



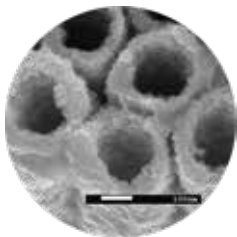
NOVÉ VYSOCE SELEKTIVNÍ ROZHRAŇÍ PRO PROFILOVÁNÍ FOSFOPROTEOMU

POPIS PROBLÉMU

Fosforylace je reverzibilní kovalentní modifikace proteinů/peptidů, která upravuje jejich funkční aktivitu a ovlivňuje řadu procesů probíhajících v buňkách, tkáních nebo těle. Fosfoproteomika se coby relativně nová oblast vědy zaměřuje na studium těchto procesů a na kvantifikaci dynamických změn fosforylovaných proteinů v průběhu času s cílem určit a popsat vztah mezi regulací fosforylace a patogenezí a vývojem závažných onemocnění. Příkladem může být Parkinsonova choroba, kde je fosforylace zapojena do patologických neurodegenerativních mechanismů, či Alzheimerova choroba, kde je hyperfosforylace Tau proteinu příkladem patologie související s fosforylací. Abychom získali objektivní pohled na biologické procesy asociované s fosforylací, je nezbytná komplexní analýza fosforylovaných proteinů. Nízká abundance fosfopeptidů, nízká účinnost jejich ionizace, labilní fosfátová skupina a interference nefosforylovaných peptidů však silně znesnadňují komplexní charakterizaci fosforylace proteinů a mohou vést až ke zkresleným výsledkům či zavádějícím závěrům. Ačkoli již byla vyvinuta a při analýze fosfoproteinů aplikována řada materiálů s deklarovanou afinitou, žádný z nich se nedokáže vypořádat se všemi výše uvedenými aspekty najednou.



Nanotrubice TiO₂

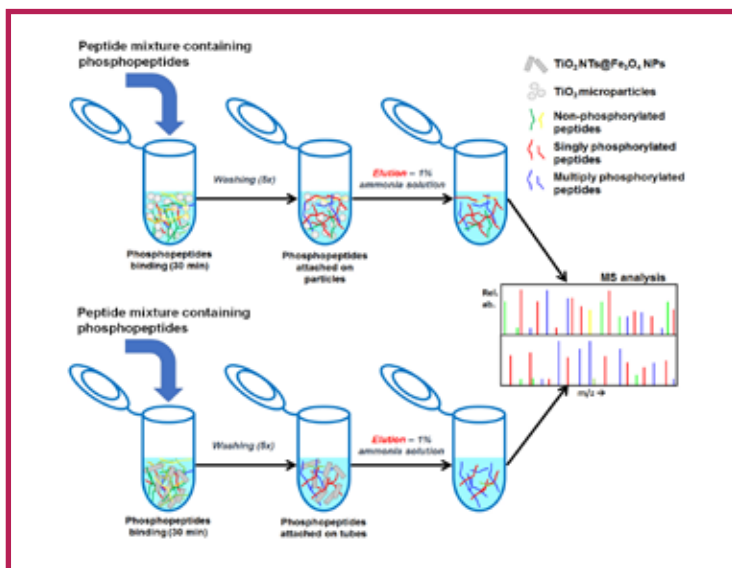


TiO₂ nanotrubice pokryté Fe₃O₄



Struktura nanotrubic
TiO₂ pokrytých Fe₃O₄

TECHNOLOGIE



PŮVODCI

prof. RNDr. Zuzana Bílková,
Ph.D.
Dr.-Ing. Jan Macák
Mgr. Rudolf Kupčík
RNDr. Pavel Řehulka, Ph.D.

PRŮMYSLOVĚ PRÁVNÍ OCHRANA

Probíhá patentové řízení v
USA, priorita 2014. Udělen
patent v České republice.
Komplementární patentová
příhláška byla podána v
lednu 2018.

FÁZE VÝVOJE

Byla připravena série vzorků.
Jejich schopnost oddělit
vybrané biomolekuly byla
prokázána v analytickém
(stopové množství) měřítku.
Technologie je připravena na
převedení do výrobního
měřítku.

KONTAKTNÍ OSOBA

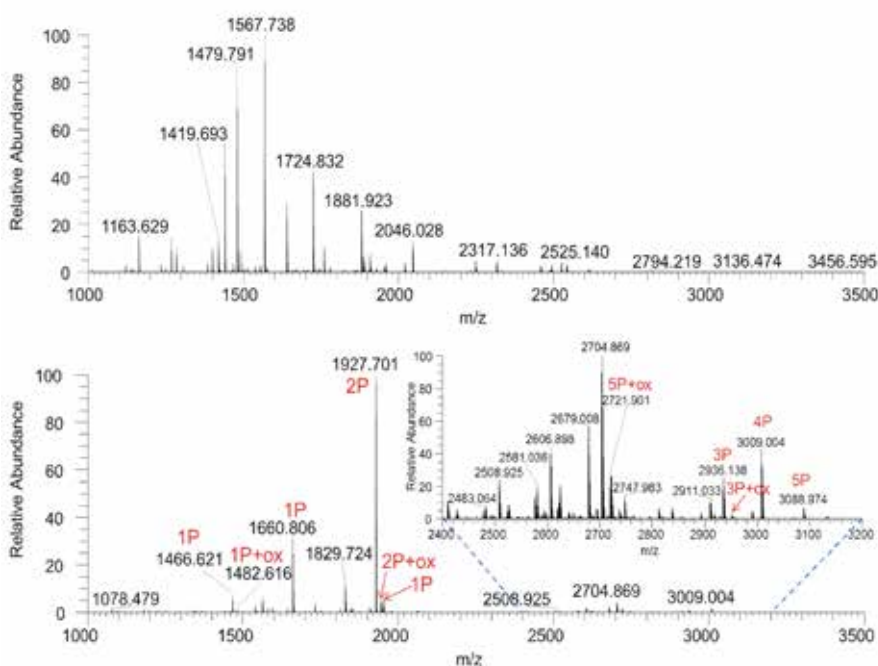
Karolina Kašparová
karolina.kasparova@upce.cz

Manažer komercializace
Cetrum transferu
technologií a znalostí



Je nesporné, že pro fosfoproteomickou analýzu je naprosto zásadní specifické obohacení fosfopeptidů. Pro tyto účely jsme využili nanomateriál s velkým měrným povrchem na bázi anodických jednorozměrných (ID) TiO_2 nanotrubic homogenně pokrytých nanočásticemi Fe_3O_4 ($\text{TiO}_2\text{NTs@Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$). Kombinace $\text{TiO}_2\text{NTs@Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ s optimalizovaným protokolem pro obohacení poskytuje, ve srovnání se zavedenými mikročásticemi TiO_2 a materiály na bázi IMAC, zvýšenou separační specifitu a větší rozsah identifikovaných fosfopeptidů.

Použitý materiál ($\text{TiO}_2\text{NTs@Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) má další jedinečné výhody: je netoxický, robustní a díky jeho vnitřnímu magnetismu jej lze snadno oddělit z jakéhokoli roztoku. Výhodné je i použití TiO_2 jako základu, díky němuž lze materiál jednoduše a levně dekontaminovat UV světlem indukovanou fotokatalýzou a ve stejné kvalitě opakovaně použít. Naše výsledky prokázaly, že tento materiál ($\text{TiO}_2\text{NTs@Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) separuje téměř výlučně fosfopeptidy a vykazuje o 50 % lepší preferenční afinitu v případě dvojnásobně či trojnásobně fosforylovaných peptidů. Kromě toho také zachytává vysoké množství unikátních fosfopeptidů, které nelze izolovat jinými technikami. Tuto vlastnost lze plně využít zejména při analýze hyperfosforylovaných proteinů spojených se závažnými degenerativními onemocněními.



MALDI-Orbitrap - hmotnostní spektra směsi peptidů odvozených z trypsin digestátu α -kaseinu a BSA: a) původní směs peptidů, b) obohacená směs o $\text{TiO}_2\text{NTs@Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$.

KOMERČNÍ VYUŽITÍ

ID TiO_2 nanotrubic pokryté nanočásticemi Fe_3O_4 mají díky svým unikátním vlastnostem předpoklady k využití v biologických a biochemických vědách nebo např. biomedicině. Materiál vykazuje vysokou specifitu, velký měrný povrch, magnetické vlastnosti a je možné ho fotokatalyticky regenerovat. $\text{TiO}_2\text{NTs@Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ má potenciál otevřít nové možnosti izolace a identifikace klinicky významných biomolekul. Technologie je nabízena k licencování a společnému vývoji.

PŮVODCI

prof. RNDr. Zuzana Bílková,
Ph.D.

Dr.-Ing. Jan Macák

Mgr. Rudolf Kupčík

RNDr. Pavel Řehulka, Ph.D.

PRŮMYŠLOVĚ PŘÁVNÍ OCHRANA

Probíhá patentové řízení v USA, priorita 2014. Udělen patent v České republice. Komplementární patentová přihláška byla podána v lednu 2018.

FÁZE VÝVOJE

Byla připravena série vzorků. Jejich schopnost oddělit vybrané biomolekuly byla prokázána v analytickém (stopové množství) měřítku. Technologie je připravena na převedení do výrobního měřítká.

KONTAKTNÍ OSOBA

Karolina Kašparová
karolina.kasparova@upce.cz

Manažer komercializace
Cetrum transferu
technologí a znalostí



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání