

BIOmolekularec.si

Dan biomolekularnih znanosti

Zbornik povzetkov

Ljubljana, 27. septembra 2012

Organizator prireditve in založnik zbornika:

Slovensko biokemijsko društvo



Kraj prireditve: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101

Urednik zbornika: Marko Dolinar

Programski in organizacijski odbor:

Marko Dolinar (predsednik), Gregor Anderluh, Blaž Cigić, Marko Goličnik, Uroš Petrovič

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

577.2(082)(0.034.2)

DAN biomolekularnih znanosti (2012 ; Ljubljana)

Zbornik povzetkov [Elektronski vir] / Dan biomolekularnih znanosti, Ljubljana, 27. september 2012 ; [organizator prireditve Slovensko biokemijsko društvo ; urednik zbornika Marko Dolinar]. - El. zbornik v formatu pdf. - Ljubljana : Slovensko biokemijsko društvo, 2012

Način dostopa (URL): <http://biomolekularec.si/zbornik12.pdf>

ISBN 978-961-91651-7-1

I. Dolinar, Marko, 1961- 2. Slovensko biokemijsko društvo
263420928

PROGRAM

9:00 – 9:10 Otvoritev: Marina Drobnič Košorok, predsednica Slovenskega biokemijskega društva

[vodja sekcije Marko Dolinar]

9:10 – 9:20 Marina Demastia: Tudi rastline umirajo, mar ne?

9:20 – 9:30 Barbara Gerič Stare: Molekule rastlinskih škodljivcev

9:30 – 9:40 Metka Novak: Lubadarjem pri uspešnem napadu dreves pomagajo citokromi P450 simbiotskih gliv

9:40 – 9:50 Tamara Vujanič: Klopni inhibitor OmC2, zaviralec aktivnosti proteolitskih encimov katepsinov v imunskih celicah

9:50 – 10:00 Aleš Berlec: Kako narediti mlečnokislinske bakterije še bolj uporabne?

10:00 – 10:10

10:10 – 10:20 Boris Rogelj: Napredek pri raziskavah amiotrofične lateralne skleroze

10:20 – 10:30 Miha Modic: Kje končati mRNA – vloga novih faktorjev v nadziranju alternativnih poliadenilacijskih mest ter transkripcijske terminacije

10:30 – 10:40 Marko Chersicola: Anotacija in sekvenčna analiza genov, udeleženih pri posttranskripcijskem utišanju pri krompirju

10:40 – 11:00 odmor

[vodja sekcije Blaž Cigić]

11:00 – 11:10 pogovor z Jerico Sabotič (vodi Blaž Cigić)

11:10 – 11:20 Rok Borštnar: Računalniško načrtovanje novih zdravilnih učinkovin in prenos v prakso

11:20 – 11:30 Polona Žnidaršič Plazl: Mikrobioreaktorji

11:30 – 11:40 Nives Bogataj, Zala Gruden: Sončna celica s tulipanovim barvilom

11:40 – 11:50 Pia Klančar in Blaž Kešpet: Kako izdelati bioplastiko?

11:50 – 12:00 odmor

12:00 – 12:10 pogovor z Moniko Avbelj (vodi Marko Dolinar)

12:10 – 12:20 Tim Prezelj: Priprava himernega proteina kot potencialnega zdravila proti melanomu

12:20 – 12:30 Vito Frančič: Umetna komunikacija z avksinom

12:30 – 12:40 Marija Rogar: Povezava med aneuploidijo in rakom želodca pri slovenskih bolnikih

12:40 – 14:30 odmor za kosilo

[vodja sekcije Uroš Petrovič]

- 14:30 – 14:40 Anja Korenčič: Matematika v molekularni biologiji
- 14:40 – 14:50 Žan Pirc: Gelska elektroforeza v mojem laboratoriju
- 14:50 – 15:00 Maja Marušič: G-kvadrupleksi – štirivijačne strukture DNA
- 15:00 – 15:10 [pogovor s Sebastjanom Skubetom \(vodi Marko Dolinar\)](#)
- 15:10 – 15:20 Ajda Ota: Vloga nosilnih sistemov pri interakciji koencima Q10 z lipidnimi membranami
- 15:20 – 15:30 Jernej Markovc, Marcel Salmič in Gal Žvegelj: Povezava med laktatnim pragom in maksimalno porabo kisika z rezultati pri veslanju
- 15:30 – 15:40 Jan Salmič in Franci Stele: Filogenetska analiza ptičjih izolatov bakterije *E. coli* z metodo verižne reakcije s polimerazo
- 15:40 – 16:00 **odmor**

[vodja sekcije Marko Goličnik]

- 16:00 – 16:10 [pogovor s Filipom Cvetkom \(vodi Marko Goličnik\)](#)
- 16:10 – 16:20 Jasna Omersel: Posttranslacijske modifikacije antigenov in protiteles pri avtoimunskih boleznih
- 16:20 – 16:30 Lidija Kovačič: Amoditoksin kot orodje za študij nevrotoksičnih procesov
- 16:30 – 16:40 Alenka Guček: Elektrofiziološke meritve elementarnih dogodkov eksocitoze v astrocitih
- 16:40 – 16:50 Tanja Bele: Iskanje novih molekularnih tarč za zdravljenje migrenske bolečine
- 16:50 – 17:00 Jernej Kovač: Genetika avtizma: vpliv mutacij na razvoj možganov
- 17:00 – 17:10 [pogovor s Špelo Petrič \(vodi Marko Goličnik\)](#)
- 17:15 – 17:25 Podelitev nagrad Slovenskega biokemijskega društva, nato predavanji prejemnic Lapanjetovega priznanja:
- 17:25 – 17:45 Alja Videtič Paska: Genetika in epigenetika samomora
- 17:45 – 18:05 Jerica Sabotič: Gobe so bogat vir proteinov z nenavadnimi lastnostmi
- 18:05 – 18:30 Skupščina Slovenskega biokemijskega društva
- 18:30 – 20:00 Družabni večer

Kazalo:

Marina Demastia: Tudi rastline umirajo, mar ne?.....	7
Barbara Gerič Stare: Molekule rastlinskih škodljivcev	8
Metka Novak: Lubadarjem pri uspešnem napadu dreves pomagajo citokromi P450 simbiotskih gliv	9
Tamara Vujanič: Klopni inhibitor OmC2, zaviralec aktivnosti proteolitskih encimov katepsinov v imunskih celicah	10
Aleš Berlec: Kako narediti mlečnokislinske bakterije še bolj uporabne?	11
Boris Rogelj: Napredek pri raziskavah amiotrofične lateralne skleroze	12
Miha Modic: Kje končati mRNA – vloga novih faktorjev v nadziranju alternativnih poliadenilacijskih mest ter transkripcijske terminacije	13
Marko Chersicola: Anotacija in sekvenčna analiza genov, udeleženih pri posttranskripcijskem utišanju pri krompirju	14
Rok Borštnar: Računalniško načrtovanje novih zdravilnih učinkovin in prenos v prakso	15
Polona Žnidaršič Plazl: Mikrobioreaktorji	16
Nives Bogataj, Zala Gruden: Sončna celica s tulipanovim barvilom	17
Pia Klančar in Blaž Kešpet: Kako izdelati bioplastiko?	18
Tim Prezelj: Priprava himernega proteina kot potencialnega zdravila proti melanomu	19
Vito Frančič: Umetna komunikacija z avksinom	20
Marija Rogar: Povezava med aneuploidijo in rakom želodca pri slovenskih bolnikih	21
Anja Korenčič: Matematika v molekularni biologiji	22
Žan Pirc: Gelska elektroforeza v mojem laboratoriju	23
Maja Marušič: G-kvadrupleksi – štirivijačne strukture DNA	24
Ajda Ota: Vloga nosilnih sistemov pri interakciji koencima Q10 z lipidnimi membranami	25
Jernej Markovc, Marcel Salmič in Gal Žvegelj: Povezava med laktatnim pragom in maksimalno porabo kisika z rezultati pri veslanju	26
Jan Salmič in Franci Stele: Filogenetska analiza ptičjih izolatov bakterije <i>E. coli</i> z metodo verižne reakcije s polimerazo	27
Jasna Omersel: Posttranslacijske modifikacije antigenov in protiteles pri avtoimunskih boleznih ..	28
Lidija Kovačič: Amoditoksin kot orodje za študij nevrotoksičnih procesov	29
Alenka Guček: Elektrofiziološke meritve elementarnih dogodkov eksocitoze v astrocitih	30
Tanja Bele: Iskanje novih molekularnih tarč za zdravljenje migrenske bolečine	31
Jernej Kovač: Genetika avtizma: vpliv mutacij na razvoj možganov	32
Jerica Sabotič: Gobe so bogat vir proteinov z nenavadnimi lastnostmi	33
Alja Videtič Paska: Genetika in epigenetika samomora	34

Tudi rastline umirajo, mar ne?

Marina Dermastia

Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo

Smrt je neizbežna, a je nujen del življenja. Že dolgo vemo, da so določene celice v določenih razvojnih poteh razvojno predprogramirane, da bodo umrle. Raziskave, ki so se začele s proučevanjem programirane celične smrti (PCS) pri glistah, so vodile do odkritja da je proces splošno razširjen med organizmi, vključno z rastlinami. PCS ni sinonim za smrt organizma. S samožrtvovanjem izbranih celic organizmi podaljšajo svoje lastno življenje in povečujejo sposobnost preživetja svojih potomcev. Glavni elementi, ki so povezani s PCS pri rastlinah in živalih so isti. To so odstranjevanje poškodovanih ali okuženih tkiv, npr. pri preobčutljivostni reakciji; povezava z razvojnimi procesi, kot npr. pri oblikovanju prevodnih sistemov in zamenjava kratkoživečih celic, npr. listnih celic. Naše razumevanje molekulskih dogodkov med PCS je nepopolno, a nove raziskave odpirajo nove možnosti uporabe pridobljenega znanja.

Skoraj sinonim za programirano celično smrt pri živalih je apoptoza. Izraz v grščini pomeni odpadanje rastlinskih delov. Odmrli listi in zreli plodovi zares nadzorovano odpadajo, vendar tega odpadanja ne označuje apoptoza. Namesto apoptoza odpadanju danes strokovno rečemo abscizija, ki pa je le ena od oblik programirane smrti rastlinskih celic.

Prave apoptoze pri rastlinah ni, saj nastanek za apoptozo značilnih apoptotskih telesc preprečuje prisotnost celične stene. Najpogostejša oblika rastlinske PCS je avtoliza z encimi, shranjenimi v vakuoli. V do sedaj razvozlanih genomih rastlin nismo našli genov, ki bi kodirali beljakovine, homologne najznačilnejšim apoptotskim kaspazam. Kljub temu pa smo dokazali biokemične reakcije, ki so podobne kaspaznim, a so v njih vključene druge, kaspazam nesorodne beljakovine. Prav tako v rastlinah nismo našli drugih beljakovin, povezanih z apoptozo, a po laboratorijski vstavitvi genov za take proteine v rastlinski genom, so bili ti dejavni. To nakazuje, da so vsaj določeni deli apoptotske poti prisotni v rastlinskih celicah in da so se deli samouničevalnih poti pri različnih skupinah organizmov v evoluciji razvijali neodvisno.

Molekule rastlinskih škodljivcev

Barbara Gerič Stare

Oddelek za varstvo rastlin, Kmetijski inštitut Slovenije

www.kis.si

Naša zgodba pripoveduje o zdravju rastlin. Rastline so nujno potrebne za življenje, saj so vse druge oblike življenja vezane na rastlinsko hrano. Ali bomo lahko nahranili rastočo človeško populacijo, ki bo kmalu štela 8 milijard ljudi?

Samo zdrave rastline dajejo obilen in kakovosten pridelek. Rastlinski škodljivci in povzročitelji bolezni pa lahko popolnoma uničijo pridelek. Različni virusi, bakterije, glive, ogorčice in žuželke namreč podobno kot pri ljudeh tudi pri rastlinah povzročajo različne bolezni in poškodbe.

Kako usoden je lahko vpliv rastlinskih škodljivcev tudi za človeka se spomnimo ob zgodbi o veliki irski lakoti. Sredi 19. stoletja je krompirjeva plesen, ki jo povzroča gliva *Phytophthora infestans* povzročila propad pridelka krompirja na Irskem. Temu sta sledila huda lakota, ki je terjala okrog milijon življenj, in množično izseljevanje z Irske.

Tudi v današnjem času številni škodljivi organizmi ogrožajo zdravje rastlin. Vse pogosteje pa opazamo, da se tujerodne škodljive vrste širijo na področja, kjer prej niso bile razširjene, predvsem zaradi globalne svetovne trgovine in podnebnih sprememb.

Za zagotavljanje zdravja rastlin je izrednega pomena ustrezna in hitra diagnostika. Namen diagnostike je ugotoviti vrsto bolezni ali škodljivca, ki ogroža rastlino. To nam omogoča, da rastline zavarujemo, zdravimo in preprečujemo širjenje nevarnih škodljivih organizmov. Diagnostika rastlinskih škodljivcev in bolezni temelji na analizi oblike in zgradbe organizmov (morfologija), določanju specifičnih molekul z molekulskimi in biokemijskimi analizami ter na bioloških testih. Različne molekule, npr. DNA, RNA ali proteini, so lahko značilne za določeno vrsto organizma in te uporabljamo za diagnostične označevalce.

Poleg diagnostike opravljamo tudi raziskave rastlinskih škodljivih organizmov in njihovih interakcij z gostiteljskimi rastlinami. V aktualnih molekularnih raziskavah na osnovi raznolikosti DNA, RNA in proteinskih molekul ocenjujemo sorodstvena razmerja med populacijami škodljivih organizmov. Na tak način lahko ocenimo pot širjenja škodljivih organizmov in morebiten pojav novih genotipov – bolezni in škodljivci, ki so bolj prilagojeni in zato trdovratnejši za zatiranje.

Lubadarjem pri uspešnem napadu dreves pomagajo citokromi P450 simbiotskih gliv

Metka Novak

Kemijski inštitut, Laboratorij za molekularno biologijo in nanobiotehnologijo

Gozd, ki je slabo prilagojen hitrim okoljskim spremembam, je še posebno dovzeten za izbruhe lubadarja, ki je sicer pomemben del gozdnega ekosistema. K napadu in naselitvi hrošča pripomorejo patogene glive modrivke, ki oslabijo in razstrupljajo obrambne spojine smreke. Presnova in sposobnost razstrupljanja drevesnih obrambnih spojin naj bi omogočali glivi, da preživi v toksičnem mikrookolju pod lubjem. Razumevanje glivne obrambe skozi biokemijske, genomske in metabolomske študije bo omogočilo razumevanje vloge gliv v tej simbiozi, ter možnih vzrokov ekonomsko škodljivih izbruhov hroščev podlubnikov.

Nedavno so objavili zaporedje genoma in transkriptoma severno-ameriške glive modrivke *Grosmannia clavigera*, ki je uničujoč patogen na borovcih (*Pinus contorta*).

Iz transkriptomskih podatkov s terpenoidi inducirane micelija, je razvidno povišano izražanje nekaterih genov za citokrome P450 (krajše CYP oz. P450). Pri glivah citokromi P450 sodelujejo pri številnih pretvorbah tujih in glivi-lastnih metabolitov, kot so steroidi, aromatski ogljikovodiki in druge majhne molekule.

Na osnovi ekspresijskega profila smo heterologno, v bakteriji *E. coli* in kvasovki *S. cerevisiae*, izrazili določene citokrome P450. Da bi biokemijsko potrdili vlogo encimov pri razstrupljanju drevesnih obrambnih spojin, smo pripravili *in vitro* eksperiment, kjer smo za potrditev substratne specifičnosti kot substrat uporabili monoterepene. Z analizo metabolitov glive, tretirane s posameznimi monoterpeni, smo z uporabo plinske kromatografije sklopljene z masno spektrometrijo (GC-MS), določili posamezne intermediate v metabolnih poteh pretvorbe teh spojin.

Klopni inhibitor OmC2, zaviralec aktivnosti proteolitskih encimov katepsinov v imunskih celicah

Tamara Vujanič, Boris Turk, Tina Zavašnik-Bergant

Odsek za biokemijo, molekularno in strukturno biologijo, Institut »Jožef Stefan«

diplomska naloga, študij kemije na UL FKKT

Marsikateremu človeku je ugriz klopa spremenil življenje. Kljub svoji majhnosti predstavljajo prikrito grožnjo človeku in živalim, saj so vektorji povzročiteljev (bakterij, virusov) različnih bolezni (npr. klopnege meningoencefalitisa, borelioze in erlihioze). Klopi ob ugrizu v gostiteljev organizem izločijo različne molekule, ki temu parazitu omogočijo lažje prehranjevanje. Med njimi so v izločeni slini klopa prisotni tudi inhibitorji proteolitskih encimov (kot je klopni cistatin OmC2 iz klopa *Ornithodoros moubata*), ki lahko preko inhibicije delovanja tarčnih encimov v celicah gostitelja delujejo in vplivajo na imunski sistem organizma, ki ga je klop ugriznil.

V naši koži so prisotne posebne imunske celice (dendritične celice) z mnogimi kislimi organeli (endosomi, lizosomi), ki vsebujejo različne encime. Med njimi proteolitski encimi v lizosomih (imenovani katepsini) sodelujejo pri razgradnji celičnih proteinov. Prav tako so katepsini ključni proteolitski encimi pri postopni in uravnavani razgradnji telesu tujih molekul (antigenov), ki pridejo v organizem iz okolice. Imunske celice v koži tuje molekule fagocitirajo (jih zajamejo vase) in jih postopno v svojih celičnih organelih razgradijo na manjše dele. Na manjše peptide razgrajeni deli tuje beljakovine (antigena) se prenesejo na zunanjo stran celične membrane dendritičnih celic. Ob tem pride do nadaljnje kaskade dogodkov in sprožitve imunskega odziva gostitelja. Ker pa klop s svojo slino izloča tudi inhibitor katepsinov, t. j. OmC2, lahko onemogoči ali ovira pravilno delovanje gostiteljevih encimov v kisljih organelih, v katerih sicer poteka proteolitska razgradnja. To povzroči, da encimi gostitelja ne opravijo svoje naloge v celoti, torej ne razgradijo telesu tuje beljakovine, zato jo posledično dendritične celice v koži ne predstavijo limfocitom gostitelja dovolj uspešno. S tem klop prepreči sprožitev kaskade drugih proteinov, to pa lahko vodi do nepopolnega imunskega odziva gostitelja.

Da so tarče za delovanje klopnega inhibitorja OmC2 proteolitski encimi v kisljih veziklih (katepsini), smo potrdili s kinetičnimi študijami. Z njimi smo tudi dokazali, da je klopni cistatin OmC2 inhibitorno aktiven. Za laboratorijske poskuse smo uporabili posebno celično linijo, celice MUTZ3, ki v svojih celičnih organelih vsebujejo ustrezne encime (katepsine). V poskusih smo uporabili rekombinantni klopni inhibitor OmC2. Za opazovanje pod mikroskopom smo fluorescenčno označili klopni inhibitor OmC2 ter spremljali njegovo prehajanje v notranjost celice, t. j. v kisle lizosome, kjer se nahajajo encimsko aktivni katepsini. Označen inhibitor smo uporabili tudi pri naslednjem koraku našega dela, kjer smo vezavo fluorescenčno označenega inhibitorja v nastalih kompleksih s proteolitskimi encimi potrdili z metodo izoelektričnega fokusiranja.

Zaradi možnosti vplivanja na imunski sistem gostitelja predstavlja inhibitor klopni cistatin OMC2 možno tarčno molekulo za razvoj novega cepiva proti širjenju teh parazitov in z njimi povezanih povzročiteljev bolezni.

Kako narediti mlečnokislinske bakterije še bolj uporabne?

Aleš Berlec

Odsek za biotehnologijo, Institut »Jožef Stefan«

Mlečnokislinske bakterije (MKB) se uvrščajo med »dobre« bakterije. Že stoletja se uporabljajo pri pripravi hrane, npr. mlečnih izdelkov (sira, jogurta). Poleg tega poseljujejo človeške sluznice, pri čemer jih je količinsko največ v črevesju. Nekatere MKB imajo tudi dokazan dobrodejen vpliv na zdravje in jih imenujemo probiotiki. Pomagajo predvsem pri težavah s prebavo in diareji.

Pri svojem delu večinoma uporabljam modelne MKB vrste *Lactococcus lactis*. Njihovo uporabnost skušam povečati z vnosom ustreznih genov, s čimer pridobijo nove lastnosti.

Tako smo s sodelavci razvili bakterije, ki so tvorile sladek protein brazein. Le-ta je intenzivnega sladkega okusa, približno 2000-krat bolj sladek od saharoze in je primeren tudi za diabetike. Bakterije, ki bi ga proizvajale, bi lahko uporabljali za slajenje mlečnih izdelkov.

Razvili smo tudi sistem, ki omogoča pripenjanje različnih proteinov na površino bakterij. Na ta način lahko na površino pripnemo vezavne molekule, pomanjšane različice protiteles. Bakterije, ki imajo na površini vezalec za vnetni citokin TNF α , bi le-tega lahko vezale v črevesju in bi jih zato lahko uporabili za zmanjšanje simptomov kronične vnetne črevesne bolezni, pri kateri je koncentracija TNF α v črevesju povečana.

Virus hepatitisa A povzroča akutno vnetje jeter, ki predstavlja velik zdravstveni problem predvsem v manj razvitih deželah. S sodelavci smo pripravili bakterije, ki imajo na površini vezan plaščni protein virusa hepatitisa A. Takšne bakterije bi lahko uporabili kot cepivo, ki ga ni potrebno injicirati, pač pa ga je mogoče zaužiti. Cepivo smo preverili na miših in ugotovili povečanje koncentracije specifičnih protiteles.

Razvijamo tudi metode, ki podpirajo naše raziskovalne cilje, npr. nove načine vezave proteinov na površino bakterij. Tako smo z metodo »bakterijskega britja« identificirali nekatere površinske proteine bakterije *L. lactis*, ki jih lahko uporabimo pri površinski predstavitvi.

Genska manipulacija MKB omogoča nove načine uporabe. Njihova prisotnost na policah trgovin in lekarn pa bo odvisna predvsem od odnosa javnosti do GSO.

Napredek pri raziskavah amiotrofične lateralne skleroze

Boris Rogelj

Odsek za biotehnologijo, Institut »Jožef Stefan« in Zavod BRIS

Amiotrofična lateralna skleroza (ALS) je redka, vendar zelo huda bolezen, ki prizadene gibalne živčne celice v možganski skorji in deblu ter v hrbtenjači. Odmiranje teh celic povzroči usihanje mišic ter mišično šibkost in nazadnje hromost. Vzroki za nastanek bolezni, razen dednih, niso znani. Zato tudi uspešnih metod zdravljenja še ni.

Nove raziskovalne tehnike so v zadnjih letih omogočile bistven napredek v razumevanju bolezni. Do leta 2008 smo kot dedni vzrok bolezni poznali le spremembe v genu za superoksid dismutazo (SOD1). S pomočjo novih zelo zmogljivih metod ugotavljanja nukleotidnih zaporedij DNA pa so bile v zadnjih petih letih odkrite še spremembe v več drugih genih, ki povzročajo ALS. Med bolj pomembne sodijo geni za beljakovine TDP-43, FUS, ubikvilin 2, optinevrin in C9ORF72.

Hkrati znanstveniki razvijajo razne modele bolezni ALS, bodisi v celicah (glive kvasovke, celice sesalcev, človeške matične celice) ali pa pri živalih (vinske mušice, ribe cebrice, miške), ki jim ustrezno spremenijo dedni zapis. Na teh modelih raziskujemo procese, ki vodijo v bolezen, in razvijamo metode zdravljenja. Nove tehnike pridobivanja matičnih celic, npr. inducirane pluripotentne matične celice obetajo velik napredek v razumevanju in mogoče tudi zdravljenju ALS.

Kje končati mRNA – vloga novih faktorjev v nadziranju alternativnih poliadenilacijskih mest ter transkripcijske terminacije

Miha Modic

MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, Velika Britanija in
Gene Center & Department of Biochemistry, Univerza Ludwiga Maximiliana, München, Nemčija

Uravnavanje izražanja genov omogoči sintezo proteinov v zadostni količini in v danem trenutku. Poznanih je več mehanizmov, ki uravnavajo izražanje genov. Prva stopnja poteka na ravni DNA, pri čemer vezava transkripcijskih faktorjev ter epigenetski dogodki nadzorujejo transkripcijo. Bistveno vlogo pri regulaciji izražanja genov pa ima tudi posttranskripcijska genska regulacija (PTGR) na ravni RNA. Pri tem so ključni RNA-vezavni proteini, ki s svojo vezavo na pre-mRNA regulirajo procesiranje transkriptov. Ta proces med drugim zajema izrezovanje intronov ter uravnavanje procesiranja 3'-koncev transkriptov. Medtem ko postaja prav procesiranje 3'-koncev RNA z izbiro alternativnih poliadenilacijskih mest čedalje pomembnejše znanstveno vprašanje, pa faktorji tega mehanizma še vedno ostajajo slabo raziskani in nepojasneni.

V prispevku želim predstaviti globalni pristop raziskovanja, s katerim smo identificirali dva nova faktorja (TDP-43 in proteini TIA), ki vplivata na PTGR z nadziranjem alternativnih 3'-koncev ter s tem določata dolžino mRNA. Hkrati pa želim prikazati vlogo omenjenih proteinov ter PTGR na druge ravni regulacije izražanja genov, predvsem na to, kako procesiranje na ravni RNA povratno vpliva na epigenetske dogodke na ravni DNA ter s tem določa zaključek transkripcije.

Anotacija in sekvenčna analiza genov udeleženih v posttranskripcijskem utišanju pri krompirju

Marko Chersicola

diplomska naloga, študij biologije na UL BF; mentorica Kristina Gruden, NIB

Posttranskripcijsko utišanje genov (PTGS) je v rastlinskem svetu, izredno pomemben mehanizem, ki omogoča transkripcijsko homeostazo znotraj rastlinske celice. Kljub močnemu napredku znanosti na tem področju, je naše znanje o ključnih regulatornih komponentah ter mehanizmih, ki vodijo prepoznavo specifične vrste prepisa ter nadaljnje usmerjanje mehanizma genskega utišanja, še dokaj omejeno. Razpoložljivi podatki izvirajo predvsem iz raziskav, narejenih na navadnem repnjakovcu (*Arabidopsis thaliana* L.), kateri, kot modelni organizem seveda dobro služi namenu.

Čeprav so določeni procesi znotraj rastlinskega sveta zelo ohranjeni, so razlike med modelno rastlino ter rastlinami v komercialni uporabi lahko ogromne. Prav te razlike so običajno najbolj izrazite na ravni genoma.

Krompir (*Solanum tuberosum* L.) spada med najbolj uporabljene ter dobičkonosne poljščine na svetu in zaseda prvo mesto med dvokaličnicami. V primerjavi z njihovimi divjimi sorodniki, so današnje sorte veliko manj odporne na patogene, kot je na primer PVY (krompirjev virus Y), kar prinaša celo vrsto ekonomskih težav.

Zaradi tega smo se odločili, da bomo naredili raziskavo na krompirju, s katero bi nekoliko razširili obstoječe znanje glede PTGS pri tem organizmu, kar je pomembno za razumevanje interakcije med to poljščino in njenimi virusnimi patogeni.

Namen diplomskega dela je bil poiskati gene, udeležene v mehanizmu PTGS pri krompirju, jih na podlagi sestavljene ontologije smiselno razporediti v skupine glede na njihovo funkcijo, narediti podrobno sekvenčno analizo ene skupine ter klonirati nekatere predstavnike iz različnih krompirjevih kultivarjev za podrobnejše sekvenčne analize in nadaljnje funkcijske analize. Osredotočili smo se na gene iz skupine AGO (ang. Argonaute), saj smo pri njih opazili velike spremembe v izražanju po okužbi krompirja s PVY, ter zaradi njihove sredinske vloge v mehanizmu PTGS.

Računalniško načrtovanje novih zdravilnih učinkovin in prenos v prakso

Rok Borštnar

Laboratorij za računalniške bioznanosti in bioinformatiko, Kemijski inštitut (L01), Ljubljana, Slovenija, in Oddelek za celično in molekularno biologijo (ICM), Univerza v Uppsali, Švedska
rok.borstnar@guest.arnes.si

V sodobni znanosti vse bolj do izraza prihaja uporaba računalnikov, ne le kot sistemov za shranjevanje in urejanje enormnih količin eksperimentalnih podatkov, marveč tudi kot orodja, ki pomagata pri predvidevanju in napovedanju, kako se bodo prihajajoči dogodki odvijali. Tu bi mnogi pomislili na napovedovanje prihodnosti s perspektive astronomije ali celo astrologije, vendar kot bo na predavanju pokazano, je možno predvideti, kaj se bo dogajalo v samem človeškem telesu. Seveda gre pri tem za sinergijo znanj različnih naravoslovnih ved, kot so npr. medicina, kemija, fizika, matematika, in še mnogih drugih.

Na področju načrtovanja zdravilnih učinkovin se vse bolj zatekamo k uporabi računalniških simulacij za pojasnjevanje mehanizmov najrazličnejših kemijskih, fizikalnih in drugih reakcij, ki potekajo med zdravilno učinkovino in tarčnim sistemom, se pravi sistemom, ki ga želimo pozdraviti. Poleg tega pa želimo razumeti tudi, kako zdravilno učinkovino narediti, kako jo pripeljati do tarče in kako vsi ti procesi potekajo.

Znanstveniki se pogosto srečajo s problemom, kako pojasniti, kaj se dogaja v sistemu na ravni, ki prostim očem ni vidna. Pri Parkinsonovi in Alzheimerjevi bolezni je to največji problem, saj je kljub mnogim eksperimentalnim podatkom pogosto zelo težko pojasniti, kaj se je s sistemom zgodilo. Računalniške simulacije so v zadnjih nekaj letih zelo pomagale pri razjasnjevanju posameznih stopenj razvoja obeh bolezni, predvsem pa so pomagale pri pojasnjevanju razlik in morebitnih podobnosti med boleznima, kar je ponudilo nov pogled na celoten proces načrtovanja zdravilnih učinkovin za ti dve za sedaj še vedno neozdravljivi bolezni.

Združitev laboratorijskih in računalniških eksperimentov je srž našega dela, kar bo prikazano prav na primeru načrtovanja zdravilnih učinkovin za Parkinsonovo in Alzheimerjevo bolezen, kjer smo pri prvi pojasnjevali mehanizem delovanja laboratorijsko pripravljenih zdravilnih učinkovin, pri drugi pa kako bi lahko uporabili substance, ki so že prisotne v človeškem telesu, kot zaviralce Alzheimerjeve bolezni.

Mikrobioreaktorji

Polona Žnidaršič Plazl

Laboratorij za mikroprocesno inženirstvo, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Podobno kot je v prejšnjem stoletju mikroelektronika pomenila preobrat za informacijsko tehnologijo, predstavlja v tem stoletju mikroreaktorska tehnologija prelomnico in pomemben dejavnik razvoja na številnih področjih, od proizvodnje gorivnih celic, farmacevtske in kemijske industrije, do medicinske tehnologije, biotehnologije in okoljevarstva. Narava v številnih procesih že tisočletja uporablja prednosti mikrometrskega nivoja, saj so žive celice v bistvu biokemijski mikroreaktorji, večcelične oblike življenja pa izkoriščajo koncept povečanja števila (angl. numbering-up) v množici različic. Za razliko od narave sta znanost in tehnologija šele pred kratkim začeli izkoriščati pojave na mikro nivoju za praktično uporabo.

V zadnjem desetletju se miniaturizirane naprave uporabljajo predvsem v analitiki, v razvojnih fazah kemijskih procesov, postopoma pa se uveljavljajo tudi v industrijskih proizvodnjah. Tudi na področju biotehnologije je opazen tovrstni trend in številne študije nakazujejo smiselnost uporabe miniaturiziranih naprav v genetskih raziskavah, proteomiki, v raziskavah delovanja celic in vpliva farmacevtskih učinkovin nanje ter ne nazadnje v razvojnih fazah bioprocessov. V številnih primerih proizvodnje najrazličnejših spojin so se mikroreaktorski sistemi pokazali kot boljša možnost od konvencionalnih reaktorjev, saj nudijo velike prihranke časa in denarja pri razvoju procesov, boljšo možnost nadzora procesa ter izjemno učinkovitost, kar je predvsem posledica izjemno učinkovitega prenosa toplote in snovi v mikroreaktorju, majhnih razdalj in nadziranega toka tekočin v sistemu.

Povezava biokatalitskih procesov z mikroreaktorsko tehnologijo predstavlja velik potencial razvoja na tem področju, še posebno v zgodnjih fazah razvoja bioprocessov. Zaradi preproste menjave posameznega mikroreaktorja v sistemu paralelnih enot v primeru izgube aktivnosti so zanimivi tudi za vpeljavo v industrijske sinteze. Nadaljnja integracija encimskih mikroreaktorjev z zaključnimi procesi bi omogočila zelo učinkovite in okolju prijazne proizvodnje.

Sončna celica s tulipanovim barvilom

Nives Bogataj, Zala Gruden

Gimnazija Vič

mentorici: Alenka Mozer (Gimnazija Vič), Urša Opara Krašovec (UL FE, Laboratorij za fotovoltaike)
srebrno priznanje na državnem tekmovanju mladih raziskovalcev 2012, kategorija Kemija ali kemijska tehnologija – srednje šole

V raziskovalni nalogi sva opisali zgodovino in vrste sončnih celic ter se podrobneje posvetili elektrokemijski sončni celici na osnovi tulipanovih barvil. Raziskali sva njeno delovanje, zgradbo in pomen sestavnih delov. Raziskali pa sva tudi zgradbo in lastnosti barvil, ki so prisotna v cvetnih listih rumenih in rdečih tulipanov.

Iz tulipanov sva najprej poskusno izolirali barvila iz cvetnih listov v različnih topilih: voda, etanol in heksan. Nato sva barvila testirali v elektrokemijski sončni celici. Sončnim celicam, pripravljenim z najinimi barvili, sva izmerili kratkostični tok in napetost odprtih sponk ob osvetlitvi ter ugotovili, da celice s tulipanovimi barvili delujejo.

V nadaljevanju sva iz rumenih in rdečih tulipanov ekstrahirali barvila v organskih topilih z različno polarnostjo: voda, aceton, etanol, dietileter, heksan. Izmerili sva absorbanco ekstrahiranih barvil s spektrofotometrom. Ugotoviti sva želeli, katero barvilo bi bilo najbolj primerno za izdelavo elektrokemijske sončne celice, ki bi delovala v vidnem delu svetlobnega spektra.

Barvila z največjo absorbanco sva nato še enkrat ekstrahirali v topilih aceton, voda in dietil eter. Ponovno sva izmerili absorbanco barvil in jih, glede na njihovo absorbcijo v vidnem delu spektra, uporabili pri izdelavi nove serije elektrokemijskih sončnih celic. Želeli sva ugotoviti, ali ima celica z barvilom iz rdečih tulipanov v določenem topilu res največji izkoristek, tako kot sva napovedali glede na rezultate merjenja absorbance.

Ugotovili sva, da je izkoristek elektrokemijskih sončnih celic z barvilom rdečih tulipanov boljši od celic z barvilom rumenih tulipanov. Med barvili rdečih tulipanov pa je izstopalo barvilo v topilu aceton, in sicer z veliko boljšim izkoristkom od vseh ostalih. Izkoristek sončne celice, izdelane z ekstrahiranimi barvili rdečih tulipanovim v acetonu, je bil primerljiv s komercialnimi sončnimi celicami z organskimi barvili.

Kako izdelati bioplastiko?

Pia Klančar in Blaž Kešpert

I. gimnazija v Celju

mentorica: Mojca Plevnik Žnidarec (I. gimnazija v Celju)

srebrno priznanje na državnem tekmovanju mladih raziskovalcev 2012, kategorija Ekologija z varstvom okolja – srednje šole

Plastični materiali so v glavnem umetni polimeri - makromolekule, ki jih označujejo visoke molske mase. Skoraj vsa plastika je danes sintetizirana iz surovin, ki jih preko petrokemijske industrije pridobivamo iz fosilnih goriv. Paleta plastičnih proizvodov je zelo široka, z njimi pa se srečujemo skoraj na vsakem koraku. Po podatkih se vsako leto na svetu proizvede okoli 300 milijonov ton nove plastike. Od tega je 33 % takšne, ki je namenjena enkratni uporabi, potem pa se zavrže. Zanimiv je podatek, da se 85 % plastike ne reciklira, kar posledično rezultira v ogromne količine plastičnih odpadkov. Plastika je zaradi številnih dodatkov zelo obstojna, tovrstni odpadki pa se ravno zaradi tega ne morejo vključiti v naravne tokokroge in predstavljajo veliko okoljsko breme. V zadnjem času se veliko razmišlja o posledicah uporabe plastike. Po mnenju strokovnjakov ključno alternativo predstavljajo biorazgradljivi polimeri. Pri razvoju le-teh naj bi bilo v večini pristopov vodilo zgledovanje po naravnih procesih.

Vse to nas je napeljalo na raziskovalno delo. Po pregledu literature in virov smo ugotovili, da v Sloveniji trenutno nimamo proizvodnje biorazgradljive plastike. Biorazgradljiva plastika se sicer po izgledu ne razlikuje veliko od konvencionalno pridelane. Za identifikacijo tovrstne plastike smo uporabniki vezani le na oznake in napise na izdelkih.

Odločili smo se, da poizkusimo izdelati bioplastiko kar v šolskem laboratoriju. V ta namen smo preučili različne recepture za izdelavo le-te. Z eksperimentalnim delom smo raziskovali vpliv reakcijskih pogojev na hitrost nastanka bioplastike, kakor tudi njene končne lastnosti. Pri izdelavi bioplastike smo uporabili različne vrste škroba. Sami smo ga izolirali iz krompirja, uporabili pa smo tudi dve vrsti kupljenega škroba. Glede na vhodne surovine smo izračunali stroške nastalega produkta. Veseli smo bili, da nam je iz rastlinskega škroba res uspelo narediti okolju prijazen in v celoti biorazgradljiv produkt – bioplastiko.

Priprava himernega proteina kot potencialnega cepiva proti melanomu

Tim Prezelj

Škofijska klasična gimnazija

mentorica: Alja Oblak (Kemijski inštitut, Laboratorij za biotehnologijo (L12)), somentorica: Ana Bavec (Škofijska klasična gimnazija, Ljubljana)

zlato priznanje na državnem tekmovanju mladih raziskovalcev 2011, kategorija Biologija – srednje šole

tim.prezelj@gmail.com; <http://www.ki.si/index.php?id=192>

Pri varovanju našega telesa pred vdorom tujkov igra ključno vlogo imunski sistem, ki ga delimo na naravni in pridobljeni imunski odziv, ki med seboj sodelujeta. Pri tem igrajo pomembno vlogo Tollu podobni receptorji (TLR), ki omogočajo celicam naravne imunosti, da prepoznajo specifične molekule, značilne za mikroorganizme ter nato aktivirajo celice pridobljene imunosti.

Imunski sistem pa je pomemben tudi pri odkrivanju rakavih celic. Rakava obolenja v današnjem času predstavljajo velik problem, saj za njimi zboleva vse več ljudi. Eden izmed pogostejših je tudi kožni melanom, za katerega še vedno ni učinkovitega načina zdravljenja, število obolelih pa je vse večje.

Zato je pomemben razvoj cepiv, ki bi nastanek raka preprečila. Učinkovito cepivo poleg antigena (molekule, proti kateri želimo spodbuditi imunski odziv) potrebuje tudi adjuvans (molekule, ki aktivirajo celice imunskega sistema, npr. ligandi receptorjev TLR).

Zato smo si v naši raziskovalni nalogi zadali cilj, da izdelamo himerni protein, ki bi bil sestavljen delno iz konstitutivno aktivnega receptorja TLR4 (vloga adjuvansa) in delno iz tirozinaze (vloga tumorskega antigena). Tak himerni protein bi lahko služil kot (potencialno) gensko cepivo proti malignemu melanomu.

Prednost genskih cepiv pred proteinskimi je predvsem ta, da omogočajo ciljno zdravljenje, vnesena DNA pa se ne razširi po celotnem telesu. To pomeni, da je manjša možnost za sprožitev pretiranega imunskega odziva in s tem hudega vnetja. Genska cepiva so tudi stabilnejša in cenejša od proteinskih (čiščenje DNA je enostavnejše od čiščenja proteinov), kar močno poveča njihovo uporabo v državah tretjega sveta.

Priprava himernega proteina je uspela; s pomočjo metod molekularne biologije smo pripravili DNA z zapisom za himerni protein ter preverili nukleotidno zaporedje. Potrdili smo tudi izražanje proteina s pomočjo konfokalne mikroskopije.

Z raziskovalnim delom smo pokazali nov pristop k izdelavi protitumorskih cepiv. Z zamenjavo tirozinaze za poljuben (tumorski) antigen bi lahko uporabo razširili tudi na druga (rakava) obolenja.

Umetna komunikacija z avksinom [Ideja za raziskavo]

Vito Frančič, študent 3. letnika Biokemije (UL FKKT)

Celice izločajo snovi, ki jim omogočajo medsebojno komunikacijo. Mednje spadajo signali za rast, signali za diferenciacijo, itd.

Raziskovalcem je že uspelo ustvariti bakterijske, glivne, živalske in rastlinske celice, ki za komunikacijo uporabljajo tujo snov. Obstajajo tudi že primeri komunikacije znotraj in med različnimi kraljestvi, ki za signaliziranje uporabljajo majhne molekule, kot so acetaldehid, arginin in dušikov monoksid. Težava pri sistemu, ki uporablja acetaldehid, je v tem, da je hlapljiv in so potrebna zaprta gojišča za preprečevanje zmanjševanja njegove koncentracije. Drugi sistem sicer omogoča signalizacijo med sesalskimi celicami, a je za signaliziranje potrebno dodajanje arginina. Tretji sistem pa omogoča le signaliziranje na kratke razdalje, saj je dušikov monoksid kratkoživa molekula z razpolovnim časom 2-5 s.

Pogoja, da je umetno signaliziranje uspešno, sta, da je signal zadosti močen (sintetizira se zadosti signalne molekule) in da signal ne škoduje celicam (molekula ni toksična).

Lahko bi pripravili sistem, ki ne bi imel prej omenjenih omejitev in bi obenem zadostil obema pogojema. Baziral bi na avksinskem degronu, ki kot signalno molekulo uporablja rastlinski rastni hormon avksin. Ta molekula je primerna, ker je majhna in dobro prehaja membrano, ni hlapljiva, je dobro topna in celicam ni škodljiva. Sistem bi deloval tako, da bi se v enem tipu celic izražali encimi za sintezo avksina bakterijskega ali rastlinskega izvora, v drugem tipu pa avksinski degron. Ta je rastlinskega izvora in deluje tako, da ob povišani koncentraciji avksina pride do razgradnje proteinov, ki sicer delujejo kot represorji genov. Celice, ki sintetizirajo avksin, bi tako vplivale na izražanje genov v drugem tipu celic.

Sistem bi lahko izboljšali z izražanjem avksinskih transporterjev PIN1 (eksport) in AUX1 (import), ker je signal v celici močnejši, če ta sprejme več molekul, in ker je sinteza avksina uspešnejša, če se ta sproti odstranjuje.

Ta sistem bi lahko omogočil konstrukcijo naprednih celičnih računalnikov in biosenzorjev.

Povezava med aneuploidijo in rakom želodca pri slovenskih bolnikih

Marija Rogar, Petra Hudler

Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta UL

Rak je bolezen sodobnega časa, s staranjem prebivalstva se njegova pojavnost zviša, zato postaja pomemben zdravstveni, socialni in ekonomski problem. Epidemiološka predvidevanja kažejo, da bo po umrljivosti prehitel bolezni srca in ožilja.

Rak želodca je četrti najpogostejši tip raka na svetu in drugi najpogostejši vzrok smrti zaradi malignih obolenj. Simptomi zgodnjega raka želodca so slabo prepoznavni, tako da je običajno diagnosticiran šele v poznih stadijih. V želodcu se lahko pojavlja več različnih vrst rakastih tvorbo; med njimi je najbolj pogost adenokarcinom, ki histološko predstavlja 95 % vseh malignih obolenj želodca, tvoriti pa se začne v epiteljskih celicah želodčne sluznice.

Razvoj raka želodca je kompleksen proces, na katerega vplivajo genetski in epigenetski dejavniki. Med genetske dejavnike prištevamo napake v delovanju popravljanih genov, napake pri podvojevanju DNA, sem se uvrščajo tudi onkogeni, tumor zaviralni geni, mikrosatelitska nestabilnost in kromosomska nestabilnost, ki sta tudi glavni temi novejših študij celične biologije raka želodca.

Mikrosatelitska zaporedja DNA sestavljajo kratka ponavljajoča se zaporedja nukleotidov. V tumorskih celicah se število mikrosatelitskih ponovitev razlikuje od števila v zdravi celici.

Druga prevladujoča oblika genske nestabilnosti je kromosomska nestabilnost, katere fenotip je posledica napak v genih, ki so odgovorni za pravilno ločevanje genetskega materiala med mitozo. Posledica je spremenjeno število kromosomov v hčerinskih celicah, pride do takoimenovanega pojava aneuploidije. Kromosomska nestabilnost je pogosta pri epiteljskih tumorjih raka debelega črevesja, pljuč, dojk, prostate in želodca. Povezana je s slabo preživetveno dobo in metastatskim tipom raka.

Pri slovenskih bolnikih z rakom želodca želimo ovrednotiti prisotnost aneuploidije in hkrati poiskati polimorfizme v genih, ki so vključeni v pravilno razdeljevanje kromosomov med hčerinskima celicama, ter poiskati specifične markerje v krvi, s pomočjo katerih bi bila mogoča diagnostika raka na želodcu v začetnih stadijih.

Matematika v molekularni biologiji

Anja Korenčič

Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta UL

Že v 19. stoletju je Gregor Mendel s pomočjo matematike prišel do ugotovitev o dominantnem in recesivnem dedovanju, kasneje pa je sledil razmah matematike v študijah evolucije in rasti populacij.

V zadnjem času z uporabo matematike poskušamo razjasniti procese, ki se odvijajo na ravni molekul in so tako za preučevanje s prostim očesom neprimerni. Eden od takih procesov so cirkadiane ure (latinsko 'circa diem' pomeni 'približno en dan'). Gre za 24-urne ritme, ki skrbijo za prilagoditev organizmov življenju na Zemlji. Cirkadiane ure 'tiktakajo' na ravni molekul in temeljijo na samo-uravnavanju izražanja določenih genov.

Za gene cirkadiane ure je značilno, da imajo v svojih regulatornih regijah tri osnovne promotorske elemente: E-škatile, D-škatile in elemente ROR. Proteinski produkti genov cirkadiane ure delujejo kot transkripcijski faktorji ravno preko teh regulatornih elementov in skrbijo za aktivacijo ali inhibicijo prepisovanja. Vemo, da preplet vplivov cirkadianih proteinov poskrbi za to, da se določeni geni izrazijo v točno določenem času dneva, natančen mehanizem pa ostaja nerazložen.

Cirkadiana ura je torej zapleten sistem; le na osnovi eksperimentalnih podatkov izražanja genov ni mogoče dobiti vpogleda v delovanje mehanizma cirkadiane ure. Mehanizem bi lahko bolje razumeli s pomočjo matematičnih modelov. Na osnovi lastnih podatkov izražanja cirkadianih genov v jetrih miši in podatkov o promotorskih regijah smo zasnovali poenostavljeno omrežje uravnavanja cirkadianih genov, ki smo ga opisali s sistemom šestih diferencialnih enačb z zamikom.

Preko matematične analize modela smo sklepali na različne lastnosti cirkadiane ure, ki jih lahko vzamemo za izhodišče pri nadaljnjih raziskavah. Ugotovili smo, da so za določanje faze izražanja posameznega gena nujni vsi trije cirkadiani promotorski elementi, najmočnejši vpliv pa imajo E-škatile. Prav tako smo ugotovili, kateri izmed genov cirkadiane ure je za to uravnavanje najpomembnejši. S simulacijami vpliva zunanjih dražljajev (npr. svetlobe) lahko tudi razlagamo opažene razlike v izražanju genov v jetrih miši pri različnih svetlobnih pogojih.

Gelska elektroforeza v mojem laboratoriju

Žan Pirc

Gimnazija Šentvid

mentorja: Vlasta Brvar (Gimnazija Šentvid), Marko Dolinar (UL FKKT, Katedra za biokemijo)

bronasto priznanje na državnem tekmovanju mladih raziskovalcev 2012, kategorija Biologija – srednje šole

V raziskovalni nalogi sem si zastavil naslednji problem: kako doseči manj abstraktno poučevanje genetike v srednjih in osnovnih šolah. Že od vsega začetka sem se osredotočil na gelsko elektroforezo, ki se mi je zdela za ta namen najbolj primerno orodje. Elektroforeza je analitska metoda za ločevanje makromolekul glede na njihov naboj in velikost. Ima širok spekter uporabe, saj se uporablja vse od molekularne biologije, biokemije, pa do forenzike.

Ker imajo šole zelo omejena sredstva in ker so pri laboratorijskih vajah prisotni dijaki, ki nimajo veliko izkušenj z ravnanjem s toksičnimi kemikalijami, sem se odločil raziskati predvsem dva aspekta: kako naj naredim elektroforezno napravo s čim manj stroški, ter kako naj zdravju škodljive kemikalije zamenjam z nenevarnimi.

Elektroforezno napravo sem načrtoval po vzoru laboratorijskih elektroforez. Uporabil sem tudi enak material – pleksi steklo –, pri elektrodah pa sem uporabil bakreno žico.

Za nadomestitev drage agaroze sem uporabil cenejši agar. Agarni gel je vplival na končni rezultat, saj je manj prečiščen od agaroze in je zato rezultat manj natančen. Prav tako je agarni gel bolj krhek od agaroznega, zato bi se za šolsko uporabo izkazal kot neprimeren.

Nanašalni pufer sem nadomestil z mešanico iz glicerola in rdečega barvila za živila. Pufer se je kljub pomanjkljivosti – potoval je hitreje kot DNK –, izkazal za primernega.

Kot netoksično alternativo pri barvilu za DNK sem izbral metilensko modrilo, ki se je kljub bolj zapletenemu postopku nanašanja izkazalo za kvalitetno in natančno. Preizkusil sem tudi barvilo SYBR Safe, ki ga uporabljajo v raziskovalnih laboratorijih. To se je izkazalo za kvalitetno, a predrago barvilo.

Naredil sem tudi poskus z alternativnim virom napetosti - pet 9 V, vzporedno vezanih, baterij. Kljub daljšemu času analize so se baterije izkazale za primerne.

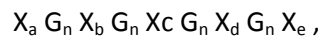
V nalogi sem uspel narediti elektroforezno napravo z malo stroški in ugotoviti, katere cenejše in nenevarne kemikalije bi bile uporabne pri delu v šolah.

G-kvadrupleksi – štirivijačne strukture DNA

Maja Marušič

Nacionalni center za NMR spektroskopijo visoke ločljivosti, Kemijski inštitut
marusic.maja@ki.si

Medtem ko je dvojno vijačna DNA danes slavna ne le v svetu znanosti, temveč predstavlja njena struktura navdih za arhitekta in umetnike, preostale strukturne oblike DNA še čakajo na svojih pet minut slave. Ena izmed teh struktur je štiriverižna DNA. Zanj je značilno, da se med seboj povežejo štiri z gvanini bogata DNA zaporedja, med katere so lahko vrinjeni drugi nukleotidi. V splošnem takšno zaporedje zapišemo:



kjer je G_n zaporedje n -tih gvaninov, $X_{a/b/c/d/e}$ pa poljubno dolgo zaporedje poljubnih nukleotidov.

Povezava verig poteka preko parjenja štirih gvaninov z vodikovimi vezmi, pri čemer nastane G-kvartet. Štiriverižna DNA ali G-kvadrupleks sestavlja več eden na drugega naloženih G-kvartetov, za njeno stabilnost pa so potrebni kationi. Medtem ko verigi v dvojno vijačni DNA nadvse dolgočasno vedno potekata v nasprotni smeri, so pri G-kvadrupleksih možne vse kombinacije in sta lahko v nasprotno smer obrnjeni nobena, ena ali dve verigi. Med gvaninske ponovitve vrinjeni nukleotidi tvorijo zanke, ki povezujejo štiri verige med seboj. Usmerjenost verig, dolžina zank, vrsta nukleotidov v zankah in način poteka zank so strukturne lastnosti, zaradi katerih so G-kvadrupleksi kljub enakemu jedru zelo različni med seboj.

Sprva se je zdelo, da v živih celicah takšne strukture ne morejo nastati. Toda izkazalo se je, da so v genomih živih bitij območja, kot so promotorji genov in telomerni konci kromosomov, z nenavadno velikim številom gvaninov, ki se lahko zvijejo v G-kvadruplekse. Poleg tega so odkrili proteine, ki vežejo štirivijačno DNA in sodelujejo v procesih translacije, transkripcije in rekombinacije. Vse to kaže, da imajo G-kvadrupleksi vlogo pri izražanju genov, kar želijo raziskovalci izkoristiti z načrtovanjem molekul, ki bi z vezavo na štirivijačno DNA vplivale na izražanje genov. Pri našem delu z jedrsko magnetno resonanco ugotavljamo, kakšne G-kvadruplekse tvorijo zaporedja iz promotorskih regij genov ter določamo njihovo 3D strukturo, kar predstavlja osnovo za načrtovanje vezavnih molekul.

Vloga nosilnih sistemov pri interakciji koencima Q10 z lipidnimi membranami

Ajda Ota, Nataša Poklar Ulrih

Katedra za biokemijo in kemijo živil, Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta

Koencim Q₁₀ (CoQ₁₀, ubikinon) je lipofilni antioksidant v lipidnih membranah, še posebej v notranji mitohondrijski membrani. Ima vlogo prenašalca elektronov med kompleksi mitohondrijske dihalne verige. CoQ₁₀ je ključna komponenta v proizvodnji celične energije v obliki adenozin trifosfata (ATP) in deluje kot lovilec prostih radikalov (antioksidant). Poleg svoje bioenergetske funkcije in funkcije lovilca prostih radikalov CoQ₁₀ obnavlja alfa-tokoferol (vitamin E), še en pomemben antioksidant. CoQ₁₀ se uporablja kot dodatek k prehrani in je zelo priporočljiv pri zdravljenju različnih bolezni srca in ožilja, degenerativnih bolezni mišic in zdravljenju raka.

Zaradi dolge izoprenoidne stranske verige je molekula CoQ₁₀ zelo hidrofobna. Nepopolna in počasna absorpcija CoQ₁₀ iz prebavil je posledica njegove slabe topnosti v vodi in visoke molekulske mase. Da bi izboljšali njegovo biorazpoložljivost so razvili nove tehnologije vgrajevanja v nosilne sisteme za učinkovito uporabo tega lipofilnega antioksidanta.

Pri vgrajevanju ene snovi v drugo nastajajo delci velikosti od nekaj nanometrov do nekaj milimetrov. Nameni vgrajevanja so: lažje delo z aktivno učinkovino, imobilizacija aktivne učinkovine med obdelavo živil, izboljšanje stabilnosti med procesiranjem in stabilnosti končnega produkta, izboljšana varnost, ustvarjanje novih senzoričnih lastnosti, maskiranje priokusov in ne nazadnje kontrolirano sproščanje. Poznamo različne sisteme za vgrajevanje, kjer se kot nosilci uporabljajo ciklodekstrini, modificiran škrob, oljne emulzije, polisaharidi itd.

Vpliv nosilnih sistemov na interakcijo CoQ₁₀ z membrano še ni poznan. Interakcijo CoQ₁₀ (vgrajenega v različne nosilne sisteme) z membranami proučujemo z uporabo različnih metod kot so fluorimetrija, kalorimetrija in elektronska paramagnetna resonanca. Kot modelne celične membrane uporabljamo liposome, sestavljene iz sintetičnih ali naravnih lipidov oziroma njihovih mešanic. Spremembe v modelnih membranah ob dodatku različnih pripravkov CoQ₁₀ in njihovih nosilcev spremljamo z uporabo fluorescentnih in spinskih označevalcev, ki jih vgradimo v modelne membrane.

Povezava med laktatnim pragom in maksimalno porabo kisika z rezultati pri veslanju

Jernej Markovc, Marcel Salmič in Gal Žvegeli

Gimnazija Jesenice

mentorja: Katarina Trontelj (Gimnazija Jesenice), Janez Vodičar (UL FŠ, Inštitut za šport)

bronasto priznanje na državnem tekmovanju mladih raziskovalcev 2012, kategorija Druga področja – srednje šole

Poznavanje fizioloških kazalcev, med katerimi sta najpomembnejša maksimalna poraba kisika in laktatni prag, je v športu zelo pomembno za načrtovanje optimalnega treninga, v našem primeru v veslanju. Laktatni prag je intenzivnost mišičnega dela, pri kateri pride do izrazitega dviga koncentracije laktata v krvi zaradi presežene kapacitete oksidativnega metabolizma, maksimalni sprejem kisika (VO_{2max}) pa je največja količina kisika, ki jo športnikov organizem lahko sprejme v časovni enoti.

Samo testiranje ne pove toliko o veslačevem maksimumu na tekmi, kjer so prisotni še drugi dejavniki, poda pa mnoge odgovore o fizičnih sposobnostih in lastnostih posameznika. Namen naloge je bil ugotoviti povezave med laktatnim pragom in VO_{2max} ter rezultati testiranj na veslaških ergometrih (simulatorjih veslanja). Zanimalo nas je, ali višje/nizje vrednosti teh dveh kazalcev pri posameznikih pomenita tudi boljši/slabši rezultat na ergometrih.

Izvedli smo dve testiranji laktatnega praga in O_{2max} - eno marca pred začetkom sezone in drugo konec leta. Rezultate testiranj smo primerjali z rezultati na ergometrih v istih dveh obdobjih. Odkrili smo povezavo med boljšim laktatnim pragom in boljšimi rezultati, s čimer smo potrdili našo prvo hipotezo, da višji laktatni prag pomeni boljšo vzdržljivost. Pokazali smo tudi, da obstajajo določene anomalije (odstopanja v rezultatih zaradi nekaterih drugih dejavnikov). V splošnem lahko rečemo, da smo potrdili smotrnost teh testiranj.

Filogenetska analiza ptičjih izolatov bakterije *Escherichia coli* z metodo verižne reakcije s polimerazo

Jan Salmič in Franci Stele

Gimnazija Poljane, Ljubljana

mentorici: Jana Škrlep (Gimnazija Poljane), Marjanca Starčič Erjavec (UL BF, Oddelek za biologijo)

zlato priznanje na državnem tekmovanju mladih znanstvenikov 2012, kategorija Biologija – srednje šole

Namen naloge je bil v filogenetske (pod)skupine razvrstiti 90 ptičjih izolatov *E. coli*. Viri izolatov so bile ptice s slovenskih kmetij, okrasne ptice, ptice iz ZOO Ljubljana in mestni golobi. Podobne raziskave, ki bi obravnavala filogenetske (pod)skupine sevov *E. coli* v slovenskih pticah, nisva zasledila. Zastavila sva si dve raziskovalni vprašanji in sicer: (i) Kakšna bo prevalenca filogenetskih (pod)skupin v zbirki izolatov in (ii) Ali se bo prevalenca filogenetskih (pod)skupin sevov razlikovala glede na skupino ptice donorke. Nazadnje sva najine rezultate primerjala z rezultati diplomske naloge, ki se je ukvarjala s filogenetskimi (pod)skupinami *E. coli* pri človeku in predpostavila, da podobnosti glede na prevalenco filogenetskih (pod)skupin ne bo.

Delo sva izvedla tako, da sva iz bakterijskih celic ob segrevanju v hipotoničnem okolju izolirala DNK, ta je nato služila kot matrična DNK za verižno reakcijo s polimerazo (PCR). S PCR sva pomnožila tri genske označevalce: TspE4.C2, *chuA* in *yjaA*. Rezultate pomnoževanja sva odčitala z metodo agarozne gelske elektroforeze. Nazadnje sva seve razvrstila v filogenetsko (pod)skupino glede na prisotnost oz. odsotnost genskih označevalcev.

Ugotovila sva, da v zbirki prevladujejo sevi skupine A, podskupine A0. Prav tako obstajajo razlike med filogenetsko (pod)skupino seva glede na ptico donorko: v pticah, katerih naravno okolje je podobno slovenskemu, prevladujejo sevi A, A0, v pticah iz suhega in tropskega pasu pa so se pojavljali sevi B1. To je v skladu z dosedanjimi raziskavami, ki so ugotovile povezanost med ekologijo gostitelja in sevom *E. coli*, ki ga lahko kolonizira. Primerjava s človeškimi sevi ni pokazala podobnosti, v skladu s prejšnjimi raziskavami pa izstopajo sevi podskupine B23, ki so specifični za človeka, pojavljajo pa se tudi pri nekaterih pticah, posebej golobih, kar razlagava s fekalno-oralnim prenosom človek - ptica.

Vpletenost posttranslacijskih modifikacij antigenov in protiteles v patogenezo avtoimunskih bolezni

Jasna Omersel

Katedra za klinično biokemijo, Fakulteta za farmacijo UL

Razločevanje lastnega od tujega je temeljna značilnost imunskega sistema. Poleg učinkovite obrambe pred mikrobi to preprečuje nezaželeno prepoznavanje lastnih proteinov (antigenov), ki sicer vodi do nastanka avtoimunskih bolezni (celiakije, revmatoidnega artritisa, diabetesa, multiple skleroze, ...). Imunski sistem ne napada lastnih celic – je do njih toleranten. Zaradi okvar tkiva (ob vnetju), spremenjenih funkcij imunskih celic, genetskih in okoljskih dejavnikov ter spremenjenih antigenov pa kljub temu prihaja do napak v toleranci. Imunske celice limfociti B pričnejo sintetizirati avtoprotitelesa, ki napadejo in poškodujejo lastna tkiva oz. posamezen organ. Avtoprotitelesa v krvi pacienta lahko potrdimo s številnimi laboratorijskimi metodami, ter tako pomembno prispevamo k potrditvi diagnoze neke avtoimunske bolezni.

Kako, zakaj in kdaj lahko imunski sistem telesu lasten protein prepozna kot tuj, so številna vprašanja raziskovalcev temeljnje/bazične avtoimunosti. Pri mnogih boleznih so odkrili proteine, ki so bili po sintezi na ribosomih encimsko ali kemijsko spremenjeni (fosforilirani, oksidirani, glikozilirani, ...). Takšne posttranslacijske modifikacije proteinov sicer predstavljajo pomemben mehanizem uravnavanja bioloških procesov (transport proteinov v celici, encimska aktivnost, ...), dokazana pa je bila tudi njihova vpletenost v nastanek avtoimunskih bolezni.

Pri eksperimentalnem delu smo v epruveti z raztopino protiteles simulirali proces oksidacije in s tem povzročili kemijsko spremembo v verigah aminokislin, ki sestavljajo molekule protiteles. Proces oksidacije je spremenil vezavne lastnosti protiteles – vezala so se s telesu lastnimi proteini. Da bi ugotovili, ali so oksidirana protitelesa zmožna sprožiti bolezensko stanje, smo jih po oksidaciji dodali v žive celične kulture. Opazovali smo spremembo oblike in spremljali živost endotelijskih celic ter določali vnetne molekule, ki so jih celice izločale.

Rezultati so potrdili predpostavko, da so tudi protitelesa, tako kot ostale proteinske molekule v našem telesu, lahko podvržena številnim modifikacijam, posledica tega pa je izguba prvotne obrambne vloge. S tem smo nakazali možen mehanizem nastanka avtoimunskih bolezni in dodali nov delček v nastajajoči mozaik znanega s področja avtoimunosti.

Amoditoksin kot orodje za študij nevrotoksičnih procesov

Lidija Kovačič

Odsek za molekularne in biomedicinske raziskave, Institut »Jožef Stefan«

Sekretorne fosfolipaze A_2 so encimi, ki katalizirajo cepitev glicerofosfolipidov in so prisotni v številnih živalskih strupih ter navzoči v različnih živalskih organih. Ti encimi so vpleteni v mnoge patofiziološke procese, kot so imunska pomanjkljivost, ateroskleroza, vnetne bolezni, rak, akutni dihalni sindrom, endotoksični šok, nevritogeneza, embriogeneza, ishemija in Alzheimerjeva bolezen.

Iz modrasovega strupa izolirani amoditoksin je presinaptično nevrotoksična fosfolipaza A_2 , ki je strukturno zelo podobna sesalskim fosfolipazam A_2 iz skupin II, V in X in predstavlja model za študijo zgoraj omenjenih procesov. Natančen mehanizem njegove toksičnosti še ni poznan, vendar se ve, da je za delovanje amoditoksina potrebna tako vezava na specifične receptorje v živčnem končiču kot tudi njegova encimska aktivnost. V nevronskega tkivu je bila pokazana interakcija amoditoksina z znotrajceličnimi proteini, kalmodulinom, in nekatera dejstva kažejo, da je v proces toksičnosti amoditoksinov vpleten tudi ta zgoraj omenjeni protein.

Da bi lahko razvozlali, kako je kalmodulin vpleten v toksičnost amoditoksina, smo na podlagi eksperimentalnih podatkov z računalniškim modeliranjem izdelali tridimenzionalne modele kompleksov različnih fiziološko pomembnih fosfolipaz A_2 s kalmodulinom. Ti modeli so bili in še bodo v pomoč pri načrtovanju poskusov z namenom ugotavljanja pomembnosti teh interakcij pri določenih celičnih efektih po delovanju fosfolipaz A_2 . Model kompleksa med amoditoksinom in kalmodulinom lepo pojasnjuje izmerjeno stabilizacijo amoditoksina s kalmodulinom v citosolnih pogojih ter celo 20-kratno povečanje encimske aktivnosti amoditoksina v kompleksu s kalmodulinom. Podobno smo iz omenjenih modelov napovedali in nato tudi eksperimentalno pokazali povečanje encimske aktivnosti sesalskih fosfolipaz A_2 iz skupin V in X v prisotnosti kalmodulina. To kaže na pomembno vlogo kalmodulina pri znotrajcelični regulaciji aktivnosti fosfolipaz A_2 .

Elektrofiziološke meritve elementarnih dogodkov eksocitoze v astrocitih

Alenka Guček

Laboratorij za neuroendokrinologijo - molekularno celično fiziologijo, Medicinska fakulteta UL
alenka.gucek@mf.uni-lj.si

Razvoj večceličnih organizmov je pogojen z vzpostavitvijo uspešne komunikacije med celicami. Primer so možgani, kjer nevroni med seboj komunicirajo s sproščanjem neurotransmiterjev znotraj sinaps. Podpore nevronom zagotavljajo celice glije, a opravljajo tudi številne druge naloge. Astrociti (najštevilčnejši podtip glije) sproščajo glijotransmiterje (glutamat, D-serin, ATP, GABA). Pomemben mehanizem sproščanja glijotransmiterjev je regulirana eksocitoza, ki lahko vodi v modulacijo sinaptičnega prenosa med pre- in posinaptičnim nevronom.

Regulirana eksocitoza v astrocitih poteče kot odziv na dvig znotrajcelične koncentracije prostih kalcijevih ionov ($[Ca^{2+}]_i$). Membrana sekretornih mešičkov, ki vsebujejo glijotransmiterje, se v procesu eksocitoze zlije s plazmalemo. Zlitje je lahko dokončno (popolna fuzija) ali začasno (prehodna fuzija). Pri slednji obliki nastane t.i. fuzijska pora, ki omogoča izstop glijotransmiterjev v zunajcelični prostor. Vrsta in količina glijotransmiterjev, ki bodo lahko izstopili, sta omejeni s premerom fuzijske pore in časom, kako dolgo je odprta. Razumevanje sproščanja glijotransmiterjev na molekularni ravni predstavlja temelj za razumevanje sproščanja signalnih molekul na celični in za vlogo teh v procesih komunikacije na višje-sistemskih organizacijskih ravneh.

Fuzijo mešičkov s plazmalemo lahko merimo elektrofiziološko s tehniko pritrjene krpice membrane. Z merilno pipeto osamimo del membrane velikosti $\sim 1\mu m^2$, kjer merimo kapacitivnostne spremembe, linearno povezane s spremembami površine membrane. Diskretni skoki zrcalijo elementarne dogodke eksocitoze (povečanje površine) in endocitoze (zmanjšanje površine membrane). Amplituda skokov je povezana s premerom mešička. Meritve kažejo, da se frekvenca elementarnih dogodkov eksocitoze poveča s stimulacijo celice, v kateri zvišamo $[Ca^{2+}]_i$. Dodatno se spremenijo tudi lastnosti posameznega dogodka. Prevladujejo dogodki prehodne fuzije, katerim življenjska doba odprtosti se podaljša. Ti dogodki so občutljivi na tretiranje z botulinusnimi nevrotoksini, kar kaže na vlogo posebnih proteinov SNARE v tem procesu. Zanimivo je, da so lastnosti različno velikih mešičkov različne. Narava tega ni znana in je predmet bodočih raziskav.

Iskanje novih molekularnih tarč za zdravljenje migrenske bolečine

Tanja Bele in Elsa Fabbretti

Center za biomolekularne znanosti in inženiring, Univerza v Novi Gorici

Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije (WHO), 15 % prebivalcev razvitega sveta trpi za različnimi oblikami migrenske bolečine. Zaradi pomanjkanja znanja o kronični bolečini v splošnem, zdravila, ki se trenutno uporabljajo niso učinkovita, raziskave na tem področju pa pomembne za odkrivanje novih tarč za izboljšanje zdravljenja. Na poti do učinkovitejše terapije je potrebno delovanje na treh ravneh. Izboljšati zdravljenje ob napadih migrenskega glavobola, preprečiti njihovo ponovitev in izboljšati diagnostiko. Naloga je vse prej kot enostavna, saj se migrena pri ljudeh kaže na izjemno raznolike načine.

Migrena je kompleksna nevrološka bolezen za katero še vedno ne vemo kaj jo pravzaprav sproža, kje izvira in zakaj poleg glavobola pri večini migrenskih bolnikov prihaja tudi do preobčutljivosti na senzorične in taktilne impulze. To denimo pomeni, da že pogled proti soncu lahko sproži odziv, ki ga občutimo kot bolečino. V omenjen proces udeleženi obrazni senzorični nevroni se stekajo v trigeminalni ganglij, kjer je opaziti stalno aktivnost živčnih celic, znake vnetnega odziva in povečano komunikacijo med nevroni in ne-nevronskimi celicami. Trenutno je naš glavni cilj na molekularni ravni definirati mehanizme, ki spremljajo tovrstne tkivne spremembe z namenom iskanja novih tarč za protibolečinsko terapijo. V ta namen v laboratoriju pripravljamo primarne tkivne kulture, sproščanje molekul opazujemo z uporabo nanosenzorjev, spremembe na ravni proteinov pa z uporabo različnih metod molekularne biologije.

Nedavne genetske študije so pokazale, da imajo bolniki z dedno hemiplegično obliko migrene, mutacije v genu, ki se izraža v živčnih celicah. Ugotovitev je omogočila pripravo mišjega modela migrene, ki kaže simptome migrene, vključno s senzibilizacijo trigeminalnega ganglija in ga v raziskovalne namene uporabljamo tudi v našem laboratoriju. V veliko pomoč nam je pri iskanju odgovorov na vprašanja zakaj trigeminalni nevroni signalizirajo močne glavobole ter katere molekule so v te procese udeležene.

Genetika avtizma: Vpliv mutacij na razvoj možganov

Jernej Kovač

Služba za specialno laboratorijsko diagnostiko, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

jernej.kovac@kclj.si

Avtizem je motnja v nevrološkem razvoju, za katero je značilno pomanjkanje socialne interakcije, komunikacije in pomembno zoženje interesov obolelega ter ponavljajoče se, stereotipno vedenje. Avtizem spada v skupino t.i. pervazivnih razvojnih motenj. V to skupino poleg avtizma spadajo še Aspergerjev sindrom in Rettov sindrom ter drugi.

Vzroki in mehanizem razvoja avtizma še niso dobro poznani, domnevajo pa, da pomembno vlogo igrajo genetski dejavniki (mutacije) in dejavniki okolja, oziroma najverjetneje kar interakcija obojih.

Vpliv dejavnikov iz okolja je še vedno relativno slabo razumljen, medtem ko se razumevanje genetskega ozadja razvija bistveno hitreje. V zadnjih 10 oz. 15 letih je bil napredek na področju razumevanja vpliva posameznih genetskih mutacij na razvoj in delovanje možganov ogromen. Ugotovili so, da genetske mutacije, ki spreminjajo delovanje proteinov (npr. SHANK3, NRXN1, itd.), ki so ključni za medsebojno povezovanje živčnih celic (nevronov), vplivajo tudi na dovzetnost otrok, da zbolijo za avtizmom oz. katero drugo pervazivno razvojno motnjo. Po zadnjih genetskih raziskavah na velikem številu bolnikov in njihovih sorodnikov, kjer so analizirali predele genoma, ki nosijo zapis za vse proteine, ki sestavljajo naše telo (t.i. eksom), znanstveniki ocenjujejo, da je v razvoj avtizma vključenih med 400 in 1000 različnih genov. Mutacije znotraj teh genov pa lahko povzročijo blažjo ali hujšo obliko avtizma.

V naši raziskovalni skupini pri bolnikih z avtizmom analiziramo mutacije v genih, ki so vključeni v celično regulacijo reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS) t.i. »prostih radikalov«. Povišan nivo ROS so izmerili pri velikem deležu bolnikov z avtizmom. Reaktivne kisikove zvrsti lahko v telesu nastajajo tudi kot posledica izpostavljenosti različnim dejavnikom iz okolja (sonce, ozon, bisfenol A, itd.) in bi lahko bile vmesni člen med okoljskimi faktorji, geni in razvojem avtizma. Pri tem predpostavljamo, da bo delež mutacij v teh genih pri bolnikih z avtizmom značilno višji kot pa v zdravi populaciji.

Gobe so bogat vir proteinov z nenavadnimi lastnostmi

Jerica Sabotič

Odsek za biotehnologijo, Institut »Jožef Stefan«

Prejemnica Lapanjetovega priznanja za leto 2012

Za gobe se je v zadnjih desetletjih izkazalo, da so izredno bogat vir novih proteinov z nenavadnimi lastnostmi. V naši skupini smo iz užitnih gob meglenske (*Clitocybe nebularis*) in orjaškega dežnika (*Macrolepiota procera*) izolirali nove družine inhibitorjev proteaz in jih natančno okarakterizirali. Ti novi proteazni inhibitorji so se zaradi svojih izjemnih lastnosti izkazali kot dobri kandidati za biološki insekticid, kar smo preverili na modelu koloradskega hrošča. Za uporabo makrocipinov kot pesticidnih učinkovin smo vložili mednarodni patent. Vzporedno smo s funkcionalno analizo teh inhibitorjev pokazali, da imajo v gobi verjetno zaščitno oziroma obrambno vlogo pred naravnimi sovražniki. Strukturna analiza pa je pokazala, da imajo beta-triperesno zvitje, ki se je izkazalo za izredno stabilno in pri gobjih proteinih mnogo bolj raznoliko, kot pri drugih organizmih.

Genetika in epigenetika samomora

Alja Videtič Paska

Inštitut za biokemijo in Medicinski center za molekularno biologijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

Prejemnica Lapanjetovega priznanja za leto 2012

Samomor je kompleksen fenomen, na katerega vplivajo tako dejavniki okolja kot tudi genetski dejavniki. Dedna nagnjenost k samomoru je določena z vsaj dvema fenotipskima dejavnikoma: dovzetnostjo za psihiatrično motnjo in dovzetnostjo za impulzivno agresivnost. Rezultati molekularno-genetskih študij samomora kažejo pomembnost razlik v genetskem zapisu (polimorfizmi) kot tudi epigenetskih sprememb, ki vplivajo na izražanje genov. Do sedaj so najpomembnejšo vlogo pri raziskovanju igrali geni serotoninskega sistema, ki smo jih s samomorom povezali tudi pri slovenski populaciji. Poleg teh so zanimivi tudi geni nevrotrofinov, proteinov, odgovornih za preživetje, rast in diferenciacijo živčnih celic, ki so tesno povezani s serotoninskim sistemom. Pokazali smo povezanost njihovih polimorfizmov s samomorom, tako v prisotnosti stresnih dogodkov kot tudi impulzivnosti. Odkrili smo tudi povečanje metilacije gena možganskega nevrotrofnega faktorja (BDNF) pri žrtvah samomora. S potrjevanjem in širjenjem nabora kandidatnih genov prispevamo novo znanje k razumevanju mehanizmov samomora in hkrati k identifikaciji diagnostičnih in prognostičnih genomskih bioznačevalcev tako samomora kot tudi drugih duševnih motenj.