

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Prof.RNDr. Tibor Hianik, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: APVT-20-P01705
Názov projektu: Biosenzory na rýchlu diagnostiku priónových ochorení	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Fakulta matematiky, fyziky a informatiky UK, Bratislava
	Ústav biochémie a genetiky SAV, Ivánka pri Dunaji
	MYLAB, s.r.o., Prešov
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Chemická fakulta, Univerzita Toronto, Toronto, Kanada
	Biologická fakulta, Univerzita Atény, Grécko
	Chemická fakulta, Moskovská štátna univerzita, Moskva, Ruská Federácia

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	Vytvorenie funkčného modelu prietokovej meracej cely pre biosenzorické aplikácie
	Prototyp zariadenia na meranie rezonančnej frekvencie a amplitúdy oscilácií kremenného kryštálu.
	Prototyp biosenzorov na báze DNA aptamérov a monoklonálnych protilátok pre detekciu priónov
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	T. Hianik, DNA/RNA aptamers – novel recognition structures in biosensing in <i>Electrochemical Sensor Analysis</i> , Salvador Alegret & Arben Merkoçi (Eds.), Elsevier, 801-825, 2007
	T. Hianik, Detection of the aptamer-protein interaction using electrochemical indicators in <i>Electrochemical Sensor Analysis</i> , Salvador Alegret & Arben Merkoçi (Eds.), Elsevier, 1299-1305, 2007
	L. Svobodová, M. Šnejdárková, V. Polohová, I. Grman, P. Rybár, T. Hianik, QCM immunosensor based on polyamidoamine dendrimers. <i>Electroanalysis</i> , 18, (2006) 1943 – 1949
	A. Porfirieva, G. Evtugyn, T. Hianik, Polyphenothiazine Modified Electrochemical Aptasensor for Detection of Human α -Thrombin, <i>Electroanalysis</i> , 19 (2007) 1915 – 1920
	M. Šnejdárková, L. Svobodová, V. Polohová, T. Hianik, DNA aptamer biosensor for IgE detection using transverse shear mode method. <i>Anal. Bioanal. Chem.</i> 2008 prijaté do tlače
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Vyvinutý biosenzor, meracia cely a meracie zariadenie môžu nájsť uplatnenie pre diagnostické účely v medicíne

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas ku zverejneniu údajov v nej uvedených.

Podpis riešiteľa:

Dátum: 24.1.2008.....

Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVT-20-P01705

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

Hlavným cieľom projektu bol vývoj biosenzorov na báze DNA aptamérov a špecifických protilátok na rýchlu detekciu bunkových príónov. Vyvinuli sme niekoľko typov biosenzorov na báze DNA aptamérov a monoklonálnych protilátok umožňujúcich detekovať príóny s vysokou citlivosťou. Na konštrukciu biosenzorov sme použili jeden druh aptaméra a štyri druhy protilátok. Porovnali sme citlivosť detekcie príónov pomocou DNA aptamérov a monoklonálnych protilátok a ukázali sme, že bola porovnateľná pre obidva typy senzorov. Avšak v prípade DNA aptamérov sa nám podarilo nájsť podmienky na regeneráciu senzora, kým pre protilátky to bolo problematické. Biosenzory na báze DNA aptamérov sú vďaka svojej stabilite a nízkej cene podstatne výhodnejšie ako protilátky. Okrem pôvodne plánovaného cieľa využiť na konštrukciu biosenzorov dendriméry, sme využili aj uhlíkové nanotrúbky. Optimalizovali sme podmienky prípravy vrstiev z uhlíkových nanotrúbok v zmesi s elektrochemickými indikátormi a avidínom pomocou elektropolymerizácie. Našli sme optimálne podmienky zloženia pufru pre detekciu príónov a ukázali sme, že na takúto detekciu je nevyhnutná vyššia iónová sila (137 mM NaCl). Citlivosť detekcie bola lepšia pri použití pufru obsahujúceho detergent Tween 20. Úspešne sme aplikovali nanočastice na zlepšenie citlivosti biosenzora. Pomocou zlatých nanočastíc konjugovaných s protilátkou voči príónom sme dosiahli citlivosť určenia bunkových príónov s detekčným limitom 0.1 nM. Vyvinuté biosenzory sme otestovali v reálnej vzorke - krvnom sére. Vyvinuli sme špeciálny softvér, umožňujúci účinné využitie vektorového analyzátoru na podrobné štúdium povrchových vlastností biovrstiev. Vykonané štúdie umožnili zhodnotiť príspevok povrchovej viskozity na zmeny frekvencie oscilácií piezokryštálu. Významnou bola spolupráca s firmou MYLAB, s.r.o. Vďaka tejto spolupráci sme vyvinuli prototyp meracej prietokovej cely a skonštruovali aparatúru na meranie amplitúdovo-frekvenčných charakteristík kremenného kryštálu. Vyvinuli sme softvér na komunikáciu PC s aparátúrou, umožňujúci zber a analýzu dát. Získané výsledky môžu byť využité pre konštrukciu biosenzorov pre diagnostické účely v medicíne. Ciele projektu sme splnili.

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

The main project objective consisted in development of biosensors based on DNA aptamers and antibodies for fast detection of prions. We developed several types of biosensors based on DNA aptamers and monoclonal antibodies, that allowed to detect cellular prions with high sensitivity and selectivity. For construction of biosensors we used one DNA aptamer and four types of monoclonal antibodies. We compared the sensitivity of detection of prions by DNA aptamers and antibodies and showed that it was comparable for both systems. However, in the case of DNA aptamers it was possible to regenerate the sensor, while for biosensors based on antibodies the regeneration was difficult. Thus, the biosensors based on DNA aptamers, thanks to their stability and low cost are more preferable in comparison with antibodies. In addition to original proposal according to which we planned to use dendrimers for construction biosensors, we used also carbon nanotubes for this purpose. We have optimized the conditions for preparation of carbon nanotube layers in a mixture with electrochemical indicators and avidin by means of electropolymerisation. We have found optimal composition of buffer for detection prions and showed that a higher ionic strength (137 mM NaCl) is required. The sensitivity of detection was improved when detergent Tween 20 was present in a buffer. By means of gold nanoparticles conjugated with antibodies we achieved increased sensitivity of detection prions with detection limit of 0.1 nM. The developed biosensors were tested in real samples – in a blood serum. We have developed special software, that allowed us to use vector analyser for detailed study of surface properties of bilayers. The studies performed allowed us to estimate the contribution of surface viscosity into the changes of oscillation frequency of piezocrystal. The collaboration with MYLAB, Ltd – the project participant, was significant. Thanks to this collaboration we developed prototype of flow cell and electronic apparatus for measuring amplitude-frequency characteristics of the quartz crystal. We developed software that allowed to collect and analysed the data. The obtained results can be used for development biosensors for diagnostic purposes in medicine. The project objectives has been fulfilled.

Podpis riešiteľa: