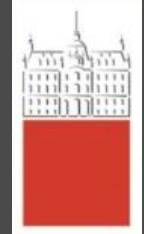




**Prof. dr. Igor Križaj**

**Oddelek za kemijo in biokemijo  
Katedra za biokemijo**



**IJS, Odsek za molekularne in  
biomedicinske znanosti (B2)**

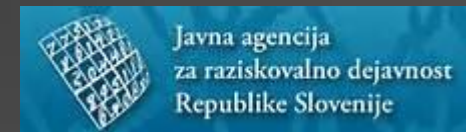


**Programska skupina**

**P1-0207**

**“Toksini in biomembrane”**

Medinstitucionalna PS: IJS in UL (BF, FKKT)





Institut Jožef Stefan

# Odsek za molekularne in biomedicinske znanosti (B2)

<http://www-b2.ijs.si/>

Vodja: Prof. dr. IGOR KRIŽAJ; [igor.krizaj@ijs.si](mailto:igor.krizaj@ijs.si); 00386 1 477 3626

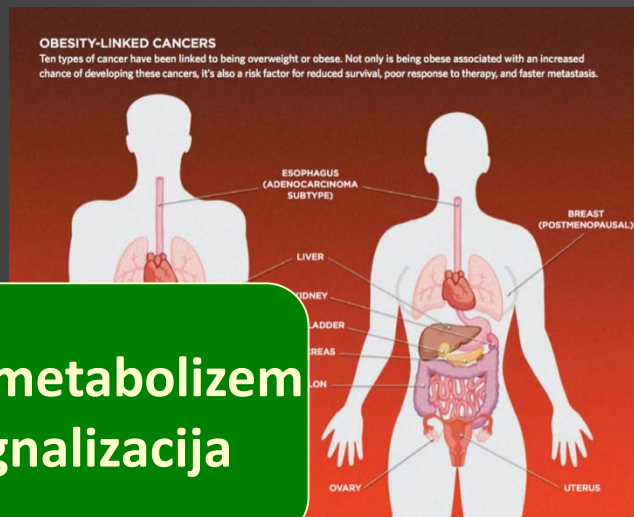
## Toksinologija



ANTITROMBOTIKI  
ANTIKOAGULANTI

- kardiovaskularne b. (kap, infarkt, hipertenzija)
- neuro-degenerativne b. (AD, PD)

## Lipidni metabolizem & signalizacija

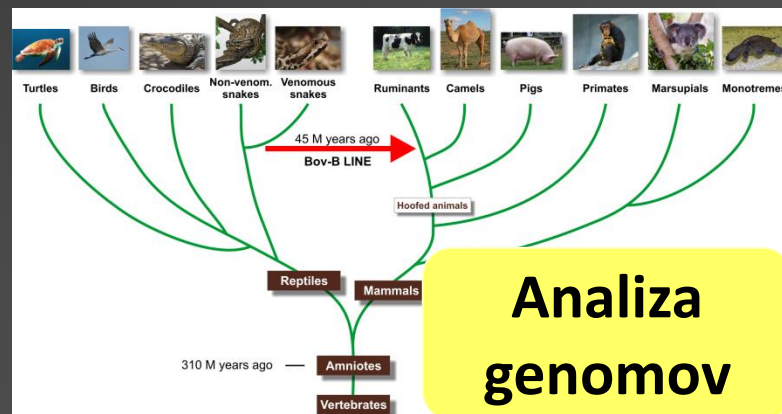


- rak, debelost, sladkorna b., metabolični sindrom, kardiovaskularne b.



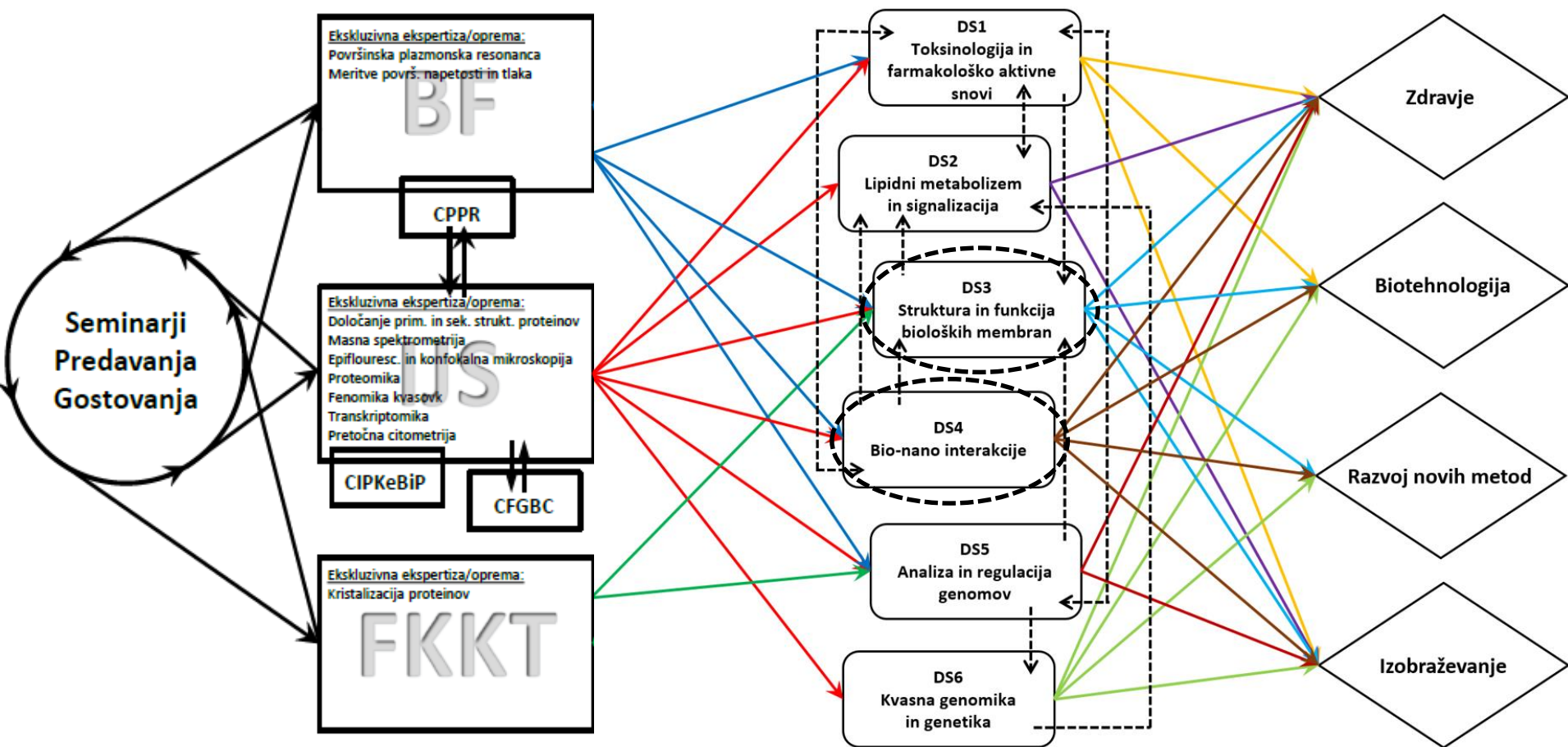
- celične tovarne, delovanje zdravil, stranski učinki zdravil, učinki polutantov

## Visokozmogljivostna genetika & funkcijska genomika kvasovke



- novi antimikrobiki & terapevtske tarče
- evolucija odpornosti na antibiotike

# Komplementarnosti in sinergije sodelujočih skupin v okviru programa P1-0207



## Legenda:

BF – Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

IJS – Institut „Jožef Stefan“, Ljubljana

FKKT – Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

CPPR – Center za površinsko plazmonske resonanco, Ljubljana

CIPKeBiP - Center odličnosti za integrirane pristope v kemiji in biologiji proteinov, Ljubljana

CFGBC - Center za funkcijsko genomiko in bio-čipe, Ljubljana

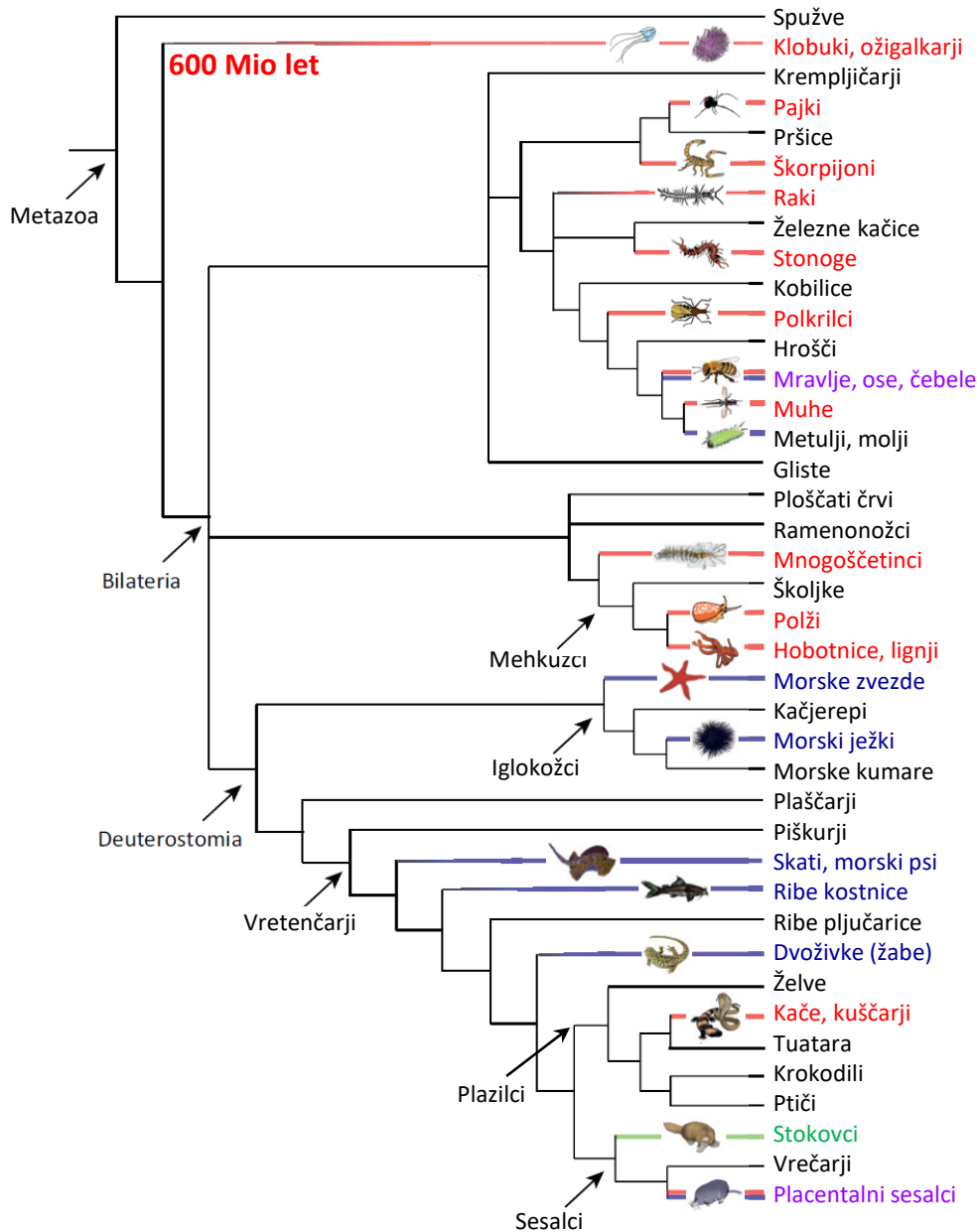
# S čim se raziskovalno ukvarjam ...

**Toksinologija:** živalski strupi; zastrupitve; nevrotoksini; antikoagulantni; prokoagulantni; antitrombotiki; hemoragini; miotoksini; molekularni mehanizmi delovanja; toksinski receptorji; venomika; zdravila iz strupov.

**Sekretorne fosfolipaze  $A_2$ ,** njihovi inhibitorji in aktivatorji: fiziološka in patofiziološka vloga.

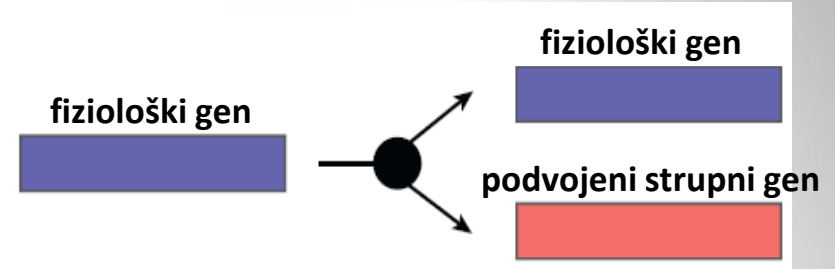
**Proteomika in struktura proteinov:** strukturno-funkcijske povezave.

# Ta čudoviti svet živalskih strupov



## Evolucija strupa:

- nastanek strupne žleze
- nastanek toksinov



## Funkcije strupa:

- lov
- obramba
- kompeticija



# Katere organske sisteme živalski strupi prizadenejo?

## Sistemski učinki

- vročina
- bolečina
- splošna krvavitev

## CŽS

- povečana žeja
- glavobol
- omotica
- nezavest

## Vid, okus, sluh

- meglenost
- okus po kovini

## PŽS

- paraliza
- krč

## Srce in krvni sistem

- pospešen utrip
- nizek krvni pritisk
- moteno strjevanje krvi

## Pljuča

- težavno dihanje

## Skeletne mišice

- paraliza
- krč
- izguba koordinacije
- šibkost
- nekroza

## Lokalni učinki

- krvavitev
- razbarvanje kože
- pekoč a bolečina
- oteklina
- nekroza

## Koža

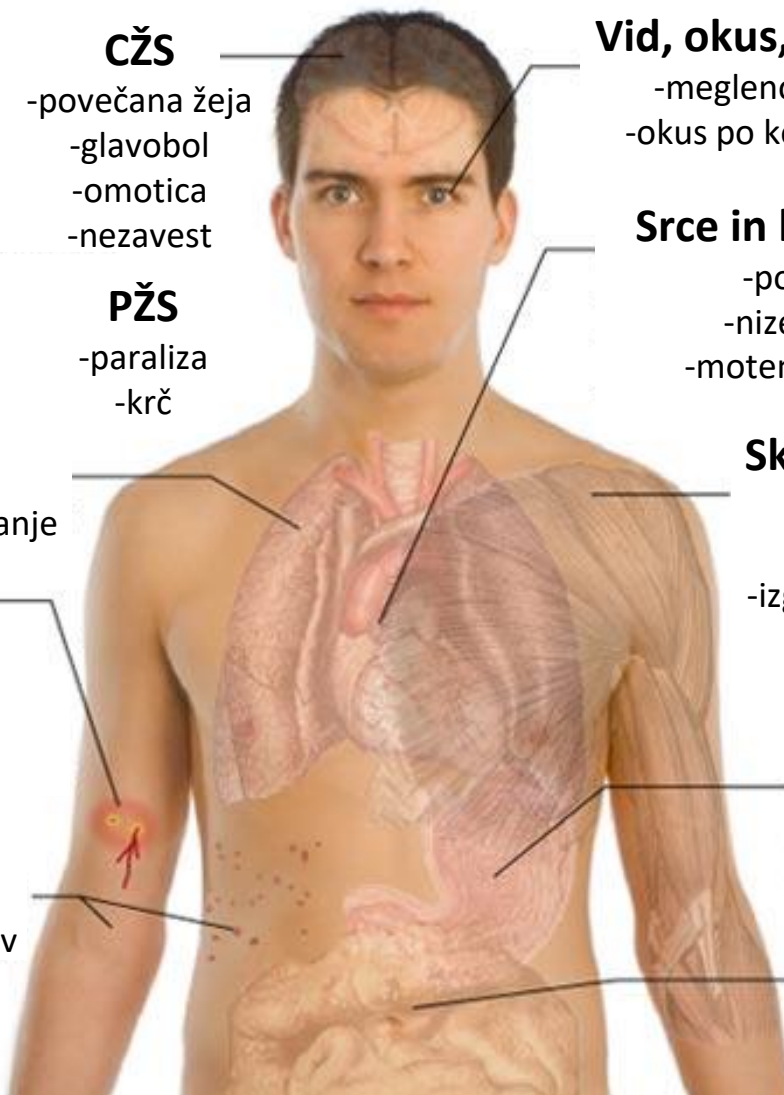
- podkožna krvavitev
- potenje
- otopelost
- ščemenje

## Prebavila

- slabost
- bruhanje

## Črevesje

- driska





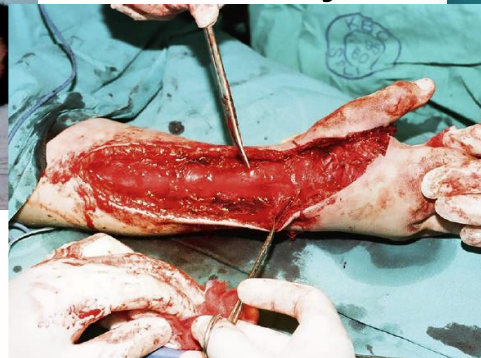
**Navadni krajt**  
(*Bungarus caeruleus*)

## Mišična paraliza



**Modras**  
(*Vipera ammodytes*)

## Edem ⇒ fasciotomija



## Hemoragija



## Strjevanje krvi



**Ameriška suličarka**  
(*Bothrops asper*)

## Nekroza, gangrena



## Mehurjenje, dermonekroza



**Indijska kobra**  
(*Naja naja*)



# Vpliv toksinoloških raziskav na različna področja znanosti in življenja

**Bazične biomedicinske raziskave**

Molekularna orodja

Pospešena evolucija

Raziskovalni modeli

**Toksinološke raziskave**

Patofiziologija

Fitofarmaceutvska sredstva

Terapevtska sredstva

Ciljna dostava učinkovin

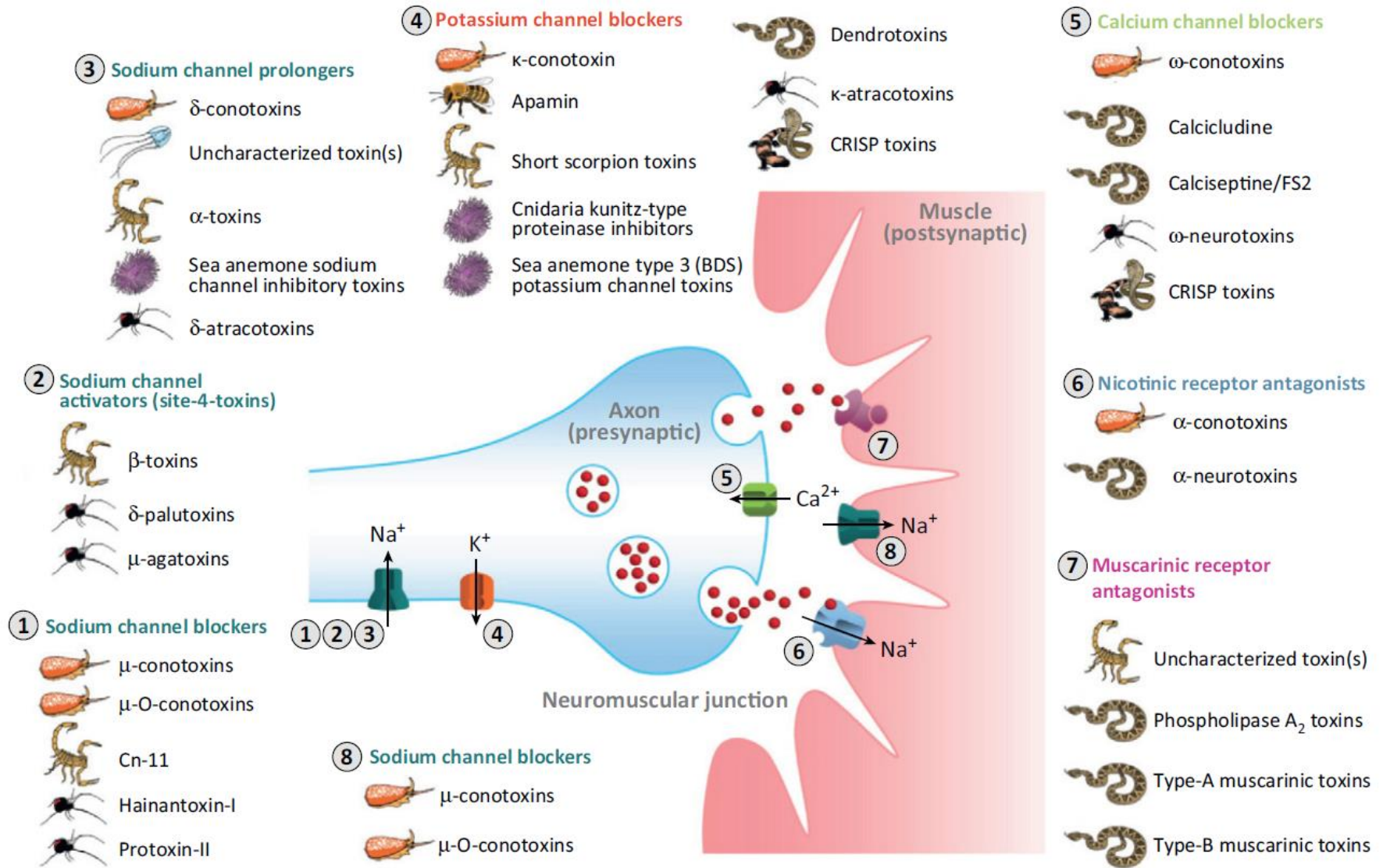
Diagnostična sredstva

**Medicina, farmacija, biotehnologija**





# Živčevje je ena glavnih tarč živalskih toksinov



# Molekularna orodja



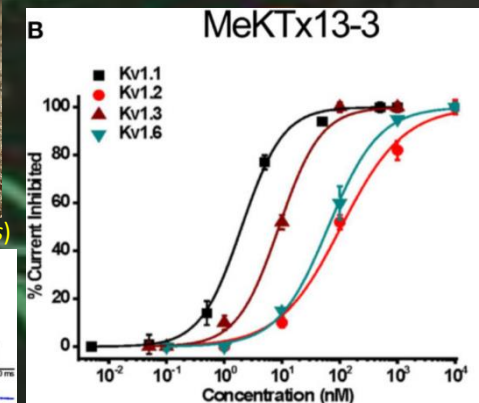
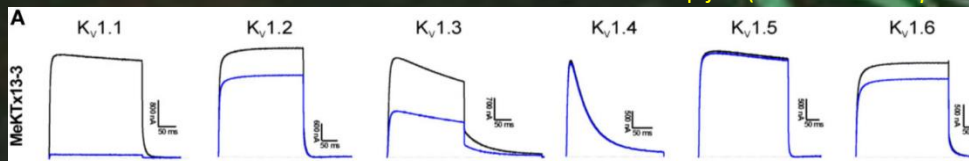
Tajvanski progasti krajt (*Bungarus multicinctus*)



$\alpha$ -Butx



Lisasti škorpjion (*Mesobuthus eupeus*)

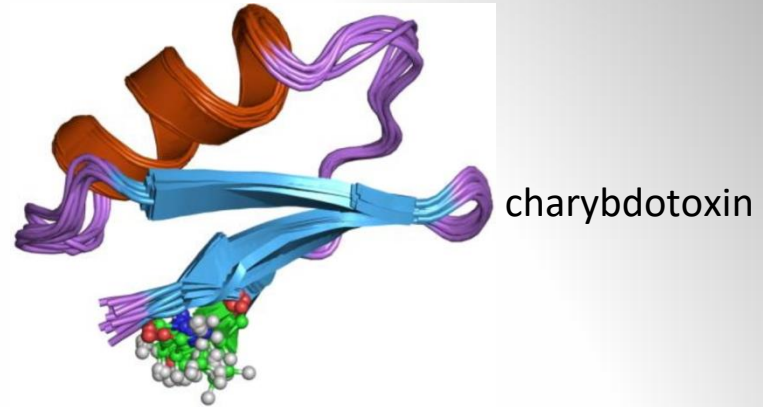




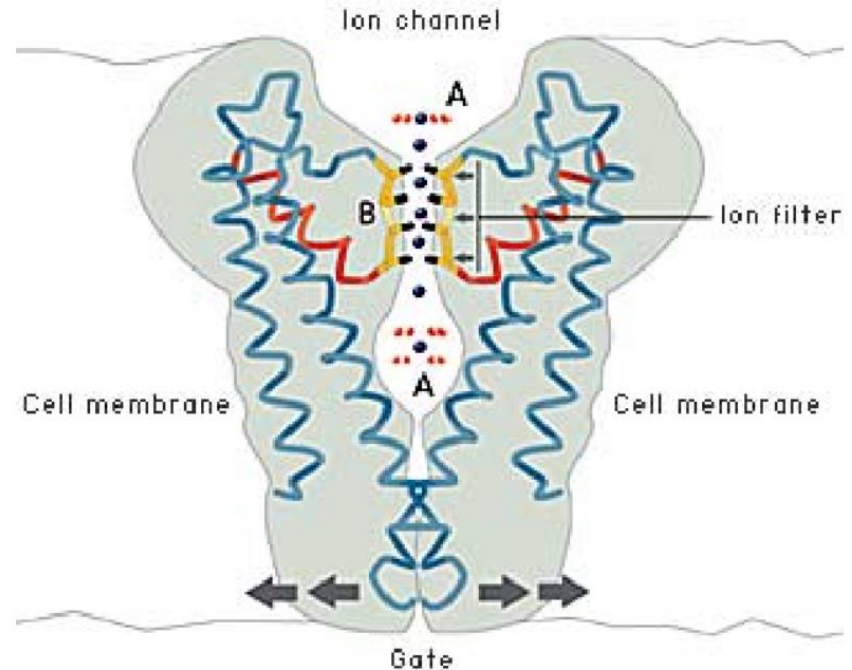
# Nobelovi nagradi 2003 je botroval nevrotoksin iz strupa škorpijona



Palestinski rumeni škorpjon (*Leirus quinquestriatus*)



Karakterizacija pore K<sup>+</sup> kanalčkov



Roderick Mackinnon

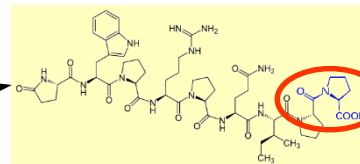


# Zdravila na osnovi naravnih toksinov

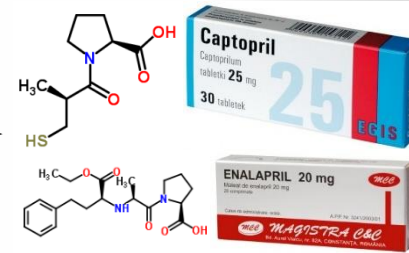
1981 – Prvo komercialno zdravilo na osnovi naravnega toksina:  
CAPTOPRIL za zdravljenje visokega krvnega pritiska



Brazilski gad (*Bothrops jararaca*)



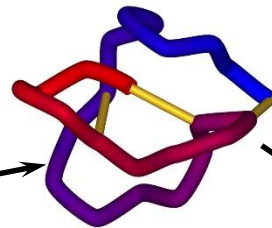
BPP, inhibitor ACE



Eno zadnjih registriranih zdravil pri FDA na osnovi naravnega toksina:  
PRIALT – analgetik za zdravljenje kronične in neblažljive bolečine

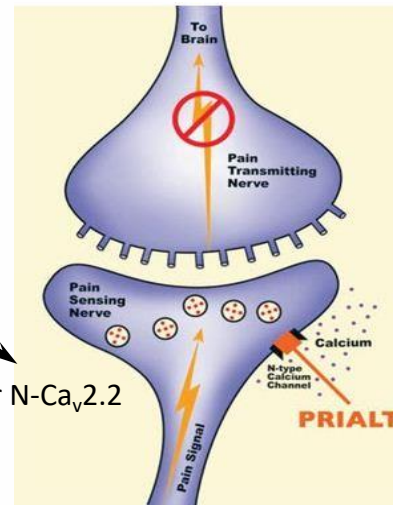


Magični stožec (*Conus magus*)



$\omega$ -conotoxin MVIIA

blokator N-Ca<sub>v</sub>2.2





# Kaj počnemo mi?

<http://www-b2.ijs.si/>

B2

@ JOŽEF STEFAN  
INSTITUTE

[HOME](#) / [RESEARCH](#) / [PEOPLE](#) / [PUBLICATIONS](#) / [EQUIPMENT](#) / [SEMINARS](#)  
/ [STUDENT INFO](#) / [ALUMNI](#) / [NEWS](#) / [LINKS](#)



*Toxinology*  
*to improve human and animal health*



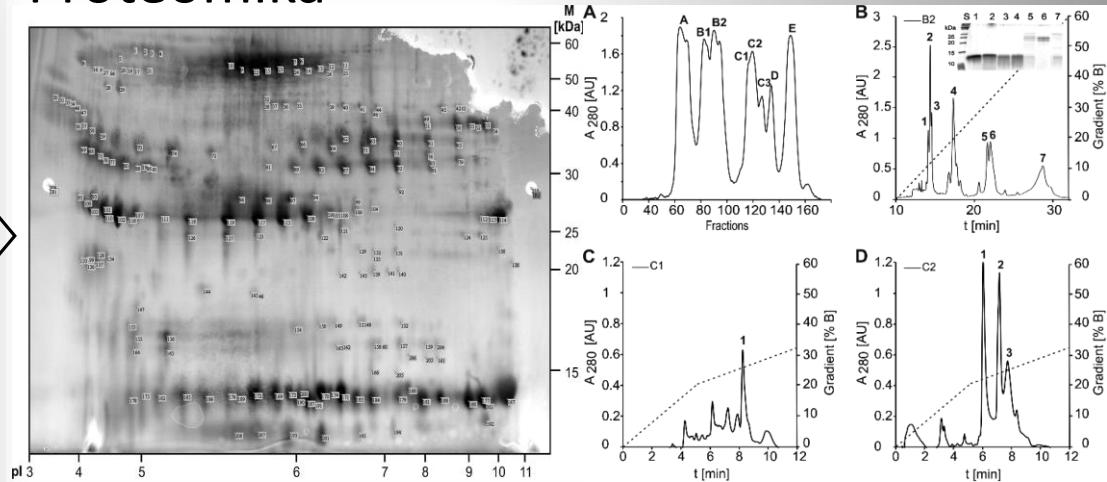
Department of Molecular and Biomedical Sciences (B2), Jožef Stefan Institute

# (Primerjalna) venomika in antivenomika strupov



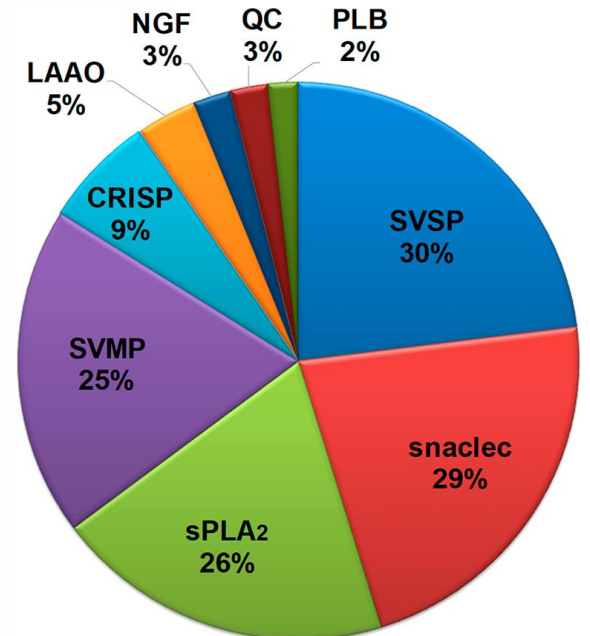
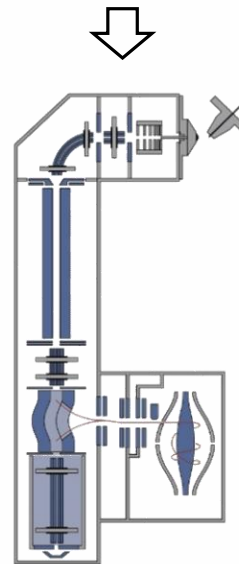
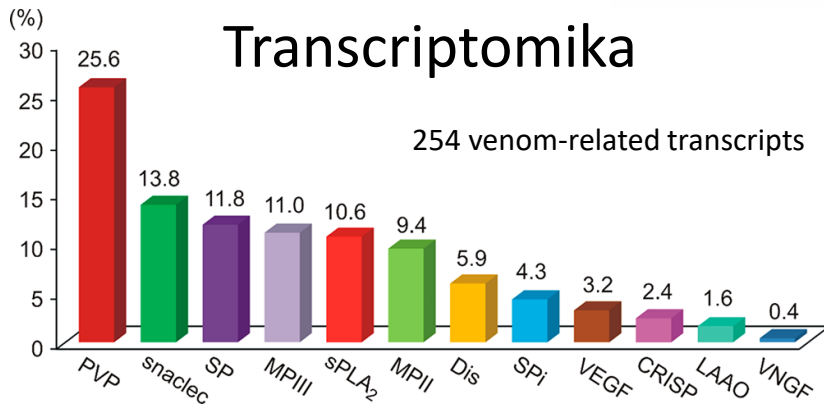
© M. Lang Balijs

## Proteomika

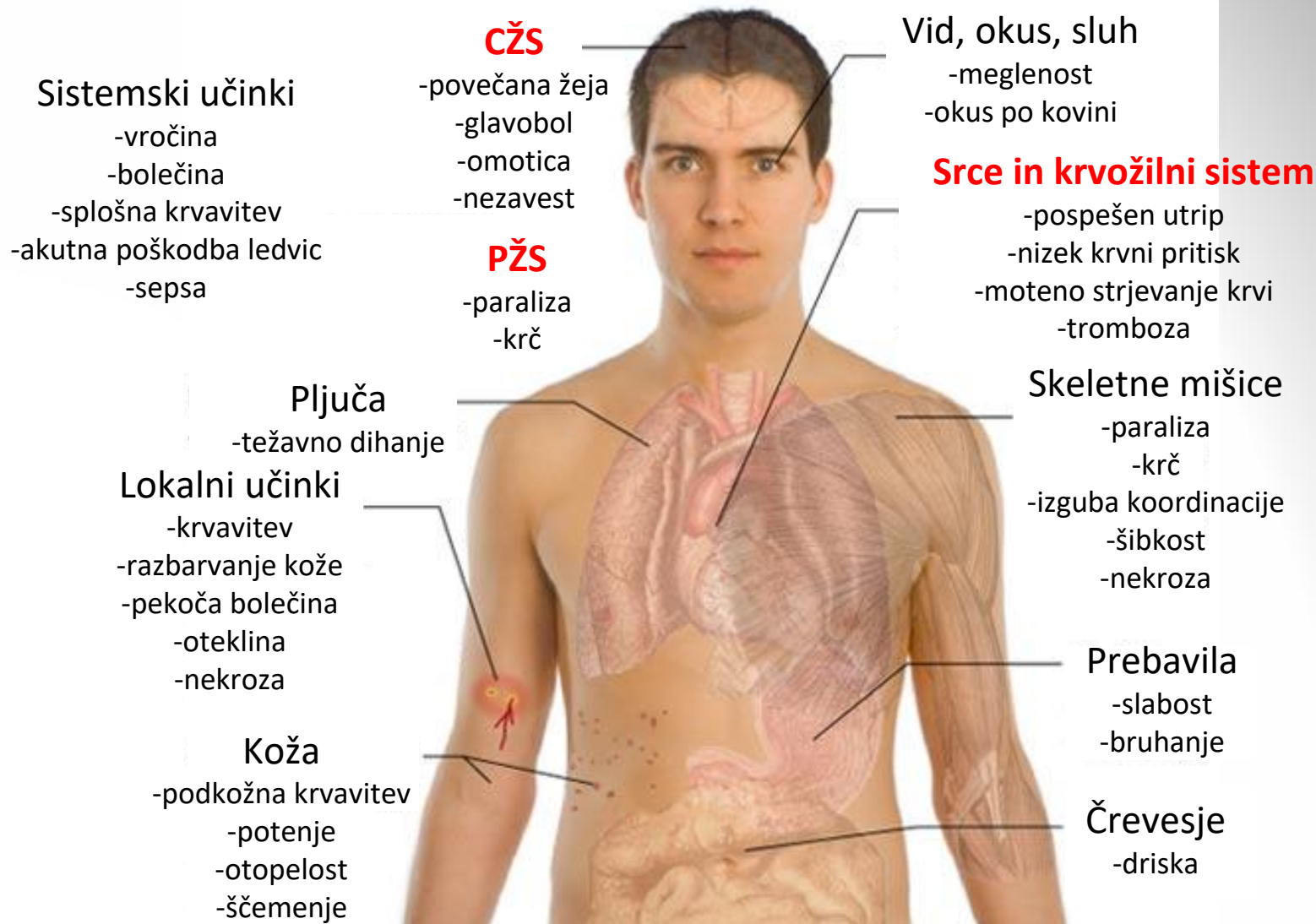


## Transcriptomika

254 venom-related transcripts

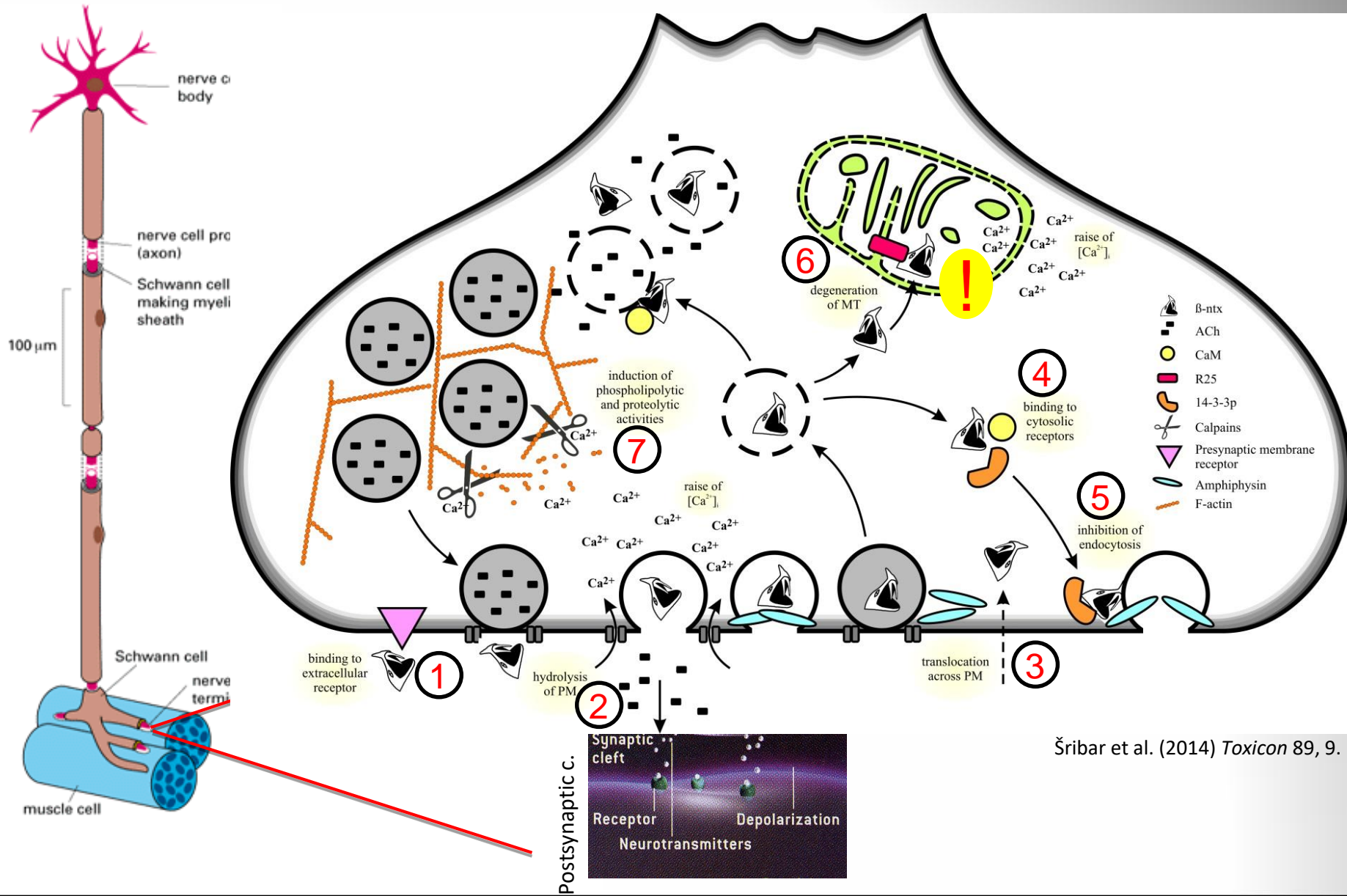


# Predvsem se posvečamo raziskavam delovanja živalskih toksinov na:



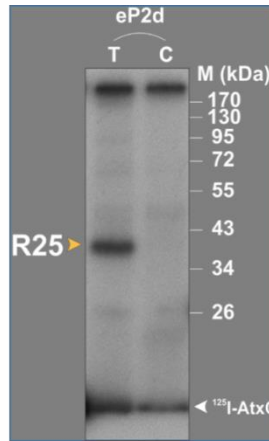
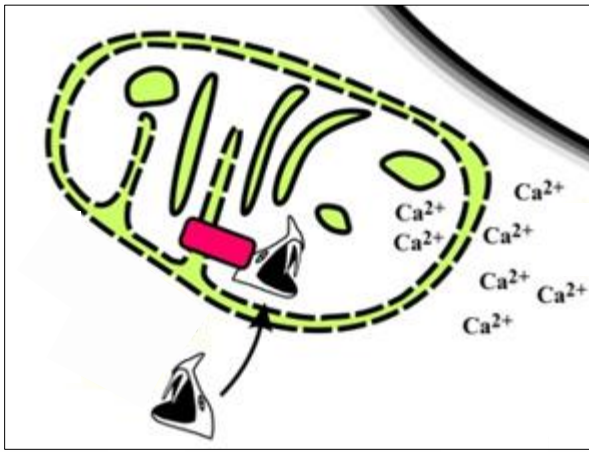


# Odkrivamo **MOLEKULARNE MEHANIZME** delovanja naravnih toksinov in njihovih fizioloških "sorodnikov"



Šribar et al. (2014) *Toxicon* 89, 9.

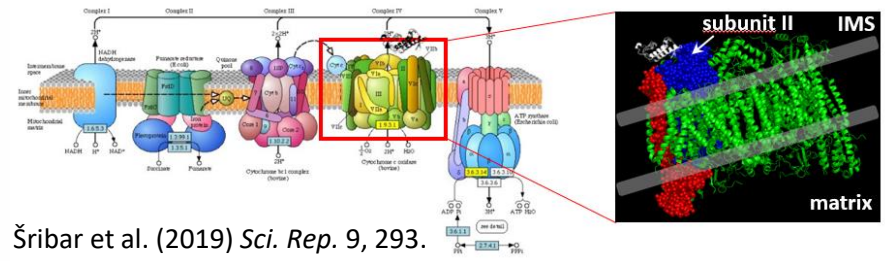




Vučemilo et al. (1998) *BBRC* 251, 209.

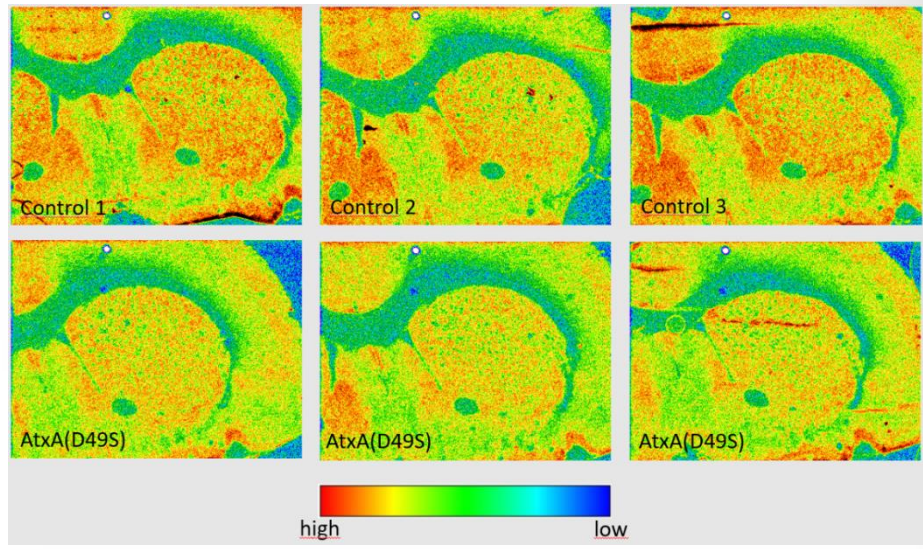
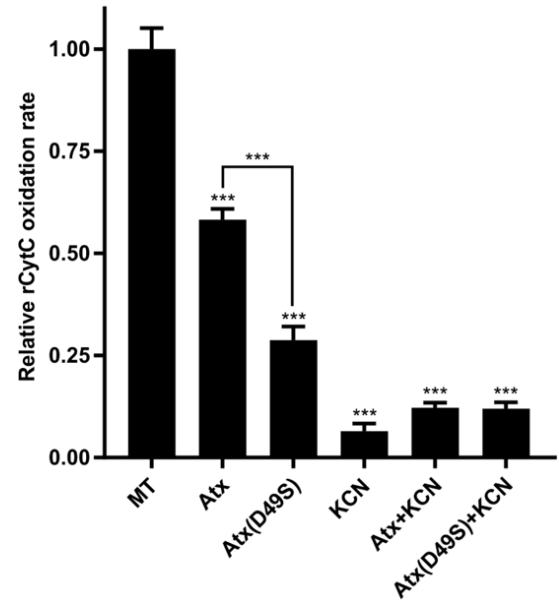
```

MAYPFQLGFQDATSPIMEELLHFHD
HTLMIVLISSLVLYIISLMLTTKLTHTS
TMDAQEVETIWTILPAIILIALPSLRI
LYMMDEINNPALTVKTMGHQWYWS
YEYTDYEDLTFDSYMIPTSDLKPGE
MRLLEVDNRVLPMENTIRMLVSSE
DVLHSWAVPSLGLKTD AIPGRLNQT
TLMSTRPGLYGYQCSEICGSNHSFM
PIVLELVPLKYFEKWSTSM LTGSL
  
```



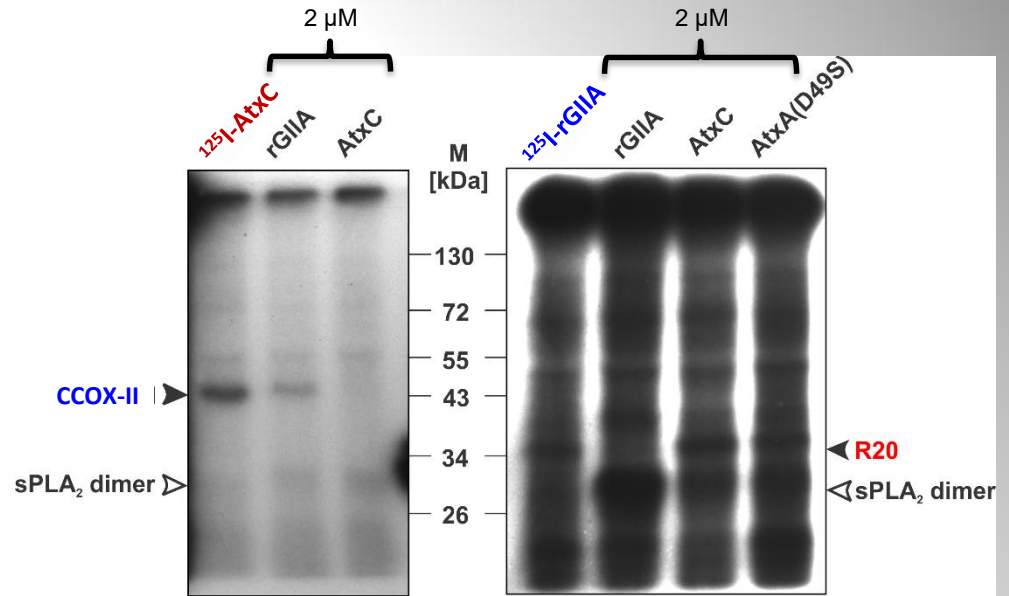
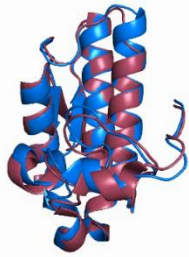
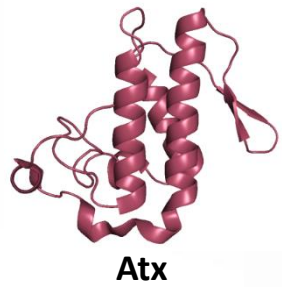
Šribar et al. (2019) *Sci. Rep.* 9, 293.

# Atx *in vitro* ter *ex vivo* inhibira CCOX, celo neodvisno od PLA<sub>2</sub> aktivnosti

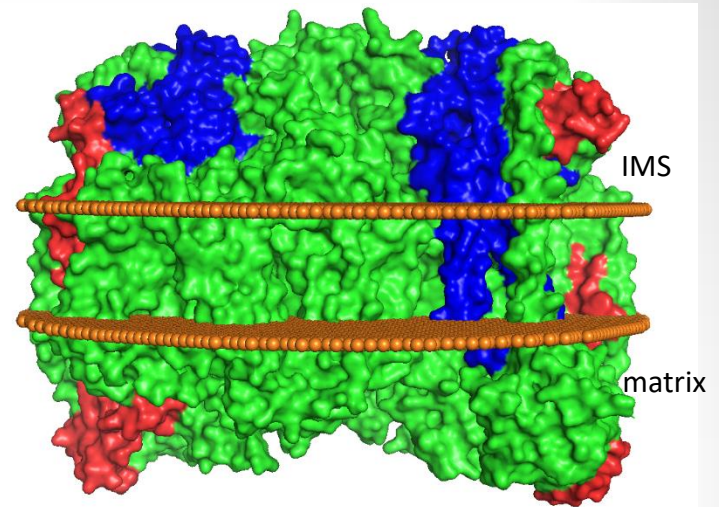


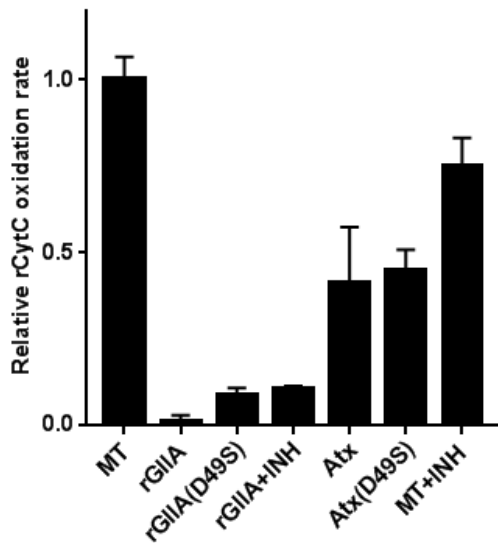
Živin et al., neobjavljeno.

# Podobno kot Atx deluje tudi endogena sPLA<sub>2</sub>



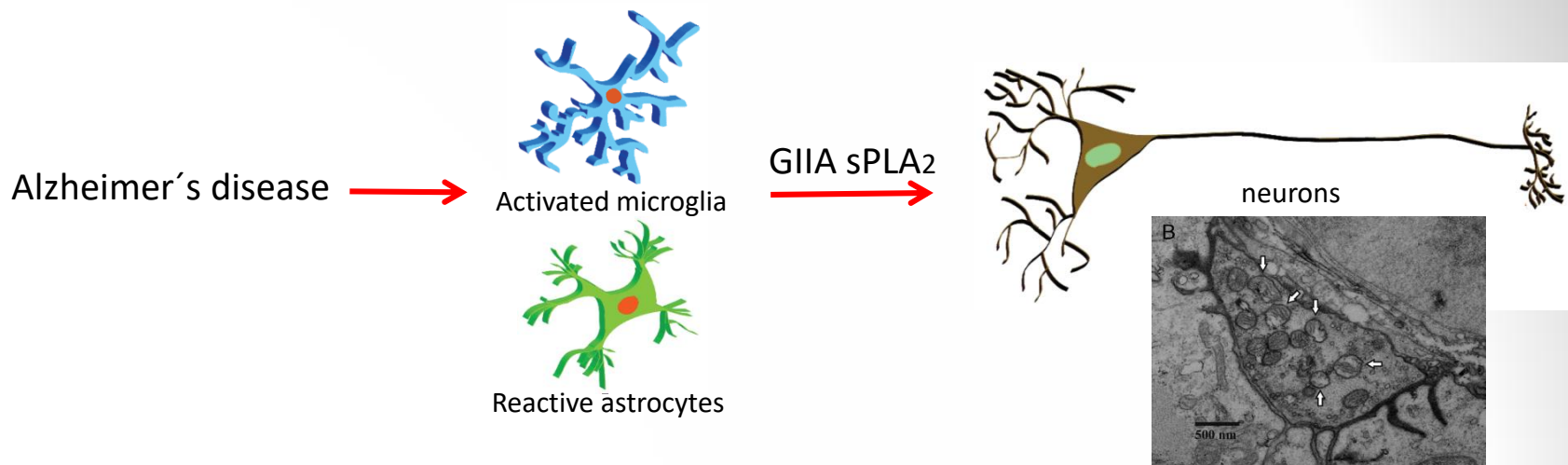
Subunit	Molecular mass	Subunit	Molecular mass
I	57 kDa	VIA	9,5 kDa
<b>II</b>	<b>26 kDa</b>	VIB	10.2 kDa
III	30 kDa	VIC	8,6 kDa
<b>IV</b>	<b>17,2 kDa</b>	VIIA	6,7 kDa
VA	12,4 kDa	VIIB	6,4 kDa
VB	10,7 kDa	VIIC	5,4 kDa
		VIII	7,6 kDa





## TEMELJNE PATOFIZIOLOŠKE RAZISKAVE

### GIIA sPLA2 uravnava energetska stanje celice

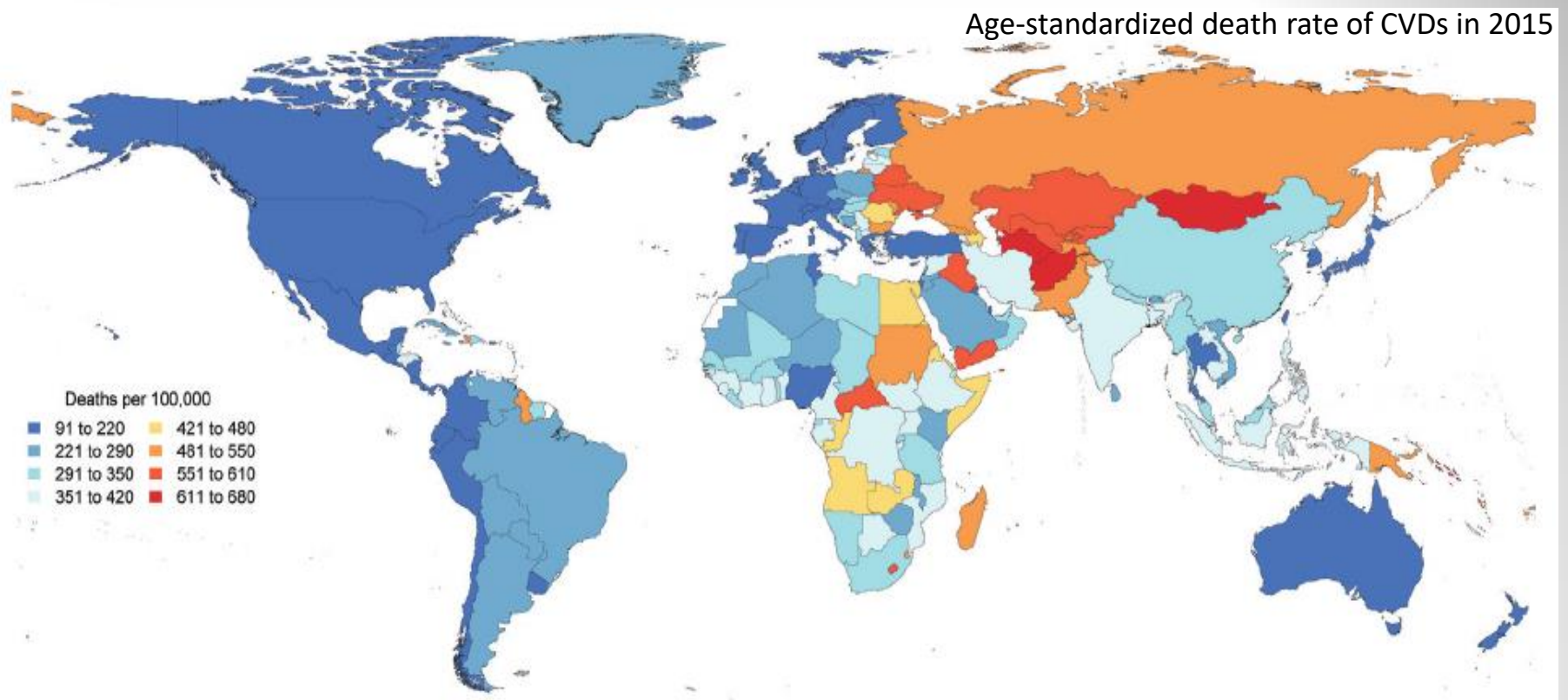


Razvijamo **MODELNI SISTEM** za študij mehanizma nastanka AD



# Na osnovi toksinov razvijamo **INOVATIVNA ZDRAVILA**

**Fokus na SŽB**, ki so poglavitni vzrok za smrt (WHO)  
Globalno: 31% vseh smrti (17.7 mio/leto)  
Evropa: 45% vseh smrti (3.9 mio/leto),  
85 milijonov ljudi trpi zaradi SŽB

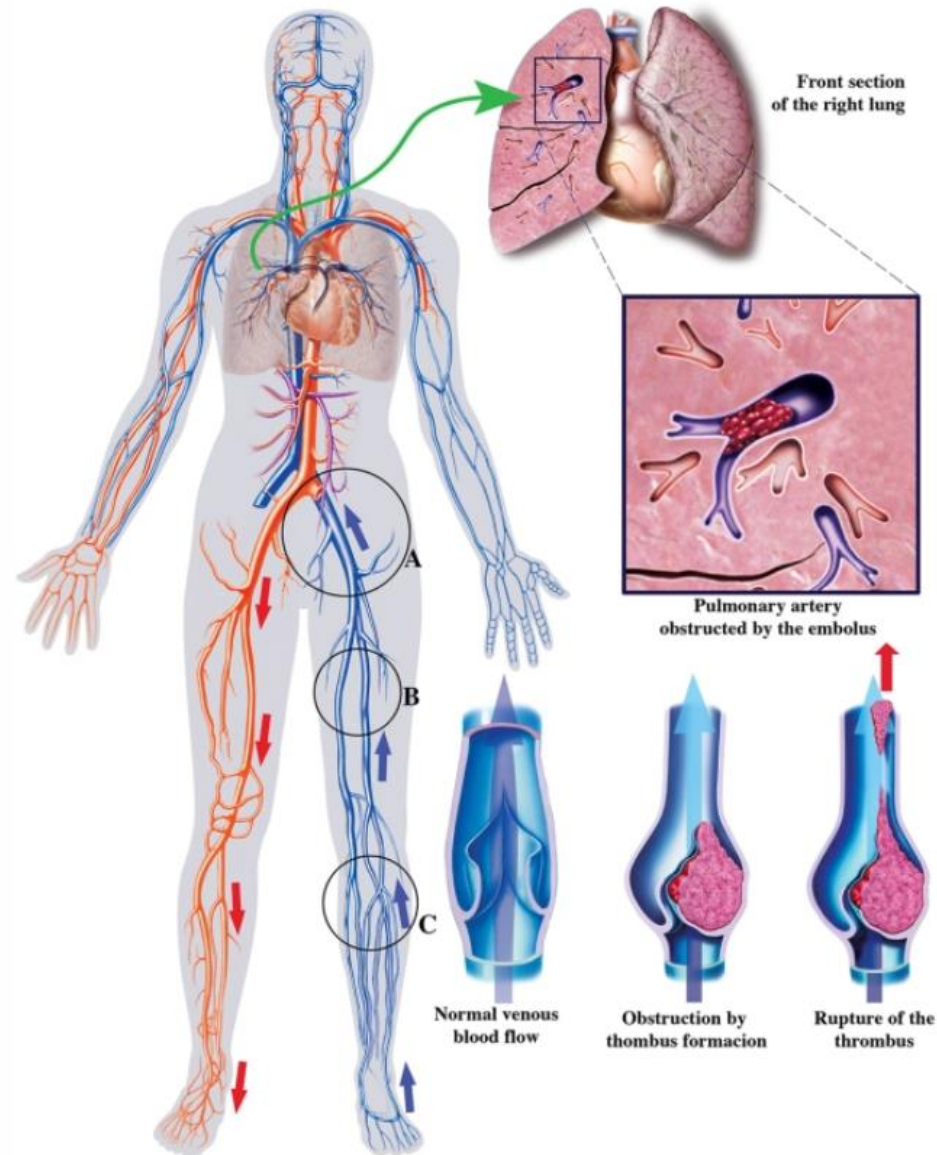
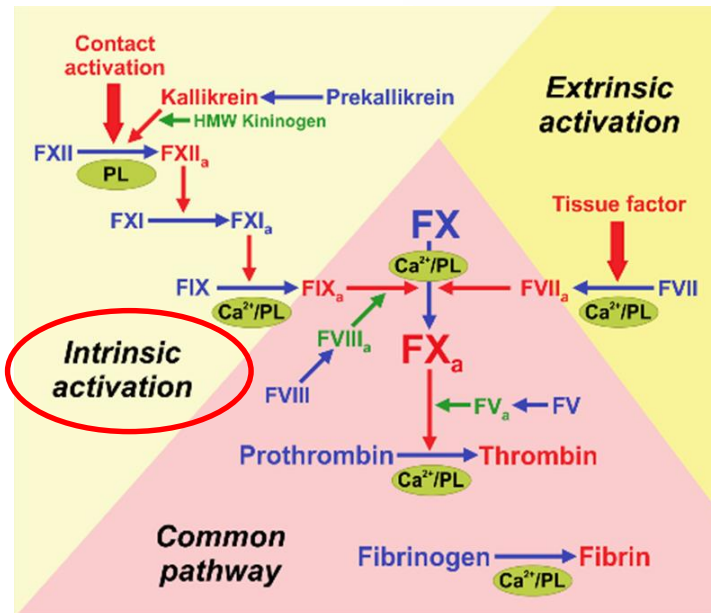




# IZZIV: neustrezna terapija z vensko trombembolijo-povezanih SŽB

npr. tromboze globokih ven in  
pljučne embolije

- Krvni strdek nastane v nožni veni, kot posledica porušene hemostaze.
- VTE je po številu primerov tretji vzrok smrti povezanimi s SŽB.



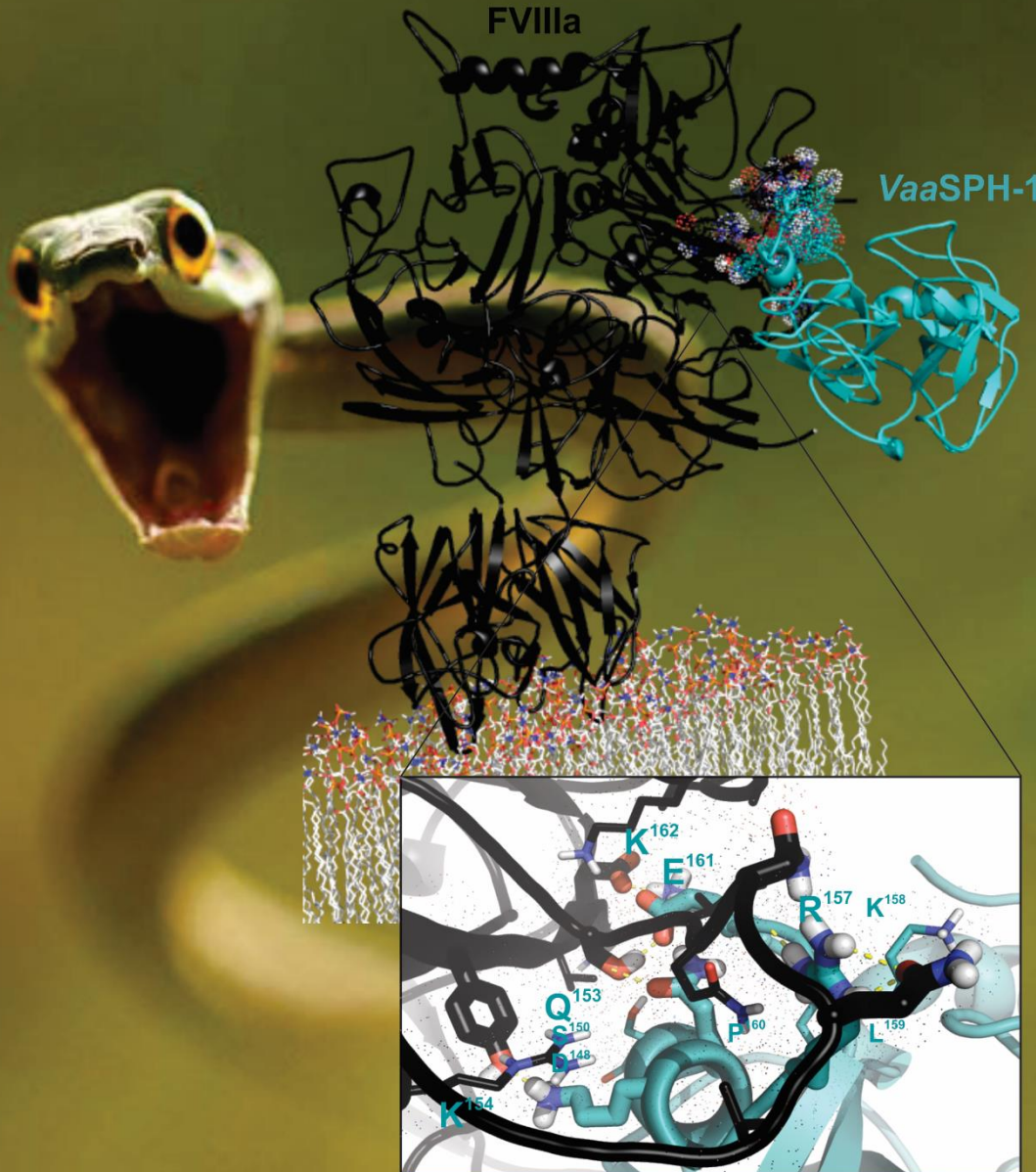
Places most likely of thrombus formation: A - Hip, B - Thigh, C - Leg(calf)

## Odkritje, ki veliko obeta!

✓ *VaaSPH-1* je močan antikoagulant v modrasovem strupu, ki deluje tako, da inhibira delovanje intrinzične tenaze, kompleksa med FVIIIa in FIXa, z vezavo na FVIIIa.

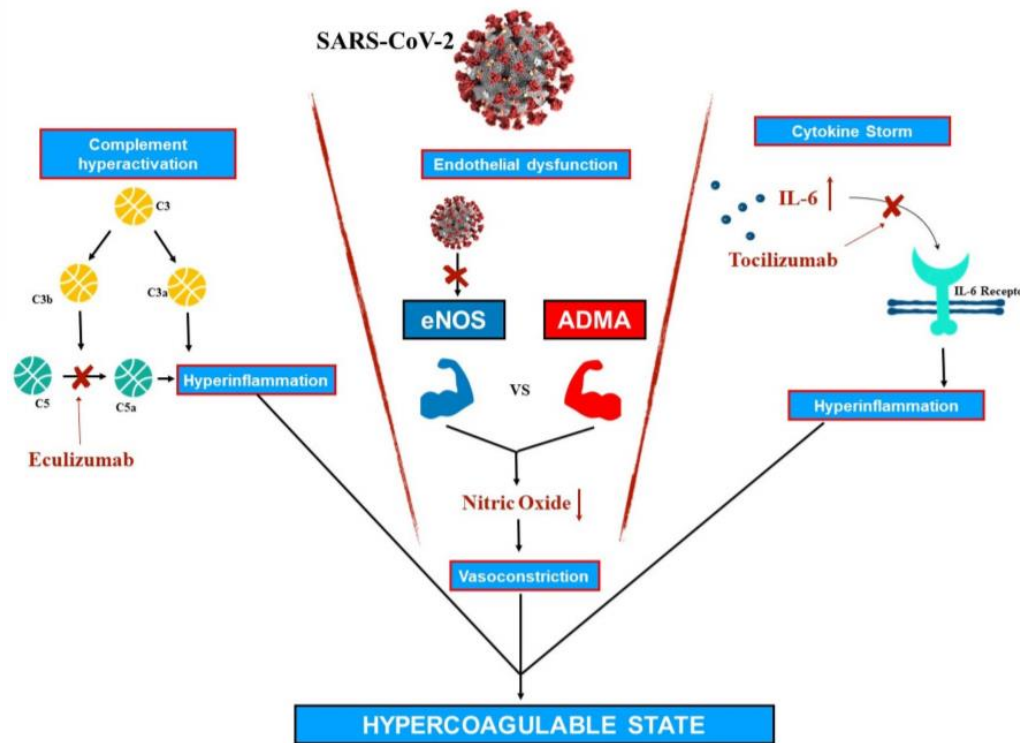
✓ *VaaSPH-1* je antagonist FIXa, prvi s strukturo SP.

✓ Izdelava 3D modela *VaaSPH-1*–FVIIIa je temelj za načrtovanje inovativnih antikoagulantov, inhibitorjev intrinzične tenaze.



# Nepričakovana relevanca: tromboza je glavni vzrok zapletov pri bolnikih s COVID-19

Ekstremno visoka pojavnost tromboz pri pacientih z resnejšo obliko COVID-19, npr. kar 20-30% se jih sooči s pojavom pljučne embolije



Heparinska tromboprofilaksa pogosto inducira trombocitopenijo  
⇒ **pereča potreba po bolj varni terapiji**



Živalski strupi skupaj vsebujejo **>10 Mio toksinov**,  
do neke mere pa je raziskanih le nekaj 1000

⇒ **ENORMEN POTENCIAL !**



**Vsak strup vsebuje vsaj 100 toksinov!**



Skupaj kar ~170.000 strupenih živalskih vrst!

800 vrst (*Conidae*)  
140.000 peptidov



1.400 vrst  
140.000 peptidov/proteinov



2.500 vrst  
250.000 peptidov/proteinov



> 95.000 vrst  
več milijonov peptidov



# Biološke membrane (BI2I01)

<b>Izvedba predmeta</b>	Predavanja + seminar + laboratorijske vaje: (5 ECTS). Izbirni predmet; bolonjski program 2. stopnje, magistrski študij biokemije in kemije na FKKT/UL.
<b>Predavatelj</b>	Prof. dr. Igor Križaj
<b>Cilji</b>	Seznanimi študente s sestavo bioloških membran, njihovo vlogo v celicah in procesih, ki potekajo v/na membranah oziroma prenosu snovi in signalov skozi membrane. Spoznati metode za analizo membranskih komponent, predvsem lipidov in membranskih proteinov.
<b>Urnik</b> 2020/2021	<u>Predavanja</u> : vsako sredo ob 14:00 preko videokonference. <u>Seminar</u> : pisno poročilo + predstavitev. <u>Konzultacije</u> : vsako sredo po predavanju preko videokonference.
<b>Govorilne ure</b>	V pisarni B402 na IJS po predhodnem dogovoru po telefonu (01/477-3626) ali po e-pošti (igor.krizaj@ijs.si).
<b>Seminarji</b>	Posamezno temo praviloma obdelajo po trije študentje z različnih plati (biokemija, fiziologija, patologija, ...). <u>Pisno poročilo</u> : skupna seminarska naloga v obsegu 10-15 strani (A4, velikost pisave 12, robovi 3 cm). <u>Ustna predstavitev</u> : vsaka skupina (3-4 študenti) svojo temo predstavi v obliki 15-20 min PPT predstavitve. Sledi razprava. Seminarji so tudi del izpitne snovi, zato bodo seminarske naloge in njihove PPT predstavitve javno dostopne na spletni strani predmeta ( <a href="http://www-b2.ijs.si/people/krizaj/biological-membranes/">http://www-b2.ijs.si/people/krizaj/biological-membranes/</a> ).
<b>Ocenjevanje</b>	Izpitna snov zajema vse teme predstavljene na predavanjih in seminarjih. <u>Preverjanje znanja je pisno</u> . Pogoj za pristop k opravljanju izpita je opravljen seminar. Kvaliteta izvedbe seminarske naloge je odločilna pri zaokrožanju končne ocene navzgor ali navzdol (bonus/malus). <u>Izpitni roki</u> : 21. januar 2021, 31. maj 2021 in 2. september 2021.
<b>Študijska literatura</b>	Enega samega učbenika za ta predmet ni. Poleg mojih predavanj in seminarjskih nalog, bom na koncu vsakega predavanja predlagal tudi dodatno študijsko gradivo (znanstveni članki).

# Razpored srečanj

Predavanje	Datum	Tema	Osnovni študijski viri
1.	7.10.	Uvod in predstavitev	
2.	14.10.	Struktura in dinamika bioloških membran	Stryer, Voet, Lodish ...
3.	21.10.	Transport ionov in malih molekul čez lipidne membrane	Lodish, znanstveni članki
4.	28.10. (gost)	Čiščenje celic in njihovih delov	Lodish ...
5.	4.11.	Struktura in funkcija lipidnih mikrodomen	znanstveni članki
6.	11.11.	Medcelična signalizacija – 1. del (signalne molekule in receptorji)	znanstveni članki
7.	18.11.	Medcelična signalizacija – 2. del (prenos živčnega signala, ukrivljanje in zlivanje membran)	Lodish, znanstveni članki
8.	25.11.	Povezovanje celic v tkiva	Lodish, Alberts, znanstveni članki
9.	2.12.	Lipidi in signalizacija	znanstveni članki
10.	9.12. (gost)	Encimi, ki delujejo na membranah in na membrane	Lodish, znanstveni članki
11.	16.12.	Seminarji	3 x 3
12.	23.12.	Seminarji	3 x 3
13.	6.1.	Seminarji	1 x 3 + 2 x 4
14.	13.1.	Seminarji	1 x 3 + 1 x 4



# Seminarji

<b>Seminarska tema</b>	<b>Seminar predstavijo</b>	<b>Na dan</b>
<b>1 - Metabotropni receptorji</b>	Milica Janković, Sara Jereb, Jelena Štrbac	<b>16.12.2020</b>
<b>2 - Ionotropni receptorji</b>	Benjamin Malovrh, Urška Zagorc, Nika Zaveršek	<b>16.12.2020</b>
<b>3 - Receptorji z lastno encimsko aktivnostjo</b>	Urša Štrancar, Martina Lokar, Alen Šadl	<b>16.12.2020</b>
<b>4 - Napetostno-odvisni ionski kanalčki</b>	Liza Ulčakar, Luka Gnidovec, Nika Mikulič Vernik	<b>23.12.2020</b>
<b>5 - Mehansko-občutljivi ionski kanalčki</b>	Jernej Imperl, Klementina Polanec, Tanja Zupan	<b>23.12.2020</b>
<b>6 - Transport proteinov preko membran</b>	Špela Deučman, Veronika Razpotnik, Ines Medved	<b>23.12.2020</b>
<b>7 - Modifikacija proteinov z lipidi in njihov fiziološki pomen</b>	Ajda Lenardič, Lana Vogrinec, Tina Turel	<b>6.1.2020</b>
<b>8 - Tesni in presledkovni stiki med celicami</b>	Andrej Race, Andrej Ivanovski, Mateja Žvipelj, Neža Pavko	<b>6.1.2020</b>
<b>9 - Tridimenzionalna struktura membranskih proteinov</b>	Sara Korošec, Uroš Prešern, Andreja Habič, Sara Laznik	<b>6.1.2021</b>
<b>10 - Proteini ADAM</b>	Ana Maklin, Anže Jenko, Primož Bembič	<b>13.1.2021</b>
<b>11 - Regulacija membranskih proteinov s šedazami</b>	Doroteja Armič, Aljaž Bratina, Matija Ruparčič, Anamarija Agnič	<b>13.1.2021</b>

# Spletna stran predmeta:

<http://www-b2.ijs.si/people/krizaj/biological-membranes/>

People → Igor Križaj – *More ...* →  
→ Teaching Assignments/BIOLOGICAL  
MEMBRANES

## BIOLOGICAL MEMBRANES

---

[Home](#) / [People](#) / [Krizaj](#) / Biological Membranes

---

### BIOLOŠKE MEMBRANE - Gradiva za študente

#### Predavanja

- [Uvod](#)
- Struktura in dinamika bioloških membran
- Transport ionov in malih molekul čez lipidne membrane
- Čiščenje celic in njihovih delov
- Struktura lipidnih mikrodomen
- Funkcija lipidnih mikrodomen
- Medcelična signalizacija - 1
- Medcelična signalizacija - 2
- Povezovanje celic v tkiva
- Encimi, ki delujejo na membranah in na membrane
- Lipidi in signalizacija

#### Seminarji - poročila

- Metabotropni receptorji
- Ionotropni receptorji
- Receptorji z lastno encimsko aktivnostjo
- Napetostno-odvisni ionski kanalčki
- Transport proteinov v in iz jedra
- Transport proteinov v in iz mitohondrija
- Modifikacije proteinov z lipidi in njihov fiziološki pomen
- Tesni in presledkovni stiki med celicami
- Tridimenzionalna struktura membranskih proteinov
- Proteini ADAM
- Regulacija membranskih proteinov s šedazami

#### Seminarji - predstavitve

- Metabotropni receptorji
- Ionotropni receptorji
- Receptorji z lastno encimsko aktivnostjo
- Napetostno-odvisni ionski kanalčki
- Transport proteinov v in iz jedra
- Transport proteinov v in iz mitohondrija
- Modifikacije proteinov z lipidi in njihov fiziološki pomen
- Tesni in presledkovni stiki med celicami
- Tridimenzionalna struktura membranskih proteinov
- Proteini ADAM
- Regulacija membranskih proteinov s šedazami

#### Rezultati izpitov