



# **Vývoj nanosenzorických fotonických systémov na rýchlu detekciu vírusov využitím metód riadenej evolúcie proteínových platforiem: prípad SARS-CoV-2**

## **Akronym: BioPickmol**

### **VÝRONÁ SPRÁVA ZA ROK 2021**

Kód projektu: 313011AUW6

Prijímateľ: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Partneri:

AUSYS s.r.o.

SAFTRA photonics, s.r.o.

Dátum začatia a ukončenia projektu: 01/2021 - 06/2023

Zazmluvnená výška NFP pre UPJŠ: 2 163 345,19 Eur ( z toho NFP pre PF: 59 437,61 Eur)

Žiadaná výška NFP za rok 2021: 22 639,30 Eur ( z toho NFP pre PF: 896,74 Eur)

Preplatená výška NFP v roku 2021: 22 639,30 Eur ( z toho NFP pre PF: 896,74 Eur)

Hlavná aktivita, na ktorej sa podieľa UPJŠ v Košiciach: H1 - Vývoj proteínových molekulových platforiem ako špecifických biosenzorov na detekciu vírusov

Garantom aktivity partnera UPJŠ v Košiciach je doc. RNDr. Gabriel Žoldák, PhD. z Centra interdisciplinárnych Biovied technologického univerzitného parku

Hlavným cieľom Aktivity UPJŠ v Košiciach je príprava a vývoj nových špecifických proteínov ako biosenzorov so schopnosťou rozpoznávať a viazať proteíny na povrchu vírusu a tým umožniť ich detekciu. Aktivita pozostáva z implementácie nasledujúcich špecifických aktivít: ŠA1.1: Vývoj, príprava a izolácia proteínových molekulových platforiem, ŠA1.2: Vývoj metodiky kvasinkového displeja, a ŠA1.3: Biofyzikálna charakterizácia selektovaných proteínov a ich väzobných partnerov.

V rámci výskumno-vývojovej aktivity sme analyzovali etablované proteínové molekulové platformy na báze nanobodies (Khodabakhsh et al. 2018) a DARPin (Pluckthun 2015) a zároveň sme preskúmali potenciál novej molekulovej platformy, založenej na špecifickej triede proteínov nazývaných šaperóny teplotného šoku Hsp70. V rámci riešenia projektu a našej bioinformatickej analýzy (Gala a Žoldák, 2021) sme identifikovali pomocou metód strojového učenia stabilné oblasti polypeptidového reťazca šaperónu. Táto identifikácia spočíva vo vývoji modelu, ktorý umožňuje klasifikáciu jednotlivých aminokyselín do dvoch tried – do triedy mechanických stabilných subštruktúr a do triedy mechanicky nestabilných subštruktúr. Pre vývoj spoľahlivého a dostatočne presného modelu sme využili metódy strojového učenia bez dohľadu (unsupervised) a s dohľadom (supervised). Metódy bez dohľadu sa ukázali ako málo prospešné a preto sme využili metódy pod dohľadom s označenými vstupnými tréningovými dátami a následne otestovali získaný model na testovacích neoznačených dátach. Porovnávali sme tri metódy: náhodný les (random forest), podporné vektory (support vector machines) a logistická regresia. Po zahrnutí lokálneho kontextu danej



pozície využitím Gausovsky váhovaného pohyblivého priemeru, sme dosiahli presnosť ca. 93% pomocou logistickej regresie. Tento prístup nám umožní generovať návrhy sekvencií subštruktúr, ktoré sú vhodné ako proteínové templáty na vývoj stabilných platforiem. Okrem stability subštruktúr je potrebná aj dostatočná flexibilita a dynamika proteínového skeletu pre zabezpečenie vhodného pozicionovania paratópu. Z toho dôvodu sme sa rozhodli rozšíriť naše teoretické nástroje a analýzy o metódu vlastných módov (normal mode analysis, Bauer and Žoldák, 2021). Analýzou 3D štruktúr proteínov sme zistili, že pojmy mechanická stabilita a dynamika sú navzájom prepojené a pomáhajú identifikovať kľúčové oblasti v rámci šaperónových templátov. Informácie o mechanickej stabilite subštruktúr dostupných šaperónov nie sú dostupné z dôvodu experimentálnej náročnosti meraní mechanickej stability individuálnych molekúl proteínov. V našej publikácii sme nedostatok experimentálnych dát vyriešili ad hoc substitučným spôsobom a to využitím voľne dostupných teoretických výpočtov za použitia 3D štruktúr proteínových platforiem.