



BIOTEHNIŠKI IZOBRAŽEVALNI CENTER LJUBLJANA
GIMNAZIJA IN VETERINARSKA ŠOLA
Cesta v Mestni log 47

PROJEKTNE NALOGE
v šolskem letu 2016/17

POVZETKI

Ljubljana, junij 2017

Projektno delo je posebnost predmeta biotehnologija, dijaki tehniške gimnazije ga praviloma opravljajo v 4. letniku. Dijak lahko opravi projektno delo v enem sklopu (npr. v enem tednu) ali ob pouku v daljšem časovnem obdobju. Pri izvedbi projektnega dela sodelujeta šolski in strokovni (delovni mentor), ki dijakom svetujeta pri izbiri nalog, spremljata njihove aktivnosti, jih opozarjata na odklone, motivirata in vzpodbujata pri njihovem delu ter analizirata in ocenjujeta njihova prizadevanja. Po končanem delu dijaki izdelajo poročilo o projektu in ga zagovarjajo.

V šolskem letu 2016/2017 je bilo v okviru projektnega dela pripravljenih 26 nalog. Praktični del večine nalog (18) je bil opravljen na zunanjih institucijah, del nalog (8) pa je bilo v celoti opravljenih v laboratorijih šole.

Zunanje raziskovalne organizacije, s katerimi smo v tem šolskem letu sodelovali, so naslednje:

Raziskave v rastlinski aplikativni citogenetiki Peter Firbas,
Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo VF,
Laboratorij za molekularno biotehnologijo in nanobiotehnologijo KI,
Genska banka v živinoreji BTF,
Katedra za genetiko, biotehnologijo, statistiko in žlahtnjenje rastlin, Oddelek za
agronomijo BTF,
CCN Domžale,
Inštitut za celulozo in papir,
LEK, oddelek Pilotne fermentacije, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo,
Laboratorij za diagnostiko zoonoz MF,
Inštitut za patološko fiziologijo,
Laboratorij za nevroendokrinologijo-molekulska celična fiziologija MF.

Tudi tokrat so bili dijaki s takim načinom dela zelo zadovoljni, kar potrjujejo tudi rezultati ankete. V prvi vrsti so pohvalili projektno delo kot drugačno obliko pridobivanja praktičnih izkušenj s področja biotehnologije, delo z sodobnimi aparaturami in seveda mentorje.

Mentorjem in vsem drugim, ki so kakorkoli sodelovali pri izvedbi projektnega dela, se iskreno zahvaljujemo.

Koordinatorja projektnega dela: Nada Udovč Knežević in Jure Slatner

Lektorirala: Suzana Hajdinjak

Uredil: Jure Slatner

Tiskano v 65 izvodih

Benjamin Božič in Tjaša Šentjerc

Možnosti prenosa MRSA z rejnih živali na ljudi

Zunanji mentorji: asist. Majda Golob, dr. vet. med.,
dr. Mateja Pate, dr. vet. med.
doc. dr. Irena Zdovc, dr. vet. med.

Šolski mentor: Gašper Jan Simon, gim. mat.

Staphylococcus aureus je bakterija, ki lahko naseljuje sluznice divjih in domačih živali ter ljudi. V določenih okoliščinah lahko povzroča okužbe kože in drugih tkiv, lahko tudi sepso. Posebej problematični so proti meticilinu odporni sevi *S. aureus* (MRSA; angl. methicillin resistant *Staphylococcus aureus*), ki so odporni proti večini betalaktamskih antibiotikov. Sprva je bila MRSA znana kot povzročiteljica zgolj bolnišničnih okužb, kasneje pa tudi v okolju izven bolnišnic. Ker lahko kolonizirajo tako ljudi kot tudi živali, so pogosto prisotne pri domačih živalih in tako predstavljajo potencialni vir okužbe za ljudi. Problematična je tudi njihova razširjenost pri živalih, namenjenih za prehrano ljudi, na primer pri prašičih. Farme predstavljajo dobro okolje za širjenje MRSA. Živali so nastanjene v omejenem prostoru in v tesnem medsebojnem stiku, vendar pa so tudi v stiku s človekom. Seve MRSA razvrščamo v več skupin. HA-MRSA so sevi MRSA, pridobljeni v bolnišnicah, seve, pridobljene iz okolja izven bolnišnic, imenujemo CA-MRSA, LA-MRSA pa so sevi MRSA, povezani z rejnimi živalmi. Slednje lahko najdemo pri prašičih, perutnini in govedu, lahko pa se pojavijo tudi pri drugih domačih živalih.

V projektni nalogi sva poskušala dokazati prisotnost MRSA na kmetijah po Sloveniji in raziskovala možnosti prenosa bakterij med ljudmi in živalmi. Opravljala sva jo v sklopu raziskovalnega projekta na Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo na Veterinarski fakulteti, kjer se že več let ukvarjajo z raziskovanjem *S. aureus*. Vzorce sva vzela na treh kmetijah severovzhodnega dela Slovenije, katerih lastniki so bili nedavno hospitalizirani in pozitivni na bakterijo MRSA. Preverjala sva podobnost sevov MRSA s posameznih kmetij, izoliranih iz ljudi in živali in raziskovala možnosti prenosa bakterij z živali na človeka. Najprej sva iz vzorcev živali izolirala bakterije MRSA in jih potrdila z masno spektrometrijo (MALDI-TOF). Nato sva izolate nacepila na krvni agar in opravila mikrodilucijske teste, s katerimi sva dokazovala odpornost bakterij proti protimikrobnim zdravilom. S testi PCR sva namnožila tarčne gene izolatov (*mecA*, *mecC*, *pvl*, *nuc*, 16S rRNA in *spa*) ter vzorce tipizirala s *spa*-tipizacijo. Na podlagi njihovih *spa*-tipov sva predvidevala, ali so bakterije, izolirane iz ljudi, enake tistim, ki so bile izolirane iz živali. Prisotnost bakterije MRSA sva potrdila na dveh kmetijah. Pri eni izmed teh kmetij sva bakterijo izolirala le iz dveh ljudi; pri drugi pa sva našla izolate z enakim *spa*-tipom pri živalih in pri ljudeh.

Ajda Kankaraš in Tadeja Lenarčič

Ugotavljanje prisotnosti bakterije *Ehrlichia canis* v klopih *Rhipicephalus sanguineus*

Zunanji mentor: asist. dr. Katja Staršek Smrdel, univ. dipl. mikr.

Šolska mentorja: Nada Udovč Knežević, prof. biol.

Tjaša Klemen, prof. biotehnol.

Bolezen erlihioza je bakterijska okužba, ki jo povzroča več vrst bakterij. Ena najbolj pogostih pri psih je *Ehrlichia canis*. To je paličasta, gramnegativna bakterija, ki jo prenaša rjavi klop *Rhipicephalus sanguineus*. Bolezen prizadene različne vrste živali, najpogosteje pse.

Glavni namen projektnega dela je bil ugotoviti prisotnost bakterije *E. canis* v klopu *R. sanguineus*. Prisotnost sva preverjali s pomočjo PCR metode, ki zajame več vrst anaplazem in erlihij. Vzorci kloпов so bili že vnaprej pripravljeni. Postopek izolacije DNA kloпов sva si ogledali na nekaj primerih. Klopi so bili odvzeti večinoma s psov, nekaj tudi z ovc. Nabrani so bili v Dalmaciji - nekateri v kraju Muč, drugi na otoku Brač. Analizirali sva 46 vzorcev kloпов, od tega 15 kloпов ženskega spola in 31 moškega spola.

Vsi rezultati, razen enega, so bili negativni. Pozitiven vzorec sva preverili z bolj specifičnim PCR-jem za bakterijo *E. canis*. Tudi ta je bil negativen, kar pomeni, da klopi niso bili okuženi s to bakterijo. Zato nekaterih hipotez nisva mogli niti potrditi niti ovreči.

Liza Repar in Gaja Lah

Mikrobiološke značilnosti kobiljega mleka

Zunanji mentor: dr. Ilja Gasan Osojnik Črnivec

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

V najini projektni nalogi sva želeli ugotoviti, kako kobilje mleko antibakterijsko deluje na različne mikroorganizme. Ker je znano, da kobilje mleko vsebuje lizocim, sva predvidevali, da bo zaradi njegove vsebnosti mleko delovalo antibakterijsko. Bolje naj bi zaviralo delovanje gram pozitivnih bakterij kot gram negativnih, zato sva nagojene čiste kulture tudi pobarvali po gramu. Ker sva v literaturi zasledili, da se kobilje mleko veliko uporablja v kozmetiki, sva preizkusili tudi, če v mešanici z oljem deluje antibakterijsko na bakterije z rok. Pred nanosom mešanice olja in mleka na roke desetih prostovoljcev, sva jim z rok vzeli brise in jih nanесли na tekoča in trdna gojišča. Tri ure po nanosu mešanice mleka in olja sva postopek ponovili. Po inkubaciji sva pregledali spremembe na gojiščih.

Zaradi omejene šolske opreme nisva mogli dobiti pravih rezultatov. Ovirale so nas somatske celice v mleku pri štetju mikroorganizmov ter njegova motnost pri spektrofotometriji.

David Belaj

Učinkovitost industrijske biološke čistilne naprave

Zunanja mentorja: Marta Zajc, kem. inž.

mag. Barbara Brajer-Humar, univ. dipl. biol.

Šolska mentorja: Nada Udovč Knežević, prof. biol.

Lidija Gnidovec, prof. biol.

V projektni nalogi je opisan postopek čiščenja odpadne vode v industrijski čistilni napravi Melamin. Glavni cilj naloge je bil ugotoviti učinkovitost te čistilne naprave. V uvodu je predstavljena tudi tovarna Melamin, glavni onesnaževalec v odpadni vodi tovarne ter mejne koncentracije za izpust vode v kanalizacijo. Največjo težavo v odpadni vodi predstavlja formaldehid. Ugotovil sem, da je učinkovitost čiščenja formaldehida 99,6 %. Zato sem ugotovil, da je voda, ki pride iz čiščenja, primerna za izpust v kanalizacijo.

Sara Žužek in Nina Pestotnik

Vpliv različnih raztopin na sterilizacijo semenske lupine in kaljivost semen

Šolski mentor: Gašper Jan Simon, gim. mat.

S projektno nalogo sva hoteli ugotoviti, kako različne vrste raztopin vplivajo na uničenje ali odstranitev bakterij v semenski lupini. To bi nam pomagalo ugotoviti, kako bi iz semen odstranili različne mikroorganizme, ne da bi sterilizacija poškodovala seme in vplivala na njegovo kaljivost.

S plotno obdelavo in namakanjem v različnih raztopinah sva semena sterilizirali. Po petnajstih minutah sva jih sprali in dali na hranilna gojišča, kjer sva nato v obdobju od 5 do 15 dni opazovali kaljenje semen. Uporabili sva semena redkvic, kumaric in božičnega žita (pšenica).

Najini rezultati so pokazali, da sta najučinkovitejši raztopini za sterilizacijo bakterij v semenski lupini Vanish (5 % H_2O_2) in 2 % varekina, saj imajo s temi raztopinami tretirana semena najvišji delež kalitve ter zelo malo okužb. Vendar je tako le prvih nekaj dni. Po nekaj dneh se razvijejo okužbe, ki pa so vedno hujše. Torej lahko rečemo, da učinkovine delujejo le nekaj dni. Po nekaj dneh pa so začele kaliti odpornejše oblike mikroorganizmov ali pa si mikroorganizmi po nekaj dneh opomorejo in začnejo ponovno rasti in se razmnoževati. Pokazali sva tudi, da prekomerno razkuževanje samega semena in kalčka zelo negativno vpliva na seme, saj speremo določene snovi, ki so potrebne za razvoj semena in tudi povzročimo, da določeni encimi in beljakovine koagulirajo zaradi previsokih koncentracij kisline ter postanejo neaktivni, kar pa povzroči, da rastlina odmre.

Iz tega lahko razberemo, da različna semena potrebujejo različne pristope za uničenje in odstranitev bakterij iz semenske lupine, saj se med seboj razlikujejo po debelini in strukturi semenske lupine. Za semena, ki imajo tanjšo semensko lupino, lahko uporabimo blažja sredstva za sterilizacijo semenske lupine, pri tistih, ki pa imajo semensko lupino debelejšo, pa bi morali uporabiti močnejša sredstva. Pri tem bi morali ugotoviti idealen delež koncentracije raztopine, da semena ne bi poškodovali in pri tem odstranili vse škodljive mikroorganizme ter zagotovili velik delež kaljivosti rastline.

Črt Jurca

Kolona po Winogradskem

Šolski mentor: Gašper Jan Simon, gim. mat.

V tej seminarski nalogi sem se ukvarjal z raziskovanjem kolone po Winogradskem in kako na mikroorganizme in posledično kroženje snovi v njej vplivajo različni svetlobni režimi. V eksperimentu sem tri enake kolone izpostavil trem različnim svetlobnim režimom in jih opazoval v obdobju približno dveh mesecev. Popisoval sem razvoj različnih mikroorganizmov, ki so nastali v kolonah: kdaj so se pojavili in razmnožili, kakšne so bile razlike med tremi kolonami. Po koncu obdobja dveh mesecev sem najbolj razvito izmed kolon mikroskopiral in poskusil ter večinoma uspel identificirati mikroorganizme, ki so se nahajali v njej. Večina, ki sem jih uspešno poimenoval, je ustrezala rezultatom idealne kolone. Prav tako uspešno sem potrdil dve od treh hipotez. Tretjo pa sem bil primoran ovreči zaradi nepredvidenih okoliščin, ki so spremenili pričakovane rezultate.

Zarja Beguš in Lucija Marković

Utišanje gena pds pri rastlini *Nicotiana benthamiana* Domin s pomočjo agroinfiltracije

Zunanji mentor: doc. dr. Jana Murovec

Šolska mentorja: Nada Udovč Knežević, prof. biol.

Lidija Gnidovec, prof. biol.

V projektni nalogi sva želeli ugotoviti, kaj se bo zgodilo z rastlinami vrste *Nicotiana benthamiana*, okuženimi z bakterijo *Agrobacterium tumefaciens*, ki vsebuje binarni plazmid z DNA konstruktom za utišanje gena pds.

Pred izvedbo poskusa sva vzgojili testne rastline. Na hranilnem YEB gojišču, ki je vsebovalo ustrezne antibiotike, sva namnožili agrobakterijo. S pomočjo centrifugiranja sva ločili celice od hranilnega gojišča in jih prenesli v infiltracijsko gojišče. Mešanico agrobakterije in infiltracijskega gojišča sva z metodo agroinfiltracije vnesli v liste rastlin. Po dveh tednih sva preverili rezultate.

Rastline, ki sva jim agroinfiltrirali gojišče, v katerem so bile bakterije s plazmidom z DNA virusnega genoma TRV 1, so bile zelo poškodovane. Pri rastlinah, ki sva jih okužili z bakterijami, ki so vsebovale plazmid z DNA virusnega genoma TRV 2, so bile na mestih, kjer sva opravili agroinfiltracijo, rjave lise, rast pa je bila nekoliko upočasnjena. Pri rastlinah z agroinfiltriranim gojiščem, v katerem so bile hkrati bakterije s plazmidi z virusno DNA TRV 1 in TRV 2, so se pojavili pričakovani rezultati. Novi deli rastlin so imeli bele lise, saj je vstavljena DNA povzročila pojav RNA interference. Posledica je bila razgradnja mRNA, ki nosi zapis za beljakovino, pomembno pri nastanku karotenoidov, zato sinteza tega barvila ni bila mogoča. Zaradi zmanjšane tvorbe karotenoidov, ki varujejo klorofil pred premočno svetlobo, so na mestih s celicami s spremenjeno DNA nastale bele lise.

Marija Medved

Vpliv eteričnih olj v domači kozmetiki na bakterije mikroflore roke

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

Glavna sestavina doma narejenega mila so eterična olja. Eterična olja so kapljevine oljnega videza z značilnim vonjem in so večinoma rastlinskega izvora. So mešanica različnih snovi in nimajo enotnih kemijskih lastnosti.

Geranija deluje kot antidepresiv, antiseptik, astringent, deodorant, hemostatik, tonik. Olje stimulira nadledvično skorjo, uravnava hormone in razpoloženje, razstruplja limfatični sistem in pomaga odstranjevati celulit.

Sivka deluje kot analgetik, antidepresiv, antimikrob, antiparazitik, antirevmatik, antiseptik, antitoksik, deodorant, insekticid, karminativ, sedativ, spazmolitik, stimulans, tonik, vermucid. Ima širok spekter uravnovešanja in normaliziranja različnih telesnih funkcij in čustev. Citronela blaži vnetja na površini kože in prek masaž sprošča utrujene mišice. Deluje protistresno, pomaga pri utrujenosti in glavobolu ter dviguje razpoloženje in izboljšuje koncentracijo.

Lara Rebernik in Nina Gerbec Kovač

Kloriranje vode

Šolska mentorica: Lidija Gnidovec, prof. biol.

Kako voda, ki jo pijemo, vpliva na naše zdravje? Voda predstavlja skupno dobro in naravno vrednoto najvišjega pomena, obenem pa sta naš obstoj in zdravje neločljivo povezana z njo. Kvaliteta vode je torej zelo pomembna za naše zdravje. Zakaj bi potemtakem po nepotrebnem tvegali pitje oporečne vode?

Dezinfekcija pitne vode je postopek, s katerim uničimo neželjene mikroorganizme. S tem pa preprečujemo širjenje nalezljivih bolezni. Zaradi tega je dezinfekcija večinoma nujen postopek v pripravi pitne vode. Za dezinfekcijo pitne vode se običajno uporabljajo različna kemijska sredstva, najpogosteje je to plinski klor in hipokloritne spojine. Te naj bi ustrezale naslednjim pogojem: uničenje vseh mikroorganizmov v sprejemljivem času, poceni in varno ter enostavno za rokovanje in uporabo, zagotavljanje rezidualnega delovanja in omogočanje enostavnega nadzora postopka in da je nestrupen oziroma nemoteč za človeka in živali. Pa je to res tako?

V tej projektni nalogi sva se poskušali natančneje posvetiti naslednjemu načinu dezinfekcije vode - kloriranju vode. Odkrivali sva njegovo delovanje, učinke in možne negativne učinke na različne organizme. V raziskovalne namene sva uporabili kvasovke, semena božičnega žita, vodne bioindikatorske pokazatelje čiste vode - tubifexe in mlečnokislinske bakterije. Najbolj so naju zanimale ravno mlečnokislinske bakterije, ki predstavljajo večji del človeške mikroflore in posledično imunskega sistema. Pri tem sva ugotavljali, ali pitna mera klora kot tudi bazenska voda res tako nedolžno vplivata na človeško telo in njegov imunski sistem.

Kristina Šparemblek in Monika Gril

Matične celice

Šolski mentorji: Nada Udovč Knežević, prof. biol.
Tjaša Klemen, prof. biotehnol.
Katarina Rugani, prof. psih.

Z raziskavami matičnih celic vsak dan odkrivajo nove možnosti uporabe le-teh. Uporabljajo jih v raziskovalne in klinične namene. Ker pa prihajajo do novih odkritij, se vse večkrat pojavljajo moralno-etični zadržki glede njihove uporabe. Znanje o matičnih celicah je precej razširjeno, saj lahko o njih marsikaj izvemo iz medijev. Veliko ljudi se sooča z boleznimi, ki se jih da zdraviti z matičnimi celicami in tako so ti vedno bolj seznanjeni z možnostmi zdravljenja.

Najino delo vsebuje splošno predstavitev matičnih celic in anketo, preko katere sva prišli do zanimivih ugotovitev. Pri raziskovanju sva se osredotočili predvsem na znanje dijakov o matičnih celicah, poznavanje načinov zdravljenja z njimi ter na možnosti shranjevanja. Zanimalo naju je tudi mnenje glede uporabe embrionalnih matičnih celic in povezave z religijo.

Doroteja Armič

Produkcija daljše variante rekombinantnega membranskega ogrodnega proteina

Zunanji mentor: prof. dr. Gregor Anderluh
Mirijam Kozorog, univ. dipl. bioteh.
dr. Marjetka Podobnik
Šolski mentor: Nada Udovč Knežević, prof. biol.
Tjaša Klemen, prof. biotehnol.

Namen projektne naloge je bil pridobiti rekombinantni membranski ogrodni protein MSP1E3D1, ki se bo kasneje uporabil za tvorbo nanodiskov. Zanimalo me je, ali se bo gen za ta protein izrazil po dodatku induktorja IPTG. Protein sem želela očistiti z afinitetno kromatografijo. Uporabila sem gensko spremenjeno bakterijo *E. coli*, ki je vsebovala plazmid pMSP1E3D1. Celice sem nagojila na selektivnem gojišču, ki je vseboval antibiotik kanamicin, kasneje pa sem dodala še induktor IPTG. Celice sem sonicirala in jim tako razbila celične stene. S centrifugiranjem sem ostanke celičnih sten in netopne membranske proteine ločila od vodotopnih proteinov. Tarčni protein MSP1E3D1 sem očistila nečistoč z IMAC kromatografijo, ki temelji na afiniteti histidinskih ostankov do Ni²⁺ ionov. Od vseh proteinov, ki jih je sintetizirala *E. coli*, je imel MSP1E3D1 največjo afiniteto in se je najmočneje vezal na kolono. Ostale proteine sem sprala s kolone s pufri z različno koncentracijo imidazola. Z zadnjim pufrom sem iz kolone eluirala tarčni protein. Na koncu sem uspešnost čiščenja preverila z SDS-PAGE elektroforezo.

Gal Vreča

Utrujenje mišic

Mentor: Jure Slatner, laborant

Mišična utrujenost je zmanjšanje maksimalne moči mišic, ki se pojavi zaradi njihove prevelike aktivnosti. Ne pojavi se le zaradi sprememb v mišicah samih, ampak tudi zaradi centralnega živčnega sistema. Večina nas pozna utrujenost mišic kot »muscle fever«, ki se čuti kot bolečina v mišicah in se pojavi zaradi znižanja pH-ja znotraj celic. Na utrujenost mišic pa vplivajo tudi koncentracija K^+ in Na^+ ionov ter Ca^{2+} ionov, ki pa uravnavajo krčenje celic.

Pri delu sem s pomočjo dinamometra Vernier ugotavljal, kako se utrujajo določene mišične skupine pri konstantnih obremenitvah v primerjavi z intervalno obremenitvijo in ugotovil, da je slednja bolj primerna v procesu treninga in pridobivanja mišične mase.

Bor Bokalj

Dokazovanje prisotnosti spor bakterij *Streptomyces clavuligerus* v tekočih gojiščih

Zunanji mentorji: dr. Alja Štern

Ana Slakan, mag. biotehnol.

Matej Bizjak, mag. biotehnol.

Šolska mentorja: Nada Udovč Knežević, prof. biol.

Tjaša Klemen, prof. biotehnol.

Pri projektni nalogi sem se ukvarjal z dokazovanjem sporulacije bakterij *Streptomyces clavuligerus* v tekočih gojiščih. Izkoristil sem značilnosti visoke odpornosti bakterijskih spor in različne vzorce izpostavil stresnim pogojem okolja, kot je visoka temperatura in ultrazvočno valovanje. Iz spor so se razvile bakterijske kolonije, medtem ko vegetativne oblike celic stresnih pogojev niso preživele. Po tretiranju vzorcev z visoko temperaturo je tako na ploščah z nacepljenimi vzorci iz tekočih gojišč bioreaktorjev in pri pozitivni kontroli (kontrola, ki vsebuje spore) prišlo do rasti bakterijske kulture, medtem ko pri negativni kontroli (kontrola, kjer ni spor) rasti ni bilo opaziti. S postopkom sonikacije spor nisem uspel dokazati, saj so testiranje preživele tudi vegetativne celice. V namen dokazovanja spor sem uporabil tudi posebno tehniko barvanja (barvanje po Schaeffer-Fulton), s katero lahko razlikujemo med sporami in vegetativnimi celicami v kulturi. Na pobarvanih mikroskopskih preparatih sem lahko pod mikroskopom opazoval obarvane spore. S poskusi sem dokazal, da je v tekočih gojiščih, kjer so bile bakterije *Streptomyces clavuligerus* izpostavljene stresnim življenjskim pogojem, prišlo do sporulacije. Strukture so imele namreč obliko, značilno za spore in tudi nekatere druge značilnosti spor (npr. odpornost na povišano temperaturo).

Luka Gajšt in Kaja Ivanc

Razvoj reakcijskega sistema za oksidacijo organskih hidrazidov in uporabe kemiluminiscenčne svetlobe

Zunanji mentor: Marko Jeran, raz. sod.

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

V raziskovalnem delu opisujeva katalitsko učinkovitost kovin prehoda na sproščanje emisije svetlobe ob reakciji kemiluminiscence, modelnega organskega hidrazida v vodnem mediju (luminol). V reakcijski sistem sva uspešno vnesla kvarterne amonijeve soli, zvrsti bakra in železa ter testirala nekatere emisijske občutljivce. Reakcijski sistem sva izpostavila tudi piridinijevim solem in ugotovila, da so pod določenimi pogoji visok aktivator nastanka emisije svetlobe. Ob testih talijevih in bizmutovih zvrsti meritve kažejo na izrazito inhibicijsko delovanje.

Razvit reakcijski sistem sva uspešno uporabila za preliminarni test prenosa luminiscenčnih komponent skozi celično membrano. Raziskovalno delo obsega interdisciplinarno povezavo naravoslovnih vsebin, ki bodo lahko iztočnica za razvijanje modelnega vnosa komponent v celične kulture. Vsekakor je za učinkovit napredek na omenjenem področju potrebno opraviti in opisati osnovne parametre reakcijskega sistema, zato je kataliza na tem mestu ključna.

Nives Zuza in Katarina Podgornik

Bakterije na mobilnih telefonih

Šolski mentor: Gašper Jan Simon, gim. mat.

Naši mobilni in pametni telefoni so lahko pravo leglo bakterij. Dotaknemo se ga približno 150-krat na dan, tiščimo ga k ušesu, govorimo vanj in ga puščamo vsepovsod. Ker se zavedava tega problema, sva želeli ugotoviti, koliko in katere bakterije se nahajajo na naših mobilnih telefonih. Zanimala naju je predvsem prisotnost enterobakterij. Brise sva vzeli tudi z blazinic prstov, da sva lahko bakterije od tam primerjali z bakterijami na mobilnih telefonih. Z API 10 testom nama je uspelo identificirati le štiri kulture od trinajstih. Dobili sva različne invazivne bakterije iz družine Shigella, Yersinia in Sphingobacterium, ki povzročajo razne bolezni. Iz rezultatov lahko vidimo, da se bakterije iz teh družin pojavljajo tako na mobilnem telefonu kot na prstih.

Pri barvanju po Gramu sva dobili samo gram pozitivne bakterije. Bakterije, ki sva jih identificirali, pa so gram negativne. Pri postopku barvanja po Gramu je najverjetneje prišlo do napak pri fiksaciji preparatov. Do napak je lahko prišlo tudi zaradi identificiranja nečistih kultur. Zagotovo ne moremo reči, koliko in kakšne bakterije se tam nahajajo, saj je pri nekaterih najinih meritvah prišlo do napak in posledično rezultati niso pravilni.

Filip Geč in Aljaž Kavčič

Sinteza fluorescenčno aktivnih barvil s fluoresceinskim skeletom in njihova aktivnost

Zunanji mentor: Marko Jeran, raz. sod.

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

Fluorescein je organska spojina, najpogosteje dostopna v obliki oranžno-rdečega prahu. Raztopljen v topilu oddaja intenzivno svetlobo v obliki zelene fluorescence. Pogosto je prisoten kot medicinska sonda za označevanje komponent v človeškem telesu, ki so s prostim očesom nevidne.

Z namenom kemiluminiscenčnih, fluorescenčnih in mikrobioloških aplikacij sva v raziskovalnem delu pripravila vodotopne derivate fluoresceina. Spremenjena struktura osnovnega fluoresceinskega skeleta kaže velik vpliv na njegove lastnosti. Izjemno učinkovit in uporaben se je izkazal natrijev 3',6'-dihidroksi-3-okso-3H-spiro[izobenzofuran-1,9'-ksanten]-4',5'-disulfonat, ki je pokazal visoko kemiluminiscenčno aktivnost v sistemu luminolove oksidacije, v nizkih množinah, kar sva pokazala prva. Testi difuzije na agarno gojišče so pokazali, da derivati fluoresceina ne delujejo antibakterijsko, zato so primerni za nadaljnje aplikacije na gojiščih.

Domen Kristian Franken in Maks Kajfež

Dodatki za v pivo

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

Pri projektni nalogi sva izdelovala različne dodatke za v pivo z namenom, da bi ustvarila nov napitek. Zasnovala sva recepte z različnimi okusi, ki so se nama zdeli primerni za v pivo. Vsak okus je imel različno tematiko. Naredila sva štiri različne okuse: poletnega, zimskega, pikantnega in sadnega. Pozanimala sva se tudi o zdravilnih učinkih samih sestavin. Delo sva opravljala v laboratoriju, kjer sva sistematično izdelovala različne različice recepta. Tako sva prišla do najboljše verzije okusa. Med izvajanjem laboratorijskega dela sva naletela na različne težave. V nekaterih primerih se je pivo začelo peniti, trdni delci so plavali na površju, eterična olja se niso mešala s tekočino, v nekaterih primerih pa sta bila že izgled in okus neprimerna. Poiskala sva razloge za te probleme ter jih poskušala čim učinkoviteje odpraviti. V nekaterih primerih nama je to uspelo, v drugih pa sva te probleme zgolj omejila. Opravila sva degustacijo ter v testiranje vključila naključno izbrane ljudi ter razvrstila okuse po lestvici od najboljšega do najslabšega. Po končanem biotehnološkem procesu sva ugotovila, da je dodajanje okusov pivu nesmiselno, saj okus ne pride do izraza ali pa naredi pijačo neokusno. Pivovarske knjige pravijo, da se okuse dodaja med samim biotehnološkim procesom, ker tako okusi in arome najboljše pridejo do izraza.

Lara Vidmar in Marjeta Zgonc

Učinki aloje in netreskov na aknasto kožo

Šolski mentor: Jure Slatner, laborant

V projektni nalogi sva se ukvarjali z iskanjem protibakterijskih učinkovin netreska in prave aloje na aknasto kožo. Učinkovine, ki naj bi delovale antibakterijsko, sva iskali med hlapnimi in nehlapnimi snovmi v različnih topilih. Pri tem sva uporabili več različnih tehnik. Za hlapne snovi sva uporabili destilacijo, pri nehlapnih pa izhlapevanje. Najin namen je bil, da bi izolirali snovi, pri katerih bodo inhibicijske cone največje. Uporabljali sva bakterije iz mozoljev.

Ker je to področje bolj malo raziskano, sva imeli pri odkrivanju snovi, ki delujejo antibakterijsko, težave. Nisva imeli veliko zanesljivih podatkov in dokaznih virov, s katerimi bi si lahko pri tem pomagali.

Ugotovili sva, da na bakterije iz mozoljev nobena od pridobljenih izoliranih substanc iz prave aloje ali netreska ne deluje zaviralno.

Maruša Kerenčič in Aljaž Pišek

Optimizacija barvanja in preučevanje morfologije astrocitov v kulturi z barvilom DiD

Zunanja mentorja: akad. prof. dr. Robert Zorec

Eva Lasič, dipl. biol.

Šolski mentorji: Lidija Gnidovec, prof. biol.

Nada Udovč Knežević, prof. biol.

Mihaela Terkov, prof. biol.

Pri projektni nalogi sva raziskovala, kako lipofilno barvilo DiD vpliva na morfologijo astrocitov. Najprej sva celice namnožila v gojilnih posodicah v hranilnem mediju, nato pa sva jih nasadila na sterilne steklene krovnike. Celice sva barvala z različnimi koncentracijami barvila (1 μM , 10 μM , 20 μM). Znotraj vsake koncentracije sva celice barvala različno dolgo (30 sekund, 10 minut, 1 uro). Po barvanju sva pripravila trajne preparate, ki sva jih pregledala z mikroskopijo s strukturirano osvetlitvijo (SIM). Za vsako sliko celice ($n=20$ na tretma) sva izmerila obseg in površino ter tako izračunala indeks cirkularnosti. Vsaki celici sva tudi določila jakost fluorescence, celično obliko, število krakov, število izrastkov in število vakuol. Podatke sva zbrala v tabele in narisala grafe, ki prikazujejo posamezne parametre. Po analizi zbranih podatkov sva ugotovila, da barvilo DiD ne vpliva na morfologijo astrocitov in je primerno za barvanje celic. Barvilo hitro deluje (že po 30 sekundah so bile celice lepo obarvane) in učinkuje že pri nižjih koncentracijah (1 μM in 10 μM).

Živa Dimnik in Matija Leštan

Ugotavljanje genotoksičnosti vode porečja Kamniške Bistrice

Zunanji mentor: Peter Firbas, univ. dipl. biol.

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

Kamniška Bistrica je reka, ki izvira pod Kamniško-Savinjskimi Alpami. Na svoji poti do izliva teče skozi večja naselja, kmetijske in industrijske površine. Zaradi neprečiščenih odpadnih vod je bila v preteklosti močno onesnažena, vendar pa se je zaradi zaostrite zakonodaje stanje zelo izboljšalo. K temu je pripomogla tudi Centralna čistilna naprava Domžale – Kamnik. Sistem CCN vključuje mehansko, aerobno in anaerobno stopnjo, v katerih se očisti odpadna voda.

Da bi ugotovila, kako čista je Kamniška Bistrica, sva odvzela vzorce na sedmih mestih in jih z različnimi kemijsko-fizikalnimi in biološkimi analizami preučila. Predvsem sta naju zanimala vzorca vtoka in iztoka iz CCN, saj naju je zanimala učinkovitost CCN.

Najbolj sva se osredotočila na Allium metodo (biološka analiza). Opravila sva vse tri Allium teste in prišla do zaključka, da se je stanje onesnaženosti Kamniške Bistrice res zelo izboljšalo.

Jure Pirman

Uporaba 3DP tehnologije 3D-tiska v namen medicinske uporabe

Zunanji mentor: Rok Kocen, PhD

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

Namen te naloge je bila zasnova metode, s katero bi bilo mogoče tiskati 3D-strukture, podobne kostnemu tkivu. Za metodo 3D-tiska je bila izbrana 3DP ali binder jetting powder bed metoda. Na podlagi tega je bilo treba ustvariti material v prašni obliki, ki se strdi ob stiku z vodo. Določeni so bili štirje konceptni materiali. Ti so bili hidroksiapatit, hidroksiapatit z dodano metil celulozo, hidroksiapatit z dodanim portlandskim cementom ter hidroksiapatit, ki ima na površini delcev nanešen surfaktant. Hidroksiapatit in hidroksiapatit z dodano celulozo sta se izkazala kot povsem neuporabna. Hidroksiapatit z dodanim cementom se je izkazal za obetavna, kljub temu pa ni bil dokončno raziskan, saj vpliv cementa na celice ni povsem znan. Za najbolj primeren material je bil določen hidroksiapatit s surfaktantom. Ker na proces nanašanja surfaktanta vpliva več faktorjev, sem raziskal tudi, kako vplivajo razmerje raztopine surfaktanta in masa hidroksiapatita, delež surfaktanta v raztopini ter način sušenja na končni izdelek. Poleg izdelave materiala sta bila izdelana tudi 3DP printer in tiskalna glava, ki sta bila uporabljena v namene testiranja. Za tisk po 3DP metodi se je najbolje izkazal hidroksiapatit z nanešenim surfaktantom, čeprav je nanašanje surfaktanta precej zapleteno zaradi faktorjev, ki nanj vplivajo.

Anamarija Pelc in Kaja Mlakar

Mikropropagacija pravega kostanja, okuženega s šiškarico

Zunanji mentor: prof. dr. Zlata Luthar

Šolska mentorja: Nada Udovč Knežević, prof. biol.

Tjaša Klemen, prof. biotehnol.

Kostanj je lesnata rastlina, ki se težje razmnožuje, tako generativno kot tudi vegetativno. Velik problem pa predstavlja tudi to, da rastline s starostjo postajajo ne samo morfološko, temveč tudi fiziološko stare, kar vpliva na njihovo regeneracijsko sposobnost. Osredotočili sva se na razmnoževanje v in vitro razmerah. Z izvedbo te projektne naloge sva tako poskušali v nadzorovanih razmerah razmnožiti čim večje število vitalnih poganjkov genotipa z oznako P1. Izvorno tkivo tega genotipa je izhajalo iz kostanja, napadenega s kostanjevo šiškarico, ki raste v gozdnem sestoju. Vitalni poganjki, ki sva jih razmnožili z in vitro postopkom, so primerni za koreninjenje in kot sadilni material ter nadaljnje gojenje v naravnih razmerah, s tem pa tudi za obnovo populacije v okolju. V poskus sva vključili en genotip (P1) in opravili 3 subkultivacije. Poganjke sva narezali na 1 do 1,5 cm velike nodijske segmente in jih subkultivirali na sveže razmnoževalno MS- $\frac{1}{2}$ NO₃ gojišče. V in vitro razmerah sva tako vzgojili nove rastlinske poganjke. Pri prvi subkultivaciji sva uspeli razmnožiti 15 % vitalnih poganjkov, v drugi 28 % in v tretji 57 %. Spremembe so bile opazne tudi pri drugih njihovih lastnostih, kot je pojav vitrificiranih in propadlih poganjkov.

Nina Grčar in Katarina Kokol

Biotehnologija v papirništvu - uporaba encimov

Zunanji mentor: dr. Mija Sežun, univ. dipl. inž. zoot.

Šolski mentor: Jure Slatner

Pomembno vlogo v papirni industriji ima recikliran papir. Bistvena lastnost reciklaže je obnavljanje vlaken, velik problem pa predstavlja tiskarsko črnilo, ki ga je potrebno odstraniti in hkrati ne sme obremenjevati okolja. Med postopki reciklaže in izdelave papirja nastajajo papirniški mulji – zmesi celuloznih vlaken in polnil. Ti pa se nabirajo na odlagališčih. Vendar so papirniški mulji zaradi svoje visoke vsebnosti celuloze, lignina in hemiceluloze dobro gojišče za glive bele trohnobe. Te vsebujejo encime, ki jih lahko v papirništvu uporabljamo od deinking procesa do čiščenja odpadnih voda. Z gojenjem teh gliv na muljih zmanjšujemo količino muljev, z uporabo encimov v papirništvu pa zmanjšujemo količino porabljenih kemikalij ter tako prispevamo k boljšemu ohranjanju okolja. Pri bukovem ostrigarju (*Pleurotus ostreatus*) sva ugotavljali prisotnost uporabnih glivnih encimov ter merili encimsko aktivnost. Uspešno sva zaznali lipazno, peroksidazno in calulazno aktivnost, kar pomeni, da je gliva primeren vir teh encimov.

Jaka Kraševac, Mavrin Gašperšič

Slabo topne bakrove komponente kot nosilci hladne svetlobe

Zunanji mentor: Marko Jeran, raz. sod.

Šolski mentor: Alma Kapun Dolinar, univ. dipl. inž. živ. teh.

Baker je po osnovni definiciji kemijski element kovin prehoda, ki ga najdemo v periodnem sistemu. Gre eno izmed prvih kovin, ki jo je človek pridobil in uporabil, ter s tem prispeval k ohranjanju in izboljšanju družbe že od začetka civilizacije. Baker je pogost element v številnih mineralih, včasih se pojavi tudi v čisti, izvorni obliki.

Raziskovalno delo opisuje sintezo sekundarnih bakrovih mineralov in njihovo vlogo pri kemiluminiscenčnih reakcijah in katalitskem razpadu vodikovega peroksida.

Pri študiji katalitske kemiluminiscence luminola z bakrovimi minerali smo najvišjo emisijo svetlobe zaznali pri posnjakitu, kateri kontrolirano aktivira razpad peroksida in ob počasnem delovanju sproži visoko emisijo nastale svetlobe. Posnjakitu je sledil malahit, čigar najvišja vrednost je bila skoraj dvakrat manjša od vrednosti s posnjakitom. Minerala brohantit in azurit sta precej slabše katalizirala merjeno reakcijo.

Pri testih difuzije na trdo gojišče so se pripravljene bakrovi minerali izkazali kot primerni za rokovanje za nadaljnje aplikacije. Znatna inhibicijska cona se je pojavila zgolj pri brohantitu, kar nam nakazuje, da mineral lahko v določenih količinah deluje minimalno antibakterijsko in potencialno toksično.