

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/82



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-2154
Naslov projekta	Moduliranje medceličnega komuniciranja mikroorganizmov zaradi dejavnikov okolja
Vodja projekta	4001 Peter Raspor
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	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.06 Biotehnologija 4.06.04 Mikrobna biotehnologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	1.06
- Veda	1 Naravoslovne vede
- Področje	1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Medcelično komuniciranje pri mikroorganizmih je ključnega pomena za razumevanje mehanizmov patogeneze, razvoj novih zdravil, optimizacijo biotehnoloških procesov (naravnih, industrijskih), trajnost in varnost živil. Najpogosteje je povezano z zaznavanjem celične

gostote in posledično s sprožanjem prilagoditvenih odzivov (npr. sinteza virulenčnih dejavnikov, zunajceličnih encimov, tvorba biofilma). Po Gramu negativne bakterije komunicirajo preko acil homoserin laktonov ali preko LuxS sistema, po Gramu pozitivne s kratkimi modificiranimi peptidi, kvasovke uporabljajo aromatske alkohole. Komunikacija in kompleksni odzivi sprožijo različne mehanizme regulacije fizioloških odzivov. Medcelično komuniciranje je ključen mehanizem za koordinacijo odzivov mikrobne populacije, kjer igra pomembno vlogo celična gostota. Ni še raziskano kako ostali okoljski dejavniki (T, slanost) vplivajo na medcelično komunikacijo in na od komunikacije odvisne procese, zato smo v temeljnem raziskovalnem projektu uporabili več modelnih sistemov za določitev vpliva okolja na uspešnost medceličnega komuniciranja. Cilji raziskave so bili razviti štiri modelne sisteme za spremljanje medcelične komunikacije: *Vibrio* sp. DSM 14379 – produkcija pigmenta, *Campylobacter jejuni* – izražanje virulenčnih dejavnikov – kot po Gramu negativna predstavnik; *Bacillus subtilis* – izražanje surfaktina, kompetence – kot po Gram pozitivni modelni sistem, *Saccharomyces cerevisiae* s spremljanjem invazivnosti – kot evkariontski model. Pri modelnih sistemih smo razvili metode kvantitativne detekcije signalne molekule in spremljali odziv v ustreznih gojiščih. V okviru raziskovalnega projekta smo razvili metode za spremljanje signalnih molekul (TLC, HPLC, reporterski sevi, masna spektrometrija) in odziva na komuniciranje (rekombinantni sevi, *gfp* in *lacZ* fuzije z znanimi tarčnimi geni, odziv proteoma, metabolni odziv).

ANG

Intercellular communication is important process for understanding mechanisms of pathogenicity, development of new drugs, optimisation of biotechnological processes (natural and industrial) and food safety. It is a process of sensing cell density and consequently activating different adaptive mechanisms (i.e. synthesis of virulence factors, extracellular enzymes, biofilm formation). Gram negative bacteria communicate via acyl-homoserine lactones or LuxS system, Gram positive bacteria use oligopeptides, while yeasts use aromatic alcohols as signal molecules. Microbial communication and complex responses trigger different regulatory mechanisms of microbial metabolism. Intercellular communication is a mechanism for coordination of microbial responses, where cell density plays an important role. It is not understood how other environmental factors (i.e. T, salinity) influence intercellular communication and related processes. To address this problem, four different model systems have been studied to determine the influence of the environment on intercellular communication. The aim of the study was to develop four model systems to monitor intercellular communication: *Vibrio* sp. DSM14379 – pigment production, *Campylobacter jejuni* – expression of virulence factors, as a Gram negative representative; *Bacillus subtilis* – expression of surfactin and competence, as a Gram positive model system; *Saccharomyces cerevisiae* – observation of invasiveness – as an eukaryotic model. For all those models the quantitative methods for signal detection and microbial responses in a proper media has been developed. During the project duration methods for detection of signal molecules (via TLC, HPLC, reporter strains, mass spectrometry) and for physiological responses to communication (recombinant strains, *gfp* in *lacZ* fusions with target genes, proteome response, metabolic response) have been developed.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

V okviru predloženega programa dela raziskovalnega projekta smo spremljali medcelično komunikacijo pri štirih modelnih organizmih.

Pri bakteriji *Bacillus subtilis* smo v okviru WP1 razvili metodo za določanje koncentracije signalne molekule ComX v izrabljenih gojiščih *B. subtilis* z biosenzorjem. Poleg tega smo za merjenje vpliva temperature na komunikacijo pri *B. subtilis* na genetskem nivoju vpeljali kvantitativni PCR (RT-PCR). Znotraj WP2 smo za ugotavljanje fiziološkega odgovora na

signalno molekulo poleg uporabe z beta galaktozidazo označenih testerskih sevov, razvili še rekombinantne seve *B. subtilis*, ki nosijo fluorescenčne poročevalske gene za izražanje surfaktina in postavili metodo za kvantitativno fluorescenčno mikroskopijo. Vzpostavljene ter razvite metode smo uporabili v WP3 za testiranje vpliva temperature na ComX v izrabljenih gojiščih *B. subtilis* ter merili izražanje surfaktina v odvisnosti od temperature. Čeprav so začetni rezultati kazali, da je količina ComX v izrabljenih gojiščih *B. subtilis* sorazmerna s temperaturo gojenja, so kontrolne meritve pokazale, da je večina zaznavnega vpliva posledica nekih druge nam neznanih molekul. Te so odvisne od temperature gojenja in skupaj s ComX v izrabljenih gojiščih modulirajo komunikacijski odgovor, vendar le, če so izrabljena gojišča predhodno zamrznjena. V nasprotnem primeru ni velikih razlik v koncentracijah ComX v izrabljenih gojiščih pridobljenih iz različnih temperatur gojenja *B. subtilis*. Postavljena metoda nam omogoča, da lahko v kompleksnih okoljih izmerimo koncentracije signalnih molekul ComX, ki znašajo pri *B. subtilis* $\approx 10\text{nM}$. Izražanje komunikacijskih genov (*comQ*, *comX*) je obratno sorazmerna s temperaturo in se razlikuje od zunajcelične količine ComX v izrabljenih gojiščih iz česar sklepamo, da obstajajo bodisi postraslacijski regulatorni mehanizmi ali še drugi načini modulacije zunajceličnega ComX. Sledili smo tudi glavnemu fiziološkemu odgovoru na ComX izražanju surfaktina. Ugotovili smo, da se kljub konstanti koncentraciji ComX, izražanje surfaktinskega operona močno spreminja s temperaturo. *B. subtilis* pri 50 °C ne sintetizira surfaktina, kar kaže na to, da je komunikacija pri teh pogojih motena. V nasprotju s temperaturo, slanost vpliva na količino ComX v izrabljenih gojiščih *B. subtilis*. Visoka slanost signifikantno zniža koncentracijo ComX, kljub približno enakim celičnim gostotam. Skladno s tem se tudi izražanja surfaktina v tekočih gojiščih zniža z višanjem slanosti, kar kaže, da slanost modulira komunikacijo. Razvite in postavljene metode bodo koristne v nadaljnjih raziskavah, saj kvantitativna fluorescenca skupaj s fluorescenčnimi sevi omogoča študij porazdelitve izražanja surfaktina, kar je še posebej zanimivo za biofilme. Kvantitativne meritve ComX nam bodo omogočile še druge meritve kot na primer študij interakcije ComX s surfaktinom ali merjenje hitrosti pojavljanja ComX v gojišču v odvisnosti od faze rasti *B. subtilis*, za kar obstajajo do sedaj le posredne ocene.

Pri bakteriji *Campylobacter jejuni* smo v okviru WP1 postavili eksperimentalni sistem za zaznavanje signalnih molekul avtoinduktorjev tipa 2 (AI-2) s poročevalskim sevom *Vibrio harveyi* BB170 (Vilchez in sod., 2007 in Taga, 2005) in ga preizkusili na referenčnem sevu (*C. jejuni* 11168) in različnih mutantah v ključnih genih za signaliziranje in tvorbo biofilma (npr. *C. jejuni* 11168 *luxS* in *cmeB*) (WP2). Znotraj WP3 smo med okoljskimi dejavniki testirali vpliv temperature (42 °C, 8 °C), medija (mesnega soka v primerjavi z laboratorijskim gojiščem) in dodatka rastlinskega izvlečka *Evodia rutaecarpa* in njegovih čistih spojin kinolona-A ter evodiamina v gojišče. Sinteza signalnih molekul je bila največja pri referenčnem sevu *C. jejuni* 11168 pri 42 °C v laboratorijskem gojišču in bistveno zmanjšana pri mutanti *C. jejuni* 11168 *luxS* v istih pogojih. Močno inhibicijo sinteze AI-2 molekul je pri referenčnem sevu *C. jejuni* 11168 povzročila tudi nizka temperatura gojenja ter gojenje bakterij v mesnem soku. Dodatek rastlinskega izvlečka *Evodia rutaecarpa* in njegovih čistih spojin kinolona-A ter evodiamina v gojišču je upočasnjal in delno inhibiral sintezo signalnih molekul. Med testiranimi učinkovinami je bil bolj aktiven kinolon-A kot pa evodiamin. Sinteza AI-2 molekul je bila visoka tudi pri mutantih *C. jejuni* 11168 *cmeB* v prisotnosti oz. odsotnosti dodatka rastlinskega izvlečka in njegovih čistih spojin kinolona-A ter evodiamina.

Pri bakteriji *Vibrio* sp. so bile raziskave v okviru WP1 usmerjene v optimizacijo metod za določanje dveh tipov signalnih molekul (acil homoserin lakton (AHL) in avtoinduktor-2 (AI-2)) ter fizioloških odgovorov (sinteze pigmenta). Signalne molekule smo ekstrahirali iz izrabljenega gojišča kulture *Vibrio* sp. s kislim etil acetatom. Tip AHL molekul smo določili s tankoplastno kromatografijo s poročevalskimi sevi (*Agrobacterium tumefaciens* NT1 (pDCI41E33), *Chromobacterium violaceum* CV026, *Escherichia coli* JM109 (pSB401)). Pokazali smo prisotnost enega tipa AHL molekule s poročevalskim sevom *Escherichia coli* JM109 (pSB401) s

tankoplastne kromatografije. Bakterija *Vibrio* sp. najverjetneje sintetizira 3-okso heksanoil homoserin lakton (OHHL). Razvili smo tudi metodo kvantifikacije AHL molekul v mikrotitrskih ploščah. Poleg tega smo s poročevalskim sevom *Vibrio harveyi* BB170 preverjali prisotnost AI-2. V okviru WP2 smo postavili metodo določanja koncentracije pigmenta kot fiziološkega odgovora reguliranega s sistemom zaznavanja celične gostote. Pigment smo iz celic ekstrahirali z acetonom in ga spektrofotometrično določili. Postavljene metode so nam služile za preverjanje vpliva slanosti in temperature na sintezo signalnih molekul in na pigmentacijo (WP3). Bakterijo *Vibrio* sp. smo gojili pri različnih slanostih (0,3, 3, 5 in 10 % (w/v) NaCl) ter različnih temperaturah (15, 20, 28, 37 in 43 °C). Ugotovili smo, da se tako produkcija pigmenta kot tudi količina proizvedenih signalnih molekul spreminjata s temperaturo in slanostjo. Bakterija *Vibrio* sp. zmanjša produkcijo signalnih molekul AHL in AI-2 in s tem posledično tudi produkcijo pigmenta v stresnih pogojih (visoka in nizka temperatura ter visoka in nizka slanost), medtem ko je v optimalnih pogojih produkcija signalnih molekul in pigmenta največja (3 % NaCl in 28 °C) in da sta le-ti močno zmanjšani v stresnih pogojih.

Pri kvasovki *S. cerevisiae* je v okviru WP1 potekala postavitve metode merjenja signalnih aromatskih alkoholov (feniletanol, triptofol in tirozol) na osnovi ločevanja z metodo HPLC in detekcije s fluorescenčnim detektorjem. V primerjavi z obstoječimi metodami so pomembni dosežki te metode: i) precejšnja poenostavitev izolacije signalnih molekul – ekstrakcija in koncentriranje vzorca nista potrebna; vzorec se le filtrira in nanese direktno na HPLC kolono, kjer se analit lahko detektira takoj po gojenju; ii) miniaturizacija procesa – gojenje kvasovk poteka v 2 ml centrifugirkah namesto v nekaj deset ml erlenmajericah, kar močno zmanjša porabo kemikalij in potrošnega materiala in omogoča testiranje veliko večjega števila poskusnih vzorcev; iii) zaradi skrajšanja postopka in ker ni potrebno koncentrirati vzorca, se je močno povečala tudi ponovljivost in robustnost metode. S testom invazivne rasti smo pokazali, da se pri povišani koncentraciji feniletanola, ne pa tudi triptofola ali tirozola poveča invazivna rast v medij. Le-ta je še bolj stimulirana pri kombinaciji feniletanol+triptofol. Postavljeno platformo smo testirali v WP3, kjer smo preverili vpliv okoljskih dejavnikov (slanost in temperatura) na medcelično komunikacijo. V poskus smo vključili 3 seve *S. cerevisiae* različnega izvora (klinični sev YJM311, vinski sev ZIM1927 in laboratorijski sev L6294). Preverjali smo vpliv slanosti (0,5, 1, 2, 5 % NaCl) in temperature (18, 24, 30, 34 °C) na produkcijo signalnih molekul med fermentacijo. Pokazali smo, da je povečana slanost pri vseh treh sevih negativno vplivala na produkcijo feniletanola in triptofola. Kljub temu, da je koncentracija viabilnih celic po 24 urah fermentacije pri 5 % slanosti nižja od tiste pri kontroli (0 %) za približno 20 %, je produkcija obeh signalnih molekul nižja za približno 30-60%. Sprememba temperature ni imela statistično značilnega vpliva na produkcijo signalnih molekul pri vseh treh sevih. Analiza proteinskega profila (SDS-PAGE) je pokazala, da se z zvišano koncentracijo NaCl povečuje delež proteinov na celični površini v primerjavi s kontrolo (0% NaCl).

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

Realizirani so bili vsi cilji raziskovalnega projekta. Razvili oziroma postavili smo metode za spremljanje medcelične komunikacije pri vseh modelnih organizmih. S postavljenimi metodami lahko določamo koncentracijo signalnih molekul kot tudi sledimo izbranim fiziološkim odgovorom. Postavljene metode smo uporabili za testiranje vpliva temperature in slanosti na medcelično komunikacijo.

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

Sprememb odobrenega in financiranega raziskovalnega programa v zadnjem letu raziskovalnega projekta ni bilo.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	3565432	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Socialne interakcije in porazdelitev ferotipov <i>Bacillus subtilis</i> na mikroskali
		<i>ANG</i>	Social interactions and distribution of <i>Bacillus subtilis</i> phenotypes at microscale
	Opis	<i>SLO</i>	To je prva študija, kjer smo preučevali komunikacijo pri <i>B. subtilis</i> na mikroskali in pokazali, da obstaja pestrost komunikacije pri sevih, ki so v okolju blizu skupaj. Sevi komunicirajo s sistemom ComQXPA, ki je visoko polimorfen na nivoju ozkosorodnih sevov, zato lahko ločimo 4 komunikacijske skupine znotraj vrste. Komunikacija je med sevi znotraj skupine uspešna, medtem ko med skupinami ne. V študiji smo primerjali komunikacijo izolatov iz nabrežnih tal reke Save in izolatov iz puščave. Ugotovili smo, da pestrost jezikov ni odvisna od tipa okolja in je prisotna tako na mikro kot makroskali.
		<i>ANG</i>	This is the first study about communication at the microscale in <i>B. subtilis</i> and showed that remarkable diversity of the comQXPA QS system is present also at the microscale. The comQXPA is highly polymorphic in closely related strains and comprises four communication groups such that strains belonging to the same group exchange information efficiently, but strains from different groups not. In this work, using <i>Bacillus</i> isolates from the bank of the river Sava, we showed that the same number of communication types exists at the microscale (1 cm ³) as was found among strains from macroscales.
	Objavljeno v	American Society for Microbiology; Journal of bacteriology; 2009; no. 6, Vol. 191; str. 1756-1764; Impact Factor: 3.940; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.333; A': 1; WoS: QU; Avtorji / Authors: Štefanič Polonca, Mandić-Mulec Ines	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	3709816	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Kvantitativno profiliranje proteinov celične stene invazivnih in neinvazivnih izolatov <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
		<i>ANG</i>	Quantitative cell wall protein profiling of invasive and non-invasive <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains
	Opis	<i>SLO</i>	Delo opisuje nov pristop izolacije in kvantitativne analize proteinov celične stene iz invazivno rastočih izolatov <i>S. cerevisiae</i> . Metoda je kompatibilna s testom invazije v agar in je presejalno orodje za hitro analizo proteinov povezanih z adhezijo in invazivnostjo kvasovk. Metodo smo optimizirali za hitro in direktno analizo večproteinskih vzorcev z SDS-PAGE brez predhodnega koncentriranja ali čiščenja ter ohranili visoko ločljivost proteinov. Z njo smo primerjali invazivne in neinvazivne izolate, invazivni in neinvazivni del kolonije in celice gojene pri optimalni in povišani temperaturi.
		<i>ANG</i>	We described new approach for the isolation and quantitative analysis of the cell wall proteins from invasively growing <i>S. cerevisiae</i> . This method is compatible with agar-invasion assays and is a screening tool for rapid analysis of proteins related to yeast adhesion and invasion. The extraction was optimized for fast, direct analysis of multiple protein samples by SDS-PAGE, avoiding preconcentration or purification. We compare protein profile of invasive and non-invasive strains, invasive and non-invasive part of the colony and cells cultivated at optimal and increased growth temperature.
		Elsevier; Journal of microbiological methods; 2009; Vol. 79; str. 260-265; Impact Factor: 2.427; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact	

	Objavljeno v	Factor: 2.983; WoS: CO, QU; Avtorji / Authors: Zupan Jure, Mavri Jan, Raspor Peter	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	3772024	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Produkcija pigmenta pri <i>Vibrio</i> sp. DSM 14379 – kompetitivna prednost v okolju
		ANG	<i>Vibrio</i> sp. DSM 14379 pigment production - a competitive advantage in the environment?
	Opis	SLO	V tem delu smo študirali produkcijo pigmenta pri <i>Vibrio</i> sp. pri različnih fizikalno kemijskih pogojih. Opazili smo, da produkcije pigmenta ni bilo pri visokih in nizkih temperaturah, visokih in nizkih koncentracijah soli v PKE gojišču, nizki koncentraciji glukoze v mineralnem gojišču ali visoki koncentraciji glukoze v PKE gojišču. To nakazuje, da je produkcija pigmenta luksuz, ki ga <i>Vibrio</i> sp. tvori samo pri ugodnih pogojih. Pokazali smo tudi, da je rdeči pigment protibakterijski agens za <i>Vibrio</i> sp.
		ANG	In this study, the pigment production of <i>Vibrio</i> sp. was studied under different physicochemical conditions. There was no pigment production at high or low temperatures, high or low salt concentrations in peptone yeast extract (PYE) medium, low glucose concentration in mineral growth medium or high glucose concentration in PYE medium. This indicates that the red pigment production is a luxurious good that <i>Vibrio</i> sp. makes only under favorable conditions. The red pigment is also a redundant antibacterial agent of <i>Vibrio</i> sp.
	Objavljeno v	Springer-Verlag.; Microbial ecology; 2010; Vol. 60, no. 3; str. 592-598; Impact Factor: 2.875; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.51; A': 1; WoS: GU, PI, QU; Avtorji / Authors: Starič Nejc, Danevčič Tjaša, Stopar David	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	3750520	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Invazivna rast kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> je odvisna od zunanjih dejavnikov: kvantitativni model.
		ANG	Invasive growth of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> depends on environmental triggers
	Opis	SLO	V tem delu smo kvantitativno preučili vpliv različnih fiziko-kemijskih dejavnikov na invazivno rast kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Za in vitro študije invazivnosti <i>S. cerevisiae</i> , fenomena, ki velja za domnevni virulentni faktor te klinično bolj in bolj zaskrbljujoče kvasovke, se navadno uporabljajo testi invazije v agar. A vendar so kvalitativni testi invazije v agar, ki so se uporabljali do sedaj, močno omejevali izvedljivost in interpretacijo analiz, zato so bili potrebni izboljšav. Poleg tega je povezava med invazivno rastjo in stresnimi pogoji, značilnimi za človeški prebavni trakt in živila, izredno slabo proučena in je zato to znanje potrebno razširiti. V ta namen smo kvantitativni test invazije v agar, ki je bil predstavljen v našem predhodnem delu, aplicirali za podrobno proučevanje stresnih dejavnikov, ki kontrolirajo adhezijo in invazijo kvasovke. Deset virulentnih in nevirulentnih sevov <i>S. cerevisiae</i> smo testirali pri različnih temperaturah, pH vrednostih, pri stradanju s hranili, spremenjeni atmosferi in pri različnih koncentracijah NaCl, CaCl ₂ in konzervansov. Z uporabo specifičnih parametrov, kot je npr. relativna invazija, smo predpostavili osem modelov invazivne rasti, ki so omogočili jasnejšo interpretacijo rezultatov. Močno preferenco do invazivne rasti (oz. visoko relativno invazijo) smo opazili, ko so sevi rasli na gojiščih revnih z dušikom in glukozo. Signifikantno povečanje invazije sevov smo zaznali tudi pri temperaturah, ki so tipične za vročino pri človeku (37-39 °C). Po drugi strani smo določili močan represivni efekt na invazijo v prisotnosti soli, anaerobioze in pri nekaterih

			konzervansih.
		ANG	In this contribution, the influence of various physicochemical factors on <i>Saccharomyces cerevisiae</i> invasive growth is examined quantitatively. Agar-invasion assays are generally applied for in vitro studies on <i>S. cerevisiae</i> invasiveness, the phenomenon observed as a putative virulence trait in this clinically more and more concerning yeast. However, qualitative agar-invasion assays, used until now, strongly limit the feasibility and interpretation of analyses and therefore needed to be improved. Besides, knowledge in this field concerning the physiology of invasive growth, influenced by stress conditions related to the human alimentary tract and food, is poor and should be expanded. For this purpose, a quantitative agar-invasion assay, presented in our previous work, was applied in this contribution to clarify the significance of the stress factors controlling the adhesion and invasion of the yeast in greater detail. Ten virulent and non-virulent <i>S. cerevisiae</i> strains were assayed at various temperatures, pH values, nutrient starvation, modified atmosphere, and different concentrations of NaCl, CaCl ₂ and preservatives. With the use of specific parameters, like a relative invasion, eight invasive growth models were hypothesized, which enabled intelligible interpretation of the results. A strong preference for invasive growth (meaning high relative invasion) was observed when the strains were grown on nitrogen- and glucose-depleted media. A significant increase in the invasion of the strains was also determined at temperatures typical for human fever (37–39 °C). On the other hand, a strong repressive effect on invasion was found in the presence of salts, anoxia and some preservatives.
	Objavljeno v		Wiley; Yeast; 2010; Issue 4, Vol. 27; str. 217-228; Impact Factor: 1.626; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.696; WoS: CQ, DB, QU, RQ; Avtorji / Authors: Zupan Jure, Raspor Peter
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	4215160	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Spremljanje komunikacijskih molekul med mini fermentacijskimi študijami vinskih kvasovk
		ANG	Monitoring of quorum-sensing molecules during mini-fermentation studies in wine yeast
	Opis	SLO	Pri visoki celični gostoti in ob pomanjkanju hranil kvasovke kolektivno prilagodijo metabolizem z izločanjem aromatskih alkoholov kar je znano kot »quorum sensing« (QS). Mehanizem in vloga takšne komunikacije sta slabo poznani in metodologija za proučevanje teh procesov slabo razvita. Članek opisuje učinkovit pristop za študij fenomena QS med fermentacijo kvasovk. Ločbo, detekcijo in kvantifikacijo domnevnih QS molekul 2-feniletanol, triptofol in tirozol smo optimizirali na enostavnem sistemu HPLC. Z uporabo fenilne HPLC kolone in fluorescenčnega detektorja smo bistveno povečali občutljivost sistema. To je omogočilo opustitev ekstrakcije in koncentriranja analitov ter zmanjšanje delovnega volumna na nivo 2-ml minifermentacij. Poleg tega smo predstavili inovativno metodo za hitro štetje živih kvasnih celic. Ta študija je osnova za nadaljnje poglobljene študije kinetike in regulacije QS med fermentacijo s kvasovkami.
		ANG	At high cell density or under low nutrient conditions, yeasts collectively adapt their metabolism by secreting aromatic alcohols in what is known as quorum sensing. However, the mechanisms and role of quorum sensing in yeasts are poorly understood, and the methodology behind this process is not well established. In this study, we described an effective approach to study quorum sensing in yeast fermentations. We have optimized the separation, detection and quantification of the putative quorum sensing molecules 2-phenylethanol, tryptophol and tyrosol on a simple HPLC-based system. With the use of a phenyl HPLC column and a fluorescence detector,

		the sensitivity of the system was significantly increased. This allowed us to eliminate extraction and concentration procedures, and to scale-down the process to 2-ml mini-fermentations. Additionally, we present an innovative method for rapid viable-cell counting. This study forms the basis for detailed studies in kinetics and regulation of quorum sensing in yeast fermentation.
Objavljeno v		American Chemical Society, Books and Journals Division; Journal of agricultural and food chemistry; 2013; str. [1-10, sprejeto v objavo]; Impact Factor: 2.823; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.782; A': 1; WoS: AH, DW, JY; Avtorji / Authors: Zupan Jure, Avbelj Martina, Butinar Bojan, Kosel Janez, Šergan Matej, Raspor Peter
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek					
1.	COBISS ID	3812984 Vir: COBISS.SI				
	Naslov	<table border="1"> <tr> <td><i>SLO</i></td> <td>Komunikacija med mikroorganizmi</td> </tr> <tr> <td><i>ANG</i></td> <td>Communication among microorganisms</td> </tr> </table>	<i>SLO</i>	Komunikacija med mikroorganizmi	<i>ANG</i>	Communication among microorganisms
<i>SLO</i>	Komunikacija med mikroorganizmi					
<i>ANG</i>	Communication among microorganisms					
	Opis	<table border="1"> <tr> <td><i>SLO</i></td> <td>Komunikacija je zaznavanje celične gostote in aktivacija različnih prilagoditvenih mehanizmov, ki vključujejo izmenjavo specifičnih signalnih molekul. Znano je, da igra gostota ključno vlogo pri komunikaciji, medtem ko je vpliv drugih faktorjev (npr. slanost, temperatura) manj poznan. Razpravljali smo o kvantitativnih metodah za zaznavanje signalov in mikrobnih odgovorov na okoljski stres pri štirih modelnih sistemih, ki vključujejo dve po Gramu negativni bakteriji <i>Vibrio sp.</i> in <i>C. jejuni</i>, po Gramu pozitivno bakterijo <i>B. subtilis</i> in kvasovko <i>S. cerevisiae</i>.</td> </tr> <tr> <td><i>ANG</i></td> <td>Communication is a process of sensing cell density and activating different adaptive mechanisms, which involves the exchange of specific signal molecules. It is known that cell density plays a key role in communication, while the influence of other factors (i.e. salinity, temperature) is less understood. We discussed quantitative methods for signal detection and microbial responses to environmental stresses in four model systems that include two Gram negative bacteria <i>Vibrio sp.</i> and <i>C. jejuni</i>, a Gram positive bacterium <i>B. subtilis</i> and a yeast <i>S. cerevisiae</i>.</td> </tr> </table>	<i>SLO</i>	Komunikacija je zaznavanje celične gostote in aktivacija različnih prilagoditvenih mehanizmov, ki vključujejo izmenjavo specifičnih signalnih molekul. Znano je, da igra gostota ključno vlogo pri komunikaciji, medtem ko je vpliv drugih faktorjev (npr. slanost, temperatura) manj poznan. Razpravljali smo o kvantitativnih metodah za zaznavanje signalov in mikrobnih odgovorov na okoljski stres pri štirih modelnih sistemih, ki vključujejo dve po Gramu negativni bakteriji <i>Vibrio sp.</i> in <i>C. jejuni</i> , po Gramu pozitivno bakterijo <i>B. subtilis</i> in kvasovko <i>S. cerevisiae</i> .	<i>ANG</i>	Communication is a process of sensing cell density and activating different adaptive mechanisms, which involves the exchange of specific signal molecules. It is known that cell density plays a key role in communication, while the influence of other factors (i.e. salinity, temperature) is less understood. We discussed quantitative methods for signal detection and microbial responses to environmental stresses in four model systems that include two Gram negative bacteria <i>Vibrio sp.</i> and <i>C. jejuni</i> , a Gram positive bacterium <i>B. subtilis</i> and a yeast <i>S. cerevisiae</i> .
<i>SLO</i>	Komunikacija je zaznavanje celične gostote in aktivacija različnih prilagoditvenih mehanizmov, ki vključujejo izmenjavo specifičnih signalnih molekul. Znano je, da igra gostota ključno vlogo pri komunikaciji, medtem ko je vpliv drugih faktorjev (npr. slanost, temperatura) manj poznan. Razpravljali smo o kvantitativnih metodah za zaznavanje signalov in mikrobnih odgovorov na okoljski stres pri štirih modelnih sistemih, ki vključujejo dve po Gramu negativni bakteriji <i>Vibrio sp.</i> in <i>C. jejuni</i> , po Gramu pozitivno bakterijo <i>B. subtilis</i> in kvasovko <i>S. cerevisiae</i> .					
<i>ANG</i>	Communication is a process of sensing cell density and activating different adaptive mechanisms, which involves the exchange of specific signal molecules. It is known that cell density plays a key role in communication, while the influence of other factors (i.e. salinity, temperature) is less understood. We discussed quantitative methods for signal detection and microbial responses to environmental stresses in four model systems that include two Gram negative bacteria <i>Vibrio sp.</i> and <i>C. jejuni</i> , a Gram positive bacterium <i>B. subtilis</i> and a yeast <i>S. cerevisiae</i> .					
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje				
	Objavljeno v	Croatian Microbiological Society; Power of microbes in industry and environment 2010; 2010; Str. 17, IL 2; Avtorji / Authors: Raspor Peter, Avbelj Martina, Čadež Neža, Danevčič Tjaša, Dogša Iztok, Jamnik Polona, Klančnik Anja, Kosel Janez, Mandić-Mulec Ines, Smole Možina Sonja, Stopar David, Zupan Jure				
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci				
2.	COBISS ID	3946872 Vir: COBISS.SI				
	Naslov	<table border="1"> <tr> <td><i>SLO</i></td> <td>Vpliv okoljskih dejavnikov na produkcijo zunajceličnih signalnih molekul pri naravnem izolatu <i>Vibrio sp.</i></td> </tr> <tr> <td><i>ANG</i></td> <td>Influence of environmental factors on production of extracellular signalling molecules in a natural isolate <i>Vibrio sp.</i></td> </tr> </table>	<i>SLO</i>	Vpliv okoljskih dejavnikov na produkcijo zunajceličnih signalnih molekul pri naravnem izolatu <i>Vibrio sp.</i>	<i>ANG</i>	Influence of environmental factors on production of extracellular signalling molecules in a natural isolate <i>Vibrio sp.</i>
<i>SLO</i>	Vpliv okoljskih dejavnikov na produkcijo zunajceličnih signalnih molekul pri naravnem izolatu <i>Vibrio sp.</i>					
<i>ANG</i>	Influence of environmental factors on production of extracellular signalling molecules in a natural isolate <i>Vibrio sp.</i>					
	Opis	V diplomskem delu smo pokazali, da temperatura vpliva na produkcijo signalnih molekul. Za detekcijo in karakterizacijo signalnih molekul smo le-te ekstrahirali s pomočjo kislega etil acetata iz izrabljenih gojišč kulture divjega tipa <i>Vibrio sp.</i> Tip AHL signalnih molekul smo določili z uporabo TLC in poročevalskega seva <i>E. coli</i> JM109 (pSB401). Za detekcijo AI-2 smo				

		<p>uporabili poročevalski sev <i>Vibrio harveyi</i> BB170. Ugotovili smo, da naravni izolat <i>Vibrio</i> sp. proizvaja le en tip AHL molekul, 3-oksoheksanoil-L-homoserin lakton (OHHL), in dokazali produkcijo AI-2 signalnih molekul. Temperatura vpliva na produkcijo tako AHL kot tudi AI-2 molekul pri divjem sevu <i>Vibrio</i> sp.</p>	
	ANG	<p>The effect of temperature on signal molecules production in <i>Vibrio</i> sp. was studied in diploma thesis. Signal molecules isolated from the spent media of the wild type strain <i>Vibrio</i> sp. were extracted with acidified ethyl acetate. AHL molecules present in spent media were determined with TLC and biosensor strain <i>E. coli</i> JM109 (pSB401). For detection of AI-2 molecules a biosensor strain <i>Vibrio harveyi</i> BB170 was used. The results indicate that <i>Vibrio</i> sp. produces one type of AHL molecules, 3-oxohexanoyl-L-homoserine lactone (OHHL). It also produces AI-2 signal molecule. Production of AHL and AI-2 molecules is temperature sensitive.</p>	
	Šifra	D.11 Drugo	
	Objavljeno v	[M. Krajnc]; 2011; XI, 39 f., [4] f. pril.; Avtorji / Authors: Krajnc Marko	
	Tipologija	2.11 Diplomsko delo	
3.	COBISS ID	3920248	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Hitro določanje QS molekul kvasovk med mini fermentacijskimi študijami.
		ANG	Rapid detection of yeast quorum sensing molecules during mini-fermentation studies
	Opis	SLO	<p>Metoda spremljanja QS molekul med fermentacijo, ki je bila postavljena v okviru projekta, je bila predstavljena z vabljenim predavanjem na mednarodnem srečanju strokovnjakov s področja proizvodnje arom kvasovk (2nd European Yeast Flavour Workshop Cost Action FA0907 BIOFLAVOUR). Doprinos metodologije je predvsem v miniaturizaciji, učinkovitosti in hitrosti detekcije aromatskih alkoholov kvasovke, pri čemer metoda ni izgubila občutljivosti in specifičnosti. Proces fermentacije tako lahko poteka v 2 ml bioreaktorjih, detekcija pa je opravljena s HPLC in s fenilno kolono nove generacije. Pri tem ni potrebna izolacija (npr. ekstrakcija) in posebno čiščenje vzorcev. Optimiziran postopek tako močno skrajša, poenostavi in nenazadnje izredno poceni postopek analize (za približno 100 - 1000 krat v primerjavi z obstoječimi metodami).</p>
		ANG	<p>The method for monitoring QS molecules during fermentation, which was developed in the project, was presented with an invited lecture at the international meeting of experts on yeast bioflavour production (2nd European Yeast Flavour Workshop, Cost Action FA0907 BIOFLAVOUR). The main contribution of the presented methodology is miniaturisation, efficacy and rapidness of the detection of yeast aromatic alcohols. Moreover, despite the miniaturisation, the method has still high sensitivity and specificity. The fermentation is processed in 2 ml bioreactors and detection is performed with HPLC and phenyl column of new generation. There is no need for special isolation of analites (e.g. extraction) or purification, therefore the optimized process exceedingly shorten, simplify and last but not the least reduce the cost of analysis (for approx. 100 – 1000 fold when compared with other methods in the field).</p>
	Šifra	B.04	Vabljeno predavanje
	Objavljeno v	COST [etc.]; Bioflavour; 2011; str. [1]; Avtorji / Authors: Zupan Jure, Avbelj Martina, Kosel Janez, Čadež Neža, Raspor Peter	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
4.	COBISS ID	4114296	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Vpliv temperature na izražanje gena comX bakterije <i>Bacillus subtilis</i>

		ANG	The influence of temperature on comX expression in Bacillus subtilis
Opis		SLO	Čprav je mehanizem zaznavanja celične gostote (kvoruma) pri Bacillus subtilis dobro poznan, vpliv fizikalno-kemijskih dejavnikov na zaznavanje kvoruma še ni v celoti pojasnjen. V diplomskem delu smo preiskovali vpliv temperature (24, 37 in 51 °C) na koncentracijo signalnega peptida ComX ter na transkripcijo njegovega gena comX in gena comQ, ki kodira izoprenil transferazo odgovorno za nastanek zrelega ComX ter na izražanje gena srfA. Rezultati HPLC analize so pokazali, da koncentracija ComX v gojišču narašča s temperaturo gojenja. V nasprotju s tem smo s kvantitativnim PCR ugotovili, da so bile relativne količine kopij mRNA genov comX, comQ in srfA najnižje pri najvišji temperaturi. In sicer je bilo comX in comQ mRNA štiri krat več pri 24 °C kot pri 51 °C. Izražanje vseh treh preučevanih genov v odvisnosti od temperature ni sovpadalo s hitrostjo rasti, s končno gostoto celic v preučevanih kulturah in s količino ComX v izrabljenem gojišču. Zato lahko zaključimo, da negativni vpliv T na izražanje srfA ni povezan s signalnim peptidom ComX, temveč pri tem verjetno igra ključno vlogo druga regulatorna pot.
		ANG	The mechanism of quorum sensing (QS) in Bacillus subtilis is well understood, however the influence of the physico-chemical factors on QS remains to be elucidated. We studied the influence of temperature (24, 37 and 51 °C) on concentration of the major signaling peptide of B. subtilis, ComX, and transcription of its gene comX and the comQ gene, which encodes isoprenyl transferase, ComQ, responsible for the processing and isoprenylation of mature ComX at the triptophane residue and srfA expression. HPLC results suggested that the concentration of ComX in the growth medium increases with temperature of cultivation. In contrast, based on quantitative PCR analyses of mRNA concentrations, transcription of comX, comQ and srfA was negatively regulated by temperature at 51 °C. The ratio of comX mRNA copies at 24 and 51 °C was 4 ± 2 , which is in contrast to concentrations of ComX in growth media. Therefore, expression of all three studied genes did not coincide with the growth rate and the final cell densities, which were higher at 51 than at 24 °C. Results suggest that ComX is not sufficient to overcome the high temperature induced inhibition of srfA expression.
	Šifra	D.11 Drugo	
	Objavljeno v	[M. Vrhar]; 2012; XIV, 64 f., [12] f. pril.; Avtorji / Authors: Vrhar Martina	
	Tipologija	2.11 Diplomsko delo	
5.	COBISS ID	4201080	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Komunikacijske molekule pri izbranih vinskih kvasovkah
		ANG	Communication molecules among selected wine yeasts
	Opis	SLO	Medsebojen vpliv med kvasovkami ter njihov učinek na aromatske snovi, ki določajo aromo vina, ni poznan. Prav tako so v povojih raziskave na področju komunikacije med kvasovkami. Kvasovka Saccharomyces cerevisiae proizvaja komunikacijski molekuli feniletanol in triptofol, vendar ju izloča v mikromolarnih koncentracijah, zaradi česar je nujna uporaba občutljive analitske metode z nizko mejo določljivosti. V nalogi smo razvili enostavno, hitro in za večino laboratorijev dostopno metodo za detekcijo feniletanola, triptofola in tirozola. Temelji na uporabi tekočinske kromatografije visoke ločljivosti v kombinaciji z visoko specifično fenilno kolono in fluorescenčnim detektorjem. Ker smo predpostavljali, da komunikacijske molekule proizvajajo le žive celice, smo uvedli avtomatsko računalniško štetje živih kvasnih celic s prostodostopnim programom ImageJ. S pomočjo podatka o živih celicah in o koncentraciji proizvedenih aromatskih alkoholov smo uvedli nov parameter – specifično hitrost proizvodnje aromatskih alkoholov. Primernost omenjenega parametra smo preverili tudi na nivoju transkripcije in pokazali, da obstaja sinhronizacija z

	<p>izražanjem ARO genov, odgovornih za sintezo aromatskih alkoholov. Ugotovili smo, da proizvodnja feniletanola, triptofola in tirozola korelira s celično gostoto in doseže največjo vrednost ob koncu eksponentne faze. Izmed okoljskih dejavnikov, ki so jim kvasovke izpostavljene tekom fermentacije smo preučevali vpliv etanola, dušika, žveplovega dioksida in vpliv prisotnosti kisika ter ugotovili, da dodatek etanola najbolj očitno vpliva na proizvodnjo feniletanola, triptofola in tirozola, saj se z večanjem deleža etanola zmanjšuje specifična hitrost proizvodnje aromatskih alkoholov. Dosedanje objave ne navajajo vpliva feniletanola in triptofola na dinamiko fermentacije in aromo vina. Po dodatku 1000 μM koncentracije feniletanola in triptofola na začetku eno- in večvrstne fermentacije s kvasovkama <i>S. cerevisiae</i> in <i>C. zemplinina</i> smo ugotovili, da dodatek aromatskih alkoholov ne vpliva na živost celic in v večji meri tudi ne na dinamiko fermentacije, ima pa pomemben vpliv na aromatski profil končnega produkta.</p>
ANG	<p>Mutual interactions between yeasts and their influence on production of aromatic compounds important for wine aroma are not well understood and the research on yeast communication is still in its infancy. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> secretes the communication molecules phenylethanol and tryptophol, which have been suggested to play in quorum sensing. They are present in the media in micromolar concentrations and therefore their detection and quantification requires analytical methods with high detection sensitivity. In our experimental work a simple, quick and broadly accessible method for the detection of phenylethanol, tryptophol and tyrosol was developed. The method is based on high pressure liquid chromatography in combination with a highly specific phenyl column and fluorescence detector. We assumed that communication molecules are secreted only by viable cells and by counting them by Image J, a computer based program we were able to obtain the data that were based only on live cells, which lead to implementation of a new parameter named production rate of communication molecules. Using this parameter we observed that production of aromatic alcohols is synchronized with transcription of ARO genes responsible for the synthesis of these communication molecules. Furthermore, the production of communication molecules was found to be dependent on cell density and their concentration was the highest at the end of the exponential phase. Next, the effect of ethanol, nitrogen, sulphur dioxide and oxygen on the production rate of communication molecules was investigated. Results indicated that the production rate of phenylethanol, tryptophol and tyrosol decreases with increasing ethanol concentrations. The addition of 1000 μM concentration of phenylethanol and tryptophol at the start of mixed and single culture fermentation with <i>S. cerevisiae</i> and <i>C. zemplinina</i> had no effect on cell viability or fermentation dynamics but significantly changed the fermentation aromatic profile. This is the first report addressing the effect of phenylethanol and tryptophol on the fermentation process and providing the first evidence on the role of communication molecules in formation of the wine aroma.</p>
Šifra	D.11 Drugo
Objavljeno v	[M. Avbelj]; [Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti]; 2013; XVII, 194 f., [9] f. pril.; Avtorji / Authors: Avbelj Martina
Tipologija	2.08 Doktorska disertacija

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Glede na omejitve v točkah 7 in 8 še ostali pomembnejši dosežki projektne skupine: Komunikacijo pri *B. subtilis* smo predstavili na mednarodnih konferencah s postri, v doktorski nalogi (Štefanič, Polimorfizem in specifičnost sistema za zaznavanje kvoruma bakterije *Bacillus*

subtilis v talnem mikrohabitat, COBISS 3697272) in v diplomski nalogi (Lukežič, Fenotipska karakterizacija sevov *Bacillus subtilis*, izoliranih iz talnega mikrookolja, COBISS 3666296). Komunikacijo pri *C. jejuni* smo predstavili v članku Šikič Pogačar in sod.: Survival of stress exposed *Campylobacter jejuni* in the murine macrophage J774 cell line. *Int.j.food microbiol.*, 2009, 129, 68-73, COBISS 3532920.

Del raziskave pri *Vibrio* sp. smo predstavili v diplomskem delu (Drčar, Določanje signalnih molekul in vpliv slanosti na njihovo produkcijo pri bakteriji *Vibrio* sp., COBISS 3763064) in v poglavju v knjigi (Danevčič in Stopar, Environmental quality determines physiological behaviour of bacteria. V: Drury in Pridgen (ur.). *Handbook of environmental quality*. New York: Nova Science Publishers, 2009, str. 349-364; COBISS 3624568).

Raziskave *S. cerevisiae* smo predstavili s postri in predavanji na mednarodnih konferencah, v doktorski nalogi (Zupan, Opredelitev invazivne rasti v populaciji kliničnih in nekliničnih sevov kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, COBISS 3756152), magistrski nalogi (Bezek, Vloga signalnih molekul pri alkoholni fermentaciji s čisto in združeno starter kulturo, COBISS 4146040) ter v diplomskem delu (Oketič, Vpliv okoljskih dejavnikov na invazivno rast sevov kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, COBISS 3656568).

Komunikacija je bila predstavljena tudi v intervjuju za dnevni časopis (Raspor, Mikroorganizmi se tudi pogovarjajo : prof. dr. Peter Raspor ob 50. obletnici Slovenskega mikrobiološkega društva. Delo (Ljubl.), 18. nov. 2010, leto 52, št. 268, str. 23, portret; COBISS 253928960).

10.Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1.Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Komunikacija med mikroorganizmi je v zadnjih letih hitro razvijajoče se področje v mikrobiologiji in igra ključno vlogo v medicini, veterini, biotehnologiji ter ekologiji. Rezultati projekta omogočajo razumevanje komunikacijskih odnosov med mikroorganizmi, ki so pomembni tako za znotrajvrstno kot tudi medvrstno komunikacijo. Razvoj novih metod za sledenje mikrobne komunikacije v dobro definiranih mikrobni populacijah omogoča komplementiranje znanj in spoznavanje mehanizmov komunikacije med prokariotskimi in evkariotskimi organizmi. Študij vpliva okoljskih dejavnikov na komuniciranje med mikroorganizmi ni veliko, kljub temu da je znano, da okoljski dejavniki določajo najpomembnejše parametre mikrobne viabilnosti. Zaradi tega so vsi pridobljeni rezultati znotraj tega projekta novi in zanimivi. Fizikalni in kemijski dejavniki okolja pomembno vplivajo na potek komunikacije ali jo celo onemogočajo, zato so rezultati, ki izhajajo iz tega projekta, bistvenega pomena za razumevanje komunikacijskih odnosov v čistih mikrobni kulturah kot tudi v kompleksnih mikrobni združbah v okolju. Te informacije tako pripomorejo k boljšemu razumevanju, obvladovanju in vodenju številnih mikrobni procesov v biotehnologiji. Prav tako je razumevanje vplivov okoljskih dejavnikov na komuniciranje in preživetje ključno pri obvladovanju patogenih mikroorganizmov kot so *Campylobacter jejuni*, kar je pomembno z vidika medicine in živilske industrije.

ANG

Microbial communication is rapidly expanding field in microbiology in last few years. It plays an important role in medicine, veterinary medicine, biotechnology and ecology. The project results enable understanding of the communication relations between microorganisms that are important for intraspecies and interspecies communication. The establishment of new methods for discovering communication mechanisms in well-defined microbial populations enables us discovering communication mechanisms among eukaryotic and prokaryotic organisms. In spite of the fact that environmental factors determine the main parameters of microbial viability, the influence of environmental factors on microbial communication is in general not well established. All our results obtained in this project are thus new and interesting. Environmental physico-chemical parameters positively or negatively regulate communication. The results of the project are crucial for understanding the communication relations in the pure microbial cultures as well as in complex microbial communities in the environment. This information contributes to a better understanding and control of many microbial processes in biotechnology. The knowledge about the influence of environmental parameters on communication and microbial survival has further importance in the pathogen control as for example by *Campylobacter jejuni*, which is important in terms of medicine and food industry.

10.2.Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Različni modelni mikroorganizmi in s tem različni metodološki pristopi študija komunikacije omogočajo izmenjavo znanj med raziskovalci znotraj projektne skupine in drugačen pogled na delovanje in obnašanje mikrobne populacije. Prav tako rezultati projekta širijo naše razumevanje mikrobnega komuniciranja in promovirajo našo projektno skupino na atraktivnem raziskovalnem področju medceličnega komuniciranja s predstavitvijo rezultatov širši strokovni javnosti na mednarodnih srečanjih. Del pridobljenega znanja se uporablja tudi pri vzgoji novih kadrov (doktorandov in diplomantov) v okviru programa raziskovalnega projekta.

ANG

Different model microorganisms and different methodologies for studying microbial communication facilitate the exchange of knowledge between researchers within the project group and give us a different perspective on the mechanism and behaviour of the microbial population. The project results also broaden our knowledge about microbial communication and promote our project group in the attractive research field of intercellular communication by presenting the results at international meetings. An important benefit is also the knowledge transfer to new young and perspective researchers (undergraduate and PhD students).

**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"/>
	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/varovanju 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="text"/>	<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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

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

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

Peter Raspor

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/82

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 priponko/-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

BF-EA-DA-EC-C5-C3-4A-59-75-BE-42-BC-02-0F-AC-77-A5-B1-C7-B1