

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/120



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1.Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-2022
Naslov projekta	Funkcionalna analiza proteinov za odpornost proti suši ali žuželkam
Vodja projekta	3765 Jana Žel
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4176
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	105 Nacionalni inštitut za biologijo
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	106 Institut "Jožef Stefan" 381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta 481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.03 Rastlinska produkcija in predelava 4.03.01 Kmetijske rastline
Družbeno-ekonomski cilj	08. Kmetijstvo

2.Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	4.04
- Veda	4 Kmetijske vede
- Področje	4.04 Kmetijska biotehnologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3.Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

V raziskovalnem projektu Funkcionalna analiza proteinov za odpornost proti suši ali žuželkam smo združili znanje sodelavci iz štirih ustanov: Biotehniške in Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, Instituta Jožef Stefan in Nacionalnega inštituta za biologijo. Proučevali smo primernost glivnih proteinov za odpornost

rastlin proti različnim stresnim dejavnikom. Razmere za pridelavo rastlin, ki predstavljajo našo prehrano, so namreč vedno ostrejšje. Povečujejo se potrebe po pridelkih, po drugi strani pa se površine primernih pridelovalnih površin zmanjšuje zaradi suše in zasoljevanja. Rastline ogroža tudi veliko število škodljivcev, katerih zatiranje postaja vse zahtevnejše, zaradi pojavljanja odpornosti proti kemičnim sredstvom. Poleg tega zavedanje o pomenu trajnostnega razvoja, spodbuja iskanje novih, naravnih pristopov zaščite rastlin.

Gene, ki kodirajo proteine za odpornost proti suši in slanosti smo izolirali iz halofilnih gliv iz Sečoveljskih solin, gene za odpornost proti žuželkam pa iz užitnih gob. Ti proteini so bili biokemijsko okarakterizirani, geni iz halofilnih gliv so bili vnešeni v na sol občutljive kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* zaradi nadaljnjih preučevanj odpornosti na slanost. Vsi izbrani geni, so bili prilagojeni za vnos v rastline. V uspešno transformiranih rastlinah smo preverili njihovo izražanje na RNA in proteinskem nivoju.

V fizioloških poskusih smo preverili odpornost transgenih kvasovk in rastlin proti stresnim dejavnikom. Vnos glivnih genov za halotoleranco je povečal odpornost kvasovk na povišano slanost. Transformirane rastline modelne rastline *Arabidopsis thaliana*, ki so izražale hibridni protein, deloma sestavljen iz rastlini lastnega proteina in deloma iz zaporedja halotolerantne glive *Aureobasidium pullulans* (*msa1*), so imele povečano odpornost na slanost in sušo.

Pri preučevanju vpliva proteinov iz gob na odpornost rastlin krompirja proti žuželkam, smo ugotovili, da je protein makrocipin izoliran iz užitne gobe *Macrolepiota procera* izjemno uspešen pri zatiranju koloradskega hrošča. Ob tem smo na biokemijskem nivoju tudi natančneje preučili delovanje makrocipina na prebavne proteaze v črevesju koloradskega hrošča.

Izsledki raziskovalnega projekta so poglobili naše znanje o izbranih glivnih genih in proteinih, ki jih le ti kodirajo, ter potrdili njihovo uporabnost za izboljšanje odpornosti rastlin proti različnim stresnim dejavnikom.

Tekom raziskovalnega projekta smo objavili več znanstvenih objav v revijah z visokim indeksom citiranosti, (tudi A"), pridobili patent v Sloveniji ter mednarodno patentno prijavo PCT. V zadnjem letu potekajo intenzivne aktivnosti pri trženju patenta. Izsledki raziskav so bili predstavljeni tudi na številnih znanstvenih konferencah, kakor tudi širšemu krogu ljudi v obliki poljudnih člankov, pojavljanjem v medijih ter poljudnih predavanjih. V projekt je bilo vključenih več doktorskih študentov in diplomantov.

ANG

In a research project Functional analysis of proteins responsible for resistance to drought and insects four institutions gathered their knowledge (Biotechnical and Medical Faculty of the University of Ljubljana, the Jožef Stefan Institute and National Institute of Biology). The aim of the project was the evaluation of fungal proteins as a resistance mechanism against different stress factors in plants. Conditions for crop production are getting sharper. The plants are threatened by insects, which are becoming resistant against pesticides, and area for planting crops is decreasing due to drought and salinization. The demand for crop production is still growing so it is of great importance to search for new sources of agents for plant protection. Awareness of sustainable development is encouraging the search for natural approaches.

Genes coding for resistance against drought and salinity were isolated from halophilic fungi which live in Sečoveljske soline and genes for insect resistance were isolated from edible mushrooms. Proteins encoded by chosen genes were biochemically characterized. Genes from halophilic fungi were transferred into salt sensitive yeast *Saccharomyces cerevisiae* and additionally studied for salt resistance. All chosen genes were adjusted for transfer into plants. Level of expression in transgenic plants was evaluated on RNA and protein level.

Resistance against stress in transgenic yeast and plants was evaluated in physiological experiments. Yeast, which expressed fungal genes for halotolerance, had improved salt resistance. Salt and drought resistance was also improved in transgenic *Arabidopsis thaliana*, which expressed hybrid protein which was coded partly by fungal gene *msa11* from halotolerant fungi *Aureobasidium pullulans* and partly composed of plant homolog of that gene.

Protein macrocypin isolated from edible mushroom *Macrolepiota procera* was evaluated in transgenic potato plants. We found out that potato plants expressing macrocypin had increased resistance level against Colorado potato beetle, which represent one of the potato's most detrimental insect pests. Macrocypin mode of action on Colorado potato beetle digestive proteases was additionally examined on biochemical level.

Results of our research project expanded our knowledge about chosen fungal genes and proteins which those genes encode. It was also discovered that studied proteins can be used for plant resistance against different stress factors and could be used for commercial crop improvement.

During our research project many papers were published in high impact factor journals (including A"), Slovenian patent on part of our work was granted and a PCT patent application was filed. In last year intensive work was done on marketing of the patent. The new knowledge was shared with scientific community on conferences and in popular science magazines and other media. A lot of young researchers and students working on their diploma thesis were included in the project.

~

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

V raziskovalnem projektu Funkcionalna analiza proteinov za odpornost proti suši ali žuželkam smo se osredotočili na zaščito rastlin pred abiotскими in biotskimi stresnimi dejavniki. Podnebne spremembe, rast prebivalstva in pojavljanje odpornosti proti obstoječim pesticidom so spremembe, ki povečujejo potrebo po pridelavi hrane. Po drugi strani tudi suša in zasoljevanje, ki sta lahko posledica podnebnih sprememb, zmanjšujeta površine namenjene pridelavi hrane. Zato je potreba po ustvarjanju novih, odpornejših, sort kmetijskih rastlin vsak dan večja. S klasičnimi metodami še niso prišli do zadosti odpornih sort rastlin, zato potreba po odpornejših sortah ostaja. V projektu smo se zato osredotočili na vnos genov v rastline iz bogatega, a slabo raziskanega vira genov - gliv. Naša hipoteza je bila, da bomo s pomočjo molekularnih in biokemičnih metod izbrali najprimernejše gene, okarakterizirali proteine, ki jih le ti kodirajo, najprimernejše izmed genov vnesli v rastline ter na ta način pridobili rastline, odpornejše proti testiranim stresnim dejavnikom. Cilj projekta je bila pridobitev novega znanja o izbranih proteinih ter izbor ustreznih proteinov za potencialno uporabo v tržne namene. Hipoteza se je izkazala za pravilno in vsi cilji projekta so bili izpolnjeni.

Izbor genov in preliminarna testiranja aktivnosti izbranih proteinov

1.1. Odpornost proti škodljivcem

Najprej smo se posvetili izboru genov. V literaturi smo našli podatke o uspešni uporabi proteaznih inhibitorjev in lektinov iz različnih rastlinskih in živalskih virov za zaščito rastlin pred žuželkami, zato smo se odločili preveriti učinkovitost teh skupin proteinov iz gliv. Le te predstavljajo bogat vir genov, znano pa je, da mnogih užitnih gob žuželke ne napadajo. Za preliminarna testiranja smo tako izbrali okarakterizirane proteine izolirane iz gobe poprhnjena livka (*Clitocybe nebularis*). Iz nje smo izbrali inhibitor cisteinskih proteaz klitocipin, inhibitor serinskih proteaz knispin in tri lektine s specifičnostjo za različne sladkorje. Za preliminarna testiranja smo poleg teh dveh izbrali še klitocipinu podobne makrocipine, inhibitorje cisteinskih proteaz iz orjaškega dežnika (*Macrolepiota procera*). Izbrane proteine smo izrazili v bakteriji *E. coli*. Heterologno izražene proteine smo z gelsko kromatografijo očistili iz inkluzijskih telesc ter jih uporabili v prehranjevalnih testih z ličinkami koloradskega hrošča, da bi potrdili njihovo učinkovitost v obliki rekombinantnih proteinov. Na podlagi teh testov smo za pripravo transgenih rastlin izbrali lektin Cnl in klitocipin iz poprhnjene livke ter makrocipin 4 iz orjaškega dežnika.

1.2. Odpornost proti slanosti / suši

Pri izboru genov za odpornost proti suši in slanosti smo se posvetili analizi genov iz gliv, ki rastejo v slanih okoljih. V halotolerantni črni kvasovki *Aureobasidium pullulans* in halofilni glivi *Wallemia ichthyophaga* smo določili celotno kodirajoče zaporedje genov za 3'-fosfoadenozin-5'-fosfatazi (PAP). To je encim, vpleten v asimilacijo žvepla, ki je zaradi svoje velike občutljivosti na sol razlog za toksičnost natrijevih ionov za kvasne in rastlinske celice. PAP iz *A. pullulans* (ne pa tudi homolog iz *W. ichthyophaga*) vsebuje značilno področje META.

Testiranje aktivnosti proteinov in funkcionalna analiza proteinov v kvasovkah

2.1. Odpornost proti škodljivcem

Vpliv gobjih proteinov smo preverili na nivoju inhibicije prebavnih proteaz ličink koloradskega hrošča. Ličinke četrte stopnje smo nabrali na polju in iz njih izolirali prebavila, jih homogenizirali in pripravili proteinske ekstrakte. Le te smo očistili z gelsko kromatografijo ter izmerili encimsko aktivnost z ali brez dodatka gobjih proteinov (3 različni makrocipini in klitocipin). Ugotovili smo, da gobji proteini inhibirajo specifične prebavne proteaze koloradskega hrošča. Nadalje smo izbrali enega izmed makrocipinov in nato s pomočjo afinitetne kromatografije, poliakrilamidne gelske elektroforeze in z masno spektrometrijo določili tarče izbranega makrocipina v prebavilu koloradskega hrošča. Tako smo pojasnili način delovanja makrocipina na koloradskega hrošča.

2.2. Odpornost proti slanosti/suši

Opravili smo funkcionalno analizo v kvasovkah. S pripravo himernih proteinov Hal2 z dodanim zaporedjem META smo uspeli povečati halotoleranco na sol občutljive kvasovke *S. cerevisiae*. Da bi proučili, ali lahko podoben učinek dosežemo tudi v rastlinah, smo za vnos v rastline pripravili zapis za himerni protein mSal1, sestavljen iz rastlinskega homologa Hal2 (Sal1) in zaporedja

META iz glive *Aureobasidium pullulans*.

V nadaljevanju smo s pripravo ekspresijske cDNA knjižnice z geni iz halotolerantne glive *A. pullulans* v na sol občutljivi kvasovki *Saccharomyces cerevisiae* in presejanjem na gojiščih z nizko vodno aktivnostjo identificirali dodatnih šest genov, potencialno primernih za transformacijo rastlin. Izvedli smo tudi presejanje transkriptoma halotolerantne glive *Rhodotorula mucilaginosa* in identificirali ter podrobneje analizirali dvanajst genov, ki povečajo halotoleranco kvasovke *S. cerevisiae*.

Funkcionalna analiza proteinov v rastlinah

3.1. Konstrukcija primernih plazmidov

Za vnos genov v rastline smo izbrali vektorje pMDC, ki se pomnožujejo tako v bakteriji *E.coli* kot v *Agrobacterium tumefaciens*. Izbrane gene smo spremenili tako, da je uporaba kodonov ustrezala rastlinskemu ekspresijskemu sistemu. Sintetične gene glivnega izvora smo nato z Gateway rekombinacijo vstavili v izbrane plazmide. Regulatorna elementa za izražanje vstavljenega gena sta bila dvojni 35S promotor, ki je visoko aktiven v večini rastlinskih celic, in terminator tNOS, kar je klasična kombinacija v pripravi konstrukta za transformacijo. Del konstrukta je bil tudi zapis za odpornost proti antibiotiku higromicinu, ki smo ga uporabili za selekcijo transformiranih rastlin.

3.2. Priprava primerne transformacijskega sistema in stabilna transformacija rastlin

Za funkcionalno analizo genov odgovornih za odpornost proti žuželkam smo izbrali krompir (*Solanum tuberosum*), saj se z njim prehranjuje eden izmed ekonomsko zelo pomembnih škodljivcev koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata*). Gene, ki kodirajo proteine s potencialno insekticidno učinkovitostjo, smo s pomočjo transformacije z agrobakterijo vnesli v krompir. Transformacija je potekala s kokultivacijo agrobakterije in izsečki stebela krompirja ter nadaljnjim prenosom na selekcijsko gojišče, kjer so pognali poganjki le iz celic izsečkov v katere je bil z agrobakterijo vnesen ustrezen konstrukt. Iz tako pridobljenih poganjkov smo s pomočjo selekcijskih gojišč, ki so vsebovala antibiotik higromicin, regenerirali stabilne gensko spremenjene linije krompirja.

Za analizo genov povezanih z odgovorom na slanost ali sušo pa smo izbrali modelno rastlino navadni repnjakovec (*Arabidopsis thaliana*), ki je klasičnimodel za pridobitev temeljnih znanj iz bioloških procesov. V laboratorij smo uvedli postopek transformacije s pomakanjem cvetov (floral dip). Cvetove smo inokulirali z *A. tumefaciens* v suspenziji saharoze in surfaktanta ter tako vnesli ustrezne konstrukte za prekomerno izražanje izbranih genov. Po desetih tednih smo pridobili prvo generacijo semen, med katerimi smo poiskali transformante tako, da smo semena kalili na selekcijskih gojiščih. Tako transformirane rastline smo gojili do tretje generacije, s čimer smo pridobili homozigotne linije za izbrane gene.

3.3. Evaluacija transformiranih rastlin na molekularnem in biokemijskem nivoju

Izražanje vnesenih genov pri krompirju in navadnem repnjakovcu smo preverili na mRNA nivoju pri več kot 100 transformiranih linijah krompirja ter pri preko 30 transformiranih linijah navadnega repnjakovca. Izražanje RNA vstavljenih genov

smo spremljali na osnovi verižne reakcije s polimerazo (PCR) v realnem času. Pri transgenih krompirjih z najvišjim izražanjem transgene mRNA smo preverili tudi prisotnost ustreznih proteinov glivnega izvora. Z imunolokalizacijo (s prenosom po westernu) smo dokazali prisotnost proteinov lektin, klitocipin in makrocipin.

3.4. Testiranje transformiranih rastlin na odpornost proti žuželkam

S transformiranimi linijami krompirja, ki so imele najvišjo ekspresijo glivnih proteinov in pri katerih smo prisotnost heterologno izraženih proteinov dokazali tudi z imunolokalizacijo, smo opravili prehranjevalne teste na ličinkah koloradskega hrošča. Dokazali smo insekticidno aktivnost klitocipina in makrocipina, saj so ličinke počasneje pridobivale na teži in se počasneje razvijale, poleg tega je bila večja tudi umrljivost ličink. V prehranjevalnih testih na rastlinah z lektinom insekticidne aktivnosti nismo zaznali. Za najučinkovitejšega se je izkazal makrocipin.

3.5. Analiza odziva koloradskega hrošča na hranjenje s transgenim krompirjem, ki izraža enega izmed makrocipinov

Iz ličink koloradskega hrošča hranjenih s transgenim krompirjem, ki je izražal enega izmed makrocipinov, oz. z nespremenjenim krompirjem pri kontrolni skupini ličink, smo po koncu poskusa izolirali prebavila. Iz njih smo po homogenizaciji izolirali RNA, jo prepisali v DNA in s pomočjo kvantitativnega PCRja določili izražanje prebavnih encimov. Ugotovili smo, da se ličinke koloradskega hrošča na nivoju izražanja izbranih prebavnih proteaz ne prilagodijo na prisotnost proteaznega inhibitorja makrocipina v hrani.

3.6. Testiranje transformiranih rastlin na odpornost proti slanosti/suši

Transformirane rastline navadnega repnjakovca, ki so izražale hibridni protein, deloma sestavljen iz rastlini lastnega proteina in deloma iz zaporedja halotolerantne glive *Aureobasidium pullulans*, smo evaluirali na molekulskem nivoju. Rastline z najboljšim izražanjem transgena na mRNA nivoju smo testirali za odpornost proti povišani koncentraciji natrijevih in litijevih ionov (v tkivni kulturi in v zemlji) ter proti suši (v zemlji). Ugotovili smo, da izražanje gena *msa1* pri rastlinah, ki so rastle v tkivnih kulturah, vpliva na sposobnost rastlin, da ob prisotnosti natrijevih ionov v gojišču razvijejo daljše korenine in ohranijo večjo površino zelenih poganjkov. Pri rastlinah, ki so rasle v zemlji, smo v sušnih pogojih opazili večjo vitalnost rastlin transformiranih z *msa1*, ki pa zaradi manjšega števila rastlin v poskusu ni bila statistično signifikantna.

Končni rezultati

V raziskovalnem projektu smo uspešno potrdili našo raziskovalno hipotezo ter dosegli zastavljene cilje. Biokemično smo okarakterizirali potencialno uporabne glivne proteine za zaščito rastlin pred sušo in slanostjo ali žuželkam. Z analizami funkcionalne genomike smo le te preučili ter izbrali najbolj učinkovite. Nekateri dodatni proteini, ki smo jih identificirali tekom projekta bomo v nadaljnjih raziskavah podrobneje proučili v okviru drugih projektov.

Poleg številnih objav v znanstvenih publikacijah z visoko citiranostjo (tudi A") smo uporabo makrocipinov za zaščito rastlin pred žuželkami zaščitili s slovenskim patentom in z mednarodno patentno prijavo. Zaščitili smo skupino proteinov makrocipinov tako za pripravo transgenih rastlin kot za površinski nanos v obliki bioinsekticida. Z rezultati projekta smo informirali tako znanstveno kakor splošno

javnost preko predavanj, medijev ter poljudnih objav.

Organizacija dela in sodelovanje s tujino

Projekt Funkcionalna analiza proteinov za odpornost proti suši ali žuželkam je bil zasnovan interdisciplinarno. V njem so sodelovali Oddelek za biotehnologijo IJS, Katedra za Molekularno genetiko in mikrobiologijo BF, Inštitut za biokemijo MF ter NIB. Sodelovanje med institucijami je potekalo izredno uspešno in kooperativno. Skupina je imela mnogo skupnih projektnih sestankov, poleg tega je na posameznih segmentih potekalo sprotno bilateralno sodelovanje med partnerji. V okviru projekta smo sodelovali tudi s partnerji iz tujine. S skupino prof. dr. Ann Depicker (Plant Systems Biology, VIB, Belgija) smo sodelovali pri poskusih in postavitvi sistema transformacije rastlin *Arabidopsis thaliana*.

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

Raziskovalni projekt Funkcionalna analiza proteinov za odpornost proti suši ali žuželkam je potekal in bil zaključen po predvidenem planu.

Izbrali smo glivne gene zanimive za vnos v rastline z namenom povečane odpornosti proti slanosti in suši ali žuželkam. Okarakterizirali smo proteine, ki jih kodirajo izbrani geni ter pripravili transgene rastline, ki izražajo te proteine. Transgene rastline smo testirali na stresne dejavnike in ugotovili, da izražanje teh genov v rastlinah vpliva na povečano odpornost proti slanosti (izražanje gena *msa1*) oziroma proti žuželkam (izražanje gena, ki kodira makrocipin oziroma klitocipin). Z novim znanjem smo prispevali tako v zakladnico znanja o omenjenih proteinih in njihovem delovanju, kakor po drugi strani možnosti aplikativne končne uporabe.

Tako so bili doseženi vsi cilji projekta, objavljene številne publikacije ter podeljen slovenski patent ter prijavljen mednarodni patent za uporabo makrocipinov v obliki bioinsekticida ali transgenih rastlin.

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

V programu raziskovalnega projekta ni bilo sprememb.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	2514255	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Genetski viri ekstremofilnih gliv, metoda za identifikacijo genov, ki nosijo odpornost na stres
		ANG	Genetic resources of extremotolerant fungi: a method for identification of genes conferring stress tolerance.
	Opis	SLO	Vzpostavili smo novo metodo funkcionalnega presejanja transkriptoma za identifikacijo glivnih genov, ki lahko v prejemniških organizmih povečajo toleranco na stres. S to metodo smo preučili halotolerantno glivo <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> . Identificirali ter podrobneje analizirali smo dvanajst genov, ki povečajo halotoleranco kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Ti geni so obetavne tarče za prenos tudi v druge ekonomsko pomembne organizme in s tem izboljšanje njihove rasti pri povišanih koncentracijah soli.

			Članek je bil objavljen v reviji, ki se uvršča na prvo mesto v svoji SCI kategoriji.
		ANG	We established a new transcriptome functional screening method for the identification of genes, that can increase the stress tolerance in recipient organisms. We used this method to investigate the transcriptome of the halotolerant fungus <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> . We identified and further analyzed twelve genes that can increase the halotolerance of the yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . These genes are promising targets for transfer to other economically important organisms and improving their growth at elevated salt concentrations. The article was published in the first journal of the corresponding field (SCI).
	Objavljeno v		Elsevier Applied Science; Bioresource technology; 2012; Vol. 111; str. 360-367; Impact Factor: 4.980; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.511; A": 1; A': 1; WoS: AE, DB, ID; Avtorji / Authors: Gostinčar Cene, Gunde-Cimerman Nina, Turk Martina
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID		2504527 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Proteini iz višjih gliv – od gozda do uporabe
		ANG	Proteins of higher fungi - from forest to application
	Opis	SLO	Pregledni članek o bogastvu, edinstvenih lastnostih in uporabnosti proteinov iz gob v zelo ugledni reviji z visokim faktorjem vpliva »Trends in Biotechnology«.
		ANG	Review paper on richness, unique characteristics and usage of proteins from mushrooms in very respectful journal with high IF Trends in Biotechnology.
	Objavljeno v		Elsevier B. V.; Trends in biotechnology; 2012; Vol. 30, issue 5; str. 259-273; Impact Factor: 9.148; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.822; A': 1; WoS: DB; Avtorji / Authors: Erjavec Jana, Kos Janko, Ravnkar Maja, Dreo Tanja, Sabotič Jerica
3.	COBISS ID		29117145 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Prilagajanje gliv na ekstremno visoko slanost
		ANG	Fungal adaptation to extremely high salt concentrations
	Opis	SLO	<i>Hortaea werneckii</i> , prevladujoča glivna vrsta v hiperslani vodi solin, je odličen modelni organizem za študij mehanizmov tolerance na sol pri evkariotih. Gliva je tudi obojaven vir transgenov za izboljšanje osmotolerance industrijsko pomembnih kvasovk in rastlin. V tem članku smo opisali fiziološke in molekularne prilagoditve na hiperslana okolja pri ekstremno halotolerantni <i>H. werneckii</i> .
		ANG	The discovery of the black yeast <i>Hortaea werneckii</i> as the dominant fungal species in hypersaline waters enabled the introduction of a new model organism to study the mechanisms of salt tolerance in eukaryotes. <i>H. werneckii</i> is also a promising source of transgenes to improve osmotolerance of industrially important yeasts, as well as crops. This paper describes the physiological and molecular adaptations to hypersaline conditions observed in the extremely halotolerant <i>H. werneckii</i> .
	Objavljeno v		Academic Press; Advances in applied microbiology; 2011; Vol. 77; str. 71-96; Impact Factor: 5.233; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.822; A': 1; WoS: DB, QU; Avtorji / Authors: Gostinčar Cene, Lenassi Metka, Gunde-Cimerman Nina, Plemenitaš Ana
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

4.	COBISS ID		2460239	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Kako zanesljivo določamo GSO	
		ANG	How to reliably test for GMOs	
	Opis	SLO	Povabili so nas, da napišemo knjigo o določanju gensko spremenjenih organizmov (GSO) v seriji Springer Briefs in Food, Health and Nutrition. Knjiga nudi najsodobnejše znanje o vseh glavnih področjih GSO določanja ter praktična navodila za laboratorije. Posebna pozornost je namenjena kvalitativnim in kvantitativnim analizam PCR v realnem času, ki so pomembne za vsa področja, ki temeljijo na določanju in identifikaciji nukleinskih kislin. Obravnavane so tudi za testne laboratorije pomembne teme, kot so organizacija laboratorija, s poudarkom na sistemu kakovosti in metodah določanja, validaciji in verifikaciji metod ter merilna negotovost. Knjiga razpravlja tudi o novih izzivih pri GSO in novih spremenjenih organizmih in možnih novih pristopih določanja, vključno z bioinformacijskimi orodji. Podana je tudi zakonodaja in povezave na informacije o GSO, ki so lahko zanimive za vsakega, ki ga zanimajo GSO.	
		ANG	We were invited to write a book on GMO detection in the series Springer Briefs in Food, Health and Nutrition. This Brief provides the current state-of-the-art on all key topics involved in GMO testing and is a source of detailed practical information for laboratories. Special focus is given to qualitative and quantitative real-time PCR analysis relevant to all areas where detection and identification rely on nucleic acid-based methods. The following topics, important for testing laboratories, are also discussed: organization of the laboratory, focusing on aspects of the quality system and methods for testing, validation and verification of methods, and measurement uncertainty. The Brief also discusses the new challenges of GMOs and novel modified organisms, using new technologies, and the possible solutions for GMO detection, including bioinformatics tools. Finally, legislation on GMOs and sources of information on GMOs are provided, which are relevant not only to testing laboratories, but to anyone interested in GMOs.	
	Objavljeno v		Springer; 2012; X, 100 str.; A": 1;A': 1; Avtorji / Authors: Žel Jana, Milavec Mojca, Morisset Dany, Plan Damien, Eede G. van den, Gruden Kristina	
	Tipologija		2.01 Znanstvena monografija	
5.	COBISS ID		2059087	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Izboljšava določanja gensko spremenjenih organizmov (GSO)	
		ANG	Detection of genetically modified organisms-closing the gaps	
	Opis	SLO	V članku smo opozorili na vrzeli v strategiji določanja GSO ter predlagamo izboljšave. Dejstvo smo podkrepili s konkretnim znanstvenim primerom pri GS koruzi imenovani Herculex (TC 1507). Delo je dobilo širše razsežnosti, saj je na osnovi te objave MOP v ES sprožil diskusijo, ki je rezultirala v načrtu za sistemsko ureditev te ključne pomanjkljivosti. Nacionalni inštitut za biologijo je imenovan za Nacionalni referenčni laboratorij (NRL) za določanje GSO v hrani in krmi. Znanje o novih pristopih vnosa genov v rastline, ki ga dobimo iz projektnega dela uspešno uporabljamo tudi pri tem delu.	
		ANG	We have appointed gaps in GMO detection strategy which were, together with suggested improvements, published in Nature Biotechnology. Based on the scientific case of GM maize Herculex (TC 1507), the article was of great importance and led to open discussion in European Union to find a systemic solution to this problem. National Institute of Biology was nominated as the National reference laboratory (NRL) for detection of GMOs. Knowledge on new GMO techniques has a significant impact also on detection work.	

Objavljeno v	Nature Biotechnology; Nature biotechnology; 2009; Vol. 27, no. 8; 9 str.; Impact Factor: 29.495; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.707; A": 1; A': 1; WoS: DB; Avtorji / Authors: Morisset Dany, Demšar Tina, Gruden Kristina, Vojvoda Jana, Štebih Dejan, Žel Jana
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	2725455	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Vabljen uredništvo posebne številke revije FEMS Microbiol. Ecol. o mikrobiologiji hladnih stresnih okolij
		ANG	Guest editor of the FEMS Microbiol. Ecol. special issue about the microbiology of cold stressful environments
	Opis	SLO	Posebna številka revije FEMS Microbiol. Ecol. je združila najsodobnejše znanje mednarodnih strokovnjakov s področja polarne in gorske mikrobiologije. Sledila je istoimenski konferenci z mednarodno udeležbo, ki so jo člani projektne skupine leta 2011 organizirali v Ljubljani. Hladna okolja so bogat vir mikroorganizmov, ki so tolerantni na nizke temperature, pogosto pa tudi na pomanjkanje vode. Mnogo mikrogliv iz polarnih okolij pripada istim vrstam, ki jih najdemo tudi v izjemno slanih vodah solin. Z njihovim preučevanjem se tako bistveno poveča nabor na pomanjkanje vode in visoke koncentracije soli odpornih mikroorganizmov, ki predstavljajo bogat vir genov za izboljšanje tolerance na sušo in sol pri rastlinah.
		ANG	The special issue of FEMS Microbiol. Ecol. collected the state-of-the-art science of international experts working on polar and alpine microbiology. It followed the international scientific conference of the same name that was organized by the members of the project group in Ljubljana in 2011. Cold environments are a rich source of microorganisms that are tolerant to low temperatures and, frequently, also to lack of water. Many microfungi from polar environments belong to the same species that are found in extremely saline waters of solar salterns. Their investigation substantially expands the pool of microorganisms tolerant to water scarcity and high concentrations of salt – and these microorganisms represent a rich source of genes for improving the plant drought and salt tolerance. On the conference we have presented a new method for identification of genes that can increase salt tolerance when expressed in a heterologous system. The method enables a high-throughput gene identification in (in this field) underexploited extremotolerant fungi.
	Šifra	C.03	Vabljeni urednik revije (guest-associated editor)
	Objavljeno v	Elsevier; FEMS microbiology, ecology; 2012; Vol. 82, iss. 2; str. 215-216; Impact Factor: 3.408; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.321; WoS: QU; Avtorji / Authors: Gunde-Cimerman Nina, Wagner Dirk, Häggblom Max	
	Tipologija	1.20	Predgovor, spremna beseda
2.	COBISS ID	28997849	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Mehanizem tolerance na sol s HAL2 pri glivah, ki živijo v ekstremno slanih pogojih
		ANG	The mechanism of HAL2 salt tolerance in fungi living in extreme saline environments
			Toksični vpliv soli na glive in rastline je posledica inhibicije aktivnosti PAP

Opis	SLO	fosfataze (Hal2) z natrijevimi in litijevimi ioni, kar povzroči akumulacijo PAP-a, stranskega produkta pri asimilaciji žvepla. Ekstremno halotolerantna Hortaea werneckii nosi zapis za dva homologa proteina Hal2: HwHal2A in HwHal2B. Genetska in biokemijska karakterizacija HwHal2A in HwHal2B je izpostavila vlogo kratkega aminokislinskega zaporedja (META regija), značilnega za oba homologa. Na znanstvenem srečanju smo predstavili naše preliminarne rezultate o delovanju HwHal2A in HwHal2B, ter vlogi META regije v toleranci na sol.	
	ANG	Salt toxicity in fungi and plants results from PAP phosphatase (Hal2) activity inhibition by sodium or lithium ions, causing accumulation of PAP produced during sulphur assimilation important for methionine synthesis. In extremely halotolerant Hortaea werneckii, two homologues of Hal2 (HwHal2A, HwHal2B) were identified. Genetic and biochemical validation of HwHal2A and HwHal2B highlighted the importance of a unique amino acid sequence found in H. werneckii homologues, the META region. At the meeting we presented our preliminary results providing more thorough understanding of the role of META region in salt tolerance.	
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
	Objavljeno v	Zavod za zdravstveno varstvo; Abstract book; 2011; Str. 54; Avtorji / Authors: Lenassi Metka, Mihelič Marko, Turk Dušan, Plemenitaš Ana	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
3.	COBISS ID	26306855	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	SLO	Lapajnetovo priznanje in vabljen predavanje: Gobe so bogat vir proteinov z nenavadnimi lastnostmi
		ANG	Lapajne's award and invited lecture: Fungi are rich source of proteins with unusual properties
		SLO	Lapajnetovo priznanje (v letu 2012) je strokovno priznanje, ki ga podeljuje Slovensko biokemijsko društvo, mlademu članu za vrhunske dosežke na področju biokemijskih znanosti na znanstveno-raziskovalnem ali pedagoškem področju, s katerimi je pomembno prispeval k razvoju biokemijskih znanosti v slovenskem in mednarodnem prostoru.
		ANG	Lapajne award (2012) is granted by Slovenian Biochemical Society to young researcher for outstanding achievements in the field of biochemical science for research and pedagogical work, with which important contribution was given to the development of biochemical sciences in Slovenian and international place.
Šifra	B.04 Vabljen predavanje		
Objavljeno v	Slovensko biokemijsko društvo; Zbornik povzetkov; 2012; Str. 11; Avtorji / Authors: Sabotič Jerica		
Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)		
4.	COBISS ID	2741839	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	SLO	Patentna prijava (PCT), Makrocipin : številka prijave: P-201100304
		ANG	Patent application (PCT), Macrocypin: P-201100304
		SLO	Odkrili smo nov naravni insekticid za zaščito rastlin, ki izvira iz užitne gobe in ga lahko proizvajamo v večjih količinah z različnimi biotehnološkimi proizvodnimi sistemi. Pokazali smo, da insekticid uspešno zaščiti krompir proti koloradskemu hrošču, ki je njegov glavni škodljivec. Preko inhibicije proteaz insekticid zavira delovanje prebavnega sistema ličink in tako povzroči njihovo odmrtnje. Predlagamo dva načina uporabe – uporabo v transgeni rastlinah ali kot kontaktni insekticid. V naših raziskavah smo razvili in potrdili oba načina delovanja.

		ANG	We have discovered and tested a new, natural insecticide for crop protection, which originates from edible mushroom and can be produced in larger quantities by different biotechnological production systems. This insecticide has been successfully used for protection of potato against Colorado potato beetle, which is one of potato's major pests. This natural insecticide is a protease inhibitor, which has inhibitory effect on digestive system of certain insects and causes their death when consumed. We are proposing two possible ways of use – production of this protein within transgenic plants or as a form of contact insecticide. In our experiments we developed and tested both, and proved efficient plant protection in both systems.
	Šifra	F.33	Patent v Sloveniji
	Objavljeno v	European Patent Office; 2012; 30 str., 22 str. pril.; Avtorji / Authors: Šmid Ida, Buh Gašparič Meti, Sabotič Jerica, Gruden Kristina, Brzin Jože, Žel Jana	
	Tipologija	2.23	Patentna prijava
5.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Vodenje akreditiranega laboratorija za določanje GSO
		ANG	Heading of accredited laboratory for GMO detection
	Opis	SLO	Nacionalni inštitut za Biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo je s strani MKO imenovan za nacionalni referenčni laboratorij ter uradni laboratorij za določanje GSO. Laboratorij nudi strokovno in tehnično podporo ministrstvu in njihovim inšpekcijskim službam ter sodeluje z Evropskim referenčnim laboratorijem JRC ter z inštitutom za referenčne materiale in metode (IRMM). Je tudi član Evropske mreže laboratorijev za določanje GSO. Vsako leto laboratorij uvede od 6-9 novih akreditiranih metod za določanje GSO ter redno informira tudi strokovno javnost o področju GSO, kar je razvidno iz številnih predavanj, prispevkov za medije in poljudnih publikacij.
		ANG	The National Institute of Biology, Department of Biotechnology and Systems Biology is nominated as the national reference laboratory for GM detection from the Ministry of Agriculture and Environment. Laboratory is providing scientific and technical support to ministries and their inspection services and is cooperating with European Union Reference laboratory JRC and with The institute for reference materials and methods (IRMM). It is also the member of the European network of GMO laboratories (ENGL) and regularly informs general public on GMOs, what can be seen from different presentations, contributions for media and general publications.
	Šifra	D.07	Vodenje centra/laboratorija
	Objavljeno v	različne objave	
	Tipologija	3.25	Druga izvedena dela

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Gunde Cimerman Nina (BF) je vodja infrastrukturnega centra MYCOSMO, ki vključuje gensko banko ekstremofilnih mikroorganizmov (Ex). Skupaj s sodelavci projekta z MF (oboje UL) so sodelovali pri treh projektih določanja genomskih zaporedij pri glivah iz izjemno slanih okolij (*Aureobasidium pullulans*, *Hortaea werneckii* in *Wallemia ichthyophaga*). Zbrani podatki bodo s pomočjo primerjalne genomike pomagali pri določevanju genov, vpletenih v toleranco na različne strese, tudi povišano slanost in sušo.

Raziskave izbranih glivnih proteinov, ki jih opravljajo na IJS so pomembno razširile bazično znanje o inhibitorjih proteaz iz gliv, saj je bila v klasifikaciji MEROPS v letu 2009 ustanovljena nova družina inhibitorjev proteaz I85. Nadalje je kupina iz IJS natančno okarakterizirala proteine iz gob s potencialno insekticidnimi lastnostmi, in sicer so opisali inhibitor tripsina

kospin iz gnojiščne tintnice in lektin CNL. Poleg tega so objavili dva pregledna članka na področju inhibitorjev proteaz iz gob, dva metodološka poglavja v knjigi o afinitetni kromatografiji ter skupaj s sodelavci iz NIB-a pregledni članek o bogastvu, edinstvenih lastnostih in uporabnosti proteinov iz gob v zelo ugledni reviji »Trends in Biotechnology«.

Skupina iz NIB je soorganizirala Delavnico Central and Eastern European Regional Training of Trainers' Workshop on the Identification and Documentation of Living Modified Organisms under the Cartagena Protocol on Biosafety, prav tako pa je objavila več znanstvenih objav iz področja gensko spremenjenih organizmov. Prav tako velja omeniti predstavitev našega dela tako strokovni javnosti na znanstvenih kongresih, kot tudi predstavitev širši javnosti v različnih medijih.

V okviru projekta je pri delu v sodelujočih skupinah sodelovalo več mladih raziskovalcev, od katerih so v času trajanja projekta doktorirali trije. Prav tako je v okviru projekta diplomiralo sedem študentov različnih študijskih smeri.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Namen projekta je bil najti nove pristope za izboljšavo rastlin. Podnebne spremembe in rastlinam škodljive žuželke ogrožajo pridelavo rastlin. Tako suša in zasoljevanje na eni strani in odpornost žuželk proti pesticidom na drugi strani vplivajo na zmanjševanje pridelka, posledica česar je velika gospodarska škoda. V projektu smo se osredotočili na nov pristop k reševanju teh težav - z zaščito rastlin z geni iz gliv. Glive namreč predstavljajo bogat, vendar še ne dobro proučen vir genov. Halofilne glive, ki živijo v ekstremno slanih okoljih, predstavljajo vir genov za odpornost proti slanosti ali suši. Nekatere užitne gobe pa so znane po tem, da jih žuželke le redko napadajo. Ti dve skupini organizmov smo uporabili kot genski vir za izboljšavo rastlin.

V halotolerantni črni kvasovki *Aureobasidium pullulans* in halofilni glivi *Wallemia ichthyophaga* smo določili celotno kodirajoče zaporedje genov za 3'-fosfoadenozin-5'-fosfatazi (PAP), ki je ključen za preživetje v slanem okolju. Iz gobe poprhnjene livke (*Clitocybe nebularis*) sta bila izbrana proteina lektin Cnl in klitocipin, iz orjaškega dežnika (*Macrolepiota procera*) pa makrocipin. Izbrane proteine smo biokemijsko okarakterizirali ter zaporedja, ki jih kodirajo, prilagodili za vnos v rastline. V rastlinah so se izbrane geni uspešno izražali in ohranili funkcionalnost – to smo pokazali s fiziološkimi testiranj. Pridobili smo transgene rastline navadnega repnjakovca s povečano odpornostjo proti slanosti, ter transgen krompir s povečano odpornostjo proti koloradskemu hrošču.

V okviru projekta smo prišli do številnih novih znanstvenih spoznanj od izbora proteinov, ki bi lahko vplivali na povečanje odpornosti rastlin na stres, samih zaporedij posameznih genov, preko proteinov in funkcionalne genomike ter končnih molekularnih oz. biokemijskih vidikov mehanizma delovanja preučevanih proteinov. Objavili smo številne publikacije v revijah z visoko citiranostjo (tudi A' in A'').

ANG

The aim of the project was to find new approaches for crop improvement. Climate changes and insect pests are threatening plant crop production. Drought and salinity and insect's resistance against pesticides on the other hand are reducing crop production, which results in economic losses. In our research project we focused on new approaches to cope with those problems - with fungal genes for plant protection. Fungi represent rich, but not quite examined source of genes. Halophilic fungi which live in extremely salt environments represent a gene source for resistance against salinity and drought. Certain edible mushrooms are known for being rarely attacked by insect pests. Those two groups of organisms were used as a gene source for plant protection.

In halotolerant black yeast *Aureobasidium pullulans* and halophilic fungi *Wallemia ichthyophaga* region coding for 3'-phosphoadenosin-5'-fosfatases (PAP) genes were determined. PAP is a key element for salt tolerance in those organisms. Proteins lectin Cnl and clitocypin from mushroom *Clitocybe nebularis* and macrocypin from *Macrolepiota procera*, were selected. All chosen

proteins were additionally biochemically characterized and regions coding for those genes were adjusted for plant expression system. Those proteins were successfully expressed in plants and their function was maintained- it was proved by physiological experiments. Transgenic *Arabidopsis thaliana* plants with increased salt resistance level and transgenic potato plants with increased Colorado potato beetle resistance level were acquired.

In the scope of the project many scientific breakthroughs were achieved. Many fungal proteins for plant stress resistance were characterized. Firstly fungal genes were chosen; their sequences were determined and adapted for plant expression. Additionally, with functional genomics approach and with the use of molecular or biochemical techniques, mechanism of selected proteins was evaluated. Many high impact papers (including A' in A'') were published during the project.

10.2.Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Projekt je obravnaval aktualen problem odpornosti rastlin na škodljivce in tolerance proti slanosti in suši. Globalno segrevanja namreč vodi k povečanim temperaturam in posledično zmanjšani razpoložljivosti z vodo. Posledica namakanja je tudi zasoljevanje pridelovalnih površin. Sušne in slane prsti so že realnost v številnih agrikulturnih delih sveta, s spremembo klime pa lahko pričakujemo vpliv tudi na zmerne podnebne pasove, vključno s Slovenijo. Prvi znaki se že kažejo v Prekmurju in nekaterih drugih področjih. Prav tako žuželke predstavljajo enega glavnih vzrokov za zmanjšanje pridelkov in njihov vpliv se lahko ob spremenjenih podnebnih razmerah v določenih predelih še poveča.

Raziskave na novo odkritih proteinov s pesticidno aktivnostjo in tistimi, ki so pomembni za tolerance proti povečani slanosti in suši so prinesli pomembne nove informacije in znanje. Rezultati projekta so pokazali potencialne možnosti za nadaljnji razvoj rastlin odpornih proti suši/soli/žuželkam. Pomembno je tudi, da so nekatere od teh gliv iz Sečoveljskih solin kot pomembnem naravnem habitatu Slovenije.

Nacionalni inštitut za biologijo je imenovan za Nacionalni referenčni laboratorij za določanje GSO v živilih, krmi in semenih s strani Ministrstva za kmetijstvo in okolje. Določanje GSO poteka na vzorcih živil, krme in semen v okviru uradne kontrole Inšpekcijskih služb. V projektu smo uporabili gensko spremenjene rastline, tako da smo raziskovalci vključeni v ta projekt dobili dodatno znanje o gensko spremenjenih rastlinah. To področje se namreč izredno hitro razvija, s stalno novimi tehnologijami in pristopi. Naša ekspertiza se uporablja tudi v okviru Znanstvenih odborov za sproščanje GSO v okolje in dajanje izdelkov na trg, kakor v Znanstvenem odboru za delo z GSO v zaprtem sistemu, kjer sodelujemo pri presojah tveganja in s tem pomagamo pri odločanju v okviru prijavnega postopka za nove gensko spremenjene organizme na tržišče Evropske unije oz. pri raziskavah in sproščanju GSO v Sloveniji.

V projektu smo sodelovali sodelavci iz štirih visoko kvalificiranih institucij. Vse imajo mednarodno veljavo na svojih področjih raziskav in vzpostavljeno sodelovanje s številnimi mednarodnimi institucijami. Združitev naših znanj in mednarodnih izkušenj je s tem dosegla novo dodano vrednost. Rezultati projekta so bili predstavljeni na različnih mednarodnih konferencah ter s tem promovirali dosežke slovenske znanosti. V projektu so se izobraževali številni mladi raziskovalci ter diplomanti. Poleg tega so sodelavci projekta znanje prenesli tudi študentom pri predavanjih različnih predmetov na Univerzi, saj je več sodelavcev projekta habilitiranih in sodeluje pri pedagoških procesih pri različnih študijskih smereh.

ANG

Project was dealing with a very acute problem of pest resistance and tolerance to saline soil and draught. Global warming and climate changes resulting in higher temperatures and consequently less water availability are predicted. Another problem is that the consequence of irrigation is salinization. Draught and high saline soils are reality in many agricultural areas in the world, and can be – due to climate changes – expected also in temperate climate zones, including Slovenia. First signs of this problem are rising in Prekmurje and also in other areas of Slovenia. Similarly, insects are one of the main reasons for crop yields reduction and their impact might increase in certain area with the climate change.

Research on newly discovered proteins with potential pesticide activity and ones important for salt/drought tolerance will have gained important new information and knowledge which might lead to further development and commercialization of drought/saline/insect resistant plants in the future. Important fact is also that some of the fungi, which are the source of investigated proteins, were isolated from Sečoveljske soline- important natural habitat of Slovenia.

National Institute of Biology was nominated as the National reference laboratory for detection of GMOs from the Ministry of Agriculture and the Environment. Laboratory is providing analysis for official control of GMOs in food, feed and seeds for inspection services and other customers.

Transgenic plants have been used in the project; therefore the researchers included in the project have obtained additional knowledge on GM plants, including new technologies and new approaches. Because this field is developing very quickly, our researchers with their expertise are members of Scientific committee for the deliberate release of GMOs into the environment and placing products on the market as well as Scientific Committee for work with GMOs in closed systems. Our expertise is important for risk assessments needed in decision making for applications of new genetically modified organisms to be put on the EU market or in research and release in Slovenia.

In the project four highly qualified Slovene research organizations have joined their efforts. All of them have international reputation in their field of research and cooperate with many international institutions. Therefore joining all our knowledge and international experiences has resulted in additional value. Results of the project have been presented on different international forums and conferences promoting achievements of Slovenian science. In the project many young researchers and diploma students have been educated. Besides, the knowledge has been transferred to the students by project participants during the regular lectures at different subjects at the University, since some of the project participants have university habilitation and participate at pedagogical processes at different studies.

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	

	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	

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

	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

--

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☐	☐	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☐	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☐	☐	☐	☐	
	Zmanjšanje porabe materialov in					

G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☐	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☐	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☐	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☐	☐	☐	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	☐	☐	☐	☐	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	☐	☐	☐	☐	
G.02.12.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	☐	☐	☐	☐	
G.03.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	☐	☐	☐	☐	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	☐	☐	☐	☐	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	☐	☐	☐	☐	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	☐	☐	☐	☐	
G.04.06.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete	☐	☐	☐	☐	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	☐	☐	☐	☐	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	☐	☐	☐	☐	
G.09.	Drugo: 	☐	☐	☐	☐	

Komentar

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

--	--

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

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

V letu 2012 smo nadaljevali z natančno karakterizacijo proteinov iz gob s potencialno insekticidnimi lastnostmi, in sicer smo opisali inhibitor tripsina kospin iz gnojščne tintnice in lektin CNL, ki specifično veže GalNAc β 1-4GlcNAc, iz meglenke na genetskem, biokemijskem, strukturnem in funkcionalnem nivoju. Poleg tega smo objavili nekaj preglednih člankov, in sicer dva pregledna članka na področju inhibitorjev proteaz iz gob (Sabotič in Kos, 2012; Renko in sod., 2012) ter en pregledni članek o bogastvu, edinstvenih lastnostih in uporabnosti proteinov iz gob v zelo ugledni reviji »Trends in Biotechnology« (Erjavec in sod., 2012). Objavili smo tudi dva metodološka poglavja v knjigi o afinitetni kromatografiji.

Članka

[COBISS.SI-ID 25428775]

[COBISS.SI-ID 25580583]

Pregledni članki

[COBISS.SI-ID 25537319]

[COBISS.SI-ID 26303015]

[COBISS.SI-ID 2504527]

Poglavja v knjigi

[COBISS.SI-ID 25683239]

[COBISS.SI-ID 25682983]

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Nacionalni inštitut za biologijo

Jana Žel

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	12.3.2013
-----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/120

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00

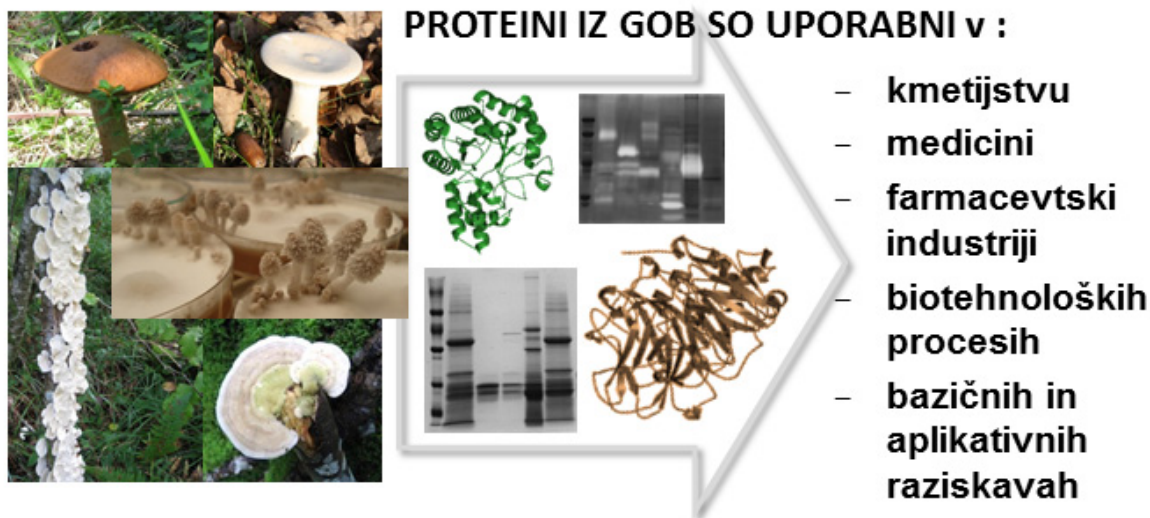
FC-9B-86-8E-01-56-33-0B-35-16-5C-98-09-4D-BC-6E-C2-BA-F1-E3

BIOTEHNIKA

Področje: 4.06 Biotehnologija

Dosežek 1: **Proteini višjih gliv - iz gozda do uporabe**

Vir: Erjavec J, Kos J, Ravnikar M, Dreo T, Sabotič J. Proteins of higher fungi - from forest to application. Trends Biotechnol. 2012, 30 (5): 259-273



Sodelavci Odseka za Biotehnologijo Instituta Jožef Stefan so na podlagi dolgoletnih izkušenj in v sodelovanju s sodelavci z Oddelka za biotehnologijo in sistemsko biologijo Nacionalnega inštituta za biologijo objavili pregledni članek o bogastvu, edinstvenih lastnostih in uporabnosti proteinov iz gob v prestižni reviji Trends in Biotechnology. Višje glive oziroma gobe predstavljajo namreč dragocen nov in v večji meri nepoznan vir proteinov z edinstvenimi lastnostmi, med katere spadajo npr. lektini, lignocelulolitični encimi, inhibitorji proteaz in hidrofobini. Nekateri od teh proteinov so prisotni izključno pri glivah in jih zaradi posebnih lastnosti, ki jih izkazujejo, izkoriščamo v raziskavah za njihovo potencialno uporabo v humani in veterinarski medicini, pri zaščiti in izboljšavi poljščin v kmetijstvu ter v biotehnoloških procesih in v farmacevtski industriji.