

Príloha č. 2 Zmluvy o poskytnutí prostriedkov mechanizmu

## OPIS PROJEKTU

Opis projektu pre účel výzvy s kódom 09I03-03-V04 „Štipendia pre excelentných výskumníkov a výskumníčky R2-R4“.

I. Všeobecné informácie o projekte	
Názov projektu:	Úloha Ginkgo-biloba v epigenetickej modulácii a malignej transformácii buniek vyvolanej ionizujúcim žiarením používaným v rádioterapii.
Akronym projektu:	GBECIRRP
Kód projektu:	09I03-03-V04-00426
Názov programu:	Plán obnovy a odolnosti SR
Komponent:	9. Efektívnejšie riadenie a posilnenie financovania výskumu, vývoja a inovácií Plánu obnovy a odolnosti Slovenskej republiky
Investícia:	3. Excelentná veda
Schéma pomoci	Neuplatňuje sa
Anotácia projektu	<i>Terapeutická rezistencia k rádioterapii je jednou z hlavných prekážok pri liečbe rakoviny. Tento projekt rozvíja kombinačné stratégie zahŕňajúce Ginkgo biloba (GB) ako rádiosenzibilizátor na prekonanie rádioresistencie v konvenčnej rádioterapii a zosilnenie jej protinádorových účinkov. Zhodnotíme úlohu GB ako rádiosenzibilizátora pri podpore apoptózy indukovanej reaktívnymi kyslíkovými radikálmi pomocou prietokovej cytometrie po ožiarení ľudských nádorových línií. V súčasnosti neexistuje žiadna štúdia týkajúca sa úlohy GB ako epigenetického liečiva v kombinácii s ožiarением pre terapiu. Budeme skúmať epigenetickú moduláciu prostredníctvom metylácie DNA/RNA a histónových proteínov v nádorových líniách ovplyvnených GB po ožiarení. Zmeny v transformácii maligných buniek vyhodnotíme metódou klonovania na mäkkom agare a metódou transplantácie buniek u SCID myši. Budeme sledovať odlišnú reakciu GB na nádory hodnotením veľkosti, hmotnosti a histopatologickej analýzy.</i>
II. Harmonogram projektu	
Začiatok realizácie Projektu (MM/RRRR)	08/2024
Ukončenie vecnej realizácie Projektu (MM/RRRR)	06/2026
III. Pracovné balíky projektu	
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	1. Analýza ROS a apoptózy
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M1
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M7
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	2. Epigenetická analýza
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M8
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M13
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	3. Transformácia maligných buniek
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M14
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M18

<b>Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)</b>	4. Štatistická analýza a rukopis																													
<b>Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M19																													
<b>Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M23																													
<b>IV. Cieľ projektu a výstupy projektu</b>																														
<b>Cieľ projektu</b>	<p><i>Terapeutická rezistencia na žiarenie je jednou z hlavných prekážok v liečbe rakoviny po rádioterapii. Kombinácia rádioterapie s Gingko biloba (GB) je potenciálnym kandidátom v terapii rakoviny. Tento projekt objasňuje kombinované stratégie zahŕňajúce GB na prekonanie rezistencie na rádioaktívnu liečbu a zvýšenie protinádorových vlastností. Ciele projektu:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Skúmať úlohu Gingko biloba (GB) ako rádiosenzibilizátora v líniiach rakovinových buniek po ožiarení pomocou prietokovej cytometrie: Projekt pozostáva z troch sérií experimentov. Prvá séria pozostáva z experimentov využívajúcich GB ako rádiosenzibilizátor pri podpore apoptózy indukovanej reaktívnymi formami kyslíka (ROS) po ožiarení ľudských rakovinových bunkových línií. Na hodnotenie úrovne ROS a apoptózy po ožiarení rakovinových bunkových línií ošetrených GB sa použije prietoková cytometria. Cieľom tejto časti experimentov je získať prístup k účinkom GB v závislosti od dávky pri rádiorezistencii rádioterapie použitím rôznych koncentrácií GB a rôzneho trvania liečby pred ožiareními.</i></li> <li>• <i>Štúdium cesty epigenetického preprogramovania vyvolaného GB v línii rakovinových buniek po ožiarení: Po skríningu niekoľkých koncentrácií GB v prvej sérii budeme v druhej sérii experimentu skúmať úlohu GB s vybranou dávkou proti rádiorezistencii ako epigenetických liečiv; overíme metyláciu DNA/RNA a histónu na moduláciu radiačnej rezistencie nádorov pri rádioterapii po liečbe GB. Expresiu DNA a histónovej metyltransferázy budeme kontrolovať metódou RT-qPCR. Na kontrolu metylácie DNA a histónového proteínu sa použije ELISA čítačka.</i></li> <li>• <i>Štúdium zmien rádiosenzitivity nádorovej bunkovej línie po liečbe GB prostredníctvom malígnej transformácie buniek: Po ukončení tejto prvej a druhej série by sme mohli zistiť zmeny malígnej transformácie buniek metódou klonovania na mäkkom agare, testom transplantácie buniek na myšom modeli po liečbe GB v tretej sérii experimentu. Ožiarené ošetrované bunky transplantujeme SCID myšiam, u ktorých budú zjavne viditeľné indukované nádory. Rozdielnu reakciu na GB vo viditeľných nádoroch budeme kontrolovať hodnotením veľkosti, hmotnosti a histopatologickou analýzou.</i></li> </ul>																													
<b>Výstupy projektu</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Číslo výstupu</th> <th>Výstup</th> <th>Číslo pracovného balíka</th> <th>Typ</th> <th>Prístup a šírenie</th> <th>Metóda overovania</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td><i>Etické povolenie pre SCID myši.</i></td> <td>1</td> <td><i>List o schválení</i></td> <td>N</td> <td><i>Referenčné číslo schválenia</i></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td><i>Opis modifikovanej metódy pre kultivačnú bunkovú líniu, ROS a apoptózu</i></td> <td>1</td> <td><i>Metodika</i></td> <td>N</td> <td><i>Protokol</i></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td><i>Opis údajov týkajúcich sa rôznych dávok žiarenia u používaných pri rádioterapii</i></td> <td>1</td> <td><i>Správa</i></td> <td>P</td> <td><i>Správa o pokroku</i></td> </tr> </tbody> </table>						Číslo výstupu	Výstup	Číslo pracovného balíka	Typ	Prístup a šírenie	Metóda overovania	1	<i>Etické povolenie pre SCID myši.</i>	1	<i>List o schválení</i>	N	<i>Referenčné číslo schválenia</i>	2	<i>Opis modifikovanej metódy pre kultivačnú bunkovú líniu, ROS a apoptózu</i>	1	<i>Metodika</i>	N	<i>Protokol</i>	3	<i>Opis údajov týkajúcich sa rôznych dávok žiarenia u používaných pri rádioterapii</i>	1	<i>Správa</i>	P	<i>Správa o pokroku</i>
Číslo výstupu	Výstup	Číslo pracovného balíka	Typ	Prístup a šírenie	Metóda overovania																									
1	<i>Etické povolenie pre SCID myši.</i>	1	<i>List o schválení</i>	N	<i>Referenčné číslo schválenia</i>																									
2	<i>Opis modifikovanej metódy pre kultivačnú bunkovú líniu, ROS a apoptózu</i>	1	<i>Metodika</i>	N	<i>Protokol</i>																									
3	<i>Opis údajov týkajúcich sa rôznych dávok žiarenia u používaných pri rádioterapii</i>	1	<i>Správa</i>	P	<i>Správa o pokroku</i>																									

	4	Opis údajov týkajúcich sa rôznych dávok a časových trvaní liečby GB ako rádiosenzibilizátorov	1	Správa	P	Správa o pokroku
	5	Opis modifikovanej metódy pre epigenetické techniky	2	Metodika	N	Protokol
	6	Opis údajov týkajúcich sa rôznych dávok a časového trvania liečby GB ako epigenetického lieku	2	Správa	P	Správa o pokroku
	7	Správa o pokroku	2	Priebežná správa	N	Prezentácia
	8	Opis modifikovanej metódy klonového testu na mäkkom agare	3	Metodika	N	Protokol
	9	Opis metódy udržiavania SCID myši v špecifickom priestore pre pokusné zvieratá bez patogénov	3	Metodika	N	Protokol
	10	Opis údajov týkajúcich sa liečby GB proti zmenám v malígnej transformácii buniek	3	Správa	P	Správa o pokroku
	11	Záverečná správa o výsledkoch projektu	4	Správa	P	Prezentácia
	12	Údaje budú uverejnené vo vedeckom časopise s otvoreným prístupom	4	Publikácia	P	Časopis
	13	Údaje budú prezentované na konferenciách alebo sympóziách na národnej a medzinárodnej úrovni	4	Zborník	P	Konferencie
<b>Míľniky projektu</b>	<b>Číslo míľnika</b>	<b>Míľnik</b>			<b>Číslo pracovného balíka</b>	<b>Metóda overovania</b>
	1	Vytvorenie nádorových bunkových línií a žiadosť o etické povolenie pre SCID myši			1	Protokol
	2	Vypracovanie modifikovaných protokolov pre ROS a apoptózu pomocou prietokového cytometra			1	Protokol

	3	Zhromažďovanie údajov o rôznych dávkach žiarenia pre životaschopnosť rakovinových bunkových línií používaných pri rádioterapii prostredníctvom MTT testu	1	Správa o pokroku
	4	Zber údajov pre rôzne dávky a trvanie liečby GB prostredníctvom analýzy ROS prietokovým cytometrom po vybranej dávke žiarenia.	1	Správa o pokroku
	5	Zhromažďovanie údajov pre rôzne dávky a trvanie liečby GB prostredníctvom apoptotického testu po vybranom ožiarení.	1	Správa o pokroku
	6	Zavedenie modifikovaných protokolov pre epigenetické modifikácie, t. j. izolácia DNA/RNA a proteínov, PCR v reálnom čase a ELISA	2	Protokol
	7	Zhromažďovanie údajov pre GB ako epigenetické lieky prostredníctvom epigenetických techník	2	Správa o pokroku
	8	Vykonávanie štatistickej analýzy a príprava správy o pokroku pre financujúcu agentúru	2	Prezentácia
	9	Vypracovanie modifikovaných protokolov pre metódu klonovania na mäkkom agare na transformáciu malígnych buniek	3	Protokol
	10	Založenie SCID myši v zverinci	3	Protokol
	11	Zhromažďovanie údajov o liečbe GB pri transformácii malígnych buniek metódou klonovania na mäkkom agare a in vivo experiment s SCID myšami	3	Záverečná správa
	12	Vykonanie štatistickej analýzy všetkých experimentov v súvislosti s liečbou GB po ožiarení	4	Záverečná správa
	13	Príprava záverečnej správy na následné predloženie financujúcej agentúre	4	Prezentácia
	14	Príprava publikácie na predloženie do časopisov s otvoreným prístupom a účasť na medzinárodnej konferencii	4	Časopis & konferencia

#### V. Informácie o výskumníkovi/výskumníčke

Identifikácia výskumníka/výskumníčky	Sachin Gulati
Typ podpory/fáza kariéry	A) Štipendium výskumníka R2
Vedná oblasť	Prírodné a lekárske vedy

#### VI. Rozpočet projektu

Celková výška oprávnených výdavkov	148 306,80 €		
Výška prostriedkov mechanizmu bez DPH	140 561,00 €		
Výška prostriedkov mechanizmu – na DPH	7 745,80 €		
Prostriedky mechanizmu na mzdové náklady výskumníka	Prostriedky mechanizmu na výskum bez DPH	Prostriedky mechanizmu na výskumný tím	Prostriedky mechanizmu na nepriame náklady bez DPH
101 832,00 €	26 000,00 €	0,00 €	12 729,00 €