



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0410-10

Mechanizmy interakcie malých molekúl s DNA aptamérmí

Zodpovedný riešiteľ **prof.RNDr. Tibor Hianik, DrSc.**

Príjemca

Univerzita Komenského v Bratislave, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Univerzita Komenského v Bratislave, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky
2. Ustav biochémie a genetiky živočíchov SAV
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Univerzita J. Keplera, Linz, Rakúsko
2. Univerzita Paris-Süd, Paríž, Francúzsko
3. Moskovská štátna univerzita a Univerzita v Kazani Ruská Federácia

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. G. Evtugyn, A. Porfireva, V. Stepanova, R. Sitdikov, I. Stoikov, D. Nikolelis, T. Hianik, Electrochemical aptasensor based on polycarboxylic macrocycle modified with neutral red for aflatoxin B1 detection. *Electroanalysis*, 26 (2014) 2100-2109
2. A. Miodek, G. Castillo, T. Hianik, H. Korri-Yousoufi, Electrochemical aptasensor of human cellular prion based on multiwalled carbon nanotubes modified with dendrimers: A platform for connecting redox markers and aptamers. *Anal. Chem.* 85 (2013) 7704-7712.
3. G. Evtugyn, A. Porfireva, R. Sitdikov, V. Evtugyn, I. Stoikov, I. Antipin, T. Hianik, Electrochemical aptasensor for the determination of ochratoxin A at the Au electrode modified with Ag nanoparticles decorated with macrocyclic ligand. *Electroanalysis* 25 (2013) 1847 –

1854.

4. G. Castillo, I. Lamberti, L. Mosiello, T. Hianik, Impedimetric DNA aptasensor for sensitive detection of ochratoxin A in food. *Electroanalysis* 24 (2012) 512 – 520

5. I. Neundlinger, A. Poturnayova, I. Karpisova, C. Rankl, P. Hinterdorfer, M. Snejdarkova, T. Hianik, A. Ebner, Characterization of enhanced monovalent and bivalent thrombin DNA aptamer binding using single molecule force spectroscopy. *Biophysical Journal* 101 (2011) 1781–1787.

Uplatnenie výsledkov projektu

Počas riešenia projektu sme vyvinuli vysokocitlivé biosenzory na báze DNA aptamérov na detekciu bielkovín - trombínu a bunkových priónov, imunosenzor na detekciu D-dimérov. Tieto biosenzory môžu byť využité v lekárskej diagnostike. Vyvinuli sme taktiež biosenzory na detekciu mykotoxínov - ochratoxínu A a aflatoxínu B1. Overili sme funkčnosť týchto biosenzorov v reálnych vzorkách potravín. Tieto biosenzory môžu byť využité v potravinárskom priemysle a hygienických staniciach na zistenie toxínov v potravinách.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Cieľom projektu bolo štúdium mechanizmov interakcie malých molekúl s DNA aptamérmi; vývoj nových spôsobov imobilizácie DNA aptamérov na povrchoch, určenie kinetických konštánt asociácie a disociácie pre interakciu malých molekúl s DNA aptamérmi, zistenie síl interakcie medzi aptamérmi a ich ligandami. Podarilo sa nám podrobne preštudovať fyzikálne vlastnosti viacerých DNA aptamérov selektívne viažucich mykotoxíny – ochratoxín A, aflatoxín B1 a malé proteíny – trombín, bunkové prióny, cytochróm c, VEGF a určiť faktory ovplyvňujúce ich väzbové vlastnosti. Zistili sme, že dimérová konfigurácia aptaméra sa vyznačuje vyššou afinitou k ligandom v porovnaní s tradičným jednoniťovým aptamérom. Vyvinuli sme viacero nových spôsobov imobilizácie DNA aptamérov na povrchy zložené z nanoštruktúr, takých ako nanočastice, uhlíkové nanorúrky, kalixarény a dendriméry. Pomocou nich sme vyvinuli vysokocitlivé biosenzory na detekciu mykotoxínov a bunkových priónov, ktoré môžu byť využité na monitorovanie bezpečnosti potravín a v lekárskej diagnostike. Vyvinuli sme nový spôsob imobilizácie DNA aptamérov na AFM hroty. Pomocou jednomolekulovej silovej spektroskopie (SMFS) sme získali informácie o silách interakcie medzi aptamérmi a proteínmi na povrchoch. Ako prví sme pomocou metódy SMFS určili sily interakcie medzi aptamérmi a membránovými proteínmi. Získané výsledky sme opublikovali v 21 článkoch v renomovaných karentovaných medzinárodných časopisoch s vysokým impaktom. Ciele projektu sme splnili v plnom rozsahu.

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

The project objectives consisted in the study of the mechanisms of interaction of small molecules with DNA aptamers, development of novel methods of aptamer immobilization at surfaces, determination of the kinetics constants of association and dissociation for interaction small molecules with DNA aptamers, determination of the forces between aptamers and their ligands. We studied in detail the physical properties of a number of aptamers that selectively bind mycotoxins – ochratoxin A, aflatoxin B1 as well as small proteins – thrombin, cellular prions, cytochrome c, VEGF and determined factors that affect their binding properties. We have found that aptamer dimers are characterized by higher affinity to the ligands in comparison with traditional single stranded aptamers. We developed several new methods of aptamer immobilization at surfaces composed of nanostructures such as nanoparticles, carbon nanotubes, calixarenes and dendrimers. Using these methods we developed various high-sensitive biosensors for detection of mycotoxins and cellular prions, that can be used for monitoring of food safety and in medical diagnostics. We have also developed new method of immobilization of DNA aptamers at the AFM tip. Using single molecule force spectroscopy

(SMFS) we obtained new information on the forces between aptamers and proteins at surfaces. By means of SMFS method we determined for the first time the interaction forces between aptamers and the membrane proteins. The obtained results have been published in 21 papers in the indexed international journals with high impact factor. The project objectives have been fulfilled.

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

Zodpovedný riešiteľ

prof.RNDr. Tibor Hianik, DrSc.

V Bratislave 18.11.2014

Štatutárny zástupca príjemcu

Prof.RNDr. Karol Mičieta, PhD.

V Bratislave 19.11.2014

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu