

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0361**Produkcia bakteriálnych inklúzných teliesok pre biokatalýzu a biomedicínu (BIT-scale up)**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Jozef NAHÁLKA, PhD.**Príjemca **Chemický ústav SAV****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

Chemický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 84538 Bratislava
(a externé pracovisko - Centrum excelentnosti pre bielo-zelenú biotechnológiu, Trieda Andreja Hlinku 2, SK-94976 Nitra)

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

--

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. KÖSAGOVÁ, Romana - HRABÁROVÁ, Eva - ACHBERGEROVÁ, Lucia - NAHÁLKA, Jozef. Insoluble protein applications: the use of bacterial inclusion bodies as biocatalysts. In Insoluble Proteins : Methods and Protocols. - Springer, 2022, vol. 2406, chapter 30, p. 501-515. V tlači. Od marca dostupné na: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1859-2_30

Typ: ABC

2. NAHÁLKA, Jozef. Theoretical analysis of S, M and N structural proteins by the protein-RNA recognition code leads to genes/proteins that are relevant to the SARS-CoV-2 life cycle and pathogenesis. In Frontiers in Genetics, 2021, vol. 12, art. no. 763995. (2020: 4.599 - IF, Q2 - JCR, 1.413 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 1664-8021. Dostupné na: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.763995> Typ: ADMA

3. NAHÁLKA, Jozef - HRABÁROVÁ, Eva. Prebiotic peptides based on the glycocodon theory analyzed with FRET. In Life, 2021, vol. 11, art. no. 380 [9] p. (2020: 3.817 - IF, Q2 - JCR, 0.973 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2021 - Current Contents). ISSN 2075-1729. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/life11050380> Typ: ADCA

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt sa zameriaval na prenos produkcie aktívnych bakteriálnych inklúzných teliesok (BIT) z laboratórneho rozsahu do rozsahu aplikovateľného v produkčnom centre Chemického ústavu SAV. Cieľ predkladaného projektu spočíval v prenose výsledkov z oblasti BIT-biokatalýzy ktoré sme dosiahli v uplynulom desaťročí (1.smer projektu), ako aj v produkcii

BIT-častíc ktorých využitie je smerované na základe publikovaných výsledkov rôznych svetových výskumných inštitúcií (2.smer projektu).

Môžeme konštatovať, že v rámci možností sme naplnili oba sledované smery projektu a výsledky sú aplikovateľné v produkčnom centre Chemického ústavu SAV.

Taktiež musíme konštatovať, že počas tohto 2,5 ročného projektu sme sa celé 2 roky museli „vysporiadať“ s COVID-19 situáciou. Projekt predpokladal úzke spolupracovanie medzi Bratislavským a Nitrianskym pracoviskom, neustále karantény, obmedzenia cestovania a obmedzenia práce v laboratóriu (1 človek v miestnosti) sa podpísali pod výstupy projektu. Počas karantén v roku 2020 bola napísaná a v roku 2021 publikovaná práca [2], počas karantén v roku 2021 bola napísaná a v roku 2022 bude publikovaná ďalšia práca. Tieto práce sú teoretické a riešia úplne inú problematiku, avšak za daných okolností ich uvádzame ako výstupy tohto projektu. Väčšina praktických výsledkov tohto projektu bude zužitkovaná a publikovaná až v roku 2022.

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

1. Smer, cieľ 1) Produkcia hodnotných derivátov cukrov: Optimalizovali sme možné schémy a postupy pre „scale up“ syntézy sialooligosacharidov, v produkčnom centre navrhujeme použiť BIT v móde jednorazovej vsádzkovej produkcie. Cieľ 2) Produkcia magnetických BIT-častíc pre recyklovanie pomocou (elektro)-magnetu: Kontinuálna produkcia magnetických častíc pomocou mikrovlnného žiarenia je technologicky zvláduteľná. Cieľ 3) Produkcia BIT-častíc pre „on-line“-monitorovanie katalyzovanej reakcie: Navrhli/pripravili sme BIT-biosenzory FGBP1/2 ktoré rýchlo a efektívne monitorujú glukózo-1P a ManNAc. Glc1P je pre nás veľmi dôležitý substrát pre galaktozyláciu oligosacharidov (cesta sacharóza/Glc1P/UDP-Glc/UDP-Gal) a ManNAc pre sialyzáciu oligosacharidov (cesta GlcNAc/ManNAc/Sial/CMP-Sial).

2. Smer, cieľ 1) Produkcia, odštiepenie a purifikácia peptidov/proteínov z BIT-častíc: Navrhli/pripravili sme produkciu niekoľkých glykozyltransferáz ktoré po izolácii BIT-častíc sú odštiepené/solubilizované Ca²⁺-indukciou Staphylococcus aureus sortázy A. Inými slovami, takto získané glykozyltransferázy majú lepšiu aktivitu, ale hlavne sú pomerne lacno produkované pre „scale up“. Cieľ 2) Produkcia inzulínu ako príklad pre implantovateľné BIT-nanotablety: pripravili sme BIT častice CBD-pro1, CBD-ELK1, SACS2-ELK1 a ELK1. Všetky konštrukty boli dobre stiahnuté do BIT a obsahujú aktívnu sortázu A, žiaľ doposiaľ nemáme stanovenú inzulínovú aktivitu ani jedného preparátu. Cieľ 3) Produkcia BIT-častíc s odpoveďou na glukózu: Pripravené jedno-florescenčné BIT-biosenzory FGBP1/2 nie sú špecifické na Glc, ale na Glc1P. V prípade FRET BIT-biosenzora sme našli vhodný peptid citlivý na Glc.

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

1. Direction, Objective 1) Production of valuable sugar derivatives: We have optimized possible schemes and procedures for "scale up" synthesis of sialooligosaccharides, in the production center we propose to use BIB in the mode of single batch production. Objective 2) Production of magnetic BIB particles for recycling by means of (electro) -magnet: Continuous production of magnetic particles by means of microwave radiation is technologically manageable. Objective 3) Production of BIB-particles for "on-line" - monitoring of reactions: We designed / prepared BIB-biosensors FGBP1 / 2 which quickly and efficiently monitor glucose-1P and ManNAc. Glc1P is a very important substrate for us for galactosylation of oligosaccharides (sucrose / Glc1P / UDP-Glc / UDP-Gal pathway) and ManNAc for oligosaccharide sialylation (GlcNAc / ManNAc / Sial / CMP-Sial pathway).

2. Direction, Objective 1) Production, cleavage and purification of peptides / proteins from BIB particles: We designed / prepared the production of several glycosyltransferases which after isolation of BIB particles are cleaved / solubilized by Ca²⁺ -induction of Staphylococcus aureus sortase A. In other words, thus obtained glycosyltransferases have better activity, but most importantly they are relatively cheaply produced for "scale up". Objective 2) Insulin production as an example for implantable BIB-nanotablets: we prepared BIT particles CBD-pro1, CBD-ELK1, SACS2-ELK1 and ELK1. All constructs have been well downloaded to BIB and contain active sortase A, unfortunately we have not yet determined the insulin activity of any of the preparations. Objective 3) Production of glucose-responsive

BIB particles: The prepared single-fluorescent BIB biosensors FGBP1 / 2 are not specific for Glc, but for Glc1P. In the case of the FRET BIB biosensor, we found a suitable Glc-sensitive peptide.