

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/101

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z4-1054
Naslov projekta	Sistem za heterologno produkcijo poliketidnih antibiotikov na osnovi visoko donosnih industrijskih streptomicetnih sevov
Vodja projekta	21392 Štefan Fujs
Tip projekta	Zt Podoktorski projekt - temeljni
Obseg raziskovalnih ur	3.400
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	02.2008 - 01.2010
Nosilna raziskovalna organizacija	2592 ACIES BIO, biotehnoške raziskave in razvoj, d.o.o.
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Družbeno-ekonomski cilj	13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)

2. Sofinancerji¹

1.	Naziv	
	Naslov	
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta²

Razvoj in optimizacija heterolognega ekspresijskega sistema za izražanje metabolitov heterolognega izvora, pri kateri smo kot gostitelje uporabili industrijske visokodonosne seve, kot so *Streptomyces rimosus* (producent oksitetraciklina), *Streptomyces albus* (producent salinomicina) in *Streptomyces cinnamomensis* (producent monenzina) je bil cilj raziskovalnega projekta »Sistem za heterologno produkcijo poliketidnih antibiotikov na osnovi visoko-donosnih industrijskih streptomicetnih sevov«. Seva *Saccharopolyspora*

erythraea (producent eritromicina) in *Streptomyces coelicolor* smo uporabili kot modlena seva za optimizacijo analitskih procesov ter za primerjavo donosov med sevi »divjega tipa« in visoko-donosnimi sevi. Tekom izvedbe tega raziskovalnega projekta smo uspešno razvili vsa potrebna orodja in ovrednotili primernost visoko-donosnih industrijskih sevov, ki bodo osnova za platformo za heterologno ekspresijo.

Izvedba programa raziskovalnega projekta je potekala po predvidenih delovnih nalogah (WP), kot so bili zastavljeni na začetku projekta. V sklopu WP1 je delo zajemalo predvsem pripravo na projekt ter izvedbo vseh potrebnih praktičnih del, ki so bila potrebna za zagon projekta. V sklopu WP2 je bila predvidena optimizacija in razvoj mikrobioloških postopkov in kultivacijskih pogojev. Optimizirali smo vsa potrebna gojišča za vzdrževanje, gojenje, transformacijo in produkcijo različnih industrijskih visokodonosnih sevov npr. *S. rimosus*, *S. cinamonnensis* in *S. albus*. Optimizirali smo gojišča potrebna za produkcijo oksitetraciklina, monenzina in salinomicina v laboratorijskem merilu in dosegli ciljne donose posameznega antibiotika. V sklopu WP3 smo razvili analitske metode za kvantifikacijo posameznih antibiotikov. Za določanje salinomicina in monenzina smo uporabili spektrofotometrično metodo, za določanje oksitetraciklina HPLC pa metodo. Prav tako smo optimizirali metode za vrednotene izražanja ciljnih genov s pomočjo poročevalskih sistemov in razvili oziroma uvedli poročevalske sisteme na osnovi kalkon-sintaze in katehol-dioksidogeneze, za katere smo uporabili spektrofotometrične metode. Za določanje produkcije modelnega poliketida triketidnega laktona (TKL) smo razvili LC-MS metodo. V WP4 smo razvili in optimizirali metodo transformacije sevov z uporabo konjugacijskega postopka iz *E. coli* v *S. albus*, *S. cinamonnensis* in *S. coelicolor*. Transformacijo sevov *S. rimosus* pa smo izvajali s postopkom elektroporacije. Preverjali smo tudi različne selekcijske markerje, za najbolj uporabne pa so se izkazali gen za odpornost na apramicin pri *S. albus*, *S. coelicolor* in *S. cinamonnensis* ter odpornost na tiostrepton pri *S. rimosus*. V sklopu delovnega paketa WP5 smo pripravili predvidene vektorje s poročevalskim sistemom kalkon-sintazo na osnovi integrativnega vektorja pSet152 ter različnimi promotorji kot so PActI, P_{ermE} in P_{ermE}*. Pripravljene vektorje smo uspešno transformirali v ciljne seve. Pridobili smo večje število transformant, ki smo jih nato testirali. V sklopu WP6 in WP7 smo preverili učinkovitost izražanja poročevalskega sistema na osnovi gena za kalkon-sintazo v različnih sevih. Testirali smo tudi učinkovitost različnih promotorjev v različnih gojiščih. Uporabili smo standardno laboratorijsko gojišče TSB (popolnoma topno gojišče) in industrijsko gojišče, ki vsebuje veliko netopnih hranil. Ugotovili smo, da je moč izražanja reporterskega sistema kalkon-sintaze odvisna tako od kombinacije seva in promotorja kot tudi od sestave samega gojišča. Razlike v moči izražanja poročevalskega gena so bile tudi do večkratne, ne glede na izbran sev, pa se je v vseh poskusih kot najmočnejši promotor izkazal P_{ermE}*. Omenjene rezultate predstavljamo tudi v publikaciji, ki je trenutno v postopku objavljanja. Na podlagi pridobljenih rezultatov smo se odločili, da bomo v nadaljnjih eksperimentih za izražanje genov uporabljali močni promotor P_{ermE}*. Pri eksperimentih za preverjanje učinkovitosti reporterskega sistema katehol-oksigenaze pod kontrolo promotorja P_{ermE}* v vseh treh sevih smo ugotovili, da je bilo izražanje najbolj učinkovito v sevu *S. cinamonnensis*, ki je imel 3-krat boljše izražanje katehol-oksigenaze v TSB gojišču v primerjavi s kontrolnim sevom *S. coelicolor*. Podobno je sev *S. rimosus* omogočal 2,5-krat in sev *S. albus* 1,8-krat boljše izražanje katehol-oksigenaze. V sklopu WP8 smo pripravili vektorje za heterologno izražanje DEBS1-TE modelnega sistema, ki kodira biosintezo triketid laktona, in sicer na osnovi vektorja pSet152 ter pod kontrolo P_{ermE}* promotorja. DEBS1-TE je »hibridni gen«, ki kodira prve tri module in tioesterazno domeno poliketid sintaze za biosintezo makrolidnega antibiotika eritromicina, zato predstavlja odličen model za ocenjevanje uporabnosti preučevanih sevov za proizvodnjo komercialno zanimivih spojin. V sklopu WP 9 smo vektor z DEBS1-TE uspešno transformirali v seva *S. albus* in *S. cinamonnensis*, za kontrolni sev pa smo izbrali sev *Saccharopolyspora erythraea*, ki je

naravni proizvajalec eritromicina. V nadaljevanju projekta smo ovrednotili izražanje heterolognega DEBSI-TE modelnega sistema v različnih sevih in ugotovili, da je bilo izražanje v industrijskih sevu *Streptomyces cinamonnensis* bistveno povečan donos triketidnega laktona v primerjavi s kontrolnim sevom *S. erythraea*. V zadnjem delovnem sklopu WP 10 smo optimizirali različna gojišča za ekspresijo triketidnega laktona v laboratorijskem merilu. Z optimizacijo smo uspeli še dodatno dvigniti donos TKL (50% dvig donosa) in tako pridobiti gojišče, ki omogoča pripravo večjih količin modelnih spojin.

V podoktorskem projektu »Sistem za heterologno produkcijo poliketidnih antibiotikov na osnovi visoko donosnih industrijskih streptomicetnih sevov« smo uspešno razvili vso potrebno metodologijo, postavili platformo za heterologno ekspresijo v izbranih visoko donosnih sevih in preverili učinkovitost izražanja enostavnih modelnih spojin. Razvita platforma predstavlja ključno izhodišče za nadaljnji razvoj novih tehnologij za heterologno produkcijo različnih poliketidnih spojin. V prihodnosti lahko pričakujemo, da bomo v povezavi s sodobnimi tehnologijami rekombinantne DNA, ki bodo omogočale prenos celotnih genskih skupin za biosintezo kompleksnih biološko aktivnih učinkovin v visokodonosne industrijske seve, dobili izredno uporabno in industrijsko uporabno tehnologijo za proizvodnjo novih medicinsko pomembnih naravnih produktov.

4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Namen raziskovalnega podoktorskega projekta »Sistem za heterologno produkcijo poliketidnih antibiotikov na osnovi visoko-donosnih industrijskih streptomicetnih sevov« je bil postavitve osnove za platformo, ki bo uporabna za heterologno ekspresijo poliketidnih molekul na osnovi industrijskih visokodonosnih sevov. Tekom izvedbe projekta smo uspešno realizirali vse zastavljene cilje. Razvili smo vsa potrebna gojišča in genska orodja ter optimizirali postopke transformacije visokodonosnih sevov. Prav tako smo optimizirali vse analitske metode potrebne za ovrednotenje različnih modelnih spojin. Uspešno smo preverili učinkovitost platforme pri izbranih visoko-donosnih industrijskih sevih in dokazali, da je učinkovitost izražanje različnih reporterskih spojin pri visoko donosnih sevih nekajkrat večja kot pri sevih »divjega tipa«. Tako smo demonstrirali, da razvita platforma predstavlja dobro osnovo za heterologno izražanje poliketidnih molekul, ki bo z nadaljnjim razvojem in optimizacijo omogočila učinkovito proizvodnjo različnih medicinsko pomembnih poliketidnih učinkovin. Izvedba projekta je potekala tudi v sodelovanju s skupino doc. dr. Hrvoja Petkovića z Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani ter z laboratorijem prof. dr. I.S. Hunterja (Univerza Strathclyde, Škotska). Pri raziskovalnem delu v podjetju Acies Bio je na projektu sodelovala tudi raziskovalka, doktorska študentka Vasilka Magdevska.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta⁴

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

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni rezultat			
1.	Naslov	SLO	Regulatorni elementi v genski skupinah tetraciklinskih antibiotikov
		ANG	Regulatory elements in tetracycline-encoding gene clusters
			Izražanje poliketidnih genskih skupin pogosto regulirajo različne družine

	Opis	SLO	regulatornih proteinov. V članku smo izvedli primerjalno bioinformatično 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.
		ANG	The expression of bacterial polyketide synthase gene clusters is often controlled by a number of different families of regulatory proteins. In this article, 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(<i>luxR</i>)-family regulatory gene, <i>otcG</i> , in the <i>otc</i> gene cluster, that is not present in the <i>ctc</i> gene cluster. By gene disruption and over-expression experiments we have demonstrated a positive role of <i>otcG</i> in OTC biosynthesis.
	Objavljeno v	LEŠNIK, Urška, GORMAND, Amelie, MAGDEVSKA, Vasilka, FUJS, Štefan, RASPOR, Peter, HUNTER, Iain S., PETKOVIČ, Hrvoje. Regulatory elements in tetracycline-encoding gene clusters : the <i>otcG</i> gene positively regulates the production of oxytetracycline in <i>Streptomyces rimosus</i> . Food technol. biotechnol., 2009, vol. 47, no. 3, str. 323-330. [COBISS.SI-ID 3608696]	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
	COBISS.SI-ID	3608696	
2.	Naslov	SLO	Regulacija produkcije tetraciklinskih antibiotikov
		ANG	Regulation of tetracycline antibiotics production
	Opis	SLO	Tetraciklinski antibiotiki so industrijsko in medicinsko pomembni antibiotiki, s širokim spektrom delovanja. Preučevanje oz. poznavanje regulacije produkcije teh antibiotikov je zelo pomembno pri industrijski proizvodnji antibiotikov. V objavljenem prispevku so bili predstavljeni predvsem rezultati regulatornega elementa, ki pozitivno vplivajo na produkcijo oksitetraciklina.
		ANG	Tetracycline antibiotics are industrially and clinically important antibiotics with broad spectrum of activity. Understanding of the regulation of tetracycline antibiotics production is very important for industrial production of these antibiotics. In this publication, results regarding a regulatory element with positive influence on the production of oxytetracycline were presented.
	Objavljeno v	SLADIČ, G., LEŠNIK, U., MAGDEVSKA, V., HORVAT, J., RASPOR, P., FUJS, Š., HUNTER, I. S., PETKOVIČ, H. Regulatorni elementi v skupinah genov za biosintezo tetraciklinskih antibiotikov = Regulatory elements in gene clusters of tetracycline antibiotics. V: RASPOR, P. (ur.), PETKOVIČ, H. (ur.). Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost, 29. in 30. januar 2009, Ljubljana. Protimikrobne snovi. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2009, str. 87-95.	
	Tipologija	1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljeni predavanja)	
COBISS.SI-ID	3580280		
3.	Naslov	SLO	Identifikacija genov za biosintezo alilne skupine v FK506
		ANG	Identification of genes for biosynthesis of allyl group in FK506
	Opis	SLO	V tem članku smo identificirali prej nepoznano regijo genske skupine FK506 iz bakterije <i>S. tsukubaensis</i> NRRL 18488, ki vsebuje gene za zagotavljanje nenavadnih gradnikov za biosintezo FK506. Med drugim smo opredelili skupine genov, ki kodirajo biosintezo podaljševalne enote, ki določa alilno skupino na C21 spojine FK506, ki je sekundarni metabolit z močnimi imunopresivno aktivnostjo in je trenutno registriran za uporabo kot imunopresant pri presaditvi organov. Zanimivo je, da smo opredelili majhen neodvisen sistem diketid-sintaze, ki je vpletena biosintezo alilne skupine.
ANG		In this article we report the identification of a previously unidentified region of the FK506 gene cluster from <i>S. tsukubaensis</i> NRRL 18488 containing genes encoding provision of unusual building blocks for FK506 biosynthesis. Among others, we identified a group of genes encoding biosynthesis of the extender unit which provides the allyl group at C21 of FK506, a secondary	

		metabolite with a potent immunosuppressant, currently registered for use after organ transplantation. Interestingly, we have identified a small independent diketide synthase system involved in the biosynthesis of allylgroup.
	Objavljeno v	GORANOVIČ, Dušan, KOSEC, Gregor, MRAK, Peter, FUJS, Štefan, HORVAT, Jaka, KUŠČER, Enej, KOPITAR, Gregor, PETKOVIČ, Hrvoje. Origin of the Allyl group in FK506 biosynthesis. J Biol Chem, 2010, str. [1-11, v tisku], doi: 10.1074/jbc.M109.059600.
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	3754104
4.	Naslov	SLO
		ANG
	Opis	SLO
		ANG
	Objavljeno v	
	Tipologija	
	COBISS.SI-ID	
5.	Naslov	SLO
		ANG
	Opis	SLO
		ANG
	Objavljeno v	
	Tipologija	
	COBISS.SI-ID	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat		
1.	Naslov	SLO	So-organizacija znanstvenega srečanja "Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost"
		ANG	Co-organization of scientific meeting "Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost"
	Opis	SLO	So-organizacija znanstvenega srečanja "Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost", kjer so bili predstavljeni rezultati programske skupine "Mikrobiologija in biotehnologija živil in okolja" in v okviru predstavitev rezultatov te programske skupine smo predstavili tudi rezultate projekta »Sistem za heterologno produkcijo poliketidnih antibiotikov na osnovi visoko-donosnih industrijskih streptomocetnih sevov«.
		ANG	Co-organization of scientific meeting "Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost", where results of program group "Microbiology and biotechnology of food and environment" and in the scope this presentation of program group, the results of project »Heterologous polyketide production system based on super-producing industrial streptomycete strains« were presented.
	Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja	
	Objavljeno v	RASPOR, P., BATIČ, M., ČADEŽ, N., DANEVČIČ, T., EKERT, M., FUJS, Š. in sodelavci. Mikrobiologija in biotehnologija živil in okolja = Microbiology and biotechnology of food and environment. V: RASPOR, P. (ur.), PETKOVIČ, H. (ur.). Posvetovanje Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost, 29. in 30. januar 2009, Ljubljana. Protimikrobne snov.. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2009, str. 259-272.	
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	
COBISS.SI-ID	3581304		
2.	Naslov	SLO	Nov in patentno-neodvisen biosintezni proces za proizvodnjo generičnega produkta
			New and patent-independent biosynthetic process for production of generic

		ANG	product
Opis		SLO	V sodelovanju s Krko d.d. smo razvili nov in patentno-neodvisen biosintezni proces za proizvodnjo generičnega produkta iz skupine sekundarnih metabolitov, za katerega je bila vložena tudi PCT patentna aplikacija. Določena znanja pridobljena tekom tega raziskovalnega projekta so pripomogla k nastanku te patentne aplikacije.
		ANG	In collaboration with pharmaceutical company Krka, we have developed a new and patent-independent fermentation process for production of generic product from group of secondary metabolites. PCT patent application was filed. Certain expertise acquired during this research project has contributed to the creation of this patent application.
Šifra			F.01 Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
Objavljeno v			FUJS, Štefan, KUŠČER, Enej, PETKOVIČ, Hrvoje, SLADIČ, Gordan, GASPARIČ, Aleš. Process for production of lipstatin and microorganisms therefore : European patent application : EP 2 141 236 A1 : application no. 08012016.5. München: Europäisches Patentamt: = European Patent Office: = Office européen des brevets, 06.01.2010.
Tipologija			2.23 Patentna prijava
COBISS.SI-ID			3746168
3.	Naslov	SLO	
		ANG	
	Opis	SLO	
		ANG	
	Šifra		
	Objavljeno v		
	Tipologija		
COBISS.SI-ID			
4.	Naslov	SLO	
		ANG	
	Opis	SLO	
		ANG	
	Šifra		
	Objavljeno v		
	Tipologija		
COBISS.SI-ID			
5.	Naslov	SLO	
		ANG	
	Opis	SLO	
		ANG	
	Šifra		
	Objavljeno v		
	Tipologija		
COBISS.SI-ID			

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^Z

Članek »Robust reporter system based on chalcone synthase rppA gene from Saccharopolyspora erythraea« bo vseboval rezultate pridobljene v tem raziskovalnem projektu na poročevalskem sistemu s kalkon-sintazo (rppA gen). V publikaciji bo predstavljenje učinkovitost izražanja tega reporterja v različnih visoko-donosnih industrijskih sevih. Publikacija je trenutno v procesu objavljanja in predvidevamo, da bo sprejet v objavo v naslednjih mesecih. Določena znanja, ki smo jih pridobili tekom tega projekta na reporterskem sistemu za

izražanje triketidnih laktonov (TKL), pa smo tudi uporabili pri pripravi nove patentne aplikacije.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Cilj raziskovalnega projekta je bil postaviti sistem za heterologno izražanje medicinsko pomembnih poliketidnih metabolitov v izbranih industrijskih visoko donosnih streptomocetnih sevih. Poliketidi in njihovi polsintezni derivati naravnega izvora predstavljajo izjemno pomembno skupino biološko aktivnih učinkovin medicinskega in komercialnega pomena. Kljub njihovi veliki tržni vrednosti in medicinskemu pomenu tovrstne biološko aktivne učinkovine, farmacevtska industrija pretežno še danes proizvaja s klasičnimi biosintezni postopki in/ali postopki klasične (pol)sintezne kemije, ki so pogosto cenovno neugodni in/ali zelo okolju neprijazni. Številni industrijski sevi so omejeni z nizkimi donosi in zahtevnimi bioprocеси. Pogosto so naporji razvojni inženirjev v farmacevtski industriji omejeni tudi zaradi slabo razvitih orodij za genske manipulacije. Novejši pristopi, kot so kombinatorni in (kemo-)biosintezni inženiring ter novejši pristopi metagenomika, povezani z učinkovito uporabo genomike, prinašajo nove medicinsko uporabne bioaktivne spojine oziroma nove biološko aktivne učinkovine (kandidate) za nova zdravila. Odkriti so bili tudi številni novi mikroorganizmi, ki proizvajajo naravne produkte z zelo obetavnimi biološkimi aktivnostmi, vendar jih je zelo težko ali celo nemogoče gojiti v industrijskem obsegu (nekultivabilni mikroorganizmi). Vse to jasno nakazuje, da obstaja velika potreba po zanesljivem in robustnem sistemu za visoko donosno izražanje obstoječih ali novih in danes še nepoznanih biosinteznih genskih skupin v heterolognih gostiteljih. S tem namenom smo uspešno razvili potrebna genska orodja in metodologijo prilagodili visoko-donosnim industrijskim gostiteljskim sevom. Postavljena platforma na osnovi industrijskih visoko-donosnih streptomocetnih gostiteljskih sevov skupaj z novimi genskimi orodji in metodami za ekspresijo PKS sistemov predstavlja potencialno industrijsko uporabno in tržno zanimivo tehnologijo za proizvodnjo novih medicinsko pomembnih naravnih produktov.

ANG

The objective of this research project was to construct a heterologous expression system for medically important polyketide metabolites using known industrial high-producing *Streptomyces* strains and processes. Polyketides and their semi-synthetically modified natural products represent a large group of biologically active compounds with high clinical and commercial significance. Polyketides, despite their wide medical and commercial importance, are still primarily produced using classical biosynthetic processes and/or classical semi-synthetic chemistry approaches with high costs and environmental burden. Industrial microbial strains are constrained by low yields and complex bioprocesses. Furthermore, efforts of researchers in pharmaceutical industry are often hampered by poor susceptibility of these strains to genetic manipulation. Novel approaches such as combinatorial and biosynthetic engineering as well as novel metagenomics approaches, coupled with the effective genome mining of available genomic information, constantly bring exciting new biologically active and medically important compounds and drug candidates. A number of novel microorganisms producing natural products with very promising biological activities have been identified of which many are very difficult or impossible to cultivate in industrial scale ("the unculturable"). All this clearly demonstrates that there is a strong requirement for a reliable and robust system for high-level expression of existing or novel currently unknown biosynthetic clusters in heterologous hosts. Therefore, necessary genetic tools were successfully developed and methods adapted to high-yield industrial host strains. This platform based on industrial polyketide super-producing *Streptomyces* hosts, reinforced with novel tools and methods applicable for heterologous expression of PKS systems and represents a potentially very powerful and industrially applicable technology for production of novel polyketide natural products of medical importance.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Razvoj robustne in zanesljive platforme za heterologno proizvodnjo obstoječih ali novih medicinsko pomembnih poliketidnih spojin za biotehnoško podjetje Acies Bio pomeni velik tehnološki napredek, ki bo podjetju omogočil dodatno konkurenčno prednost na trgu farmacevtske biotehnologije. Razvoj platforme bo imel pozitiven vpliv tudi za slovensko farmacevtsko industrijo, saj je uporabnost platforme usmerjena prav za izboljšano heterologno produkcijo generičnih farmacevtskih produktov, ki predstavljajo pomemben delež v poslovanju slovenskih farmacevtskih podjetij. Izvedba projekta »Sistem za heterologno produkcijo

poliketidnih antibiotikov na osnovi visoko-donosnih industrijskih streptomicetnih sevov« je potekala tudi v sodelovanju z Biotehniško fakulteto Univerze v Ljubljani. V sklopu tega projekta so sodelovali tudi študenti dodiplomskega in podiplomskega študija Biotehniške fakultete in je tako neposredno spodbujala raziskovalne in pedagoške aktivnosti na področju industrijske mikrobiologije in mikrobne biotehnologije ter povečala pretok in prenos znanja med univerzo in industrijo.

ANG

The development of robust and reliable platform for heterologous production of existing or novel medically important polyketides brings important technological progress for the biotech company Acies Bio, providing additional competitive advantage in the field of pharmaceutical biotechnology. In addition, the development of this platform will benefit Slovenian pharmaceutical industry in general, as the platform is intended specifically towards improved heterologous production of generic pharmaceutical products, which account for an important part of activities of Slovenian pharmaceutical companies. The project "Heterologous polyketide production system based on super-producing industrial streptomycete strains" was carried out in collaboration with the Biotechnical faculty of the University of Ljubljana. In the scope of this project, undergraduate and graduate students of the University of Ljubljana were actively involved, which directly stimulated research and teaching activities in the field of industrial microbiology and microbial biotechnology as well as allowed for knowledge transfer between academia and industry.

10. Samo za aplikativne projekte!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem 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/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

11. Samo za aplikativne projekte!

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visoko-šolskega 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="text"/>	<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="text"/>	<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

--

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki¹¹

1.	Sofinancer		
	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		
2.	Sofinancer		
	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		
3.	Sofinancer		
	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		

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, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> 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:

Štefan Fujs	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

16.4.2010

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/101

¹ Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Samo v primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

PRIMER (v slovenskem jeziku):

Naslov: Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s katepsinom X;

Opis: Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

Objavljeno v: OBERMAJER, N., PREMŽL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates $\beta 2$ - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

Tipologija: 1.01 - Izvirni znanstveni članek

COBISS.SI-ID: 1920113 [Nazaj](#)

⁶ Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ 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](#)

⁹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

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

¹¹ Rubrike izpolnite/prepišite 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](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2010 v1.00a

DF-D6-F0-14-B7-50-96-DE-5E-11-7B-F0-A7-D7-0A-BA-2E-89-6E-64