



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

Vybudovanie výskumného centra "AgroBioTech" ITMS 26220220180

Partner	Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV v Nitre (Partner 2)
Aktivita	3.1 Aplikovaný výskum v rastlinných biotechnológiách
Zodpovedná osoba	RNDr. Alena Gajdošová, CSc.
Cieľ	A. Vytvorenie materiálovo technickej bázy pre aplikovaný výskum v oblasti rastlinných biotechnológií
Výstup	Koncepcie laboratórií pre riešenie výskumných a vývojových úloh
Zoznam laboratórií:	<ol style="list-style-type: none">1. Laboratóriá reprodukčnej a vývinovej biológie2. Laboratórium molekulárneho šľachtenia rastlín

V Nitre, dňa: 03.10.2014

RNDr. Alena Gajdošová, CSc.
zodpovedná osoba odbornej aktivity 3.1

prof. Ing. Marián Brestič, PhD.
predseda vedeckého výboru a vedecký
garant



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

1 Laboratória reprodukčnej a vývinovej biológie Konceptia laboratória pre riešenie výskumných a vývojových úloh

Slovenský názov: Laboratória reprodukčnej a vývinovej biológie (ďalej LRVB)

Anglický názov: Laboratories of Reproduction and Developmental Biology

Zodpovedná osoba za laboratória: RNDr. Alena Gajdošová, CSc.

Laboratória zahŕňajú nasledovné miestnosti:

- miestnosť č. C 2064, C 2065, kultivačné miestnosti C 78, C 1101, A 54b1, A 54b2

Laboratória využívajú ďalšie nasledovné laboratória, resp. servisné (pomocné) priestory:

- Sterilná miestnosť č. 3 a č. 4 (C 2070 a C 1086)
- Váhovňa č. 2 (C 2063)
- Mikroskop č.1 a č. 2 (C 2090 a C 2081)
- Cytologické laboratórium (C 2077)
- Laboratórium pletivových kultúr č. 1 (C 1087)
- Prípravovňa rastlinného materiálu (C 1105)
- Sklad laboratórných pomôcok (C 1102)

1.1 Ciele

Cieľom je rekonštrukcia existujúcich laboratórií a ich vybavenie modernými prístrojmi. Laboratória budú pre svoju činnosť využívať taktiež doteraz existujúce laboratória a servisné priestory ÚGBR SAV. LRVB budú zriadené na základe doteraz existujúcich laboratórií a pracovných tímov, avšak koordinácia aktivít výskumných tímov bude značne posilnená a orientácia výskumu bude nasmerovaná na aplikáciu výsledkov výskumu v poľnohospodárskej a pestovateľskej praxi. Laboratória budú združovať, koordinovať a rozvíjať výskum v oblasti propagácie rastlín *in vitro* a v oblasti reprodukčnej a vývinovej biológie. Aktivity laboratórií budú stavať na doteraz získaných výsledkoch a skúsenostiach. V partnerstve so Slovenskou poľnohospodárskou univerzitou v Nitre a organizáciami z poľnohospodárskej praxe budú aktivity zamerané na cieľavedomú orientáciu výskumu pre riešenie problémov poľnohospodárskej praxe a na aplikáciu výsledkov výskumu v praxi.

Cieľom bude okrem skvalitnenia a aktivizácie personálnej infraštruktúry (aktívna spolupráca pracovníkov ÚGBR SAV s pracovníkmi SPU a odborníkmi z praxe) aj dobudovanie technickej infraštruktúry laboratória zakúpením nových prístrojov a zariadení.

1.2 Súčasný stav

Vedecké aktivity kolektívov, na základe ktorých budú nové laboratória vybudované sú v súčasnosti orientované na riešenie dielčích úloh projektov národných agentúr (hlavne VEGA a APVV) a niektorých medzinárodných projektov a programov (COST) s dôrazom na základný výskum a výstupy základného výskumu (publikácie vo vedeckých časopisoch). Dielčie výskumné úlohy sú koordinované vedúcimi jednotlivých projektov.



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

1.3 Projekty a vedecké úlohy

Oblasť propagácie rastlín *in vitro* – za účelom rutínnej aplikácie pre rýchle a ekonomicky výhodné klonálne množenie sadbového materiálu hospodársky významných plodín. Cieľom tejto aktivity bude vypracovanie protokolov pre *in vitro* propagáciu vybraných druhov rastlín využitím rôznych *in vitro* techník (propagácia pomocou axilárnych výhonkov, adventívnu regeneráciou, využitím somatickej a gametickej embryogenézy) s využitím pre produkciu haploidných šľachtiteľských línií, ako aj pre masové množenie cenných genotypov pre potreby šľachtiteľskej a pestovateľskej praxe. Vypracované protokoly budú k dispozícii množiteľom pre aplikované množenie týchto plodín.

Oblasť reprodukčnej a vývinovej biológie bude rozvíjaná taktiež na cytologickej a molekulárnej úrovni za účelom poznania regulácie vývinových procesov pri hospodársky významných plodinách s cieľom cielej regulácie týchto procesov žiadaným smerom.

1.4 Prínosy

Doterajšie výsledky a získané poznatky potvrdzujú dôležitosť a význam aplikácie biotechnologických metód pre rýchlu produkciu atraktívnych a hospodársky cenných druhov poľnohospodárskych plodín. Prednosťou aplikovaných techník *in vitro* je možnosť získať z malého množstva východzieho materiálu značné množstvo bezvírusových a geneticky uniformných rastlín. K ďalším výhodám patrí možnosť dlhodobého uskladnenia a uchovania vyselektovaných genotypov v kultúre *in vitro*, ako aj možnosť transportu kultúr *in vitro* do zahraničia bez zdĺhavého overenia a pod. Techniky *in vitro* umožňujú urýchliť proces klíčenia semien, otestovať ich fertilitu priamym vysiatím na kultivačné médium a zabezpečiť efektívnu reprodukciu, napr. hybridov alebo cenných genotypov využiteľných v šľachtiteľskom procese. Výhodou je aj možnosť imitácie rôznych stresových faktorov v podmienkach *in vitro* za účelom testovania reakcie vybraných druhov na stres a ich selekcie. Získanie dostatočného množstva otestovaného zdravého sadbového materiálu by obmedzilo dovoz zo zahraničia a umožnilo založenie produkčných výsadiel na Slovensku.

Významným prínosom bude rozšírenie teoretických poznatkov na úrovni cytologicko-histologických a biochemických štúdií morfogénnych procesov v kultúre *in vitro* pri študovaných druhoch. Aktivity LRVB prispievajú k rozvoju rastlinných biotechnológií a tým nielen k zvýšeniu potravinovej bezpečnosti krajiny, ale aj k procesu tvorby znalostnej spoločnosti, k zvýšeniu vzdelanosti obyvateľstva a týmto spôsobom aj k akceptácii a pochopeniu moderných biotechnologických postupov, bez ktorých sa ekonomika tretieho tisícročia nezaobíde ani na Slovensku.

Prínosom bude aj modernizácia a skvalitňovanie personálnej a technickej infraštruktúry výskumu a vývoja s cieľom zvýšenia schopnosti efektívne spolupracovať s inými výskumnými inštitúciami, ako aj so subjektmi spoločenskej a hospodárskej praxe prostredníctvom transferu poznatkov a technológií do praxe.

Vybudovanie LRVB napomôže efektívnej spolupráci výskumných kolektívov podobného zamerania v rámci výskumného centra využitím zakúpeného špičkového prístrojového vybavenia a tým aj k zefektívneniu využitiu vynakladaných finančných prostriedkov. Prístroje/zariadenia, ktoré budú umiestnené na ÚGBR SAV budú dostupné aj ostatným spolupracujúcim partnerom (SPU, UKF), príp. iným pracoviskám v regióne, čo umožní rozvinúť väčšiu vedeckú spoluprácu v rámci Nitrianskeho kraja.

1.5 Udržateľnosť výsledkov

Vybudovaním LRVB sa skvalitní vedecký výskum, výrazným spôsobom sa podporí prenos poznatkov vedy do vzdelávacieho procesu a do praxe. Nové prístrojové vybavenie napomôže ku skvalitneniu vzdelávania II. a III. vysokoškolského stupňa, pričom takto pripravení odborníci využijú tieto nové poznatky v ďalšom výskume a takisto aj v poľnohospodárskej praxi. V rámci prenosu poznatkov do



Európska únia
Európsky fond regionálneho rozvoja



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

vzdelávania, prístrojové vybavenie umožní vychovávať študentov (v rámci diplomového aj doktorandského štúdia), ktorí budú nielen teoreticky, ale aj prakticky oboznámení s najnovšími trendami vedy a výskumu. Navyše sa týmto môže dosiahnuť vyšší záujem študentov o prácu vo výskume. Vytvorí sa podmienky pre udržanie perspektívnych vedeckých pracovníkov (najmä mladých vedeckých pracovníkov) na Slovensku. Očakávame, že sa existenciou moderných laboratórií zamedzí odlivu vedeckých pracovníkov do zahraničia.

Špičkové prístrojové vybavenie umožní realizáciu významných výskumných a vývojových projektov v oblastiach so strategickým významom pre ďalší rozvoj hospodárstva a spoločnosti (12 vecných priorít výskumu a vývoja v SR, potreby kľúčových priemyselných odvetví SR, zvyšovanie kvality života a potreby udržateľného rozvoja hospodárstva).

V neposlednej miere sa zvýšenie kvality výskumu prejaví v kvalitnejšej publikačnej činnosti, vytvorí sa lepšie podmienky pre získanie vedeckých výstupov s vysokým IF, teda konkurencieschopných a akceptovateľných v celosvetovom meradle. Zvýši sa schopnosť uchádzať sa o vedecké projekty nielen v rámci SR ale aj na medzinárodnej úrovni. Týmto sa dlhodobou zabezpečí získavanie finančných prostriedkov potrebných pre výskum a udržateľnosť laboratória.

1.6 Orientácia laboratória v rámci výskumných a vývojových projektov po jeho dobudovaní

Činnosti vykonávané v LRVB budú primárne orientované na výskum v oblasti propagácie rastlín v podmienkach *in vitro* s dôrazom na vypracovanie účinných postupov mikropropagácie vybraných druhov drobného ovocia použiteľných v množiteľskej praxi (čučoriedka kanadská, muhovník, maliny, černice). Nevyhnutným predpokladom odborného napredovania laboratórií bude podpora spolupráce na domácej a medzinárodnej úrovni nielen s poprednými vedeckými inštitúciami, ale aj so subjektami poľnohospodárskej praxe. Napĺňanie ideí prenosu vedeckých poznatkov do praxe sa už deje v rámci zmluvnej spolupráce s niektorými podnikmi hospodárskej sféry (napr. fy Wellberry, Štátné lesy SR), ktorým odovzdávame v laboratórnych podmienkach získané a vylepšené rastliny na ďalšie vyhodnotenie a pestovanie v prírodných podmienkach. Cieľom bude rozšírenie takejto spolupráce a jej povýšenie na zmluvnú formu podpísaním bilaterálnych alebo multilaterálnych zmlúv, ktoré by v konečnom dôsledku mali viesť k podávaniu spoločných vedeckých projektov, ako aj aplikačných projektov a prenosu know-how do praxe. Všetky tieto aktivity budú organizačne zabezpečené činnosťou niekoľkých výskumných kolektívov, koordinácia ktorých bude značne posilnená a orientácia výskumu bude nasmerovaná na aplikáciu výsledkov výskumu v poľnohospodárskej a pestovateľskej praxi.

1.7 Organizačné začlenenie

Ústav genetiky a biotechnológií rastlín Slovenskej akadémie vied

Oddelenie populačnej genetiky a šľachtenia

Personálne zabezpečenie

Zodpovedná osoba za laboratórium: RNDr. Alena Gajdošová, CSc.

Funkcia: samostatný vedecký pracovník, zástupca riaditeľa ÚGBR SAV

Telefón: 037 6943 315

e-mail: alena.gajdosova@savba.sk

Riešiteľský kolektív: Doc. RNDr. Ján Salaj, DrSc.; RNDr. Andrej Kormuťák, DrSc.; RNDr. Gabriela Libiaková, CSc.; RNDr. Terézia Salaj, CSc. + súčasní interní doktorandi ústavu školení v danej oblasti.



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

Minimálne personálne požiadavky pre činnosť laboratórií:

- 2 vedecko-výskumní pracovníci (úplné vysokoškolské vzdelanie s III. stupňom v odbore Biológia, Molekulárna biológia, Fyziológia, Genetika)
 - skúsenosti s vedecko-výskumnou činnosťou, ovládanie metodík *in vitro*, fyziológie rastlín,
 - publikačná aktivita a zapojenosť v národných a zahraničných projektoch,
 - schopnosť pracovať v kolektíve, zodpovednosť a precízny prístup k povinnostiam,
- 1 PhD. študent.

1.8 Previazanosť laboratória v rámci Výskumného centra „AgroBioTech“

Laboratórium bude previazané využívaním a poskytovaním prístrojovej techniky pre analýzy s laboratóriami podobného zamerania na SPU a UKF V Nitre.

1.9 Návrh priorit z hľadiska Stratégie pre inteligentnú špecializáciu

Predpokladá sa, že z hľadiska Smart stratégie bude pre laboratórium prioritná oblasť Biomedicína a biotechnológie, Environment, pôdohospodárstvo a potravinová bezpečnosť so zameraním na progresívne technológie a postupy v oblasti pôdohospodárstva a potravín pre zabezpečenie dostatočnosti produkcie zdravých potravín. Výskumné aktivity budú orientované na získavanie nových poznatkov s cieľom riešiť výskumné problémy v prioritných oblastiach, ktoré v spolupráci s priemyslom a spoločnosťou definuje vláda SR.

1.10 Prístrojové vybavenie po dobudovaní Výskumného centra "AgroBioTech" a využívané metodiky

ÚGBR SAV disponuje *in vitro* laboratóriami, kultivačnými miestnosťami pre regeneráciu rastlín technikami pletivových kultúr a miestnosťou pre prenos rastlín z *in vitro* podmienok do *in vivo* podmienok. Laboratória ÚGBR SAV disponujú základným vybavením potrebným na štúdium reprodukčného procesu vyšších rastlín biochemickými technikami (stanovenie enzymatických aktivít, analýza izoenzymov), proteomickými technikami (2D proteínové gély, a ich analýza pomocou dostupného softwaru) a molekulárnymi technikami. Pracovisko má základné prístrojové vybavenie potrebné na izoláciu DNA a sekvenovanie DNA; prístroje a zariadenia využívané pri analýzach DNA nevyhnutné na štúdium genetickej variability metódami molekulárnej biológie využitím genetických markerov.

Súčasťou vybavenia je aj cytologické vybavenie nevyhnutné pre sledovanie anatomických a morfológických zmien v bunkách, ako sú mikroskopy, stereomikroskopy a mikrotom.

ÚGBR SAV je súčasťou biotechnologického centra SR BITCET, ktoré mu umožňuje využívať jeho služby týkajúce sa molekulárno-biochemických analýz ako napr. sekvenovanie, hmotnostná spektrofotometria a iné.

Vybavenie ÚGBR SAV informačno – komunikačnými technológiami:

ÚGBR SAV v Nitre má vybudovanú lokálnu počítačovú sieť /LAN/ so 100% pokrytím pracoviska, ktorá je napojená optickým káblom na slovenskú akademickú kostrovú sieť SANET. Pracovisko má rýchle spojenie on-line na všetky svetové knižnice, vrátane Ústrednej knižnice SAV a tým aj bezproblémový prístup k celosvetovým informačným databázam. Ústav má k dispozícii vlastné školiace odborné a priestorové kapacity a vlastní 50 osobných počítačov. Spravuje vlastný WEB-ový server a celú LAN pre všetky pracoviská /5/ umiestnené v Areáli SAV v Nitre.

V zozname uvádzame najdôležitejšie komplementárne prístrojové vybavenie, ktoré tvorí technické zázemie pre naplnenie cieľov predkladaného projektu.



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

K prístrojovému vybaveniu patrí:

- vysokootáčková chladená centrifúga Universal 32R 2ks (Hettich)
- vysokootáčková nechladená centrifúga M24 (Boeco)
- vysokootáčková nechladená centrifúga MWP 310 (Mechanica Precyznaja)
- vodný kúpeľ EN 025 (Nuve)
- biologický termostat BT 120
- termocyklér Primus 25/96 (MWG AG BIOTECH)
- UV transiluminátor (UVP)
- DNA sekvenátor ABI PRISM
- fotodokumentačný systém QUANTUM ST4 (Vilber Lourmat)
- fototlačiareň OP895CE (Sony)
- vortex (IKA)
- laboratórne trepačky Unitwist 300 (UniEquip); OS-10 (BOECO) OS-20 (BOECO)
- hlbokomraziaci box (-80°C) (Heraus)
- chladničky, mrazničky -20°C
- vertikálne elektroforézy Seq331 (Sci Plast), Mighty Small II SE 250, Compact Mini V10-CDC (GeneQ)
- horizontálne elektroforézy - HU 10 (SciPlast), HE 33 (Hoefler), HE 99X (Hoefler)
- elektroforetické zdroje - PS 606T (Apellex); PS608 (Apellex), HN (Hoelm-Nielson)
- spektrofotometer Ultrospec 1000 Pharmacia
- autokláv STURDY SA-260 MA
- analytické váhy (Sartorius)
- predvažovačky Unitwist (UniEquip)
- výrobnik ľadu Lec a drvič ľadu (Santos)
- pH meter Consort (Scientific Instruments)
- laminárny box s HEPA filtrom UniFlow UVU700
- laminárny box Labcare clean air
- kalibrovaný densinometer GB-800 (Biorad)
- software PD Quest 8.0 na vyhodnocovanie gélov
- zariadenie na izoelektickú fokusáciu PROTEAN IEF Cell (Biorad)
- Speed Vac Concentrator (Bachofer)
- svetelný zdroj na gély (Vilber Lourmat)
- lupy Binocular SMZ – 2T (Nikon); EZ4D (Leica); Stemi Dv4 (Zeiss)
- svetelný mikroskop NU2 Carl Zeiss
- fluorescenčný mikroskop Axioplan 2 (Zeiss)
- invertovaný mikroskop EC3 (Leica); TMS (Nikon)
- sušičky G100/250 (KBC), HS62A
- mikrotómy (Anglia Scientific), CUT 4055 (MicroTec)
- zariadenie na demineralizovanú vodu AQUAL 29 (Merci)

V rámci projektu AgroBioTech sa očakáva zakúpenie nasledovných prístrojov a zariadení:

- autokláv horizontálny stredokapacitný
- autokláv horizontálny malokapacitný
- autokláv prenosný s príslušenstvom
- centrifúga stolná
- centrifúga chladená s vysokými otáčkami



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

- elektronické analytické digitálne váhy s internou kalibráciou
- elektroforetický zdroj
- elektroforetická aparátúra horizontálna malá
- elektroforetická aparátúra horizontálna veľká
- elektroforetická aparátúra vertikálna
- fotodokumentačný systém
- gradientový termocykler
- hlbokomraziaci box na -80 c
- inkubátor s chladením
- klimatizovaná rastová komora
- kombinovaný fluorimeter platničkový
- koncentrátor s rotorom- speedvac
- laser scanner
- laminarny box biohazard veľký
- laboratórna trepačka pre kultiváciu rastlín
- laboratórna sušička s príslušenstvom strednokapacitná
- laboratórna sušička s príslušenstvom malokapacitná
- mikroskop s príslušenstvom (fotodokumentačný systém, pc, software)
- minicentrifúga
- prístroj pre výrobu ultračistej vody
- trepačka inkubovaná s príslušenstvom s chladením
- umývačka skla s príslušenstvom
- separačná jednotka pre druhý rozmer 2-d elektroforézy pre 12 gélov

Využívané metodiky

Techniky molekulárnej biológie ako napr.:

- izolácie plazmidovej a rastlinnej DNA, izolácia RNA
- detekcia a izolácia génov
- detekcia sekvencií nukleových kyselín pomocou *in situ* hybridizácie
- analýzy expície génov pomocou štandardných a kvantitatívnych PCR, Southern, Northern a Western hybridizácie
- techniky rekombinantnej DNA
- reštrikčná analýza rekombinantov
- transformácia rastlín pomocou *Agrobacterium* spp.
- analýzy transgénnych rastlín
- analýzy fenotypov mutantných alel a ich genetické interakcie
- množenie úsekov DNA pomocou PCR.

Proteomické techniky ako napr.:

- extrakcia a purifikácia proteínov rôznymi metódami
- detekcia proteínov na PAGE géloch
- stanovenie enzymatickej aktivity fluorimetricky
- dvojrozmerná elektroforéza (2DE) na analýzu celkových proteínov, fosfoproteínov, glykoproteínov,...
- štiepenie proteínov v roztoku bez predchádzajúcej separácie na géli
- bioinformatické metódy spojené s analýzou proteínov (ImageMaster, PDQuest, ProteinLynx, ProteinScape,....)



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

-
- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) - polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov
 - konverzia DNA bisulfitom sodným (Bisulfite conversion)
 - metylačne nešpecifická PCR - amplifikácia s primérami špecifickými pre DNA konvertovanú bisulfitom sodným
 - COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis) - kombinovaná bisulfitová reštrikčná analýza
 - iPBS (inter-Primer Binding Site) technika
 - SSR (Simple Sequence Repeats) - jednoduché opakujúce sa poradia nukleotidov
 - priama sekvenácia PCR produktov (direct sequencing)
 - bisulfitové sekvenovanie DNA (Bisulfite sequencing)
 - asymetrická PCR (Assymetric PCR)
 - HRM (High Resolution Melting) analýza

Techniky pletivových kultúr ako napr.:

- mikropropagácia pomocou meristémových a púčikových kultúr, kultúr nodálnych segmentov
- adventívna regenerácia
- somatická a gametická embryogenéza
- in vitro kultúry parazitických rastlín
- testy klíčenia parazitických rastlín
- cytologické a histologické analýzy vývinu rastlín



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

2 Laboratórium molekulárneho šľachtenia rastlín Konceptia laboratória pre riešenie výskumných a vývojových úloh

Slovenský názov: Laboratórium molekulárneho šľachtenia rastlín (ďalej LMŠR)

Anglický názov: Laboratory of Plant Molecular Breeding

Zodpovedná osoba za laboratórium: Ing. Andrea Hricová, PhD.

Novo zriadené laboratórium: miestnosť č. C 1084

Laboratórium využíva nasledovné laboratóriá, resp. servisné (pomocné) priestory:

- Sterilná miestnosť č. 1, č. 2 a č. 5 (C 3042, C 3056 a C 2075)
- Váhovňa č.1 (C 3055)
- Biochemické laboratórium č. 1 a č. 3 (C 3051 a C 3049)
- Biochemické laboratórium (C 2082)
- Prístrojové laboratórium (C 3050)
- Bioinformatické laboratórium (C 3047)
- Laboratórium molekulárno-biologických a genetických analýz lesných drevín (C 1088)
- Sklady pre chemikálie a laboratórne pomôcky (C 1089, C 1103)
- Chladiaca miestnosť (C 3064)

1.1 Ciele

Cieľom je zriadenie nového laboratória, ktoré bude pre svoju činnosť využívať taktiež doteraz existujúce laboratóriá a servisné priestory ÚGBR SAV. Aktivity laboratória budú stavať na doteraz získaných výsledkoch a skúsenostiach. Koordinácia aktivít výskumných tímov bude značne posilnená a orientácia výskumu bude nasmerovaná na aplikáciu výsledkov výskumu v poľnohospodárskej, šľachtiteľskej a pestovateľskej praxi. V partnerstve so Slovenskou poľnohospodárskou univerzitou v Nitre a organizáciami z poľnohospodárskej praxe budú aktivity zamerané na cieľavedomú orientáciu výskumu pre riešenie problémov poľnohospodárskej praxe a na aplikáciu výsledkov výskumu v praxi. Cieľom bude okrem skvalitnenia a aktivizácie personálnej infraštruktúry (aktívna spolupráca pracovníkov ÚGBR SAV s pracovníkmi SPU, UKF a odborníkmi z praxe) aj dobudovanie technickej infraštruktúry laboratórií zakúpením nových prístrojov a zariadení. Uvedené laboratórium bude vyvíjať výskumnú činnosť v oblasti molekulárnej biológie a biotechnológií rastlín a tieto činnosti sa budú naďalej koordinovať a rozvíjať za pomoci nových zakúpených prístrojov a zariadení s dôrazom na výstupy aplikovateľné v praxi.

1.2 Súčasný stav

Vedecké aktivity kolektívov, na základe ktorých budú laboratória v budúcnosti rozvíjané sú v súčasnosti orientované na riešenie parciálnych úloh projektov národných agentúr (hlavne VEGA a APVV) a niektorých medzinárodných projektov a programov (RP, COST) s dôrazom na základný výskum, výstupy základného výskumu a výstupy do praxe (publikácie vo vedeckých časopisoch, spolupráca so súkromným sektorom, prenos know-how). Dielčie výskumné úlohy sú koordinované vedúcimi jednotlivých projektov.



Európska únia
Európsky fond regionálneho rozvoja



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

1.3 Projekty a vedecké úlohy

Vedecké projekty a úlohy, ktorých riešenie je plánované v danom laboratóriu budú pokrývať nasledovné oblasti:

Oblasť molekulárnej biológie a biotechnológií rastlín - za účelom vypracovanie postupov pre prenos génov do rastlinných genómov využitím systému *Agrobacterium tumefaciens*, s cieľom zlepšenia úžitkových vlastností hospodársky významných plodín. Výskum bude pokrývať aj problematiku odstránenia selekčných markerových génov rezistencie k antibiotikám z genómu transgénných rastlín s cieľom zabrániť nekontrolovaného úniku génov rezistencie do životného prostredia (potenciálny outcrossing).

Molekulárne šľachtenie rastlín bude rozvíjané ako metóda komplementárna ku konvenčnému šľachteniu, ako je napr. indukovaná mutagenéza, ktorá významne prispieva k zefektívneniu šľachtiteľského procesu a môže byť aplikovaná pre mnohé poľnohospodárske plodiny. Cieľom bude zavedenie nových genotypov do poľnohospodárskej produkcie, čo bude príspevkom pre trvalo udržateľné poľnohospodárstvo, udržanie biologickej diverzity a potravinovú bezpečnosť.

Oblasť systémovej biológie, genomiky a proteomiky – s cieľom charakterizovať nové genotypy získané aplikáciou biotechnologických postupov (biotech rastliny), ako aj genetické zdroje rastlín pomocou moderných genomických a proteomických prístupov. Identifikovať kľúčové komponenty dôležité pre potravinárstvo a výživu, sledovať reakciu rastlín na biotické a abiotické stresové faktory, ako aj adaptačné mechanizmy rastlín na nepriaznivé podmienky, čo v konečnom dôsledku umožní zefektívnenie šľachtiteľského úsilia a regulovanie podmienok kultivácie rastlín tak, aby sa dosiahla maximálna a kvalitná produkcia.

1.4 Prínosy

Oblasť molekulárneho šľachtenia a biotechnológií rastlín predstavuje strategickú oblasť ekonomiky tretieho tisícročia na Slovensku. Cielový prenos génov do rastlinných genómov spolu s mutačnými technikami významne prispeje k zefektívneniu šľachtiteľského procesu a prinesie zlepšenia úžitkových vlastností hospodársky významných plodín. Výsledkom bude vytvorenie nových cenných genotypov, ich efektívne množenie využitím in vitro kultúr a ich začlenenie do poľnohospodárskej produkcie, čo bude príspevkom pre trvalo udržateľné poľnohospodárstvo, udržanie biologickej diverzity a potravinovú bezpečnosť. Výsledky výskumu budú smerovať k dôkladnejšej implementácii legislatívnych požiadaviek, týkajúcich sa bezpečnosti GM rastlín, ako aj k oživeniu odbornej aj laickej diskusie o GMO.

Prínosom bude aj modernizácia a skvalitňovanie personálnej a technickej infraštruktúry výskumu a vývoja s cieľom zvýšenia schopnosti efektívne spolupracovať s inými výskumnými inštitúciami, ako aj so subjektmi spoločenskej a hospodárskej praxe prostredníctvom transferu poznatkov a technológií do praxe.

Aktivity ÚGBR SAV prispievajú k rozvoju rastlinných biotechnológií a tým nielen k zvýšeniu potravinovej bezpečnosti krajiny, ale aj k procesu tvorby znalostnej spoločnosti, k zvýšeniu vzdelanosti obyvateľstva a týmto spôsobom aj k akceptácii a pochopeniu moderných biotechnologických postupov, bez ktorých sa ekonomika tretieho tisícročia nezaobíde ani na Slovensku.

Vybudovanie laboratória napomôže efektívnej spolupráci výskumných kolektívov podobného zamerania v rámci výskumného centra AgroBioTech využitím zakúpeného špičkového prístrojového vybavenia a tým aj k zefektívneniu využitiu vynakladaných finančných prostriedkov. Prístroje/zariadenia, ktoré budú umiestnené na ÚGBR SAV budú dostupné aj ostatným spolupracujúcim partnerom (SPU, UKF), príp. iným pracoviskám v regióne, čo umožní rozvinúť väčšiu vedeckú spoluprácu v rámci Nitrianskeho kraja.



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

1.5 Udržateľnosť výsledkov

Vybudovaním laboratória sa skvalitní vedecký výskum, výrazným spôsobom sa podporí prenos poznatkov vedy do vzdelávacieho procesu a do praxe. Nové prístrojové vybavenie napomôže ku skvalitneniu vzdelávania II. a III. vysokoškolského stupňa, pričom takto pripravení odborníci využijú tieto nové poznatky v ďalšom výskume a takisto aj v poľnohospodárskej praxi. V rámci prenosu poznatkov do vzdelávania, prístrojové vybavenie umožní vychovávať študentov (v rámci diplomového aj doktorandského štúdia), ktorí budú nielen teoreticky, ale aj prakticky oboznámení s najnovšími trendami vedy a výskumu. Navyše sa týmto môže dosiahnuť vyšší záujem študentov o prácu vo výskume. Vytvorí sa podmienky pre udržanie perspektívnych vedeckých pracovníkov (najmä mladých vedeckých pracovníkov) na Slovensku. Očakávame, že existenciou moderných laboratórií sa zamedzí odlivu vedeckých pracovníkov do zahraničia.

Špičkové prístrojové vybavenie umožní realizáciu významných výskumných a vývojových projektov v oblastiach so strategickým významom pre ďalší rozvoj hospodárstva a spoločnosti (12 vecných priorít výskumu a vývoja v SR, potreby kľúčových priemyselných odvetví SR, zvyšovanie kvality života a potreby udržateľného rozvoja hospodárstva).

V neposlednej miere sa zvýšenie kvality výskumu prejaví v kvalitnejšej publikačnej činnosti, vytvorí sa lepšie podmienky pre získanie vedeckých výstupov s vysokým IF, teda konkurencieschopných a akceptovateľných v celosvetovom meradle. Zvýši sa schopnosť uchádzať sa o vedecké projekty nielen v rámci SR ale aj na medzinárodnej úrovni. Týmto sa dlhodobo zabezpečí získavanie finančných prostriedkov potrebných pre výskum a udržateľnosť laboratória.

1.6 Orientácia laboratória v rámci výskumných a vývojových projektov po jeho dobudovaní

Ako to vyplýva už z názvu laboratória – hlavným cieľom vedeckej činnosti bude klást dôraz na štúdium genetických zákonitostí rastu a vývinu rastlín a hľadanie nových biotechnologických postupov pri vylepšovaní poľnohospodárskej/rastlinnej produkcie. Výskum bude zameraný na oblasť molekulárnej biológie a biotechnológií rastlín, najmä na prípravu vektorových konštruktov s ich následnou aplikáciou v genetickej transformácii rastlín, na oblasť proteomiky najmä na vypracovanie metód kvantifikácie proteínov pomocou hmotnostnej spektrometrie, využiteľnej v oblasti detekcie a kvantifikácie alergénnych proteínov v poľnohospodárskych plodinách. Uskutočňovaný bude výskum rastlín so špecifickým životným cyklom (parazitické rastliny) s cieľom minimalizovať ich negatívny dopad na poľnohospodársku produkciu a výskum v oblasti mutačného šľachtenia laskavca, ktorý sa vyznačuje vysokou nutričnou hodnotou a pozitívnym dopadom na ľudské zdravie.

Tieto výskumné aktivity sa budú uskutočňovať použitím metód molekulárnej biológie, genetického inžinierstva, *in vitro* techník, ako aj rôznych nových -omics technológií, na štúdium vplyvu nepriaznivých faktorov prostredia na produkciu rastlín a ochranu životného prostredia, a zároveň na prenos teoretických poznatkov do poľnohospodárskej praxe. Tomuto spojeniu teórie a praxe slúži vytvorenie vedeckého parku AgroBioTech, v rámci ktorého je laboratórium budované. Pri napĺňaní týchto cieľov sa na pracovisku bude využívať široká škála vedeckých prístupov a metodických postupov, ktoré umožňujú identifikovať a charakterizovať kľúčové procesy, ktoré hrajú úlohu napr. v reprodukčnom procese rastlín, prenose genetických znakov, v obranných mechanizmoch rastlín voči škodlivým biotickým a abiotickým vplyvom, ktorých spoznanie nám umožní pozitívne ovplyvňovať a regulovať proces šľachtenia, či vylepšovania produkčných a obranných vlastností rastlín pomocou genetického inžinierstva.

Konečným cieľom týchto vedecko-výskumných aktivít bude napojenie sa na oblasti so strategickým významom pre ďalší rozvoj hospodárstva a spoločnosti, ako je napr. využitie rastlinných biotechnológií na produkciu nových či lepších rastlinných surovín, no najmä zlepšenia kvality a produkcie potravín v procese transformácie poľnohospodárstva z industriálneho na udržateľné v rámci negatívnych globálnych zmien životného prostredia. Tieto výskumné aktivity budú zároveň snahou



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

zosúladiť výskumnú činnosť pracoviska s prioritnými témami Európskeho výskumného priestoru, v ktorom má prioritu financovanie výskumu pre budúce obdobie (Horizont 2020) v oblasti biotechnológií a produkcie zdravotne bezpečných potravín.

Tieto ciele je možné naďalej dosahovať kontinuálnym zvyšovaním kvality pracoviska v súvislosti s trendmi svetovej vedy a zvyšovaním náročnosti experimentov vo svetovom meradle o.i. aj v technickom a materiálnom vybavení pracoviska.

1.7 Organizačné začlenenie

Ústav genetiky a biotechnológií rastlín Slovenskej akadémie vied

Oddelenie populačnej genetiky a šľachtienia

Oddelenie molekulárnej biológie a biotechnológií

Oddelenie reprodukčnej a vývinovej biológie

Personálne zabezpečenie

Zodpovedná osoba za laboratórium: Ing. Andrea Hricová, PhD.

Funkcia: samostatný vedecký pracovník, vedecký sekretár ÚGBR SAV

Telefón: 037 6943 328

e-mail: andrea.hricova@savba.sk

Riešiteľský kolektív: Ing. Martin Jopčík, PhD., RNDr. Radoslava Matúšová, PhD., Mgr. Martin Hajduch, PhD., Mgr. Ľubica Uvačková, PhD., Mgr. Katarína Klubíková, PhD., Ing. Jana Libantová, CSc., Mgr. Ildikó Matušíková, PhD., Ing. Jana Moravčíková, PhD. + súčasní interní doktorandi ústavu školení v danej oblasti.

Minimálne personálne požiadavky pre činnosť laboratórií:

- 3 vedecko-výskumní pracovníci (úplné vysokoškolské vzdelanie s III. stupňom v odbore Biológia, Molekulárna biológia, Fyziológia, Genetika)
 - skúsenosti s vedecko-výskumnou činnosťou, ovládanie metodík molekulárnej biológie, fyziológie rastlín,
 - publikačná aktivita a zapojenosť v národných a zahraničných projektoch,
 - schopnosť pracovať v kolektíve, zodpovednosť a precízny prístup k povinnostiam,
- 2 PhD. študenti.

1.8 Previazanosť laboratória v rámci Výskumného centra „AgroBioTech“

Laboratórium bude previazané využívaním a poskytovaním prístrojovej techniky pre analýzy s laboratóriami podobného zamerania na SPU a UKF v Nitre.

1.9 Návrh priorit z hľadiska Stratégie pre inteligentnú špecializáciu

Predpokladá sa, že z hľadiska Smart stratégie bude pre laboratórium prioritná oblasť Biomedicína a biotechnológie, Environment, pôdohospodárstvo a potravinová bezpečnosť so zameraním na progresívne technológie a postupy v oblasti pôdohospodárstva a potravín pre zabezpečenie dostatočnosti produkcie zdravých potravín. Výskumné aktivity budú orientované na získavanie nových poznatkov s cieľom riešiť výskumné problémy v prioritných oblastiach, ktoré v spolupráci s priemyslom a spoločnosťou definuje vláda SR.

1.10 Prístrojové vybavenie po dobudovaní Výskumného centra "AgroBioTech" a využívané metodiky



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

ÚGBR SAV disponuje *in vitro* laboratóriami, kultivačnými miestnosťami pre regeneráciu rastlín technikami pletivových kultúr a miestnosťou pre prenos rastlín z *in vitro* podmienok do *in vivo* podmienok. Laboratória ÚGBR SAV disponujú základným vybavením potrebným na štúdium reprodukčného procesu vyšších rastlín biochemickými technikami (stanovenie enzymatických aktivít, analýza izoenzymov), proteomickými technikami (2D proteínové gély, a ich analýza pomocou dostupného softwaru) a molekulárnymi technikami. Pracovisko má základné prístrojové vybavenie potrebné na izoláciu DNA a sekvenovanie DNA; prístroje a zariadenia využívané pri analýzach DNA nevyhnutné na štúdium genetickej variability metódami molekulárnej biológie využitím genetických markerov.

Súčasťou vybavenia je aj cytologické vybavenie nevyhnutné pre sledovanie anatomických a morfológických zmien v bunkách, ako sú mikroskopy, stereomikroskopy a mikrotom.

ÚGBR SAV je súčasťou biotechnologického centra SR BITCET, ktoré mu umožňuje využívať jeho služby týkajúce sa molekulárno-biochemických analýz ako napr. sekvenovanie, hmotnostná spektrofotometria a iné.

Vybavenie ÚGBR SAV informačno – komunikačnými technológiami:

ÚGBR SAV v Nitre má vybudovanú lokálnu počítačovú sieť /LAN/ so 100% pokrytím pracoviska, ktorá je napojená optickým káblom na slovenskú akademickú kostrovú sieť SANET. Pracovisko má rýchle spojenie on-line na všetky svetové knižnice, vrátane Ústrednej knižnice SAV a tým aj bezproblémový prístup k celosvetovým informačným databázam. Ústav má k dispozícii vlastné školiace odborné a priestorové kapacity a vlastní 50 osobných počítačov. Spravuje vlastný WEB-ový server a celú LAN pre všetky pracoviská /5/ umiestnené v Areáli SAV v Nitre.

V zozname uvádzame najdôležitejšie komplementárne prístrojové vybavenie, ktoré tvorí technické zázemie pre naplnenie cieľov predkladaného projektu.

K prístrojovému vybaveniu patrí:

- vysokootáčková chladená centrifúga Universal 32R 2ks (Hettich)
- vysokootáčková nechladená centrifúga M24 (Boeco)
- vysokootáčková nechladená centrifúga MWP 310 (Mechanica Precyznaja)
- vodný kúpeľ EN 025 (Nuve)
- biologický termostat BT 120
- termocyklér Primus 25/96 (MWG AG BIOTECH)
- UV transiluminátor (UVP)
- DNA sekvenátor ABI PRISM
- fotodokumentačný systém QUANTUM ST4 (Vilber Lourmat)
- fototlačiareň OP895CE (Sony)
- vortex (IKA)
- laboratorné trepačky Unitwist 300 (UniEquip); OS-10 (BOECO) OS-20 (BOECO)
- hlbokomraziaci box (-80°C) (Heraus)
- chladničky, mrazničky -20°C
- vertikálne elektroforézy Seq331 (Sci Plast), Mighty Small II SE 250, Compact Mini V10-CDC (GeneQ)
- horizontálne elektroforézy - HU 10 (SciPlast), HE 33 (Hoefler), HE 99X (Hoefler)
- elektroforetické zdroje - PS 606T (Apellex); PS608 (Apellex), HN (Hoelm-Nielson)
- spektrofotometer Ultrospec 1000 Pharmacia
- autokláv STURDY SA-260 MA
- analytické váhy (Sartorius)



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

- predvažovačky Unitwist (UniEquip)
- výrobnik ľadu Lec a drvič ľadu (Santos)
- pH meter Consort (Scientific Instruments)
- laminárny box s HEPA filtrom UniFlow UVU700
- laminárny box Labcare clean air
- kalibrovaný densinometer GB-800 (Biorad)
- software PD Quest 8.0 na vyhodnocovanie gélov
- zariadenie na izoelektickú fokusáciu PROTEAN IEF Cell (Biorad)
- Speed Vac Concentrator (Bachofer)
- svetelný zdroj na gély (Vilber Lourmat)
- lupy Binocular SMZ – 2T (Nikon); EZ4D (Leica); Stemi Dv4 (Zeiss)
- svetelný mikroskop NU2 Carl Zeiss
- fluorescenčný mikroskop Axioplan 2 (Zeiss)
- invertovaný mikroskop EC3 (Leica); TMS (Nikon)
- sušičky G100/250 (KBC), HS62A
- mikrotómy (Anglia Scientific), CUT 4055 (MicroTec)
- zariadenie na demineralizovanú vodu AQUAL 29 (Merci)

V rámci projektu AgroBioTech sa očakáva zakúpenie nasledovných prístrojov a zariadení:

- autokláv horizontálny stredokapacitný
- autokláv horizontálny malokapacitný
- autokláv prenosný s príslušenstvom
- centrifúga stolná
- centrifúga chladená s vysokými otáčkami
- elektronické analytické digitálne váhy s internou kalibráciou
- elektroforetický zdroj
- elektroforetická aparátúra horizontálna malá
- elektroforetická aparátúra horizontálna veľká
- elektroforetická aparátúra vertikálna
- fotodokumentačný systém
- gradientový termocykler
- hlbokomraziaci box na -80 c
- inkubátor s chladením
- klimatizovaná rastová komora
- kombinovaný fluorimeter platničkový
- koncentrátor s rotorom- speedvac
- laser scanner
- laminárny box biohazard veľký
- laboratórna trepačka pre kultiváciu rastlín
- laboratórna sušička s príslušenstvom strednokapacitná
- laboratórna sušička s príslušenstvom malokapacitná
- mikroskop s príslušenstvom (fotodokumentačný systém, pc, software)
- minicentrifúga
- prístroj pre výrobu ultračistej vody
- trepačka inkubovaná s príslušenstvom s chladením
- umývačka skla s príslušenstvom



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

- separačná jednotka pre druhý rozmer 2-d elektroforézy pre 12 gélov

Využívané metodiky

Techniky molekulárnej biológie ako napr.:

- izolácie plazmidovej a rastlinnej DNA, izolácia RNA
- detekcia a izolácia génov
- detekcia sekvencií nukleových kyselín pomocou *in situ* hybridizácie
- analýzy expresie génov pomocou štandardných a kvantitatívnych PCR, Southern, Northern a Western hybridizácie
- techniky rekombinantnej DNA
- reštrikčná analýza rekombinantov
- transformácia rastlín pomocou *Agrobacterium* spp.
- analýzy transgénných rastlín
- analýzy fenotypov mutantných alel a ich genetické interakcie
- množenie úsekov DNA pomocou PCR.

Proteomické techniky ako napr.:

- extrakcia a purifikácia proteínov rôznymi metódami
- detekcia proteínov na PAGE géloch
- stanovenie enzymatickej aktivity fluorimetricky
- dvojrozmerná elektroforéza (2-DE) na analýzu celkových proteínov, fosfoproteínov, glykoproteínov,
- štiepenie proteínov v roztoku bez predchádzajúcej separácie na géli
- bioinformatické metódy spojené s analýzou proteínov (ImageMaster, PDQuest, ProteinLynx, ProteinScape,...)
- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) - polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov
- konverzia DNA bisulfitom sodným (Bisulfite conversion)
- metylačne nešpecifická PCR - amplifikácia s primérmí špecifickými pre DNA konvertovanú bisulfitom sodným
- COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis) - kombinovaná bisulfitová reštrikčná analýza
- iPBS (inter-Primer Binding Site) technika
- SSR (Simple Sequence Repeats) - jednoduché opakujúce sa poradia nukleotidov
- priama sekvenácia PCR produktov (direct sequencing)
- bisulfitové sekvenovanie DNA (Bisulfite sequencing)
- asymetrická PCR (Assymetric PCR)
- HRM (High Resolution Melting) analýza

Techniky pletivových kultúr ako napr.:

- mikropropagácia pomocou meristémových a púčikových kultúr, kultúr nodálnych segmentov
- adventívna regenerácia
- somatická a gametická embryogenéza
- *in vitro* kultúry parazitických rastlín
- testy klíčenia parazitických rastlín
- cytologické a histologické analýzy vývinu rastlín