

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/51



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-2195
Naslov projekta	Preučevanje biosinteze eritromicina s proteomskimi orodji
Vodja projekta	18511 Polona Jamnik
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4173
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	2592 ACIES BIO, biotehnoške raziskave in razvoj, d.o.o.
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.06 Biotehnologija 4.06.04 Mikrobna biotehnologija
Družbeno-ekonomski cilj	06. Industrijska proizvodnja in tehnologija

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	2.09
- Veda	2 Tehniške in tehnološke vede
- Področje	2.09 Industrijska biotehnologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Poliketidi so obsežna skupina naravnih produktov, ki vključujejo številne pomembne antibiotike, med katere spada tudi eritromicin in njegovi polsintezni derivati. Biosinteza teh spojin se intenzivno preučuje že več kot 40 let, kljub temu pa so mehanizmi donosnosti biosinteze in regulacije številnih spojin ostali še do danes v veliki meri nepojasnjeni. Visoko donosni sevi, ki se uporabljajo v industrijskih bioprocesih, so

rezultat dolgoletne selekcije sevov, v katere so vnašali naključne mutacije s pomočjo mutageneze s kemijskimi in fizikalnimi postopki. Te metode so se izkazale za zelo uspešne, saj je pri nekaterih mikroorganizmih prišlo tudi do večstokratnega povečanja donosa ciljnega metabolita glede na izhodni sev. Žal pa s temi postopki ne dobimo vpogleda v mehanizme, ki omogočajo tako povečane donose metabolitov. Prav tako tudi ne moremo vedeti, katere od nastalih mutacij so morda nepotrebne ali pa celo škodljive in onemogočajo nadaljnji dvig donosa.

V projektu smo z uporabo inovativnega metodološkega pristopa primerjalne študije proteomskih profilov naravnega seva (divji tip) in visoko-donosnega industrijskega seva *Saccharopolyspora erythraea*, ki proizvaja eritromicin, identificirali nekaj ključnih proteinov/genov, povezanih s povečano produkcijo eritromicina. Najbolj obetavne izmed identificiranih genov smo v *S. erythraea* čezmerno izrazili oziroma inaktivirali s tehnologijo rekombinantne DNA. Za vsako od izvedenih genskih sprememb smo pridobili neodvisne kolonije, ki smo jih nato kultivirali v gojiščih, ki so čim bolj podobna industrijskim pogojem in analizirali donos eritromicina v pridobljenih gensko spremenjenih sevih. Uspeli smo potrditi vpliv doslej nepoznanega regulatornega gena, ki pozitivno vpliva na donos antibiotika. Najbolj obetavne gene smo čezmerno izrazili tudi v industrijskem sevu *S. erythraea*. Pri tem smo pridobili seve, ki imajo bistveno izboljšan profil nečistoč in s tem dober potencial za prihodnji razvoj industrijskih sevov. S temi poskusi smo potrdili primernost proteomskih metod za identifikacijo ključnih metabolnih razlik med industrijskimi in naravnimi sevi. To bo še povečalo pomen proteomike za razvoj industrijskih sevov.

Projekt je eden izmed prvih tovrstnih sistemskih pristopov, ki je v analize zajel tudi visoko donosni industrijski sev (v lasti soizvajalca tega projekta, podjetja Acies Bio) ter meritve izvajal v pol-industrijskih pogojih in produkcijskih gojiščih. Tovrstnih sistemskih pristopov k analizi metabolnih poti je za enkrat še izjemno malo na voljo v znanstveni literaturi in tako v projektu uporabljen pristop predstavlja pomemben prispevek k sistemski biologiji in celostnemu razumevanju ključnih dejavnikov v metabolizmu industrijskih visoko donosnih sevov. Tovrstne raziskave bodo neposredno uporabne pri izboljševanju sevov in tehnologij za proizvodnjo eritromicina in tudi drugih poliketidnih antibiotikov in sekundarnih metabolitov na splošno.

ANG

Polyketides are a large group of natural products including numerous important antibiotics such as erythromycin. The biosynthesis of these compounds has been intensively studied for over 40 years, however mechanisms determining the yield of biosynthesis and its regulation have so far remained poorly understood. High yield strains, used in industrial bioprocesses have undergone years of strain selection with many rounds of random mutagenesis, using chemical and physical mutagens. These methods proved to be very successful as yields of some of the target products increased several ten to several hundred times, compared to the original strain. Unfortunately, strains obtained in this way don't provide any insight into mechanisms underlying such increased metabolite yields. Moreover, we have no way of knowing, whether some accumulated mutations may be redundant or even detrimental for future yield increases. In the project a new innovative methodological approach was introduced for proteome comparison of a wild type and an industrial high-producing strain of erythromycin-producing *Saccharopolyspora erythraea*. We identified some of key proteins/genes related to increased erythromycin production and among them the most promising genes were overexpressed in *Saccharopolyspora erythraea* or inactivated using recombinant DNA technology. For each of the implemented genetic modification we gained independent colonies, which were then cultivated in media, which are most similar to industrial conditions and analyze the yield of erythromycin obtained in genetically modified strains. We were able to confirm the impact of previously unknown regulatory gene that has a positive effect on the yield of antibiotic. The most promising genes were over-expressed also in the industrial strain of *S. erythraea*. Thus we obtained strains that have significantly improved profile of impurities and thus good potential for the future development of industrial strains. With these experiments we confirmed the suitability of proteomic methods to identify key metabolic differences between industrial and wild strains. This will further increase the importance of proteomics to develop industrial

strains.

The project is, to our knowledge, one of the first systemic approaches to include analysis of a high-yield industrial strain (owned by the project research partner Acies Bio) and to carry out experiments under industrial conditions and production media. Reports about similar systemic approaches towards analysis of metabolic pathways are still very scarce in scientific literature which makes the project an important contribution to systems biology and general understanding of key factors in metabolic networks of industrial high-producing strains. Novel information, obtained by this research, will also be directly applicable to improvement of strains and development of technologies for erythromycin production as well as production of other polyketide antibiotics and secondary metabolites in general.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

V projektu »Preučevanje biosinteze eritromicina s proteomskimi orodji« smo vpeljali inovativen sistemski pristop, ki je vključeval uporabo proteomike, bioinformatike in metabolnega inženirstva, kar nam omogoča vpogled v kompleksne poti in interakcije primarnega in sekundarnega metabolizma ter regulatornih mehanizmov pri biosintezi industrijsko pomembnih sekundarnih metabolitov. Za primer preučevanja smo si izbrali fermentacijski proces za eritromicin, ki ga proizvaja bakterija *Saccharopolyspora erythraea*. Glavni namen tega projekta je bil, da bomo z uporabo primerjalne študije proteomskih profilov naravnega seva (divji tip) in visoko-donosnega industrijskega seva, skušali dobiti vpogled v ključne metabolne poti in regulatorne mehanizme odgovorne za biosintezo eritromicina ter identificirati ključne dejavnike, ki vplivajo na povečano biosintezo eritromicina.

V prvem letu izvajanja raziskovalnega projekta so potekala predvsem pripravljalna dela, ki so bila razdeljena v dva delovna sklopa (WP1-2). Skupina raziskovalcev Acies Bio se je v delovnem sklopu WP1 osredotočila na razvoj in optimizacijo različnih mikrobioloških in analitskih metod ter procesov za biosintezo eritromicina z naravnim sevom *Saccharopolyspora erythraea* NRRL2338 in industrijskim visoko donosnim sevom *S. erythraea*. Razvili smo vse potrebne mikrobiološke in analitske metode potrebne za manipulacijo sevov *S. erythraea* in vodenje ter testiranja kultivacijskih parametrov. Uspešno smo optimizirali trdno gojišče za pripravo spor, pogoje za vzdrževanje sevov, gojišče za pripravo inokuluma, produkcijsko tekoč gojišče in vodenje bioprocesa, ki zagotavlja ponovljivost donosa eritromicina na koncu bioprocesa v laboratorijskem (250 ml) in bioreaktorskem (5 L) merilu. Vsebnost eritromicina tekom bioprocesa smo merili pomočjo HPLC metode. Razvili pa smo tudi vse ostale metode za merjenje pH, biomase porabe glukoze itd., ki so potrebne za izvedbo projekta. V delovnem sklopu WP2 je potekala določitev kontrolnih točk biosinteze eritromicina in priprava vzorcev za proteomsko analizo. Tekom bioprocesa v laboratorijskem in bioreaktorskem merilu smo pri naravnem sevu kot tudi industrijskem visoko-donosnem sevu pridobili večje število vzorcev in jih analizirali. Na podlagi določenih vsebnosti eritromicina tekom bioprocesa in ostalih metabolnih parametrov (koncentracija glukoze, biomase, pH) smo naredili rastne in produkcijske krivulje obeh sevov. S pomočjo teh podatkov smo potem lahko določili kontrolne točke za jemanje vzorcev bioprocene brozge za nadaljnje proteomske analize. Vzorčenje je potekalo pri različnih fizioloških stanjih kulture, npr. kot so intenzivna rast brez produkcije eritromicina, začetek produkcije eritromicina, intenzivna produkcija eritromicina, konec rasti in konec biosinteze. Na ta način smo uspešno določili kontrolne točke biosinteze eritromicina v laboratorijskem in bioreaktorskem merilu pri naravnem sevu kot tudi industrijskem visoko donosnem sevu. Istočasno se je skupina raziskovalcev na Biotehniški fakulteti v delovnem sklopu WP2 osredotočila v optimizacijo proteomskih metod. Optimizirali smo postopek priprave celičnega ekstrakta za 2-D elektroforezo in definirali ostale pogoje procedure 2-D elektroforeze. Priprava celičnega ekstrakta, t.j. ekstrakcija proteinov predstavlja enega ključnih korakov v metodologiji 2-D elektroforeze. Odvzete vzorce bioprocene brozge smo najprej obdelali z lastnim pristopom za separacijo in nato pripravili celični ekstrakt z uporabo sonikacije. Preverili smo različne pufre za ekstrakcijo proteinov in različne načine razbijanja celic (zmrzovanje v tekočem dušiku in trenje v tarilnici, sonifikacija, itd.). Kot najbolj uspešna se je izkazala metoda

sonikacije, kar smo preverili z določanjem vsebnosti proteinov v celičnem ekstraktu po metodi Bradford. V pripravo vzorca smo vključili še obarjanje proteinov, za kar smo uporabili komplet - 2-D Clean-Up Kit. Tako smo odstranili prisotne kontaminante, kot so lipidi, nukleinske kisline, ionski detergenti, soli, ki lahko motijo separacijo in vizualizacijo 2-D gela.

V okviru delovnih sklopov WP3 in WP4 je skupina na BF izvedla proteomsko analizo vzorcev, odvzetih v kontrolnih točkah, ki so bile določene v okviru WP2, tako pri naravnem sevu kot tudi industrijskem visokodonosnem sevu. Proteinski profili pri posameznih kontrolnih točkah so bili med seboj primerjani z uporabo računalniškega programa 2-D Dymension. Tako smo pri obeh sevih določili diferencialno izražene proteine, ki so bili uspešno identificirani z uporabo masne spektrometrije (WP4). Glede na funkcijo jih lahko razdelimo v več skupin kot so npr. primarni metabolizem, biosintezo eritromicina, regulacijo biosinteze eritromicina.

V delovnih sklopih WP5 in WP6 je skupina raziskovalcev Acies Bio razvila potrebna genska orodja in optimizirala postopka transformacije tako naravnega seva *Saccharopolyspora erythraea* NRRL2338, kakor tudi industrijskega visokodonosnega seva. V okviru WP5 smo pripravili integrativne vektorje na osnovi različnih integraz bakteriofagov, med njimi pa se je kot optimalen izkazal vektor, ki vsebuje gen za integrazo iz faga Φ C31. Izbrani vektor se stabilno vgradi v kromosom *S. erythraea* v eni sami kopiji, zato smo ga uporabili za testiranje vpliva čezmernega izražanja različnih izbranih genov na donos eritromicina. Tekom projekta smo z reporterskim sistemom XylE testirali tudi aktivnost različnih promotorskih sekvenc. Testirali smo več naravnih promotorjev, vključno s PermE, njegovo aktivnejšo obliko PermE*, PermA, Picd in ActII-ORF4/PactI. Ugotovili smo, da najvišjo raven izražanja proteinov omogočata promotorja PermE in PermE*, ki ki smo ju nato tudi rutinsko uporabljali pri pristopih metabolnega inženirstva v *S. erythraea*.

V okviru WP6 smo prilagodili in optimizirali postopke transformacije *S. erythraea*. Testirali smo različna regeneracijska gojišča in optimizirali pogoje za več različnih pristopov transformacije, posebej transformacijo s pomočjo protoplastov in konjugacijo iz *E. coli* ET12567 (dam-, dcm-) in konjugativnim plazmidom pUZ8002. Uspešno smo optimizirali oba postopka, vendar smo v nadaljevanju projekta uporabljali postopek s konjugacijo.

V zadnjem letu trajanja projekta smo na podlagi proteomskih in bioinformacijskih analiz izbrali najbolj ključne gene oz. skupine genov, ki bi lahko bili vzrok za bistveno povečanje biosinteze eritromicina. Proteomska analiza je pokazala, da je za povečan donos eritromicina pomembno zlasti dolgotrajnejše izražanje ključnih biosinteznih genov iz genske skupine eritromicina in povečana raven izražanja genov, ki zagotavljajo oskrbo s ključnim gradnikom biosinteze, metilmalonil-CoA. Identificirali smo tudi nekaj ključnih regulatornih genov, povezanih s povečano produkcijo eritromicina. Najbolj obetavne izmed identificiranih genov smo v *S. erythraea* čezmerno izrazili oziroma inaktivirali s tehnologijo rekombinantne DNA (WP7). Za vnos genov smo uporabili vektorje in promotorje, ki so bili razviti v WP5, za boljše izražanje nekaterih genov pa smo še dodatno optimizirali mesto za vezavo na ribosom (RBS). Za vsako od izvedenih genskih sprememb smo pridobili približno 20 neodvisnih kolonij, ki smo jih nato kultivirali v gojiščih, ki so čim bolj podobna industrijskim pogojem in analizirali donos eritromicina v pridobljenih gensko spremenjenih sevih (WP8). Pri nekaterih genih smo uspešnost na nivoju profila izražanja proteinov potrdili tudi z metodo prenosa western, saj smo na C-terminalni konec dodali tudi kratko zaporedje aminokislin HA epitopa. Donos eritromicina se je pri mnogih gensko spremenjenih sevih znatno povečal, kar je vplivalo tudi na proteom. Ugotovili smo, da je eden od ključnih limitirajočih faktorjev prav samo-rezistenca na eritromicin. Zato smo namesto predvidene analize celotnega proteomskega profila v vsakem od pridobljenih sevov, določili spremembe proteoma v primeru, ko smo koncentracijo eritromicina še povečevali z dodatnim dodajanjem eritromicina v rastno gojišče. Ta eksperiment nam je dal bolj celovit pogled na spremembe proteinskega profila, do katerih pride v izboljšanih mutantih zaradi visokih koncentracij antibiotika. Eden od pomembnih dosežkov je tudi odkritje doslej nepoznanega regulatornega gena, ki pozitivno vpliva na donos antibiotika. Najbolj obetavne gene, med katerimi je bil en regulatorni gen in dva gena iz genske skupine eritromicina, smo čezmerno izrazili tudi v industrijskem sevu *S. erythraea*. Pri tem smo

pridobili seve, ki imajo bistveno izboljššan profil nečistoč in s tem dober potencial za prihodnji razvoj industrijskih sevov.

Na osnovi rezultatov tega ARRS projekta lahko ugotovimo primernost proteomskih metod za identifikacijo ključnih metabolnih razlik med industrijskimi in naravnimi sevi. Še več, ugotavljamo, da nam je pri študijah bioprocesa za produkcijo eritromicina proteom omogočil do sedaj nekoliko več informacij, kot transkriptomski pristop, ki ga tudi izvajamo v Acies Bio, kar bo v bodoče verjetno še povečalo pomen proteomike za razvoj industrijskih sevov.

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Uspešno smo realizirali vse zastavljene cilje.

V delovnem sklopu WP1 smo uspešno optimizirali vsa potrebna trdna in tekoča gojišča za vzdrževanje seva in produkcijo eritromicina, optimizirali pogoje gojenja naravnega in visoko donosnega produkcijskega seva ter dosegli ponovljive donose eritromicina na koncu procesa. Prav tako smo razvili enostavne in zanesljive metode za določanje eritromicina in drugih bioprocenjskih parametrov. V delovnem sklopu WP2 pa smo uspešno določili vse kontrolne točke biosinteze eritromicina, potrebne za pripravo vzorcev za proteomsko analizo naravnega in visokodonosnega seva in optimizirali vse potrebne postopke priprave vzorcev in ostalih korakov 2-D elektroforeze. V delovnem sklopu WP3 uspešno izvedli proteomsko analizo vzorcev, pridobljenih v kontrolnih točkah, ki so bile določene v okviru WP2 tako pri naravnem sevu kot tudi industrijskem visokodonosnem sevu. S primerjavo proteinskih profilov smo določili diferencialno izražene proteine in jih identificirali z uporabo masne spektrometrije (WP4). V delovnem sklopu WP5 in WP6 smo uspešno razvili genska orodja, potrebna za vnos izbranih genov v naravni sev in optimizirali postopek transformacije.

V sklopu WP7 smo s tehnologijo rekombinantne DNA izvedli manipulacijo določenih ciljnih genov, izbranih na osnovi proteomskih in bioinformacijskih analiz. V delovnem sklopu WP8 smo ugotovili pozitiven vpliv nekaterih genskih modifikacij na donos eritromicina in s tem potrdili primernost proteomskih metod za identifikacijo ključnih razlik med naravnimi in industrijskimi sevi. Na podlagi tega projekta se v Acies Bio nadaljuje razvoj novih industrijskih sevov *S. erythraea*.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Projekt je potekal v skladu z načrtom in ni bilo bistvenih sprememb programa raziskovalnega projekta.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	3608696	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Regulatorni elementi v genski skupinah tetraciklinskih antibiotikov
		<i>ANG</i>	Regulatory elements in tetracycline-encoding gene clusters
	Opis	<i>SLO</i>	Izražanje poliketidnih genskih skupin pogosto regulirajo različne družine regulatornih proteinov. V članku smo izvedli primerjalno bioinformatsko analizo regulatornih genov, ki se nahajajo v oksitetraciklinski genski skupini v <i>Streptomyces rimosus</i> in klortetraciklinski genski skupini v <i>S. aureofaciens</i> . Identificirali smo nov regulatorni gen <i>otcG</i> iz družine LAL (<i>luxR</i>), ki ni prisoten v genski skupini za klortetraciklin. Z eksperimenti prekinitve in povečanim izražanjem <i>otcG</i> gena smo pokazali, da ima pozitivno vlogo pri biosintezi oksitetraciklina.
			The expression of bacterial polyketide synthase gene clusters is often

		controlled by a number of different families of regulatory proteins. We have undertaken a comparative bioinformatic analysis of the regulatory genes present in the oxytetracycline and chlortetracycline gene clusters of <i>Streptomyces rimosus</i> and <i>S. aureofaciens</i> . We have identified a new LAL (luxR)-family regulatory gene, otcG, in the otc gene cluster, that is not present in the ctc gene cluster. By gene disruption and over-expression experiments we have demonstrated a positive role of otcG in OTC biosynthesis.
	Objavljeno v	Faculty of Food Technology and Biotechnology; Food technology and biotechnology; 2009; Vol. 47, no. 3; str. 323-330; Impact Factor: 0.976; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.209; WoS: DB, JY; Avtorji / Authors: Lešnik Urška, Gormand Amelie, Magdevska Vasilka, Fujs Štefan, Raspor Peter, Hunter Iain S., Petković Hrvoje
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	3811960 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Nov robusten in široko uporaben reporterski sistem na osnovi kalkonsintaze <i>ANG</i> Robust reporter system based on chalcone synthase rppA gene from <i>Saccharopolyspora erythraea</i>
	Opis	<i>SLO</i> V tem članku je bil razvit robusten in široko uporaben reporterski sistem, pripravljen na osnovi gena rppA iz bakterije <i>Saccharopolyspora erythraea</i> . Uporabnost tega reporterskega sistema je bila dokazana z izražanjem gena rppA pod kontrolo različnih heterolognih promotorjev, npr. actII-ORF4/PactI, ermE in njegove močnejše variante ermE*. Preučevan reporterski sistem je pokazal možnost uporabe v različnih laboratorijskih in kompleksnih industrijskih gojiščih, ne glede na kultivacijske pogoje in sestavo gojišča. <i>ANG</i> In this article a robust and versatile reporter system was developed based on the rppA gene from <i>Saccharopolyspora erythraea</i> . The applicability of the reporter system has been demonstrated by expressing the rppA gene under the control of the heterologous promoters actII-ORF4/PactI, ermE and its upregulated variant ermE*. Studied reporter system has shown its utility independently of cultivation conditions or composition of growth medium, from simple laboratory to complex industrial media.
	Objavljeno v	Elsevier; Journal of microbiological methods; 2010; Vol. 83; str. 111-119; Impact Factor: 2.018; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.177; WoS: CO, QU; Avtorji / Authors: Magdevska Vasilka, Gaber Rok, Goranovič Dušan, Kuščer Enej, Boakes Steve, Duran Alonso Maria Beatriz, Santamaría Ramon, Raspor Peter, Leadlay Peter Francis, Fujs Štefan, Petković Hrvoje
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	3927928 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> v stacionarni fazi kot modelni organizem - karakterizacija na celični in proteomski ravni <i>ANG</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> in the stationary phase as a model organism - characterization at cellular and proteome level
	Opis	<i>SLO</i> Kvasovka <i>S. cerevisiae</i> v stacionarni fazi rasti je bila okarakterizirana na celični in proteomski ravni. Na celični ravni smo določali optično gostoto, živost celic, vsebnost glikogena, znotrajcelično oksidacijo in celično energijsko metabolno aktivnost, medtem ko so bili na ravni proteoma analizirani proteinski profili z uporabo 2-D elektroforeze. Rezultati, pridobljeni na obeh ravneh, so omogočili boljši vpogled v kviescenco, ki je še vedno slabo pojasnena. Na njihovi osnovi smo določili optimalen čas v stacionarni fazi, ki odraža stabilno metabolno in oksidativno stanje kvasne

		kulture in je primeren za študij sprememb celičnega oksidativnega statusa in energijske metabolne aktivnosti v odzivu celic na različne okoljske stresorje. Omenjen metodološki pristop na ravni proteoma smo uporabili tudi v našem raziskovalnem projektu v okviru delovnega sklopa WP4 in WP8.
	ANG	Yeast <i>S. cerevisiae</i> in the stationary phase was characterized at the cellular and proteome level. At the cellular level, optical density, cell viability, glycogen content, intracellular oxidation and cell energy metabolic activity were measured, while at the proteome level, protein profiles were analyzed using two-dimensional electrophoresis. The data obtained at both levels provide better insight into quiescence program state, which still remains poorly understood. At their base, optimal time period reflecting a stable metabolic and oxidative state of the yeast was determined. Consequently, this period is the appropriate to study changes in cell oxidant status and energy metabolic activity in response to different environmental stressors. Methodological approach at proteome level mentioned in the article was used also in our reserach project in the frame of WP4 and WP8.
Objavljeno v		Elsevier; Journal of proteomics; 2011; Vol. 74; str. 2837-2845; Impact Factor: 4.878; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.138; A': 1; WoS: CO; Avtorji / Authors: Zakrajšek Teja, Raspor Peter, Jamnik Polona
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	3577976 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p>SLO Vabljen predavanje na znanstvenem srečanju: Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost: Protimikrobne snovi</p> <p>ANG Invited lecture on scientific meeting »Biotechnology and Microbiology for the future: Antimicrobial agents"</p>
	Opis	<p>SLO V predavanju "Biosintezni inženiring: novejši postopki pri razvoju protimikrobnih učinkovin" so bili predstavljeni novejši postopki biosinteznega inženiringa encimov, ki so vpleteni v biosintezo mikrobnih učinkovin poliketidnega izvora. Predstavljeni so bili novi pristopi za pripravo novih spojin poliketidnega izvora, ki predstavljajo širok spekter biološko aktivnih učinkovin, kot so protibakterijske, protiglivne, protirakaste in imunosupresivne aktivnosti.</p> <p>ANG In the lecture "Biosynthetic engineering: new approaches to developing antimicrobial substances" new approaches of biosynthetic engineering of the enzymes involved in polyketide biosynthesis were presented. Additionally new approaches for preparation of novel polyketide compounds, which possess a wealth of pharmacological effects, including antibacterial, antifungal, antiparasitic, anticancer and immunosuppressive activities, were presented.</p>
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje
	Objavljeno v	Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo; Protimikrobne snovi; 2009; Str. 47-57; Avtorji / Authors: Blažič Marko, Lešnik Urška, Kuščer Enej, Petković Hrvoje
	Tipologija	1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljen predavanje)
2.	COBISS ID	258027776 Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Biosintezni in metabolni inženiring v razvoju zdravil in industrijskih procesov	
	ANG	Biosynthetic and metabolic engineering in industrial drug and process development	
Opis	SLO	Na znanstvenem srečanju so bili predstavljeni različni prispevki slovenskih in tujih raziskovalnih skupin in podjetij, ki se ukvarjajo z raziskavami na področju biosinteznega in metabolnega inženiringa različnih industrijsko pomembnih učinkovin kot tudi z razvojem bioprocsov za njihovo proizvodnjo. Predstavljeni so bili prispevki, s področja proizvodnje različnih bioloških učinkovin, ki se uporabljajo v farmaciji, živilstvu in medicini, mehanizmi njihovega delovanja, regulacija njihove biosinteze in izboljšave različnih sevov z metodami metabolnega inženirstva, med njimi tudi eritromicina.	
	ANG	In the scope of this scientific symposium different contributions of Slovenian and international research groups and companies were presented, with the focus on biosynthetic and metabolic engineering of diverse industrially important compounds as well as bioprocesses for their production. Several important achievements in production of different biological compounds with high importance for pharmaceutical and food industry were described. In addition, mechanisms of action, regulation of biosynthesis and strain improvement using metabolic engineering were presented for different compounds including erythromycin.	
Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja		
Objavljeno v	Centre of Excellence for Integrated Approaches in Chemistry and Biology of Proteins; 2011; 19 str.; Avtorji / Authors: Tušar Livija, Kuščer Enej, Petković Hrvoje, Turk Dušan		
Tipologija	2.30 Zbornik strokovnih ali nerecenziranih znanstvenih prispevkov na konferenci		
3.	COBISS ID	4162936	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Nove poliketidne spojine in postopki za njihovo pripravo	
	ANG	Novel polyketide compounds and methods of making same	
Opis	SLO	V patentni prijavi so opisani postopki biosinteznega inženirstva za pripravo novih medicinsko pomembnih učinkovin spojin poliketidnega izvora na podlagi kemobiosinteznega/mutasinteznega pristopa, pri katerem v rastno gojišče aktinomicetnih kultur dodajamo analoge nenaravnih podaljševalnih enot. Te nenaravne enote se s pomočjo poliketid sintaz vgradijo v poliketidni skelet učinkovin, kot je npr. antibiotik eritromicin, in s tem vanjo vnese novo funkcionalno skupino ki je ni mogoče vnesti z običajnimi postopki kemijske polsinteze. Poleg tega so vnesene skupine kemijsko reaktivne, in zato omogočajo nadaljnjo derivatizacijo pridobljenih bioaktivnih spojin. Pomemben del patentne prijave obsega delo na pripravi novih analogov eritromicina, ki je temeljilo na učinkovitem bioprocusu, genskih orodjih in postopkih transfromacije, ki smo jih razvili v Aciesu za proizvodni organizem <i>Saccharopolyspora erythraea</i> ter na novih spoznanjih, ki smo jih o tem visokodonosnem sevu pridobili s proteomskim pristopom.	
	ANG	This patent application describes the methods of biosynthetic engineering directed to produce novel medicinally important compounds of polyketide origin based on the chemobiosynthetic/mutasynthetic approach, where analogues of unnatural extender units are added into cultivation media of actinomycete cultures. These unnatural units are incorporated by polyketide synthases into polyketide backbones of compounds, such as the antibiotic erythromycin, thereby incorporating novel functional groups, which cannot be introduced by usual procedures of chemical semi-synthesis. In addition, these functional groups are chemically amenable and allow for subsequent derivatization of the obtained bioactive compounds.	

		An important part of the patent application relates to production of novel erythromycin analogues and is based on the bioprocess, gene tools and transformation procedures, developed in Acies Bio for <i>Saccharopolyspora erythraea</i> as well as on new insights on this high-producing strain obtained by proteomic analyses.
Šifra	F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije
Objavljeno v	World Intellectual Property Organization; 2012; 74 f., [3] str. pril.; Avtorji / Authors: Kosec Gregor, Goranovič Dušan, Horvat Jaka, Fujs Štefan, Jenko Branko, Petković Hrvoje	
Tipologija	2.23	Patentna prijava

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Metodološki pristopi, ki so bili razviti v okviru projekta, se koristijo tudi v pedagoškem procesu v okviru laboratorijskih vaj pri predmetih Biotehnologija mikroorganizmov in Industrijska biotehnologija na 1. in 2. stopnji študija Biotehnologija ter pri predmetu Biomasa in sekundarni metaboliti na 2. stopnji študija Mikrobiologija.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Biosinteza naravnih poliketidnih spojin, med katere spadajo tudi številni antibiotiki, se intenzivno preučuje že več kot 40 let. Kljub temu so mehanizmi biosinteze številnih spojin ostali še do danes v veliki meri nepojasneni. Visoko donosni sevi, ki se uporabljajo v industrijskih bioprocseh, so rezultat dolgoletne selekcije sevov, v katere so vnašali naključne mutacije. Žal pa na ta način pridobljeni sevi ne omogočajo vpogleda v mehanizme, ki omogočajo tako povečano proizvodnjo metabolitov, zato teh zakonitosti za enkrat ne moremo uporabiti pri nadaljnjem racionalnem pristopu k izboljševanju sevov oziroma pri hitrem izboljševanju novih sevov. V projektu smo zato vpeljali inovativen metodološki pristop za primerjavo proteoma naravnega seva in visoko donosnega industrijskega producenta makrolaktonskega antibiotika. Tovrstnih sistemskih pristopov k analizi metabolnih poti je za enkrat še izjemno malo na voljo v znanstveni literaturi in tako sistemski proteomski pristop projekta predstavlja pomemben prispevek k sistemski biologiji in celostnemu razumevanju ključnih gonilnikov v metabolizmu tudi drugih industrijskih visoko donosnih sevov. V projektu smo potrdili, da s proteomskim pristopom lahko identificiramo ključne metabolne lastnosti industrijskih sevov, ki jih nato lahko uporabimo za nadaljnji razvoj industrijskih sevov.

ANG

Biosynthesis of natural polyketides, including numerous antibiotics has been studied intensively for more than 40 years. Despite of that mechanisms of of biosynthesis of several compounds remain poorly understood. High-producing strains used in industrial bioprocesses are result of laborious selections, which can last for number of years or even decades. Different random mutagenesis approaches have been applied, such as chemical and UV mutagenesis. Unfortunately these approaches do not provide insight into mechanisms that govern such raise in metabolites production, and offer no useful information for the rational targeted strain improvement approaches. In the project a new innovative methodological approach was introduced for proteome comparison of a wild type and a high-producing industrial strain. Such systemic approaches to analysis of metabolic pathways are still very limited in the scientific literature which make the research project on systemic proteomic approach a very important contribution to the systemic biology and holistic understanding of key drivers in metabolism of also other industrial high-producing strains. In the scope of this project we have established that the proteomic approach enables the identification of key features of industrial strains, which can be successfully used in further development of industrial strains.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Projekt je pomenil nadaljevanje že plodnega sodelovanja med Biotehniško fakulteto Univerze v Ljubljani in biotehnoškimi podjetjem Acies Bio in je hkrati odlično izhodišče za nove skupne aplikacije. Omogočil je prenos znanj in tako povezal slovenski znanstveni in podjetniški sektor. Na podlagi projekta je Acies Bio začel pri izboljšavah industrijskih sevov uporabljati tudi proteomske metode, kar dolgoročno lahko pomembno poveča konkurenčnost podjetja na mednarodnih trgih pogodbenih raziskav. Projekt je bil hkrati tudi dobra priložnost za izpopolnjevanje mladih kadrov, tako na Biotehniški fakulteti kot v podjetju Acies Bio, d.o.o. Na projektu sta sodelovala 2 študenta študija biotehnologije v okviru magistrskega in 2 doktorska študenta, ki bosta v prihodnjih letih zagovarjala svoji doktorski disertaciji.

ANG

The project was a continuation of already fruitful collaboration between the Biotechnical faculty of the University of Ljubljana and biotechnological company Acies Bio and at the same time a great start point for new shared applications. It enabled a transfer of knowledge and thus integrated the Slovenian academic and industrial sector. On the basis of the project Acies Bio began using proteomic methods in improving industrial strains, which can significantly increase long-term competitiveness of the company in international markets contract research. The project was also a great opportunity for educating and training of young researchers from the Biotechnical faculty as well as from Acies Bio. Two students of biotechnology were involved in the project work in the frame of their MSc thesis and two Ph.D. students will defend their Ph.D. thesis in the coming years.

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

		<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih	

procesov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

12.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

	Sofinancer	
1.	Naziv	
	Naslov	

Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.	
	2.	
	3.	
	4.	
	5.	
Komentar		
Ocena		

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

/

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

V letu 2012 je bila objavljena mednarodna patentna prijava WO 2012/089349 A2 »Nove poliketidne spojine in postopki za njihovo pripravo«, pri kateri so sodelovali raziskovalci Acies Bio. Prijava opisuje postopke biosinteznega inženirstva za pripravo novih medicinsko pomembnih učinkovin poliketidnih spojin na podlagi kemobiosinteznega pristopa, kjer v rastno gojišče aktinomocetnih kultur dodajamo analoge nenaravnih podaljševalnih enot. Te nenaravne enote se vgradijo v poliketidni skelet učinkovin in s tem vanj vnesejo novo funkcionalno skupino, ki je ni mogoče vnesti s postopki kemijske polsinteze. Vnesene skupine so kemijsko reaktivne in omogočajo nadaljnjo derivatizacijo spojin. Patentna prijava obsega tudi delo na pripravi novih analogov eritromicina, ki je temeljilo na učinkovitem bioprocesu, genskih orodjih in postopkih transformacije, ki smo jih razvili za proizvodni organizem *Saccharopolyspora erythraea* ter na novih spoznanjih, ki smo jih pridobili s proteomskim pristopom.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Polona Jamnik

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/51

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁷ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

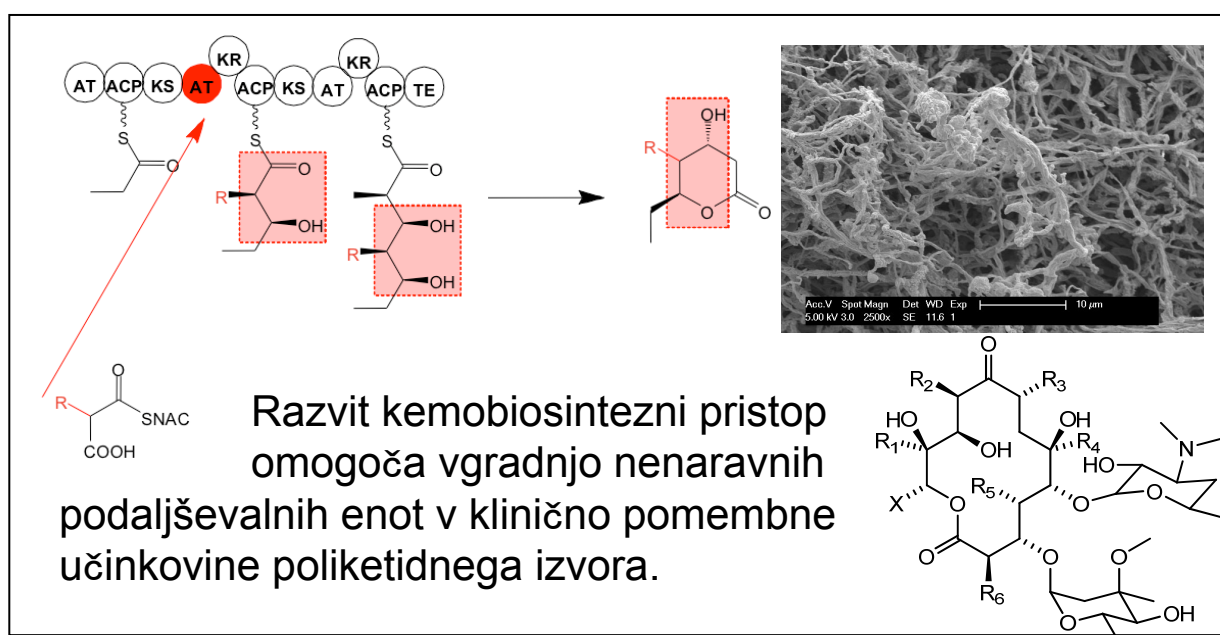
¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priložitev/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00
BC-D0-EA-50-2B-71-2B-31-D4-13-F4-3C-3C-24-4A-FF-27-D4-77-51

VEDA: Tehniške in tehnološke vede

Področje: 2.09 Industrijska biotehnologija

Dosežek 1: Mednarodna patentna prijava, Vir: COBISS ID 4162936



V letu 2012 je bila objavljena mednarodna patentna prijava *WO 2012/089349 A2* »Nove poliketidne spojine in postopki za njihovo pripravo«, pri kateri so sodelovali raziskovalci Acies Bio. V patentni prijavi so opisani postopki biosinteznega inženirstva za pripravo novih medicinsko pomembnih učinkovin spojin poliketidnega izvora na podlagi kemobiosinteznega/mutasinteznega pristopa, pri katerem v rastno gojišče aktinomicitnih kultur dodajamo analoge nenaravnih podaljševalnih enot. Te nenaravne enote se s pomočjo poliketid sintaz vgradijo v poliketidni skelet učinkovin, kot je npr. antibiotik eritromicin, in s tem vanj vnesejo novo funkcionalno skupino, ki je ni mogoče vnesti z običajnimi postopki kemijske polsinteze. Poleg tega so vnesene skupine kemijsko reaktivne in zato omogočajo nadaljnjo derivatizacijo pridobljenih bioaktivnih spojin. Pomemben del patentne prijave obsega delo na pripravi novih analogov eritromicina, ki je temeljilo na učinkovitem bioprosesu, genskih orodjih in postopkih transformacije, ki smo jih razvili v Aciesu za proizvodni organizem *Saccharopolyspora erythraea* ter na novih spoznanjih, ki smo jih o tem visokodonosnem sevu pridobili s proteomskim pristopom.