

Slovenská spoločnosť pre biochémiu a molekulárnu biológiu, člen FEBS
a IUBMB
Ústav biochémie a mikrobiológie, FCHPT STU v Bratislave
Centrum biovied, SAV
Občianske združenie Veda a život

DROBNICOV MEMORIÁL

14. ROČNÍK

Chata Trubárka, Trenčín - Kubrica
7. – 9. september 2026



Zborník príspevkov a program

Editori

Mária Balážová, Boris Lakatoš



prof. Ing. Ľudovít DROBNICA, DrSc.

DROBNICOV MEMORIÁL

14. ročník

7. – 9. september 2026

Chata Trubárka, Trenčín - Kubrica

ISBN 978-80-974246-9-5

Redakčná úprava: doc. Ing. Boris Lakatoš, PhD.

Vydal: Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Bratislava 2026

Spomienka na prof. Ing. Ľudovíta Drobnicu, DrSc.

Narodil sa 30. septembra 1930 v Trnave. Po skončení vysokoškolského štúdia v Brne v roku 1953 nastúpil na Katedru technickej mikrobiológie a biochémie Chemickej fakulty Slovenskej vysokej školy technickej v Bratislave. Tu prešiel všetkými učiteľskými stupňami. Na fakulte patrila medzi prvých vedeckých aspirantov. Hodnosť kandidáta vied získal už v roku 1958. Docentom bol v odbore Biochémia a fyziológia mikroorganizmov od roku 1964. Vedeckú hodnosť doktora vied získal na Ústave organickej chémie a biochémie v Prahe pre odbor Biochémia v roku 1973. Bohužiaľ, profesorom sa z politických dôvodov nestal ani do svojej predčasnej smrti v roku 1980 (napriek tomu, že vychoval viac než 100 diplomantov a viac než 20 aspirantov). Bol ním menovaný po zmenách v roku 1989 in memoriam.



Prof. Drobnica v rámci svojej nesmierne bohatej výskumnej činnosti založil, rozvinul a vybudoval na Slovensku vedeckú školu týkajúcu sa problematiky mechanizmu účinku prírodných a syntetických látok a vzťahov medzi ich štruktúrou, účinnosť určujúcimi fyzikálno-chemickými vlastnosťami a biologickými aktivitami, a to s ohľadom na farmaceuticko-medicínske, poľnohospodársko-potravinárske i chemicko-ekologické aspekty použitia (aplikácie v praxi). Ťažisko jeho záujmu sa v tomto smere sústredilo na izotiokyanáty a ich prírodné prekurzory, predovšetkým glukozinoláty. Pod jeho vedením na stovkách prírodných i novosyntetizovaných derivátov boli študované chemické, biochemické i fyziologické parametre interakcií s enzýmami a inými izolovanými biokomponentami, subcelulárnymi partikulami, bunkovými i nadcelulárnymi modelmi a to tak z oblasti mikrobiálnej, rastlinnej, resp. živočíšnej ríše. Príslušné zistenia boli predmetom vyše 100 publikácií, 52 patentov, viac ako 200 vystúpení na vedeckých konferenciách, z nich viaceré prof. Drobnica ako medzinárodné organizoval u nás doma v Smoleniciach. Systematický výskum izotiokyanátov vyústil vydaním monografie *The Chemistry of –NCS group* vo vydavateľstve John Willey a zavedením p-brómfenylizotiokynátu do výroby a využívania v praxi ako veterinárneho liečiva. Bohužiaľ z dôvodu predčasnej smrti sa mu už nepodarilo dokončiť a vydať monografiu *The biology of –NCS group*.

Okrem izotiokyanátovej problematiky prof. Drobnica so svojimi kolegami a aspirantami venoval pozornosť výskumu rôznych xenobiotík, regulácii energeticko-uhlíkového metabolizmu, dimorfizmu kvasiniek, nadprodukcií primárnych metabolitov, imobilizovaným biosystémom, prežívaniu mikroorganizmov v nepriaznivých (stresových) podmienkach, atď.

Výsledkom týchto výskumných aktivít bola minimálne ďalšia stovka vedeckých prác v renomovaných časopisoch a mnohé ďalšie publikačné produkty. Spomínané témy sa stali základom celoživotného výskumu jeho žiakov, z ktorých mnohí sú významnými predstaviteľmi biochemických, mikrobiologických, fyziologických a biotechnologických vied nielen na Slovensku, ale aj vo svete.

Prof. Drobnica okrem pedagogickej a vedeckej práce pracoval aktívne v domácich a zahraničných vedeckých spoločnostiach, v odborných komisiách pre obhajoby dizertačných prác, vo vedeckých a edičných radách ústavov a vydavateľstiev, úzko spolupracoval s praxou. Popri tom bol v mladosti výkonným športovcom, perfektne hral šach, aktívne spieval, výborne hral na klavíri, bol veľmi spoločenský. Jeho veľkosť spočívala predovšetkým v excelentnej schopnosti rozvoja teoretických predstáv experimentálnymi cestami. Bol veľmi náročný na rozsah, hĺbku, kvantitu i kvalitu experimentálnej práce. Vyznačoval sa obrovskou neúnavnosťou a nadšením v laboratórnej činnosti, kritickým pohľadom k nameraným údajom a veľkou opatrnosťou pri formulovaní záverov. Významnou pre jeho prácu bola vysoká kooperativita. Spolupracoval s obrovským množstvom partnerov na svojom pracovisku, v rámci Bratislavy, Slovenska i na medzinárodnej úrovni. Perfektne vedel organizovať a vykonávať kolektívnu prácu. Okrem interdisciplinárneho prístupu k riešeniu vedecko-výskumných činností sa vyznačoval tiež schopnosťou prepájať vedu s praxou. Bol napríklad iniciátorom založenia Výskumného ústavu liečiv v Modre s prepojením na Slovakofarmu Hlohovec, zriadenia Enzýmovej poloprevádzky v Dolnej Krupej cez Výskumný ústav liehovarov a konzervární s nasmerovaním na biotechnologickú prax, atď.

Prof. Drobnica bol výnimočný tiež ako pedagóg. Vďaka svojej charizmatickej osobnosti vedel zaujať každého poslucháča. Nikdy neľutoval čas strávený so študentmi a aspirantami. Majstrovsky vedel zapáliť záujem o vedu a nasmerovať dané schopnosti. Každého vedel povzbudiť, poradiť mu, pomôcť. Absolventi sa k nemu vracali dlho po skončení štúdia. Dodnes naňho spomínajú ako na nezabudnuteľný vzor pracovitosti a ľudskosti. Jeho vedecká škola má punc vysokej kvality. Veľmi dôležitou črtou jeho osobnosti bola nekonformnosť, nebojnosť a schopnosť byť sebou samým. Tieto vlastnosti mu v časoch totality spôsobili nemálo ťažkostí i problémov a v konečnom dôsledku i predčasnú smrť. Až do nej však bol verný zásadám nezmieriteľnosti s pokrytectvom, povýšenectvom, aroganciou moci, obmedzovaním slobody a demokracie, päťolízachstvom. Typický pre neho bol pritom altruizmus, žičlivosť, optimizmus, pozitívne myslenie. V každom prípade však zmyslom i odkazom jeho života bola práca pre vedu a výchovu. Bola mu zdrojom potešenia pre seba a užitočností pre ostatných.

ORGANIZAČNÝ VÝBOR:

Mgr. Mária BALÁŽOVÁ, PhD.
doc. Ing. Albert BREIER, DrSc.
Ing. Michal KALIŇÁK, PhD.
doc. Ing. Boris LAKATOŠ, PhD.
Ing. Zdena SULOVÁ, DrSc.

PREDSEDA KOMISIE:

Mgr. Ján JAMROŠKOVIČ, PhD.

ČLENOVIA KOMISIE:

Mgr. Miro BALÁŽ, PhD.
Mgr. Mária BALÁŽOVÁ, PhD.
RNDr. Imrich BARÁK, DrSc.
prof. Ing. Albert BREIER, DrSc.
doc. Ing. Boris LAKATOŠ, PhD.
doc. RNDr. Jan MALÍNSKÝ, PhD.
prof. RNDr. Peter RAČAY, PhD.
Ing. Zdena SULOVÁ, DrSc.
doc. RNDr. Stanislav STUHLÍK, CSc.
RNDr. Dušan ŽITŇAN, DrSc.

Obsah

PROGRAM:	9
ZBORNÍK PRÍSPEVKOV	13
SPONZORI DROBNICOVHO MEMORIÁLU	44

PROGRAM:

1. Deň: 7. 9. 2026 (pondelok)

Registrácia účastníkov počas celého dňa (od 11:30)

12:30 – 14:00 **OBED (Lunch)**

14:00 – 14:45 **Otvorenie + plenárna prednáška** (Opening ceremony and plenary lecture):

Ján Jamroškovič: „G-Quadruplexes as Protein Expression Regulators in Bacteria“

Súťaž mladých vedeckých pracovníkov

Sekcia I

Predseda: Albert Breier, Imrich Barák

15:00 – 15:15 **Andrea Vetráková:** Direct SpoIIQ-SpoIIAH interaction is dispensable for sporulation in *Bacillus subtilis*

15:15 – 15:30 **Patrik Babulic:** Protektívny účinok laktoferínových peptidov voči rôznym variantom vírusu SARS-CoV-2

15:30 – 15:45 **Dominika Piatrová:** Vplyv delécie *dbl2* na dynamiku chromozómov a homologickú rekombináciu v kvasinke *Schizosaccharomyces pombe*

15:45 – 16:00 **Emma Buchová:** Funkčná analýza neuropeptidu SGP a jeho receptorov u kliešťa *Ixodes ricinus*

16:00 – 16:15 **Ivana Fábryová:** Funkčné prepojenie proteínov Mdm31, Mdm32 a Fmp30 s metabolizmom mitochondriálnych fosfolipidov

16:15 – 16:45 PRESTÁVKA NA KÁVU (Coffee break)

Sekcia II

Predseda: Dušan Žitňan, Stanislav Stuchlík

- 16:45 – 17:00 **Dajana Gondoľová:** Charakterizácia stafylokokov izolovaných zo zdravej kože koní
- 17:00 – 17:15 **Vladimíra Hoďová:** Časová dynamika neurozápalu a bunkovej proliferácie po lézii striata u vtákov a cicavcov
- 17:15 – 17:30 **Alexandra Křížová:** Porovnanie stratégií heterológnej produkcie rekombinantnej CGTázy
- 17:30 – 17:45 **Matej Medla:** Využitie bioesejí pri štúdiu regulačnej funkcie neuropeptidov u kliešťa *Ixodes ricinus*
- 17:45 – 18:00 **Tomáš Holka:** Moderné biosenzorové technológie v onkologickej diagnostike
- 18:30 – 20:00 **VEČERA (Dinner),** neformálna diskusia (sociable discussion)

2. Deň: 8. 9. 2026 (utorok)

7:30 – 9:00 **RAŇAJKY (Breakfast)**

Súťaž mladých vedeckých pracovníkov

Sekcia III

Predseda: Peter Račay, Zdena Sulová

- 9:15 – 9:30 **Ihar Karatkevich:** Stratégie zvyšovania produkcie a rozpustnosti ťažko exprimovateľných proteínov v bakteriálnych expresných systémoch
- 9:30 – 9:45 **Jana Babulicová:** Vplyv miR-133b na proliferáciu, apoptózu a metabolické preprogramovanie buniek kolorektálneho karcinómu HCT116
- 9:45 – 10:00 **Eliška Ozániková:** Izolácia a charakterizácia myrozinázy z vesnovky obľúbenej
- 10:00 – 10:15 **Alžbeta Jančovičová:** Identifikácia laktátom sprostredkovaného substrátového cyklu medzi tukovým tkanivom a pečeňou počas vystavenia chladu
- 10:15 – 10:30 **Jakub Štepanovský:** Vplyv metabolického stresu na proteomiku mitochondrií pečene – úloha mitochondriálnej oxidácie sírovodíka
- 10:30 – 11:00 **PRESTÁVKA NA KÁVU (Coffee break)**

Sekcia IV

Predseda: Jan Malínský, Ján Jamroškovič

- 11:00 – 11:15 **Lucia Šofranková:** Biologické účinky nových syntetických zlúčenín v citlivých a rezistentných leukemických bunkách
- 11:15 – 11:30 **Roman Dekhtiarenko:** Translokátorový proteín v kontakte s mitochondriálnym intracelulárnym chloridovým kanálom CLIC5
- 11:30 – 11:45 **Ľubomíra Takáčová:** Štúdium vplyvu fenantrochinolizidínového alkaloidu na stres endoplazmatického retikula
- 11:45 – 12:00 **Viktória Líšková:** Vplyv doxorubicínu, chemickej hypoxie a hyperglykémie na redoxnú signalizáciu a autofágiu v kardiomyocytoch H9c2
- 12:00 – 12:15 **Patrik Jambrich:** Dysfunkcia mitochondrií indukovaná stresom endoplazmatického retikula: účasť IRE1 α kinázy
- 12:15 – 12:30 **Daria Kornieieva:** Molekulárny vodík a jeho terapeutický potenciál pri srdcovom zlyhávaní
- 12:30 – 14:00 OBED (Lunch)**

Posterová sekcia

Predseda: Miroslav Baláž

- 14:00 – 14:30 Prezentácie a diskusie pri posteroch (Poster Presentations and Discussions)
- 14:30 – 15:30 Komerčné prezentácie (Commercial Presentations)
- 15:30 – 16:00 **PRESTÁVKA NA KÁVU (Coffee break)**
- 16:00 **Voľný program** (Free program): Komentovaná prechádzka po okolí Trubárky
- 19:00 **VEČERA (Dinner)**, neformálna diskusia (sociable discussion)

3. Deň: 9. 9. 2026 (streda)

- 7:30 – 9:00 **RAŇAJKY (Breakfast)**
- 9:30 – 10:30 **Zasadnutie poroty (Jury meeting)**
- 10:40 – 11:30 **Vyhlásenie výsledkov súťaže mladých vedeckých pracovníkov a ukončenie 14. ročníka Drobnicovho memoriálu (Announcement of the Results and Closing Ceremony)**
- 11:30 – 13:00 **OBED (Lunch), Odchod (Departure)**

ZBORNÍK PRÍSPEVKOV
Prednášky a postre

Plenárna prednáška

Bacterial G-quadruplexes: from genome-wide prediction to synthetic gene regulation in *Bacillus subtilis*

Ján Jamroškovič

Institute of Molecular Biology of Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 21, 84551 Bratislava, Slovakia

G-quadruplexes (G4s) are non-canonical nucleic acid structures formed by guanine-rich sequences that assemble into stacked G-tetrads. In eukaryotes, DNA and RNA G4s are recognized as important regulators of transcription, translation, genome stability and chromatin organization. Recent transcriptome-wide studies have demonstrated the presence of G4 structures in bacterial genomes and transcriptomes, suggesting that they may represent an additional and largely unexplored layer of gene regulation in prokaryotes. However, the structural diversity, genomic distribution and regulatory functions of bacterial G4s remain poorly understood, particularly in Gram-positive bacteria.

We investigated the occurrence and regulatory potential of G4-forming sequences in the model bacterium *Bacillus subtilis*. Using complementary prediction algorithms, we generated a genome-wide map of putative G4-forming sequences (PQSs). Representative PQSs were characterized by biophysical and biochemical methods such as UV-visible spectroscopy, circular dichroism spectroscopy, native PAGE, anti-G4 antibody recognition, qPCR stop assay, primer extension analyses and molecular dynamics simulations. These experiments revealed substantial structural diversity, ranging from relatively homogeneous intramolecular G4s to polymorphic higher-order assemblies.

To evaluate the regulatory activity of G4 structures *in vivo*, we developed a single-copy chromosomal reporter system enabling the insertion of defined PQSs into regulatory regions of a reporter gene. We complemented these experiments with RT-qPCR analyses of transcript abundance and integrated the results with genome-wide bioinformatic analyses and RNA polymerase occupancy data. Together, this multidisciplinary approach provides a comprehensive framework for investigating the structural properties, genomic distribution and regulatory potential of bacterial G4-forming sequences. Our study contributes to a better understanding of non-canonical nucleic acid structures in Gram-positive bacteria and explores their possible applications as synthetic regulatory elements for bacterial gene expression engineering.

Direct SpoIIQ-SpoIIAH interaction is dispensable for sporulation in *Bacillus subtilis*

Andrea Vetráková¹, Katarína Muchová¹, James A. Brannigan², Sonam Sidhu², Jana Júdová¹, Zuzana Chromiková¹, Anthony J. Wilkinson², Imrich Barák¹

¹ *Department of Microbial Genetics, Institute of Molecular Biology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia*

² *York Structural Biology Laboratory, York Biomedical Research Institute and Department of Chemistry, University of York, York, United Kingdom*

Sporulation is the simplest cell differentiation process, which allows *Bacillus subtilis* to adapt to changing environmental conditions by producing highly resistant spores. One of the markers for sporulation is the process of the formation of a septum close to one pole of the cell called asymmetric septation [1,2]. The formation of a septum divides the cell into two compartments: the larger mother cell and smaller forespore [3,4].

Sporulation is connected with a fascinating process called engulfment, where the mother cell engulfs the forespore, internalizing the latter as a cell-within-a-cell [5]. Forespore protein SpoIIQ and mother cell protein SpoIIAH interact through their extracellular domains across the intermembrane space tracking the migration of the engulfing mother cell membrane and stabilizing the double membrane structure [6,7]. The crystal structure of SpoIIQ-SpoIIAH complex is showing that in the interface are prominent two leucines of SpoIIQ, Leu109 and Leu118 whose side-chains project towards SpoIIAH and become wholly buried in the complex [8]. These leucines were independently mutated to Ala, Phe, and Glu. We also constructed a Glu109-Glu118 double mutant [9].

In this work, by introducing mutations into SpoIIQ at sites that contribute to the SpoIIQ-SpoIIAH interface, we investigated how these affect SpoIIQ-SpoIIAH interaction, their localization and sporulation. We showed that selected mutations differently affect this interaction. Mutant strains also differ in SpoIIQ localization patterns and sporulation. Our findings indicate that SpoIIQ-SpoIIAH interaction is dispensable for sporulation and that alternate mechanisms must exist to ensure effective sporulation in its absence [9].

References:

- [1] Barák I, Muchová K, Labajová N. (2019) *Future Microbiol.* 14(4): 353-363.
- [2] Khanna K, Lopez-Garrido J, Pogliano K. (2020) *Annu. Rev. Microbiol.* 74: 361-386.
- [3] Barák I, Muchová K. (2018) *PLoS One.* 13(8): e0201979.
- [4] Errington J. (2003) *Nat Rev Microbiol.* 1(2): 117-126.
- [5] Higgins D, Dworkin J. (2012) *FEMS Microbiol. Rev.* 36: 131-148.
- [6] Blaylock B, Jiang X, Rubio A, Pogliano K. (2004) *Mol. Cell.* 16(1): 101-112.
- [7] Broder DH, Pogliano K. (2006) *Cell.* 126(5): 917-928.
- [8] Levnikov VM, Blagova EV, McFeat A, Fogg MJ, Wilson KS, Wilkinson AJ. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109(14): 5441-5445.
- [9] Muchová K, Vetráková A, Brannigan JA, Sidhu S, Júdová J, Chromiková Z, Wilkinson AJ, Barák I. (2025) *J. Biol. Chem.* 301(12): 110934.

Acknowledgement: This work was supported by VEGA Grant No. 2/0016/25 from the Slovak Academy of Sciences and a Grant from the Slovak Research and Development Agency under contract APVV-22 to 0303 to I. B. This work was funded by the European Union – NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan of the Slovak Republic, under project number 09103-03-V06 to 00080.

Protektívny účinok laktoferínových peptidov voči rôznym variantom vírusu SARS-CoV-2

Patrik Babulic¹, Maja Častven¹, Gabriela Ondrovičová¹, Vladimír Pevala¹, Rostislav Škrabana², Anna Ohradanova-Repic³, Vladimír Leksa¹

¹ Ústav molekulárnej biológie, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava, Slovenská republika

² Neuroimunologický ústav, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 10 Bratislava, Slovenská republika

³ Institute for Hygiene and Applied Immunology, Medical University of Vienna, Lazarettgasse 19, 1090 Vienna, Austria

Koronavírus SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome 2) spôsobil globálnu pandémiu známu ako COVID-19. Napriek dostupnej vakcinácii, nové varianty predstavujú kontinuálne nebezpečenstvo pre rizikové skupiny ľudí. Práve preto sa snažíme nájsť a popísať účinok nových molekúl s možným terapeutickým potenciálom.

SARS-CoV-2 je β -koronavírus s pozitívnu jednovláknovou RNA (+ssRNA), ktorý sa prvýkrát objavil v decembri 2019 vo Wuhane, v Číne [1]. Pomocou S1 podjednotky Spike proteínu sa virión viaže na receptor ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2), lokalizovaný na povrchu hostiteľskej bunky. Využitím aktivity serínových proteáz, najmä TMPRSS2, je štiepený na 2 podjednotky S1 a S2. Podjednotka S2 umožní viriónu SARS-CoV-2 fúziu s membránou hostiteľskej bunky a prienik do vnútrobunkového prostredia, kde pokračuje replikačný cyklus [2]. Alternatívnym spôsobom prieniku do hostiteľskej bunky predstavuje interakcia medzi Spike proteínom a HSPG (heparan sulphate proteoglycans), pomocou ktorej virión SARS-CoV-2 preniká do bunky vo forme endozómalných vezikúl [3].

Laktoferín (LF) je glykoproteín, ktorý sa nachádza prevažne v materskom mlieku, ale aj v ostatných tekutinách v tele a v granulách neutrofilov. Jeho primárnou funkciou je regulácia iónov železa v organizme, avšak má aj iné benefičné efekty, od antimikrobionálnych, antivírusových po antitumorové. LF a jeho prirodzene vznikajúci peptid laktofericín (LFC) znižujú mieru infekcie SARS-CoV-2 do hostiteľských buniek. Inhibíciou serínovej proteázy TMPRSS2 LFC znížil mieru infekcie hostiteľských buniek [4]. Čo sa týka interakcie so Spike proteínom, tak LF, ako aj LFC dokážu viazať Spike proteín. Okrem toho sme pozorovali rozdiely v schopnosti viazať Spike proteín medzi ľudským LF a boviným LF [5].

V našej práci sme sa zamerali na preskúmanie týchto rozdielov s možnosťou ich následnej aplikácie pri dizajne potenciálnej terapeutickkej molekuly. Za týmto účelom sme sa pokúsili zistiť interakčné miesto, ktorým sa LF viaže na Spike proteín s využitím kryštalizácie a molekulárnych simulácií. S pomocou *in silico* metód sme vyselektovali 7 peptidových sekvencií z rôznych druhov cicavcov. Z nich sme testovali 5 v schopnosti neutralizácie infekcie 3 rôznych variantov SARS-CoV-2 (WT, BA.1, KP.2). Na tento účel sme použili bunkovú kultúru E6-Vero-TMPRSS2-GFP. V budúcnosti plánujeme vykonať ELISA experimenty, kde chceme zistiť schopnosť peptidov viazať Spike proteín, resp. len receptor viažucu doménu (RBD) jednotlivých variantov SARS-CoV-2. V nadväznosti na bunkové experimenty plánujeme objasniť mechanizmus, ktorým tieto peptidy prejavujú neutralizačný efekt.

Literatúra:

- [1] Wu F., Zhao S., Yu B., et al. (2020) *Nature*. 579(7798):265-269.
- [2] Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., et al. (2020) *Cell*. 181(2):271-280.e8.
- [3] Clausen, T.M., Sandoval, D.R., Sliid, C.B., et al. (2020). *Cell*. 183(4):1043-1057.e15.
- [4] Ohradanova-Repic A., Praženicová R., Gebetsberger L., et al. (2023) *Pharmaceutics*. 15(4):1056.
- [5] Babulic P., Cehlar, O., Ondrovičová, G., et al. (2024) *Pharmaceutics (Basel)*. 17(8):1021.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov Plán obnovy 09I03-03-V02-00047, Doktorant APP0655, VEGA 01/0426/24, APVV-20-0513.

Vplyv delécie *dbl2* na dynamiku chromozómov a homologickú rekombináciu v kvasinke *Schizosaccharomyces pombe*

Dominika Piatrová¹, Anetta Bakošová^{1,2}, Veronika Novysedláková¹, Katarína Gaplovská², Silvia Poláková Bágel'ová^{1,2}

¹ Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 841 01 Bratislava, Slovenská republika

² Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

Meióza je špeciálny typ delenia buniek, počas ktorého dochádza k redukcii sád rodičovských chromozómov na polovicu, čím umožňuje vznik gamét, resp. spór [1]. Predpokladom správnej meiózy je homologická rekombinácia (HR), zabezpečujúca opravu naprogramovaných dvojlákových zlomov. Dôležitým intermediátom HR sú D-slučky, vznikajúce, keď vlákno siahajúce zo „zlomeného chromozómu“ invaduje homologického donora, ktorý slúži ako templát na syntézu chýbajúceho úseku DNA. HR takto zabezpečuje nielen genetickú variabilitu, ale aj vznik chiazem, ktoré prispievajú k správnej orientácii chromozómov a následnej segregácii DNA [1, 2].

Dbl2 bol identifikovaný ako faktor HR, ktorý sa podieľa na správnej segregácii DNA v meióze kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* [3, 4]. *In vitro* sa viaže na DNA štruktúry, ktoré pripomínajú rôzne rekombinačné intermediáty, ako sú D-slučky alebo Hollidayove spojenia a fyzicky interaguje s podjednotkami niekoľkých komplexov helikáz a rezolváz, ktoré ich spracovávajú [5]. Bez prítomnosti Dbl2 sa rekombinačné intermediáty akumulujú až do neskorých štádií meiózy, sprevádzané pretrvávajúcimi Rad51 fokusmi. To v mnohých prípadoch vedie ku kolapsu deliaceho vretienka a nesprávnej segregácii DNA [4]. Doterajší výskum priblížil úlohu Dbl2 v HR, počas ktorej lokalizuje Fbh1 helikázu do oblastí D-slučiek, kde odstraňuje Rad51 rekombinázu, čím zabezpečuje správny priebeh rekombinačnej opravy [4]. Konkrétny mechanizmus vzniku pozorovaných defektov však dosiaľ nebol objasnený.

V tejto práci sme sa zamerali na bližšiu analýzu fenotypu *dbl2Δ* delečných mutantov. Nesprávne rozdelenie DNA sme pozorovali už počas anafázy I a tieto defekty často pretrvávali až do anafázy II a viedli k vzniku rôznych typov defektných zygot. V bunkách s deléciou *dbl2* dochádzalo k zvýšenej frekvencii rekombinácie medzi sesterskými chromatídami v meióze, čo môže súvisieť s pozorovanými poruchami segregácie DNA. V interfáznych *dbl2Δ* bunkách sme navyše zaznamenali čiastočne narušenú organizáciu chromozómov v jadre. Táto práca prispieva k objasneniu funkcie Dbl2 v *S. pombe* a poukazuje na jeho širšiu úlohu v procesoch súvisiacich s homologickou rekombináciou, segregáciou a organizáciou chromozómov.

Literatúra:

- [1] Yamashita A., Sakuno T., Watanabe Y., Yamamoto M. (2016). Cold Spring Harb. Protoc. 2017(9):pdb.top079855
- [2] Hirose Y., Suzuki R., Ohba T., Hinohara Y., Matsuhara H., Yoshida M., Itabashi Y., Murakami H., Yamamoto A. (2011). PLoS Genet. 7(3):e1001329
- [3] Gregan J., Rabitsch P. K., Sakem B., Csutak O., Latypov V., Lehmann E., Kohli J., Nasmyth K. (2005). Curr. Biol. 15(18), p. 1663
- [4] Poláková S., Molnarová L., Hyppa R. W., Benko Z., Misova I., Schleiffer A., Smith G. R., Gregan J. (2016). PLoS Genet. 12(6), e1006102
- [5] Bakosova A., Cipak L., Mayerova N., Krol K., Benko Z., Pitelova A., Kolesar P., Piatrova D., Smondrkova M., Maresova A., Molnarova L., Cipakova I., Altmannova V., Bellova J., Barath P., Prevorovsky M., Palecek J., Krejci L., Gregan J., Skoneczna A., Bagelova Polakova S. (2025). Sci. Rep. 15(1):21895.

Pod'akovanie: Práca bola finančne podporená z grantov APVV-21-0210, APVV-22-0294 a VEGA 1/0340/23.

Funkčná analýza neuropeptidu SGP a jeho receptorov u kliešťa *Ixodes ricinus*

Emma Buchová¹, Vanda Klöcklerová¹, Matej Medla¹, Juraj Koči^{1,2}, Ladislav Roller¹, Dušan Žitňan¹

¹ Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava

² Virologický ústav BMC SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava

Kliešte patria medzi hematofágne ektoparazity, ktoré sú schopné prenášať široké spektrum patogénov vrátane baktérií, vírusov a prvokov, čím predstavujú závažné riziko pre zdravie ľudí aj zvierat na celom svete. Ich schopnosť cicať krv, prežívať dlhé obdobia mimo hostiteľa a úspešne sa rozmnožovať závisí od presne regulovaných fyziologických mechanizmov, ktoré tvoria základ ich biologickej adaptability ako významných vektorov. V posledných rokoch sa kliešte v dôsledku klimatických zmien geograficky rozširujú do nových oblastí Európy, čo zvyšuje riziko šírenia kliešťami prenášaných patogénov aj do regiónov, kde sa doteraz nevyskytovali. Aj napriek narastajúcim ekologickým a epidemiologickým poznatkom však molekulárna regulácia fyziológie kliešťov zostáva do veľkej miery nepreskúmaná.

Kľúčovú úlohu v riadení fyziologických a behaviorálnych procesov článkonožcov zohrávajú práve neuropeptidy, medzi ktoré patrí aj SGP peptid. Hoci bola jeho funkcia opísaná u viacerých modelov hmyzu, v súčasnosti nie sú k dispozícii žiadne funkčné ani expresné údaje u kliešťov. Keďže sa SGP peptid exprimuje v strednom čreve kliešťa, ktoré je kľúčovým orgánom pre trávenie krvi, aktiváciu tráviacich enzýmov a zároveň slúži ako rezervoár patogénov, jeho štúdium môže priniesť nové poznatky o molekulárnej regulácii trávenia a príjmu potravy u kliešťov.

PodĎakovanie: Táto práca vznikla s finančnou podporou grantov APVV-23-0168, VEGA-2/0070/23, VEGA-2/0037/23.

Funkčné prepojenie proteínov Mdm31 a Mdm32 s metabolizmom mitochondriálnych fosfolipidov

Ivana Fábryová¹, Lenka Bábelová¹, Cunqi Ye², Mária Balážová¹

¹ Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 840 05 Bratislava, Slovenská republika

² 866 Yuhangtang Road, Xihu District, Hangzhou, Zhejiang Province, 310058, China, Asia

Kardiolipín (CL) je mitochondriálny fosfolipid nevyhnutný na udržiavanie štruktúry a funkcie vnútornej mitochondriálnej membrány, stabilitu komplexov dýchacieho reťazca a mitochondriálnu bioenergetiku. Narušenie jeho metabolizmu preto môže významne ovplyvniť funkciu mitochondrií a celkovú fyziológiu bunky. Napriek významu CL nie sú mechanizmy regulujúce jeho metabolizmus úplne objasnené. Naša práca je preto zameraná na charakterizáciu úlohy mitochondriálnych proteínov Mdm31 a Mdm32 v metabolizme fosfolipidov a mitochondriálnej homeostáze kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*.

Fenotyp mutantných kmeňov bol charakterizovaný pomocou rastových testov na fermentovateľných a nefermentovateľných médiách. Delečné mutanty v génoch *MDM31* a *MDM32* vykazovali zhoršený rast, pričom tento fenotyp bol výraznejší za podmienok vyžadujúcich funkčnú mitochondriálnu respiráciu. V nadväznosti na tento fenotyp bol funkčný stav mitochondrií hodnotený meraním spotreby kyslíka v izolovaných mitochondriách pomocou Clarkovej kyslíkovej elektródy. Mutanty s deléciou *MDM31* a *MDM32* vykazovali zníženú respiračnú aktivitu, čo poukazuje na súvislosť týchto proteínov so správnou funkciou mitochondrií. Keďže mitochondriálna funkcia úzko súvisí so zložením membránových fosfolipidov, následne sme analyzovali aj lipidový profil mutantných kmeňov. Analýza mitochondriálnych lipidov poukázala na zmeny metabolizmu CL v mutantovi *mdm31Δ*, v ktorom bola pozorovaná akumulácia monolyzokardiolipínu (MLCL). Rovnaké pozorovanie sme mali pri mutantovi *mdm32Δ*, pričom v tomto kmeni sme navyše k zmeneným hladinám CL a MLCL pozorovali aj zníženú hladinu PE.

Doterajšie výsledky naznačujú funkčné prepojenie proteínov Mdm31 a Mdm32 s udržiavaním mitochondriálnej homeostázy a ich potenciálnu účasť v správnom fungovaní mitochondrií prostredníctvom vzájomne súvisiacich mechanizmov.

PodĎakovanie: Táto práca bola podporená grantmi VEGA2/0012/16 a SAS-NSTC/JRP/2023/773/LipAI.

Charakterizácia stafylokokov izolovaných zo zdravej kože koní

Dajana Gondoľová^{1,2}, Lucia Štempelová¹, Viola Strompfová¹

¹ Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Centrum Biovied SAV, v.v.i., Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice

² Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

Koža zdravých koní je osídlená rozmanitým spoločenstvom mikroorganizmov, ktoré tvoria prirodzenú súčasť jej mikrobiómu a podieľajú sa na udržiavaní rovnováhy kožného prostredia. Významnú skupinu týchto mikroorganizmov predstavujú stafylokoky, ktoré za fyziologických podmienok fungujú ako komenzály, avšak za určitých okolností môžu pôsobiť aj ako oportunistické patogény. Charakterizácia stafylokokov izolovaných zo zdravej kože koní je preto dôležitá pre lepšie pochopenie ich biologických vlastností a potenciálneho významu pre zdravie zvierat. Cieľom tejto práce bolo preto analyzovať druhové zastúpenie stafylokokov izolovaných zo sterov zdravej kože koní, charakterizovať ich faktory virulencie a takisto rezistenciu voči vybraným antibiotikám. Na identifikáciu izolátov bola využitá hmotnostná spektrometria MALDI-TOF. Vzorky boli odobraté od 50 klinicky zdravých koní z piatich anatomických lokalít, konkrétne z krku, chrbta, brucha, sponky a pysku. Celkovo bolo identifikovaných 19 druhov stafylokokov, pričom najčastejšie sa vyskytovali druhy *Staphylococcus succinus*, *S. xylosus*, *S. vitulinus* a *S. warneri*. Antimikrobiálna rezistencia bola hodnotená fenotypovo pomocou MIC evaluačných stripov Liofilchem® a genotypovo detekciou génov rezistencie. Pri kmeňoch testovaných pomocou evaluačných stripov (n = 50; jeden bakteriálny kmeň od každého koňa) bola najvyššia miera rezistencie zaznamenaná voči penicilínu G (48 %). Nízka úroveň rezistencie bola zistená voči erytromycínu (12 %), tetracyklínu (6 %), linezolidu (4 %) a oxacilínu (4 %). U žiadneho izolátu sa nepotvrdila multirezistencia. Gén *blaZ* bol potvrdený u 90 % izolátov rezistentných na penicilín, zatiaľ čo gény *mecA* a *mecC* neboli detegované. Pre testovanie fenotypových vlastností bolo vybraných 121 kmeňov. Schopnosť tvoriť biofilm bola preukázaná u 90,1 % izolátov, z ktorých 62 % vykazovalo intenzívnu produkciu. Produkcia želatinázy bola zaznamenaná u 50,4% kmeňov, lipázy u 46,3% kmeňov, DNázy u 41,3% a proteázy u 22,3% izolátov. Hemolytická aktivita bola hodnotená na ovčom a konskom krvnom agare. Väčšina izolátov nevykazovala hemolýzu. Enzymatická aktivita hodnotená pomocou kitov API ZYM (BioMérieux) preukázala častú produkciu kyslej a alkalickéj fosfatázy, esterázy, esterázy-lipázy a naftol-AS-BI-fosfohydrolázy. Získané výsledky poukazujú na to, že stafylokoky prirodzene osídľujúce kožu zdravých koní disponujú viacerými faktormi virulencie.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov APVV-23-0005 a VEGA 2/0004/24.

Časová dynamika neurozápalu a bunkovej proliferácie po lézii striata u vtákov a cicavcov

Vladimíra Hoďová, Rebecca Radič, Eva Pavuková, Ľubica Niederová-Kubíková

Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovenská republika

Neurogenéza v dospelom mozgu je dynamický proces ovplyvňovaný viacerými faktormi, pričom jedným z významných modulátorov je neurozápal. Jeho vplyv na neurogenézu závisí od intenzity a trvania zápalovej odpovede, pričom za určitých podmienok môže proliferáciu a regeneráciu nervového tkaniva podporovať, zatiaľ čo pretrvávajúci alebo nadmerný zápal môže tieto procesy potláčať. U dospelých cicavcov je bunková proliferácia za fyziologických podmienok sústredená najmä do subventrikulárnej zóny (SVZ) laterálnych komôr a subgranulárnej zóny (SGZ) *gyrus dentatus* hipokampu, odkiaľ neuroblasty migrujú do čuchového laloka a v rámci hipokampu. Proliferácia u spevavcov prebieha vo ventrikulárnej zóne (VZ) laterálnej komory, odkiaľ novovzniknuté neuróny migrujú do viacerých oblastí predného mozgu. Avšak schopnosť regenerácie centrálného nervového systému (CNS) sa u vtákov a cicavcov líši. Kým dospelé spevavce si zachovávajú pozoruhodnú schopnosť regenerácie aj po neurotoxickom poškodení, dospelé hlodavce majú obmedzenú regeneračnú schopnosť poškodeného tkaniva.

Cieľom tejto štúdie je charakterizovať a porovnať dynamiku neurozápalu sledovaním časových zmien v expresii cytokínov a trofických faktorov a kvantifikovať proliferáciu buniek v neurogénnych zónach po lézii striata u zebričky červenozobej a potkana.

Do štúdie bolo zaradených 39 dospelých samcov zebričky (*Taeniopygia guttata*), ktoré boli rozdelené do troch skupín podľa času prežívania po lézii: 2 dni (2D), 2 týždne (2W) a 3 mesiace (3M) a 21 samcov potkana kmeňa Wistar, ktoré boli rozdelené do dvoch skupín podľa času prežívania po lézii: 2 dni (2D) a 2 týždne (2W). Každá skupina pozostávala z kontrolnej a léziou ovplyvnenej skupiny. Lézie boli bilaterálne indukované v oblasti striata pomocou kyseliny iboténovej. Dve hodiny pred usmrtením bol obom animálnym modelom podaný marker bunkovej proliferácie. U zebričiek bola kvantifikovaná expresia génov prozápalových cytokínov a trofických faktorov v jednej hemisfére, zatiaľ čo proliferácia buniek vo ventrikulárnej zóne (VZ) bola hodnotená v druhej hemisfére. U potkanov bola zatiaľ hodnotená proliferácia buniek v dvoch neurogénnych zónach – SVZ a SGZ, a v hiluse hipokampu.

Naše výsledky u zebričiek ukazujú, že prozápalové molekuly IL-12 a TNF- α boli zvýšené počas skorej (2D) a strednej (2W) fázy zápalu, zatiaľ čo IGF a BDNF vykazovali zvýšenú expresiu v strednej až neskorej fáze (2W–3M), čo môže odrážať prechod od zápalovej odpovede k regeneračným procesom. Hladiny IL-1 β , IL-12 a TNF- α boli v skupinách s léziou vyššie v porovnaní s kontrolnými skupinami. Zebričky s léziou vykazovali zvýšenú bunkovú proliferáciu počas skorej zápalovej fázy (2D), ktorá sa následne v strednej fáze zápalu (2W) znížila. V čase 3M sa úroveň proliferácie medzi kontrolnou skupinou a skupinou s léziou nelíšila. U potkanov proliferácia v SGZ a hiluse hipokampu vykazovala nárast v skupine 2W v porovnaní so skupinou 2D. Zároveň bola proliferácia v SGZ vyššia u kontrolných jedincov v porovnaní s jedincami s léziou. Proliferácia v SVZ nevykazovala žiadne zmeny medzi jednotlivými skupinami.

Naše výsledky naznačujú, že akútny zápal môže u spevavcov podporovať bunkovú proliferáciu, zatiaľ čo neskoršie fázy zápalovej odpovede môžu prispievať k regenerácii poškodenej oblasti striata. U cicavcov výsledky naopak naznačujú odlišnú dynamiku proliferácie, pričom zápalová odpoveď môže byť spojená s potlačením proliferácie v skorých fázach po poškodení.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou Doktrantu SAV - APP0800.

Porovnanie stratégií heterológnej produkcie rekombinantnej CGTázy

Alexandra Křížová¹, Eva Šafránek Struhárňanská¹, Lucia Nováková¹, Ihar Karatkevich¹, Vladimír Štefuca², Stanislav Stuchlík¹

¹ *Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika*

² *Ústav biotechnológie, Fakulta potravinárskej a chemickej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika*

Cyklodextrín glukano-transferázy (CGTázy; EC 2.4.1.19) sú bakteriálne enzýmy patriace medzi rodinu glykozidových hydroláz [1]. Sú významné svojou schopnosťou konvertovať škrob na cyklické oligosacharidy – cyklodextríny, ktoré sa delia do troch skupín podľa počtu glukopyranózových jednotiek na α -, β - a γ -cyklodextríny. Potenciál CGTáz aj cyklodextrínov je široko využívaný v priemyselnom odvetví, od spracovania a balenia potravín cez farmaceutické a kozmetické aplikácie, čistenie odpadových vôd až po využitie v nanotechnológii [2, 3].

V našej práci sme sa zaoberali termostabilnou CGTázou z termofilnej anaeróbnej baktérie *Thermoanaerobacter* sp., ktorej gén bol klonovaný do plazmidu pET28a a heterologicky exprimovaný v hostiteľskom organizme *Escherichia coli*. Celkový výťažok enzýmu produkovaného v štandardnom LB médiu pri optimálnej teplote nebol dostatočný a nepodarilo sa stanoviť enzymatickú aktivitu CGTázy. Cieľom našej práce bolo zvýšiť množstvo stabilného a aktívneho enzýmu prostredníctvom rôznych stratégií exprese proteínov v *E. coli*. Práca bola rozdelená do troch častí, v ktorých bol sledovaný a porovnávaný vplyv zložiek produkčného média, vplyv induktora (IPTG) na úroveň exprese a vplyv rôznych produkčných kmeňov *E. coli*. Po základnej optimalizácii produkčných podmienok sme získali stabilnú a aktívnu CGTázu. Pre priemyselnú aplikáciu enzýmu je ale nutné zvýšiť objem produkcie termostabilnej CGTázy.

Literatúra:

- [1] Stam, M. R., Danchin, E. G., Rancurel, C., Coutinho, P. M., Henrissat, B. (2006). Protein Engineering, Design and Selection. 19(12), 555-562.
- [2] Lim, C. H., Rasti, B., Sulisty, J., Hamid, M. A. (2021). Heliyon, 7(2).
- [3] van der Veen, B. A., van Alebeek, G. J. W., Uitdehaag, J. C., Dijkstra, B. W., Dijkhuizen, L. (2000). European Journal of Biochemistry. 267(3), 658-665.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov UK/1212/2026, APVV-21-0215 a APVV-22-0161.

Využitie bioesejí pri štúdiu regulačnej funkcie neuropeptidov u kliešťa *Ixodes ricinus*

Matej Medla¹, Vanda Klocklerová¹, Emma Buchová¹, Juraj Koči^{1,2}, Mirko Slovák¹, Ladislav Roller¹, Dušan Žitňan¹

¹ Ústav zoológie v. v. i., Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava, Slovenská republika

² Virologický ústav BMC, v. v. i., Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovenská republika

V našom výskume sa dlhodobo venujeme neuropeptidom u kliešťa *Ixodes ricinus* a ich úlohe v regulácii kľúčových fyziologických procesov, akými sú príjem potravy, rozmnožovanie či metabolizmus. V predchádzajúcich analýzach – *in silico* identifikácia neuropeptidov, farbenia pomocou prób (*in situ* hybridizácia) resp. protilátok (imunohistochemia), charakterizácia receptorov a detekcia ich expresie pomocou qRT-PCR – sme sa zamerali na dvojicu neuropeptidov, myoinhibičný peptid (MIP) a myostimulačný peptid (MSP).

Receptory pre tieto neuropeptidy sú výrazne exprimované v akcesorických žľazách samcov, na základe čoho sme predpokladali funkciu MSP/MIP signálnych dráh v regulácii reprodukcie kliešťov. V tejto práci sme sa venovali predovšetkým využitiu funkčných bioesejí. Pomocou *in vitro* kontrakčných esejí sme preukázali, že MIP a MSP pôsobia na samčie akcesorické žľazy opačným spôsobom – MSP kontrakcie stimuluje, MIP ich naopak tlmí. Následne sme RNA interferenciou, resp. priamym injektovaním biogénnych peptidov *in vivo* potvrdili priamu úlohu MSP/MIP pri prenose spermatofóru zo samca na samicu a zistili, že kombinácia dsRNA pre MIPRs a MSPRs výrazne znižuje prežívanie ďalšej generácie kliešťov. Keďže prenos spermatofóru je nevyhnutnou podmienkou pre vstup samice do rýchlej fázy cicania (okolo dňa 6–7), predpokladáme, že práve MSP signalizácia počas tohto procesu predstavuje spúšťač signál pre nástup tejto fázy a následnú vitelogenézu a ovipozíciu.

Výsledky získané kombináciou *in vitro* a *in vivo* bioesejí, ktoré predstavujú kľúčový nástroj pri objasňovaní funkcie neuropeptidov u kliešťov, ukazujú, že signalizácia MSP/MIP pravdepodobne prepája reprodukciu samca a samice s nástupom rýchlej fázy cicania – kľúčovými krokmi pre prežitie ďalšej generácie kliešťov. Pochopenie tejto funkcie môže pomôcť navrhnuť stratégie na obmedzenie reprodukčnej zdatnosti kliešťov.

Kľúčové slová: neuropeptidy, MIP/MSP, *Ixodes ricinus*, reprodukcia, RNA interferencia

Podakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov: APVV-21-0431, APVV-23-0168, VEGA-2/0070/23, VEGA-2/0037/23 a TUBITAK-2024-01. Matej Medla je príjemca podporného fondu Štefana Schwartza 2025/OV2/018.

Moderné biosenzorové technológie v onkologickej diagnostike

Tomáš Holka¹, Jana Korčeková², Boris Lakatoš¹, Miroslav Gál³, Nicolas Martinka⁴, Alexandra Poturnayová^{2,4}

¹ *Ústav biochémie a mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská Technická Univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko*

² *Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum Biovied, Slovenská Akadémia Vied, Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovensko*

³ *Ústav anorganickej chémie, technológie a materiálov, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská Technická Univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko*

⁴ *Katedra laboratórnych vyšetровacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Univerzitné námestie 1, 918 43 Trnava, Slovensko*

Včasná diagnostika nádorových ochorení zohráva kľúčovú úlohu pri určovaní prognózy pacienta a úspešnosti liečby. Mnohé typy rakoviny sú však v súčasnosti diagnostikované až v pokročilých štádiách, často po vzniku metastáz. Z tohto dôvodu narastá potreba vývoja citlivých, selektívnych a spoľahlivých metód umožňujúcich včasnú detekciu nádorových ochorení.

V tom zmysle biosenzory predstavujú analytické zariadenia určené na detekciu špecifických biologických analytov. Ich základnými komponentmi sú biorozpoznávacia zložka a prevodník. Biorozpoznávacia zložka ako napríklad protilátka alebo aptamér zabezpečuje špecifické rozpoznanie a väzbu cieľového analytu, zatiaľ čo prevodník premieňa túto interakciu na merateľný signál. V závislosti od princípu detekcie môžu byť biosenzory napríklad elektrochemické, optické alebo hmotnostné. Vďaka vysokej citlivosti, selektivite a možnosti miniaturizácie predstavujú perspektívny nástroj pre diagnostiku a monitorovanie nádorových ochorení. Môžu byť využité na detekciu nádorových biomarkerov, monitorovanie priebehu ochorenia, ako aj hodnotenie odpovede na liečbu [1].

V tejto práci sme sa zamerali na vývoj elektrochemických a QCM aptasenzorov využívajúcich aptamér ako biologický rozpoznávací prvok na detekciu mikroRNA-21 (miRNA-21), ktorá predstavuje perspektívny biomarker asociovaný s viacerými typmi nádorových ochorení. Jej citlivá a selektívna detekcia je však vzhľadom na krátku dĺžku sekvencie, nízke koncentrácie v biologických tekutinách a vysokú sekvenčnú podobnosť jednotlivých miRNA analyticky náročná.

Experimentálna časť práce bola zameraná na optimalizáciu jednotlivých krokov potrebných na konštrukciu a správne fungovanie aptasenzorov, vrátane prípravy senzorového povrchu, imobilizácie biorekogničných prvkov a optimalizácie podmienok detekcie cieľovej miRNA-21. Po optimalizácii experimentálnych podmienok boli zostavené kalibračné krivky pre rôzne koncentrácie miRNA-21 s cieľom charakterizovať analytické vlastnosti vyvinutých senzorových platforiem.

Ďalší výskum bude zameraný na detailnú charakterizáciu analytických parametrov vyvinutých aptasenzorov, najmä limitu detekcie, lineárneho rozsahu, selektivity a reprodukovateľnosti, a následne na overenie optimalizovaných senzorových platforiem v biologických a klinických vzorkách. Vývoj citlivých aptasenzorových systémov na detekciu miRNA-21 tak predstavuje perspektívny prístup, ktorý môže v budúcnosti prispieť k rozvoju nových metód včasnej a minimálne invazívnej diagnostiky nádorových ochorení.

Literatúra:

[1] Bohunický B, Mousa S A. (2011) Nanotechnol. Sci. Appl., 4, s. 1–10

Podakovanie: Táto práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 1/0157/24, VEGA 2/0120/26, APVV-24-0491.

Stratégie zvyšovania produkcie a rozpustnosti ťažko exprimovateľných proteínov v bakteriálnych expresných systémoch

Ihar Karatkevich¹, Alexandra Křížová¹, Eva Šafranek Struhárňanská¹, Zdenko Levarski^{1, 2}, Ján Turňa^{1, 2}, Vladimír Beneš³, Stanislav Stuchlík^{1, 2}

¹ *Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika*

² *Vedecký park univerzity Komenského, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava, Slovenská republika*

³ *Genomics Core Facility, EMBL Heidelberg, Meyerhofstraße 1, 691 17 Heidelberg, Nemecko*

Rekombinantná produkcia biotechnologicky významných proteínov v prokaryotických expresných systémoch je často limitovaná ich nízkou rozpustnosťou, nesprávnym skladaním a tvorbou agregátov alebo inklúzných teliesok [1 – 3]. Cieľom práce preto bolo vyvinúť a porovnať rôzne stratégie vedúce k zvýšeniu produkcie, rozpustnosti a funkčnosti vybraných rekombinantných proteínov v bakteriálnych expresných systémoch.

Ako modelový proteín bola využitá reverzná transkriptáza (RT), ktorej produkcia v *Escherichia coli* je limitovaná tendenciou k agregácii [2]. Pomocou metódy overlap extension PCR boli pripravené varianty RT obsahujúce samostatné a kombinované mutácie a ich expresia a rozpustnosť boli porovnané pomocou SDS-PAGE, denzitometrickej analýzy a Western blotu. Kombinovaný mutant dosahoval najvyššie zastúpenie medzi cytoplazmatickými proteínmi (30,9–34,7 %), avšak jeho podiel rozpustnej formy bol výrazne znížený. Naopak, variant obsahujúci jednu z analyzovaných mutácií vykazoval vyššie množstvo rozpustnej RT v porovnaní s divokým typom. Výsledky poukazujú na význam individuálneho posudzovania mutácií, keďže ich kombinácia nemusí viesť k očakávanému synergickému zlepšeniu vlastností proteínu.

Ďalšia stratégia bola založená na zmene lokalizácie cieľového proteínu. Pre ťažko exprimovateľnú proteázu (TEP) bol pripravený expresný konštrukt obsahujúci signálnu sekvenciu umožňujúcu transport rekombinantného proteínu do periplazmatického priestoru [3, 4]. Pripravený systém umožnil produkciu cieľovej proteázy bez výrazného negatívneho vplyvu na rast hostiteľských buniek.

Úspešná produkcia ťažko exprimovateľných proteínov si môže vyžadovať kombináciu viacerých prístupov, zahŕňajúcich racionálny dizajn proteínových variantov, transport do periplazmy buniek a do rastového média a výber vhodného expresného hostiteľa. Získané poznatky predstavujú východisko pre ďalšiu optimalizáciu produkcie rekombinantných enzýmov a pre vývoj efektívnych bakteriálnych expresných systémov využiteľných v biotechnologických a výskumných aplikáciách.

Literatúra:

- [1] Herschhorn A., Hizi A. (2010). Retroviral reverse transcriptases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67, 2717–2731.
- [2] Ocorbin I. P., Filipenko M. L. (2021). M-MuLV reverse transcriptase: Selected properties and improved mutants. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 6315–6328.
- [3] Mital S., Christie G., Dikicioglu D. (2021). Recombinant expression of insoluble enzymes in *Escherichia coli*: a systematic review of experimental design and its manufacturing implications. *Microbial Cell Factories*, 20, 208.
- [4] Kleiner-Grote G. R. M., Risse J. M., Friehs K. (2018). Secretion of recombinant proteins from *E. coli*. *Engineering in Life Sciences*, 18, 532–550.

Podakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou projektov APVV-20-0284, APVV-21-0215, APVV-22-0161, projektu Horizon Europe č. 101160008 a Grantu Univerzity Komenského č. UK/1323/2025.

Vplyv miR-133b na proliferáciu, apoptózu a metabolickú aktivitu buniek kolorektálneho karcinómu HCT116

Jana Babulicová¹, Alžbeta Jančovičová¹, Miroslav Baláž¹, Silvia Tyčiaková² Jozef Ukropec¹, Barbara Ukropcová¹, Tímea Kurdiová¹

¹ *Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovenská republika*

² *Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovenská republika*

Bunky kolorektálneho karcinómu vykazujú dysreguláciu mnohých génov a mikroRNA, vrátane miR-133b. Jej bazálna expresia je nízka v porovnaní s okolitým fyziologicky zdravým epitelovým tkanivom hrubého čreva [1], čo je asociované so zvýšenou invazivitou a metastatickým potenciálom nádorových buniek [2]. Mechanizmy stojace za týmito účinkami však stále nie sú objasnené. V tejto štúdii sme preto skúmali vplyv miR-133b na proliferáciu, metabolizmus, génovú a proteínovú expresiu buniek kolorektálneho karcinómu.

Bunky kolorektálneho karcinómu HCT116 sme transfekovali mimikom miR-133b (30 nM), jeho inhibítorom (50 nM), alebo príslušnými negatívnymi kontrolami. Proliferácia buniek bola hodnotená pomocou testov BrdU a MTT 0 h, 24 h, 48 h a 72 h po transfekcii. Miera apoptózy bola stanovená pomocou prietokovej cytometrie s využitím farbenia Anexinom V. Zmeny na úrovni expresie proteínov boli zmerané pomocou proteínových erej Human XL Oncology Array kit (R&D Systems). Metabolické parametre glykolýzy a mitochondriálnej respirácie boli stanovené pomocou Seahorse XF Analyzáru. Na stanovenie hladín proteínov komplexov oxidatívnej fosforylácie a Skp2 bol použitý Western blot. Expresia génov súvisiacich s proliferáciou, apoptózou rakovinových buniek a metabolizmom bola analyzovaná pomocou qPCR 48 h po transfekcii.

Zvýšenie hladiny miR-133b viedlo k výraznému spomaleniu proliferácie rakovinových buniek po 72 hodinách od transfekcie a zároveň k zvýšeniu podielu apoptotických buniek. Tento efekt bol na molekulárnej úrovni sprevádzaný zmenami v regulácii bunkového cyklu a apoptózy, charakterizovanými zvýšenou hladinou tumor-supresorových proteínov p27 a p53, znížením hladín proteínu Skp2 (negatívny regulátor p27) a zníženou expresiou anti-apoptotického génu *BCL-2*. Po transfekcii mimikom miR-133b sme pozorovali aj zníženie bazálnej glykolýzy, bazálnej bunkovej respirácie a produkcie ATP, bez zmeny abundancie proteínov komplexov dýchacieho reťazca, poukazujúc na zníženie metabolickej aktivity nádorových buniek. Naopak, inhibícia miR-133b neovplyvnila proliferáciu, apoptózu, ani metabolickú aktivitu buniek HCT116, čo môže súvisieť s ich prirodzene nízkou bazálnou expresiou miR-133b.

Tieto zistenia naznačujú, že miR-133b prispieva k inhibícii proliferácie a metabolickej aktivity buniek kolorektálneho karcinómu HCT116, pravdepodobne prostredníctvom modulácie mechanizmov zapojených do regulácie bunkového cyklu a apoptózy.

Literatúra:

- [1] Yao B, Zhang Q, Yang Z. (2022) Mol. Cancer. 21(1):140.
- [2] Wang X, Bu J, Liu X. (2017) Oncotarget. 8:63935.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA-2/0144/23, APVV 19-0411 a APVV 23-0604.

Izolácia a charakterizácia myrozinázy z vesnovky obyčajnej

Ozániková Eliška, Galádová Helena

Ústav biochémie a mikrobiológie, FCHPT STU, Radlinského 9, 81237 Bratislava, Slovensko

Myrozináza je významný rastlinný enzým, ktorý sa podieľa na obrannom mechanizme rastlín čeľade *Brassicaceae*. Katalyzuje hydrolýzu glukozinolátov, pri ktorej vznikajú biologicky aktívne produkty, predovšetkým izotiokyanáty, ale v závislosti od podmienok reakcie aj nitrily a tiokyanáty. Tieto produkty zohrávajú významnú úlohu v ochrane rastlín pred herbivormi a patogénmi a viaceré z nich sú predmetom výskumu aj pre svoje potenciálne antimikrobiálne, protizápalové či protirakovinové účinky. Vlastnosti enzýmu sa môžu líšiť v závislosti od rastlinného zdroja, a preto je charakterizácia myrozináz z menej preskúmaných rastlín významná pre lepšie pochopenie ich biochemických vlastností a možností využitia. Vesnovka obyčajná (*Lepidium draba*) predstavuje rastlinný zdroj obsahujúci glukozinoláty aj myrozinázu, pričom jej enzymatické vlastnosti sú v porovnaní s bežnejšie skúmanými druhmi menej preskúmané. [1,2] V tejto práci sme sa zaoberali izoláciou a purifikáciou myrozinázy z listov vesnovky obyčajnej (*Lepidium draba*) a následnou charakterizáciou jej vybraných biochemických vlastností. Proces izolácie zahŕňal homogenizáciu rastlinného materiálu, odstránenie interferujúcich látok pomocou aktívneho uhlia a koncentráciu enzýmového preparátu ultrafiltráciou. Následná purifikácia bola realizovaná kombináciou gélovej filtrácie na matrici Sephadex G-100 Superfine a afinitnej chromatografie s imobilizovaným konkanavalínom A. Účinnosť jednotlivých purifikačných krokov bola hodnotená stanovením enzýmovej aktivity a koncentrácie bielkovín, vytvorením purifikačného profilu, elektroforetickou analýzou a zymografiou. Biochemická charakterizácia enzýmov zahŕňa stanovenie podmienok, pri ktorých enzým dosahuje najvyššiu katalytickú aktivitu. Medzi najdôležitejšie faktory ovplyvňujúce aktivitu enzýmov patria pH, teplota a prítomnosť kyseliny askorbovej, ktoré môžu významne ovplyvniť nielen štruktúru enzýmu, väzbu substrátu, ale aj samotný priebeh katalytickej reakcie. Z tohto dôvodu bol sledovaný vplyv pH, teploty, teplotnej stability a koncentrácie kyseliny askorbovej na aktivitu myrozinázy. Po finálnom purifikačnom kroku bola dosiahnutá špecifická aktivita $284,9 \pm 5,6 \text{ nmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$, purifikačný faktor 84,1 a výťažok 49,8 %. Elektroforetické analýzy a zymografia potvrdili postupné znižovanie komplexnosti proteínového profilu a prítomnosť funkčne aktívnej myrozinázy v purifikovaných frakciách. V rámci biochemickej charakterizácie bola najvyššia aktivita enzýmu zaznamenaná približne pri pH 6,1 a teplote 37 °C. Myrozináza si zachovávala vysokú aktivitu v teplotnom rozsahu 4–50 °C, zatiaľ čo pri 75 °C došlo k výraznému poklesu aktivity v dôsledku tepelnej denaturácie. Maximálna aktivita bola dosiahnutá pri koncentrácii kyseliny askorbovej 0,5 mM, pričom pri vyšších koncentráciách dochádzalo k postupnému poklesu aktivity. Výsledky potvrdili, že vesnovka obyčajná predstavuje vhodný zdroj biologicky aktívnej myrozinázy a že použitý purifikačný postup umožňuje jej efektívnu izoláciu a prečistenie pri zachovaní enzymatickej aktivity.

Literatúra:

- [1] Abdel-Massih RM, Debs E, Othman L, Attieh J, Cabrerizo FM. (2023) *Frontiers in Microbiology*. 14:1130208.
- [2] Wang J, Jiang H, Chen S, Li Y, Hamouda HI, Balah MA, Xue C, Mao X. (2025) *Food Chemistry*. 479:143778.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja vedenú pod č. APVV-22-0383.

Identifikácia laktátom sprostredkovaného substrátového cyklu medzi tukovým tkanivom a pečeňou počas vystavenia chladu

Alžbeta Jančovičová¹, Silvia Žarnovičanová¹, Dominika Olesová¹, Barbora Pisklákova², Natália Pálešová¹, Lívia Ban Petrisková¹, Radana Brumarová², David Friedecký², Lucia Balažová¹, Christian Wolfrum^{3,4}, Miroslav Baláž^{1,5}

¹ *Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Oddelenie výskumu porúch metabolizmu, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovenská republika; alzbeta.jancovicova@savba.sk*

² *Laboratórium dedičných metabolických porúch, Ústav klinickej biochémie, Fakultná nemocnica Olomouc a Lekárska fakulta Univerzity Palackého, Olomouc, Česká republika*

³ *Inštitút potravín, výživy a zdravia, Švajčiarska federálna technická vysoká škola Zürich (ETH Zürich), Schwerzenbach, Švajčiarsko*

⁴ *Technologická univerzita Nanyang (Nanyang Technological University, NTU), Singapur*

⁵ *Katedra fyziológie živočíchov a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika*

Tukový orgán pozostáva z dvoch morfológicky aj funkčne odlišných typov tkaniva, bieleho a hnedého. Kým hlavnou úlohou bieleho tukového tkaniva je ukladanie energie vo forme triacylglycerolov, hnedé tukové tkanivo zabezpečuje jej premenu na teplo prostredníctvom netriaškovej termogenézy. Ešte donedávna sa predpokladalo, že hnedé tukové tkanivo je prítomné výlučne u novorodencov a hibernujúcich cicavcov. Dnes je však dobre zdokumentované, že metabolicky aktívne hnedé tukové tkanivo sa nachádza aj u dospelých jedincov. Je tvorené prevažne hnedými adipocytmi s charakteristickou multilokulárnou morfológiou a vysokým obsahom mitochondrií bohatých na odpájací proteín 1 (*uncoupling protein 1*, UCP1) [1]. Rastúci počet dôkazov poukazuje na to, že vyššie množstvo a aktivita hnedého tukového tkaniva sú spojené so zvýšeným energetickým výdajom, nižšou mierou obezity a nižším rizikom vzniku inzulínovej rezistencie. Z tohto dôvodu sa stimulácia jeho aktivity považuje za perspektívny terapeutický prístup pri prevencii a liečbe obezity a s ňou súvisiacich metabolických ochorení [2].

Počas vystavenia chladu organizmus aktivuje komplexnú metabolickú odpoveď zameranú na udržanie telesnej teploty. Aktivácia sympatického nervového systému vedie k intenzívnej lipolýze v tukovom tkanive a k mobilizácii energetických substrátov potrebných na podporu netriaškovej termogenézy [3]. V dôsledku toho dochádza k charakteristickým zmenám, medzi ktoré patrí zvýšenie koncentrácie voľných mastných kyselín, glycerolu, ale aj laktátu. Zatiaľ čo úloha mastných kyselín a glycerolu ako hlavných substrátov pre termogenézu je dobre etablovaná, fyziologický význam zvýšených hladín laktátu počas adaptácie na chlad zostáva len čiastočne objasnený [4]. Tradične bol laktát považovaný za vedľajší produkt anaeróbného metabolizmu, v súčasnosti je však čoraz viac vnímaný ako významný medziorgánový metabolický substrát a signálna molekula, ktorá sprostredkúva metabolickú komunikáciu medzi jednotlivými tkanivami. Predpokladá sa, že laktát vznikajúci v periférnych tkanivách môže byť pečeňou využívaný ako substrát glukoneogenézy alebo oxidovaný v metabolicky aktívnych orgánoch vrátane hnedého tukového tkaniva, čím prispieva k systémovej metabolickej adaptácii na chlad [5].

Na základe týchto poznatkov sme predpokladali, že laktát nepredstavuje iba vedľajší produkt metabolizmu, ale zohráva aj aktívnu úlohu pri systémovej adaptácii organizmu na chlad. Cieľom tejto práce bolo preto identifikovať hlavný zdroj cirkulujúceho laktátu, objasniť jeho metabolický osud a zhodnotiť jeho funkčný význam pri regulácii energetického výdaja a termogenézy počas vystavenia chladu.

Na overenie tejto hypotézy sme analyzovali metabolóm párových vzoriek hnedého a bieleho tukového tkaniva získaných od pacientov podstupujúcich chirurgický zákrok v oblasti

krku. Pôvod cirkulujúceho laktátu sme skúmali pomocou geneticky modifikovaných myších modelov s indukovanou deléciou génu *Ldha* vo všetkých zreloch adipocytoch alebo selektívne v hnedých adipocytoch (*Ldha^{fl/fl} x Adip-CreERT2*; *Ldha^{fl/fl} x Ucp1-CreERT2*). Metabolický osud laktátu počas expozície chladu sme hodnotili pomocou *in vivo* experimentov s izotopovo značeným laktátom u myší C57BL/6 adaptovaných na chlad. Funkčný význam laktátu sme následne overili podávaním exogénneho laktátu *in vivo* a *in vitro* v modeloch adipocytov a hepatocytov.

Metabolomické analýzy odhalili signifikantne vyššie hladiny laktátu v bielom v porovnaní s hnedým tukovým tkanivom človeka, čo poukazuje na rozdiely v produkcii laktátu medzi jednotlivými typmi tukových buniek. Selektívna inhibícia produkcie laktátu v bielych adipocytoch, nie však v hnedých adipocytoch, viedla k výraznému poklesu hladín laktátu v cirkulácii myší akútne vystavených chladu, čím sa biele tukové tkanivo identifikovalo ako hlavný zdroj cirkulujúceho laktátu počas expozície chladu. Experimenty s izotopovo značeným laktátom ukázali, že laktát je prednostne vychytávaný pečňou, kde počas expozície chladu slúži najmä ako substrát pre glukoneogézu. Z funkčného hľadiska, zablokovanie produkcie laktátu v tukových bunkách viedlo k zníženiu výdaja energie myší počas vystavenia chladu. Naopak, podávanie exogénneho laktátu dočasne zvýšilo energetický výdaj myší. V podmienkach *in vitro* zvýšilo pôsobenie laktátu produkciu tepla v hepatocytoch línie HepG2, čo podporuje jeho priamu úlohu pri aktivácii hepatálnej termogenézy.

Súhrnne tieto výsledky identifikujú laktát ako aktívny metabolický signál sprostredkujúci medziorgánový substrátový cyklus medzi tukovým tkanivom a pečňou. Táto laktátom sprostredkovaná metabolická os prispieva k regulácii energetického výdaja a podporuje udržiavanie teplotnej homeostázy počas expozície chladu, čím poukazuje na doteraz nedostatočne docenenú úlohu laktátu pri systémovej metabolickej adaptácii.

Literatúra:

- [1] Pfeifer A., Hoffmann L.S. (2015) Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 55, p. 207
- [2] Yoneshiro T., Saito M. (2015) Ann. Med. 47(2), p.133
- [3] Cutler H.B., Jall-Rogg S., Thillainadesan S. et al. (2025) Sci. Adv. 11(24), eadt7369
- [4] Kovaničová Z., Karhánek M., Kurdiová T. et al. (2021) Metabolites 11(9), 619.
- [5] Montané R., Jeanson Y., Lagarde D. et al. (2025) J. Physiol. 603(22), p. 6811–6832.

Podakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov SASPRO2 1148/01/02, APVV-22-0291, VEGA 2/0102/23 a Doktografant APP0605.

Vplyv metabolického stresu na proteomiku mitochondrií pečene – úloha mitochondriálnej oxidácie sírovodíka

Jakub Štepanovský¹, Natália Andelová², Aneta Čináková³, Eva Kráľová³, Miroslav Ferko², Marián Grman¹, Anton Mišák¹, Lenka Tomášová¹

¹ *Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, Dúbravská cesta 9, 840 05 Bratislava, Slovenská republika*

² *Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK v Bratislave, Slovenská republika*

³ *Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny SAV, Bratislava, Slovenská republika*

Kardiometabolické ochorenia sú charakteristické poruchami mitochondriálnych funkcií, ktoré zahŕňajú zvýšenú produkciu reaktívnych foriem kyslíka a zníženú tvorbu ATP. Sírovodík zohráva významnú úlohu v regulácii mitochondriálneho dýchania a redoxnej rovnováhy, avšak zmeny jeho mitochondriálneho metabolizmu počas rozvoja kardiometabolických ochorení zostávajú nedostatočne objasnené. Cieľom našej štúdie bolo pomocou proteomickej analýzy charakterizovať vplyv metabolického stresu na pečenné mitochondrie potkanov so zameraním na produkciu a oxidáciu sírovodíka.

Experimentálny diabetes bol indukovaný streptozotocínom (STZ; 55 mg/kg, i.p.) u spontánne hypertenzných potkanov (SHR). Šesť týždňov po indukcii diabetu boli z pečene izolované mitochondrie a analyzované pomocou nano-kvapalinovej chromatografie spojenej s hmotnostnou spektrometriou (LC-MS).

Proteomická analýza odhalila signifikantné zmeny proteínov zapojených do regulácie redoxnej rovnováhy (*COQ8A*), oxidácie siričitanu (*SUOX*), glutaminolýzy (*GLS2*), β -oxidácie mastných kyselín (*DECR*, *ECH1*) a ketogenézy (*BDH1*, *ACAT1*). Analýza vzťahov medzi mitochondriálnymi proteínmi poukázala na výraznú zmenu ich vzájomnej koordinácie vplyvom metabolického stresu. V kontrolnej skupine bola produkcia sírovodíka prostredníctvom *MST* negatívne asociovaná s mitochondriálnou oxidáciou siričitanu prostredníctvom *SUOX*, ako aj s enzýmom *DECR*, zodpovedným za redukciu konjugovaných dvojitéch väzieb nenasýtených mastných kyselín. Naproti tomu u SHR-STZ potkanov sme zaznamenali silnú pozitívnu koreláciu medzi enzýmami metabolizmu sírovodíka (*MST*, *TST* a *SUOX*) a *DECR*.

Naše výsledky poukazujú na remodeláciu mitochondriálneho proteómu v pečeni hypertenzných diabetických potkanov a naznačujú, že metabolický stres mení funkčné prepojenie mitochondriálneho metabolizmu sírovodíka s β -oxidáciou nenasýtených mastných kyselín.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 2/0066/23.

Potencionálny účinok nových syntetických BODIPY komplexov na citlivé a rezistentné leukemické bunkové línie

Lucia Šofranková, Kateryna Lepiavko, Jana Špaldová

Ústav biochémie a mikrobiológie, FCHPT STU, Radlinského 9, 81237 Bratislava, Slovensko

Leukémie predstavujú heterogénnu skupinu hematologických malignít charakterizovaných nekontrolovanou proliferáciou a abnormálnou diferenciáciou hematopoetických buniek. Napriek pokrokom v diagnostike a liečbe zostáva terapia leukémií komplikovaná, najmä v dôsledku rozvoja rezistencie nádorových buniek voči konvenčným chemoterapeutikám a s tým súvisiaceho rizika relapsu. Z tohto dôvodu je vývoj nových terapeutických stratégií a identifikácia látok s odlišnými mechanizmami účinku významnou súčasťou súčasného výskumu v oblasti onkológie [1].

Jedným z perspektívnych prístupov je fotodynamická terapia, ktorá využíva fotosenzibilizátor aktivovaný svetlom vhodnej vlnovej dĺžky. Po absorpcii svetelnej energie dochádza k prechodu fotosenzibilizátora do excitovaného stavu a následnej tvorbe reaktívnych foriem kyslíka, ktoré môžu poškodzovať bunkové štruktúry a viesť k strate viability a bunkovej smrti. Účinnosť fotodynamickej terapie preto závisí nielen od vlastností fotosenzibilizátora, ale aj od jeho schopnosti absorbovať a emitovať svetlo vo vhodnej oblasti spektra a vyvolať biologicky relevantnú fotochemickú odpoveď. Perspektívnu skupinou látok pre tento účel sú BODIPY (boron-dipyrromethene) komplexy. Ide o syntetické fluorescenčné zlúčeniny charakterizované vysokou absorpciou svetla, výraznými fotofyzikálnymi vlastnosťami a možnosťou štruktúrnej modifikácie, ktorou možno ovplyvniť ich spektrálne a fotochemické vlastnosti. Tieto charakteristiky robia z BODIPY derivátov zaujímavých kandidátov na vývoj fotosenzibilizátorov využiteľných vo fotodynamickej terapii nádorových ochorení [2].

Cieľom práce bolo uskutočniť základný skríning biologického účinku vybraných BODIPY komplexov na leukemickej bunkovej línii L1210 a posúdiť ich potenciál pre ďalšie štúdiá v kontexte fotodynamickej terapie. Cytotoxický účinok testovaných komplexov bol hodnotený pomocou MTT testu a morfológické zmeny buniek boli sledované mikroskopicky. Experimentálne hodnotenie bolo zamerané na porovnanie účinku testovaných látok v závislosti od ich koncentrácie a svetelnej aktivácie. Súčasťou experimentov bola analýza exprese vybraných génov pomocou PCR s cieľom bližšie charakterizovať potencionálnu bunkovú odpoveď na pôsobenie testovaných komplexov. Nadväzujúce molekulárne analýzy môžu prispieť k objasneniu mechanizmov bunkovej odpovede a k posúdeniu potenciálu BODIPY komplexov ako fotosenzibilizátorov pre ďalší vývoj fotodynamických prístupov v terapii leukémie.

Literatúra:

- [1] Du Y, Chen B. Detection approaches for multidrug resistance genes of leukemia. *Drug Des Devel Ther* 2017;11:1255–61. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S134529>.
- [2] Kamkaew A, Lim SH, Lee HB, et al. BODIPY Dyes In Photodynamic Therapy. *Chem Soc Rev* 2012;42:10.1039/c2cs35216h. <https://doi.org/10.1039/C2CS35216H>.

Pod'akovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 2/0030/23, VEGA 1/0385/25, APVV-24-0167

Translokátorový proteín v kontakte s mitochondriálnym intracelulárnym chloridovým kanálom CLIC5

Roman Dekhtiarenko¹, Katarína Polčicová², Zuzana Ševčíková Tomášková ¹

¹ *Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovenská republika*

² *Virologický ústav, Biomedicínske centrum, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovenská republika*

Srdcové arytmie zostávajú jednou z hlavných príčin úmrtnosti na celom svete, najmä v kontexte ischemicko-reperfúzneho poškodenia myokardu, keď prudké výkyvy hladín kyslíka a živín vedú k masívnej generácii reaktívnych foriem kyslíka a metabolickému stresu. Je dokázané, že tieto faktory iniciujú arytmogénne cyklické oscilácie mitochondriálneho membránového potenciálu, ktoré sú podľa súčasných poznatkov sprostredkované aktivitou mitochondriálnych chloridových kanálov [1]. Medzi nimi je izoforma intracelulárneho chloridového kanála CLIC5, lokalizovaná vo vnútornej mitochondriálnej membráne, považovaná za hlavného molekulárneho kandidáta na úlohu takzvaného „centum-pS“ kanála [2]. Farmakologické údaje poukazujú na výrazný kardioprotektívny účinok 4-chlórdiazepamu (4CI-DZP) špecifického ligandu mitochondriálneho translokátorového proteínu (TSPO), ako aj po aplikácii neselektívnych inhibítorov aniónových kanálov. Avšak napriek predpokladu, že 4CI-DZP moduluje aktivitu chloridových kanálov nepriamo prostredníctvom TSPO, molekulárne mechanizmy a možnosť priamej fyzickej interakcie medzi týmito proteínmi zostávajú nedostatočne preskúmané. Cieľom tohto výskumu bolo posúdiť priestorovú blízkosť a overiť hypotézu o fyzickej asociácii medzi mitochondriálnym proteínom TSPO a chloridovým kanálom CLIC5 na bunkovej úrovni. Na určenie priestorovej interakcie proteínov bola použitá metóda fluorescenčného rezonančného prenosu energie (FRET). Experimenty sa vykonávali na imunozačených bunkách kardiomyoblastov s použitím konfigurácie fotobleachingu akceptora (acceptor photobleaching), ktorá umožňuje merať interakciu medzi molekulárnymi značkami v nanometrovom rozsahu. Na validáciu metodiky a vylúčenie artefaktov sa použili vhodné pozitívne a negatívne kontroly. Získané údaje preukázali jasnú kolokalizáciu CLIC5 a TSPO v mitochondriách kardiomyoblastov a vysokú účinnosť FRET medzi ich značkami na úrovni 24 %. Táto hodnota je biologicky porovnateľná s účinnosťou nameranou pre pozitívnu kontrolu (28 %) a podstatne prevyšuje úroveň pozadia získanú pre negatívnu kontrolu (7 %) [3]. Vysoká účinnosť prenosu energie svedčí o tom, že proteíny CLIC5 a TSPO sa nachádzajú v bezprostrednej priestorovej blízkosti, ktorá je dostatočná pre molekulárnu interakciu. Tieto výsledky potvrdzujú hypotézu o možnej fyzickej interakcii medzi týmito proteínmi a naznačujú, že ak je CLIC5 skutočne molekulárnym základom „centum-pS“ kanála, TSPO je umiestnený dostatočne blízko na jeho priamu alebo nepriamu moduláciu. Toto otvára nové mechanistické perspektívy pre pochopenie kardioprotektívneho účinku ligandov TSPO počas ischemicko-reperfúzneho poškodenia.

Literatúra:

- [1] Aon MA, Cortassa S, Akar FG et al, (2009) *Int J Biochem Cell Biol.* 41, 1940-1948 .
- [2] Ponnalagu D, Gururaja Rao S, Farber J et al., (2016) *Mitochondrion*, 27, 6-14 .
- [3] Dekhtiarenko R, Polcicova K, Sevcikova Tomaskova Z (2026) *Bioch Biophys Res Commun.*, 810, 153537.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 2/0051/23, APVV-22-0085.

Objasňovanie bunkovej reakcie na kryptopleurín, so zameraním na stres endoplazmatického retikula u leukemických buniek

Ľubomíra Takáčová¹, Jana Špaldová¹, Lucia Šofranková¹, Albert Breier^{1,2}

¹ Ústav biochémie a mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko

² Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Dubravská cesta 9, 840 05 Bratislava, Slovensko

Kryptopleurín predstavuje vysoko bioaktívny fenantrochinolizidínový prírodný alkaloid, ktorý sa spolu s fenanthroindolizidínmi R-tyloforínom a R-antofínom vyskytuje najmä v rastlinách čeľadí *Asclepiadaceae* a *Moraceae* [1]. Napriek jeho výraznej biologickej aktivite však jeho presný mechanizmus účinku doposiaľ nebol úplne objasnený. Medzi jeho doteraz identifikované účinky patrí inhibícia syntézy proteínov v dôsledku ovplyvnenia funkcie ribozomálnych podjednotiek. Predpokladá sa, že k inhibícii proteosyntézy dochádza v súvislosti s väzbou kryptopleurínu na eukaryotický ribozóm [2], [3], [4], čo môže následne narušiť bunkovú homeostázu a vyvolať stresové odpovede. Okrem účinku na transláciu boli v súvislosti s kryptopleurínom popísané aj zásahy do viacerých signálnych dráh podieľajúcich sa na regulácii bunkového cyklu [1], apoptóze a hypoxickej odpovedi [5]. Aj napriek týmto poznatkom zostávajú mechanizmy zodpovedné za jeho cytotoxické pôsobenie stále neobjasnené.

Jednou z bunkových odpovedí, ktoré môžu sprevádzať narušenie proteosyntézy, je stres endoplazmatického retikula (ER). ER predstavuje významné centrum biosyntetických procesov bunky a podieľa sa predovšetkým na syntéze a správnom skladaní približne 30 % bunkového proteómu [6], [7]. Pri hromadení nesprávne poskladaných alebo neúplných proteínov dochádza k aktivácii adaptačnej reakcie známej ako *unfolded protein response* (UPR). Jej priebeh kontrolujú tri hlavné senzory ER stresu – IRE1 α , PERK a ATF6. Aktivácia týchto senzorov vedie k utlmeniu proteosyntézy, stimulácii tvorby šaperónov a zvýšeniu degradácie poškodených proteínov [6], [7], [8]. Ak však ER stres pretrváva dlhodobo alebo dosiahne nadmernú intenzitu, adaptačná odpoveď UPR môže prejsť do proapoptotického režimu, na ktorom sa významne podieľa transkripčný faktor CHOP [8].

Za využitia myšacej bunkovej línie L1210, reprezentujúcej model akútnej lymfoidnej leukémie sme pomocou RT-qPCR pozorovali vplyv kryptopleurínu na zmeny expresie génov zapojených v apoptóze (*CASP-3*; -8 a -9) a UPR (*GRP78/BiP*; *XBP1*; *CHOP*) po 24 a 48 hodinách od ovplyvnenia. Taktiež sme za využitia fluorescenčných sond sledovali zmeny mitochondriálneho membránového potenciálu (JC-1) a zmeny koncentrácie intracelulárneho vápnika (Fluo3-AM) v kratších inkubačných časoch, a to 2, 4, 6 a 12 hodín. S využitím H₂DCFDA sme sa zamerali taktiež na sledovanie potencionalnej tvorby reaktívnych foriem kyslíka (ROS) po vystavení buniek kryptopleurínu po dobu 15, 30, 60, 120 a 180 minút.

Literatúra:

- [1] X. Yang *et al.*, (2012) *J. Med. Chem.*, 55(15).
- [3] N. Garreau De Loubresse, *et.al.*, (, 2014) *Nature*, 513(7519).
- [4] G. Yusupova and M. Yusupov, (2017).
- [5] O. Kolosova *et al.*, (2023) *Biopolym. Cell*, 39(4).
- [6] W. Gao, *et.al.*, (2004) *Cancer Res.*, 64(2), 678–688.
- [7] C. Hetz, (2012) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 13(2), 89–102.
- [8] K. R. Bhattarai, T. A. Riaz, H. R. Kim, and H. J. Chae, (2021) *Exp. Mol. Med.*, 53(2), 151–167.
- [9] X. Chen, *et.al.*, (2023) *Signal Transduct. Target. Ther.*, 8(1), 1–40.

Pod'akovanie: Táto práca vznikla s podporou grantov APVV-24-0167, VEGA2/0030/23, VEGA2/0046/24 a Grantu v rámci programu na podporu mladých výskumníkov STU.

Vplyv doxorubicínu, chemickej hypoxie a hyperglykémie na redoxnú signalizáciu a autofágiu v kardiomyocytoch H9c2

Viktória Líšková, Miroslav Barančík, Barbora Svetláková

Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny SAV, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava

Úvod: Kardiovaskulárne ochorenia sú často sprevádzané oxidačným stresom, narušenou reguláciou redoxnej signalizácie a zmenami v procese autofágie. V dôsledku zvyšujúcich sa hladín reaktívnych foriem kyslíka (RFK) sa v bunkách vyvinuli viaceré obranné mechanizmy. Kľúčovú úlohu v regulácii antioxidačnej odpovede zohráva Nrf2 (nukleárny faktor erythroid 2-súvisiaci faktor 2), ktorý reguluje expresiu viacerých antioxidačných enzýmov, vrátane superoxidodismutázy (SOD), hemoxygenázy-1 (HO-1), katalázy (CAT) a NAD(P)H-chinón dehydrogenázy 1 (NQO1). Voľné radikály môžu indukovať autofágiu, zároveň však pôsobia ako regulačné molekuly v rôznych fázach tohto procesu. Autofágia prispieva k regulácii redoxného metabolizmu prostredníctvom eliminácie molekúl a organel poškodených oxidačným stresom. Pri kardiovaskulárnych ochoreniach môže autofágia pôsobiť ochranným aj škodlivým spôsobom, pričom jej účinok závisí od typu stresora a dĺžky expozície.

Cieľ: Preskúmať rozdiely v odpovedi buniek odvodených z komorových myoblastov embryonálnych srdiec potkanov, H9c2, na rôzne patologické stavy spojené s oxidačným stresom.

Metódy: Bunky H9c2 boli pred expozíciou doxorubicínu (DOX), CoCl_2 alebo glukózy (GLUC) preinkubované s kurkumínom (CURC) počas 2 hodín a následne vystavené jednotlivým patologickým stimulom po dobu 22 hodín. Viabilita buniek bola hodnotená pomocou MTT testu, hladiny vybraných proteínov boli analyzované metódou Western blot a intracelulárne hladiny RFK boli stanovené pomocou fluorescenčnej sondy H2DCFDA.

Výsledky: Spomedzi všetkých testovaných patologických stimulov malo najvýraznejší vplyv na bunkové stresové odpovede ich vystavenie účinkom CoCl_2 . Chemická hypoxia zvýšila hladiny RFK, čo bolo spojené so zvyšovaním proteínových hladín Nrf2, SOD-2 a HO-1. Naopak, expozícia buniek CoCl_2 viedla k zníženiu proteínových hladín Akt kinázy, GSK3 α/β a Hsp60. Účinky CoCl_2 boli tiež spojené so zmenami v hladinách proteínov súvisiacich s autofágiou. DOX vyvolal len mierne zmeny v produkcii RFK a antioxidačnej signalizácii, zatiaľ čo GLUC samostatne významne neovplyvňovala intracelulárne hladiny RFK. CURC významne znižoval produkciu intracelulárnych RFK a zároveň zvýšil hladiny proteínov Nrf2, SOD-2 a Akt, čo poukazuje na jeho antioxidačné a cytoprotektívne účinky. Zároveň CURC zmiernil antioxidačné stresové odpovede vyvolané CoCl_2 .

Záver: Naše zistenia naznačujú, že jednotlivé patologické stimuly ovplyvňujú redoxnú signalizáciu, autofágiu a intracelulárne adaptačné mechanizmy buniek H9c2 v rozdielnej miere. Zároveň poukazujú na potenciálnu úlohu kurkumínu ako významného modulátora redoxnej signalizácie a bunkových adaptačných mechanizmov v kardiomyocytoch vystavených stresovým podmienkam

PodĎakovanie: Podporené grantmi VEGA 2/0169/24, VEGA 2/0091/25 a PostdokGrant APD0130.

Dysfunkcia mitochondrií indukovaná stresom endoplazmatického retikula: účasť IRE1 α kinázy

Patrik Jambrich¹, Magdaléna Kureková¹, Ľuboš Hudák¹, Andrea Evinová², Peter Račay¹

¹ *Ústav lekárskej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Malá Hora 4D, 036 01 Martin, Slovenská republika.*

² *Ústav patologickej fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Malá Hora 4D, 036 01 Martin, Slovenská republika*

Neurodegenerative diseases are frequently associated with disturbed cellular proteostasis, endoplasmic reticulum (ER) stress, and mitochondrial dysfunction. The unfolded protein response (UPR) is a major adaptive mechanism activated during ER stress [1]. Inositol-requiring enzyme 1 alpha (IRE1 α), which combines kinase and endoribonuclease activities, represents one of the principal UPR sensors and regulates the adaptive XBP1 signalling pathway. IRE1 α signalling also contributes to ER-associated degradation (ERAD), including regulation of HRD1 under ER stress [2,3,5]. Because the ER and mitochondria are functionally interconnected, disturbances in ER homeostasis may directly affect mitochondrial bioenergetics and function [6].

The aim of this study was to investigate the contribution of IRE1 α signalling to mitochondrial dysfunction induced by ER stress in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. ER stress was induced using thapsigargin and tunicamycin, while IRE1 α signalling was modulated using KIRA6, an ATP-competitive kinase-inhibiting RNase attenuator [7]. The effects of KIRA6 were evaluated particularly in thapsigargin-treated cells. Cell viability was evaluated by MTT assay. Activation of the IRE1 α /XBP1 pathway was assessed by XBP1 mRNA splicing, and selected UPR, ERAD, and mitochondrial unfolded protein response (mtUPR) proteins were analysed by Western blotting. Mitochondrial membrane potential and cellular respiration were used to characterize mitochondrial functional changes in SH-SY5Y cells [4].

Both thapsigargin and tunicamycin induced ER stress responses accompanied by mitochondrial functional impairment. Thapsigargin induced XBP1 mRNA splicing, while KIRA6 suppressed thapsigargin-induced XBP1 splicing, confirming inhibition of IRE1 α -dependent signalling. Combined treatment with KIRA6 and thapsigargin resulted in the lowest cell viability and a more pronounced decrease in mitochondrial membrane potential compared with ER stress alone. Changes in proteins involved in mitochondrial proteostasis were also observed, including increased HSP60 and altered LONP1 abundance during combined treatment.

These results indicate that IRE1 α signalling participates in the adaptive response of SHSY5Y cells to ER stress. Its pharmacological inhibition by KIRA6 enhanced mitochondrial impairment and cellular injury under the experimental conditions used, supporting a functional link between ER stress signalling, mitochondrial proteostasis, and neuronal cell survival.

Literatúra:

- [1] Almanza A, Carlesso A, Chintha C, et al. (2019) FEBS J. 286(2):241–278.
- [2] Qi L, Tsai B, Arvan P. (2017) Trends Cell Biol. 27(6):430–440.
- [3] Dibdiaková K, Kleban J, Škrovinová M. (2019) Neurol Res. 41(2):177–188.
- [4] Evinová A, Kanczlerová K, Novák J. (2020) J Membr Biol. 253(2):129–136.

- [5] Christianson JC, Ye Y. (2014) Nat Struct Mol Biol. 21(4):325–335.
- [6] Bravo R, Gutierrez T, Paredes F, Gatica D, Rodriguez AE. (2012) Int J Biochem Cell Biol. 44(1):16–20.
- [7] Ghosh R, Wang L, Wang ES, et al. (2014) Cell. 158(3):534–548.

PodĎakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 1/0183/23 a UK/1067/2025.

Od zlata k diamantu: Nové prístupy k QCM aptasenzorovej detekcii onkogénnych miRNA

Michaela Hornychová¹, Miroslav Gál¹, Alexandra Poturnayová^{2,3}, Veronika Ostatná^{4,5}

¹ *Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Ústav anorganickej technológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika,*

² *Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 840 05 Bratislava, Slovenská republika*

³ *Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Univerzitné námestie 1, 918 43 Trnava, Slovenská republika*

⁴ *Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí, Purkyňova 464, 612 00 Brno-Medlánky-Brno, Česká republika*

⁵ *Biofyzikální ústav Akademie věd České republiky v.v.i, Královopolská 2590/135, 612 00, Brno, Česká republika*

MikroRNA (miRNA) predstavujú perspektívne biomarkery onkologických ochorení, avšak ich citlivá a selektívna detekcia je vzhľadom na krátku dĺžku sekvencií, nízke koncentrácie v biologických tekutinách a vysokú sekvenčnú podobnosť analyticky náročná. Táto práca sa zameriava na návrh a porovnanie QCM aptasenzorov na báze zlatých a diamantových povrchov pre detekciu cirkulujúcich miRNA.

Ako biorekogničné prvky boli využité DNA aptaméry, ktoré boli imobilizované na povrchu QCM senzorov. Aptaméry predstavujú perspektívnu alternatívu ku konvenčným biorekogničným prvkom vďaka možnosti ich syntetickej prípravy, jednoduchej chemickej a funkčnej modifikácie a stabilnej imobilizácie na senzorovom rozhraní. Po naviazaní cieľovej miRNA môže dôjsť ku konformačnej zmene aptaméru, ktorá sa následne premieta do merateľnej odozvy senzora [1,2].

V rámci experimentov boli porovnávané vlastnosti a medzifázová stabilita bioreceptorových vrstiev na zlatých a diamantových povrchoch QCM senzorov. Výsledky poukázali na potenciál diamantových povrchov pre aplikácie, avšak ich nižšia reprodukovateľnosť zostáva významným limitujúcim faktorom. Úspešná detekcia na diamantových senzorochoch bola v porovnaní so zlatými povrchmi dosiahnutá výhradne pri použití neupravených diamantových povrchov. Tieto výsledky poukazujú na význam vhodnej povrchovej úpravy a optimalizácie kondicionovania diamantového rozhrania pre dosiahnutie stabilnej a reprodukovateľnej senzorovej odozvy. Ako ďalšiu možnosť zvýšenia citlivosti detekcie v súčasnosti skúmame enzymatickú amplifikáciu založenú na terminálnej deoxynukleotidyl transferáze (TdT). Po hybridizácii cieľovej miRNA s DNA sondou môže TdT katalyzovať tvorbu predĺženého jednovláknového DNA produktu s vyšším počtom väzbových miest pre signálne molekuly, čím sa vytvára predpoklad na zosilnenie výsledného analytického signálu. Takto amplifikovaný signál by bolo možné následne vyhodnocovať elektrochemicky alebo fluorescenčne [3,4]. Vývoj tejto stratégie predstavuje ďalší smer nášho výskumu s cieľom zvýšiť citlivosť a rozšíriť možnosti detekcie nízkych koncentrácií miRNA v biologických vzorkách.

Literatúra:

- [1] İnce, B., Kavacık, M., a Sezgintürk, M. K. (2024). Electrochemical aptamer-based biosensors for disease biomarkers. *Essential Chem*, 1(1), 1–23. <https://doi.org/10.1080/28378083.2024.2386517>
- [2] Mayol, B., Qubbaj, I. Z., Nava-Granados, J., Vasquez, K., Keene, S. T., a Sempionatto, J. R. (2025). Aptamer and Oligonucleotide-Based Biosensors for Health Applications. *Biosensors*, 15(5), 277. <https://doi.org/10.3390/bios15050277>
- [3] Ashley, J., Potts, I. M., a Olorunniji, F. J. (2023). Applications of Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Enzyme in Biotechnology. *ChemBioChem*, 24(5), e202200510

- [4] Guo, J., Yuan, C., Yan, Q., Duan, Q., Li, X., a Yi, G. (2018). An electrochemical biosensor for microRNA-196a detection based on cyclic enzymatic signal amplification and template-free DNA extension reaction with the adsorption of methylene blue. *Biosensors and Bioelectronics*, 105, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.036>

PodĎakovanie: Táto práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 1/0157/24, VEGA 2/0120/26, APVV-24-0491 a EULiST 101124310.

Study of Cellular Response Mechanisms During ER Stress with Concurrent Inhibition of GRP78 in Nerve Cells

Magdaléna Kureková¹, Patrik Jambrich¹, Ľuboš Hudák¹, Mária Brodňanová², Andrea Evinova², Peter Račay^{*,1}

¹ *Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Department of Medical Biochemistry, Malá Hora 4D, 036 01 Martin, Slovakia*

² *Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Biomedical Center Martin, Malá Hora 4D, 036 01 Martin, Slovakia*
e-mail: kurekova22@uniba.sk

Neurodegenerative diseases are characterized by progressive neuronal loss and represent a critical issue of concern in current medical research [1]. As a result of various stress factors, misfolded proteins accumulate in the endoplasmic reticulum (ER) leading to neuronal degeneration and the onset of these disorders [2]. The cellular response to unfolded protein accumulation primarily via the Unfolded Protein Response (UPR) and Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation (ERAD) pathways aims to restore protein homeostasis or, if unsuccessful, triggers cell death. The chaperone protein GRP78 is a crucial regulator of these processes and plays a key role in the UPR induction, particularly under ER stress conditions [3].

In this study, we have demonstrated the effect of GRP78 inhibition on the cell survival and cellular response by applying the GRP78 inhibitor - YUM70. We have used the mouse hippocampal neuronal cell line HT-22, which was cultured in appropriate growth medium under specific conditions. The cells were treated with various concentrations of YUM70 and combination of YUM70/thapsigargin. Using MTT assay, we have determined relative cell viability. Treatment of the HT-22 cells with YUM70 was associated with decrease of relative cell viability in concentration and time dependent manner. Based on the MTT assay, we have selected two concentrations of YUM70 (1 μ M and 5 μ M) as well as two concentrations of YUM70/thapsigargin that were used for cell treatment followed by Western blot analysis of the expression of ER stress proteins (GRP78, HRD1 and SEL1L). In contrast to tunicamycin, thapsigargin and YUM70/thapsigargin-induced ER stress that was associated with significant changes in expression of GRP78, HRD1 and SEL1L, the expression of GRP78, HRD1 and SEL1L was not significantly changed after the cell treatment with YUM70 only. Our results indicate the possibility that inhibition of GRP78 by YUM70 in addition to UPR induction induces other pathway that prevents significant changes in expression of GRP78, HRD1 and SEL1L. GRP78 inhibition may occur at the level of ER stress sensors, impairing its stress-induced dissociation and consequently preventing activation of UPR signalling pathways, which may contribute to enhanced cell death.

References:

- [1] Gadhave, D. G.; Sugandhi, V. V.; Jha, S. K.; et al. Ageing Res Rev. **2024**, 99, 102357.
- [2] Chen, X.; Shi, C.; He, M.; et al. Signal Transduct Target Ther. **2023**, 8 (1), 352.
- [3] Bertolotti, A.; Zhang, Y.; Hendershot, L. M.; et al. Nat Cell Biol. **2000**, 2 (6), 326-32.

Acknowledgement: This work was supported by VEGA no. 1/0183/23

Zobrazovacie a nanomechanické metódy vo výskume nádorových buniek

Viktória Szebellaiová^{1,2}, Jana Korčeková¹, Radka Obořilová⁴, Jakub Máčala⁴, Jan Přibyl⁴, Miroslav Gál², Alexandra Poturnayová^{1,3}

¹ *Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied v.v.i, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 840 05 Bratislava, Slovenská republika*

² *Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika*

³ *Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Univerzitné námestie 1, 918 43 Trnava, Slovenská republika*

⁴ *CEITEC– Stredoeurópsky technologický inštitút, Masarykova Univerzita, Kamenice 753/5 625 00 Brno, Česká republika*

Onkologické ochorenia predstavujú významný celosvetový zdravotný problém a ich včasná a presná diagnostika zostáva jednou z kľúčových výziev súčasnej medicíny. Vývoj nových diagnostických a zobrazovacích metód, ktoré umožňujú charakterizovať nádorové bunky nielen na základe ich morfológie, ale aj z hľadiska ich biologických a fyzikálnych vlastností, môže prispieť k lepšiemu pochopeniu mechanizmov súvisiacich so vznikom a progresiou nádorových ochorení. Perspektívnym prístupom je v tomto smere kombinácia optických zobrazovacích metód s nanomechanickou charakterizáciou jednotlivých buniek [1].

Táto práca je zameraná na využitie atómovej silovej mikroskopie (AFM) pri zobrazovaní a charakterizácii nádorových buniek. AFM predstavuje techniku, ktorá umožňuje získavať informácie o topografii bunkového povrchu a súčasne analyzovať mechanické vlastnosti buniek. Pomocou AFM sme charakterizovali bunky hepatocelulárneho karcinómu Hep G2, a SKBR3, MCF-7 a MDA-MB-231, reprezentujúce rôzne modely karcinómu prsníka [2,3].

Súčasťou AFM analýzy boli silové merania, prostredníctvom ktorých bola hodnotená mechanická odozva jednotlivých buniek. Získané krivky sila – vzdialenosť poskytnú informácie o odozve bunky na mechanické zaťaženie a ich analýzou bolo možné stanoviť Youngov modul pružnosti.

Zmeny mechanických vlastností buniek súvisia s reorganizáciou cytoskeletu a ďalšími procesmi sprevádzajúcimi nádorovú transformáciu a progresiu. Hodnoty Youngovho modulu tak môžu v kombinácii s ďalšími bunkovými a molekulárnymi charakteristikami predstavovať potenciálny doplnkový biomarker patologických zmien [2–4].

Komplementárnu úlohu v práci zohráva konfokálna mikroskopia, ktorá bola využitá na vizualizáciu interakcií medzi sledovanými bunkovými líniami a príslušnými DNA aptamermi. Aptaméry predstavujú krátke jednovláknové oligonukleotidy schopné špecificky rozpoznávať a viazať cieľové molekuly alebo bunkové štruktúry. Vďaka týmto vlastnostiam predstavujú perspektívne nástroje molekulárneho zobrazovania, detekcie biomarkerov a vývoja nových diagnostických stratégií [5].

Prepojenie konfokálnej mikroskopie a AFM umožňuje komplexnejšiu charakterizáciu nádorových buniek kombináciou molekulárne špecifického zobrazovania s analýzou ich morfológických a nanomechanických vlastností. Takýto multimodálny prístup môže prispieť k identifikácii nových bunkových charakteristík asociovaných s nádorovou transformáciou a progresiou a podporiť vývoj citlivejších diagnostických stratégií v onkológii.

Literatúra:

[1] WORLD HEALTH ORGANIZATION, et al. Global Status Report On Cancer 2026: The Future We Choose Together. Accessed July, 2026.

[2] NAJERA, Julian; ROSENBERGER, Matthew R.; DATTA, Meenal. Atomic force microscopy methods to measure tumor mechanical properties. *Cancers*, 2023, 15.13: 3285.

- [3] LEKKA, Małgorzata. Applicability of atomic force microscopy to determine cancer-related changes in cells. *Philosophical Transactions: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2022, 380.2232: 1-18.
- [4] KONTOMARIS, Stylianos Vasileios; MALAMOU, Anna; STYLIANOU, Andreas. The Young's modulus as a mechanical biomarker in AFM experiments: A tool for cancer diagnosis and treatment monitoring. *Sensors*, 2025, 25.11: 3510.
- [5] LI, Yingying, et al. Aptamers as a new frontier in molecular cancer imaging technologies. *Chemical & Biomedical Imaging*, 2025, 3.5: 267.

Pod'akovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov VEGA 1/0157/24, VEGA 2/0120/26, APVV-24-0491, DS-FR-0032, EULIST 101124310.

Molekulárny vodík a jeho terapeutický potenciál pri srdcovom zlyhávaní

Daria Kornieieva^{1,2}, Matúš Sýkora¹, Barbora Kaločayová^{1,3}, Adriana Martišková¹, Barbara Szeiffová Bačová¹, Branislav Kura¹

¹ *Centrum experimentálnej medicíny SAV v. v. i., Bratislava, Slovenská republika*

² *Ústav biochémie a mikrobiológie, FCHPT, STU, Bratislava, Slovenská republika*

³ *Ústav farmakológie a toxikológie, FAF, UK, Bratislava, Slovenská republika*

Srdcové zlyhávanie (SZ) predstavuje závažný klinický syndróm spojený s vysokou morbiditou a mortalitou a patrí medzi významné príčiny invalidity a úmrtí v rámci kardiovaskulárnych ochorení. Medzi hlavné mechanizmy podieľajúce sa na vzniku a rozvoji srdcového zlyhávania patria oxidačný stres a zápal, ktoré môžu viesť k poškodeniu srdcového tkaniva a zhoršeniu jeho funkcie. V počiatočných štádiách sú tieto zmeny považované za kompenzačnú adaptáciu myokardu na zvýšené zaťaženie, ktorá umožňuje dočasné zachovanie čerpacej funkcie srdca [1]. Pri ďalšej progresii ochorenia sa výraznejšie prejavujú oxidačný stres a zápalová odpoveď, ktoré prispievajú k poškodeniu kardiomyocytov a patologickej remodelácii myokardu [2,3]. Experimentálny model srdcového zlyhávania indukovaného izoproterenolom sa často využíva na štúdium mechanizmov patologickej remodelácie a funkčného poškodenia myokardu. Izoproterenol je neselektívny agonista β -adrenergných receptorov a jeho chronické pôsobenie vedie k pretrvávajúcej adrenergnej stimulácii, ktorá je spojená s oxidačným stresom, poškodením kardiomyocytov a progresívnym zhoršovaním funkcie myokardu [2]. Zvýšená tvorba reaktívnych foriem kyslíka (ROS) a následný rozvoj oxidačného stresu predstavujú významné mechanizmy podieľajúce sa na kardiovaskulárnom poškodení a patologickej remodelácii myokardu [3]. V posledných rokoch sa molekulárnemu vodíku (H_2) venuje zvýšená pozornosť vďaka jeho antioxidačným a protizápalovým vlastnostiam v prevencii a podpornej terapii kardiovaskulárnych ochorení. Jeho priaznivé účinky sú spájané predovšetkým s znížením exprese prozápalových cytokínov a aktiváciou antioxidačných obranných mechanizmov. Experimentálne štúdie naznačujú, že H_2 môže modulovať mechanizmy relevantné pre rozvoj srdcového poškodenia, najmä redukciou oxidačného stresu, ovplyvnením zápalovej odpovede a zmiernením patologickej remodelácie myokardu [3,5]. Cieľom našej štúdie bolo zhodnotiť terapeutický účinok molekulárneho vodíka na rozvoj začiatkového štádia srdcového zlyhávania indukovaného podávaním izoproterenolu. Na posúdenie jeho kardioprotektívneho účinku sme analyzovali parametre poškodenia myokardu, oxidačného stresu a zápalovej odpovede.

Literatúra:

- [1] Zhang Y., Xu J., Long Z., Wang C., Wang L., Sun P., Li P., Wang T. (2016). *Front. Pharmacol.*, 7:392.
- [2] Chang S.C., Ren S., Rau C.D., Wang J.J. (2018). *Methods Mol. Biol.*, 1816, 207–220.
- [3] Barancik M., Kura B., LeBaron T.W., Bolli R., Buday J., Slezak J. (2020). *Antioxidants (Basel)*, 9(12):1281.
- [4] Boulet J., Sridhar V.S., Bouabdallaoui N., Tardif J.C., White M. (2024). *Inflamm. Res.*, 73(5), 709–723.
- [5] Jin J., Yue L., Du M., Geng F., Gao X., Zhou Y., Lu Q., Pan X. (2025). *MedComm* (2020), 6(5).

Podakovanie: Práca vznikla s finančnou podporou grantov APVV-19-0317 a VEGA 2/0101/26.

Odborná komisia - kontakty

1.	Mgr. Miroslav Baláž, PhD.	miroslav.balaz@savba.sk
2.	Mgr. Mária Balážová, PhD.	maria.balazova@savba.sk
3.	RNDr. Imrich Barák, DrSc.	imrich.barak@savba.sk
4.	prof. Ing. Albert Breier, DrSc.	albert.breier@stuba.sk
5.	Mgr. Ján Jamroškovič, PhD.	jan.jamroskovic@savba.sk
6.	doc. Ing. Boris Lakatoš, PhD.	boris.lakatos@stuba.sk
7.	doc. RNDr. Jan Malínský, Ph.D.	jan.malinsky@iem.cas.cz
8.	prof. RNDr. Peter Račay, CSc.	racay@jfmed.uniba.sk
9.	prof. RNDr. Stanislav Stuchlík, CSc.	stanislav.stuchlik@uniba.sk
10.	Ing. Zdena Sulová, DrSc.	zdena.sulova@savba.sk
11.	RNDr. Dušan Žitňan, DrSc.	dusan.zitnan@savba.sk

Sponzori Drobnicovho memoriálu

	
 ProScienceTech Integrované riešenia pre vedecko-výskumné laboratóriá	
	
	

DROBNICOV MEMORIÁL 14. ročník
7. – 9. september 2026
Chata Trubárka, Trenčín - Kubrica

ISBN 978-80-974246-9-5

Redakčná úprava: doc. Ing. Boris Lakatoš, PhD.

© Vydal: Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Bratislava 2026