnant women, with 90 representing samples from women with pathological course of pregnancy, where also cffDNA quantification is in progress.

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

Zodpovedný riešiteľ

Štatutárny zástupca príjemcu

V dd. mm. rrrr

V dd. mm. rrrr

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu