

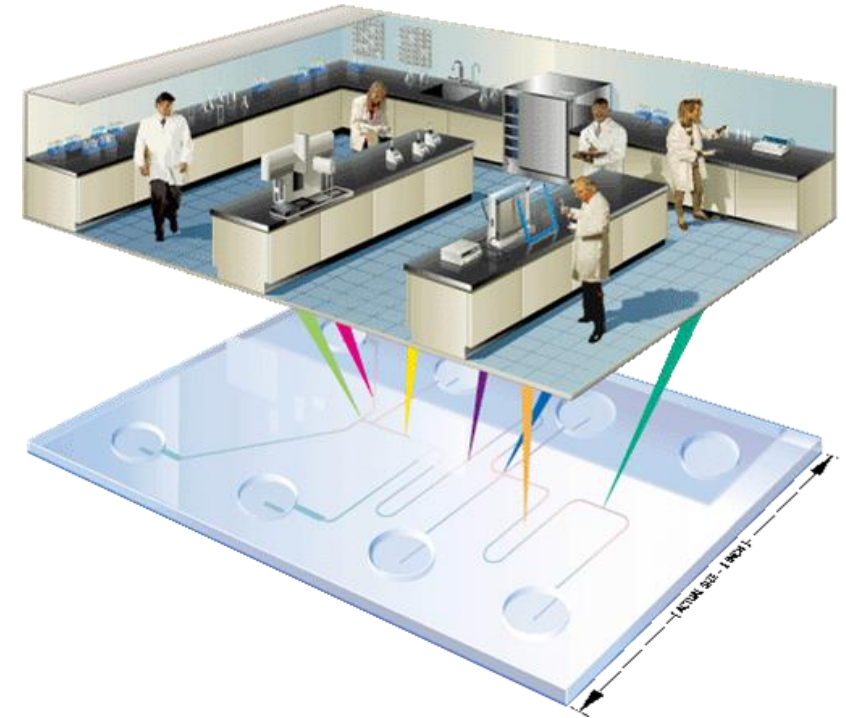


In vitro metody pro stanovení genotoxicity, endokrinní  
disrupce a mikrobiomu ve vzorcích ŽP

Petr Novotný

# Hlavní zaměření

- 20 let existence
  - **Genotypování**
  - **10 let V&V biočipů / microarrays**
  - **In vitro metody**
    - Genotoxicita, endokrinní disrupce, cytotoxicita
  - **Dodávky tematických laboratoří na klíč**



# Spolupráce

- Výzkumná centra a Univerzity
  - – vědeckotechnická spolupráce
- R&D projekty napříč ČR a EU
- Farmaceutické společnosti
- Organizace poskytující smluvní výzkum
- CZ, SK, CH, D, F, It, USA, SLO



# Klíčové úspěšné projekty



**2022 TAČR: Cena vizionář roku v r. 2021**

**2021 MPO: Cena za Inov. Projekt za r. 2020**

**SZÚ: Technologie pro výzkum vybraných xenobiotik**

**Uni J.A. Purkyně: Laboratoř pro příp. biočipů**

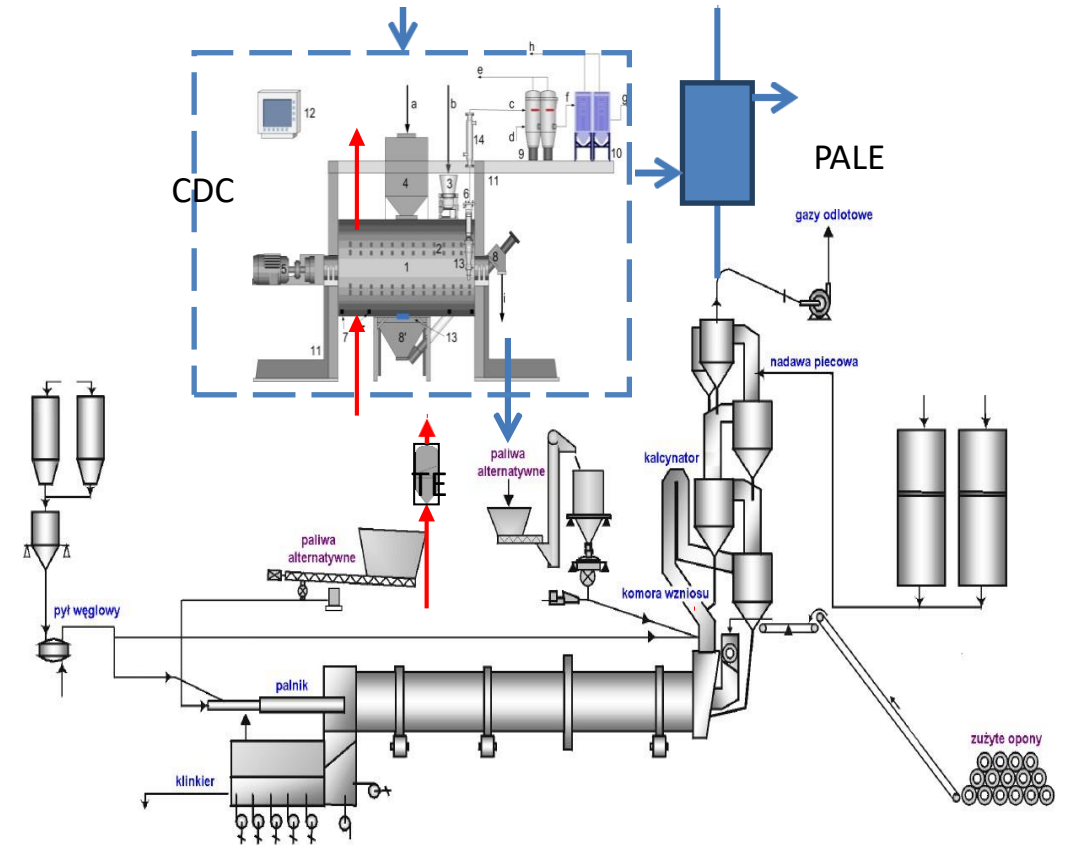
**VUAB Pharma: Laboratoř pro příp. LFIA testů**

**VUAB Pharma: Laboratoř pro výzkum genotoxicity**



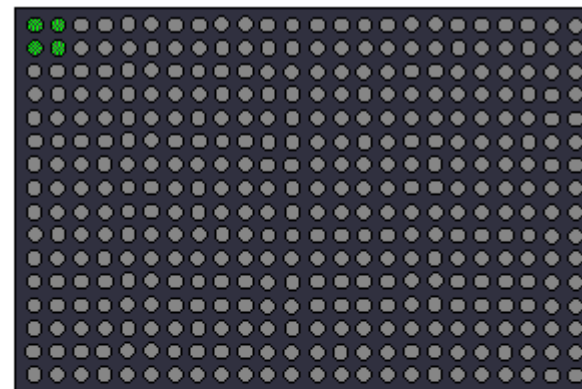
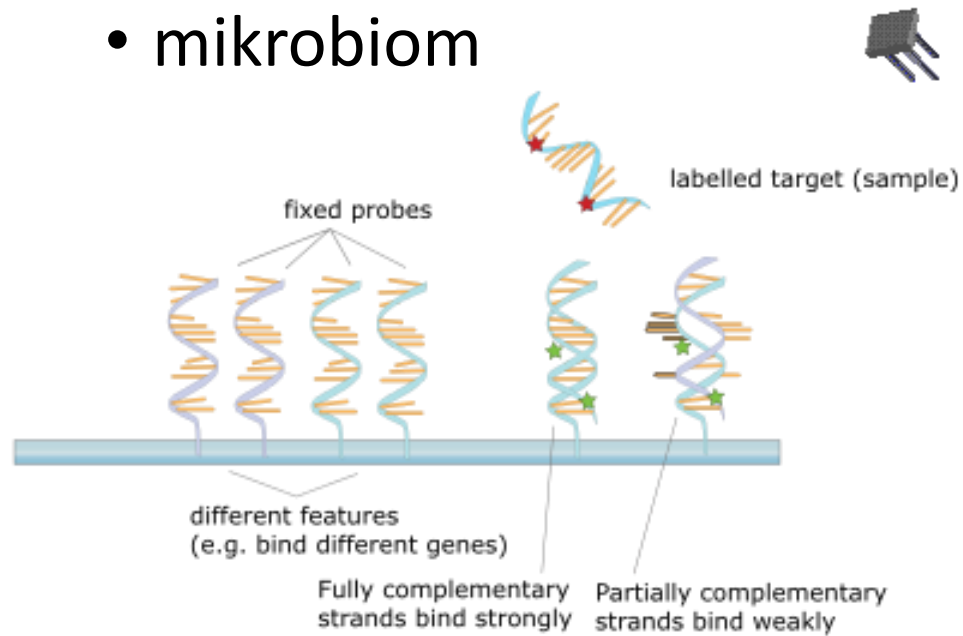
# Destrukce POPs CDC technologií

- ▶ CDC- katalitická destrukce za použití měď. katalyzátoru
- ▶ Spolupráce v rámci česko-švýcarsko-německého projektu (EUREKA; POPDESTR)
- ▶ Měření genotoxicity a endokrinní disrupce na vstupu a výstupu in vitro metodami
- ▶ Technologie je k dispozici

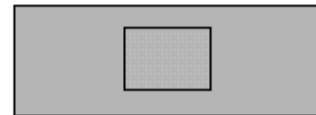


# Biočipy

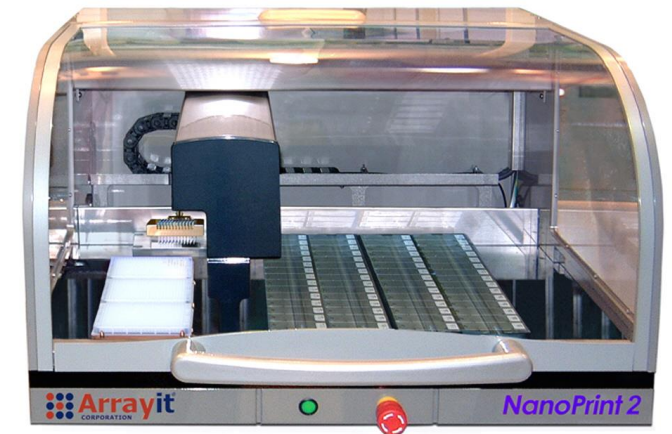
- Šlechtění
- Farmakogenomika
- mikrobiom



384 Well Plate

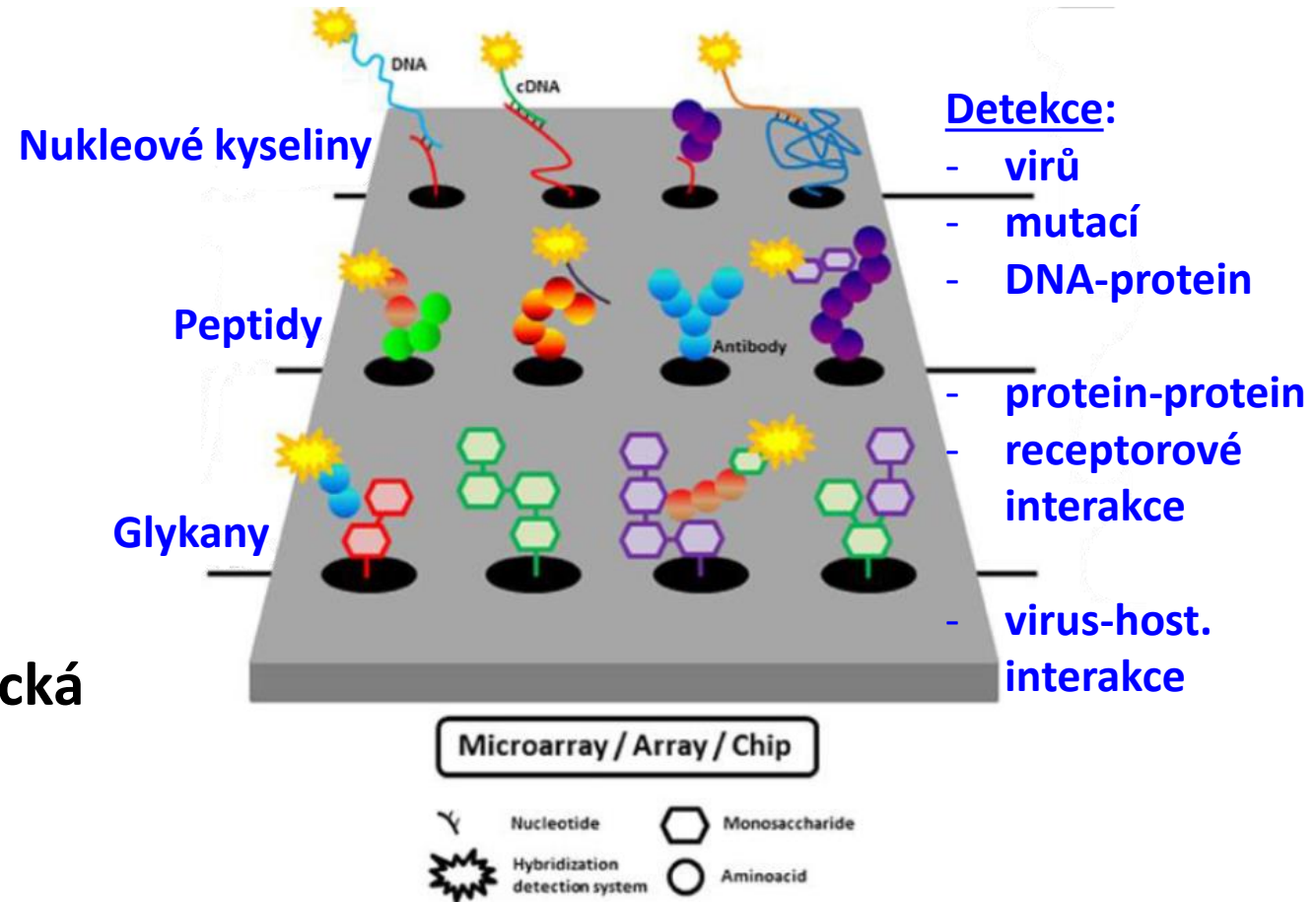


Microarray Chip

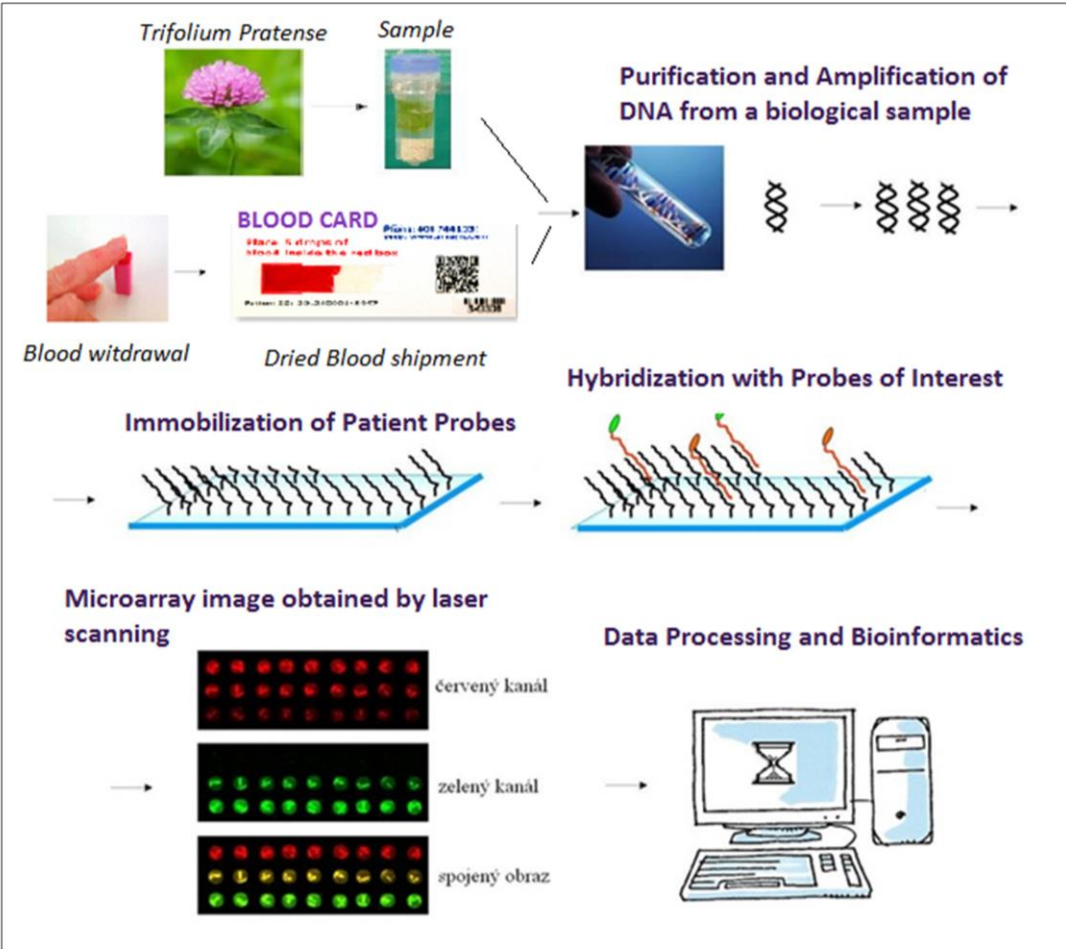


# Čip (microarray)

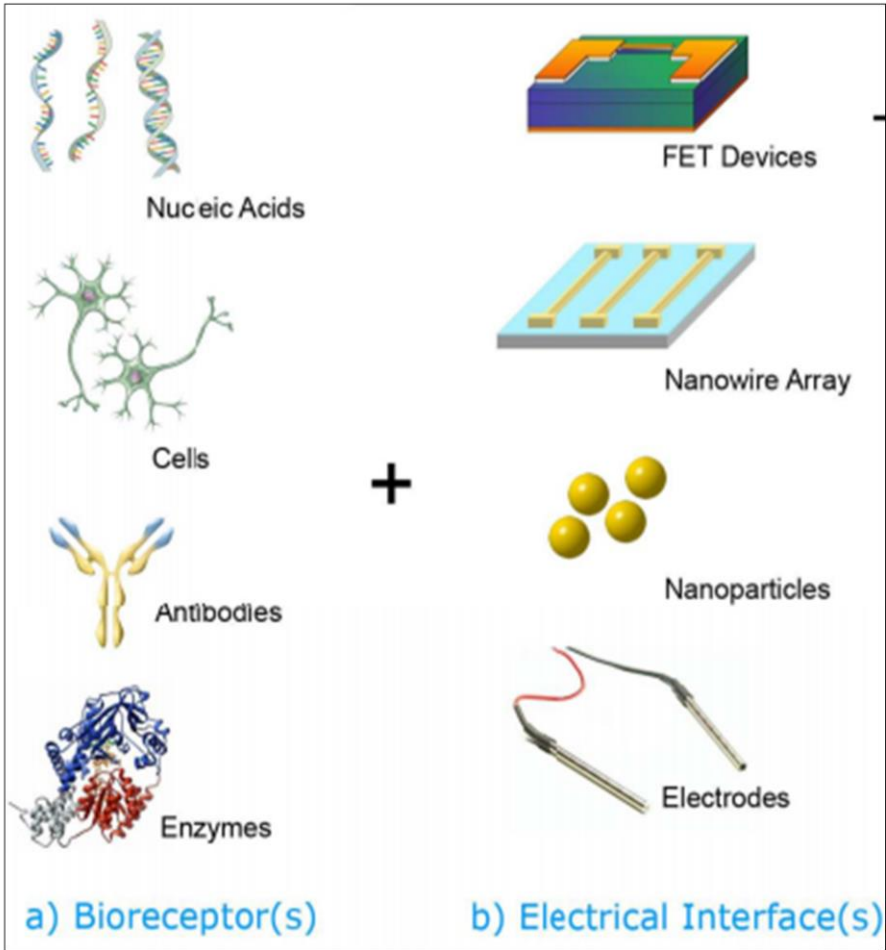
- Univerzální multiplexní platforma
- Sondy:
  - DNA
  - cDNA (rev. transkripce z RNA)
  - Protilátky
- Tisk řádově až 10 tis. spotů
- Detekce fluorescenční či kolorimetrická



# Biočipy – techn. příležitost



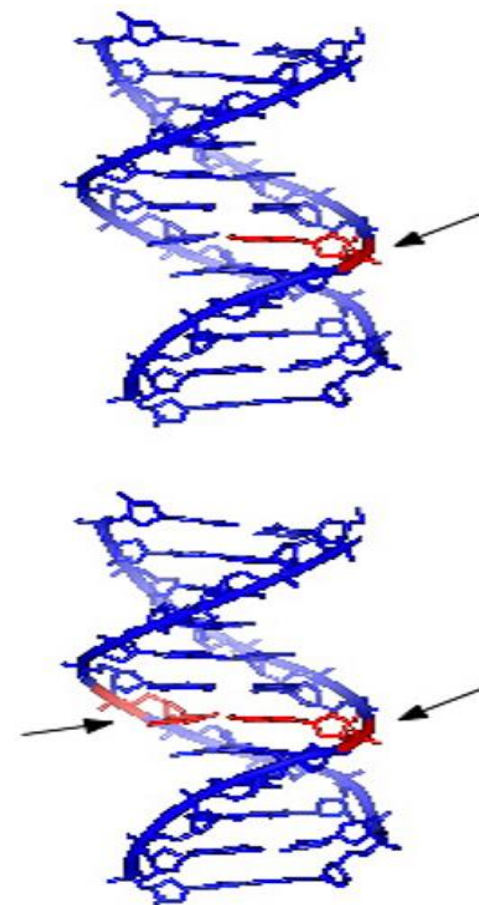
**Alternativy**  



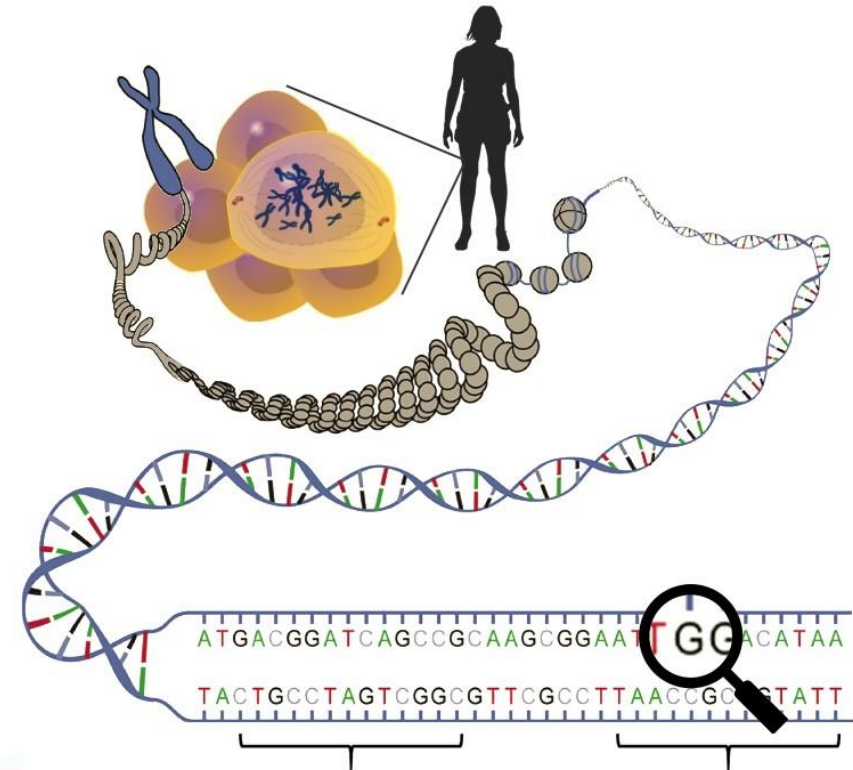
# Genotoxícita

- ▶ ZÁRODEČNÉ BUŇKY
  - ▶ STERILITA
  - ▶ VROZENÁ ONEMOCNĚNÍ
    - ▶ HEMOFILIE, SRPKOVÁ ANEMIE, CYSTICKÁ FIBROZA
  - ▶ MULTIFAKTORIÁLNÍ NEMOCI
    - ▶ DIABETES, KARDIO, PSYCHIATRICKÉ
- ▶ SOMATICKÉ BUŇKY
  - ▶ Stárnutí
  - ▶ Rakovina
  - ▶ Kardiovaskulární nemoci



# Genotypování

- ▶ 850,000 jednobodových mutací (SNPs)
- ▶ >5,000 farmakogenů (PharmGKB)
- ▶ Lékový metabolismus vč. *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2B6*, *CYP2A6*, *SULT1A1*, *CYP2C19*, and *CYP2C8*
- ▶ **Genealogické studie dávných předků**
- ▶ **Mutace zodpovědné za** náchylnost k různým onemocněním včetně alergických, kardiovaskulárních, psychiatrických, onkologických ad. onemocnění



# PGx profil

LÉČIVA	139	310	107	262	221	276	524	371	12
GENY	CYP2E1	CYP2D6	CYP2B6	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP3A4	CYP3A5	NAT2
FUNKCE	BĚŽNÝ	BĚŽNÝ	POMALU	BĚŽNÝ	RYCHLÁ	BĚŽNÝ	BĚŽNÝ	ŽÁDNÁ	ŽÁDNÁ
LÉČIVA	3	4	1	2	1	2			
GENY	DPYD	TPMT	SLCO1B1	UGT1A1	HLA-B	VKORC1			
FUNKCE	BĚŽNÝ	BĚŽNÝ	BĚŽNÝ	POMALU	NORMÁLNĚ	NORMÁLNĚ			

## Legenda

EXTENZIVNÍ  
METABOLIZÁTOR



*Odbourávání, respektive aktivace léků přes tento gen funguje normálně.*

(ULTRA)RYCHLÝ  
METABOLIZÁTOR



*Odbourávání, respektive aktivace léků přes tento gen funguje rychleji, než je norma.*

INTERMEDIÁRNÍ  
METABOLIZÁTOR



POMALÝ  
METABOLIZÁTOR



*Odbourávání, respektive aktivace léků přes tento gen funguje nedostatečně.*

# Mikrobiota – mikrobiomový čip

- ▶ Detekuje mikroby 5 domén (archaea, bakterie, fungi, protozoa, viry)
- ▶ Detekuje na úrovni druhů a kmenů, **více než 12 000 druhů, a více než 135 000 kmenů !**
- ▶ Větší diverzita a rozlišení než má „16S rRNA gene sequencing“
- ▶ Cena detekce je 10x menší než u metagenomického sekvenování
- ▶ Široké možnosti aplikace:
  1. Identifikace půdní mikrobioty
  2. detekce nebezpečných biologických agens
  3. Studie mikrobiomu

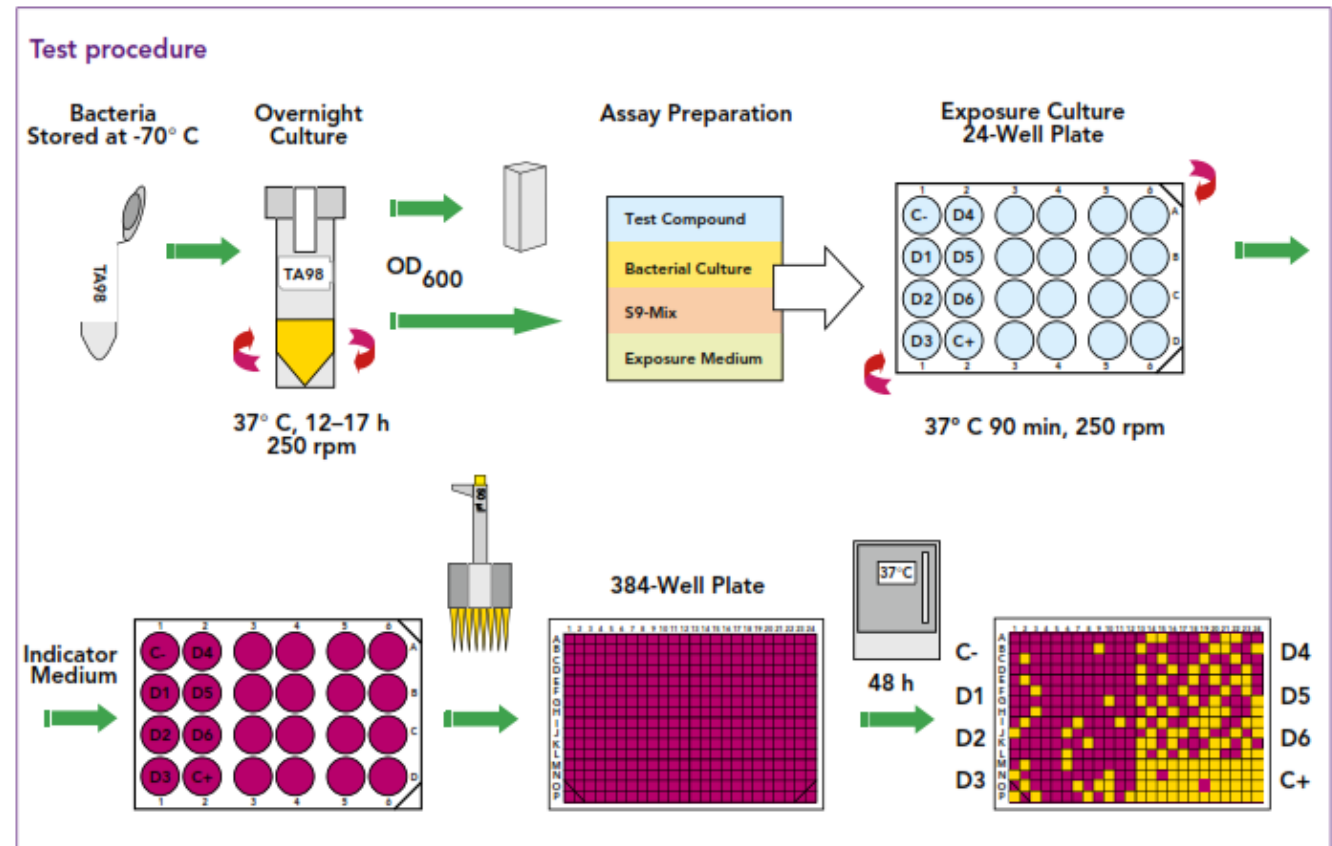


# Genotypování ryb

- ▶ více než **130 000 polymorfních variant** a rozsáhlé informace o polymorfismech napříč genomem ryb
- ▶ Aplikace:
  - ▶ Šlechtění
  - ▶ Populační a evoluční genetika
  - ▶ Změny v genomu ryb v důsledku havárií / znečištění vod

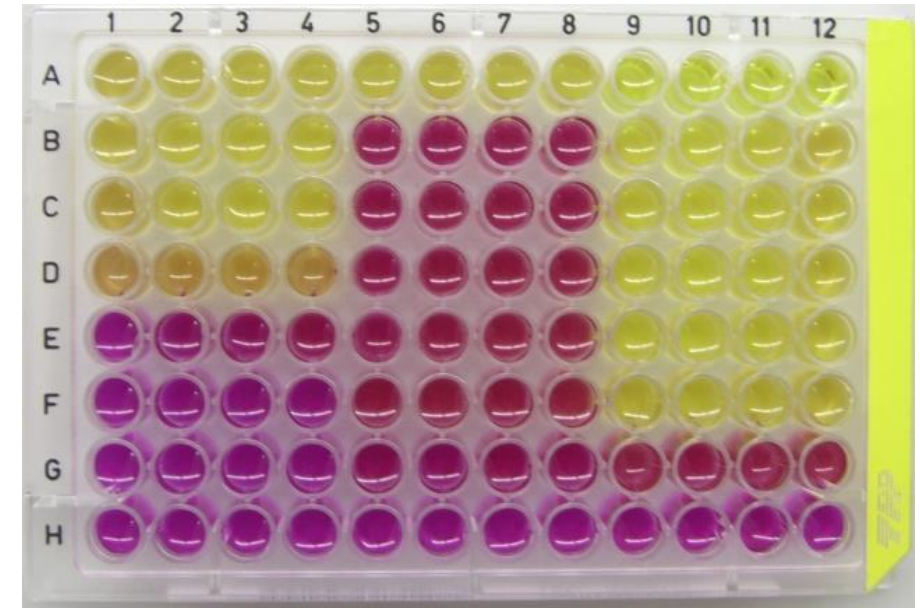
# *In vitro* bakteriální testy

- Detekce Xenobiototoxicity
- Dle REACH a OECD
- Jednoduchá metoda
  - Kolorimetrická
  - Mikrodestičková
  - Kvantita odpovídá počtu revertantů u klasického Amesova testu



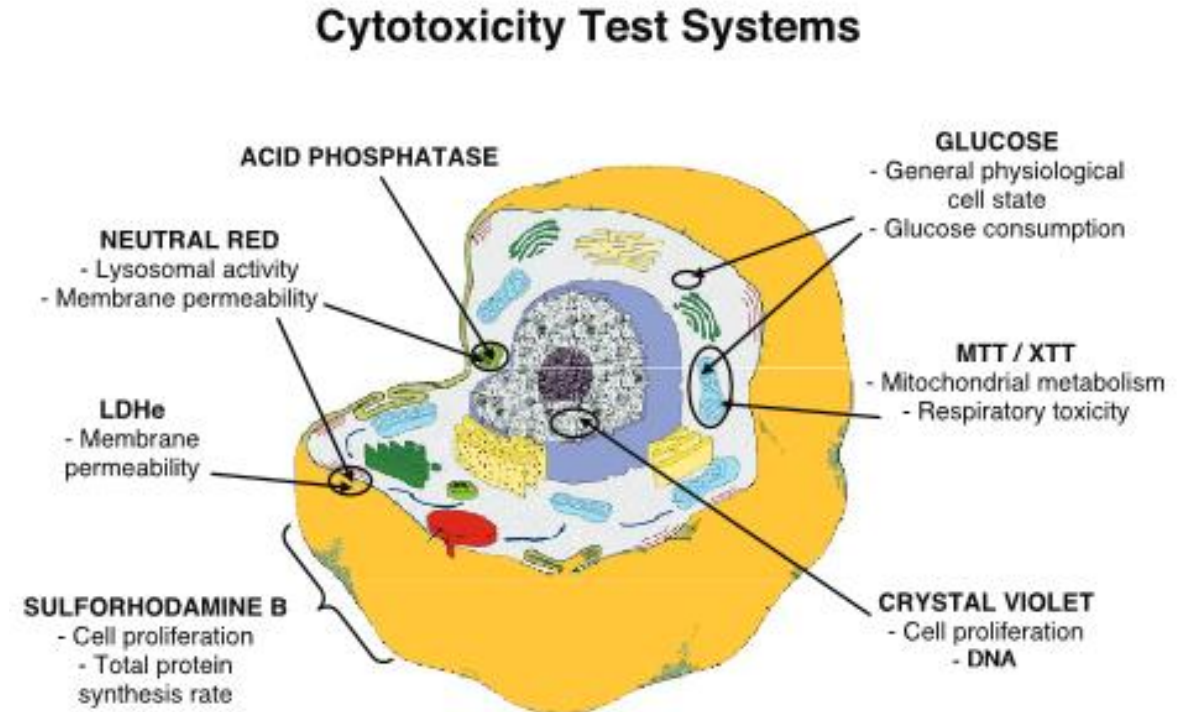
# Endokrinní disrupce

- Xenoscreen YES/YAS a Xenoscreen YES/YAS XL
- V jednom testu:
  - Estrogenové a androgenové disruptory
  - Antagonistický i agonistický mechanismus
- Xenoscreen YES/YAS výsledky za 48h
- Xenoscreen YES/YAS XL výsledky už za 18h



# Cytotoxicita

- Výběr jedn. endpointů
- Kombinace endpointov
- Analýza až 4 současných cytotoxických mechanismů v 1 testu
  - Porovnáním je možné zjistit mechanismus cytotoxicity





# Shrnutí

- Biočipy
  - Genotypování, mikrobiota
- Genotoxicita
- Endokrinní disrupce
- Cytotoxicita
- Hemocompatibilita and koagulační faktory
- Permeabilitní testy (ex-vivo kůže; epitely ad.)

# Diskuze



## Děkujeme za pozornost

**Petr Novotny, CEO**

[novotny@essenceline.cz](mailto:novotny@essenceline.cz)

**Petra Tsenov, Administration**

[petra.tsenov@essenceline.cz](mailto:petra.tsenov@essenceline.cz)

**Marketing and Administration**

[tereza@essenceline.cz](mailto:tereza@essenceline.cz)

**Sales**

[Pavel.sefl@essenceline.cz](mailto:Pavel.sefl@essenceline.cz)

**Laboratory Head**

**Irena Borgulova, PhD.**

[irena.borgulova@essenceline.cz](mailto:irena.borgulova@essenceline.cz)

**Iker Silva, Lab Technician**

[iker@essenceline.cz](mailto:iker@essenceline.cz)

**Katia Smirnova, lab technician**

[katia.smirnova@essenceline.cz](mailto:katia.smirnova@essenceline.cz)

**Supplies, PR, marketing and other queries**

[info@essenceline.cz](mailto:info@essenceline.cz)

**Medical/Genetic Advisor**

**Dana Pokorna, MD., PhD.**

[dana.pokorna@essenceline.cz](mailto:dana.pokorna@essenceline.cz)

**Zuzana Čočková, lab&bioinformatics**

[zuzana.cockova@essenceline.cz](mailto:zuzana.cockova@essenceline.cz)

