

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0753****Biočipy a biosenzory pre glykorozpoznávanie, ich vývoj, príprava a využitie pri výskume rakoviny**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Jaroslav Katrlík, PhD.**Príjemca **Chemický ústav SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Chemický ústav SAV
2. Centrum biovied SAV - Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky
3. Biomedicínske centrum SAV - Virologický ústav
4. Ústav polymérov SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. INEP, Univerzita v Belehrade, Srbsko
2. Univerzita v Bari, Taliansko
3. Univerzita sv. Klimenta v Sofii, Bulharsko
4. Xeptagen SpA, Taliansko
5. Qatar University, Katar

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

-

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

1. Pavel Damborský, Dominika Damborská, Stefan Belický, Jan Tkáč, Jaroslav Katrlík (2018). Sweet Strategies in Prostate Cancer Biomarker Research: Focus on a Prostate Specific Antigen. *BioNanoScience* 8 (2), 690-700.
2. Dominika Damborská, Tomas Bertok, Erika Doseková, Alena Holazová, Lenka Lorencová, Peter Kasak, Jan Tkáč (2017). Nanomaterial-based biosensors for detection of prostate specific antigen. *Microchimica Acta*, 184, 3049–3067.
3. Martina Zámorová, Alena Holazová, Goran Miljuš, Dragana Robajac, Miloš Šunderić, Vesna Malenković, Blagoje Đukanović, Peter Gemeiner, Jaroslav Katrlík, Olgica Nedić (2017). Analysis of changes in the glycan composition of serum, cytosol and membrane glycoprotein biomarkers of colorectal cancer using a lectin-based protein microarray. *Analytical Methods*, 9, 2660-2666.
4. Pavel Damborský, Juraj Švitel, Jaroslav Katrlík (2016). Optical biosensors. *Essays in Biochemistry*, 60, 91-100.
5. Pavel Damborský, Katarzyna Koczula, Andrea Gallotta, Jaroslav Katrlík (2016). Lectin-based lateral flow assay: proof-of-concept. *Analyst*, 141, 6444–6448.
6. Pavel Damborský, Martina Zámorová, Jaroslav Katrlík (2016). Determining the binding

affinities of prostate-specific antigen to lectins: SPR and microarray approaches. Proteomics, 16 (24), 3096-3104.

Uplatnenie výsledkov projektu

Využitie vysokovýkonnej analytickej platformy založenej na lektíny využívajúcich microarray biočipov v diagnostike biomarkerov, biomedicínskom výskume, v biológii, glykomike a biotechnológii, ako aj využitie ďalších na lektínoch založených analytických platform vyvinutých v rámci projektu (bunkové microarray biočipy, LFA biosenzory) na tieto účely.

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

Hlavná pozornosť bola sústredená na vývoj, konštrukciu a použitie biočipov a biosenzorov na afinitnom princípe, pričom ako biorozpoznávajúci element pre glykoprofilovanie biomarkerov boli použité lektíny. Vyvíjané biočipy a biosenzory využívali najmä optické platformy, a taktiež elektrochemické. V prvom rade to bola vysokovýkonná technika proteínových microarray biočipov a povrchová plazmónová rezonancia (SPR), ako aj ultracitlivé elektrochemické biosenzory na báze elektrochemickej impedančnej spektrometrie (EIS). Pozornosť bola venovaná aj hodnoteniu použiteľnosti techník pre štúdium a charakterizáciu interakcií glykoproteínových biomarkerov s lektínmi. Sledovanie aberantnej glykozylácie slúži ako efektívny nástroj pre zlepšenie diagnostiky mnohých ochorení a informácie o charaktere týchto interakcií sú dôležité pre selekciu lektínov ako perspektívnych bioreceptorov pre glykoprofilovanie biomarkerov pomocou biočipov a biosenzorov. Vlastnosti vyvinutých systémov sa sledovali na modelových a reálnych biologických vzorkách a vyvinuté biočipy a biosenzory sa aplikovali pri meraní glykozylačných zmien rôznych typov biologických a klinických vzoriek. V prípade patientskych vzoriek to boli séra, tkanivá a izolované glykoproteíny získané od pacientov s prevažne onkologickými ochoreniami (rakovina hrubého čreva, rakovina prostaty a ďalšie). Overila sa výhodnosť koncepcie lektínových microarray biočipov umožňujúcich simultánne meranie veľkého množstva vzoriek a analýzu glykánových biomarkerov. V rámci projektu bola taktiež vôbec prvýkrát navrhnutá koncepcia LFA (lateral flow assay) lektínového biosenzora na sledovanie zmien glykozylácie biomarkerov a táto bola overená pre glykoprofiláciu biomarkera rakoviny prostaty, PSA. Vyvinutý biosenzor môže slúžiť ako PoC (point-of-care) zariadenie. Ďalšou oblasťou bolo sledovanie glykánových biomarkerov ochorení súvisiacich s vrodenými chybami glykozylácie nazývanými Congenital Disorders of Glycosylation (CDG), ktoré zahŕňajú široké spektrum zdedených ochorení a patria k zriedkavým chorobám. Tu sme použili lektíny využívajúce proteínové microarray biočipy a výsledky sme korelovali s meraním hmotnostnou spektrometriou. Zistili sme, že microarray biočipy by mohli byť veľmi efektívnymi aj pri skríningu CDG ochorení. Pripravené bolo taktiež vôbec prvé bunkové microarray využívajúce lektíny, ktoré bolo použité na glykoprofilovanie cicavčích folikulárných buniek a má potenciál pre ďalšie použitie v biologickom či medicínskom výskume. Publikované výsledky, ktoré boli aj prezentované na množstve medzinárodných vedeckých podujatí, majú veľmi dobrý citačný ohlas a otvárajú možnosti širokého využitia lektínových a glykánových biočipov a biosenzorov v diagnostike biomarkerov, biomedicínskom výskume, v biológii, glykomike a biotechnológii. Riešenia projektu sa zúčastnilo množstvo PhD študentov ako aj diplomantov. Počas riešenia projektu bola venovaná adekvátna pozornosť popularizačným aktivitám a riešenie projektu napomohlo k predloženiu nových tématicky súvisiacich projektov v rámci národných aj európskych (H2020) výskumných programov.

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

The main focus was on the development, construction and application of biochips and biosensors on an affinity principle, with lectins being used as the bio-recognizing element for biomarkers glycoprofiling. The developed biochips and biosensors used mainly optical platforms, and also electrochemical. First, it was a high-throughput technique of protein microarray biochips and surface plasmon resonance (SPR), as well as ultra-sensitive electrochemical impedance spectrometry (EIS) biosensors. Attention was also paid to assessing the applicability of the studied techniques and characterization of interactions of glycoprotein biomarkers with lectins. Monitoring aberrant glycosylation serves as an

effective tool for improving the diagnosis of many diseases and information on the nature of these interactions is important for the selection of lectins as prospective bioreceptors for glycoprofiling of biomarkers using biochips and biosensors. The properties of the developed systems were studied on model and real biological samples, and the developed biochips and biosensors were applied to measure glycosylation changes of various types of biological and clinical samples. For patient samples, these were sera, tissues, and isolated glycoproteins derived from patients with predominantly oncological diseases (colon cancer, prostate cancer, and others). The advantage of the concept of lectin microarray biochips has been verified, allowing simultaneous measurement of large numbers of samples and analysis of glycan biomarkers. The project also proposed for the first time the LFA (Lateral Flow Assay) concept of a lectin biosensor to monitor biomarker glycosylation changes, and this was verified for the prostate cancer biomarker, PSA. The developed biosensor can serve as a PoC (point-of-care) device. Another area was the monitoring of glycan biomarkers of diseases called Congenital Disorders of Glycosylation (CDG), which include a wide range of inherited diseases and are rare diseases. Here we used lectin-based protein microarray biochips and the results were correlated with mass spectrometry. We have found that microarray biochips could also be very effective in screening CDG diseases. Also the first ever lectin-based cell microarray was used to glycoprofile mammalian follicular cells and has the potential for further use in biological and medical research. The published results, which were also presented in a number of international scientific events, have a very good citation response and open up the possibilities of wide use of lectin and glycan biochips and biosensors in biomarker diagnostics, biomedical research, biology, glycomics and biotechnology. A number of PhD students as well as graduate students participated in the project. The significant attention was paid to the dissemination and communication activities and the project implementation helped to the submission of new thematically related projects within the national and European (H2020) research programs.