



VODOODBOJNI POLIURETANSKI PREMAZ ZA ZAŠČITO LESA IZ NARAVNEGA OBNOVLJIVEGA VIRA – LESA

Marko Petrič

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta,
Oddelek za lesarstvo

marko.petric@bf.uni-lj.si

Odlični v znanosti 2016

BIOTEHNIKA

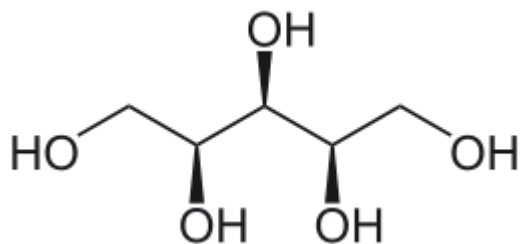
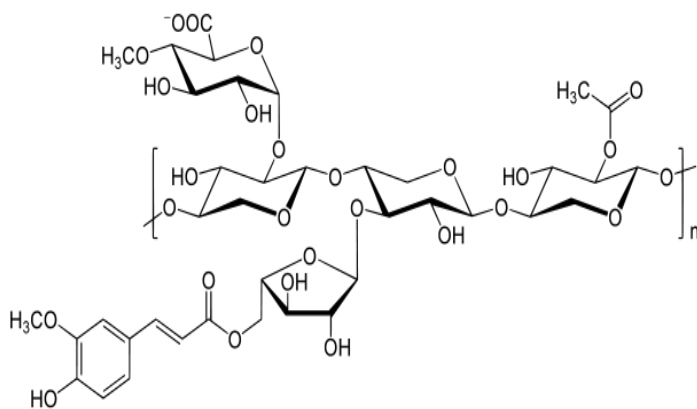


ARRS

JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLIKE SLOVENIJE

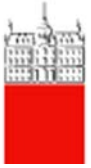


Ksilitol – umetno sladilo
industrijsko pridobivajo
večinoma iz ksilana –
hemiceluloze – iz lesa
listavcev



Univerza v Ljubljani





Obnovljiva
surovina



Enzymatic
hydrolysis

KONCEPT BIORAFINERIJ



Bio-energija
Bio-materiali

Kemikalije

Hrana in
krmila



END PRODUCTS



Liquefied-Wood-Based Polyurethane–Nanosilica Hybrid Coatings and Hydrophobization by Self-Assembled Monolayers of Orthotrichlorosilane (OTS)

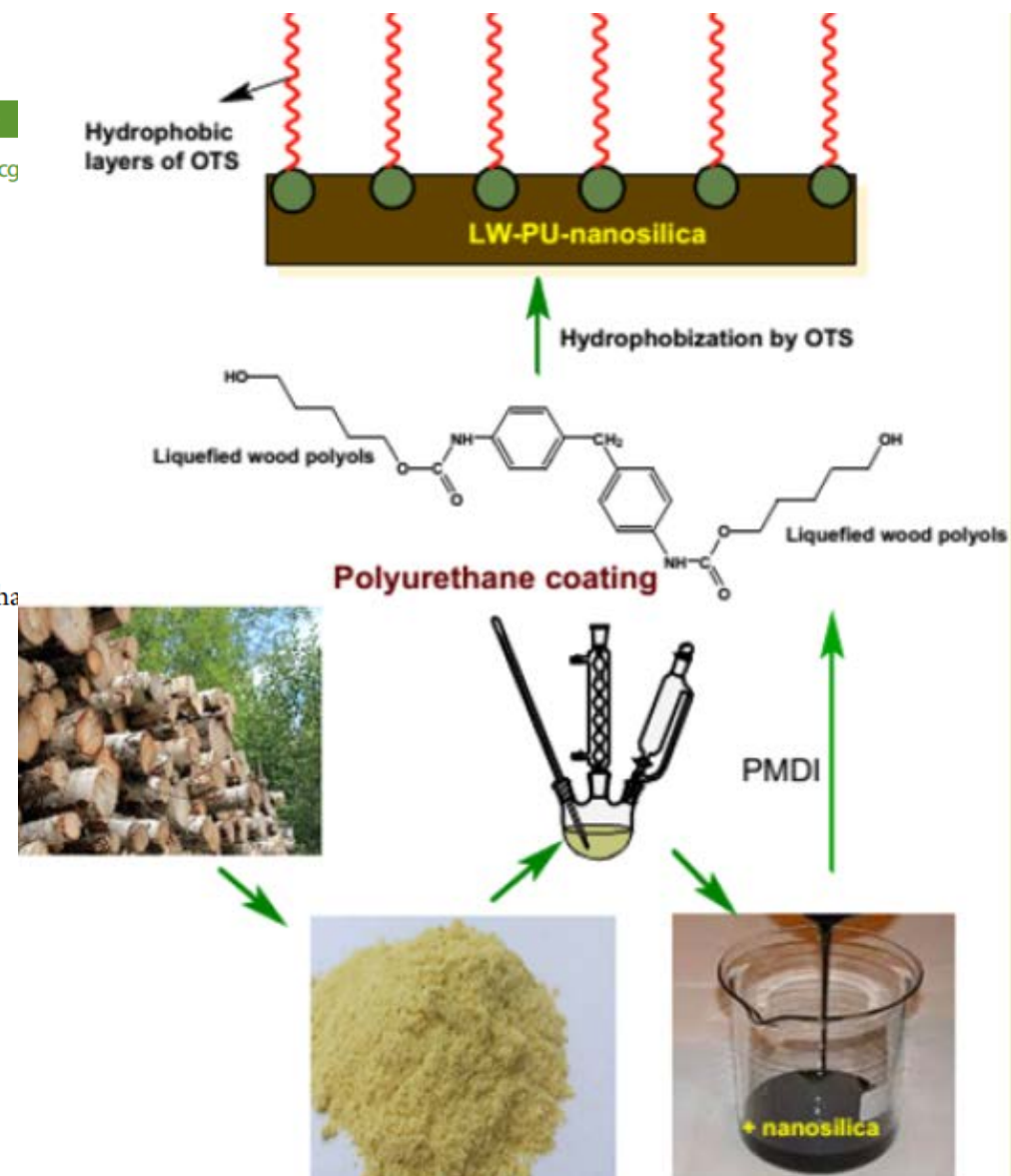
Anuj Kumar,^{*,†,||,⊥} Marko Petrič,^{‡,⊥} Borut Kričej,[‡] Jure Žigon,[‡] Jan Tywoniak,^{†,||} Petr Hajek,^{†,||} Andrijana Sever Škapin,[§] and Matjaž Pavlič[‡]

[†]Czech Technical University in Prague, Faculty of Civil Engineering, Department of Building Structures, Thákurova 7, 166 29 Praha 6, Czech Republic

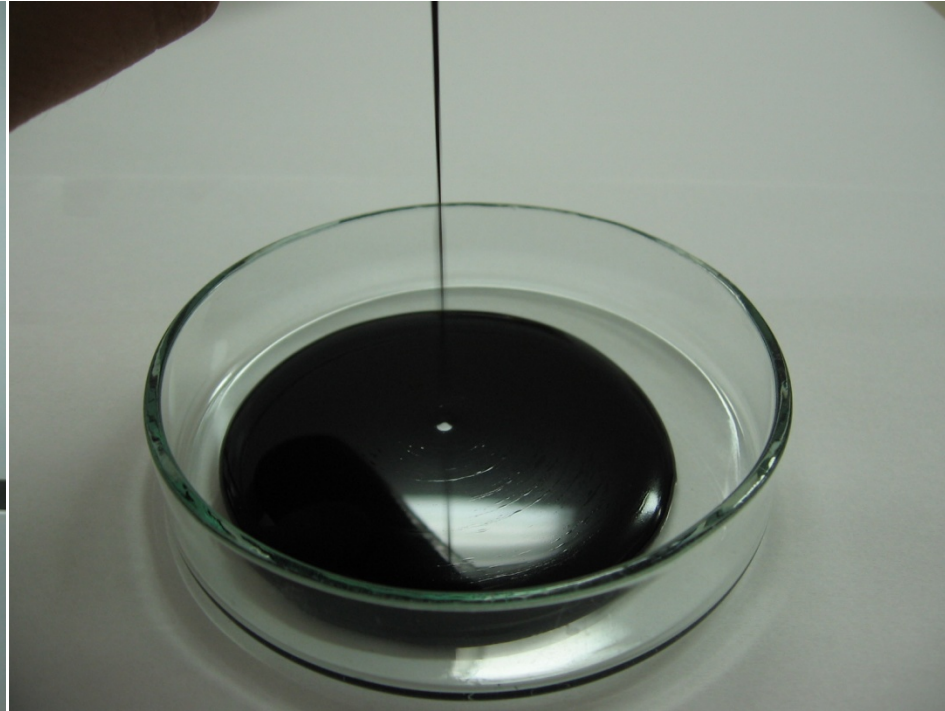
[‡]University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology, Jamnikarjeva, 101, 1000 Ljubljana, Slovenia

[§]Slovenian National Building and Civil Engineering Institute, Dimičeva 12, SI-1000 Ljubljana, Slovenia

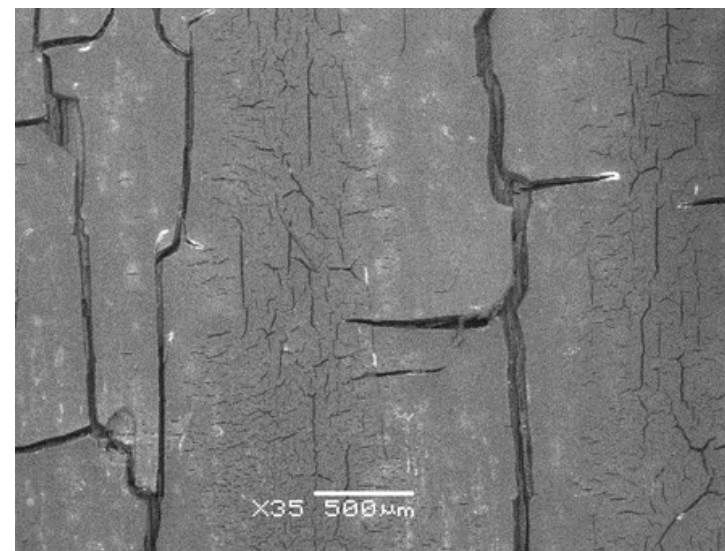
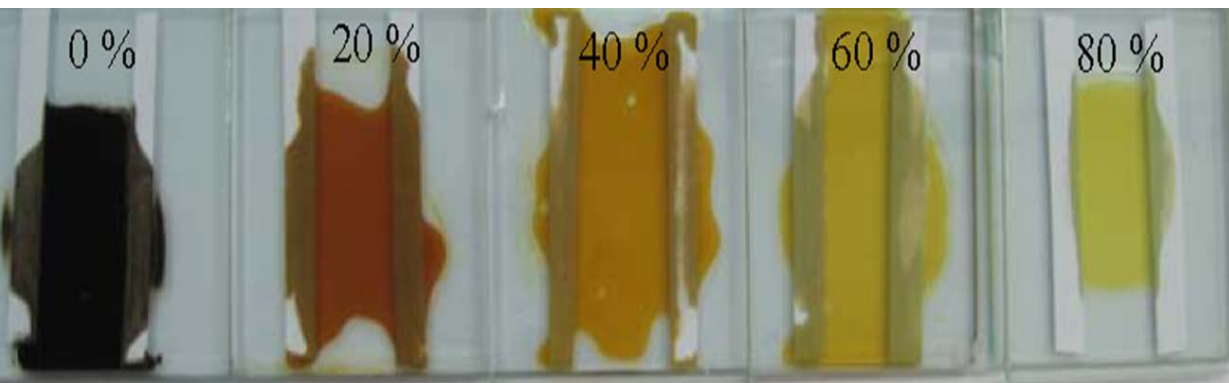
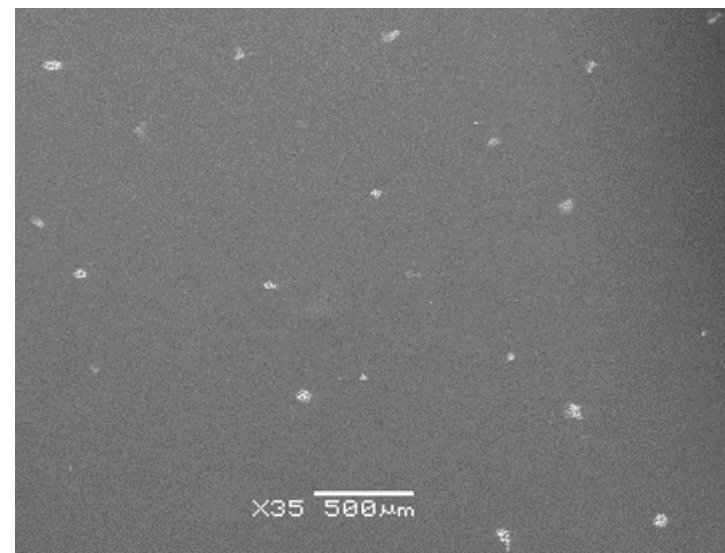
^{||}University Centre for Energy Efficient Buildings of Technical University in Prague, Třinecká 1024, 273 43 Bušehrad, Czech Republic



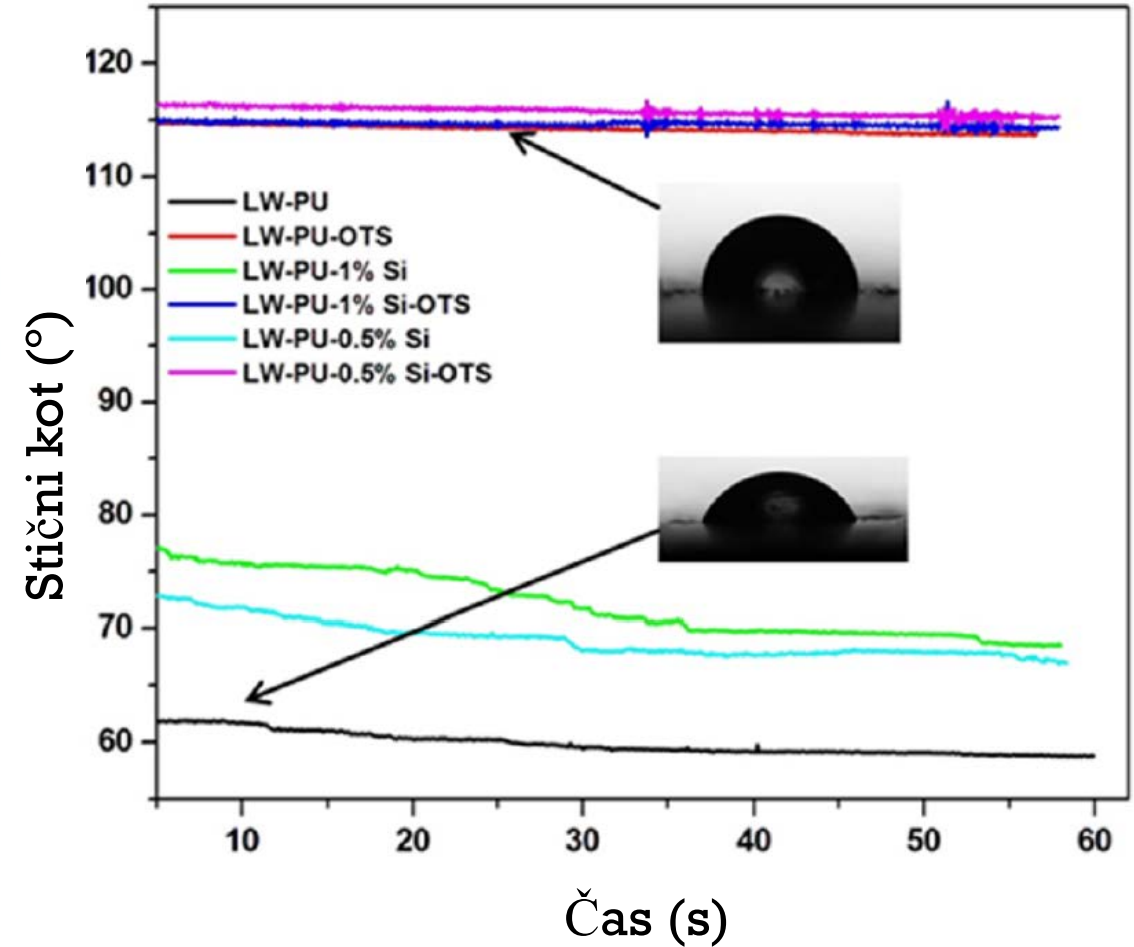
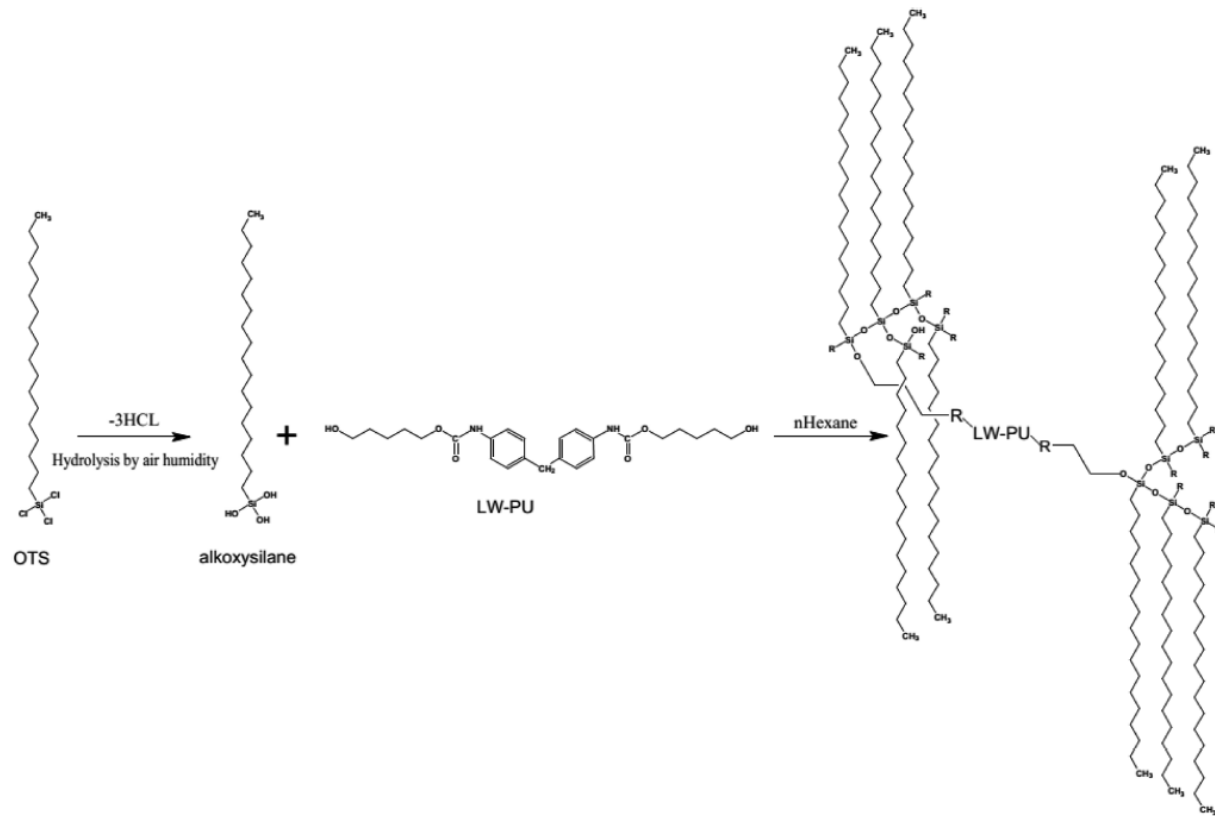
UTEKOČINJANJE LESA



Les, glicerol, žveplova(VI) kislina, $T=150^{\circ}\text{C}$



IZBOLJŠANJE VODOODBOJNOSTI Z DODATKOM NANO SILICIJEVEGA DIOKSIDA IN OKTADECILTRIKLOROSILANA (OTS)



IN ZAKAJ BI SPLOH VSE TO POČELI ?



**HVALA ARRS,
VSEM
SODELAVCEM
IN ŠE POSEBEJ
DR. ANUJU
KUMARJU !**





Razjasnitev mehanizma nevrotoksičnega delovanja proteina ostreolizina, izoliranega iz gobe bukovega ostrigarja

Effect of the ostreolysin A/pleurotolysin B pore-forming complex on neuroblastoma cell morphology and intracellular Ca²⁺ activity.

Vrecl Milka, **Babnik Monika**, Diacci Uroš, Benoit Evelyne, Frangež Robert

Toxicological Sciences, 2015; 144(2):276-83. IF 3,88

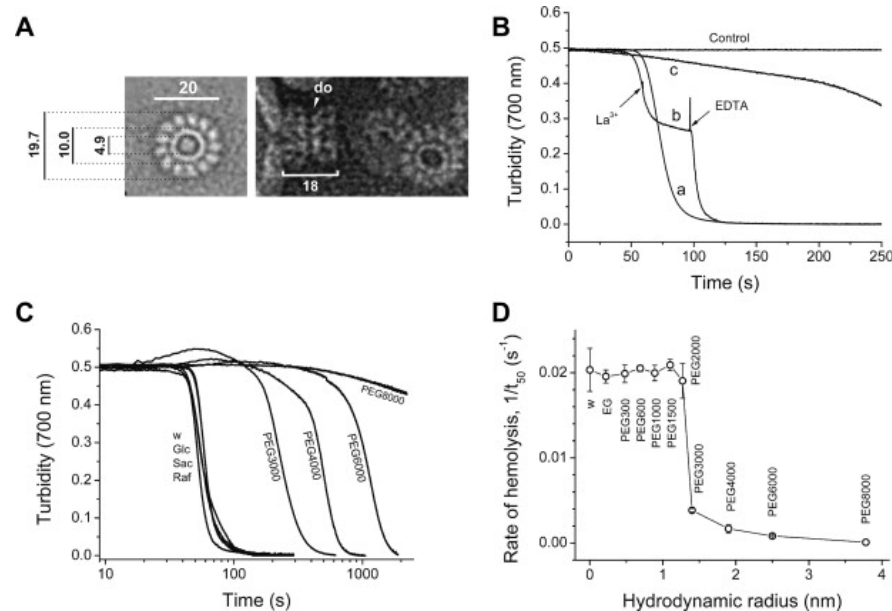
- Žužek MC, Maček P, Sepčić K, Cestnik V, **Frangež R**. Toxic and lethal effects of ostreolysin, a cytolytic protein from edible oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), in rodents. *Toxicon*. 2006 Sep 1;48(3):264-71.
- Schlumberger S, Kristan KČ, Ota K, **Frangež R**, Molgó J, Sepčić K, Benoit E, Maček P. *Permeability characteristics of cell-membrane pores induced by ostreolysin A/pleurotolysin B, binary pore-forming proteins from the oyster mushroom*. *FEBS Lett*. 2014 Jan 3;588(1):35-40.
- Vrecl M, Babnik M, Sepčić K, Žužek MC, Maček P, Diacci U, **Frangež R**. *Effect of the ostreolysin A/pleurotolysin B pore-forming complex on intracellular Ca^{2+} activity in the vascular smooth muscle cell line A10*. *Toxicol In Vitro*. 2015 Dec;29(8):2015-21.
- **Vrecl M, Babnik M, Diacci U, Benoit E, Frangež R. Effect of the ostreolysin A/pleurotolysin B pore-forming complex on neuroblastoma cell morphology and intracellular Ca^{2+} activity. *Toxicol Sci*. 2015;144(2):276-83.**
- Skočaj M, Yu Y, Grundner M, Resnik N, Bedina Zavec A, Leonardi A, Križaj I, Guella G, Maček P, Kreft ME, **Frangež R**, Veranič P, Sepčić K. *Characterisation of plasmalemmal shedding of vesicles induced by the cholesterol/sphingomyelin binding protein, ostreolysin A-mCherry*. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Nov;1858(11):2882-2893.

Predstavitev znanstvenega problema

- **Ostreolizin** - citolitični kompleks izoliran iz gobe bukov ostrigar *Pleurotus ostreatus* (Sepčić *in sod.*, Biochim Biophys Acta, 2002)
- **Biološki učinki** - tvorba por v membranah sesalskih celic, hemolitično delovanje, kardiorespiratorni zastoj.
- **Namen dela** - proučiti mehanizme odgovorne za nastanek dihalnega zastoja
- **Eksperimentalni pristop** - nevroblastomske celice NG108-15 (*in vitro* model respiratornih nevronov)

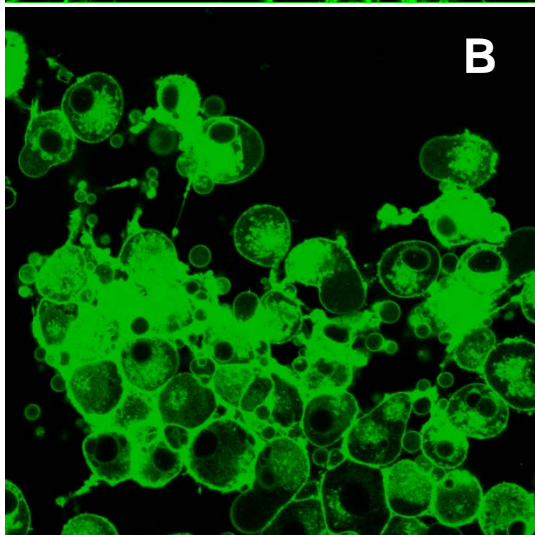
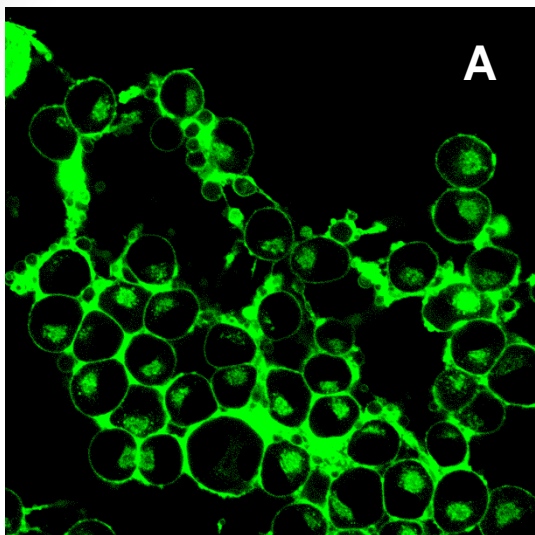


Slika 1: *Pleurotus ostreatus*
(Jacquin: Fries) P. Kummer. 1871)

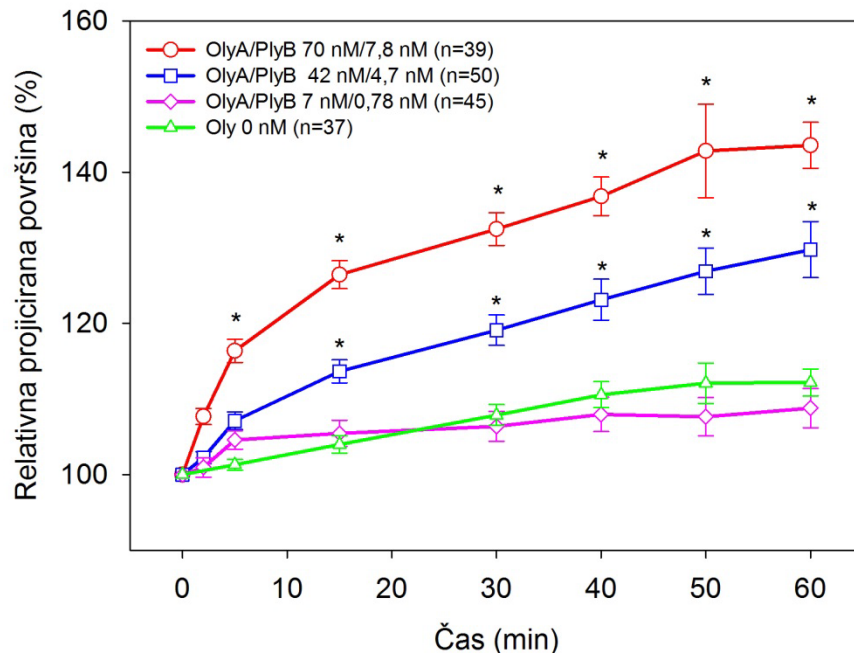


Slika 2: Tvorba kationsko neselektivnih por
Schlumberger in sod., FEBS Letters, 2014

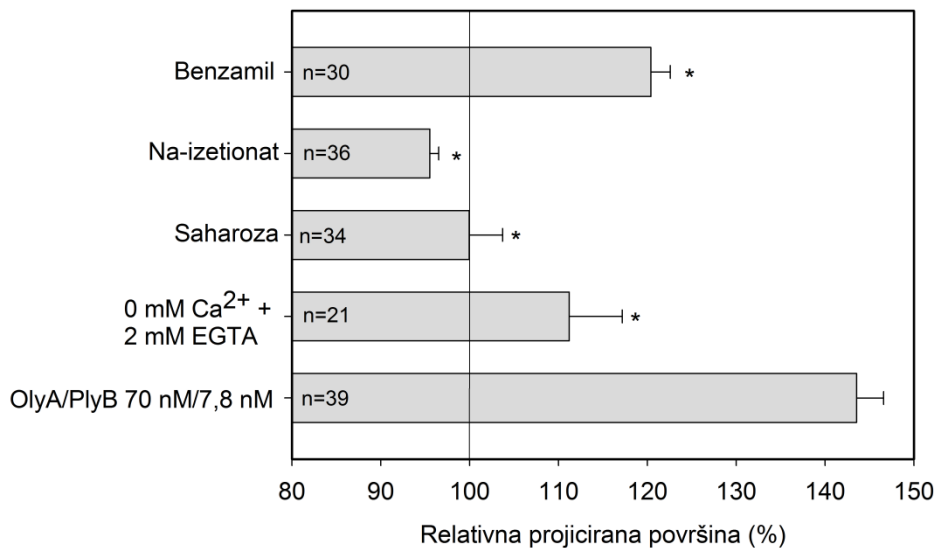
Učinki Ostreolizina na nevrone:
vezikulacija in znotrajcelični edem



Slika 1: Morfološke spremembe celic NG108-15 po izpostavitvi OlyA/PlyB (70 nM/7,6 nM). (A) Skupina nevronov pred dodatkom OlyA/PlyB ter (B) ista skupina nevronov 60 min po izpostavitvi OlyA/PlyB.

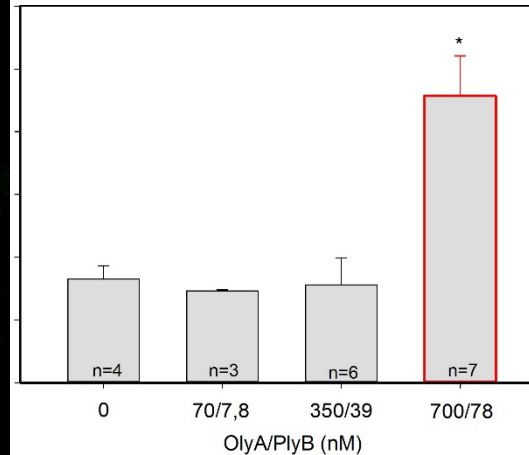
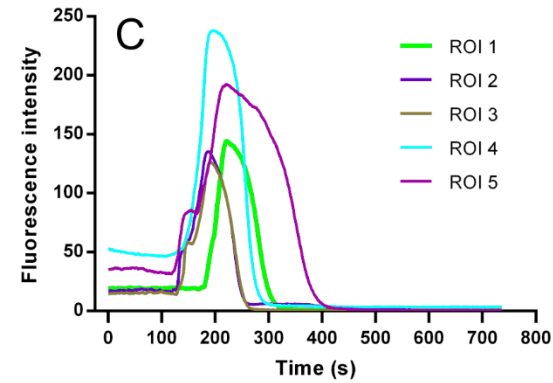
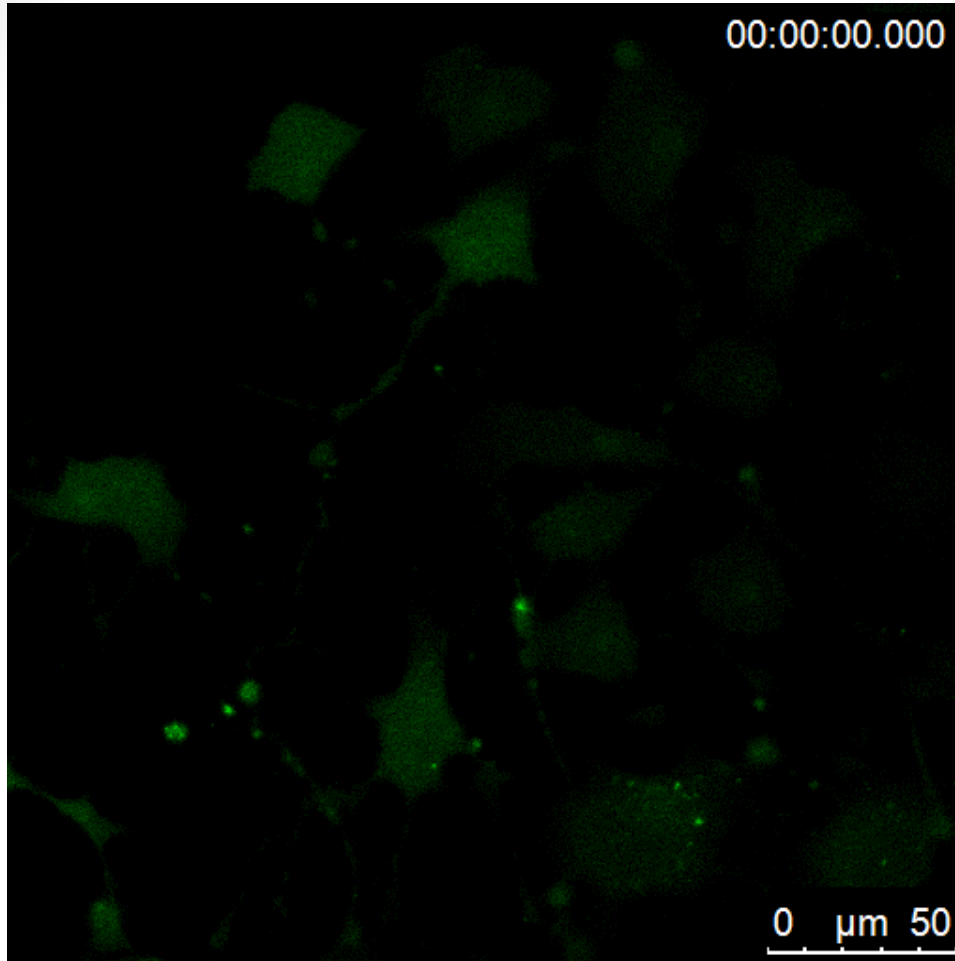


Slika 2: Analiza časovnega poteka sprememb volumna nevronov kot indikatorja celičnega edema po dodatku različnih koncentracij OlyA/PlyB.



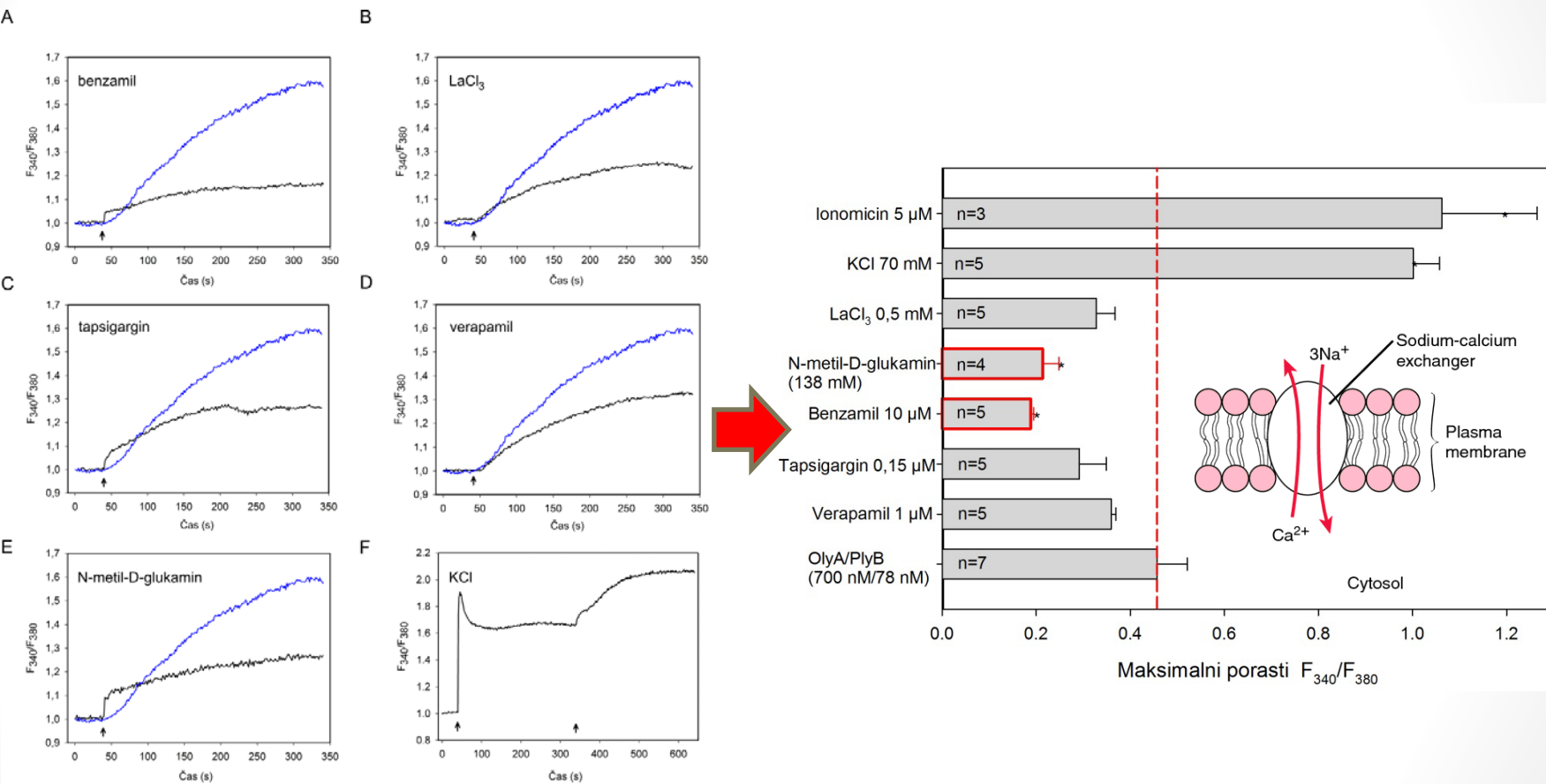
Slika 3: Relativne spremembe projicirane površine nevronov po dodatku 70 nM/7,6 nM OlyA/PlyB pri različnih pogojih.

Vpliv ostreolizina na $[Ca^{2+}]_i$ v nevronih



Slika 4: Vpliv različnih koncentracij OlyA/PlyB na $[Ca^{2+}]_i$ v nevronih: (A, B) konfokalna slika sprememb fluorescence ob spremembi $[Ca^{2+}]_i$; (C) časovni potek sprememb $[Ca^{2+}]_i$ v posameznih nevronih; (D) vpliv Oly na $[Ca^{2+}]_i$ ob prisotnosti zunajceličnega Ca^{2+} in v mediju brez Ca^{2+} ; (E) kvantitativna analiza vpliva Oly na $[Ca^{2+}]_i$.

Mehanizem delovanja: povečana znotrajcelična aktivnost Ca^{2+} je posledica vdora Ca^{2+} skozi novo nastale pore, pomembno prispeva tudi $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ izmenjevalec



Slika 5: Učinek 700 nM/76 nM OlyA/PlyB na $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (modra krivulja) in učinek prisotnosti OlyA/PlyB (črna krivulja) in ob prisotnosti nekaterih blokatorjev Ca^{2+} kanalčkov in prenašalcev v plazmalemi ter Ca^{2+} -ATPaze v membrani endoplazemskega retikuluma.

Zaključki:

- Ugotovili smo, da Oly v nano-molarnih koncentracijah povzroči vezikulacijo celične membrane, celični edem in poveča $[Ca^{2+}]_i$ v nevronih, kar je verjetno primarno posledica vdora Ca^{2+} skozi novonastale pore.
- Pomembno vlogo pri porastu znotrajceličnega Ca^{2+} ima tudi $3Na^+/Ca^{2+}$ izmenjevalec.
- Opisane spremembe lahko vodijo v disfunkcijo in smrt dihalnih nevronov ter dihalni zastoj *in vivo*.

Raziskave so bile opravljene v okviru raziskovalnega programa P4-0053, financiranega s strani ARRS.

Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta



**'Lučka', 'Janja' in 'Martina' – nove sorte sladkega
krompirja (*Ipomoea batatas* L.)**

Dragan Žnidarčič



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta



Oddelek za agronomijo

- P4-0013 **Programska skupina**
(prof. dr. Franci Štampar,
prof. dr. Robert Veberič); ARRS
Hortikultura
- 10-0022 **Infrastrukturni program**
(Dragan Žnidarčič); ARRS
Razvojno raziskovalni center za proučevanje
rasti in razvoja kmetijskih rastlin



Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Zakaj sladki krompir?

- samooskrba;
- podnebne spremembe;
- trajnostni razvoj in dobre kmetijske prakse;
- nizek glikemični indeks.





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Sladki krompir ali batata (*Ipomoea batatas* (L.) spada v družino *Convolvulaceae* (slakovk);



(sub)tropska plezalka, pokončna zelnata in grmičasta vrsta, enoletnica.





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)

plazeče steblo (vreža): do 1-6 m dolžine



listi:





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



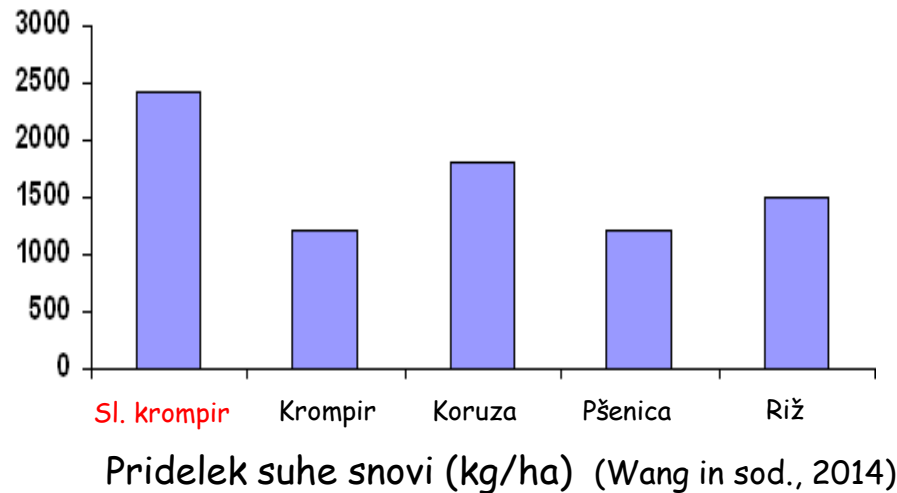
gomolji:

- hranilna vrednost: **1,5 x večja od riža (koruze);**

2 x večja od krompirja;

200 g gomoljev = 5 kg brokolija (β -karotena);

140 g gomoljev zagotavlja dnevno potrebo po vitaminu E.





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Ipomoea batata



Solanum tuberosum



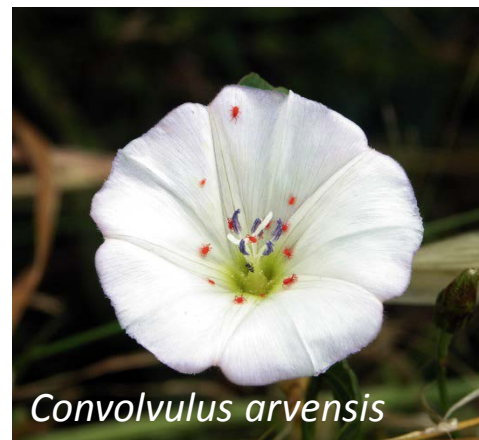
koreninski gomolj



stebelni gomolj

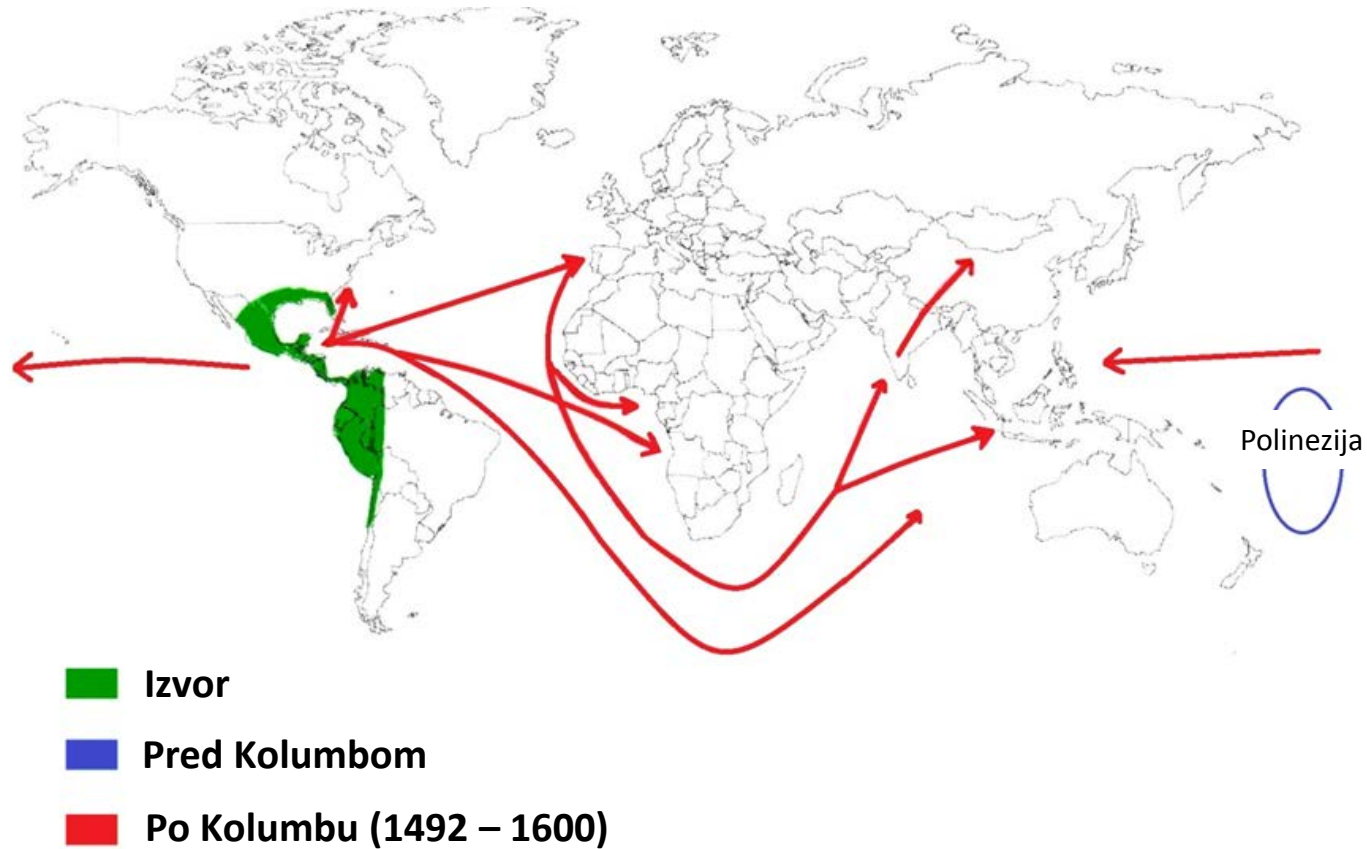


Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Širjenje sladkega krompirja v času od 15. do 18. stoletja (Roca, 2007)

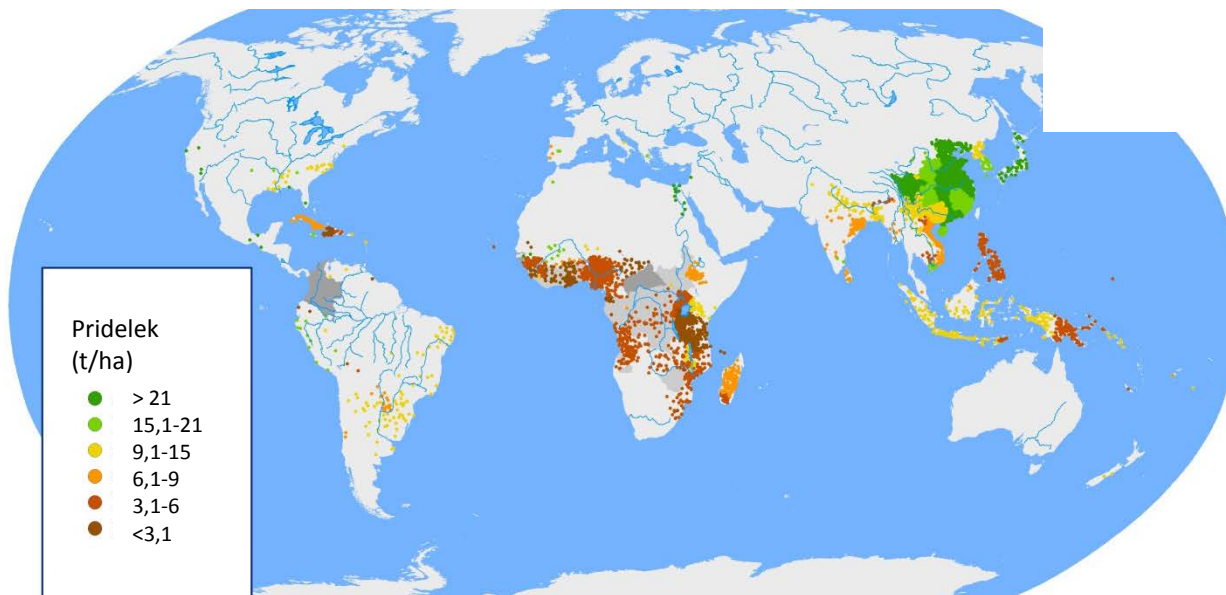
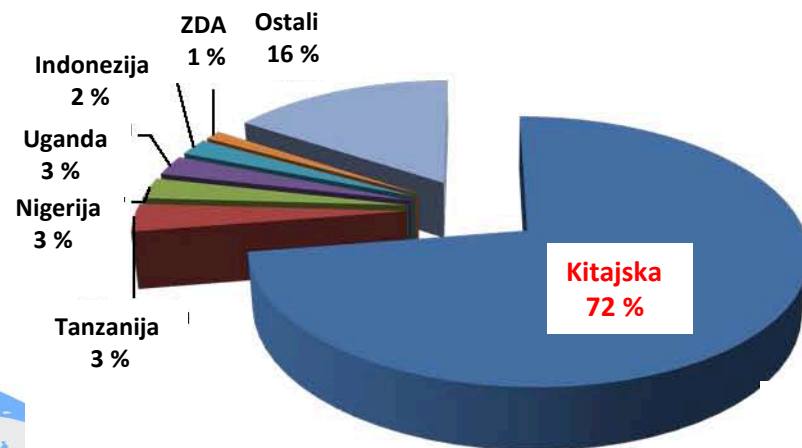


Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)

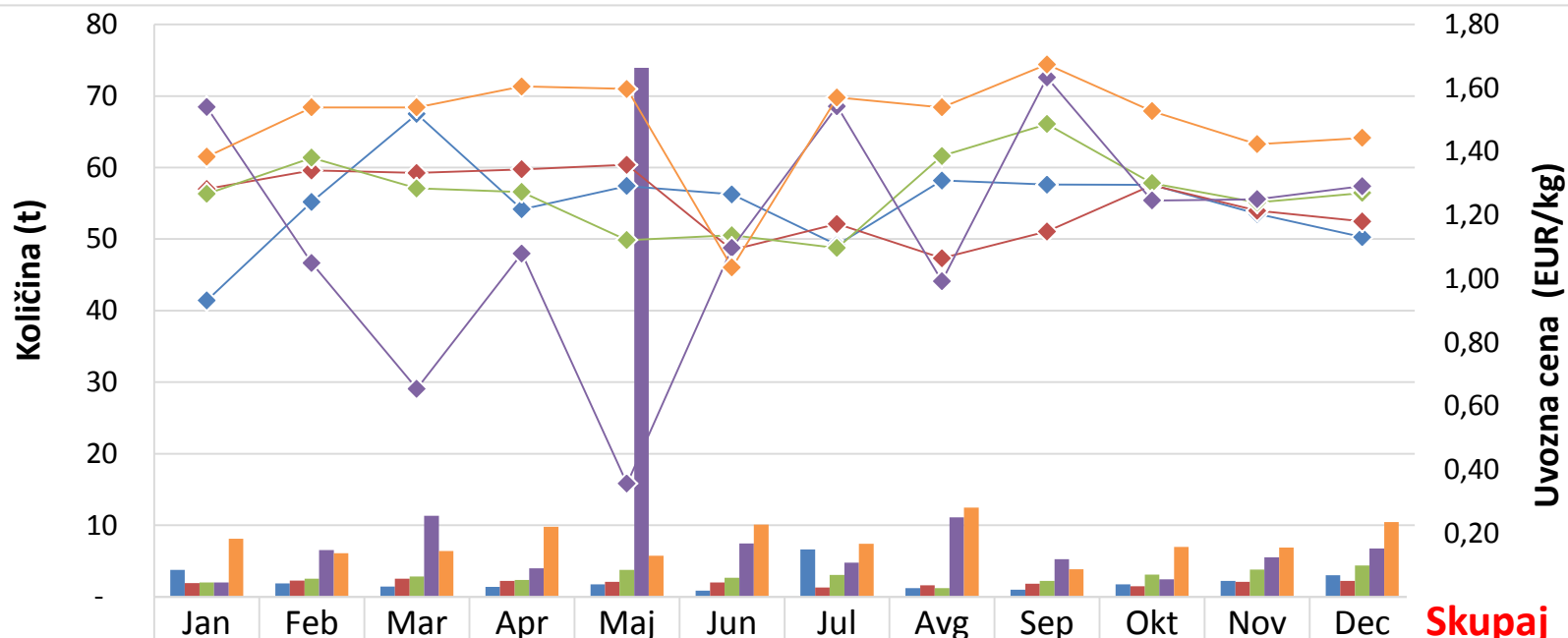
Svetovna proizvodnja: 125 mio ton;

Evropa – uvoz: 120.000 ton

(FAOSTAT, 2015).



Sladki krompir – Uvoz (Slovenija) (SURS, 2016)



	Jan	Feb	Mar	Apr	Maj	Jun	Jul	Avg	Sep	Okt	Nov	Dec	Skupaj
2011 (t)	4	2	1	1	2	1	7	1	1	2	2	3	27
2012 (t)	2	2	3	2	2	2	1	2	2	1	2	2	23
2013 (t)	2	3	3	2	4	3	3	1	2	3	4	4	36
2014 (t)	2	7	11	4	74	7	5	11	5	2	6	7	157
2015 (t)	8	6	6	10	6	10	7	12	4	7	7	10	93
2011 (EUR/kg)	0,93	1,24	1,52	1,22	1,29	1,27	1,11	1,31	1,30	1,30	1,20	1,13	
2012 (EUR/kg)	1,28	1,34	1,33	1,34	1,36	1,09	1,17	1,06	1,15	1,29	1,21	1,18	
2013 (EUR/kg)	1,27	1,38	1,28	1,27	1,12	1,14	1,10	1,39	1,49	1,30	1,24	1,27	
2014 (EUR/kg)	1,54	1,05	0,65	1,08	0,36	1,10	1,54	0,99	1,63	1,25	1,25	1,29	
2015 (EUR/kg)	1,38	1,54	1,54	1,60	1,60	1,04	1,57	1,54	1,67	1,53	1,42	1,44	



Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje - glavni cilji:

- večji pridelek;
- večja prehranska kakovost (sekundarni metaboliti);
- dobra skladiščna sposobnost.



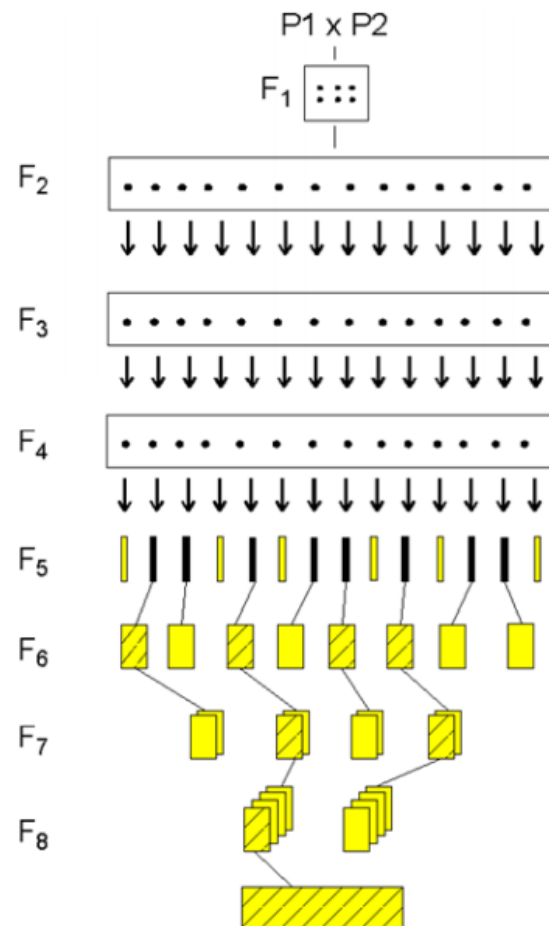


Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje:

- izbira staršev;
- pridobivanja semena v prvem letu,
- križanje v drugem letu;
- vzgoja in odbira sejancev v naslednjih letih;
- sortni poskus (RIN) – 2 leti;
- registracija novih sort.

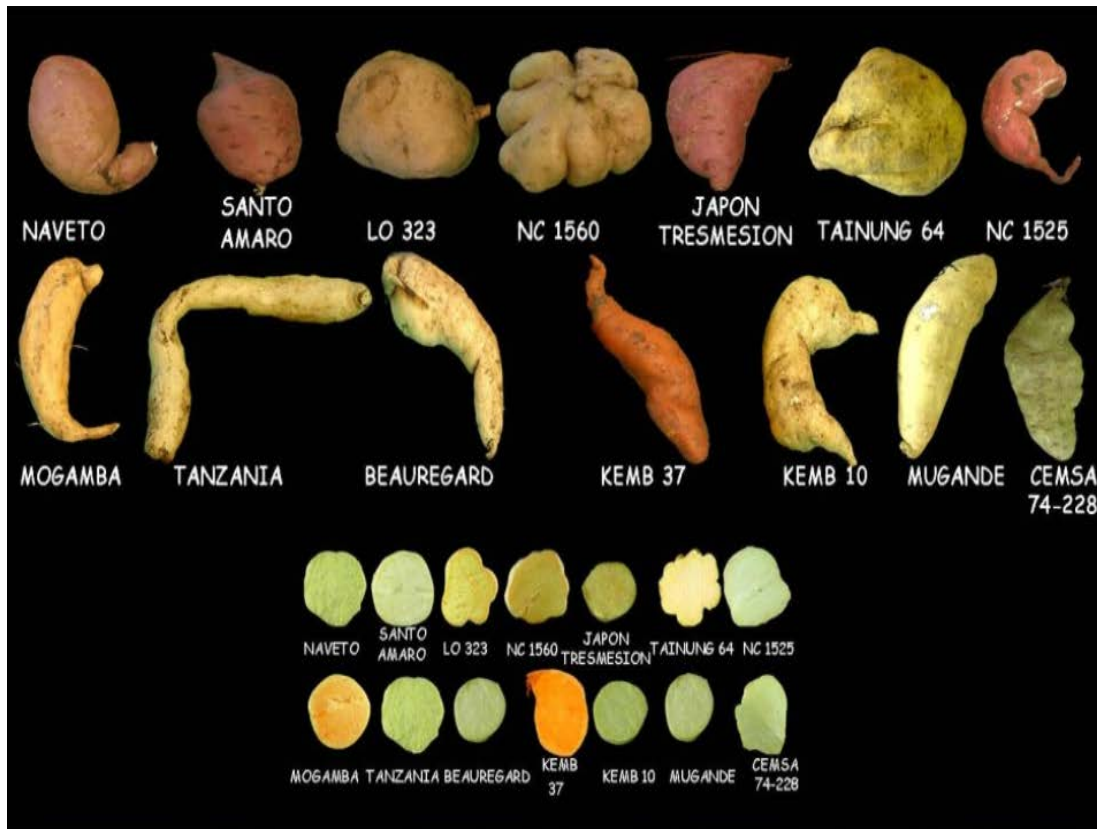




Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje:





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje:





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje:





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje:





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnjenje:

CIP deskriptorji (Hauman, 1991)



Preglednica : Dlakavost glavne vreže in obarvanost internodijev

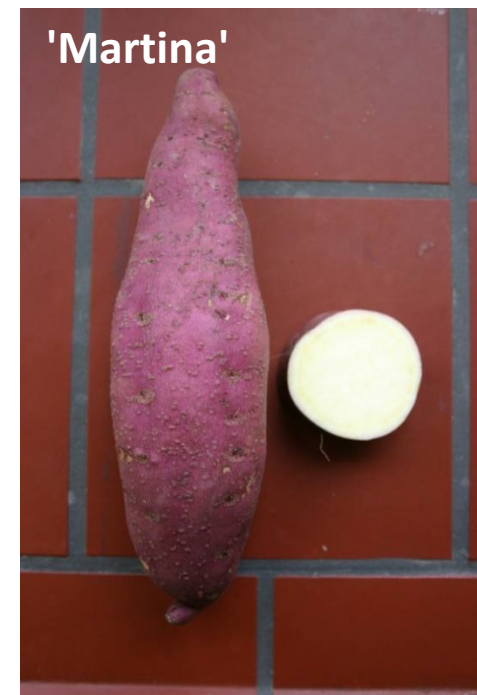
Dlakavost glavne vreže	Obarvanost internodijev	
	Dominantna obarvanost	Sekundarna obarvanost
0 – brez dlak	1 – zelena	1 – brez
3 – redke dlake	2 – zelena z nekaj vijolič. pikami	2 – zelena z nekaj vijoličnimi pikami
5 – srednje dlakav	3 – zelena z vijoličnimi pikami	3 – zelena z vijoličnimi pikami
7 – dlakav	4 – zelena z veliko vijoličnimi pikami	4 – zelena z veliko vijoličnimi pikami
9 – močno dlakav	5 – vijolična barva prevladujoča	5 – vijolična barva prevladujoča
	6 – temno vijolična barva prevladujoča	6 – temno vijolična barva prevladujoča
	7 – temno vijolična	7 – ostalo
	8 – popolnoma vijolična	
	9 – popolnoma temno vijolična	



Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Nove sorte:

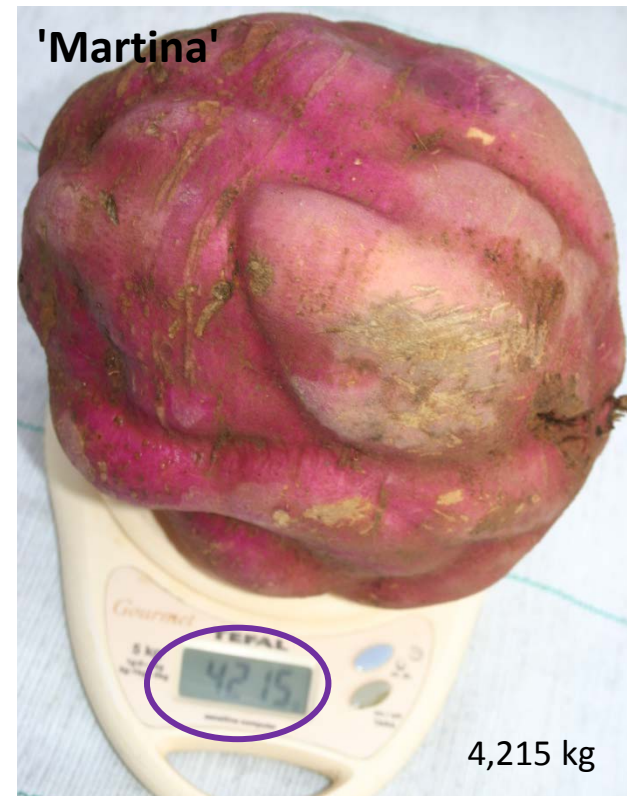




Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Nove sorte:

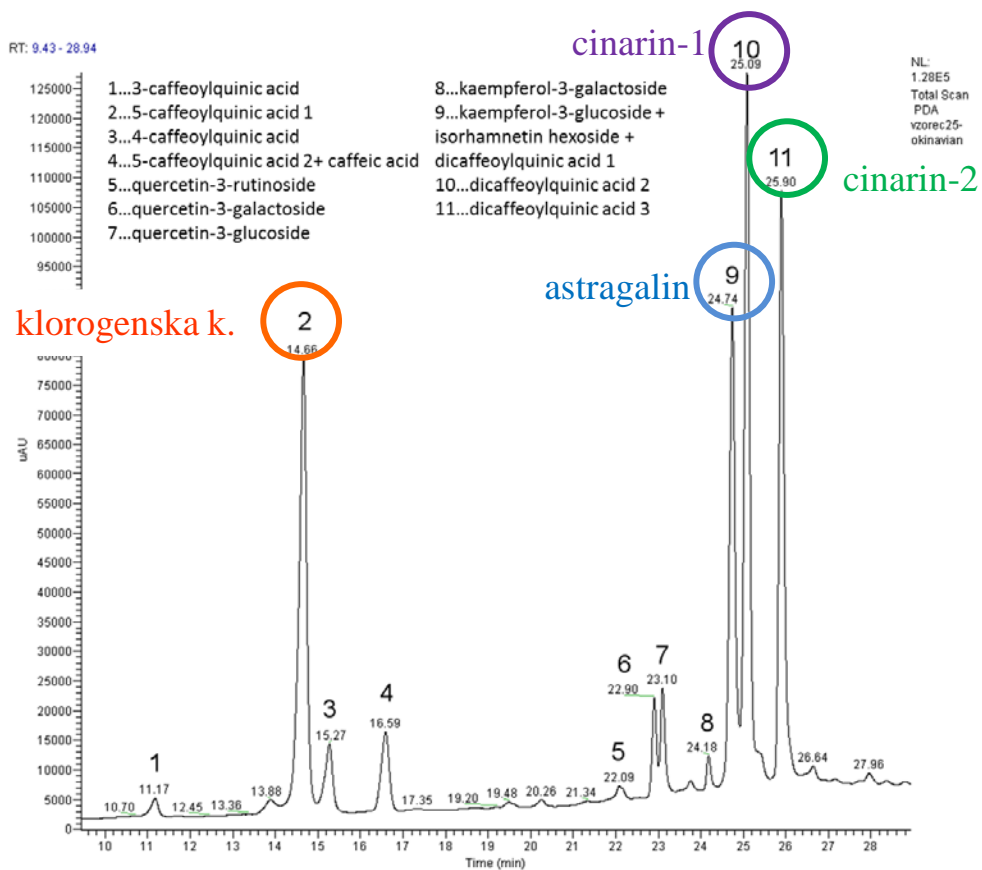




Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Nove sorte:



Fenolne komponente



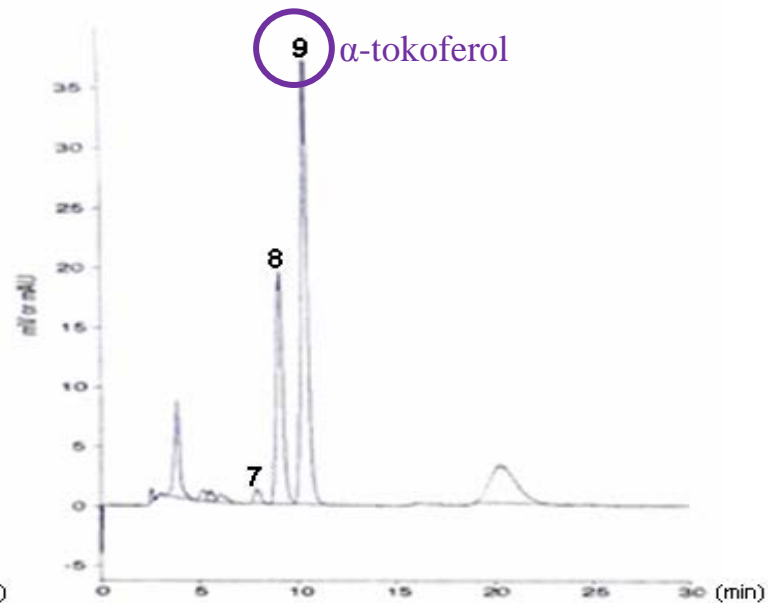
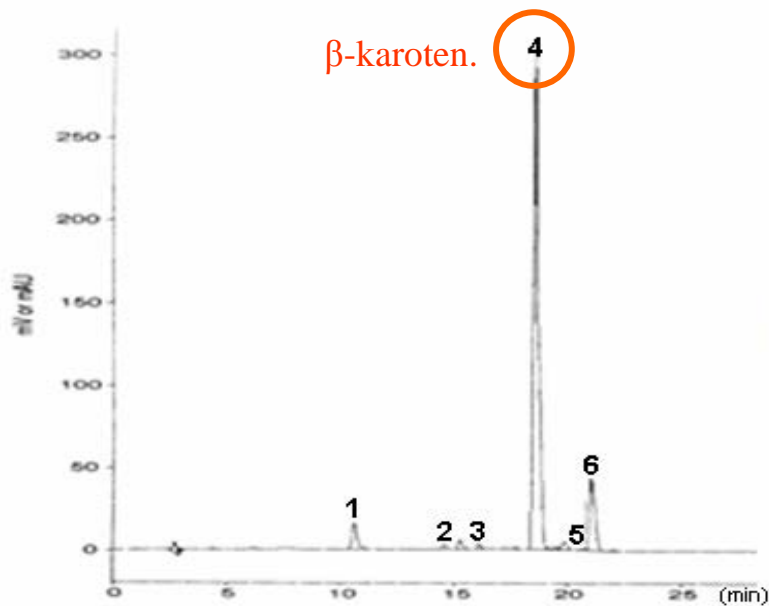


Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Nove sorte:

'Lučka'



Kromatogram vsebnosti rastlinskih pigmentov (levo) in tokoferola (desno) v vzorcu paradižnika (1–lutein, 2–klorofil a, 3–klorofil b, 4–β-karoten, 5–α-karotena, 6–n.n., 7–δ-tokoferol, 8–γ-tokoferol, 9–α-tokoferol)

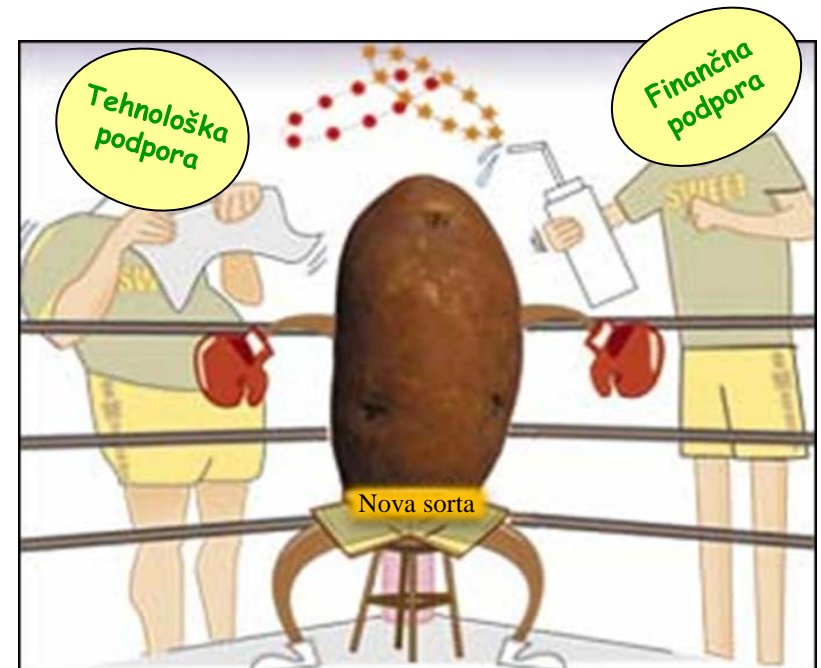


Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnenje – strategija nadaljnjega razvoja:

- plastičnost sort (stabilen pridelek s čim manjšim vplivom vremenskih in talnih razmer na količino in kakovost pridelka);
- dobre senzorične lastnosti ...
- zelo dobra skladiščna obstojnost;
- odpornost na bolezni;
- odpornost na abiotski stres;





Sladki krompir (*Ipomoea batata* L.)



Žlahtnenje – strategija nadaljnega razvoja:

- odpornost na škodljivce:





Hvala za pozornost



Napoved prehranskih niš vrst bakterijskega rodu *Prevotella* z uporabo bioinformatike

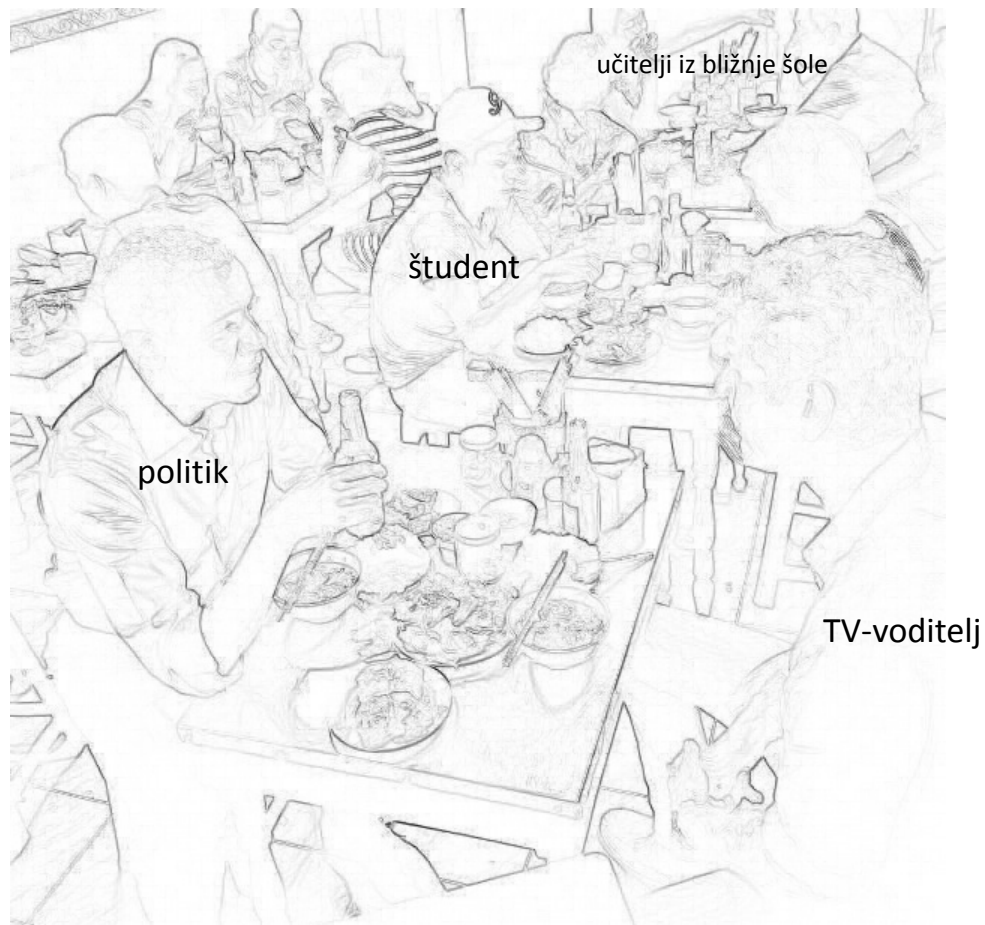
Tomaž Accetto in Gorazd Avguštin



Hanoj, obcestni
lokal s hitro hrano



Na srečo gostov ni
preveč, vsi imajo denar
in vse gre v redu...

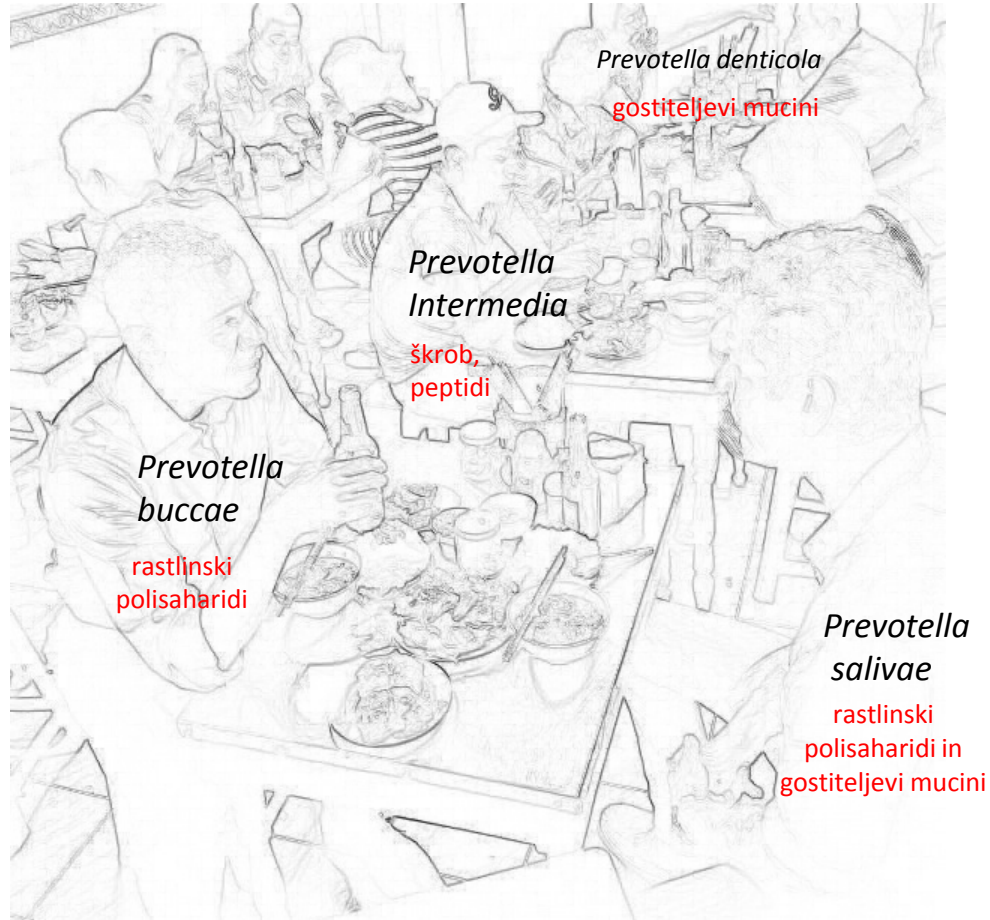


...si niso
konkurenca...

Vse sobivajo v slini...

Klasična razlaga:
zasedajo
različne niše v
stabilnem
ekosistemu.

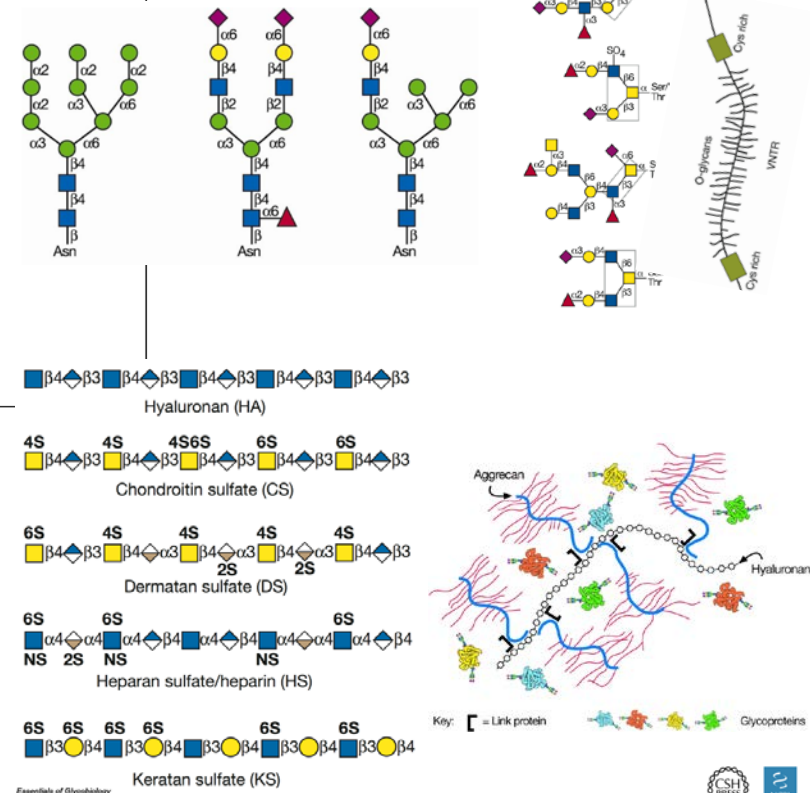
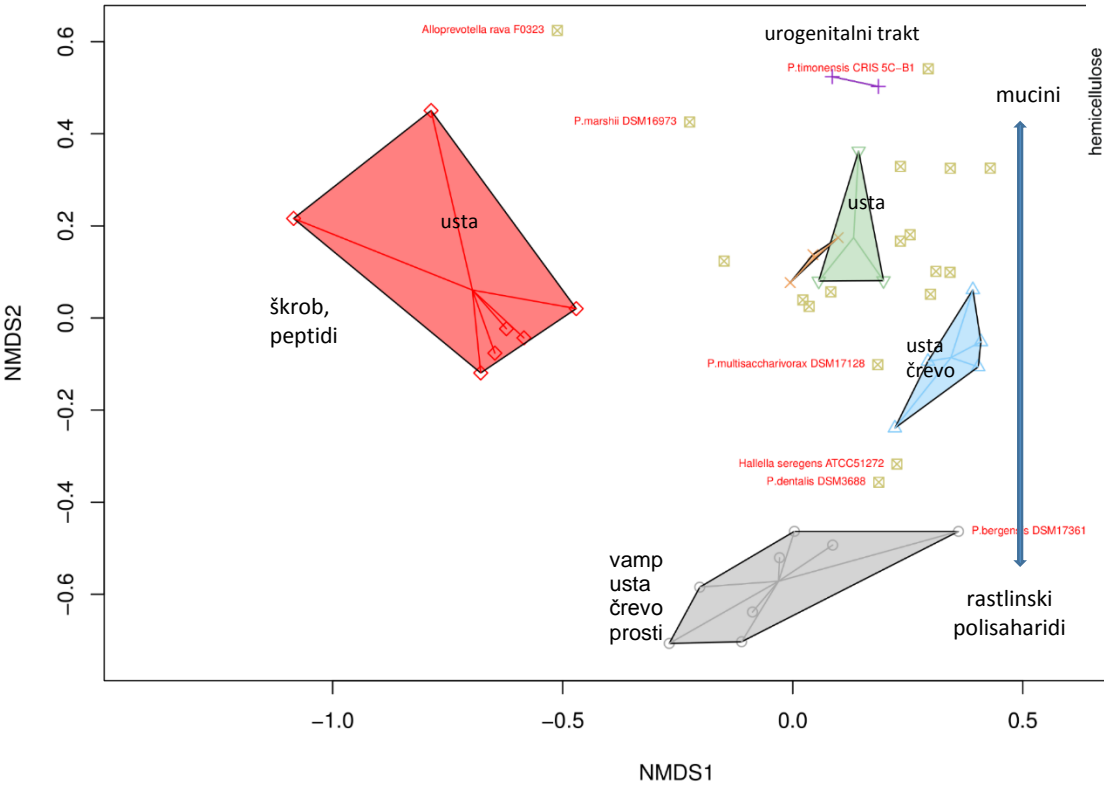
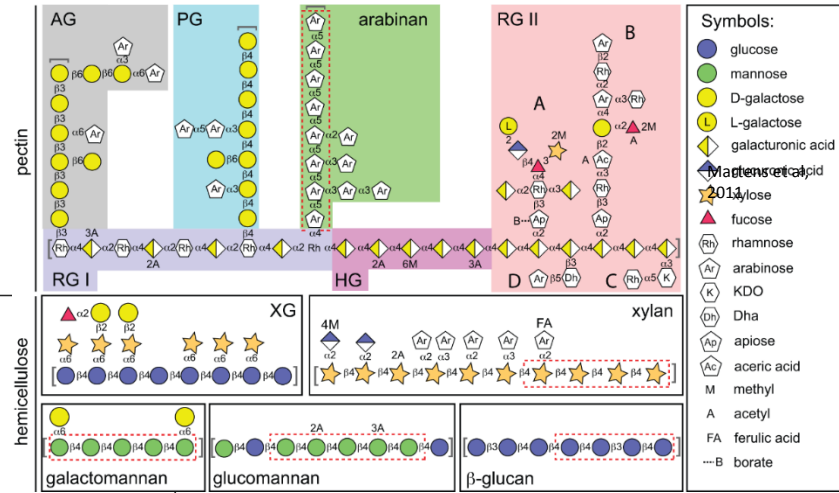
V prebavnem traktu
so glavni obrisi
dogajanja vezanega
na mikrobe znani,
dejanski opis
mikrobnih niš in
igralcev pa manjka...



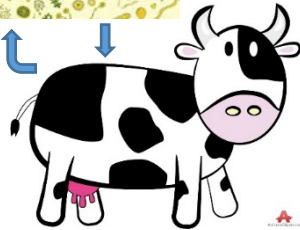
...si niso
konkurenca...



Menu



Spregledani
bistveni člen
prehranjevalne
mreže



10 % potreb
po energiji iz
fermentacije v
debelem
črevesu.

Do 50 % vseh bakterij vampa-imajo
izjemno vlogo v razkroju polisaharidov,
ključnem za vzdrževanje prehranske verige.

Ena od dominantnih skupin v
nekaterih človeških populacijah.

Zakaj bi bilo zanimivo poznati prehranske prilagoditve rodu *Prevotella*?

V zadnjem desetletju izjemno
zanimanje za črevesno mikrobioto

Prvih nekaj preglednih
člankov s ključno besedo
„Gut microbiota“, vse
ravnokar izšlo...

The Emerging Role of the Gut Microbiome in Adult Patients With **Multiple Sclerosis**.

Regulation of the gut microbiome by **inflammasomes**.

The **Central Nervous System** and the Gut Microbiome.

Linking the Human Gut Microbiome to **Inflammatory Cytokine** Production Capacity

Nutrition and the Gut Microbiome in the Elderly.

Shotgun Metagenomics of 250 Adult Twins Reveals **Genetic and Environmental Impacts** on the Gut Microbiome.

No Change in the Mucosal Gut Microbiome is Associated With **Celiac Disease**-Specific Microbiome Alteration in Adult Patients.

Gut feelings on microbiome modulation of **brain structure and function**

The infant gut microbiome correlates significantly with **rotavirus vaccine** response in rural Ghana.

The gut microbiome and **hypertension**

Feeding the **microbiota-gut-brain axis**: diet, microbiome, and neuropsychiatry.

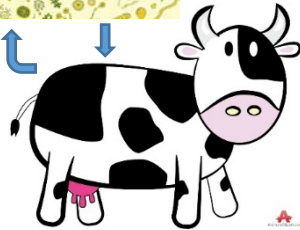
Gut microbiome and **liver diseases**.

Construction and Analysis of Functional Networks in the Gut Microbiome of **Type 2 Diabetes** Patients.

Gut Microbiome and **Behavior**: Focus on Neuroimmune Interactions.

The Gut Microbiome and Its Role in **Obesity**

Spregledani
bistveni
člen
prehranjevalne
mreže



10 % potreb
po energiji iz
fermentacije v
debelem
črevesu.

Do 50 % vseh bakterij vampa-imajo
izjemno vlogo v razkroju polisaharidov,
ključnem za vzdrževanje prehranske verige.

Ena od dominantnih skupin v
nekaterih človeških populacijah.

Zakaj bi bilo zanimivo poznati prehranske prilagoditve rodu *Prevotella*?

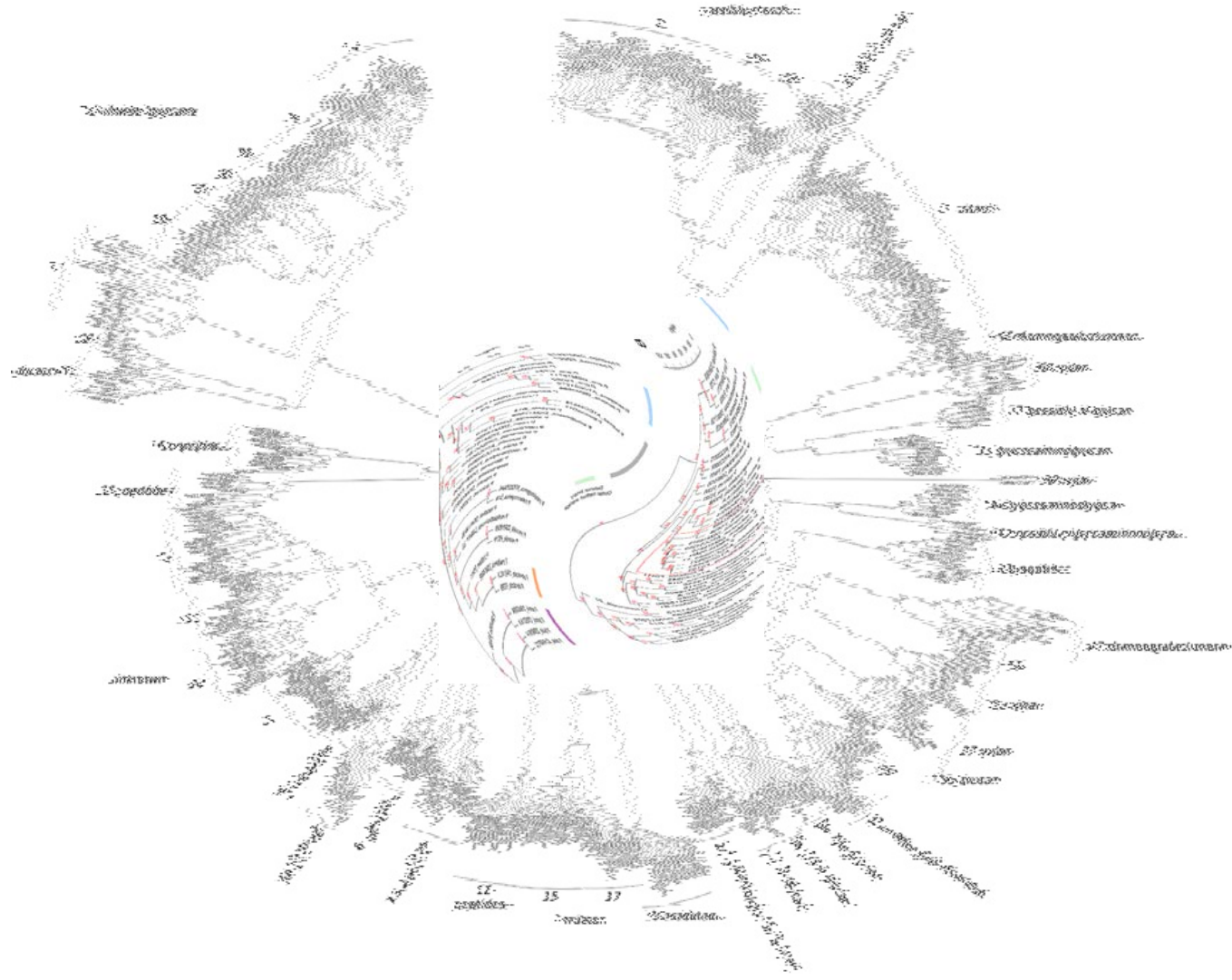
V zadnjem desetletju izjemno
zanimanje za črevesno mikrobioto

Podlaga omenjenim študijam
vedno popis prisotnih organizmov-
večinoma le do rodu!

Študije, kot je naša, šele dodajajo
vsebino popisom prisotnih vrst!
Mogoče kdaj katera od korelacij
postane kaj več-vzročna zveza?

Stranski produkt naše študije so
orodja za hitro napoved
biotehnološko zanimivih encimov

Hvala za pozornost!



Tetraciklinski antibiotik nove generacije učinkovit proti večkratno odpornim bakterijam

Hrvoje Petković

Odlični v znanosti – biotehnika, 24. 11. 2016, Kavarna Union

Lešnik, U, Lukežič, T, Podgoršek, A, Horvat, J, Polak, T, Šala, M, Jenko, B, Harmrolfs, K, Ocampo-Sosa, A, Martínez, L, Herron, PR., Fujs, Š, Kosec, G, Hunter, IS., Müller, R, Petković, H. (2015). Construction of a new class of tetracycline lead-structure with potent antibacterial activity using biosynthetic engineering. *Angew Chem Int Ed Engl.* 23;54(13):3937-40.

MEDNARODNI KONZORCIJ:

1. Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani



2. Acies Bio d.o.o., Ljubljana



3. Helmholtz-Institute for Pharmaceutical Research Saarland, Saarbrücken, Nemčija

Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland



4. Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Santander, Španija

5. Kemijski inštitut, Ljubljana

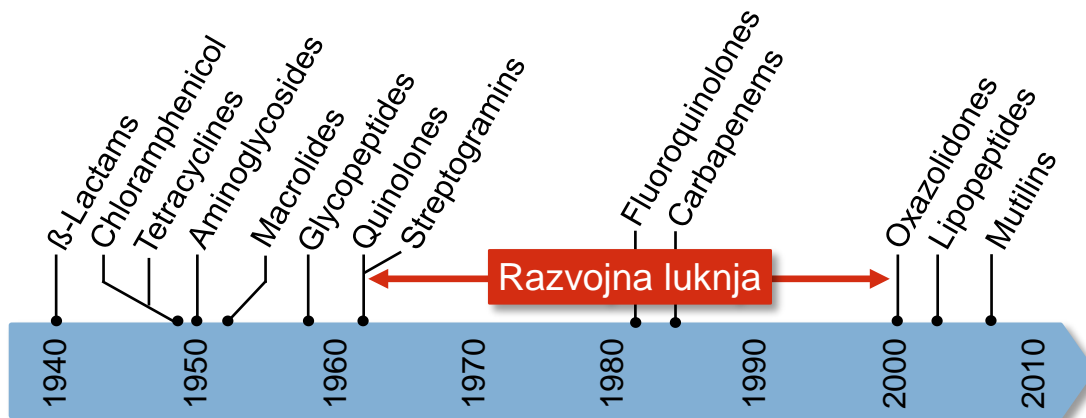


National Institute of Chemistry Slovenia

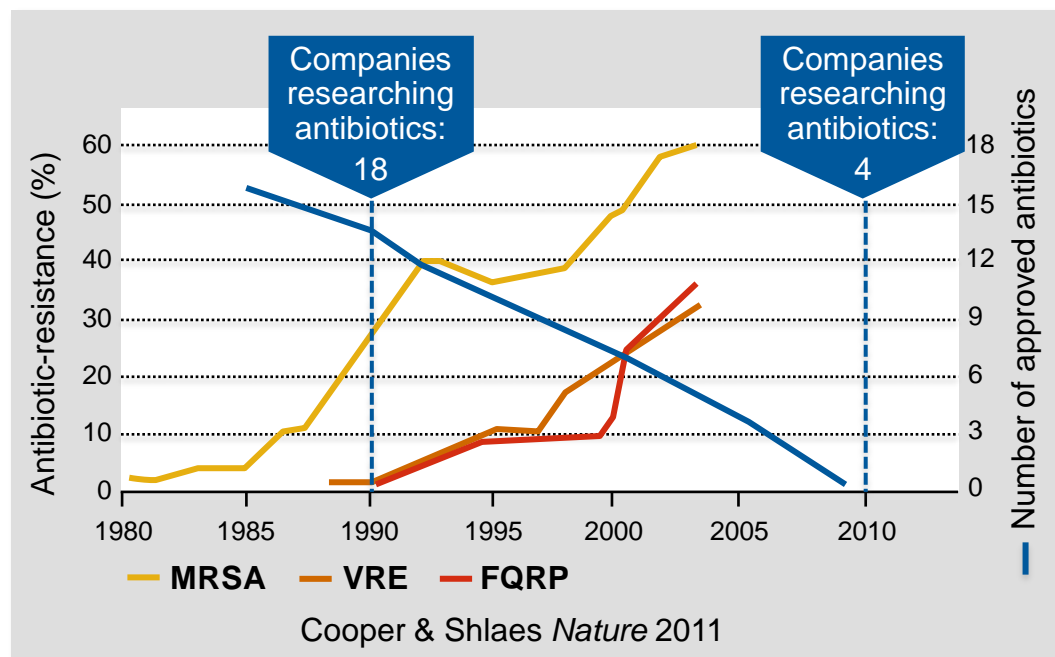
6. University of Strathclyde, Glasgow, Škotska



Zastoj v razvoju novih antibiotikov!



- Zelo nizko število novih antibiotikov v razvoju
- Večina antibiotikov pripada v iste skupine (klase)



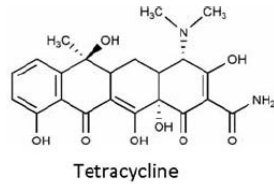
- Odpornost na antibiotike postaja ključen problem
- Farmacevtska industrija ne kaže dovolj velikega interesa
- **Velika potreba po "inovativnih" antibiotikih (nove klase)**

Kelokardin – nenavadni tetraciklinski antibiotik

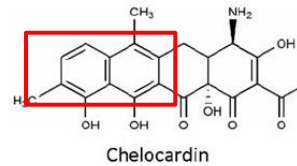
Kelokardin ima ključne zelene lastnosti potencialnega novega antibiotika:

- Nov mehanizem delovanja, ki ni značilen za tetraciklinske antibiotike
- Baktericidno delovanje
- Bolj planaren kot tipični tetraciklini, zaradi aromatiziranega obroča C

A

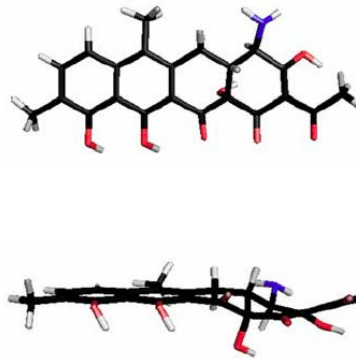
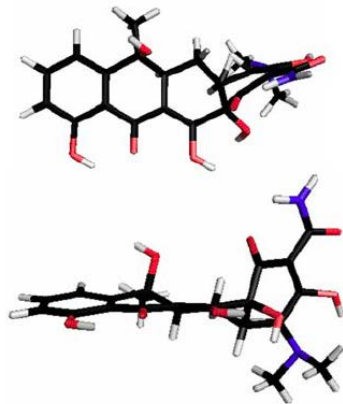


B

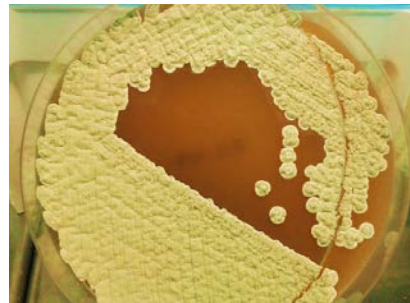


Medicinsko pomemben antibiotik oksitetraciklin (B)

Struktura "atipičnega" tetraciklinskega antibiotika kelokradina (B)



Bottom View
90°



V 1970-ih ga je odkrilo farmacevtsko podjetje Abbott

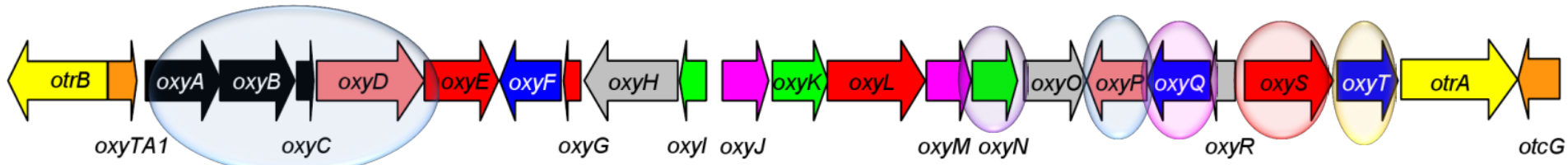
V 1970-ih letih potekal klinični test na kelokardinu za zdravljenje urinarnih infekcij: 12 pacientov

Rezultati zdravljenja obetavni, vendar Abbott ni nadaljeval!?

Streptomyces rimosus

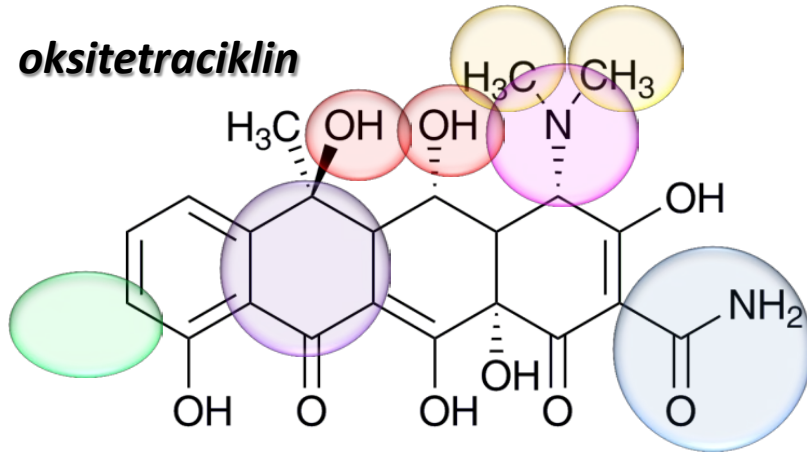
Amycolatopsis sulphurea

Pristopi biosinteznega inženirstva za pripravo novih TC analogov

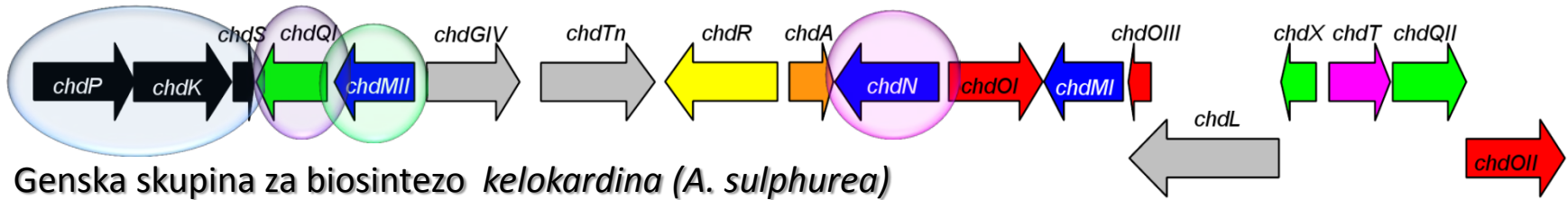
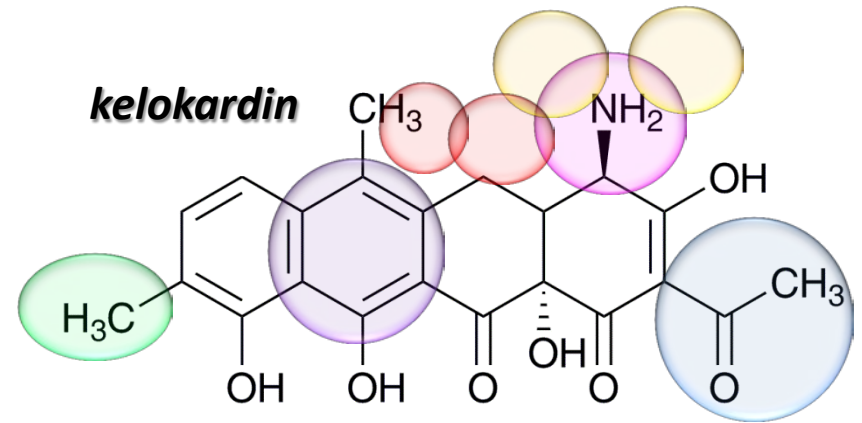


Genska skupina za biosintezo oksitetraciklina (*S. rimosus*)

oksitetraciklin



kelokardin



Genska skupina za biosintezo kelokardina (*A. sulphurea*)

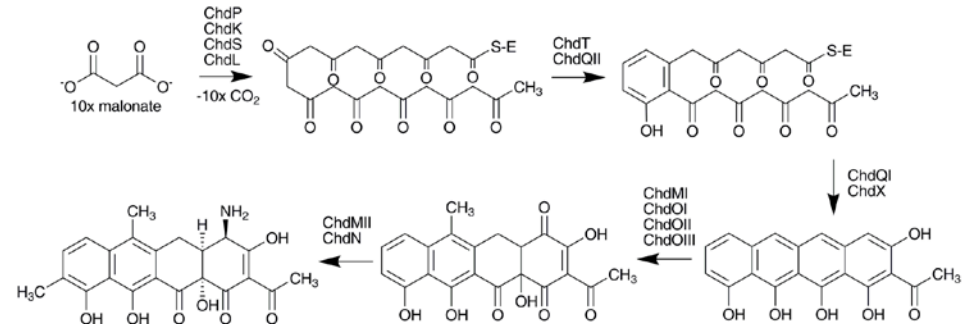
Raziskovalna skupina Biotehniške fakultete klonirala

gensko skupin za biosintezo kelokardina:

Lukežič et al., *Microbiology*. 2013, 59:2524-32

EP2154150 (A1) EP2154249 (A1) US8361777 (B2)

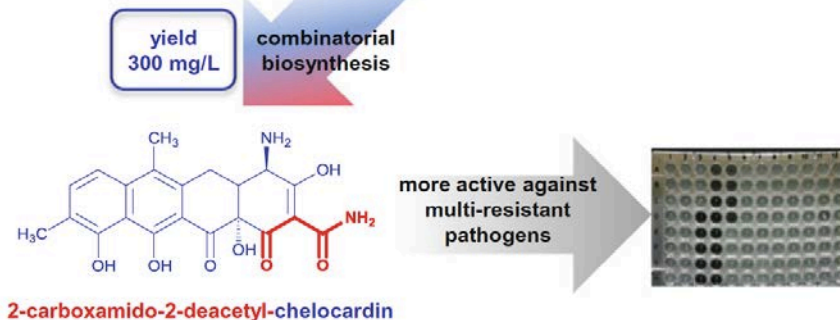
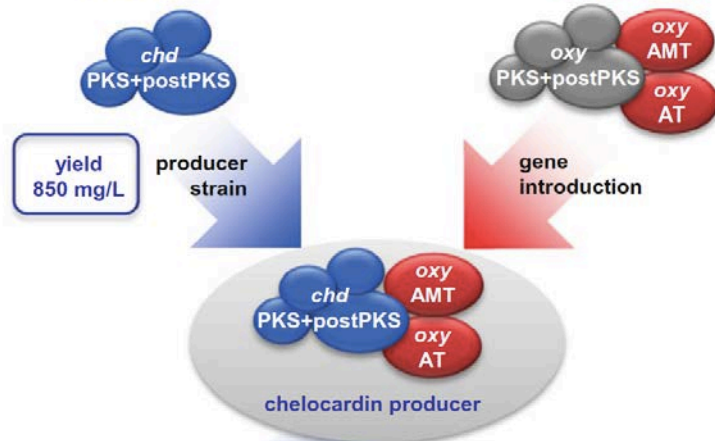
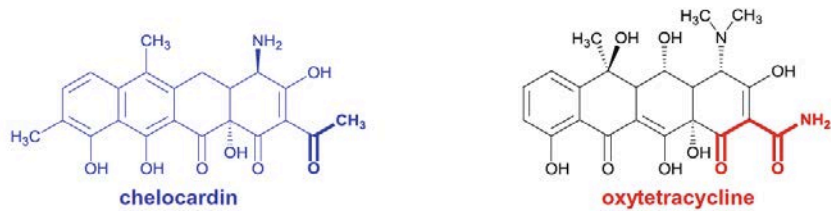
(IL: v lasti UL, licencirano Acies Bio d.o.o.)



Pristopi biosinteznega inženirstva za pripravo novih TC analogov



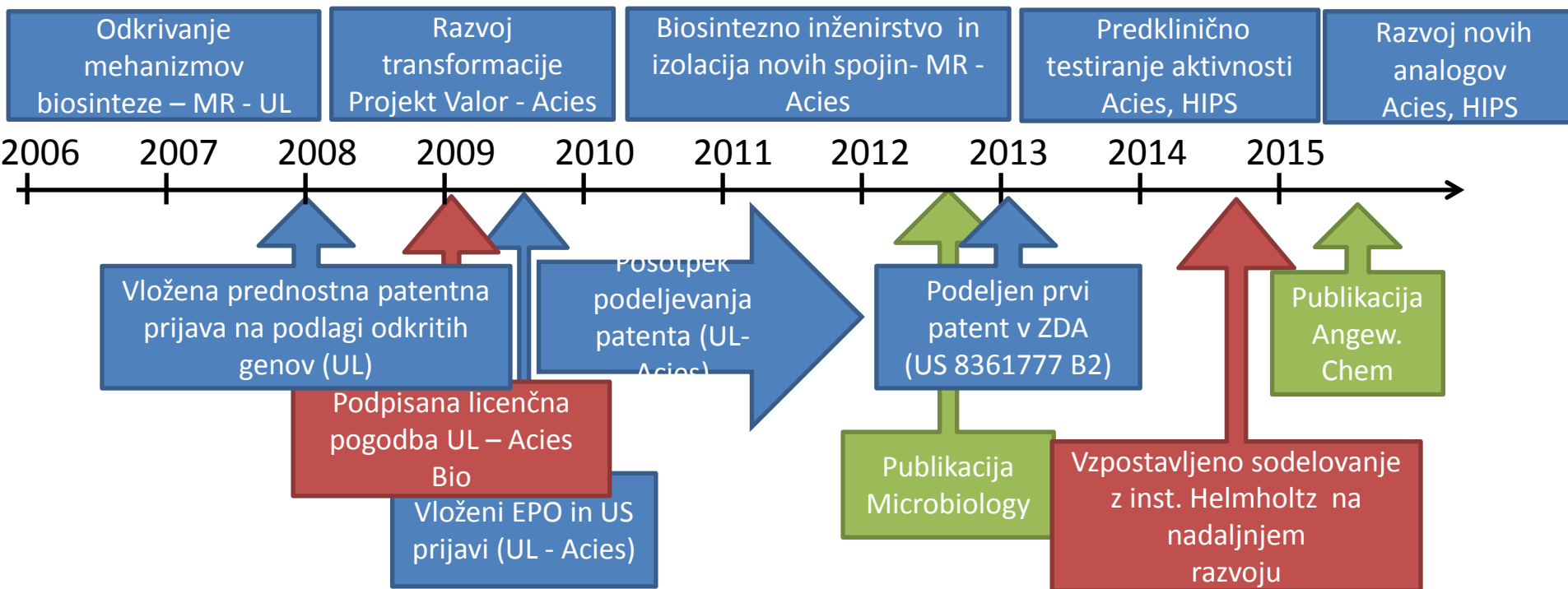
- 2 - 4 x višja aktivnost MIC₉₀ (v primerjavi s kelokardinom – CHD)
- Analog aktiven proti *Pseudomonas aeruginosa* (CHD – ni aktiven proti *P. aeruginosa*)
- nova TC matrica z zelo visoko aktivnostjo, ki jo sedaj še izboljšujemo
- zelo težko je razviti odporne patogene proti CHCHD v laboratoriju!



Izbrani večkratno odporni patogeni na katere praktično več ne delujejo nobeni antibiotiki:

Strain	Compound	MIC ₉₀
<i>E. coli</i>	CHD	8
	CDCHD	2
<i>K. pneumoniae</i>	CHD	16
	CDCHD	4
<i>E. cloacae</i>	CHD	4
	CDCHD	2
<i>A. baumannii</i>	CHD	16
	CDCHD	16
<i>P. aeruginosa</i>	CHD	>64
	CDCHD	32
<i>S. aureus</i> MR	CHD	4
	CDCHD	4
<i>E. faecium</i>	CHD	8
	CDCHD	2
All organisms	CHD	16
	CDCHD	8

Ključni koraki razvoja in zaščite IL pri programu analogov kelokardina



FINANČNA PODPORA:

ARRS (Mladi raziskovalec, dr. Urška Lešnik)
SPIRIT (Mladi raziskovalec, dr. Tadeja Lukežič)
VALOR: Sredstva TIA/EU

Največje finančno breme nosita AciesBio d.o.o. in
Helmholtz / HIPS
Direktor: prof. dr. Rolf Muller

Hvala za pozornost!!

Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland