

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Ing. Rudolf Toman, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: APVT-51-032804
Názov projektu: Mapovanie proteínov <i>Coxiella burnetii</i> proteomickými technikami. Vývoj proteínových mikročipov pre rýchlu a citlivú diagnostiku Q horúčky.	
Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Laboratórium diagnostiky a prevencie rickettsiových a chlamýdiových nákaz, Virologický ústav, SAV, Bratislava
	Trenčianska Univerzita Alexandra Dubčeka, Fakulta priemyselných technológií, Púchov
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich, Germany
	Ústav molekulárnej patológie, Fakulta vojenských zdravotníckych vied, Univerzita obrany, Hradec Králové, Česká republika
Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uveďte i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	R. Toman, L. Skultety, R. Ihnatko: <i>Glycomics and proteomics in detection and functional analysis of Coxiella burnetii</i> , Ann. NY Acad. Sci. , podané.
	K. Palkovicova, R. Ihnatko, P. Vadovic, E. Betinova, L. Skultety, D. Frangoulidis, R. Toman: <i>A monoclonal antibody specific for virenose in a lipopolysaccharide of Coxiella burnetii</i> , Clin. Microbiol. Infect. , podané.
	L. Hernychova, R. Toman , F. Ciampor, M. Hubalek, J. Vackova, A. Macela, L. Skultety: <i>Detection and identification of Coxiella burnetii biomarkers by MALDI-TOF MS and LC-MS/MS analyses</i> , Anal. Chem. , podané.
	U. Yildiz, I. Capek , D. Berek, Y. Sarov, I.W. Rangelow: <i>Inverse microemulsion copolymerization of butyl acrylate and acrylamide: kinetics, colloidal parameters and some model applications</i> . Polym. Int. 56 , 364-370 (2007).
	M. Weis, K. Gmucová, V. Nádaždy, I. Capek , A. Šatka, M. Kopánii, E. Majková: <i>Quantized double-layer charging of iron oxide nanoparticles on a-Si:H controlled by charged defects in a-Si:H</i> , Electroanalysis 19 , 1323-1326 (2007).
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Vyvinul sa nový, veľmi citlivý a špecifický detekčný systém, ktorý umožní rýchlu, citlivú a presnú detekciu virulentnej formy <i>C. burnetii</i> a je v súčasnosti unikátny v celosvetovom merítku.

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

Podpis riešiteľa:

Dátum: ..7.7.2008.....

Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVT-51-032804

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

Rýchla a spoľahlivá detekcia a identifikácia vysoko infekčnej baktérie *Coxiella burnetii*, ktorá je etiologickým agensom Q horúčky, je prioritným výskumným problémom globálneho charakteru. Vyvinuli sme a štandardizovali novú metódu jednoduchej a rýchlej detekcie infekčného agensu technikami hmotnostnej spektrometrie. Ukázali sme, že nami vyvinutá metodológia predstavuje účinný nástroj pre rýchlu a presnú diferenciálnu detekciu *C. burnetii* izolátov a je predpoklad, že sa využije aj vo fyloproteomických aplikáciách. Súčasne je dôležitým prvkom pri budovaní národného zdravotníckeho a bezpečnostného systému v oblasti infekčných nákaz.

Pripravila sa špecifická monoklonová protilátka (mAb) voči unikátnemu biomarkeru *C. burnetii*, ktorým je sacharid virenoza. MAb umožňuje rýchlu, citlivú a presnú detekciu virulentnej formy baktérie. Výsledky v imunoblote ukázali, že s mAb možno uskutočniť aj diferenciáciu individuálnych izolátov/variantov *C. burnetii*. Vyvinuli sme a štandardizovali metódu ELISA s mAb pre detekciu virulentných *C. burnetii* izolátov a jej vysoká citlivosť a špecificita dávajú veľké predpoklady pre jej širokú aplikáciu v praxi v celosvetovom merítke.

Pripravili sa a charakterizovali vodorozpustné magnetické kvapaliny oxidu železa vo vodných a nevodných reakčných prostrediach. Ďalej sa optimalizovali reakčné podmienky prípravy koloidne vo vode rozpustných nanočastíc Fe, Co, Ag výberom reakčnej teploty, typu stabilizátora, redučného činidla a ostatných reakčných podmienok. Príprava experimentálnych nanosenzorov (nanočipov) modifikáciou koloidne stabilných nanočastíc Fe imuoreaktívnymi proteínmi z *C. burnetii* je v počiatočných štádiách riešenia.

Ukázalo sa, že niektoré stanovené ciele projektu presahujú rámec trojročnej doby riešenia projektu. Týka sa to hlavne vývoja proteínových mikro-, prípadne nanočipov pre diagnostiku Q horúčky (*C. burnetii*). Túto problematiku bude potrebné riešiť v novom, prednostne na tieto ciele zameranom projekte. Na druhej strane riešitelia vyvinuli dve nové, originálne metódy vysoko špecifickej, rýchlej a citlivej detekcie infekčného agensu *C. burnetii*, ktoré predstavujú riešenie celosvetového významu. Predpokladá sa, že v blízkej budúcnosti príde k realizácii výsledkov riešenia v praxi v podobe marketingových a komerčných výstupov.

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

Rapid and reliable detection and identification of the highly infectious bacterium *Coxiella burnetii*, the etiological agent of Q fever, is of utmost importance at the global level. We have developed and standardized a new method of simple and rapid detection of the infectious agent using the mass spectrometry techniques. It has been shown that the methodology we have developed is a powerful tool for the rapid and precise differential detection of the *C. burnetii* isolates and there are strong indications that the methodology will be also applied in phyloproteomic applications. Moreover, it constitutes an important resource for building up homeland security with prospects of improving the public health system in the way to deal better with the infectious disease.

A monoclonal antibody (mAb) has been generated against a unique biomarker of *C. burnetii* that is a saccharide virenose. MAb enables rapid, sensitive and precise detection of virulent form of the bacterium. The results in immunoblot have shown that the mAb is also suitable for differentiation of the individual isolates/variants of *C. burnetii*. We have developed and standardized the ELISA method with the mAb for detection of the virulent *C. burnetii* isolates. Its high sensitivity and specificity give very good prospects for its wide application at the international level.

We have prepared and characterized water-soluble iron oxide magnetic liquids in aqueous and nonaqueous reaction environments. Further, we have optimized the reaction conditions for the preparation of colloiddally water-soluble Fe, Co and Ag nanoparticles by the selection of reaction temperature, stabilisator type, reduction agent, and other reaction conditions. The preparation of experimental nanosensors (nanochips) by the modification of colloiddally stable Fe nanoparticles with the immunoreactive proteins of *C. burnetii* is in the initial stages of development.

It has become evident that some of the tasks given in the project exceed the time frame of three-year duration of the project. This concerns mainly the development of protein micro- and nano-chips for diagnosing Q fever (*C. burnetii*). This topic will have to be investigated in a new specifically targeted research project. On the other hand, the project participants have developed two new and original methods of highly specific, rapid and sensitive detection of the infectious agent *C. burnetii* that represent a solution of international importance. It is assumed that the results obtained in this project will find practical applications in both marketing and commercial spheres.

Podpis riešiteľa: