



EURÓPSKA ÚNIA
Európsky fond regionálneho rozvoja
OP Integrovaná infraštruktúra 2014 – 2020

KARTA PROJEKTU



Operačný program Integrovaná infraštruktúra	EÚ fond	Európsky fond regionálneho rozvoja
	Výzva	Výzva na predkladanie žiadostí o poskytnutie nenávratného finančného príspevku na podporu dlhodobého strategického výskumu – Zdravie obyvateľstva a zdravotnícke technológie
	Kód výzvy	OPVaI-VA/DP/2018/1.2.1-08
	Kód projektu v ITMS2014+	313011V578
	Názov projektu	Dlhodobý strategický výskum a vývoj zameraný na výskyt Lynchovho syndrómu v populácii SR a možnosti prevencie nádorov spojených s týmto syndrómom
	Subjekt/prijímateľ pomoci	Univerzita Komenského v Bratislave
	Partner 1	GENETON s.r.o.Ľ.
	Partner 2	Chemický ústav Slovenskej akadémie vied
Partner 3	MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.	

Partner 4	POWERTEC s. r. o.	
Partner 5	Slovgen s.r.o.	
Partner 6	Univerzitná nemocnica s poliklinikou Milosrdní bratia, spol. s r. o.	
Partner 7	Ústav molekulárnej biológie Slovenskej akadémie vied	
Financovanie projektu	COV	9 918 256,39 EUR
	NFP	9 205 044,72 EUR
	VZ	713 211,67 EUR
Obdobie realizácie projektu	06/2019 – 06/2023	
Miesto realizácie projektu	SR/Nitriansky kraj/Nitra SR/Bratislavský kraj/Bratislava – mestská časť Staré Mesto SR/Bratislavský kraj/Bratislava – mestská časť Karlova Ves	
Doména inteligentnej špecializácie	Zdravie obyvateľstva a zdravotnícke technológie	
Hlavné relevantné SK NACE odvetvie	86909 - Ostatná zdravotná starostlivosť i. n.	
Funkčné väzby	irelevantné	

Predmet výskumu

- Výskumno-vývojový zámer sa zameriava na problematiku výskytu Lynchovho syndrómu v populácii SR a možnosti prevencie nádorov spojených s týmto syndrómom – pričom ide priamo o výskumno-vývojové aktivity zamerané na ochorenie, ktoré patrí k tým s najvyššou mierou morbidity a mortality (onkologické ochorenia) – pričom práve výskum/vývoj v oblasti tohto typu ochorení patrí medzi priority tejto domény inteligentnej špecializácie.
- Cieľom projektu je výskum a vývoj v oblasti problematiky dedičných nádorov spôsobených Lynchovým syndrómom a predpokladaného genetického pozadia vyššieho výskytu vybraných typov nádorov v slovenskej populácii. Získané poznatky a ich následná implementácia v podobe špecificky navrhnutého programu skríningu ako aj centrálnej databázy konkrétnych pacientov s Lynchovým syndrómom budú základom pre efektívnejšiu prevenciu a manažment nádorových ochorení asociovaných s Lynchovým syndrómom a taktiež pomôžu pri navrhovaní vhodného skríninového programu pre našu populáciu.
- Významným cieľom projektu je aj vývoj prototypov nových menej invazívnych metód pre skríning prítomnosti nádoru na báze tekutej biopsie. Objasnenie významu genetickej zložky pri výskyte CRC na Slovensku, zavedenie moderných neinvazívnych screeningových vyšetrení a zadefinovanie vhodného skríningu v našej populácii bude mať za následok zníženie výskytu a úmrtnosti CRC a iných Lynch asociovaných nádorov, zvýšenie kvality života a skrátenie práceneschopnosti, poklesu národných výdavkov na liečbu.

Celkový cieľ projektu

- Predkladaný projekt vďaka uplatneniu výsledkov výskumu, má za cieľ podrobne preskúmať problematiku dedičných nádorov spôsobených Lynchovým syndrómom a preskúmať predpokladané genetické pozadie vyššieho výskytu vybraných typov nádorov v slovenskej populácii. Získané poznatky a ich následná implementácia v podobe špecificky navrhnutého programu skríningu ako aj centrálnej databázy konkrétnych pacientov s Lynchovým syndrómom budú základom pre efektívnejšiu prevenciu a manažment nádorových ochorení asociovaných s Lynchovým syndrómom a taktiež pomôžu pri navrhovaní vhodného skríninového programu pre našu populáciu. Významným cieľom projektu je aj vývoj prototypov nových menej invazívnych metód pre skríning prítomnosti nádoru na báze tekutej biopsie. Objasnenie významu genetickej zložky pri výskyte CRC na Slovensku, zavedenie moderných neinvazívnych screeningových vyšetrení a zadefinovanie vhodného skríningu v našej populácii bude mať za následok zníženie výskytu

a úmrtnosti CRC a iných Lynch asociovaných nádorov, zvýšenie kvality života a skrátenie práceneschopnosti, poklesu národných výdavkov na liečbu.

- Výskumné inštitúcie budú realizovať v rámci projektu aktivity nezávislého výskumu a vývoja, podniky okrem priemyselného výskumu plánujú realizovať aj aktivity v rámci experimentálneho vývoja v plánovanej miere 15%, ktoré budú viesť k prototypu neinvazívneho testu na detekciu mikrosatelitovú instabilitu a prihláseniu patentu príslušnej metódy. Objasnenie genetickej zložky pri incidencii CRC a Lynchovho syndrómu na Slovensku, zavedenie moderných neinvazívnych screeningových vyšetrení a zadefinovanie vhodného skrúningového programu v slovenskej populácii bude mať za následok zníženie výskytu a úmrtnosti pacientov s CRC a inými nádormi asociovanými s Lynchovým syndrómom. To vo výsledku povedie k zvýšeniu kvality života, skráteniu práceneschopnosti a taktiež zníženiu finančných nákladov na liečbu.

Výstupy do praxe

- Publikovaná populačná štúdia zameraná na frekvencie patogénnych variantov asociovaných s Lynchovým syndrómom, ich distribúcie v relevantných génoch, so špeciálnou snahou o hodnotenie variantov s doposiaľ neznámou klinickou signifikanciou (v súlade s kritériami a odporúčaniami spoločnosti ACMG). Výsledky budú tiež publikované vo forme príspevkov na významných domácich a medzinárodných vedeckých podujatiach (napr. ESHG Conference, ASHG Conference, European Hereditary Tumour Group, The International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSiGHT)).
- Národná databáza pacientov s diagnostikovaným Lynchovým syndrómom a jej následná harmonizácia s medzinárodnou databázou InSiGHT. Jej harmonizácia s medzinárodnými databázami by mala navyše umožňovať budúce zapojenie SR do rôznych medzinárodných klinických štúdií.
- Neinvazívna skrúningová metóda pre skrúning kolorektálneho karcinómu z krvi. Okrem jej potenciálu vylepšiť prevenciu a starostlivosť o pacientov má takýto výstup potenciál aj v oblasti duševných vlastníctiev, ako aj v oblasti publikácie výsledkov vo významných medzinárodných metodických odborných časopisoch (preferenčne Q1, open access) a vedeckých podujatiach.
- Nástroj pre podporu klinického rozhodovania pri prognostike pacientov s Lynchovým syndrómom

- Potenciálne nové markery kolorektálneho karcinómu získateľné zo vzorky fekálnej mikroflóry pacienta by predstavovali jeden z možných neinvasívne získateľných a sledovateľných biomarkerov s vysokým potenciálom klinického využitia, ako aj vedeckého publikovania (preferenčne v časopisoch umiestnených v Q1 s open access opciou).
- Návrh skriningového programu pre prevenciu a skoré zachytenie pacientov s Lynchovým syndrómom a s mikrosatelitovo instabilných kolorektálnych karcinómov predstavuje jeden z ultimátnych výstupov/cielov projektu, keďže vytvára priame rozhranie výskumu a klinickej praxe, a to umožnením translácie výsledkov výskumu do praxe. Súčasťou tohto výstupu bude inicializácia vytvorenia interdisciplinárnej pracovnej skupiny na vypracovanie návrhu.

Dávame do pozornosti..... (špecifiká/unikáty a zaujímavosti projektu)

- V rámci projektu bol identifikovaný potenciál realizovanej inovačnej zmeny na úrovni 5 stupňa modifikovaného Valentovho inovačného spektra (Generačná zmena (zavedená nová generácia v rámci transformačného procesu podniku). Generačná zmena zásadného rozsahu sa týka hneď dvoch aspektov. V súčasnosti sa pri stanovení mikrosatelitového statusu (ako súčasť skriningových stratégií) využíva výlučne bioptický materiál nádoru. Tu dôjde k posunu na cirkulujúcu voľnú DNA z periférnej krvi. Druhým aspektom generačnej zmeny je prechod na technológiu sekvenovania novej generácie namiesto použitia prvogeneračného sekvenačného testu s použitím kapilárneho genetického analyzátoru. Mikrobiómový pohľad je ešte ďalší zásadne iný prístup pri hľadaní nových patologických biomarkerov, ktorú dávajú predpoklad zavedeniu nových testov vychádzajúcich z analýzy feces

Odborné aktivity projektu

<p><u>Subjekt/prijímateľ pomoci – Univerzita Komenského v Bratislave</u></p> <p>Výskumná aktivita 1 – Realizácia genomickej štúdie a výskumná databáza pacientov z Lynchových rodín pre agregátne hodnotenie rizík vzniku CRC</p> <p><u>Realizácia genomickej štúdie</u> - Súčasťou tohto pracovného balíka bude získanie genomických dát ktoré budú využité aj v závislých aktivitách. Cieľom bude tak pre vzorku populácie, ako aj asymptomatických členov Lynchových rodín, získať celogenómové sekvenčné dáta. V kontrolnej skupine bude analyzovaných približne 1000 jedincov, v skupine členov Lynchových rodín ďalších 200 jedincov a v skupine pacientov s diagnózou CRC tiež 200 pacientov. Nábor jedincov/pacientov do populačnej/klinickej štúdie bude uskutočnený formou multicentrickej štúdie, v spolupráci s pracoviskami klinickej genetiky, onkológie, gastroenterológie a všeobecného lekárstva, po získaní súhlasu centrálnej etickej komisie Bratislavského samosprávneho kraja. Od účastníkov štúdií sa bude vyžadovať absolvovanie vstupnej konzultácie ohľadom špecifik klinickej štúdie, plánovaného výskumu, plánovaných genetických analýz, povahy plánovanej biobankingovej aktivity, plánovanej databázovej aktivity, pričom podmienkou ich účasti bude podpísaný formulár informovaného súhlasu so súhlasným stanoviskom ohľadom zaradenia do niektorej z uvedených štúdií. Odoberatý biologický materiál na spracovanie a archiváciu v biobanke bude pozostávať z periférnej krvi (2x 8-10 ml do špeciálnej odberovej skúmavky so stabilizačným roztokom pre</p>	<p><u>Partner 1 – GENETON s.r.o.</u></p> <p>Výskumná aktivita 4 – Výskum využiteľnosti analýz voľnej cirkulujúcej DNA pre skrining CRC</p> <p>Cieľom aktivity je zistiť využiteľnosť analýzy voľnej cirkulujúcej DNA pre odhalenie pozitívnych prípadov na kolorektálny karcinóm a ich odlišenie od kontrolnej skupiny zdravých jedincov. Metodicky bude využité vysokoparalelné sekvenovanie celkovej DNA získanej z plazmovej frakcie krvi bez prítomnosti buniek, teda voľnej cirkulujúcej DNA. Využívať budeme sekvenovanie s nízkym pokrytím na úrovni 0,2 ekvivalentu ľudského genómu. Pri optimalizácii bude využitý alternatívny prístup na báze cieľného sekvenovania vybraných oblastí. Budú sledované varianty typu CNV - copy number variation. V rámci podaktivity budú vyvíjané a ladené algoritmy na interpretáciu týchto variantov, ich kvantitatívne zobrazenie a reportovanie. Ako kontrolná skupina, pre tréning parametrov modelu a validáciu budú použité vzorky zdravej populácie, ktoré boli spoločnosťou Geneton zozbierané v predošlých štúdiách zameraných na predikciu fetálnej aneuploidie.</p>
---	---

DNA; 1x 6 ml do EDTA), stolice (odberové skúmavky naplnené roztokom na rezerváciu DNA/RNA umožňujúcom dlhodobé skladovanie a archiváciu, s možnosťou izolácie DNA/RNA) a bioptického tkaniva z nádoru a zdravého tkaniva (s fixáciou aj bez fixácie, vhodné na archiváciu zamrazovaním, s možnosťou izolácie DNA/RNA) - podľa skupiny, do ktorej jedinec/pacient bude zaradený. V skupine s CRC bude krv odobratá pred plánovaným chirurgickým zákrokom, a následne aj po chirurgickom odstránení nádoru v špecifikovanom časovom intervale (týždeň). Od každého zaradeného jedinca/pacienta sa budú navyše zbierať detailné klinické a anamnestické údaje. Na vzorkách izolovanej DNA plánujeme uskutočniť celogenómovú analýzu s 30 násobným pokrytím s cieľom detegovať jednonukleotidové varianty v celom genóme a zároveň aj mikroaberrácie menšieho aj väčšieho rozsahu v kompletnej sade kódujúcich úsekov DNA, ako aj celogenómové profilovanie. Vstupným materiálom bude opäť DNA izolovaná z plazmy a leukocytov. DNA bude v prvom kroku enzymaticky fragmentovaná a na konce sa pripoja adaptéry. Fragmenty budú amplifikované pomocou PCR reakcie a následne sekvenované na platforme NextSeq.

Výskumná databáza pacientov z Lynchových rodín pre agregátne hodnotenie rizík vzniku CRC - Vytvorenie konceptu výskumnej databázy s webovým rozhraním a so zabezpečením osobných údajov a ich anonymizácie harmonizované s legislatívou GDPR, ktorá umožní lepšie skúmať špecifické riziká vzniku CRC pre členov Lynchových rodín. Dôležité je zapracovanie definície rodinných vzťahov v tejto databáze avšak so zreteľom na bezpečnosť. Všetky

Výskumná aktivita 6 – Vývoj prototypu neinvazívneho laboratórneho skrinigového testu na mikrosatelitovú instabilitu

Zavedenie, optimalizácia a sledovanie využiteľnosti cieľného resekvenovania vybraných instabilných mikrosatelitových lokusov pri zisťovaní mikrosatelitovej instability na vzorke pacientov s Lynchovým syndrómom v prekanceróznom štádiu ochorenia, ale taktiež na pacientoch s pozitívnym nálezom kolorektálneho karcinómu, pri čom obidve skupiny vzoriek sa budú porovnávať voči CRC so stabilnými mikrosatelitmi. Metóda a bioinformatické algoritmy budú vyvíjané pre účely neinvazívneho stanovenia, teda bude využívaná cirkulujúca DNA v krvi pacientov.

<p>genetické a súvisiace klinické záznamy získané od pacientov a rodinných príbuzných s diagnózou Lynchovho syndrómu budú vkladané do databázy klinickými špecialistami. Táto databáza bude harmonizovaná s medzinárodnou Prospective Lynch Syndrome Database (PLSD), aby bolo možné o tieto údaje obohatiť medzinárodnú databázu, čo bude základom medzinárodnej odbornej spolupráce a zároveň umožní spresnenie a zlepšenie matematických modelov v rámci interpretačnej funkcionality tejto databázy</p>	
<p><u>Partner 2 – Chemický ústav Slovenskej akadémie vied</u></p> <p>Výskumná aktivita 8 – Analýza glykozylačných zmien u pacientov s kolorektálnym karcinómom</p> <p>Glykomická analýza vzoriek pacientov predstavuje jednu z častí multiomického prístupu pri identifikácii biomarkerov skúmaného ochorenia. Aberantná glykozylácia proteínov je charakteristickým znakom rakoviny, čo predstavuje sľubný zdroj nových potenciálnych biomarkerov s obrovským dosahom v medicíne. Zmeny v glykozylácii proteínov sú typické pre mnohé ochorenia vrátane kolorektálneho karcinómu a identifikácia a monitoring príslušných glyko-biomarkerov môže pomôcť pri včasnom odhalení ako aj pri terapii tohoto ochorenia. Náplňou tejto aktivity je identifikácia, detekcia a monitoring glykánových biomarkerov kolorektálneho karcinómu. Tento zámer bude dosiahnutý vývojom nových biočipov a biosenzorov umožňujúcich vysokocitlivé a</p>	<p><u>Partner 3 – MEDIREX GROUP ACADEMY n.o.</u></p> <p>Výskumná aktivita 3 – Realizácia klinickej a populačnej štúdie, spracovanie vzoriek a zavedenie databázy pacientov</p> <p>Bude realizovaná klinická štúdia na vzorke 200 členov rodín s diagnostikovaným Lynchovým syndrómom. Pacientom bude odobratá vzorka periférnej krvi a všetky relevantné údaje o pacientoch budú vkladané do novo vytvorenej databázy. Bude pripravená a realizovaná populačná štúdia na zisťovanie frekvencie zriedkavých patologických aliel pre Lynchov syndróm. Za týmto účelom bude zozbieraný súbor vzoriek periférnej krvi od 1000 jedincov zo všeobecnej slovenskej populácie.</p> <p>Vzorky získané v oboch štúdiách budú náležite spracované pre stabilnú archiváciu DNA, RNA aj krvnej plazmy v biobanke. Následne budú vykonané štandardné genetické analýzy pre</p>

vysokovýkonné sledovanie glykozylačných zmien spojených s rakovinou kolorekta, validáciou vyvinutých postupov pomocou viacerých nezávislých analytických metód (ako napríklad imunoblot, CE-MS, LC-MS), identifikáciou glykozylačných zmien metódami hmotnostnej spektrometrie, analýzou glykánových biomarkerov v patientskych vzorkách pomocou vyvinutých metód a postupov, a zhodnotením potenciálu uplatnenia glykánových biomarkerov pre biomedicínu a diagnostické účely v rámci multiomického prístupu pri identifikácii a monitorovaní biomarkerov. Dôležitým prvkom tejto aktivity bude využitie moderných analytických technológií umožňujúcich citlivé, univerzálne a vysoko výkonné glykoprofilovanie molekúl - microarray biočipy, povrchová plazmónová rezonancia (SPR), a elektrochemické biosenzory. Ako biorozpoznávajúci element budú využité špeciálne proteíny, lektíny, majúce jedinečnú schopnosť rozpoznávať cukorné zložky. Dôležitou súčasťou tejto aktivity bude aj vývoj techník efektívnej predúpravy vzoriek a izolácie cielených glykoproteínov, a to ako pomocou mikrokolonií tak využitím modifikovaných nanočastíc. V rámci aktivity bude realizovaná identifikácia glykoprotínu séra pacientov, jeho subfrakcií, resp. vybraných izolovaných bielkovín pomocou spomínaných nezávislých analytických metód. Získané dáta budú analyzované a navzájom korelované bioinformatickými a bioštatistickými metódami za účelom identifikácie potenciálneho glykobiomarkera pre kolorektálny karcinóm a Lynchov syndróm. Vyvinuté

stanovenie mikrosatelitovej instability, v prípade známych variantov budú jedinci verifikovaní na prítomnosť týchto mutácií. V prípade jedincov s nádorovými ochoreniami, sa pokúsime získať vzorky prislúchajúcich nádorových tkanív, pričom budeme robiť verifikačné histopatologické vyšetrenia týchto vzoriek. Na vybraných vzorkách s potvrdenou diagnózou Lynchovho syndrómu bude uskutočnená panelová analýza, pomocou komerčne dostupného kitu na báze detekcie SNP vo vybraných génoch, pri čom kit bude vybraný podľa aktuálneho stavu ponuky v dobe realizácie aktivity. Pri postupe panelového sekvenovania sa budú využívať próby, ktoré cielene vychytávajú vybrané kódujúce časti genómu vrátane miest evidovaných v databáze COSMIC a TCGA katalógu. Pre účel vyhodnocovania výsledkov chceme taktiež využívať efektívny komerčný Server.

<p>vysokovýkonné techniky budú môcť byť následné využité pre analýzu glykoproteínových biomarkerov na reprezentatívnom súbore patientskych vzoriek.</p>	
<p><u>Partner 4 – POWERTEC s.r.o.</u></p> <p>Výskumná aktivita 5 – Výskum v oblasti platformy pre potreby biosenzora a biosenzorických aplikácií</p> <p>Okrem využitia biosenzorických prvkov sa aktivita bude venovať výskumu v oblasti podkladovej platformy na báze najmodernejších riešení integrácie sensorických prvkov s cieľom vytvorenia sensorického systému s možnosťou testovania v oblasti biosenzoriky. Cieľom bude navrhnúť možný koncept schopný zisťovať mikrosatelitovú instabilitu ktorý by našiel uplatnenie pri diferenciálnej diagnostike nádorov v prvej fáze a prípadne aj pri neinvazívnom skríningu zo vzorky cirkulujúcej DNA. V rámci aktivity budú preskúmané možnosti pasivácie sensorických prvkov organickými materiálmi s cieľom zlepšenia citlivosti a životnosti sensorických prvkov.</p>	<p><u>Partner 5 – Slovgen s.r.o.</u></p> <p>Výskumná aktivita 9 – Využitie analytického systému Promega „MSI Analysis System, Ver. 1.2“ ako nástroja pre primárnu charakterizáciu mikrosatelitovej instability</p> <p>Aktivita bude zameraná na potvrdenie využitia systému Promega "MSI Analysis System, Ver. 1.2 ako alternatívneho postupu pri primárnej detekcii mikrosatelitovej instability v získaných vzorkách pacientov. Systém pozostáva z dvoch mononukleotidových markerov, ktoré umožňujú vlastnú detekciu mikrosatelitovej instability a z piatich ďalších pentanukleotidových markerov, ktoré umožňujú identifikovať zmiešané resp. kontaminované vzorky. Partner bude vykonávať esej pomocou kapilárnej elektroforézy, čím otestuje použiteľnosť alternatívneho prístupu diagnostiky v porovnaní s detekciou pomocou NGS, ktorú bude v projekte vykonávať spoločnosť Geneton, s.r.o.. Okrem patientskych vzoriek bude uskutočnená súčasne aj analýza jedincov zo slovenskej populácie, ktorí budú predstavovať kontrolnú skupinu. Získané údaje budú porovnané</p>

	a vyhodnotené s výstupmi ostatných aktivít v rámci projektu resp. v porovnaní so štandardne používanými metódami.
<p><u>Partner 6 – Univerzitná nemocnica s poliklinikou Milosrdní bratia, spol. s r. o.</u></p> <p>Výskumná aktivita 2 – Nové prístupy pri vyšetrovaní a diagnostikovaní pacientov s kolorektálnym karcinómom so špeciálnym zreteľom na Lynchov syndróm</p> <p>Prieskum aktuálnych a odbornou obcou navrhovaných nových postupov pri diferenciálnej diagnostike CRC s algoritmom vyšetrení na Lynchov syndróm. Realizácia videozáznamov vytvorených počas kolonoskopie. Analýza štandardných testov potrebných pre správnu diferenciálnu diagnostiku CRC prípadov s Lynchovým syndrómom v rámci realizovanej projektovej klinickej štúdie.</p> <p>Odborná rada podľa rešerše dostupnej medzinárodnej odbornej literatúry pripraví rámec možných alternatív a známych príkladov implementácie skriningových stratégií. Budú pripomienkované jednotlivé aspekty a hodnotené možné legislatívne prekážky pri implementácii. Špeciálne sa sústreďí na zhodnotenie prínosov a rizík spojených so zaradením inovatívnych neinvazívnych metód na skrining nádorov a detekciu mikrosatelitovej instability. Porovnanie a zhodnotenie aktuálnych prístupov detekcie v rámci tejto aktivity napomôže nastaviť inovatívny neinvazívny screening založený na</p>	<p><u>Partner 7 – Ústav molekulárnej biológie Slovenskej akadémie vied</u></p> <p>Výskumná aktivita 7 – Identifikácia špecifického zloženia mikrobiómu u pacientov s kolorektálnym karcinómom</p> <p>Táto výskumná činnosť bude veľmi dôležitá na získanie údajov týkajúcich sa črevného mikrobiómu pacientov s kolorektálnym karcinómom. Cieľom bude pre vzorku populácie, ako aj asymptomatických členov Lynchových rodín získať údaje týkajúce sa zmien v rozmanitosti črevného mikrobiómu. V kontrolnej skupine bude analyzovaných približne 1000 jedincov a v skupine členov Lynchových rodín ďalších 200 jedincov (pacientov CRC).. Plánujeme vykonať mikrobiologickú analýzu zameranú na identifikáciu bakteriálnych, hubových a archeálnych spoločenstiev. Fekálne vzorky získané od pacientov sa budú uchovávať pri teplote -80 °C až do použitia. Následne sa zo mrazených vzoriek fekálií extrahuje DNA a RNA. Pred PCR amplifikáciou sa RNA reverzne transkribuje na cDNA. Extrahované nukleové kyseliny (DNA a cDNA) sa amplifikujú pomocou špecifických PCR primérov pre 16S rRNA gén (baktérie a archaea) a ITS fragment (huby / kvasinky). PCR amplikóny sa purifikujú a fluorescenčným meraním (DeNovix QFX) sa analyzuje ich</p>

<p>tekutej biopsii. Screening bude zameraný na vyhľadávanie pacientov s nádormi pomocou CNV detekcie, ako aj pacientov s asymptomatickým Lynchovým syndrómom, ktorých budeme detekovať pomocou vyhľadávania znakov mikrosatelitnej instability. Aktivita je úzko prepojená s aktivitami partnera Geneton, s.r.o., ktorý neinvazívny test vyvíja.</p>	<p>koncentrácia a čistota. Budú sa pripravovať „shot-gun“ knižnice, validované cez Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) a kvantifikované cez DeNovixom QFX. Masívne sekvenovanie sa vykoná s použitím zariadenia MiSeq (Illumina) a / alebo inej platformy na "next generation sequencing". Získané sekvencie budú analyzované pomocou rôznych bioinformatických nástrojov na identifikáciu črevného mikrobiómu vyšetrovaných pacientov.</p>
Odborní garanti v projekte	
<p><u>Subjekt/prijímateľ pomoci – Univerzita Komenského v Bratislave</u></p> <p>RNDr. Tomáš Szemes, PhD. – odborný garant Profil:</p> <ul style="list-style-type: none"> - vedúci laboratória Genomiky a informatiky na Univerzitnom vedeckom parku UK. Dlhodobo sa orientuje na sekvenovanie DNA, v súčasnosti najvýznamnejšou metódou sekvenovania novej generácie (next generation sequencing). Autor metódy pre neinvazívnu detekciu chromozomálnych porúch plodu z periférnej krvi tehotných žien implementovanej do klinickej praxe. Člen európskej spoločnosti humánnej genetiky ESHG, európskej spoločnosti hereditárnych tumorov EHTG, odbornej spoločnosti F1000 (Faculty 1000), špecialista na prenatalnú diagnostiku. Je autorom európskeho patentu v oblasti neinvazívneho prenatalného testovania na chromozomálne poruchy plodu z krvi tehotných s číslom EP3283647 udelený v roku 2018 	<p><u>Partner 1 – GENETON s.r.o.</u></p> <p>Mgr. Jaroslav Budiš, PhD. – odborný garant Profil:</p> <ul style="list-style-type: none"> - výskumný pracovník, Geneton. Odborná prax: Vedecký pracovník, vedenie bioinformatického tímu vo firme Geneton. Ocenenia: International patent granted by EPO (EP3283647) on non-invasive prenatal detection of aneuploidies (2018)

Partner 2 – Chemický ústav Slovenskej akadémie vied

RNDr. Ján Mucha, CSc. – odborný garant

Profil:

- odborník na molekulárnu biológiu a technológie rekombinantnej DNA, proteínové inžinierstvo a heterológnu expresiu (baktérie, kvasinky, bunky hmyzu - bakulovírus expresný systém), genetické inžinierstvo, mutačnú analýzu v štúdiu vzťahu štruktúry-funkcie glykoproteínov, analýzu glykokonjugátov, aberantnú glykozyláciu pri dedičných metabolických poruchách – Kongenitálne ochorenia glykozylácie a niektorých poruchách katabolizmu glykokonjugátov – Lyzozómových chorôb. Z molekulárnej glykobiológie. 2 patenty USA a EÚ č.: 00904677.2 US č.: 09/913858 a č: 01919367.1-2405-EP0102352. Pôsobil 10 rokov v Centre aplikovanej genetiky - University of Natural Resources and Applied Life Sciences vo Viedni. Ako zodpovedný riešiteľ alebo spoluriešiteľ sa podieľal na riešení mnohých vedeckých projektov FWF Austria, Austrian bank - Jubileums forschung, APVV, VEGA, ESF-Glycosciences, má praktické skúsenosti s riadením projektov zo ŠF OP VaV. Jeden semester ako hosťujúci profesor na Uni Furrier , Grenoble, a jeden semester na UofT, Toronto.

Partner 3 – MEDIREX GROUP ACADEMY n.o.

MUDr. Pavol Janega, PhD. – odborný garant

Profil:

- vyštudoval Lekársku fakultu Univerzity Komenského v Bratislave, kde pokračoval v doktorandskom štúdiu v odbore Patologická anatómia a súdne lekárstvo na tému „Hodnotenie zmien glykozylácie proteínov pri patologických stavoch v tkanive štítnej žľazy“. Absolvoval kurz diagnostickej molekulárnej patológie v Medical University of Graz. V roku 2011 mu bol priznaný vedecký kvalifikačný stupeň IIa. Vo svojej práci sa okrem iného zaoberá najmä problematikou hodnotenia histologických a molekulárnych zmien pri nádorovej transformácii a v procesoch neurodegenerácie. Je členom ESP, EMS a EHTG.

Partner 4 – POWERTEC s.r.o.

Ing. Anton Kuzma, PhD. – odborný garant

Profil:

- odborník v oblasti návrhu a prípravy progresívnych vrstiev a štruktúr pre využitie v senzorických ako aj fotonických aplikáciách s cieľom vytvorenia prvkov pre detekciu špecifických látok a molekúl, zodpovedný riešiteľ 5 medzinárodných a domácich grantov, bohaté skúsenosti s prípravou a implementáciou EÚ a národných projektov.

Partner 5 – Slovgen s.r.o.

RNDr. Andrej Dudáš, PhD. – odborný garant

Profil:

- vedecký pracovník Slovgen a zároveň ako vedecký pracovník na katedre molekulárnej biológie PRIF UK. Hlboká znalosť problematiky molekulárnej biológie, molekulárnej genetiky, biochémie a mikrobiológie. Po udelení štipendia CEA pracoval v laboratóriu Dr. Boiteux, Commissariat a l'Energie Atomique, Fontenay aux Roses, Francúzsko. Ako zodpovedný riešiteľ Lise-Meitner grantu pôsobil v laboratóriu Dr. Gregan, Max F. Perutz Laboratories, Viedenská univerzita, Rakúsko. Bol zástupcom zodpovedného riešiteľa na domácich grantoch (VEGA, APVV) a zodpovedným riešiteľom za spoluriešiteľskú organizáciu (APVV). K významným výsledkom jeho doterajšej vedeckej kariéry patrí: (i) objav-Pso3 proteín je zahrnutý v ochrane kvasinkových buniek pred oxidačným stresom, (ii) dôkaz, že Rad51 proteín, a dedukciou HR, chráni kvasinkové bunky pred indukciou DSB peroxidom vodíka, (iii) identifikácia Dil1 proteínu, ktorý podporne pôsobí v dyneínovej dráhe pri oscilačnom pohybe jadra počas meiózy,(iv) dôkaz, že kazeínová kináza 1 je potrebná pre účinné odstránenie Rec8 počas meiózy I, (v) objav, že Sgo1 je potrebný pre ko-segregáciu sesterských chromatíd počas achiazmatickej meiózy I. Je držiteľom vedecko kvalifikačného stupňa II.a.

Partner 6 – Univerzitná nemocnica s poliklinikou Milosrdní bratia, spol. s r. o.

Prof. MUDr. Silvester Krčméry, CSc. – odborný garant

Profil:

- kandidát vied, prednosta Kliniky geriatrickej LFUK a UNsP Milosrdní bratia v Bratislave, Problematike antibakteriálnej chemoterapie sa intenzívne venuje aj v súčasnosti a ako pozvaný prednášateľ často prednáša na domácich i zahraničných podujatiach a univerzitách. Je členom výboru International Society of Chemotherapy pre uroinfekcie, členom European Society for Biomodulation and Chemotherapy, European Renal Association (EDTA-ERA), International Society of Nephrology, International Society for Infectious Diseases a členom Newyorskej Akadémie vied. V r. 2000 bol kooptovaný za člena Infectious Diseases Society of America. Od roku 2003 je vedeckým sekretárom a od roku 2016 prezidentom Slovenskej gerontologickej a geriatrickej spoločnosti a zástupcom šéfredaktora časopisu Geriatria.

Partner 7 – Ústav molekulárnej biológie Slovenskej akadémie vied

Dr. Domenico Pangallo, DrSc. – odborný garant

Profil:

- vedúci oddelenia Mikrobiálnej Ekológie, zodpovedá za výskum laboratória Environmentálnej a Potravinovej Mikrobiológie (LEPM) na Ústave molekulárnej biológie SAV. Vedomosti z mikrobiológie prepája s bohatými skúsenosťami získanými pri využívaní molekulárnych metód, založených hlavne na použití PCR a sekvenovania novej generácie (NGS - next generation sequencing) pri analýze komplexnej mikrobioty (mikrobiómu), pri navrhovaní špecifických prôb a primerov a pri subtypizačnom zatriedovaní mikroorganizmov. Aplikoval viacero molekulárno-biologických techník vo výskume mikrobiálnej komunity (mikrobiómu) zastúpenej v rôznych typoch vzoriek: environmentálne (aeróbne a anaeróbne podmienky), potravinové, ale aj rastlinné a živočíšne. Je členom International Biodeterioration & Biodegradation Society a tiež Československej spoločnosti mikrobiologickej. V júni 2016 bol so svojou skupinou ocenený Cenou Slovenskej Akadémie Vied ako najlepší vedecký kolektív SAV za výsledky vedecko- výskumnej práce Deteriorácia kultúrneho dedičstva a kvalita tradičných slovenských potravín: štúdium ich mikrobiálnych komunit. Dr. Pangallo a jeho kolektív sú autormi prihlášky (M18097) na slovenský patent: Biopreparát z Exiguobacterium undae, spôsob jeho výroby a jeho použitie.

Iné relevantné info/kontakty/web	
<p><u>Subjekt/prijímateľ pomoci – Univerzita Komenského v Bratislave</u></p> <p>Kontaktná osoba: Ing. Tomáš Adamík, 0911 77 88 23, tomas.adamik@uniba.sk</p>	<p><u>Partner 1 – GENETON s.r.o.</u></p> <p>Kontaktná osoba: Monika Velická, 0918 321 067, monika.velicka@geneton.sk</p>
<p><u>Partner 2 – Chemický ústav Slovenskej akadémie vied</u></p> <p>Kontaktná osoba: Mgr. Mária Šedivá, 02/594 10 281, maria.sediva@savba.sk Margita Plšková, 02/594 10 295, margita.plskova@savba.sk</p>	<p><u>Partner 3 – MEDIREX GROUP ACADEMY n.o.</u></p> <p>Kontaktná osoba: Mgr. Diana Ďuricová, 0908 290 376, diana.duricova@medirexgroupacademy.sk</p>
<p><u>Partner 4 – POWERTEC s.r.o.</u></p> <p>Kontaktná osoba: Ing. Ján Šubjak, 0904 443 721, subjak.jan@gmail.com</p>	<p><u>Partner 5 – Slovgen s.r.o.</u></p> <p>Kontaktná osoba: Ing. Marcela Bieliková, 0905 550 916, bielikova@slovgen.sk</p>
<p><u>Partner 6 – Univerzitná nemocnica s poliklinikou Milosrdní bratia, spol. s r. o.</u></p> <p>Kontaktná osoba: Ing. Jarmila Sandtnerová, 0903 722 772, jsandtnerova@milosrdni.sk</p>	<p><u>Partner 7 – Ústav molekulárnej biológie Slovenskej akadémie vied</u></p> <p>Kontaktná osoba: Ing. Anna Varcholová, 02/593 07 414, anna.varcholova@savba.sk</p>