

## 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	
<b>Názov projektu:</b>	Cvičenie moduluje náklad cirkulujúcich extracelulárnych vezikúl u ľudí v zdraví a chorobe
<b>Akronym projektu:</b>	ExCell
<b>Kód projektu:</b>	09I03-03-V04-00421
<b>Názov programu:</b>	Plán obnovy a odolnosti SR
<b>Komponent:</b>	9. Efektívnejšie riadenie a posilnenie financovania výskumu, vývoja a inovácií Plánu obnovy a odolnosti Slovenskej republiky
<b>Investícia:</b>	3. Excelentná veda
<b>Schéma pomoci</b>	Neuplatňuje sa
<b>Anotácia projektu</b>	<i>Navrhovaný projekt má potenciál poskytnúť jedinečné poznatky o účinkoch cvičenia na cirkulujúce extracelulárne vezikuly u mladých, zdravých jedincov, pacientov s miernym kognitívnym deficitom a pacientov s Parkinsonovou chorobou. Komplexná charakterizácia EVs izolovaných z jedinečných ľudských vzoriek séra a CSF získaných z intervenčných štúdií pomocou high-throughput metód na identifikáciu ich tkaniva pôvodu a obsahu v súvislosti s adaptívnou odpoveďou na cvičenie poskytne dôležité informácie, s potenciálnym budúcim uplatnením v liečbe chronických chorôb súvisiacich so starnutím a monitorovaní efektívnosti tréningovej intervencie u starších ľudí a u pacientov s neurodegeneratívnymi ochoreniami. Tieto zistenia môžu rozšíriť interdisciplinárne vedomosti, ktoré sú nevyhnutné pre pochopenie cvičením indukovaných adaptačných mechanizmov na bunkovej, tkanivovej a systémovej úrovni a pre vývoj terapeutických stratégií založených na pozitívnych účinkoch cvičenia.</i>
II. Harmonogram projektu	
<b>Začiatok realizácie Projektu (MM/RRRR)</b>	09/2024
<b>Ukončenie vecnej realizácie Projektu (MM/RRRR)</b>	06/2026
III. Pracovné balíky projektu	
<b>Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)</b>	1. Charakterizácia EV izolovaných zo séra a CSF mladých zdravých jedincov
<b>Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M1
<b>Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M2
<b>Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)</b>	2. Sekvenovanie EVs miRNA
<b>Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M3
<b>Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M4
<b>Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)</b>	3. Dynamika a identifikácia tkaniva pôvodu pomocou nanoFACS
<b>Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M5
<b>Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)</b>	M10
<b>Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)</b>	4. Charakterizácia EV izolovaných zo séra a CSF starších ľudí a pacientov s Parkinsonovou chorobou
<b>Začiatok realizácie PB</b>	M11

(mesiac projektu – Mx)	
<b>Koniec realizácie PB</b> (mesiac projektu – Mx)	M18
<b>Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)</b>	5. Spracovanie a analýzy údajov
<b>Začiatok realizácie PB</b> (mesiac projektu – Mx)	M4
<b>Koniec realizácie PB</b> (mesiac projektu – Mx)	M22
<b>IV. Cieľ projektu a výstupy projektu</b>	
<b>Cieľ projektu</b>	<p><i>Cieľ 1: Charakterizovať EV izolované pomocou Exoquick™ (SystemBiosciences) a/alebo chromatografie s vylúčením veľkosti (IZON) zo séra a mozgovomiechového moku (CSF) od mladých, zdravých, fyzicky aktívnych jedincov pred, bezprostredne po a 60 minút po jednorazovej intenzívnej aeróbnej fyzickej aktivite (90 minút behu, 75-80 % VO2max). Prítomnosť exozómov v izolovaných vzorkách sa potvrdí imunoblotovaním s použitím protilátok proti tetraspanínom CD9, CD63, CD81, povrchovým markerom exozómov. Kontaminácia lipoproteínmi sa bude posudzovať pomocou protilátok ApoE a ApoB. Prítomnosť dvojitej membrány a pohárikovitej morfológie sa overí transmisnou elektrónovou mikroskopiou (TEM). Dynamika koncentrácie a nákladu cirkulujúcich EV vyvolaná cvičením sa bude hodnotiť pomocou analýzy sledovania nanočastíc/NTA a proteínových matíc v EV izolovaných oboma metódami od toho istého jedinca. Porovnajú sa obe metódy izolácie a posúdi sa vplyv akútneho cvičenia.</i></p> <p><i>Cieľ 2: Charakterizovať profil mikroRNA v EV získaných zo séra a CSF a ich zmeny vyvolané akútnym cvičením pomocou sekvenovania miRNA. Na analýzu sa použijú EV izolované pomocou Exoquick zo séra a CSF zdravých mladých jedincov pred a po 90 min behu. MiRNAseq sa bude realizovať v rámci nadviazanej spolupráce s ETH Zürich. Vygenerované súbory údajov sa budú analyzovať v spolupráci s bioinformatickým oddelením BMC SAS a výpočtovým biológom.</i></p> <p><i>Cieľ 3: Vykonať nano-fluorescenčné aktivované triedenie buniek (nanoFACS) s cieľom (i) analyzovať dynamiku vylučovania EVs vyvolanú cvičením a (ii) optimalizovať metódu na identifikáciu tkaniva pôvodu cirkulujúcich EVs. Budeme charakterizovať koncentráciu cirkulujúcich EVs a ich zmeny vyvolané cvičením vo vzorkách zo 4-mesačnej intervenčnej tréningovej štúdie u pacientov s Parkinsonovou chorobou. Ďalej budeme testovať rôzne protilátky na špecifické markery tkanív, o ktorých je známe, že prispievajú k cirkulujúcemu fondu EVs, s cieľom určiť tkanivo pôvodu EVs a získať tkanivovo špecifické podskupiny EVs na ďalšiu charakterizáciu. NanoFACS sa bude vykonávať v spolupráci s University of Dublin, Flow Cytometry Core, ktorá má expertízu a bohaté skúsenosti s touto metódou.</i></p> <p><i>Cieľ 4: Charakterizovať dynamiku koncentrácie a proteínového nákladu EVs izolovaných pomocou (i) Exoquick z CSF a séra starších jedincov s miernou kognitívnou poruchou (MCI) alebo bez nej, ktorí absolvovali 3-mesačný aeróbno-silový tréning pod dohľadom; a pomocou (ii) SEC z CSF a séra pacientov s miernou až stredne ťažkou Parkinsonovou chorobou, ktorí absolvovali 4-mesačný aeróbno-silový tréning pod dohľadom v Centre fyzickej aktivity BMC SAV.</i></p> <p><i>Koncentrácia EV sa bude hodnotiť pomocou NTA. Na detekciu proteómu EVs a jeho zmien vyvolaných cvičením sa použijú proteínové matrice, ktoré sa rutinne používajú v laboratóriu hostiteľa, a vysoko výkonná proteomická analýza (v rámci nadviazanej spolupráce s CEITEC Brno Proteomic Core Facility). Vytvorené súbory údajov budú analyzované v spolupráci s bioinformatickým oddelením BMC SAS a výpočtovým biológom.</i></p>

Výstupy projektu	Číslo	Výstupy	Číslo pracovného balíka	Typ	Prístup a šírenie	Metóda overovania
	1	Biologický materiál (EVs z CSF, séra, plazmy) z jednorazového cvičenia alebo z intervenčnej štúdie	PB1	Biologický materiál	N	Priebežná správa
	2	Unikátne obrázky EVs izolované z CSF a séra	PB1	Obrázky	N	Priebežná správa
	3	Dáta spojené s detekciou špecifických proteínov EVs izolovaných z CSF a séra	PB1	Dáta	N	Priebežná správa
	4	Dáta spojené s dynamikou EVs namerané pomocou prístroja Nanosight	PB1	Dáta	N	Priebežná správa
	6	Interný seminar v hosťujúcom laboratóriu, Oddelení výskumu metabolických ochorení	PB2	Prezentácia	N	Priebežná správa
	7	Výstupy z konferencie s aktívnou účasťou výskumníka.	PB2	Abstrakt/Prezentácia	P	Kniha abstraktov
	8	Priebežná správa.	PB3	Správa	N	Priebežná správa
	9	Dáta z EVs zo séra a CSF získané meraním na prístroji nanoFACS	PB3	Dáta	N	Priebežná správa
	10	Subpopulácia tkanivovo špecifických EVs	PB3	Biologický materiál	N	Priebežná správa
	11	Zoznam proteínov zmenených vplyvom intervencie cvičením v EVs zo séra a CSF	PB4	Dáta	N	Záverečná správa
	12	Zoznam miRNA zmenených vplyvom intervencie cvičením v EVs zo séra a CSF	PB2	Dáta	N	Priebežná správa
	13	Výstup z konferencie s aktívnou účasťou výskumníka	PB4	Abstrakt/prezentácia	P	Kniha abstraktov
	14	Výstup z konferencie s aktívnou účasťou výskumníka	PB5	Abstrakt/prezentácia	P	Kniha abstraktov
	15	Podanie publikácie vo vedeckom časopise	PB5	Publikácia	P	Publikácia

	16	Podanie grantu so zapojením výskumníka	PB5	Podanie grantu	N	Formulár žiadosti o grant
	17	Záverečná správa	PB5	Správa	N	Záverečná správa
<b>Míľniky projektu</b>	<b>Číslo míľnika</b>	<b>Míľnik</b>		<b>Číslo pracovného balíka</b>		<b>Metóda overovania</b>
	1.	Stanovenie vplyvu akútneho cvičenia a metódy izolácie na vlastnosti EV		WP1		Exoquick, SEC, NTA, proteínové sústavy
	2.	charakterizácia dynamiky profilu mikroRNA v EV, vyvolaná akútnym cvičením		WP2		sekvenovanie miRNA
	3.	Určenie tkaniva pôvodu EV a dynamiky EV vyvolaných cvičením		WP3		analýza údajov nanoFACS
	4.	Identifikácia zmien v bielkovinovom profile EV vyvolaných cvičením zo štúdií tréningovej intervencie		WP4		Proteomická analýza
	5.	Tvorba komplexných databáz zo súborov údajov vytvorených v rámci projektu		WP5		Bioinformatika
<b>V. Informácie o výskumníkovi/výskumníčke</b>						
<b>Identifikácia výskumníka/výskumníčky</b>	Nikoleta Alchus Laiferová					
<b>Typ podpory/fáza kariéry</b>	A) Štipendium výskumníka R2					
<b>Vedná oblasť</b>	Prírodné a lekárske vedy					
<b>VI. Rozpočet projektu</b>						
<b>Celková výška oprávnených výdavkov</b>	148 306,80 €					
<b>Výška prostriedkov mechanizmu bez DPH</b>	140 561,00 €					
<b>Výška prostriedkov mechanizmu – na DPH</b>	7 745,80 €					
<b>Prostriedky mechanizmu na mzdové náklady výskumníka</b>	<b>Prostriedky mechanizmu na výskum bez DPH</b>	<b>Prostriedky mechanizmu na výskumný tím</b>	<b>Prostriedky mechanizmu na nepriame náklady bez DPH</b>			
101 832,00 €	26 000,00 €	0,00 €	12 729,00 €			