



Univerzita Komenského v Bratislave  
Vedecký park

Ilkovičova 8  
841 04 Bratislava

## **Výročná správa o činnosti za rok 2023**

**Univerzita Komenského v Bratislave  
Vedecký park**

**prof. RNDr. Jozef Masarik, DrSc.**  
poverený zastupovaním  
riaditeľa VP UK

## **5.4 Využitie výsledkov v praxi**

### *Univerzita Komenského v Bratislave, Vedecký park (VP UK)*

Hlavným poslaním VP UK je zabezpečenie prenosu výsledkov vedy a techniky do hospodárskej a spoločenskej praxe. Cieľom je prepojenie UK s praxou a zároveň aj participácia na výzvach a projektoch v rámci domácich a medzinárodných grantových schém. VP UK ako vedeckovýskumné pracovisko vykonáva koncentrovaný inovatívny výskum vo vybraných vedných oblastiach biomedicíny, biotechnológií, enviro-medicíny a interdisciplinárneho výskumu.

Samotný vznik a rozvoj podnikov vychádzajúcich z akademického prostredia UK je podporovaný Inkubátorom VP UK zameriavajúcim sa na využívanie výsledkov výskumu a vývoja nových, inovatívnych produktov, tovarov a služieb. Technologické centrum VP UK sa zasa zameriava na úzku spoluprácu s podnikateľskou praxou a zároveň svojimi aktivitami prispieva k popularizácii vedy a výskumu.

### ***Podpora využívania dosiahnutých výsledkov vo výskume a v praxi***

Centrum transferu technológií Univerzity Komenského v Bratislave (ďalej len „CTT UK“) je špecializované pracovisko s celouniverzitnou pôsobnosťou zaradené v organizačnej štruktúre VP UK. Hlavným poslaním Centra transferu technológií UK je zabezpečovanie ochrany duševného vlastníctva UK, jeho správa a poskytovanie podpory vedeckým a výskumným pracoviskám UK pri realizácii ochrany duševného vlastníctva a jeho transferu do praxe.

Za účelom implementácie týchto procesov CTT UK zabezpečuje:

- nakladanie a správu priemyselného vlastníctva UK,
- poradenstvo v oblasti realizácie transferu technológií,
- vypracovanie rešerší na stav techniky, prípadne sprostredkovanie ich vypracovania kompetentnými autoritami kompetentnými autoritami (napr. ÚPV SR, PATLIB centrá a pod.),
- identifikáciu predmetov priemyselného vlastníctva a ohodnocovanie ich komerčného potenciálu,
- spoluprácu pri príprave patentových a iných prihlášok,
- vyhľadávanie potenciálnych partnerov pre komerčné využitie predmetov priemyselného vlastníctva UK a podporu pri vedení rokovaní s nimi,
- podporu pri uzatváraní zmlúv na vytvorenie a komerčné využitie predmetov priemyselného vlastníctva UK,
- vypracovanie licenčných zmlúv, zmlúv o vysporiadaní majetkových práv k predmetom priemyselného vlastníctva a iných zmlúv súvisiacich s transferom technológií,
- interný marketing s cieľom informovať zamestnancov UK o činnosti a úlohách CTT UK a dohliadať na povinnosť zamestnancov UK oznamovať vytvorenie predmetov priemyselného vlastníctva v pracovnoprávnom vzťahu,
- archiváciu všetkých dokumentov spojených s predmetmi priemyselného vlastníctva.

V priebehu roka 2023 zaevidovalo CTT UK jedenásť nových oznámení o vytvorení predmetu priemyselného vlastníctva, ktorých pôvodcami sú zamestnanci UK.

V sledovanom období sme realizovali kroky smerujúce k zabezpečeniu priemyselnoprávnej ochrane vynálezov, a za týmto účelom bolo podaných sedem národných patentových prihlášok a jedna prihláška úžitkového vzoru na Úrade priemyselného vlastníctva SR a tri medzinárodné patentové prihlášky podľa Zmluvy o patentovej spolupráci (PCT prihlášky). Okrem toho CTT UK zabezpečilo vstup PCT prihlášky č. PCT/SK2021/050016 do regionálnej fázy konania prostredníctvom Euro-PCT a vstup PCT prihlášky č. PCT/SK2021/050015 do národných fáz konania v Číne a Indii.

V roku 2023 boli Univerzite Komenského v Bratislave udelené štyri patenty a zapísané dva úžitkové vzory.

CTT UK tiež koordinovalo prebiehajúce konania a aktívne komunikovalo s pôvodcami predmetov priemyselného vlastníctva, ktoré má vo svojej evidencii.

V priebehu roka 2023 bola medzi UK a spoločnosťou FABA INCUBE a. s. uzatvorená zmluva o spolupráci, ktorej predmetom je spolupráca v oblasti komerčného využitia (komercializácie) výsledkov výskumu vzniknutého na UK. Okrem toho boli vynaložené ďalšie kroky smerujúce ku komercializácii predmetov priemyselného vlastníctva v majetku UK a oslovení boli viacerí potenciálni záujemcovia.

V sledovanom období bol prijatý Vnútny predpis 33/2023 o výkone autorských a súvisiacich práv na Univerzite Komenského v Bratislave, ktorý je záväzný pre všetkých zamestnancov UK. Na jeho vypracovaní sa podieľalo CTT UK.

V roku 2023 sa CTT UK stalo víťazom 11. ročníka súťaže Cena za transfer technológií na Slovensku 2023 v kategórii Počin v oblasti transferu technológií za úspešný transfer technológie „Spôsob neinvazívneho testovania úspešnosti in vitro fertilizačného procesu“ do praxe realizovaný formou prevodu práv.

V rámci interného marketingu zorganizovalo CTT UK v spolupráci s Centrom transferu technológií pri CVTI SR podujatie s názvom „TT mentoring day na Univerzite Komenského v Bratislave“, ktorého cieľom bolo zvýšenie povedomia o oblasti ochrany duševného vlastníctva a transferu technológií medzi zamestnancami a študentmi UK, ako aj predstavenie CTT UK.

Centrum naďalej spolupracuje s Centrom vedecko-technologických informácií SR, ako aj s ostatnými pracoviskami zabezpečujúcimi transfer technológií na Slovensku.

### ***Technologické centrum Vedeckého parku***

Vedecký park UK v roku 2023 pokračoval výskumnej spolupráci s podnikateľskými subjektmi v oblastiach špecializácie VP UK, a to v prostredí špecializovaného výskumného pracoviska - Technologické centrum Vedeckého parku UK, ktoré bolo zriadené ku 01.01.2017 ako jeden z cieľov projektu Univerzitný vedecký park Univerzity Komenského v Bratislave. Technologické centrum sa zameriava na výskum a vývoj nových technológií, výrobkov a služieb v úzkej spolupráci s podnikateľskou praxou.

Ku 31.12.2023 pôsobilo v centre na základe Zmluvy o spolupráci 13 spoločností. Okrem možnosti využívať infraštruktúru VP UK je predmetom spolupráce:

- kooperácia pri vedeckej a výskumnej činnosti,
- účasť na tvorbe návrhov a spolupráca pri realizácii domácich a zahraničných projektov, najmä spoločné projekty v rámci APVV grantov a Operačného programu Integrovaná infraštruktúra
- koordinácia spoločných aktivít pri riešení príležitostí projektov a grantov,
- integrované vedecko-výskumné programy,
- poskytovanie informácií a najnovších dosiahnutých poznatkov z oblasti vedy a výskumu,
- výmena skúseností, príp. vzájomná podpora a spolupráca pri aktivitách medzinárodného charakteru,
- konzultačná činnosť podľa možností zmluvných strán,
- účasť na spoločných organizovaných podujatiach v oblasti vedy a výskumu,
- vzájomná propagácia.

Na zmluvy o spolupráci nadviazali zmluvy o partnerstve v rámci projektov financovaných z Operačného programu Integrovaná infraštruktúra a zároveň pokračovali partnerstvá v rámci riešenia grantov Agentúry na podporu výskumu a vývoja. Projektovými partnermi boli Centrum vedecko-technických informácií SR, GENETON, s.r.o., Slovgen, s.r.o., MEDIREX GROUP ACADEMY, n.o. a Lambda Life, a.s.

### ***Inkubátor Vedeckého parku***

Zameranie Inkubátora VP UK je smerované na systematický rozvoj podnikateľských znalostí, zručností a kompetencií študentov, zamestnancov a spolupracovníkov UK. Ďalej ide o spájanie ich výskumných a podnikateľských záujmov naprieč všetkými disciplínami a generáciami s cieľom zabezpečiť a podporovať komerčný transfer a kapitalizáciu vedeckých a technologických znalostí a poznania z akademickej pôdy UK do nových a životaschopných firiem, predovšetkým do inovatívnych startupov a spin-offov.

Prístup ku infraštruktúre VP UK má aj ďalších, približne 200 výskumníkov a ďalších doktorandov z prostredia Univerzity Komenského v Bratislave, ktorí sa aktívne podieľajú na výskumných činnostiach VP UK, alebo využívajú prístrojové vybavenie pre svoje výskumné úlohy.

## **Príloha 7 Výročnej správy: Výskumné činnosti Vedeckého parku UK**

Výskumné činnosti boli zamerané najmä na implementáciu projektov v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra, Operačného programu Kvalita Životného prostredia, grantov APVV, VEGA a SASPRO.

V roku 2023 bolo riešených 9 projektov v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra, 5 APVV grantov, 1 projekt v rámci SASPRO a 1 VEGA grant.

Laboratória Vedeckého parku boli aktívne zapojené do národného sekvenovania pozitívnych COVID-19 izolátov v spolupráci s Úradom verejného zdravotníctva SR (ďalej len „ÚVZ SR“) a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR.

### ***Laboratórium genomiky a bioinformatiky***

Národné sekvenovanie respiračných patogénov

Aj v roku 2023 sa Vedecký park zapájal do programu národného sekvenačného dozoru v súlade s plánom Európskeho centra pre prevenciu a kontrolu chorôb (ECDC) pre obdobie 2021 – 2027. Jedným z hlavných zámerov je zabezpečiť, že osoby s rozhodovacou právomocou budú ďalej dostávať potrebné rady a vedecké dôkazy, ktoré podporia zmeny v politike a praxi v oblasti prevencie a kontroly prenosných chorôb. Hlavnou úlohou aj naďalej zostane monitorovanie prenosných chorôb. ECDC však tiež bude podporovať členské štáty pri implementácii digitálnych systémov dohľadu. ECDC poskytuje usmernenia o integrácii a interoperabilite dohľadu nad prenosnými ochoreniami. Tento prístup je nevyhnutný pre včasný, pevný a digitálny monitorovací systém na úrovni EÚ. Systém vyžaduje optimálnu kombináciu zdrojov údajov a najnovších technológií, aby sa vytvoril tok údajov, ktorý poskytne relevantné informácie na boj proti hrozbám pre verejné zdravie.

V tomto smere bolo v roku 2023 Národné sekvenovanie na Vedeckom parku UK zamerané najmä na sekvenovanie klinických izolátov SARS-CoV-2, ktoré kontinuálne pokračovalo na základe rozhodnutia Pracovnej skupiny Pandemickej komisie SR. Okrem sekvenovania klinických izolátov sme pravidelne sekvenovali aj vzorky odpadových vôd v SR. Počas celého roku sme zaznamenali výlučne variant Omikron VOC a jeho postupnú evolúciu na ďalšie podvarianty a jeho rekombinanty. Obdobie Omikronu bolo sprevádzané nárastom a poklesom novoinfikovaných osôb identifikovaných rt-PCR metódami v komerčných laboratóriách. Vďaka použitiu vysokokapacitného sekvenátora Illumina NextSeq 2000 s vyššou sekvenačnou kapacitou, a zapojeniu Regionálnych Úradov verejného zdravotníctva (Trenčín, Banská Bystrica a Košice), sme dokázali pokryť dopyt na sekvenovanie všetkých vzoriek, ktoré boli vybrané na účely monitoringu cirkulujúcich variantov SARS-CoV-2. Aj v roku 2023 patrilo medzi kľúčové opatrenie zavedenie a intenzívne využitie integrovaného informačného systému s názvom NarCoS (Národné COVID Sekvenovanie) a jeho integrácia s IS COVID a IS EPIS, ktoré sú kľúčovými štátnymi systémami pre riadenie pandémie a infekčných ochorení.

Zabezpečilo sa tým efektívne plánovanie, koordinácia, logistika, tok dát a sprievodných metadát počas celého roku 2023. NarCoS sme optimalizovali a modifikovali podľa nových požiadaviek a nomenklatúr WHO a ECDC. V roku 2023 sme pokračovali aj intenzívnou analýzou odpadových vôd. Je to pomerne zložitá metóda, pretože okrem stanovenia prítomnosti viacerých variantov je za potreby aj ich kvantifikácia pre každú odobratú vzorku

odpadových vôd. Overený algoritmus a parametre pre bioinformatické spracovanie výsledkov sekvenovania nám umožnili modelovanie množstva variantov prítomných v odpadových vodách, čím sme prispeli k systematickému monitoringu odpadových vôd na Slovensku.

Ku dňu 31.12. 2023 bolo Vedeckým parkom UK celkovo sekvenovaných 1 532 vzoriek klinických izolátov pozitívnych na SARS-CoV-2. Za Vedecký park UK bolo v roku 2023 v databáze GISAID registrovaných 1 259 genómov SARS-CoV-2 izolátov (82,2% zo sekvenovaných SARS-CoV-2 pozitívnych vzoriek). Čo sa týka odpadových vôd, Vedecký Park UK v Bratislave bol jediným laboratóriom, ktoré robilo sekvenačné analýzy tohto typu. Za rok 2023 sme celkovo sekvenovali 578 vzoriek.

Prehľad frekvencie variantov je na obrázku X1 nižšie. Vzhľadom na stále obavy z výskytu VOC variantu Omikron a narastajúci výskyt jeho sub-variantov (napr. XBB.2.86 a JN.1) sekvenovanie klinických ako aj odpadových vôd pokračuje podľa požiadavky ÚVZ SR aj v roku 2024.

V rámci projektu Národného sekvenovania dochádzalo ku komunikácii s pracoviskami Úradu verejného zdravotníctva v Bratislave, Regionálnych úradov verejného zdravotníctva (Trenčín, Banská Bystrica a Košice), zameraných na riešenie prípadných komplikácií vznikajúcich pri nahrávaní sekvenčných dát do systému NarCoS a jeho používania. V neposlednom rade sme dbali aj na publicitu týchto aktivít.

#### Monitoring ďalších respiračných vírusov

Okrem sekvenovania vírusu SARS-CoV-2 sme v spolupráci s Úradom verejného zdravotníctva SR zaviedli sekvenovanie a bioinformatickú analýzu aj ďalších respiračných patogénov, ako sú chrípka, respiračný syncyciálny vírus, a iné. Chrápka predstavuje závažný celosvetový zdravotný problém, ovplyvňujúci všetky krajiny. Ročne sa odhaduje približne jedna miliarda prípadov sezónnej chrípky, ktorá spôsobuje tri až päť miliónov závažných ochorení vrátane až 650 000 úmrtí na celom svete (zdroj: [www.who.int](http://www.who.int)). Navyše, neustále vznikajú nové varianty chrípky, ktoré môžu viesť k pandémiám, narušujúc spoločnosti a spôsobujúc milióny úmrtí. Vírusy chrípky sa neustále vyvíjajú do nových foriem a rýchlo sa šíria, podobne ako SARS-CoV-2, vírus zodpovedný za ochorenie COVID-19.

Na Slovensku sa v minulom období hlásilo 998 381 prípadov akútnych respiračných ochorení (ARO), čo predstavuje chorobnosť 43 865,7 na 100 000 osôb v starostlivosti hlásiacich lekárov. Tento počet je v porovnaní s predchádzajúcou sezónou chrípky 2020/2021 vyšší o 653 352 prípadov, čo znamená nárast o 189,4% (zdroj: [www.uvzs.sk](http://www.uvzs.sk)). Tieto závažné dáta podčiarkujú potrebu kontinuálneho genomického dohľadu nad respiračnými patogénmi. V predošlom roku sa nám na Vedeckom parku UK podarilo osekvenovať celkovo 449 vzoriek pozitívnych na respiračný patogén. Analýzou dát týchto vzoriek boli detekované subtypy chrípiek A (H1N1), chrípky B (lúnia Victoria) a respiračný syncyciálny vírus. Úspešne osekvenované vzorky boli nahraté do databázy GISAID.

#### Monitoring ďalších patogénov

##### Vírus hepatitídy typu A a N. meningitidis

Vzhľadom na vzniknutú potrebu riešiť epidemiologické výzvy a požiadavky zo strany ECDC sme v spolupráci s Úradom verejného zdravotníctva SR v roku 2023, zaviedli aj sekvenovanie vírusu hepatitídy typu A (HAV) a N. meningitidis. Doteraz sa nám podarilo osekvenovať 41

vzoriek N. meningitidis a 49 vzoriek vírusu hepatitídy typu A. Tieto vzorky pochádzali hlavne z lokálnych epidémií na Slovensku - Jarovnice (N. meningitidis) a Pečovská Nová Ves (HAV). Po osekvenovaní boli vzorky bioinformaticky spracované a následne identifikované patogény nahraté do príslušných zdieľaných databáz - HAVNet databáza pre vírus hepatitídy typu A a PubMLST pre N. meningitidis.

Pokračovanie v sekvenovaní týchto patogénov je nevyhnutné z viacerých dôvodov: 1. Identifikácia kmeňa - sekvenovanie umožňuje identifikovať konkrétny kmeň alebo sérotyp zodpovedný za epidémiu. Táto informácia je kľúčová pre ciele intervenčné stratégie; 2. Epidemiologické vyšetovanie - sekvenovanie pomáha epidemiológom vysledovať zdroj a šírenie patogénu. Porozumenie tomu, ako sa patogén šíri v komunite, je nevyhnutné pre účinné verejné zdravotné opatrenia na kontrolu epidémie; 3. Návrh a hodnotenie očkovacích látok - sekvenovanie umožňuje monitorovať genetické variácie a mutácie v genóme patogéna. Táto informácia je dôležitá pre návrh a aktualizáciu očkovacích látok, aby sa zabezpečilo ich účinné pôsobenie proti cirkulujúcim kmeňom;

Monitorovanie rezistencie voči antibiotikám - N. meningitidis si môže vyvinúť rezistenciu voči určitým antibiotikám. Sekvenovanie, tak pomáha sledovať vznik kmeňov odolných voči antibiotikám, umožňujúc poskytovateľom zdravotnej starostlivosti prispôbiť stratégie liečby podľa potreby; 5. Globálny monitoring - údaje zo sekvenovania možno zdieľať a analyzovať na medzinárodnej úrovni a tým pádom prispieť k širšiemu pochopeniu epidemiológie tohto patogénu.

Na rok 2024 sa nám podarilo úspešne nominovať na GenEpi-BioTrain školenie, ktoré organizuje Európske centrum pre prevenciu a kontrolu chorôb (ECDC, z angl. European Centre for Disease Prevention and Control), zaoberajúce sa infekciami, ktorým možno predchádzať očkovaním. Medzi tieto patrí aj spomínaná N. meningitidis.

#### Antimikrobiálna rezistencia (AMR)

Pri príprave na rozšírenie monitorovacieho systému o ďalšie spoločensky a medicínsky dôležité patogény sa vyvíjala aj bioinformatická pipeline, zameraná na detekovanie a detailný popis patogénov rezistentných na antibiotiká. Tie sú veľkým problémom v zdravotníckych zariadeniach a ich zastúpenie v populácii dlhodobo rastie. Na pozvanie ECDC sme sa zúčastnili medzinárodného školenia GenEpi-BioTrain zameraného na sekvenáciu surveillance AMR génov a detekciu vypuknutia epidémie. V súvislosti s nadchádzajúcou Európskou legislatívou požadujúcou medzinárodné reportovanie antimikrobiálnych rezistencií na úrovni genómov, bol navrhnutý a otestovaný algoritmus na ich detekciu. 59 testovaných vzoriek pochádzalo z Úradu verejného zdravotníctva SR, ktorý ich zbieral z nemocníc z celého Slovenska. Majoritu vzoriek tvorili multirezistentné alebo na všetky antibiotiká odolné *Klebsiella pneumoniae* a *Enterobacter hormaechei*. Spracovaných bolo aj 6 vzoriek pochádzajúcich zo salmonelóz kde bolo dôležité zistiť ich molekulárnu príbuznosť a určiť virulénne faktory.

#### NarCos 2

Národný projekt sekvenovania vírusu SARS-CoV-2 predstavuje značnú výzvu pre laboratóriá zodpovedné za zbieranie, izoláciu a laboratórne spracovanie vzoriek, ako aj pre výpočtové centrá, ktoré zabezpečujú analýzu získaných údajov, ich dlhodobé uloženie, interpretáciu agregovaných výsledkov a ich zverejnenie v verejných databázach. Tieto činnosti často vyžadujú účasť IT špecialistov, vrátane vývojárov, bioinformatikov a administrátorov serverov, ktorí nie sú typickými členmi laboratórií. Aby boli výsledky porovnateľné, tak

sekvenačných údajov by mal byť jednotný vo všetkých zapojených sekvenačných centrách. Ukladanie týchto údajov na spoločnom mieste umožňuje plošné opakované analýzy, ktoré môžu viesť k vylepšeniu výpočtových postupov a odhaleniu použiteľných vzorov, čím prispievajú k štúdiu dynamiky vírusu. NarCoS systém všetky tieto procesy uľahčuje a poskytuje sekvenačným centráм unifikovanú analýzu, ktorá nasleduje po osekvenovaní laboratórnych vzoriek. Webová aplikácia určená pre laboratórnych pracovníkov a výskumníkov, ktorá umožňuje sledovať a upravovať toky sekvenačných údajov bola intenzívne využívaná po celý rok 2023.

Počas roka 2023 bol vyvinutý nový expertný systém NarCoS 2, ktorý bol dizajnovaný pre doplnenie nových monitorovaných patogénov v princípe s voľnou rozšíriteľnosťou. Je inštalovaný na CVTI SR a používaný celým konzorciom zapojeným v Národnom genomickom dozore. Oproti pôvodnej verzii informačného systému sme implementovali niekoľko významných zmien, ktoré výrazne ovplyvnili vnútornú štruktúru systému. Hlavným dôvodom pre zmenu architektúry bola potreba efektívneho zahrnutia vyhodnocovania nových typov vzoriek v budúcnosti. Toto sme dosiahli zavedením entít setov analýz, ktoré skupujú vzorky sekvenačných behov podľa ich typu. Nový systém je od základov vybavený logikou CI/CD (Kontinuálna integrácia a nasadenie). To znamená, že každá mikroslužba prechádza sériou testov pred nasadením do produkčného prostredia. Kód je integrovaný po dôkladných recenziách a nasadený najprv do testovacích prostredí. Pre dosiahnutie robustnosti a zachovanie integrity systému sme opustili vývoj jednej hlavnej API. Na jej miesto vzniklo viacero menších, nezávislých mikroslužieb, zodpovedných za jednoduché úlohy. Tieto mikroslužby medzi sebou komunikujú prostredníctvom tzv. message queue, ktorý zabezpečuje prijímanie a odosielanie správ medzi nimi na základe konfiguračných nastavení. Užívateľské rozhranie prešlo výraznými zmenami v porovnaní s pôvodnou verziou. Teraz je postavené na staticky typovanej verzii Javascriptu - Typescript. Jasné definovanie typov objektov nielen dokumentuje kód, ale tiež bráni vývojárom v zavádzaní chýb. Okrem toho sme prešli na úplne novú knižnicu komponentov, čo prinieslo jednotnejší vzhľad a zrýchlenie funkcií v novej verzii systému.

#### Ukončené projekty výskumnej agentúry

Long-term strategic research and development focused on the occurrence of Lynch syndrome in the Slovak population and possibilities of prevention of tumors associated with this syndrome (PreveLynch), ITMS: 313011V578

Členovia riešiteľského kolektívu projektu PreveLynch sa zúčastnili školenia k inštalácii systému NovaSeq 6000 (Illumina), ktorého náplňou bolo oboznámenie sa s technickými parametrami a špecifikáciami daného systému, ako aj spôsobmi primárnej, sekundárnej a terciárnej analýzy generovaných sekvenačných dát. Nadobudnuté znalosti boli aplikované pri príprave sekvenačných analýz s priamou väzbou na aktivity projektu.

Pracovníci sa priebežne venovali aj štúdiu odbornej vedeckej literatúry, ktoré je nevyhnutné pre udržanie plynulého naplňovania míľnikov projektu. Nadobudnuté poznatky poslúžili ako podklad pre prípravu manuskriptov, ktoré boli publikované v odborných vedeckých žurnáloch registrovaných v databázach Web of Science alebo SCOPUS a/alebo v iných databázach. Pracovníci sa v tomto období aktívne účastnili viacerých odborných podujatí na slovensku (XVII. Vedecká konferencia doktorandov Lekárskej fakulty UK; Študentská Vedecká Konferencia Prírodovedeckej fakulty UK 2023) aj v zahraničí (Molecular and Precision Medicine TRI-CON 2023), kde formou posterov a prednášok prezentovali preliminárne

výsledky projektu PreveLynch. Na týchto podujatiach tiež boli prezentované a diskutované viaceré témy relevantné k aktivite č. 1 projektu PreveLynch, nadobudnuté poznatky preto pomohli členom riešiteľského kolektívu nasmerovať ďalší výskum v oblasti tekutej biopsie a humánnej genetiky.

Pomocou softvéru Research Electronic Data Capture (REDCap) bola vytvorená štruktúra nástroja na zber klinických a anamnestických údajov, ktorý slúži ako podklad pre centrálnu databázu Lynchových rodín. Viaceré polia vyžadovali zložitejšiu štruktúru vetvenia na základe podmienených príkazov, preto bola databáza priebežne testovaná a optimalizovaná. Prebiehala tiež manuálna úprava a kontrola metadát prislúchajúcich účastníkom projektu PreveLynch, tak aby mohlo dôjsť k ich importovaniu do centrálnej databázy Lynchových rodín. Následne sme v rámci databázy vygenerovali report, ktorý reprezentuje minimálnu dátovú štruktúru PLSD pre prospektívne štúdie. Report je v súčasnosti možné kedykoľvek exportovať vo formáte .csv, ktorý poskytuje podklad pre harmonizáciu dát s medzinárodnou databázou PLSD.

Priebežne sa konali pracovné stretnutia za účelom koordinácie činností jednotlivých členov spoluriešiteľského kolektívu projektu PreveLynch v rámci VP UK. Vybrané vzorky z populačnej vetvy, vetvy pacientov s kolorektálnym karcinómom a vetvy pacientov s Lynchových rodín boli použité na izoláciu genomickej DNA (gDNA) z krvi vybraných pacientov s kolorektálnym karcinómom a jedincov populačnej štúdie. Následne boli stanovené ich kvalitatívne a kvantitatívne parametre a gDNA bola fragmentovaná pomocou ultrasonikácie na prístroji Covaris. Po overení veľkosti fragmentov nasledovala príprava celogenómových NGS knižníc, overovanie kvantity, stanovenie dĺžkového profilu finálnej knižnice a následná sekvenačná a bioinformatická analýza.

Center for biomedical research - BIOMEDIRES - II. phase, ITMS: 313011W428

Členovia riešiteľského kolektívu projektu Biomedires II sa v rámci aktivity č. 2 venovali štúdiu odbornej vedeckej literatúry, za účelom rozširovania poznatkovej bázy pri detekcii a hodnotení mikrosatelitovej instability (MSI) zo sekvenačných dát získaných pomocou MPS. Výstupom tejto činnosti boli spísané viaceré rešerše na základe ktorých vznikli aj manuškripty publikované v Slovenských recenzovaných žurnáloch ako aj v zahraničných žurnáloch indexovaných v databázach Web of Science a/alebo SCOPUS.

Počas tohto obdobia pracovníci navrhli sekvenačný panel zameraný na analýzu vybraných mikrosatelitových pozícií a genomických oblastí, ktoré sú relevantné pre endometriálny karcinóm. Tento panel bol podkladom pre vytvorenie inovatívnej metódy na stanovenie MSI pomocou MPS.

Vzorky vyzbierané v rámci projektu boli priebežne evidované a spracovávané. Následne prebiehala kontrola dostupných klinických a anamnestických údajov k zaradeným pacientkám (metadáta) a ich príprava pre konverziu do potrebných dátových foriem. Boli spracované najmä údaje morfometrických analýz, histologických a imunohistochemických markerov so špeciálnym zreteľom na kvantifikáciu MSI proteínov, ktoré boli potrebné na porovnanie výsledkov konvenčných genetických metód s navrhnutým prístupom na stanovenie MSI na báze MPS. Dáta boli navrhnuté do takej formy, aby boli vhodné pre porovnanie klinických nálezov, za účelom posúdenia klinického stavu pacientiek v rámci štúdia endometriálnych patológií a endometriálnych karcinómov. Po priradení metadát ku vzorkám boli vytypované vhodné vzorky tkanív od pacientiek s endometriálnym karcinómom na ďalšie spracovanie, teda izoláciu nukleových kyselín, prípravu sekvenačných knižníc a testovanie navrhnutého sekvenačného panelu.

Popri laboratórnych aktivitách pracovníci tiež uskutočňovali pravidelnú údržbu sekvenátorov druhej generácie potrebných na riešenie projektových úloh, aby bolo zabezpečené plynulé napĺňanie mílnikov aktivity č. 2 projektu Biomedires II.

Kedže komplexné hodnotenie celkového súboru vygenerovaných dát je časovo a výpočtovo náročné (hodnotia a porovnávajú sa vzájomne dáta generované v jednotlivých podaktivitách), v období odovzdávania záverečnej správy sa na tom stále intenzívne pracuje. Pilotné vyhľadávanie korelácií medzi sledovanými parametrami však už teraz odhalilo určité sľubné korelácie viacerých metrik s prítomnosťou nádoru, pričom sa našla tiež slabšia korelácia so štádiom nádoru. Na vyvodenie jednoznačných záverov však bude potrebné tieto pilotné výsledky potvrdiť na celkovom vygenerovanom dátovom súbore.

Pangenomics for personalized clinical management of infected persons based on identified viral genome and human exoma - (PanClinCov), ITMS: 313011ATL7

V rámci aktivity č. 2 boli počas riešenia projektu porovnávané rôzne izolačné postupy nukleových kyselín, predovšetkým RNA z nazofaryngeálnych sterov pochádzajúcich od pacientov pozitívnych na ochorenie Covid-19. Zároveň boli porovnávané aj rôzne prístupy prípravy NGS knižníc určených na vysokoparalelné sekvenovanie za účelom optimalizácie postupov laboratórneho spracovania vzoriek a amplifikácie genómu vírusu zo vzorky. S cieľom zistiť vírusovú nálož SARS-CoV-2 u jednotlivých pacientov a určiť tak CT hodnotu, bola vykonaná qPCR analýza vzoriek. Z izolovaných nukleových kyselín boli pripravené NGS sekvenačné knižničky a boli zahájené sekvenačné analýzy klinických vzoriek pacientov s Covid-19, kde bola identifikovaná genómová variabilita vírusu.

V rámci aktivity č.3 prebiehala v období realizácie projektu rešerš databáz GISAID a ENA, ktoré slúžia na nahrávanie dát získaných z NGS analýz izolátov SARS-CoV-2 vírusu. Prebehlo testovanie anotačných nástrojov Nexclade a Pangoline, pričom bolo porovnávané manuálne vyhodnotenie sekvenačných dát z NGS analýz SARS-CoV-2 a určeníu príslušného cladu v porovnaní s jeho automatizovaným určením pomocou Nextclade a Pangoline. Ďalej prebiehalo vyhodnocovanie dát vygenerovaných a získaných v aktivite č. 2, boli hodnotené rozdielne prístupy z hľadiska pokrytia jednotlivých oblastí genómu vírusu, záchyt jednotlivých mutácií a následné určenie kmeňa vírusu. Bola realizovaná tvorba pipeline pre automatizáciu uvedenia software-u do produkčného prostredia, na príprave repozitárov pre automatizovanie nasadzovania softvéru zabaleného v kontajneroch, písaniu dokumentácie a jej nasadeniu a štúdiom spôsobu automatizovaného nasadzovania kontajnerizovaných aplikácií. V procese spracovania sekvenačných dát boli použité softvérové riešenia pre rýchle určovanie báz pre nanopórové sekvenovanie, ktorými sú DeepNano-blitz, Osprey, Heron. Pre účely monitorovania nanopórových sekvenačných behov za pomoci ARTIC protokolu bol použitý softvér pande-mic + dashboard. Bol vyvinutý interný softvér pre spracovanie dát nanopórového sekvenovania do formy výsledkov pre databázu GISAID a na kontrolu kvality dát. V kontexte sekvenačných behov s ARTIC protokolom a v kontexte sekvenovania natívneho RNA vírusu bol vyvinutý softvér pre simuláciu adaptívneho sekvenovania. V rámci štatistickej diferenciálnej analýzy sekvenačných vzoriek bol vytvorený model pre identifikáciu signifikantne odlišne osekvenovaných oblastí na základe jednostranného exaktného Fisherovho testu s rozšíreniami o výber regiónov pomocou metód family-wise error rate (FWER) a false discovery rate (FDR). Následne boli vytvorené komplexnejšie modely, berúce do úvahy interakcie jednotlivých regiónov. Vďaka formulácii modelov ako úloh zmiešaného lineárneho, resp. kvadratického programovania je možné identifikovať

odlišne sekvenované oblasti pomocou MIQP solveru GUROBI. Tieto modely boli aplikované na analýzu vzoriek voľnej plazmovej DNA COVID-19 pacientov za účelom identifikácie prediktorov ťažkého priebehu COVID-19. Softvér na identifikáciu rozdielov v zastúpení cirkulujúcich DNA fragmentov bol implementovaný v jazyku Python (<https://github.com/fmfi-compbio/kmerdiff>). V rámci štatistickej diferenciálnej analýzy bola vyvinutá metóda na interpretáciu výsledkov pangenomických štúdií v kontexte problému hľadania zhľukov v pangenómoch. Dosiahnuté výsledky a metadáta boli spracované vo forme tabuliek, grafov a obrázkov, ktoré slúžili k následnej príprave vedeckých publikácií publikovaných v rôznych kategóriách vedeckých žurnálov. Výsledky boli prezentované na domácich a zahraničných vedeckých podujatiach, ako aj k letnej škole bioinformatiky v meste COMO v Taliansku. Ďalej sme sa podieľali na diseminačných a popularizačných aktivitách projektu v podobe krátkych príspevkov uverejnených na webe pracoviska

Integrative strategy in the development of personalized medicine for selected malignant tumors and its impact on quality of life (Lisper), ITMS: 313011V446

V rámci aktivity č. 2 projektu LISPER prebiehalo štúdium relevantnej vedeckej literatúry ako aj dokumentácie pre softvérový balík Bismark, ktorý bol využívaný pre zarovnávanie, mapovanie a následnú determináciu metylačného statusu sekvenačných čítaní získaných z bisulfidového sekvenovania. Prebiehalo testovanie navrhnutých algoritmov a optimalizácia analytickej a interpretačnej pipeline in silico.

Na základe komunikácie s Jesseniovou lekárskou fakultou UK v Martine boli vyžiadané a následne prevzaté zvyšné vzorky krvných plaziem a tkanív onkologických pacientov s karcinómom prsníka a nemalobunkovým karcinóm pľúc. Po zaevidovaní vzoriek biologického materiálu a k nim prislúchajúcich metadát prebehla extrakcia a purifikácia nukleových kyselín kolónkovou metódou na báze kremičitanových membrán. Nasledovala fluorometrická a spektrofotometrická analýza nukleových kyselín s cieľom získania čo najvyššej kvality a kvantity DNA pre metylómové sekvenovanie. Kľúčovým krokom bola príprava DNA metylačných knižníc a ich následná kvalitatívna analýza pomocou elektroforézy na čipe s cieľom určenia dĺžkového profilu potrebného pre normalizáciu finálnych knižníc. Po sekvenovaní vzoriek prebehla bioinformatická analýza. Pre generovanie fastq súborov z raw Binary Base Call (BCL) súborov, ktoré sú výstupom Illumina sekvenátorov, bola použitá vlastná "BCL to fastq pipeline". Kontrola kvality vygenerovaných fastq súborov bola vykonaná použitím nástroja FastQC. Sekvenačné dáta boli následne spracované pomocou bioinformatického nástroja Bismark (version v0.24.0).

Výstupom aktivity č. 2 projektu LISPER boli aj viaceré manuskripty publikované v odborných vedeckých žurnáloch registrovaných v databázach Web of Science alebo SCOPUS a/alebo v iných databázach.

UpScale of Comenius University Capacities and Competence in Research, Development and Innovation (USCCCORD), ITMS: 313021BUZ3

V rámci aktivity č. 4 projektu USCCCORD prebiehalo spisovanie viacerých prehľadových prác ale aj výskumných článkov, ktoré boli v uplynulom období predložené na recenzné konania do odborných žurnálov, vrátane Slovenských recenzovaných časopisov a tiež žurnálov indexovaných v databázach Web of Science a Scopus. Priebežné výstupy projektu boli tiež prezentované formou posterov a prednášok na Slovenských odborných vedeckých podujatiach ako Študentská Vedecká Konferencia PríF UK; XXXIII. Izakovičov memoriál; ale

tiež zahraničných podujatiach ako XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies; a 30th Annual Precision Med TRI-CON meeting. Abstrakty príspevkov z uvedených konferencií sú dostupné v zborníkoch (online) a boli tiež priložené k záverečnej správe projektu USCCCOR. Okrem iného boli na týchto podujatiach prezentované najaktuálnejšie výstupy v oblasti pokročilých materiálov, biotechnológií a biomedicíny, ktoré sme diskutovali so špičkovými expertami. Nadobudnuté poznatky nám pomohli smerovať výskum v oblasti biomedicíny a prispeli ku zvýšeniu konkurencieschopnosti Univerzity Komenského v Európskom priestore.

Kľúčový vedecko-výskumní pracovníci priebežne konzultovali aktuálny stav riešenia projektu s ostatnými členmi riešiteľského kolektívu. Zastrešovali najmä činnosti ako: Návrh ďalších krokov práce na projekte, so špeciálnym zameraním na koordináciu jednotlivých častí práce pre čo nejefektívnejšie dosiahnutie cieľov projektu (vrátane prípravných, laboratórnych, ale aj in silico prác, napr. výber vzoriek a spracovávanie metadát); Kontrola predbežných výsledkov a návrh postupu hodnotenia výsledkov pri finalizácii projektu. Konzultácie s vedeckými a technickými pracovníkmi s cieľom nastaviť procesy logistiky presunu surových dát vytvorených sekvenačnou analýzou.

Členovia riešiteľského kolektívu projektu sa v tomto období zúčastnil školenia, ktorého predmetom bola pokročilá práca s databázou OpenSearch, nastavenie prístupových práv a pristupovanie k metadátam účastníkov výskumu v rámci implementovaných projektov. Toto školenie bolo nevyhnutné pre realizáciu ďalšieho výskumu, nakoľko databáza v anonymizovanej forme združuje dôležité demografické, anamnestické a klinické údaje prislúchajúce k vyzbieraným vzorkám pacientov a kontrolných jedincov zo slovenskej populácie. Pristupovanie k týmto údajom bolo potrebné pre analýzy, ktoré vykonávali viacerí členovia riešiteľského kolektívu v rámci výskumných aktivít projektu USCCCOR. Následne prebiehala úprava a importovanie klinických, anamnestických a demografických údajov do elektronickej databázy REDCap. Po kontrole importovaných údajov bolo potrebné upraviť štruktúru dotazníka tak, aby sa zachovalo čo najviac relevantných informácií a eliminovali sa potenciálne chyby spojené s prenosom dát.

Prebiehala tiež kontrola a hodnotenie dostupných vzoriek/dát na uskutočnenie genomickej štúdie vzorky populácie SR. Vyhľadávanie a hodnotenie kvality údajov o známych genomických asociáciách, s ohľadom na priebeh a závažnosť ochorenia COVID-19, ako aj na náchylnosť k infekcii SARS-CoV-2. Genomická variabilita záujmu zahŕňa varianty s malým účinkom, ako aj s veľkým účinkom na fenotyp. Vykonávaná výskumná činnosť sa tiež zameriavala na štúdium a efektívnu orientáciu dostupných databáz a bioinformatických nástrojov, ktoré slúžia na anotáciu a klasifikáciu variantov z celogenómových a/alebo celoexómových genomických dát získaných technológiami masívne paralelného sekvenovania. Pracovníci využívali databázy ClinVar, OMIM a dbSNP, ktoré obsahujú informácie o klinickom význame jednotlivých genomických variantov. Boli uskutočnené rôzne filtrovania variantov, ako napr. na základe klinického významu, molekulárneho dôsledku, či typu variantu, s ohľadom na asociáciu s priebehom a závažnosťou ochorenia COVID-19. Získané údaje boli následne z webovej stránky databázy stiahnuté a pomocou programovacieho jazyka Python porovnané s tréningovým datasetom. Implementované boli aj kroky pre zostavenie prehľadných tabuliek, výstupov a porovnávaní jednotlivých výstupov. Skripty boli následne upravené tak, aby sa zabezpečila čo najväčšia automatizácia spracovania dát. Jednotlivé kroky tak smerovali k efektívnejšej klasifikácii a anotácii variantov získaných vo výsledných celogenómových sekvenačných analýz.

V rámci laboratória prebiehali činnosti ako purifikácia celkovej DNA pomocou komerčných kitov; Stanovenie kvantitatívnych (analýza fluorometrickými metódami na zistenie koncentrácie vzoriek nukleových kyselín) a kvalitatívnych (analýza pomocou elektroforézy na čípe pre určenia dĺžkového profilu DNA sekvenačnej knižnice) parametrov purifikovanej DNA; Príprava a normalizácia knižníc nukleových kyselín pre masívne paralelnú sekvenačnú (MPS) analýzu. Pracovná činnosť viedla k purifikácii DNA a následnej príprave sekvenačných knižníc, ktoré majú vhodné parametre dĺžkových profilov a koncentrácie fragmentov DNA pre MPS. Tieto činnosti boli nevyhnutným predpokladom pre generovanie výsledkov, ktoré boli využité pri tvorbe bioinformatického nástroja pre hodnotenie rizika respiračných ochorení.

V rámci bioinformatických činností sa členovia riešiteľského kolektívu venovali implementácii postupu informatického spracovania vzoriek respiračného ochorenia, ktorý je zložený z viacerých za sebou idúcich krokov, od predspracovania a mapovania sekvencií na referenčný panel respiračných ochorení, po finálne predpovedanie konkrétnych druhov respiračných ochorení pre danú vzorku. Boli implementované kroky potrebné pre: predspracovanie čítaní (filtrácia na základe kvality, indexácia referenčného panela, mapovanie sekvencií); vyhodnotenie kvality mapovania vzoriek na jednotlivé respiračné ochorenia; zostavenie reportov vo forme tabuliek i vizualizácií pre zobrazenie v tejto oblasti zaužívaných charakteristík ako napr. pokrytie referenčnej sekvencie pri mapovaní, distribúcia jednotlivých nukleotidov a podobne; zostavenie konsenzov pre jednotlivé vírusy respiračných ochorení; aj kroky pre ich následné vyhodnotenie tradičnými metrikami v porovnaní s referenčnými sekvenciami daných vírusov. Následne bol vypracovaný konfiguračný súbor ovládajúci implementovaný postup. V tomto konfiguračnom súbore boli vystavené viaceré parametre umožňujúce používateľovi ich hodnoty meniť pre účely experimentovania či prispôsobenia postupu spracovania charakteristikám vstupných dát. Výstupom je komponent bioinformatického nástroja pre hodnotenie rizika priebehu respiračných ochorení.

Súbežne tiež prebiehalo testovanie, optimalizácia a validácia bioinformatickej série softvérových algoritmov, ktoré sú vykonávané vo vopred definovanom poradí na spracovanie a analýzu vzoriek COVID-19 a ďalších respiračných ochorení. Taktiež sa venovali vyberaniu vhodných referencií na vytvorenie respiračného panelu, ktorý bol použitý v tejto bioinformatickej sérii softvérových algoritmov. Táto výskumná činnosť viedla k dokončeniu komponentu potrebného pre hodnotenie rizika priebehu COVID-19 a ďalších respiračných viróz. Výsledkom čoho je bioinformatický nástroj vo forme webovej služby pre hodnotenie rizika ťažkého/dlhého priebehu COVID-19, resp. ďalších respiračných viróz.

V tomto období bola tiež naprogramovaná sekcia stránky na spracovanie vzoriek s respiračnými ochoreniami inými ako COVID-19. Boli dokončené nasledovné časti: I.) Tabuľka vzoriek s jedným nájdeným vírusom; II.) Listing vzoriek, pre ktoré bolo nájdených viacero vírusov. III.) Sumarizácia a reportovanie vzoriek. Po dokončení bola testovaná funkčnosť všetkých častí tejto stránky a identifikované chyby, dizajnové nezhody či nepresnosti boli opravené.

V rámci tohto vykazovacieho obdobia boli tiež prijaté viaceré kroky vedúce k automatizácii sekvenačných procesov, čím sa zvýšila ich bezpečnosť a odbúrala sa potreba manuálneho zabezpečenia ich chodu. Konkrétne bol vytvorený program na automatické čítanie výstupu Qualimap. Prebehla tiež konfigurácia Dragen servera od spoločnosti Illumina, kde bolo potrebné zabezpečiť upgrade operačného systému na novú verziu; Následne bola testovaná

integrita pripojenia a vykonali sa základné konfigurácie serveru, aby sa tak zvýšilo zabezpečenie a zároveň zjednodušil prístup k výsledkom analýz. Na serveri bol nastavený basecalling software pre automatizovaný upload sekvenačných dát a následne bol konfigurovaný mailový server pre automatizované odosielanie informácií o stave spracovania jednotlivých vzoriek a príp. ďalších monitorovacích údajov.

Bola nasadená najnovšia verzia tzv. verzionovacieho systému, ktorá umožnila paralelný priebeh pipeline vo viacerých projektoch. Bola nadizajnovaná a následne nasadená API do troch prostredí: "dev" pre okamžité testovanie nových implementovaných zmien vývojarmi, "staging" pre pred-produkčné testovanie aplikácie a nakoniec "prod" pre samotný beh aplikácie v produkčnom prostredí. Rozdelenie do takýchto prostredí umožnilo robustný vývoj a zahrnutie nových zmien do produkcie s minimálnym množstvom chýb. Pri konfigurácií "staging" a "prod" prostredia boli implementované konfiguračné nastavenia dvoch typov. Prvý pre premenné mikroslužieb ktoré nie sú citlivé na prípadný únik a môžu byť bez problémov zverejnené verejnosti. Druhý pre citlivé premenné ako napríklad heslá do databázy, IP adresy alebo API kľúče. Nasadenie a verzionovanie takýchto premenných bolo zabezpečené prostredníctvom hashovacieho algoritmu nasadeného v klustri, vďaka čomu sú premenné čitateľné len v klustri no mimo neho sa javia len ako náhodný zhuk znakov. Následne prebehla migrácia verzionovacieho systému, čo zahŕňalo premigrovanie repozitárov, vytvorenie pipeline pre verzionovanie aplikácií, ukladanie image-ov do registra kontajnerov a taktiež nasadzovanie aplikácií do klustru. Migrácia verzionovacieho systému umožnila automatizované upgradovanie systému a tiež lepšiu a stabilnejšiu spoluprácu bez obáv straty skriptov. Implementácia takýchto smart technológií zabezpečila elimináciu ľudských chýb vďaka automatizácii procesov, čo umožnilo výskumníkom a laboratórnym pracovníkom sa zamerať na dôležitejšie prvky ich činnosti a tak v dlhodobom horizonte dosiahnuť kvalitnejšie výsledky.

## Implementácia APVV projektov

Identification of novel biomarkers linked to the relapse of metastatic colorectal cancer after metastasectomy (INCAM), APVV-21-0296

Kolorektálny karcinóm (CRC) patrí celosvetovo k najčastejšie diagnostikovaným malignitám. Približne 20% pacientov má v čase diagnózy aj vzdialené pečenné metastázy. Pečeň je najčastejším miestom metastáz a väčšinou jediným postihnutým orgánom. Po chirurgickom odstránení metastáz pečene (CRLM) dosahuje medián celkového prežitia (OS) 5 rokov len 31-60% pacientov. Lokálna recidíva ochorenia po resekcii je žiaľ stále vysoká a až u 50-75% pacientov sa objaví do dvoch rokov. V časovom horizonte 5 rokov po resekcii CRLM je úmrtnosť

pacientov asi 50%. Hľadaniu spoľahlivých indikačných kritérií a prediktívnych biomarkerov, ktoré by dokázali predpovedať úspešnosť metastasektómie, resp. nepriaznivú prognózu bolo venovaných mnoho retrospektívnych štúdií. Predpokladáme, že benefit z chirurgického odstránenia pečenných metastáz pri CRC veľmi závisí na genetických predispozíciách a expresnom profile nádorového tkaniva. Resekcia pečene je pritom vážna, invazívna operácia, ktorej by malo predchádzať neinvazívne vyšetrenie schopné posúdiť prognózu, ideálne napr. stanovenie špecifických cirkulujúcich nukleových kyselín z periférnej krvi (tzv. liquid biopsy). Cieľom projektu bude identifikovať spoľahlivý biomarker, resp. súbor biomarkerov v plazme pacientov, ktorý koreluje so zvýšeným rizikom relapsu po metastasektómii pečene. Pokročilé metódy sekvenovani a DNA a RNA nám umožnia identifikovať nové kandidátne biomarkery

a vyhodnotiť ich relevantnosť bioštatistickými metódami. Vybrané najperspektívnejšie markery podrobíme funkčnej analýze in vitro a in vivo na inovatívnych predklinických modeloch CRC – organoidoch a xenograftoch odvodených od patientskych vzoriek. Tie sú v súčasnej dobe považované za najlepšie modely, ktoré si uchovávajú klinickopatologické črty a genetický profil pôvodného patientskeho nádorového tkaniva.

#### Podané nové projekty

Computational methods for characterization and interpretation of genomic microsatellites for clinical applications in hereditary disorders and cancer (GenoMicrosat 2), APVV-23-0471  
Grantová schéma: APVV

Anotácia: V rámci implementovaného projektu sme vyvinuli voľne dostupný, spoľahlivý a používateľsky priateľský bioinformatický nástroj na skúmanie špecifických aspektov rôznych STR motívov, ktorý by umožnil, na základe masívne paralelného sekvenovania (MPS), zavedenie vyššej úrovne molekulárnej diagnostiky ochorení zapríčinených expanziami repetitívnych motívov a neinvazívnej detekcie mikrosatelitovej instability u pacientov s Lynchovým syndrómom. Dôležitými zložkami vyvíjaného nástroja boli moduly umožňujúce extrahovanie

informácií, akými sú počty opakovaní aliel konkrétnych lokusov s príslušnou zygozitou, exaktná sekvencia konkrétnych aliel, fáza parciálnych častí motívov v prípade komplexných motívov, znaky instability motívov, a v neposlednom rade aj prítomnosť prípadných patologických expanzií počtov opakovaní.

Innovative Lung Cancer Screening through Machine Learning-Enhanced Genomic Analysis of Exhaled Breath Condensate (INHALE), APVV-23-0520

Grantová schéma: APVV

Anotácia: Cieľom tohto projektu je riešiť rakovinové zaťaženie so zameraním na pľúcne malignity ako hlavnú príčinu úmrtí súvisiacich s rakovinou na svete. Nedávne štúdie naznačujú, že nedostatočné skriningové stratégie a absencia vhodných diagnostických markerov vedú k neskorej diagnóze, a tým podporujú rezistenciu rakoviny na liečbu. Projekt preto skúma novatívne, menej invazívne skriningové prístupy so zameraním na analýzu extracelulárnej DNA (cfDNA) z kondenzátu vydychovaného dychu (EBC) ako alternatívu k tekutým biopsiám na báze krvi. Vydychovaný dych obsahuje respiračné kvapôčky, ktoré môžu obsahovať nukleové kyseliny a rôzne infekčné agensy pochádzajúce z epitelovej výstelky dýchacieho traktu. Biopsia dychu teda môže byť sľubným neinvazívnym zdrojom genetického materiálu na analýzu pľúcnych patológií vrátane rakoviny a mikrobiálnych infekcií. Štúdiu však komplikuje nízky výťažok cfDNA vo vydychovanom dychu, takže je potrebné optimalizovať odber EBC vzoriek a použiť citlivé techniky na genetickú analýzu, ako je masívne paralelné sekvenovanie novej generácie (MPS). Okrem toho by sa mohla použiť na analýzu vzoriek s extrémne nízkym výťažkom genetického materiálu metóda nested PCR (NPCR), pretože výrazne zlepšuje špecifickosť a citlivosť detekcie, čo je kľúčové pre komplexnú analýzu mikrobiálnej diverzity. Navyše vyhodnotenie genomických údajov za pomoci modelov strojového učenia otvára nové paradigmy analýzy cfDNA, a tak by mohlo spôsobiť revolúciu v neinvazívnom skriningu rakoviny. Treba tiež poznamenať, že projekt je podporený našimi predbežnými výsledkami, ktoré naznačujú sľubný potenciál navrhovanej metodológie pre biomedicínske aplikácie, dokonca aj pri nepatrných množstvách nukleových kyselín v telových tekutinách.

Anotácia: Rakovina je významným zdravotným problémom, a jej včasné odhalenie je kľúčové pre účinnú liečbu a zníženie úmrtnosti. To je dôvod, prečo sa vyvíjajú doplnkové skrínigové stratégie na zlepšenie miery včasnej detekcie. Komfortné, cenovo dostupné a neinvazívne skrínigové metódy sú čoraz populárnejšie, pretože je menej pravdepodobné, že odradia pacientov od vyhľadania lekárskej starostlivosti.

Doplnkové skrínigové stratégie, ako sú testy na báze tekutej biopsie a kondenzátov vydychovaného dychu, ponúkajú sľubné prístupy na detekciu nádorových biomarkerov. Táto neinvazívna metóda má potenciál odhaliť genomickú variabilitu a špecifické vlastnosti extracelulárnych DNA (cfDNA), ktoré predstavujú skoré neoplastické zmeny alebo indikujú prebiehajúce nekrotické či apoptotické procesy. Cieľom projektu je navrhnúť komplexný prístup k včasnej detekcii, diagnostike a monitorovaniu progresie ochorenia na základe analýzy cfDNA pochádzajúcej z plazmy alebo vydychovaného vzduchu onkopacientov s využitím najmodernejších prístrojov a algoritmov strojového učenia. Zavedenie tohto prístupu do rutínnej praxe by mohlo významne zmeniť boj proti rakovine, zlepšiť manažment pacienta a personalizovať protinádorovú terapiu.

Terroir-MAP (Tracking EnviRonmental Relationships & Origins In Region-specific - Microbiome Analysis Project)

Grantová schéma: Plán obnovy, Veľké projekty pre excelentných výskumníkov

Anotácia: Hlavným cieľom je vytvoriť komplexnú referenčnú databázu vinohradníckych pôd vrátane zloženia pôdy, mikrobiálneho zloženia a časových/priestorových informácií. Využitie moderných metód na určenie morfometrických parametrov georeliéfu a pôdných máp na vytvorenie morfopedotopov ako podkladu na lokalizáciu reprezentatívnej siete na odber pôdných vzoriek; Regionalizácia a taxonómia jednotlivých typov pôd vinohradov; Určenie pôdných typov a subtypov vinohradov, textúry a zloženia biotických a abiotických pôd; Určiť vzťah medzi pôdnymi parametrami a mikrobiálnym zložením pôdy pomocou analýzy DNA; Opísať súvislosti medzi mikróbmi v pôde, zdravím viniča a výsledným vínom.

Počas tohto projektu budeme dva roky odoberať vzorky z piatich vinárskych oblastí na Slovensku. Počas tohto obdobia plánujeme zozbierať vzorky pôdy z približne 150 odberových miest v rôznych vinohradoch s rôznymi spôsobmi hospodárenia vrátane ekologických vinárstiev. Každý vybraný vinohrad bude zdokumentovaný pomocou fotografie z bezpilotného lietadla a bude vytvorený príslušný digitálny model terénu. Počas celého trvania projektu budeme zbierať klimatické údaje z meteorologických staníc umiestnených v blízkosti našich odberových miest. V každom mieste odberu vzoriek budeme raz hodnotiť fyzikálne vlastnosti pôdy, dvakrát jej chemické vlastnosti (raz na začiatku a raz na konci experimentu) a trikrát budeme zbierať vzorky pôdneho mikrobiómu počas každého vegetačného obdobia. Prítomnosť hmyzích škodcov sa bude monitorovať pomocou feromónových pascí v blízkosti miest odberu vzoriek a tieto pasce sa budú vyberať trikrát v každom vegetačnom období.

Okrem toho získame vzorky muštu z týchto vinohradov v troch štádiách kvasenia a získame vzorku výsledného mladého vína. Tento mušt sa podrobí analýze mikrobiómu, zatiaľ čo víno sa bude hodnotiť na množstvo prchavých organických zlúčenín. Naším cieľom je nájsť súvislosť medzi pôdnym mikrobiómom vinohradu a mikrobiómom jeho vína a ďalej skúmať súvislosť medzi prítomnosťou mikroorganizmov počas fermentácie a prchavými organickými zlúčeninami pozorovanými vo výslednom víne.

Digital Genomic Surveillance System for Human Pathogens for Public Health and Personalized Digital Medicine (DIGI-PATH)

Grantová schéma: Plán obnovy a odolnosti SR - Podpora výskumných projektov zameraných na digitalizáciu ekonomiky v TRL úrovniach 1-3

Anotácia: Mimoriadne udalosti posledných štyroch rokov v oblasti verejného zdravia podnietilo viacero impulzov na prijatie zásadnejších riešení v oblasti dohľadu nad infekčnými ochoreniami v populácii SR. Hrozby, ktoré spôsobujú lokálne endemické nákazy alebo chronickú prítomnosť nozokomiálnych infekcií s rezistenciou voči antibiotikám, ostávajú naďalej prítomné. Prijatie razantnejších prierezových opatrení s cieľom udržať genomický dohľad ako trvalú zložku verejného zdravotníctva si vyžaduje zavedenie nových prístupov v sledovaní, analyzovaní, spracovávaní a zdieľaní informácií ohľadom vírusových a bakteriálnych nákaz. Hlavným cieľom tohto projektu je vykonať analytické a experimentálne testy kľúčových koncepčných prvkov nášho digitálneho bioinformatického systému pre analýzu genómu. Týmto chceme demonštrovať schopnosti a potenciál systému na začatie aktívneho výskumu smerom k dosiahnutiu dôkazu koncepcie našej technológie.

Cieľom projektu je zostaviť informačný systém, ktorý by bol univerzálny pre zvyšujúce sa kapacity genómoveho sekvenovania a analýz mutácií pre posúdenie rizík rôznych bakteriálnych a vírusových infekcií. Takýto nástroj by zároveň mal aj do budúcnosti viesť dynamicky zahrnúť genomické spracovanie novovzniknutých hrozieb pre lepšiu responzivnosť v oblasti verejného zdravia. V neposlednom rade by zdieľanie dát o infekčných chorobách posilnilo schopnosť včasne reagovať v rámci medzištátnej a európskej siete organizácií pre kontrolu a prevenciu chorôb.

Fostering Excellence in Advanced Genomics and Proteomics Research at Comenius University in Bratislava (FORGENOM II)

Grantová schéma: Horizon Europe Twinning (HORIZON-WIDERA-2023-ACCESS-02) - Získaný aj financovaný od 2024

Anotácia: Genomika zohráva čoraz dôležitejšiu úlohu v súčasných spoločenských výzvach. Prináša nástroje a technológie, ktoré môžu výrazne zlepšiť zdravie občanov. V personalizovanej medicíne prispieva k vývoju cielenejších personalizovaných liekov, terapie a intervencie pri závažných ochoreniach (rakovina, zriedkavé ochorenia). Genomika a bioinformatika sa na Slovensku rýchlo rozvíjala aj vďaka Univerzite Komenského v Bratislave (UK). Napriek tomu kapacita a odbornosť UK stále zaostáva za poprednými výskumnými inštitúciami.

Hlavným cieľom TWINNING projektu FORGENOM má byť zlepšenie prístupu k excelentnosti vo Vedeckom parku Univerzity Komenského (CU SP) a zvýšiť výskumný profil inštitúcie a jej pracovníkov v oblasti biomedicínskej genetiky a bioinformatiky prostredníctvom stretávania sa, mentorských aktivít či školení s poprednými medzinárodnými výskumnými inštitúciami v oblasti genetiky a bioinformatiky – Európske laboratórium molekulárnej

biológie a Univerzita Milano-Bicocca. Tieto aktivity s globálnymi lídrami pomôžu pri rozvoji jeho potenciálu stať sa celoeurópsky známym centrom s rastúcimi príspevkami a úspechmi v oblasti výskumu a inovácií. Tým sa zvýši účasť tímov UK na európskych a medzinárodných projektoch. Projekt FORGENOM pomôže zvýšiť vedeckú úroveň, kvalitu výskumu, medzinárodnú viditeľnosť a konkurencieschopnosť Univerzity Komenského prostredníctvom cielených twinningových aktivít zameraných na kariérny rozvoj, transfer znalostí, inštitucionálny rozvoj, výmenu osvedčených postupov a networking. Zvyšovanie vedeckej excelentnosti UK a transfer know-how zo skúsených krajín bude mať systémový dopad na slovenský VaV systém. Projekt priamo prispeje k dosiahnutiu cieľov definovaných RIS3 SK 2021-2027 v rámci Domény 4 Zdravá spoločnosť.

#### **BY-COVID**

V rámci projektu bude implementovaná vysoko žiadaná automatizácia prepojenia národného systému Narcos s globálnymi genomickými databázami, najmä s databázou European Nucleotide Archive (ENA). Implementácia je kľúčová a prinesie včasný prístup k údajom pri riešení verejnozdravotných kríz. Naším cieľom je preklenúť časové medzery a zabezpečiť, aby boli kritické údaje rýchlo dostupné a umožnili rýchle reakcie na národnej ako aj globálnej úrovni. Plánujeme vylepšiť architektúru nášho systému zavedením nového modulu, ktorý bude slúžiť ako komunikačný most medzi sekvenovanými údajmi z patogénov zbieraných Úradom verejného zdravotníctva Slovenskej republiky databázou ENA prostredníctvom programového rozhrania ENA, komunikujúc prostredníctvom automatizovaných požiadaviek a odpovedí. Navrhovaný systém je navrhnutý tak, aby bol rozšíriteľný a v budúcnosti umožnil pridať ďalšie bakteriálne a vírusové druhy jednoduchým špecifikovaním kontrolného zoznamu ENA pre špecifikáciu metadát.

#### **Ochrana duševného vlastníctva**

Patentová prihláška - PCT/2023/000005 - Method for estimation of cell-free DNA mixture proportions based on telomere-derived fragments

V tejto štúdii uvádzame možnosť využitia dĺžky telomér ako nového markera na odhad fetálnej frakcie v prenatalnom testovaní, ako aj ako biomarker pri skorej diagnostike prebiehajúceho onkologického ochorenia. V kontexte prenatalného testovania môže dĺžka telomér poskytnúť cenné informácie o podiele fetálnej DNA vo vzorke matkinej krvi. Predložená metóda vychádza z predpokladu, že teloméry plodu sú dlhšie v porovnaní s telomérmi matky, čo vedie k disproporcii dĺžok telomér medzi genómom plodu a matky. Vyššie množstvo telomerických fragmentov ako je očakávané na základe veku matky, jej BMI indexu a gestačného veku plodu naznačuje prítomnosť fetálnej DNA vo vzorke. Následná odchýlka zodpovedá množstvu fragmentov pochádzajúcich z plodu (FF).

Opísaný koncept možno analogicky využiť v rôznych oblastiach testovania tzv. tekutou biopsiou. Ako príklad možno uviesť detekciu a charakterizáciu prebiehajúceho onkologického ochorenia založenú na meraní fragmentov voľne cirkulujúcej nádorovej DNA (ctDNA) v krvnej plazme pacienta. Keďže genóm nádorového tkaniva má zvyčajne inú dĺžku telomér ako zdravé bunky, anomálie vo vzorke pacienta môžu svedčiť o prebiehajúcom ochorení. Podobne ako pri neinvazívnom prenatalnom testovaní (NIPT) je identifikácia a kvantifikácia nádorových fragmentov nevyhnutná na detekciu a charakterizáciu prebiehajúceho onkologického ochorenia, pri jeho ďalšom monitorovaní a prognóze.

Patentová prihláška - PP 88-2023 Spôsoby a systém na detekciu mikrosatelitovej instability zo sekvenovanej voľnej cirkulujúcej DNA

Repetitívne sekvencie ľudského genómu sa zvyčajne študujú v súbore vybraných lokusov s vysokým pokrytím sekvenovania v kontexte detekcie mikrosatelitnej instability (MSI) a monitorovania onkologických ochorení. Tento vynález je založený na štatistických spôsoboch a postupoch strojového učenia, pri ktorých sa skúmajú mikrosatelity celého genómu. Rozdiely stavu mikrosatelitnej instability možno pozorovať v sekvenačných údajoch s nízkym pokrytím získaných zo zdravých a onkologických vzoriek. Po získaní distribúcie alelických profilov zo zdravej populácie sa vo vzorke zisťujú nepravidelnosti v distribúcii a atypické formy dĺžok homopolymérov, a tak možno sledovať stav MSI.

Prihláška pre úžitkový vzor - PP 80-2023 - Spôsob a systém na identifikáciu tkaniva pôvodu nádoru zo sekvenovanej voľne cirkulujúcej DNA

Tradičné metódy na identifikáciu pôvodu nádorových buniek často vyžadujú invazívne odobratie vzorky tkaniva. Iné metódy, založené na odoberaní DNA sú postavené na vyhľadávaní špecifických mutácií génov, ktoré sú korelované s výskytom rakovín. Tieto modely však dokážu určiť len jeden typ rakoviny. Predkladané PPV využíva pre určenie nádorového tkaniva celú množinu génov bez ohľadu na typ ich mutácií, čím umožňuje určiť ako pôvod viacero typov rakovín. Použitie štatistickej metódy namiesto obvyklejšieho strojového učenia pre daný typ problému zároveň umožňuje zaradiť metódu medzi diagnostické metódy namiesto screeningových metód. Ďalšou novosťou je jednoduchosť oproti iným diagnostickým metódam, nakoľko zdrojom dát pre vyšetrenie môže byť krv odobratá počas rutinného preventívneho vyšetrenia. Pri multiplexovaní vzoriek počas sekvenovania je taktiež výsledkom nižšia cena oproti iným diagnostickým metódam.

### ***Laboratórium produkcie a purifikácie rekombinantných proteínov***

V roku 2023 sme pokračovali v riešení projektu APVV-21-0227 v rámci ktorého sa zaoberáme produkciou funkčných domén rastlinného kalpaínu DEK1 (LG3, CysPC, CysPC-C2L). V tomto období sme prehodnotili prístup z predošlých rokov a sústredili sa na in silico modelovanie a návrh mutácií s cieľom zvýšenia solubility produkovaných domén a získania materiálu vhodného na kryštalografickú analýzu. Projekt realizujeme v spolupráci s Katedrou fyziológie rastlín, PríF UK.

V tomto období sme pokračovali aj v úsilí konštrukcie a optimalizácie expresného systému *Vibrio natriegens* s cieľom získania konkurencieschopného producenta rekombinantných proteínov a platformu na širokú aplikovateľnosť v rámci biotechnológií.

Aktívne sme sa spolupodieľali na organizácii XXVIIth Biochemistry Congress – FEBS3+ konferencie podporenej celoeurópskou organizáciou FEBS s medzinárodnou účasťou, kde sme aj prezentovali výsledky práce.

Toto obdobie bolo veľmi intenzívne aj z hľadiska zapojenia sa do výziev najmä z programu Plán obnovy. Pripravili sme ako individuálne projekty v rámci podpory výskumníkov úrovne R2 až R4 tak aj väčšie projekty v rámci výzvy zameranej na zvyšovanie TRL úrovne dekarbonizačných technológií a prispeli sme aj k príprave projektov v rámci výzvy Transformačno-inovačné konzorciá. Podieľali sme sa na príprave schváleného projektu Forgenom v rámci schémy Twinning.

V roku 2023 sme publikovali výsledky niekoľkoročnej práce týkajúcej sa vývoja *V. natrie gens* ako hostiteľa na produkciu rekombinantných proteínov.

### ***Bakteriologické laboratórium***

V roku 2023 sme pokračovali vo výskume využitia fágových preparátov pri liečbe bakteriálnych infekcií pacientov s diabetickou nohou, so zápalmi močových ciest a prostaty. Purifikovali a charakterizovali sme 9 nových bakteriofágov špecifických voči patogénom *Cronobacter malonaticus*, *Proteus mirabilis* a *Klebsiella pneumoniae*. Pomocou techník sekvenovania druhej (MiSeq, NextSeq) a tretej (MinION, ONT) generácie sme stanovili celogenómové sekvencie všetkých študovaných bakteriofágov. Zároveň sme stanovili aj ich špecificitu voči hostiteľom zo zbierky VP UK. Zaoberali sme sa aj identifikáciou, purifikáciou a expresiou endolýzínov infikujúcich kmene rodu *Streptococcus agalactiae*, ako aj *Enterococcus faecalis* pričom sa nám podarilo identifikovať šesť nových proteínov s antimikrobiálnou aktivitou. Častou výskumných aktivít bola aj práca na objasnení pôvodcov infekcií dolných končatín pacientov s diabetickou nohou. Sekvenačnými technikami sme stanovili celogenómovú sekvenciu 10 multirezistentných patogénov z rodov *Proteus*, *Listeria*, *Klebsiella* a *Streptococcus*. Pomocou metód analýzy mikrobiómu sme stanovili profil polymikrobiálnych infektov viacerých pacientov. Taktiež sme pripravili fágové preparáty eliminujúce infekcie spôsobené baktériami z rodov *Escherichia* a *Enterococcus*. Spomenuté aktivity sme riešili aj s podporou APVV projektu APVV-17-0526 (DIASTEM).

Bakteriologické laboratórium sa podieľalo aj na riešení a finalizovaní aktivity 8 (Bakteriálne patogény a možnosti ich eliminácie v primárnej produkcii) projektu SMARTFARM (ITMS: 313011 W112). V rámci projektu sme stanovili fenotypové vlastnosti a celogenómové sekvencie novoizolovaných potravinových patogénov rodov *Listeria*, *Cronobacter* a *Enterobacter*. Získané dáta poslúžia na prípravu špecifických diagnostických protokolov využiteľných v potravinárstve. Zároveň sme v rámci projektu pripravili antimikrobiálny prípravok zameraný na dekontamináciu potravín od patogénov rodu *Cronobacter*.

Pracovníci bakteriologického laboratória sa zúčastnili viacerých odborných vedeckých podujatí na Slovensku, kde boli formou posterov prezentované preliminárne výsledky výskumných aktivít. Výstupom vedeckých a výskumných činností riešiteľského kolektívu bolo publikovaných päť prác v odborných vedeckých žurnáloch registrovaných v databázach Web of Science alebo SCOPUS.

V roku 2023 sme pripravili a podali dva pokračujúce projekty venujúce sa príprave fágovej terapie v rámci výzvy APVV2023 a jeden projekt špecificky zameraný na liečbu *Klebsiella pneumoniae* v rámci výzvy VEGA 2023.

### **Duševné vlastníctvo**

Výsledkom výskumu eradikácie potravinových patogénov bolo podanie patentovej prihlášky s názvom: Fágový prípravok určený na zabezpečenie sterility potravín pred potravinovým patogénom *Cronobacter* spp. spôsob jeho prípravy a použitie (PP 70-2023).

## ***Laboratórium molekulárnej biológie rastlín***

V laboratóriu molekulárnej biológie rastlín pokračujeme s expresiou, extrakciou a purifikáciou špecifických domén kalpaínovej proteázy DEFECTIVE KERNEL 1 (DEK1) pre objasnenie 3D štruktúry. Tento proteín je esenciálny pre rast a vývin rastlín a má potenciálne využitie pri zvyšovaní nutričnej hodnoty a kvality potravín. Pre expresiu DEK1 sme využili expresný systém v *E. coli* (DE3, Rosetta) a *Vibrio natrigens*. Jednotlivé domény sme exprimovali v maloobjemovom fermentore vo fúzii s MBP proteínom upraveným pre následné uľahčenie purifikácie. Pre purifikáciu produkovaných proteínov sme využili už optimalizovaný purifikačný protokol využitím IMAC afinitnej chromatografie voči His-tagu cieľového proteínu na čiastočnú purifikáciu a zakoncentrovanie vzorky a následnej iónomeničovej (ANEX) chromatografie a potom sme pomocou gélovej filtrácie oddelili jednotlivé proteínové frakcie, ktoré sme analyzovali SDS-PAGE metódou (v rámci projektu APVV-21- 0227). Bioinformatické a fylogenetické analýzy membránových kalpaínov sme publikovali v časopise *Frontiers in Plant Science*.

Zaviedli sme indukateľnú expresiu génov prostredníctvom beta-estradiolového (XVE) systému v modelovej rastline *Physcomitrium patens*. qPCR analýzy potvrdili efektívnu indukateľnú nadexpresiu ako aj zníženie expresie (amiRNA) študovaného génu v rôznych časoch po indukcii. Pokračovali sme v implementácii CRISPR/Cas9 mutagenézy v modelovej rastline *P. patens* v rámci genetických analýz regulátorov rastu a vývinu rastlín. Zavádzame tzv. „proximity labeling assay“ pre identifikáciu in vivo interakčných partnerov študovaných proteínov (APVV-21- 0227).

Ďalšie experimenty súvisia s analýzou interakcie fytohormónov – auxínov a proteínov DEK1. V mutantných líniiach rastlín *P. patens* s deléciou DEK1 ako aj nadexpresiou kalpaínovej domény proteínu DEK1 v auxínovom reportérovom systéme sme analyzovali odpoveď auxínu pomocou konfokálnej mikroskopie v spolupráci s Dr. Mattiasom Thelanderom (Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden). Ďalej sme pracovali na analýze bunkových stien týchto mutantných línii rastlín pomocou fluorescenčných farbičiek viažucich jednotlivé molekuly a makromolekuly vrátane celulózy a pektínov pomocou konfokálnej mikroskopie. Tieto experimenty prebiehajú v rámci schváleného projektu VEGA (1/0352/21: Interakcia DEK1 kalpaínu s auxínovou signalizáciou pri bunkovom delení a kontrole bunkovej identity).

Začali sme s prípravou rastlinných buniek s indukovanou expresiou vybraných rekombinantných proteínov pomocou teplotného šoku. Analýza exprimovaných proteínov bola uskutočnená fluorescenčnou mikroskopiou na základe signálu z fluorescenčných proteínov.

V rámci štúdia kombinovaného vplyvu klimatických zmien na kultúrne plodiny v spolupráci s Portugalskom (Centre for Biotechnology and Fine Chemistry - CBQF – Porto) sme pokračovali s analýzami stresových reakcií rastlín počas nepriaznivých podmienok prostredia, ktoré simulujú niektoré klimatické zmeny. Výsledky boli publikované v časopise *Annals of Applied Biology*. Experimenty súvisiace so zmiernením nepriaznivého vplyvu antimónu pomocou kremíka v poľnohospodársky významných rastlinách kukurice satej. Biochemickými analýzami sa nám podarilo prispieť k objasneniu mechanizmu príjmu a transportu antimónu v koreňovom systéme rastlín využitím mutantných rastlín s deléciou génu *Lsi1* a rastlín divého typu. Výsledky boli publikované v časopise *Plants*.

## **Záver**

V roku 2023 bola ukončená realizácia projektov z Operačného programu Integrovaná infraštruktúra. Cieľom výskumného tímu Vedeckého parku UK v roku 2024 bude realizácia grantov APVV, VEGA a nových projektov. Rovnako aj vyhľadávanie príležitostí na zapojenie sa do medzinárodných výskumných aktivít a výskumných tímov.

Bratislava, 23.02.2024

prof. RNDr. Jozef Masarik, DrSc.  
poverený zastupovaním  
riaditeľa VP UK



## Významne publikácie v roku 2023:

### Príspevky registrované v databázach WoS a SCOPUS

1. Stevens RH, Zhang H, Kajsik M, Płoski R, Rydzanicz M, Sabaka P, Šutovský S. Successful use of a phage endolysin for treatment of chronic pelvic pain syndrome/chronic bacterial prostatitis. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Aug 15;10:1238147. doi: 10.3389/fmed.2023.1238147.
2. Lukacova, Z., Bokor, B., Vaculík, M., Kohanová, J., Lux, A. (2023). Root Silicification and Plant Resistance to Stress. In: de Mello Prado, R. (eds) *Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-26673-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-26673-7_3)
3. Sitarčík J, Vinař T, Brejová B, Krampl W, Budiš J, Radvánszky J, Lucká M. WarpSTR: Determining tandem repeat lengths using raw nanopore signals. *Bioinformatics*. 2023 Jun 16:btad388. doi: 10.1093/bioinformatics/btad388.
4. Gombos G, Németh N, Pös O, Styk J, Buglyó G, Szemes T, Danihel L, Nagy B, Balogh I, Soltész B. New Possible Ways to Use Exosomes in Diagnostics and Therapy via JAK/STAT Pathways. *Pharmaceutics*. 2023; 15(7):1904. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071904>
5. Pös O, Styk J, Buglyó G, Zeman M, Lukyova L, Bernatova K, Hrckova Turnova E, Rendek T, Csók Á, Repiska V, et al. Cross-Kingdom Interaction of miRNAs and Gut Microbiota with Non-Invasive Diagnostic and Therapeutic Implications in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(13):10520. <https://doi.org/10.3390/ijms241310520>
6. Budiš J, Krampl W, Kucharík M, Hekel R, Goga A, Lichvár M, Smolák D, Böhmer M, Baláž A, Ďuriš F, Gazdarica J, Šoltys K, Turňa J, Radvánszky J, Szemes T. SnakeLines: integrated set of computational pipelines for sequencing reads. arXiv:2106.1364
7. Sládeček, T., Gažiová, M., Kucharík, M. et al. Combination of expert guidelines-based and machine learning-based approaches leads to superior accuracy of automated prediction of clinical effect of copy number variations. *Sci Rep* 13, 10531 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37352-1>
8. Čupajová M, Sládek M, Kadličeková V, Bokorová S, Pőczová M, Szemes T. Analýza lipofilných kvasiniek *Malassezia* spp. v klinických vzorkách. *NewsLab*, 2023; roč. 14 (1): 5-9
9. Vidya CSN, Shetty R, Bokor B, Fialová I, Luxová M, Jašková K, Vaculík M. Do Antimonite and Silicon Share the Same Root Uptake Pathway by Lsi1 in *Sorghum bicolor* L. Moench? *Plants*. 2023; 12(12):2368. <https://doi.org/10.3390/plants12122368>
10. Styk J, Budiš J, Radvánszky J, Kucharík M, Pös O, Pös Z, Krampl W, Forgáčová N, Rusnakova D, Sedlackova T, Janega P, Repiska V, Szemes T. The potential of high-throughput sequencing in the evaluation and monitoring of microsatellite instability by

- short homopolymer loci. P13.114.D. Abstracts from the 55th European Society of Human Genetics (ESHG) Conference: Hybrid Posters. *Eur J Hum Genet* 31 (Suppl 1), 345–709 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41431-023-01338-4>
11. Forgacova N, Holesova Z, Gazdarica J, Hekel R, Sedlackova T, Rusnakova D, Janega P, Kuracinova KM, Krivosikova L, Babal P, Pos Z, Styk J, Pos O, Budiš J, Radvanszky J, Szemes T COVID-19: How to analyze data from whole-exome sequencing? P26.013.B. Abstracts from the 55th European Society of Human Genetics (ESHG) Conference: Hybrid Posters. *Eur J Hum Genet* 31 (Suppl 1), 345–709 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41431-023-01338-4>
  12. Sládeček T, Gažiová M, Kucharik M, Pös Z, Pös O, Krampfl W, Hekel R, Radvánszky J, Budiš J, Szemes T. Automated decision support for the clinical interpretation of copy number variants. P17.022.D. Abstracts from the 55th European Society of Human Genetics (ESHG) Conference: Hybrid Posters. *Eur J Hum Genet* 31 (Suppl 1), 345–709 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41431-023-01338-4>
  13. Pos Z, Khedr M, Radvanszky J, Penesova A, Hekel R, Szemes T, Ranganath LR, Zatkova A. APOC3 and ABCA1 variants in unusual combined hypolipidaemia showing premature peripheral vascular disease. *Bratisl Lek Listy*. 2023 Feb 28. doi: 10.4149/BLL\_2023\_053.
  14. Holesova Z, Krasnicanova L, Saade R, Pös O, Budis J, Gazdarica J, Repiska V, Szemes T. Telomere Length Changes in Cancer: Insights on Carcinogenesis and Potential for Non-Invasive Diagnostic Strategies. *Genes*. 2023; 14(3):715. <https://doi.org/10.3390/genes14030715>
  15. Klimova D, Jakubechova J, Altanerova U, Nicodemou A, Styk J, Szemes T, Repiska V, Altaner C. Extracellular vesicles derived from dental mesenchymal stem/stromal cells with gemcitabine as a cargo have an inhibitory effect on the growth of pancreatic carcinoma cell lines in vitro. *Mol Cell Probes*. 2023;67:101894. doi: 10.1016/j.mcp.2023.101894.
  16. Styk J, Pös Z, Pös O, Radvanszky J, Turnova EH, Buglyó G, Klimova D, Budis J, Repiska V, Nagy B, Szemes T. Microsatellite instability assessment is instrumental for Predictive, Preventive and Personalised Medicine: status quo and outlook. *EPMA J*. 2023;14(1):143-165. doi: 10.1007/s13167-023-00312-w.
  17. Gafurov A, Baláž A, Amman F, Boršová K, Čabanová V, Klempa B, Bergthaler A, Vinař T, Brejová B. VirPool: model-based estimation of SARS-CoV-2 variant proportions in wastewater samples. *BMC Bioinformatics*. 2022 Dec 19;23(1):551. doi: 10.1186/s12859-022-05100-3.
  18. Kormanová, L., Levarski, Z., Minich, A., Varga, V., Levarská, L., Struhárňanská, E., Turňa, J., Stuchlík, S.: Novel expression system based on enhanced permeability of *Vibrio natriegens* cells induced by D,D- carboxypeptidase overexpression. *World J Microbiol Biotechnol* 39, 277 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03723-z>
  19. Lukacova, Z., Bokor, B., Vaculík, M., Kohanová, J., Lux, A. (2023). Root Silicification and Plant Resistance to Stress. In: de Mello Prado, R. (eds) *Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-26673-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-26673-7_3)

20. Šafranek M, Shumbusho A, Johansen W, Šarkanová J, Voško S, Bokor B, Jásik J and Demko V (2023) Membrane-anchored calpains – hidden regulators of growth and development beyond plants? *Front. Plant Sci.* 14:1289785. doi: 10.3389/fpls.2023.1289785
21. Vidya, C.S.N.; Shetty, R.; Bokor, B.; Fialová, I.; Luxová, M.; Jašková, K.; Vaculík, M. Do Antimonite and Silicon Share the Same Root Uptake Pathway by Lsi1 in *Sorghum bicolor* L. Moench? *Plants* 2023, 12, 2368. <https://doi.org/10.3390/plants12122368>
22. Machado, J., Fernandes, A. P. G., Bokor, B., Vaculík, M., Heuvelink, E., Carvalho, S. M. P., & Vasconcelos, M. W. (2024). The effect of silicon on the antioxidant system of tomato seedlings exposed to individual and combined nitrogen and water deficit. *Annals of Applied Biology*, 184(1), 50–60. <https://doi.org/10.1111/aab.12849>

### **Recenzované žurnály registrované v iných databázach**

1. Pös O, Kubáňová M, Styk J, Bokorová S, Krampl W, Sedláčková T, Repiská V, Nagy B, Szemes T. Biopsia dychu: potenciálny zdroj DNA pre biomedicínske aplikácie. *NewsLab* 2022, 13(2):96-98
2. Styk J, Hrnčiar M, Pös O, Bokorová S, Klimová D, Repiská V, Radvánszky J, Szemes T. Instabilita krátkych tandemových repetícií v onkológii: potenciál tekutej biopsie. *NewsLab* 2022, 13(2):83-86
3. Holešová Z, Gazdarica J, Budiš J, Pös O, Szemes T. Neinvazívny skrining onkologických ochorení pomocou biomarkerov vo voľne cirkulujúcej DNA. *NewsLab*, 2023; roč. 14 (1): 36 – 39. ISSN 1338-9661
4. Lojova I, Budiš J, Szemes T, Buchalova M, Radvanszky J. Tandem repeat motif characterization for precision medicine: A brief overview of conventional methods and massive parallel sequencing approaches. *NewsLab*, 2023; roč. 14 (1): 40 – 44. ISSN 1338-9661
5. Forgáčová N, Gazdarica J, Buchalová M, Martiš J, Szemes T. Genetika vybraných zriedkavých atypických syndrómov parkinsonizmu. *NewsLab*, 2023; roč. 14 (1): 33 – 35. ISSN 1338-9661

### **Konferencie**

1. Sedláčková T, Rusňáková D, Krampl W, Böhmer M, Budiš J, Hodosy J, Szemes T. Potenciál využitia cirkulujúcich markerov z plazmy na diagnostiku ochorenia covid-19. XXXIII. Izakovičov memoriál, Demänovská dolina 18-20. október 2023; ISBN: 978-80-974283-6-5
2. Pös O, Styk J, Wlachovská Z, Hanzlíková Z, Krampl W, Hrnčiar M, Bokorová S, Sedláčková T, Budiš J, Szemes T. Potenciál tekutej biopsie v ére precíznej medicíny. XXXIII. Izakovičov memoriál, Demänovská dolina 18-20. október 2023; ISBN: 978-80-974283-6-5

3. Zeman M, Bohmer M, Rusnakova D, Sedlackova T, Zenisova K, Pangallo D, Kuchta T, Budis J, Szemes T. Unveiling the Microbes of Pinot Blanc Fermentation Through Metagenomics. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 209; ISBN 978-80-8240-047-5
4. Sladeczek T, Gaziova M, Kucharik M, Zatkova A, Pös Z, Pös O, Krampl W, Tomkova E, Hyblova M, Minarik G, Radvanszky J, Budis J, Szemes T. Combination of Expert Guidelines-Based and Machine Learning-Based Approaches Leads to Superior Accuracy of Automated Prediction of Clinical Effect of Copy Number Variations. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 191; ISBN 978-80-8240-047-5
5. Radvak P, Rusnakova D, Sedlackova T, Sladeczek T, Sitarcik J, Böhmer M, Budis J, Staroňova E, Kotvasova B, Krivjanska A, Turna J, Szemes T. The Genomic Surveillance of Wastewater Captures the Development of the SARS-CoV-2 Variants in Slovakia's Population. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 184; ISBN 978-80-8240-047-5
6. Szemes T, Sladeczek T, Sitarcik J, Krampl W, Hekel R, Gaziova M, Böhmer M, Kalinakova A, Staronova E, Rusnakova D, Sedlackova T, Budis J. Narcos and Beyond: National Surveillance of SARS-CoV-2 and Other Pathogens. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 74; ISBN 978-80-8240-047-5
7. Styk J, Pös O, Hanzlikova Z, Gasper J, Budis J, Bokorova S, Repiska V, Szemes T. Unveiling The Potential Of Liquid Biopsy: Non-Invasive Cancer Screening For Early Detection And Preventive, Predictive And Personalized Medicine. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 73; ISBN 978-80-8240-047-5
8. Pös O, Hrnčiar M, Styk J, Wlachovska Z, Hanzlikova Z, Krampl W, Bokorova S, Sedlackova T, Budis J, Szemes T. The potential of liquid biopsy in the era of precision medicine. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 66; ISBN 978-80-8240-047-5
9. Hrnčiar M, Styk J, Budis J, Pös O, Krampl W, Kovac M, Szemes T. Identifying Microsatellite Instability through Analysis of Sequencing Data. XXVIIth Biochemistry Congress of Slovak and Czech Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Hungarian and Ukrainian Biochemical Societies. Bratislava: CVTI SR, 2023. s. 39; ISBN 978-80-8240-047-5

10. Zeman M, Bohmer M, Rusnakova D, Sedlackova T, Zenisova K, Pangallo D, Kuchta T, Budis J, Szemes T. Microbiome composition and dynamics while grapes turn to wine. 44th World Congress of Vine and Wine. 2023
11. Szemes T, Rusnakova D, Sedlackova T, Bohmer M, Zeman M, Budis J, Masaryk J, Kajsik M. Fingerprint of soil microbiota at Modra vineyards. 44th World Congress of Vine and Wine. 2023
12. Pös O, Budis J, Kucharik M, Sladeczek T, Carska D, Strba M, Styk J, Kajsik M, Vanova B, Minarik G, Radvanszky J, Szemes T. Cell-free nucleic acid based copy number variation analysis in plasma of colorectal cancer patients. Poster P10 at 30th Annual Precision Med TRI-CON, March 6-8 2023, San Diego, California
13. Hrnčiar M, Budiš J, Styk J. Whole-genome sequencing-based analysis of short tandem repeats in colorectal carcinomas from Lynch syndrome patients. IIT.SRC 2023
14. Lukyová L, Krasničanová L, Sedláčková T, Budiš J, Forgáčová N, Holešová Z, Szemes T. Analýza genomickej DNA pacientov s kolorektálnym karcinómom s využitím long-range PCR a sekvenovania za účelom identifikácie mutácií v rámci mismatch - repair génov asociovaných s Lynchovým syndrómom. Študentská vedecká konferencia PriF UK 2023: Zborník recenzovaných príspevkov, s319-324. ISBN 978-80-223-5608-4
15. Krampfl W, Soltész B, Pös O, Wlachovska Z, Buchalova M, Budis J, Hekel R, Strieskova L, Liptak JB, Styk J, Németh N, Keserű JS, Jenei A, Buglyó G, Klekner Á, Nagy B, Szemes T. Szemes. Využitie exozomálnej mtDNA ako nového potenciálneho biomarkera pre detekciu nádorov v centrálnej nervovej sústave. Študentská vedecká konferencia PriF UK 2023: Zborník recenzovaných príspevkov, s272-277. ISBN 978-80-223-5608-4
16. Minárik J, Pös Z, Hlavačka M, Hurtuk A, Kubička O, Lojová I, Forgáčová N, Zaťková A, Kádaši Ľ, Gazdarica J, Budiš J, Szemes T, Radvánszky J. Distribúcia skóre polygénového rizika v rodinách so zápalovými črevnými ochoreniami. Študentská vedecká konferencia PriF UK 2023: Zborník recenzovaných príspevkov, s391-396. ISBN 978-80-223-5608-4
17. Styk J, Szemes T, Hrnčiar M, Repiská V. Whole-genome genotyping of short tandem repeats in colorectal carcinomas from patients with Lynch syndrome. Zborník študentských vedeckých prác. Univerzita Komenského v Bratislave.ŠVOČ LFUK 2023; s165-170. ISBN 978-80-223-5639-8 (online)
18. Krasničanová L, Repiská V, Szemes T. Optimalizácia analýzy zmiešaných vzoriek pre účely skríningu Lynchovho syndrómu. Zborník študentských vedeckých prác. Univerzita Komenského v Bratislave. ŠVOČ LFUK 2023; s208-214. ISBN 978-80-223-5639-8 (online)
19. Szemes T, Rusnakova D, Radvak P, Mišenko P, Sládeček T, Sitarčík J, Böhmer M, Budiš J, Krampfl W, Gažiová M, Bokorová S, Lipková N, Jakúbková MF, Staroňová E, Mikas J, Loderer D, Nováková E, Turňa J, Sedláčková T. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 in the Slovak Republic: reconstruction of two years' experience. COVID-19 LOOKING BACK, LF UK 2023, s105-113. ISBN 978-80-223-5639-8
20. Radvák P, Rusňáková D, Sedláčková T, Sládeček T, Sitarčík J, Böhmer M, Budiš J, Staroňová E, Kotvasová B, Turňa J, Szemes T. The national wastewater surveillance program: a useful method for regular monitoring of circulating SARS-CoV-2 variants. COVID-19 LOOKING BACK, LF UK 2023, s64-69. ISBN 978-80-223-5639-8

21. Rusňáková D, Sedláčková T, Krامل W, Böhmer M, Budiš J, Hodosy J, Szemes T. The potential of circulating markers from plasma for COVID-19 diagnosis. COVID-19 LOOKING BACK, LF UK 2023, s17-22. ISBN 978-80-223-5639-8

**Absolvované stáže**

- **GenEpi-BioTrain Interdisciplinary training ("Country teams")** - 20.11. - 1.12.2023, Copenhagen, Denmark, Michal Zeman