

Jagten på ny antibiotika

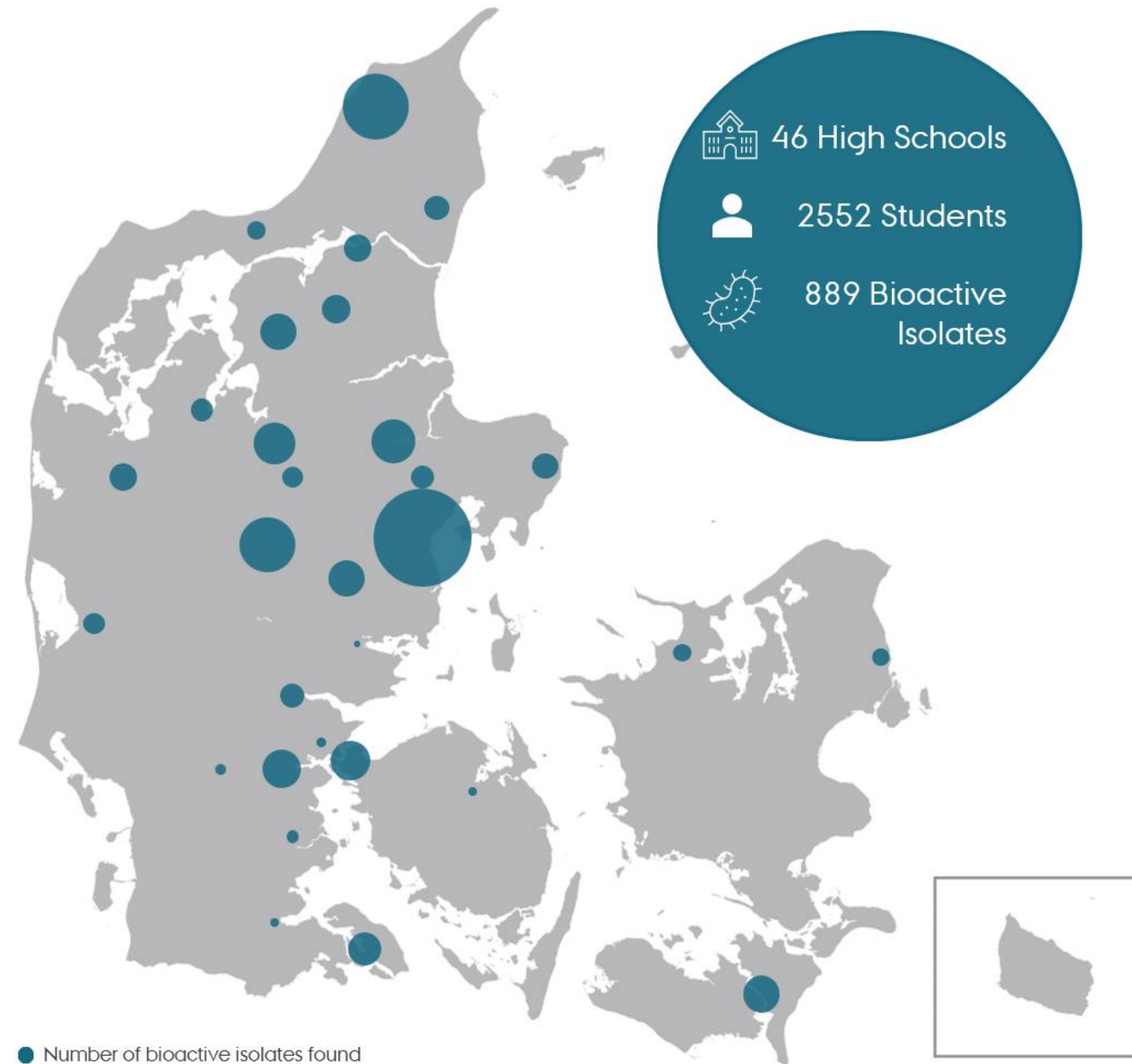
Tiny Earth Danmark

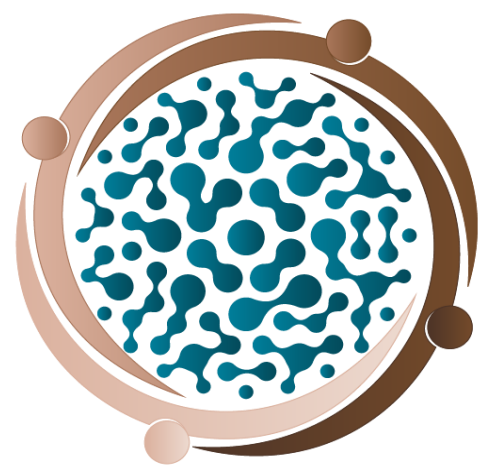


Tiny Earth

...og Tiny Earth Danmark

- Tiny Earth er et crowdsourcing-initiativ og et netværk af elever, lærere og forskere, der alle tager del i jagten på ny antibiotika fra jordbakterier
- Tiny Earth blev grundlagt af Professor Jo Handelsman på Yale University i 2012, men er siden vokset til et globalt netværk, der har hovedsæde på Wisconsin Institut for Discovery på University of Wisconsin-Madison
- Mere end 16.000 studerende fra 30 lande verden over deltager i dag i jagten
- Tiny Earth Danmark blev startet i 2020 med støtte fra Novo Nordisk Fonden og har inddraget gymnasieelever lige siden og vil fortsætte de næste 4 år

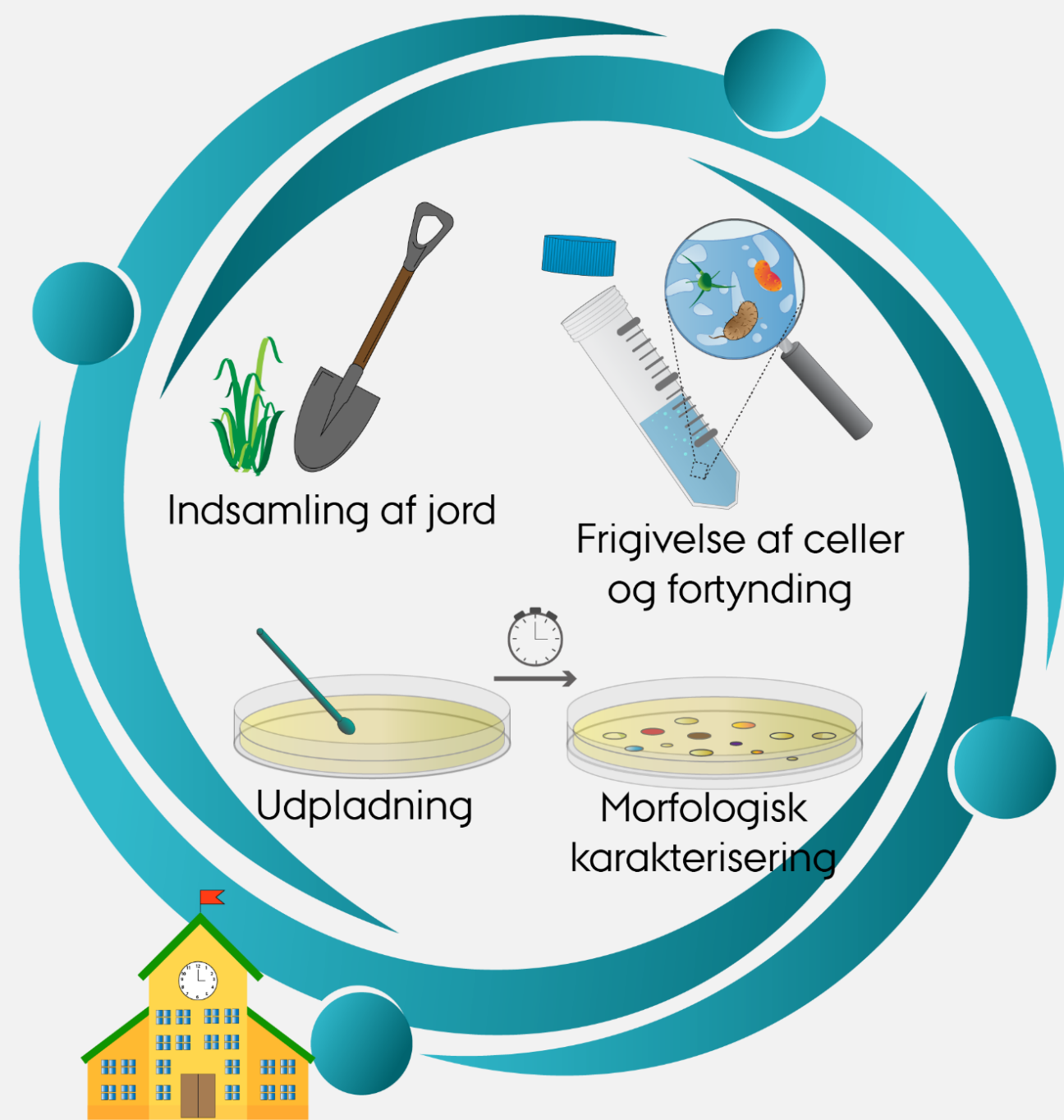




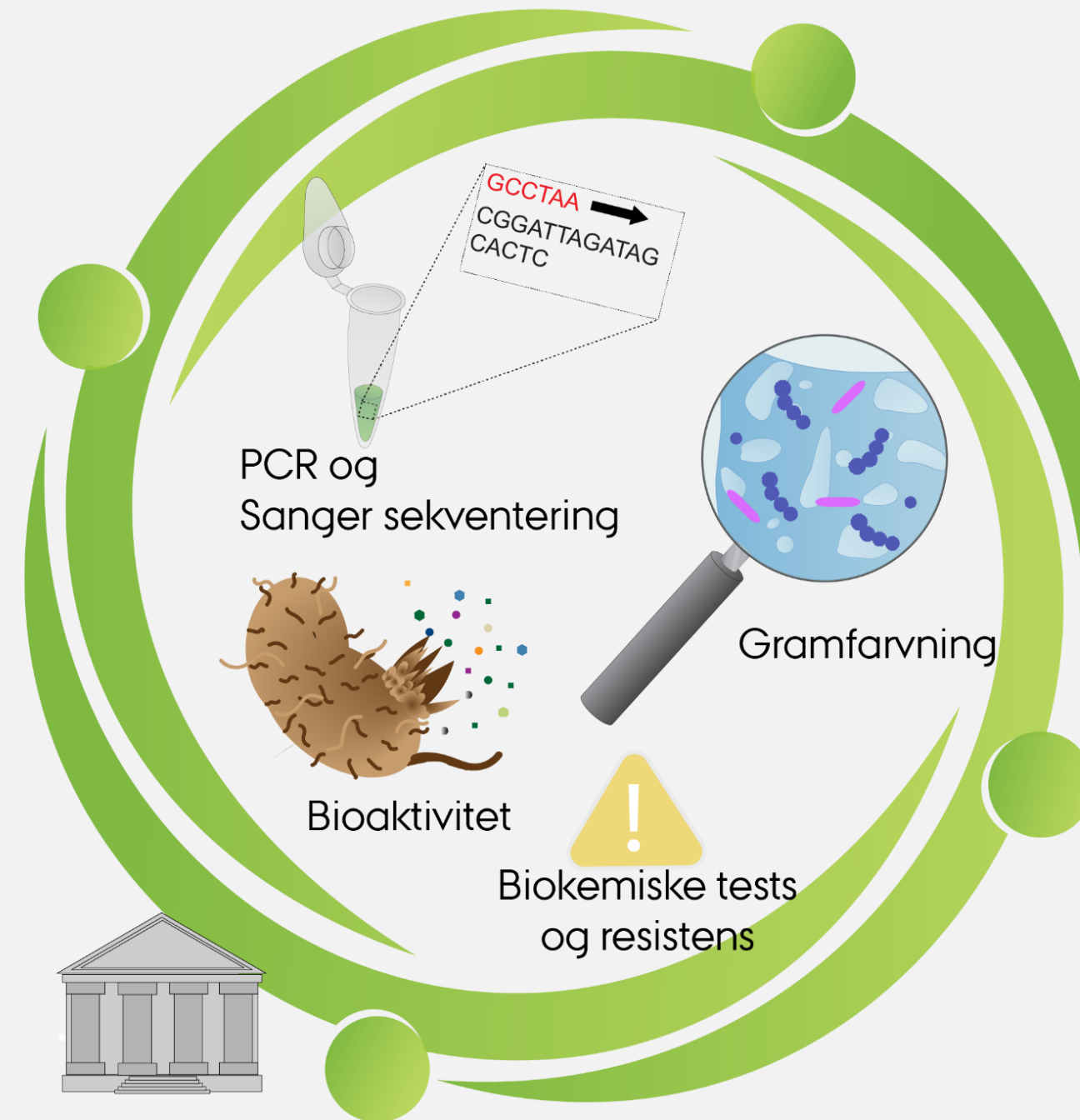
Hvordan er I involveret?

Den indledende indsamling, identifikation og screening

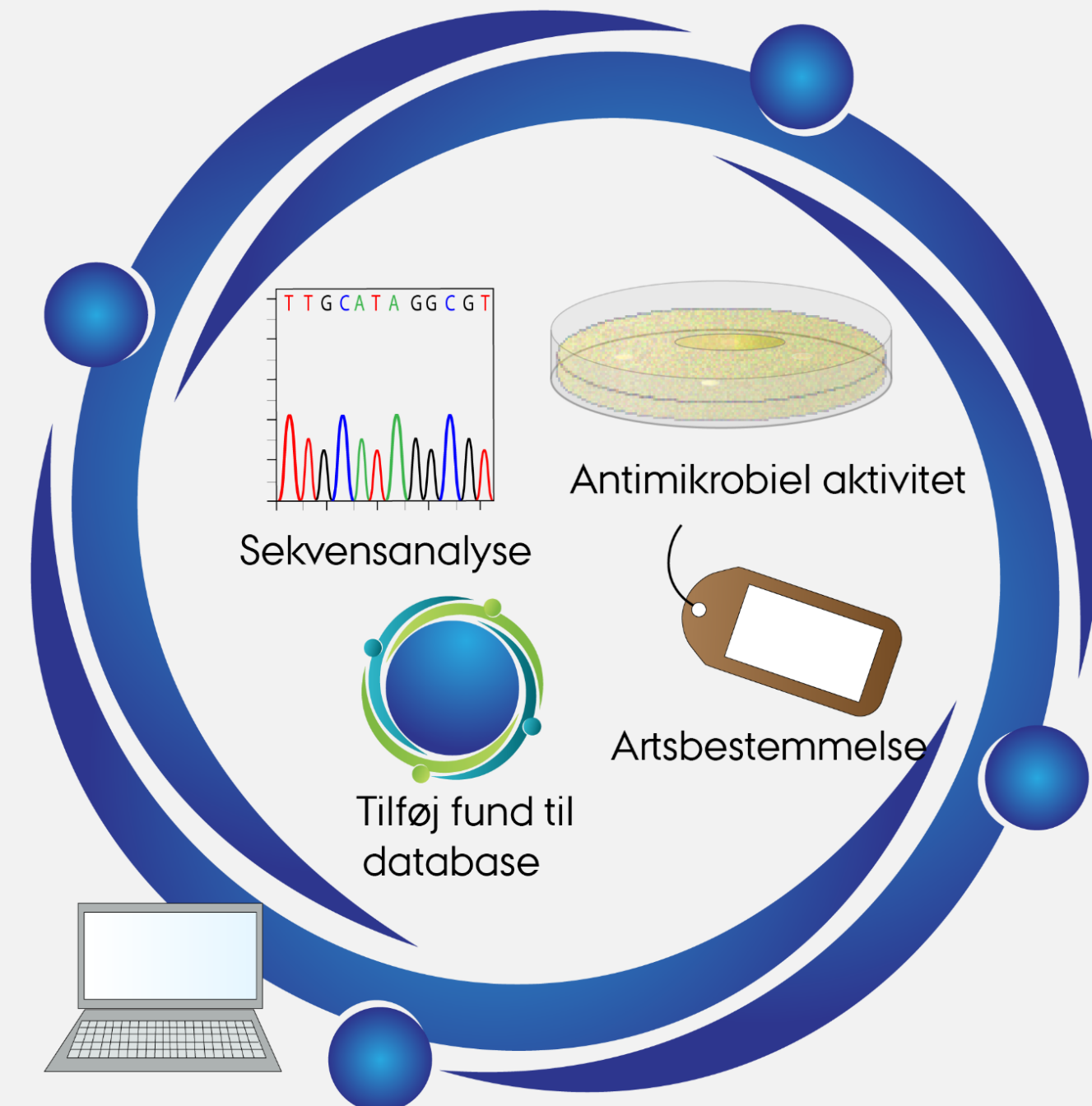
1. Indsamling og behandling af jord



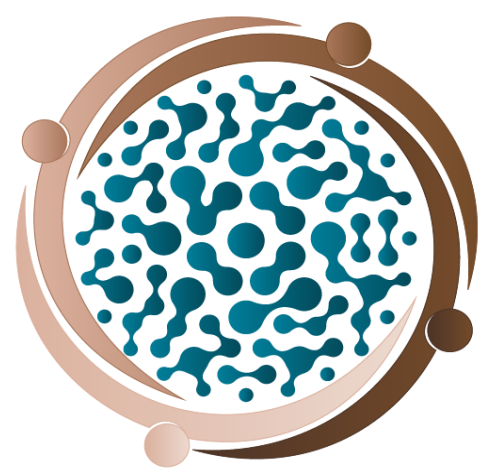
2. Karakterisering af jordbakterier



3. Gennemgang af resultater



Indsamling og behandling af jord

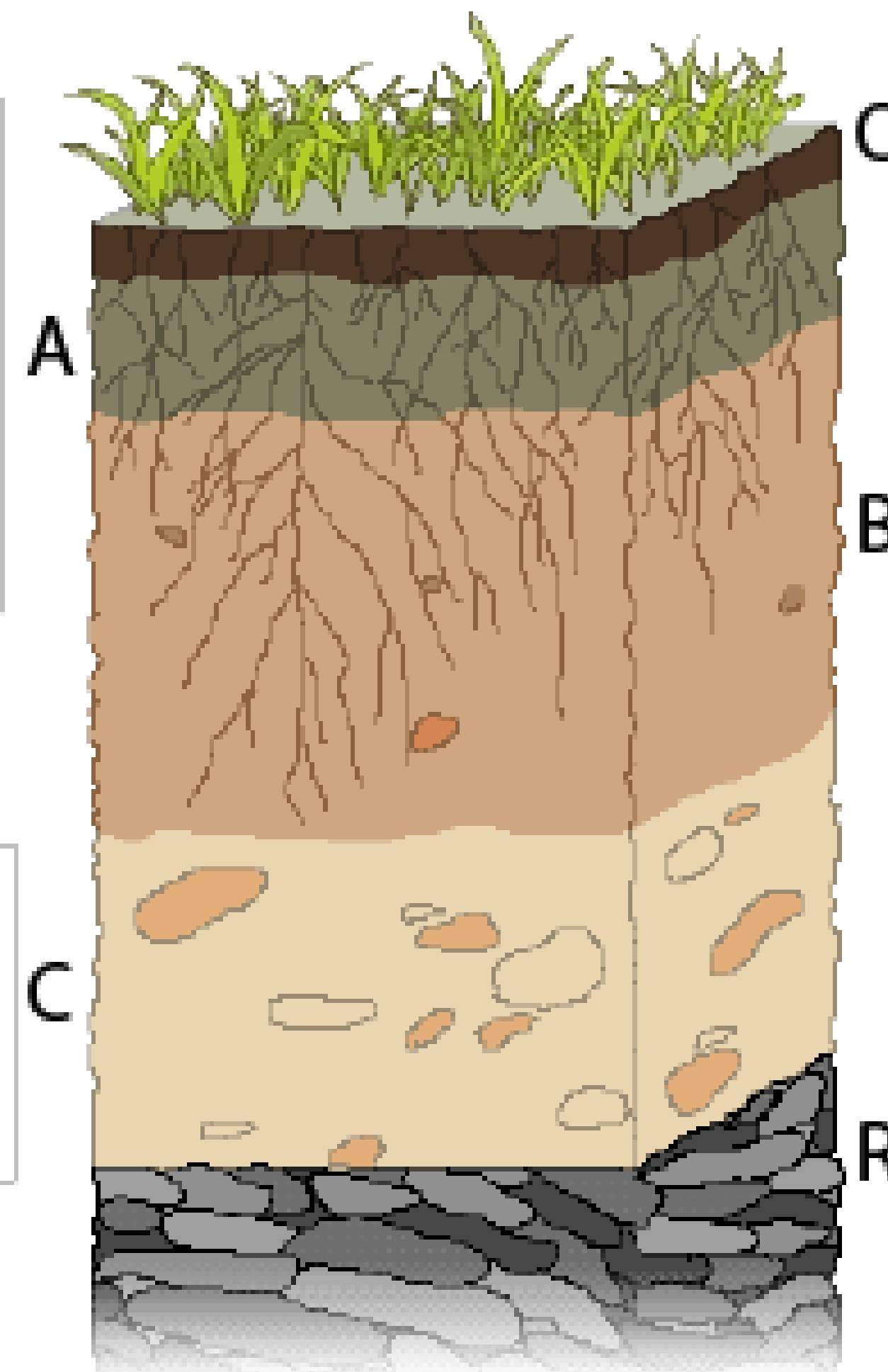


Her på gymnasiet

- Der er fantastisk meget mikroskopisk liv og diversitet i jord - 1 g indeholder op mod en milliard bakterier fordelt på titusindvis af forskellige grupper
- Nogle samarbejder, mens andre bekæmper hinanden
- Mange producerer små molekyler, som virker som antibiotika

"A-horizonten" - også kaldet topjord - er rigt på organisk materiale. Det er typisk her, man vil finde størstedelen af det mikrobielle liv. Disse mikrober nedbryder organisk materiale til humus. Derudover interagerer mikroberne med planterødder og andre organismer som f.eks. svampe, insekter og orme.

"C-horizonten" består primært af uorganisk materiale (som mineraler) samt komponenter, der har klaret sig igennem de øvre lag. I dette lag er der meget begrænset liv - men det findes dog!

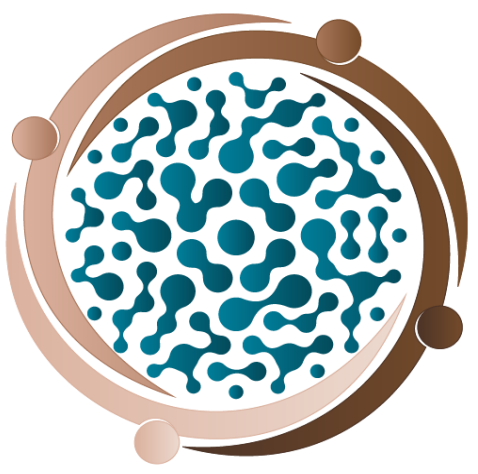


Det øverste lag "O-horizonten" udgør de øverste centimeter af jorden. Dette lag består af ikke-komposteret organisk materiale og vi kender det især fra skovbunden.

Nogle af de organiske og uorganiske komponenter fra "A-horizonten" kan let udvaskes og ophobes i det næste lag "B-horizonten". Her er der generelt ikke meget liv sammenlignet med de øvre lag, men til gengæld findes der en større andel anaerobe bakterier, som ikke kræver ilt for at gro.

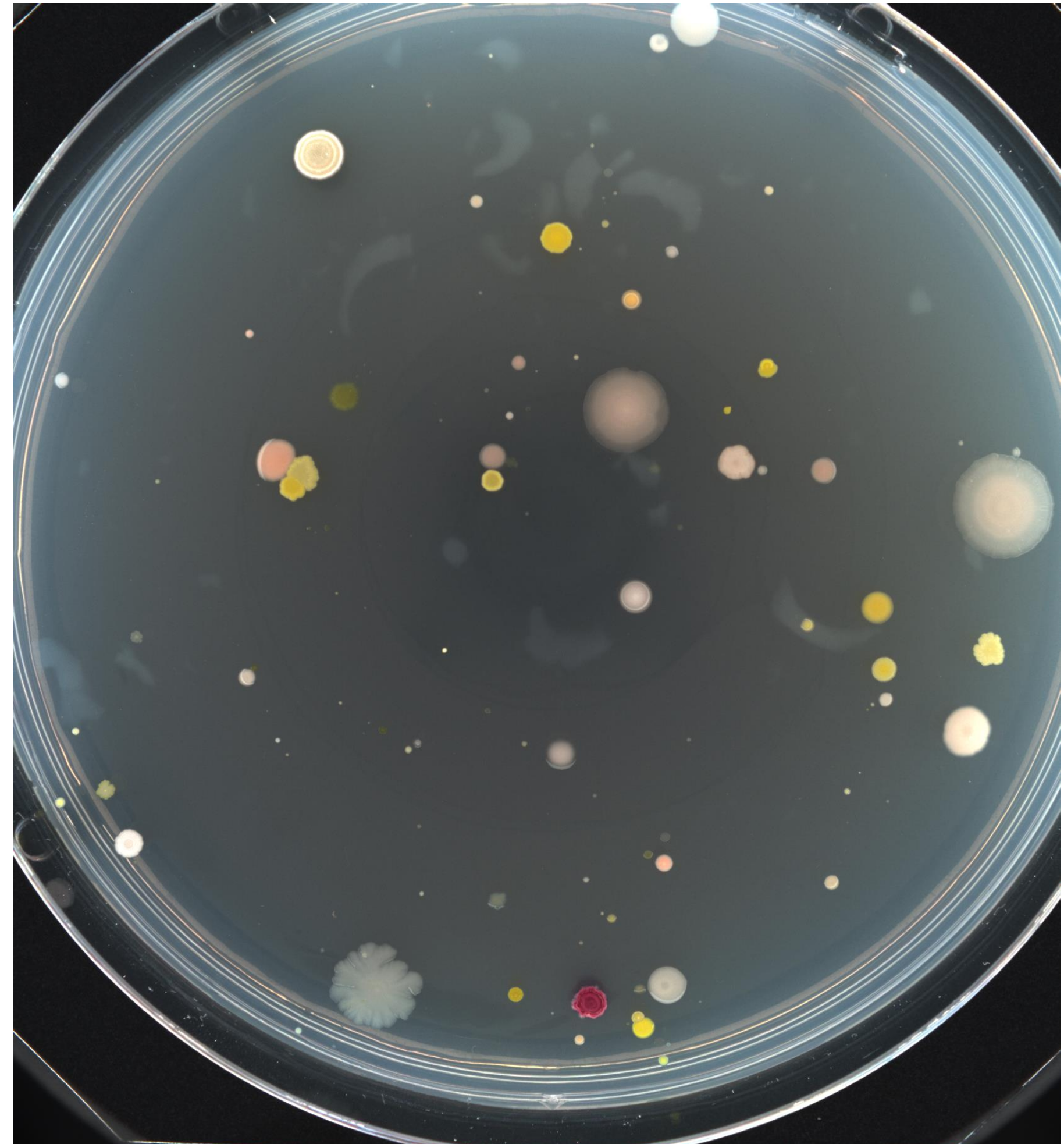
Det nederste lag "R-horizonten" er grundfjeldet - en slags bjergart, som ligger langt under os og som kan betragtes som jordens fundament. Forskere har endda fundet liv helt her nede i dybet trods det er langt væk fra sollys, ilt og organiske molekyler og kun med en beskedne mængde vand tilgængeligt.

Isolering og morfologisk karakterisering

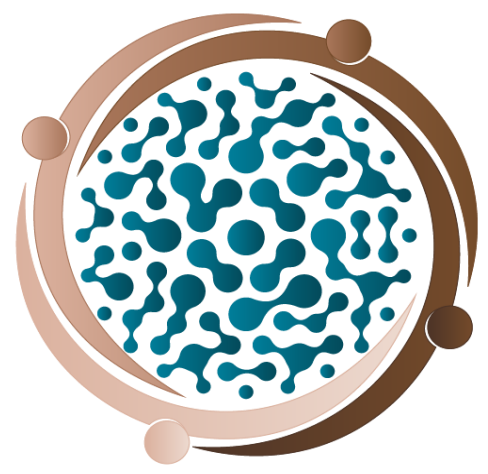


Udvælg 20 blandt tusinder

- Agarplader er en simpel, men effektiv metode til at adskille og isolere bakterier
- Fortynding er absolut nødvendig
- Pladen er skrøbelig så vær forsigtige
- Vælg kolonier og beskriv hvordan de ser ud

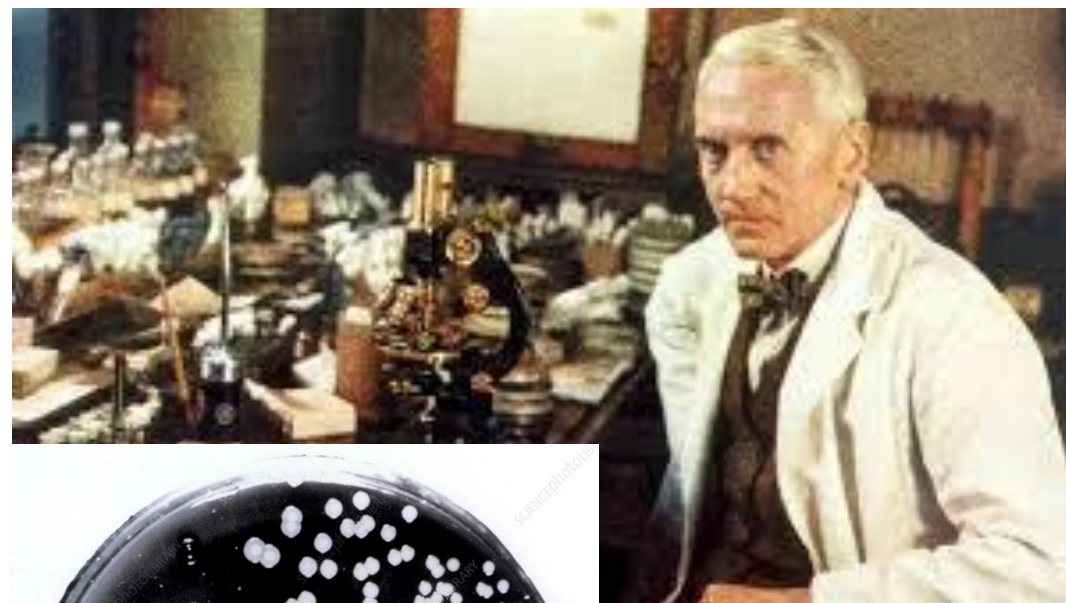


Antibiotika gennem tiderne



Starten medicinalindustrien

Alexander Flemming 1929



Penicilin

Howard Floreys forskningsgruppe fra Oxford 1939

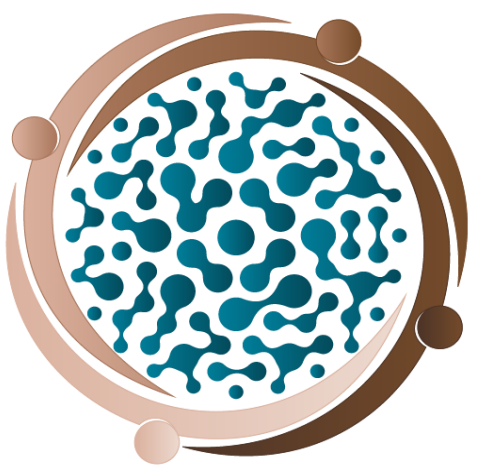


Nobelprisen i 1945

Masseproduktion i USA i slutningen af 2. verdenskrig



Systematisk screening af jord og landbrugsdyr



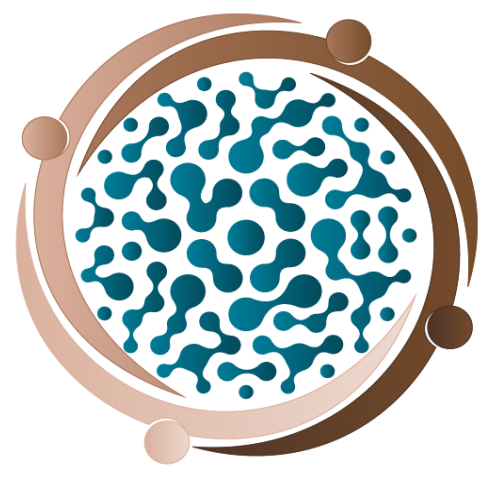
Streptomycin og Tuberkulose

- I 1943 på Rutgers University i New Jersey isolerede Albert Schatz to forskellige *Streptomyces griseus* som producerede Streptomycin, det første antibiotika som virkede mod tuberkulose
- Ti år efter havde alle medicinalvirksomheder store forskningsenheder som isolerede antibiotika-producerende bakterier

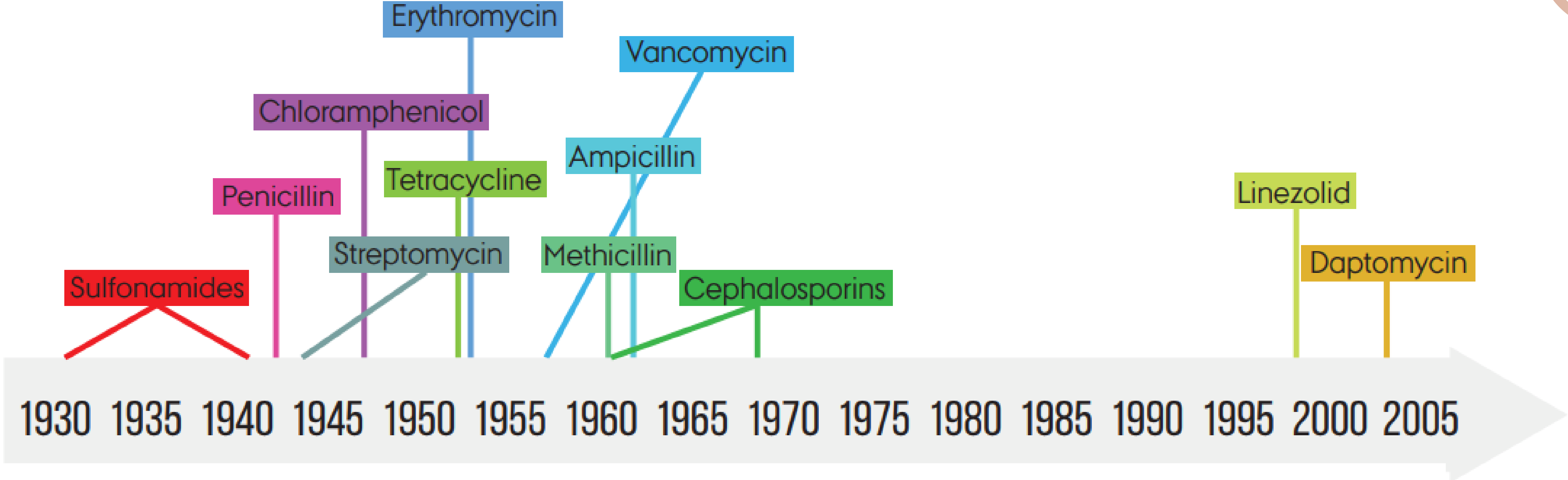


Nobelprisen i 1952



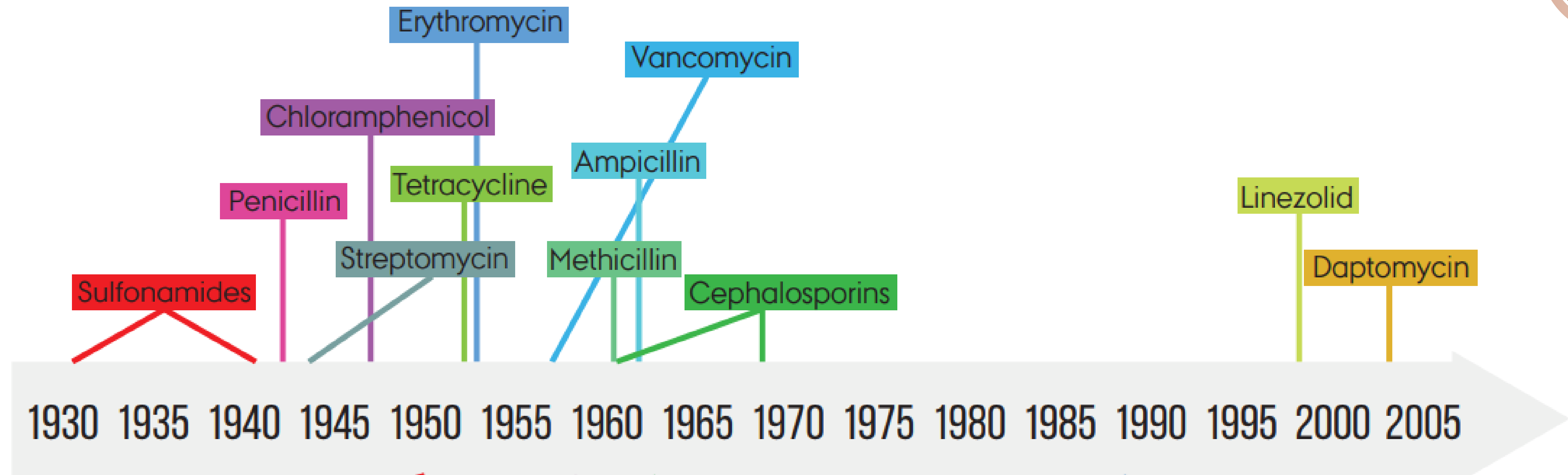


ANTIBIOTIC DEPLOYMENT

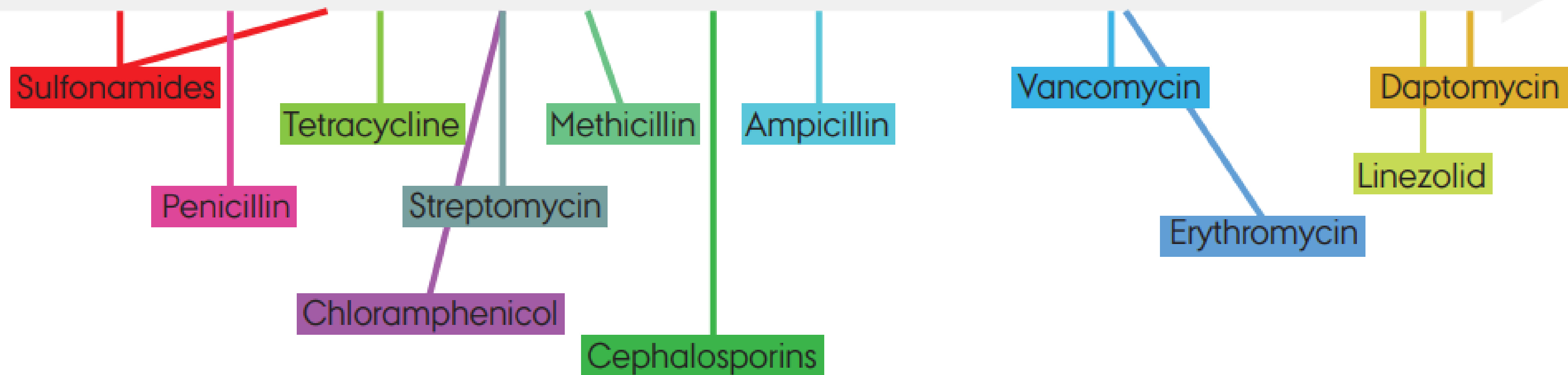


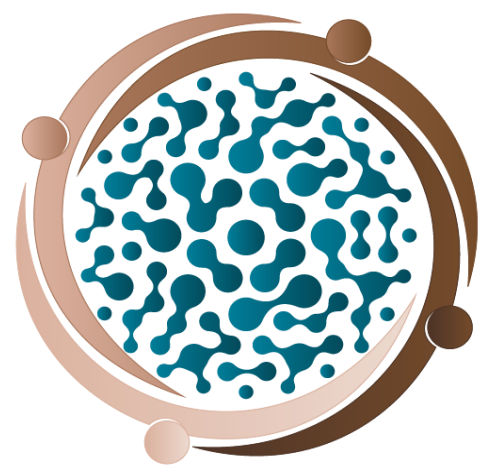


ANTIBIOTIC DEPLOYMENT



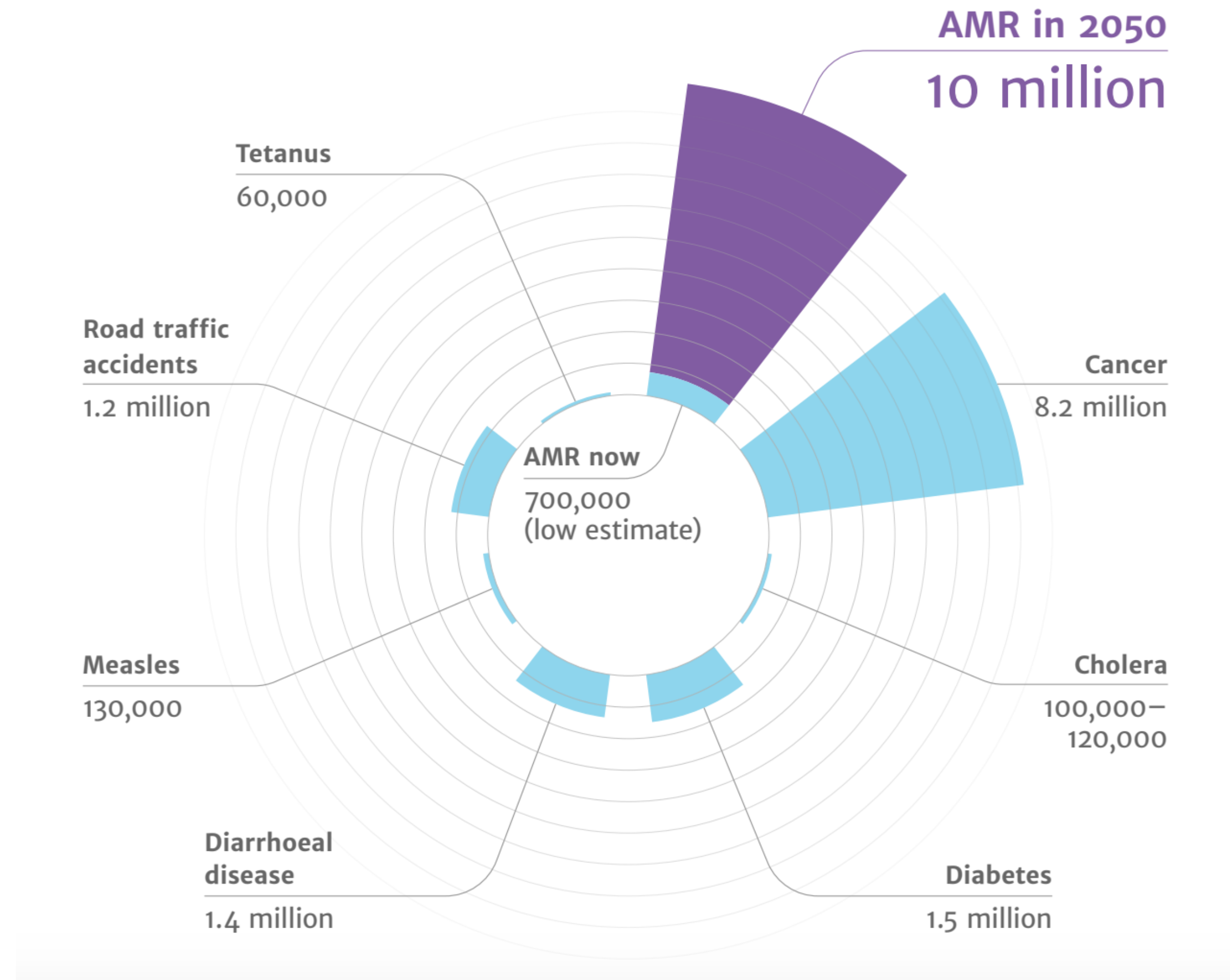
ANTIBIOTIC RESISTANCE OBSERVED

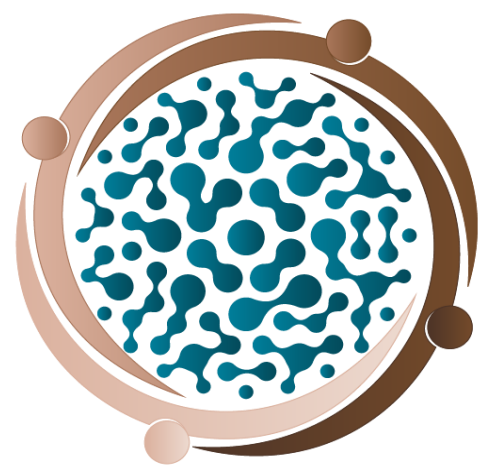




Hvordan ser det så ud nu?

Antibiotika-resistens, økonomi, globalisering



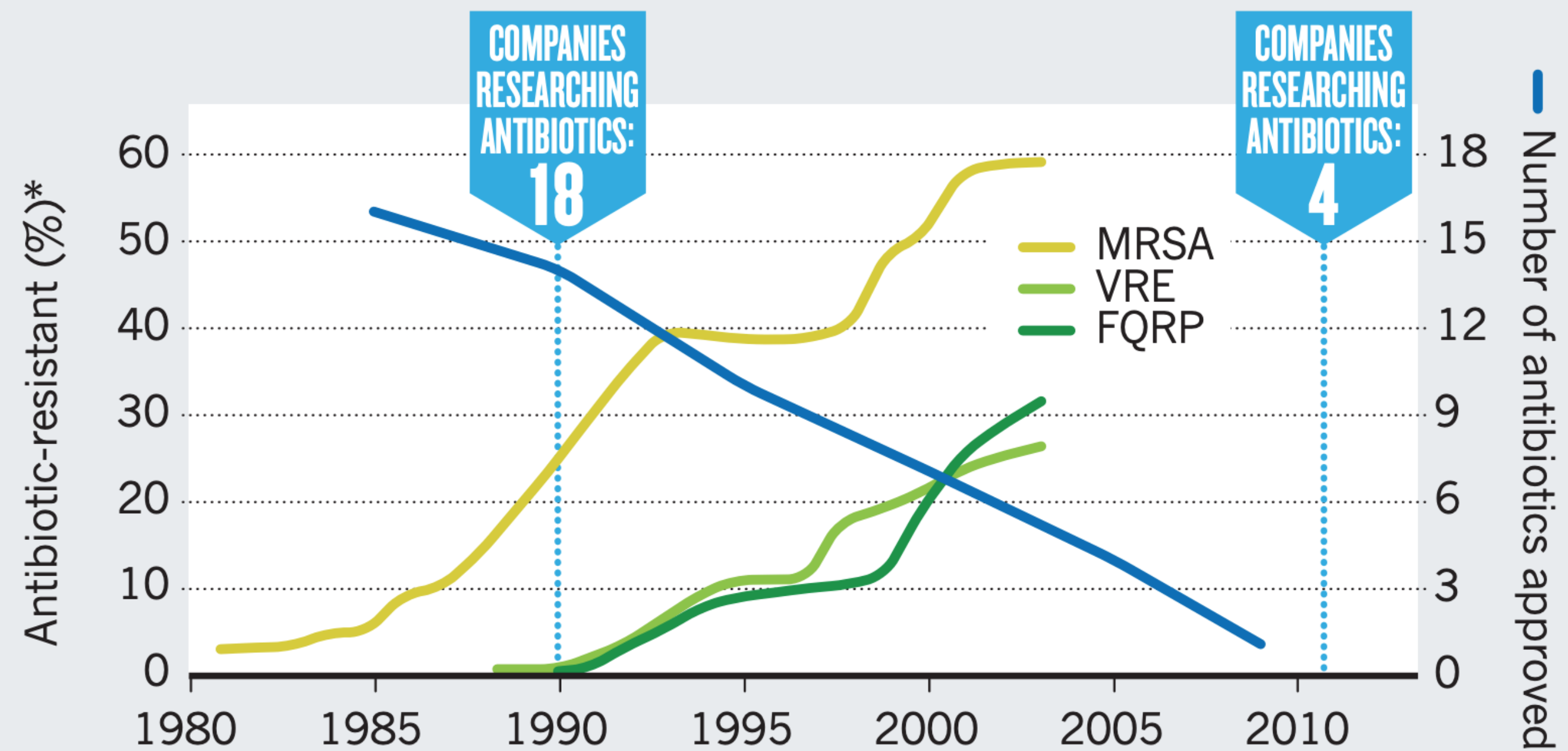


Hvordan ser det så ud nu?

Antibiotika-resistens, økonomi, globalisering

A PERFECT STORM

As bacterial infections grow more resistant to antibiotics, companies are pulling out of antibiotics research and fewer new antibiotics are being approved.

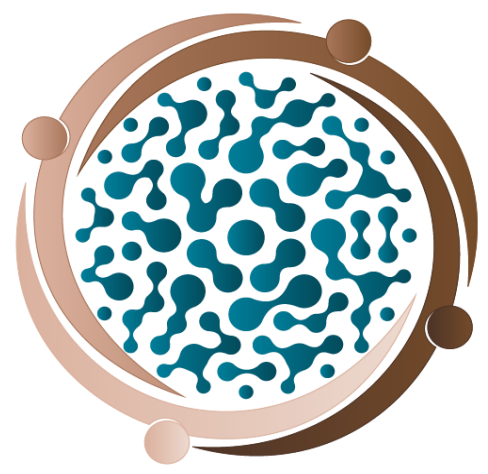


*Proportion of clinical isolates that are resistant to antibiotic. MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. VRE, vancomycin-resistant *Enterococcus*. FQRP, fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

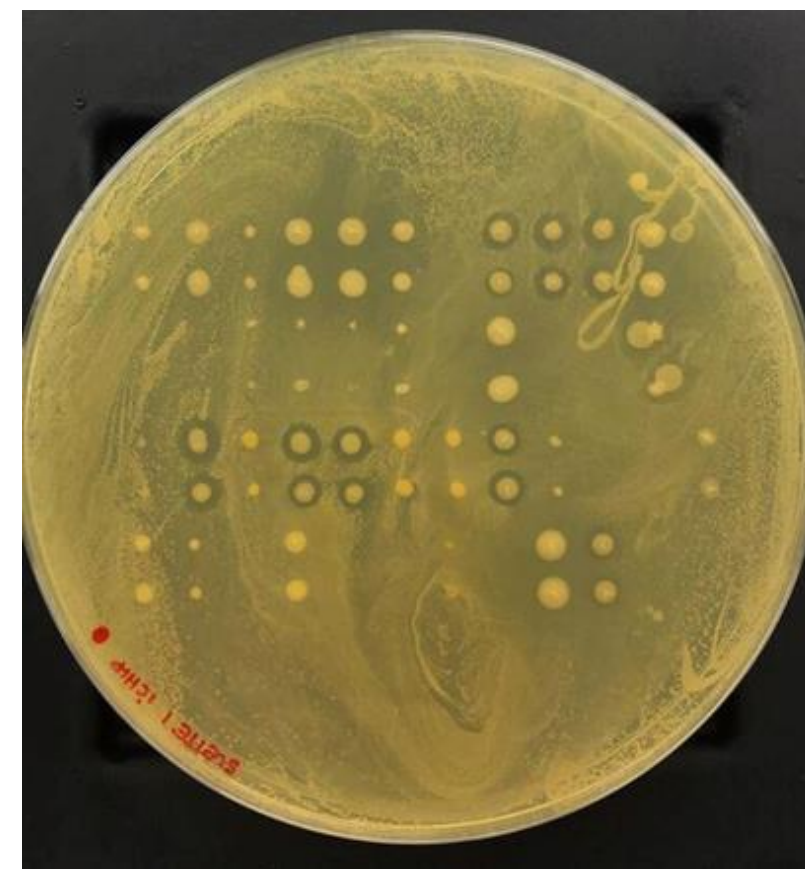
- Patentlovgivning
- Svært at udvikle
- Billig og tidsbegrænset
- Nye produkter bliver gemt

Vores workflow

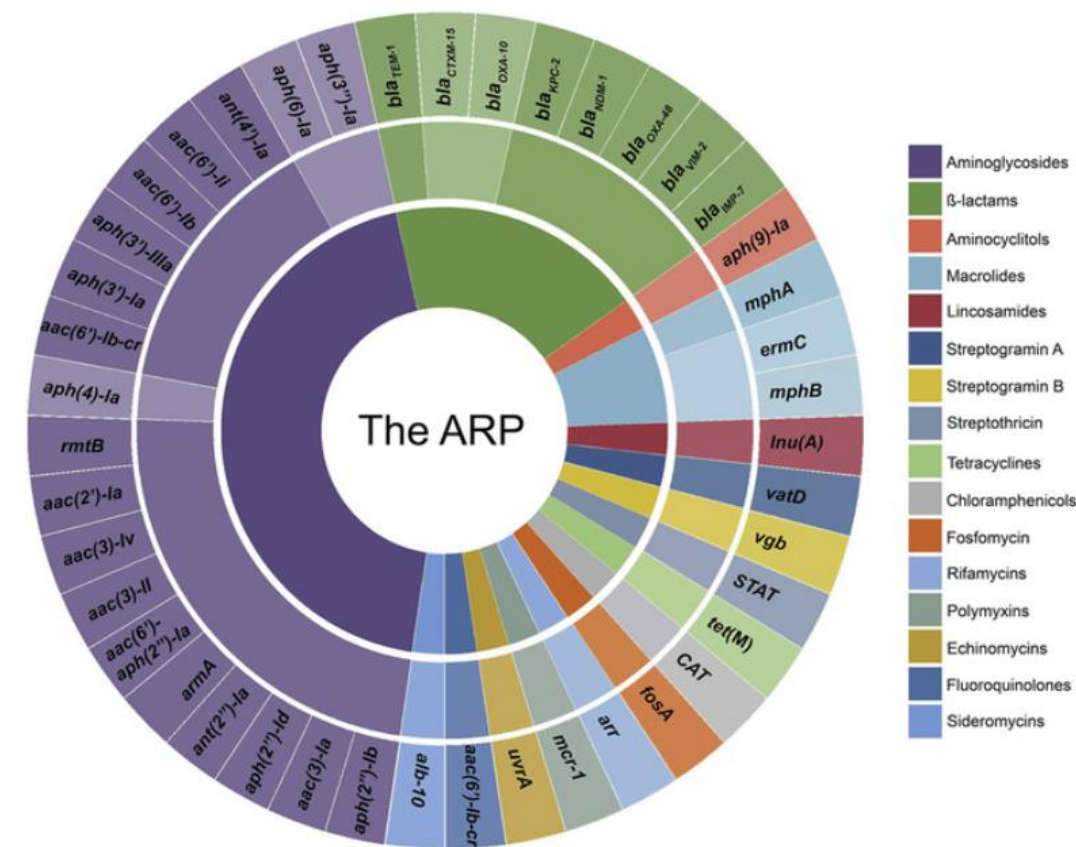
Og jeres bidrag



Isolering og karakterisering af jordbakterier



Screening af bioaktivitet



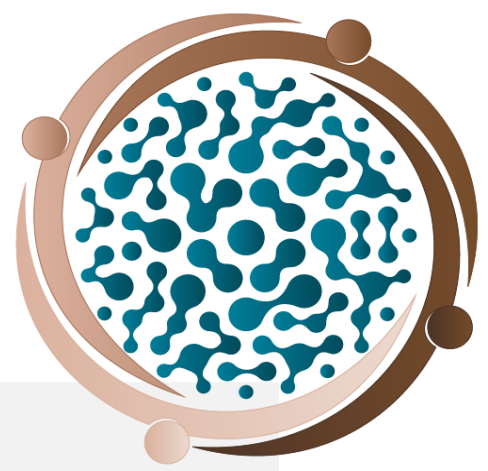
Prioritering og dereplikering



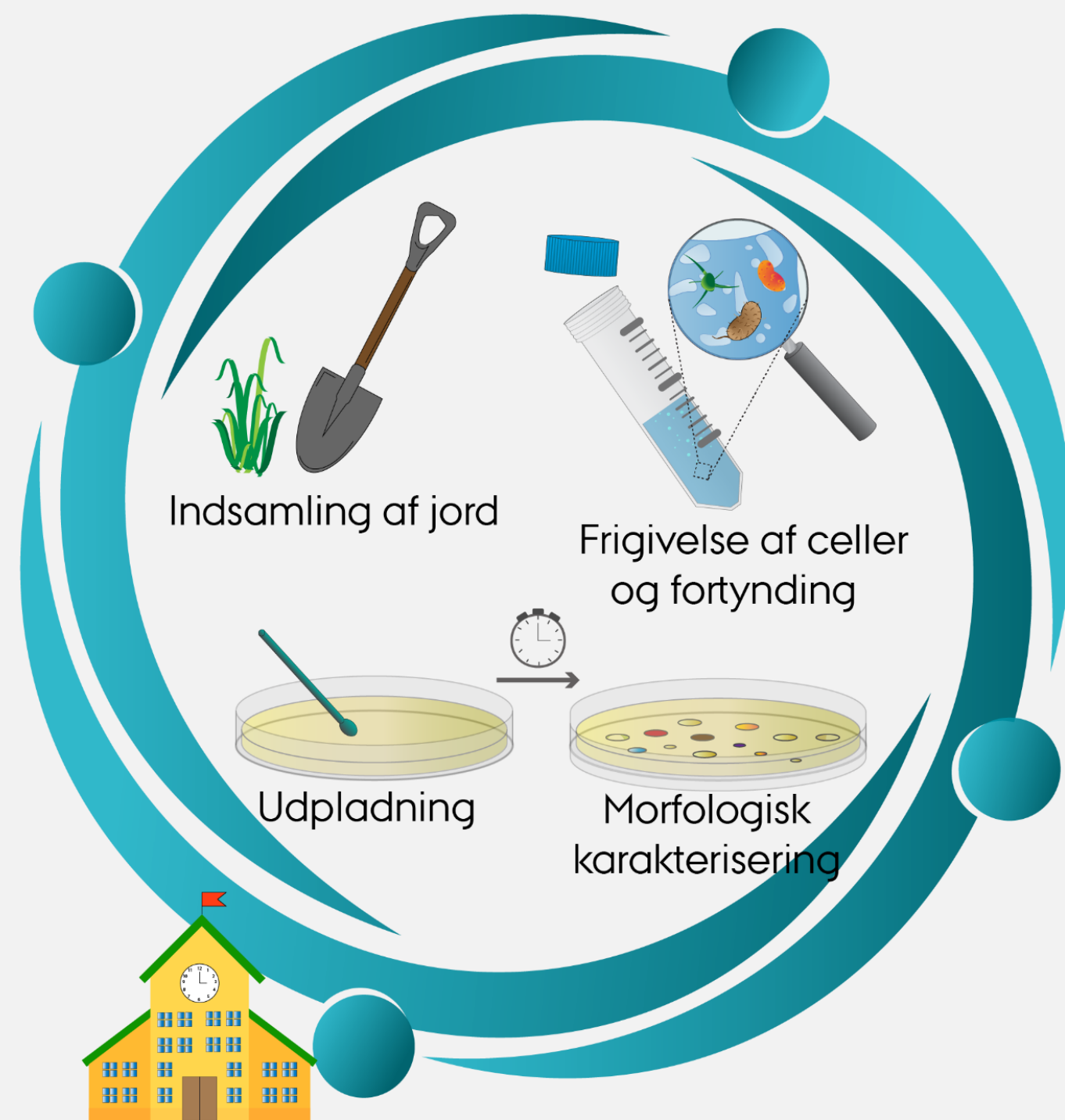
Opskalering i 5 L flasker eller bioreaktorer



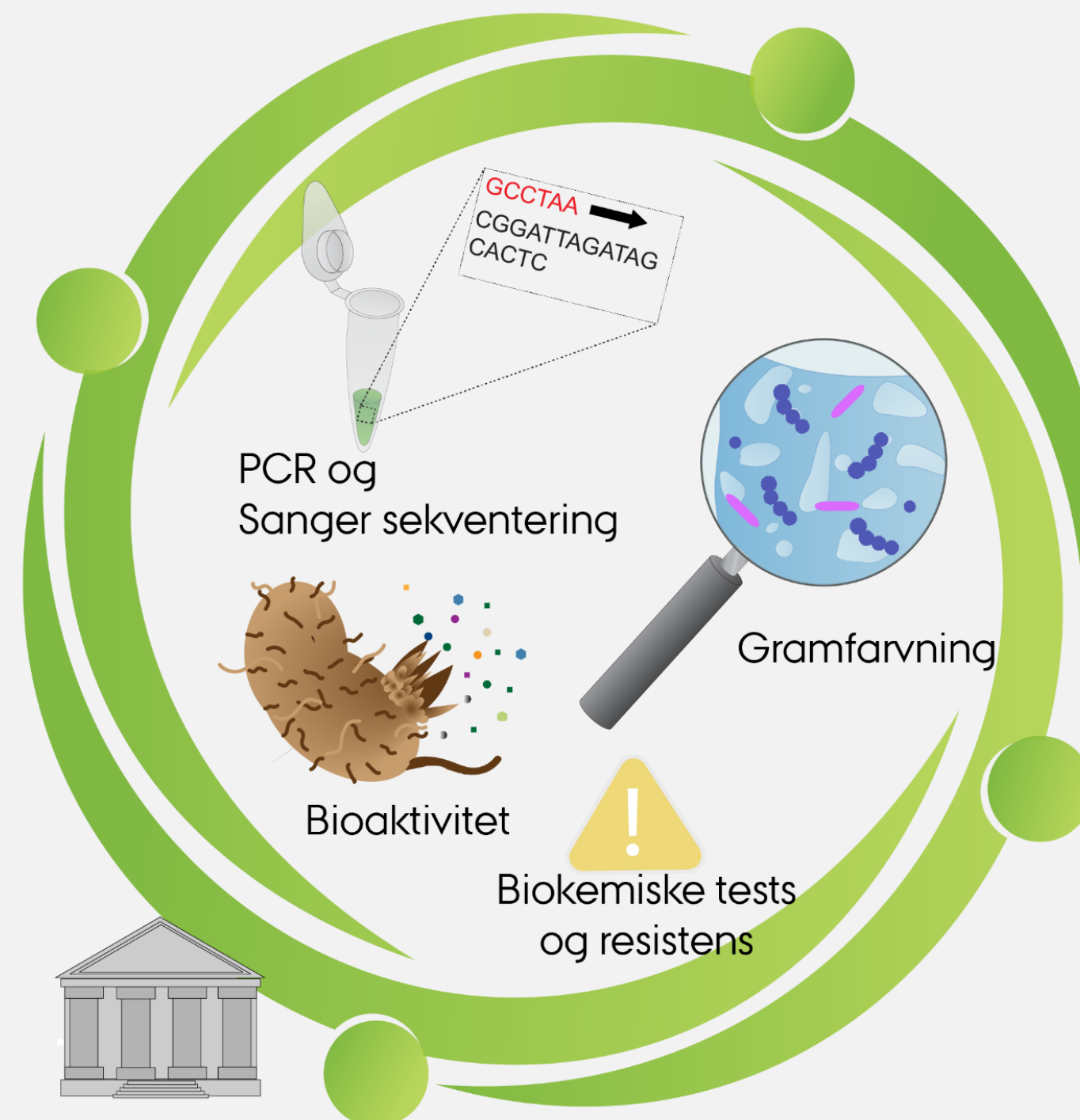
Oprensning og karakterisering



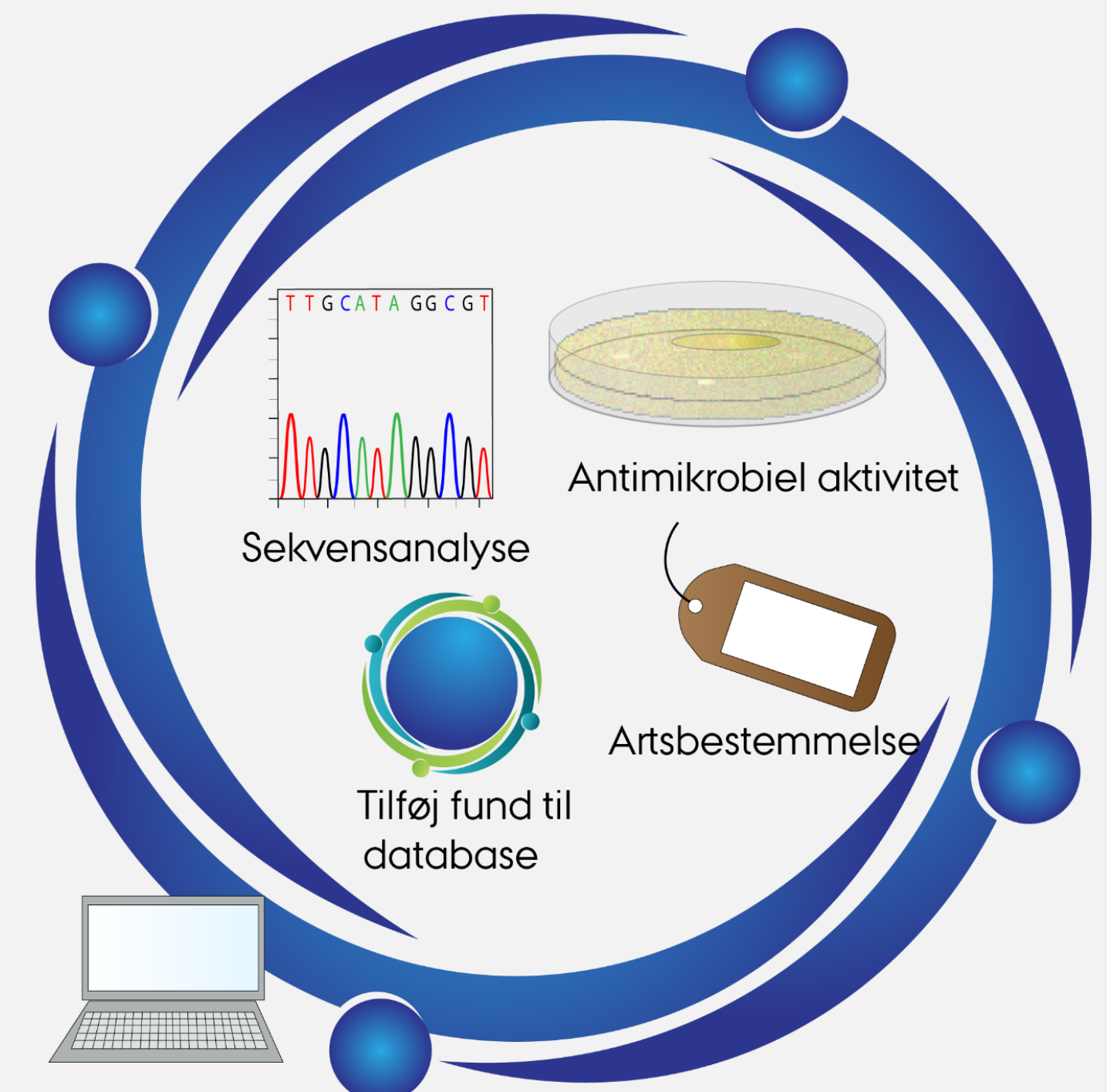
1. Indsamling og behandling af jord



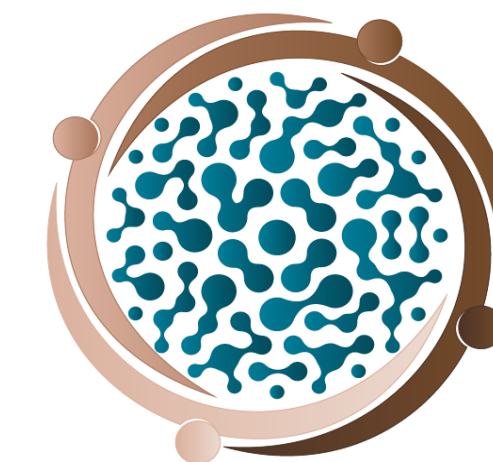
2. Karakterisering af jordbakterier



3. Gennemgang af resultater



Nu..



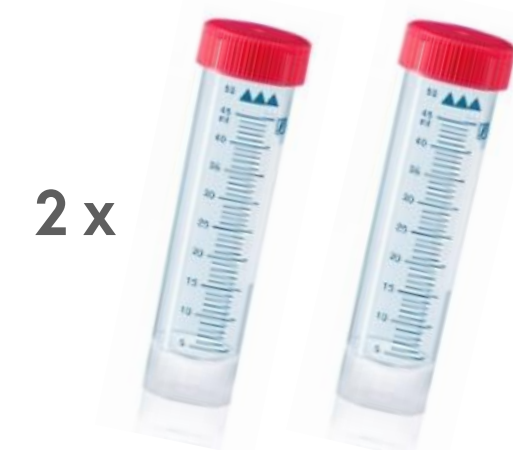
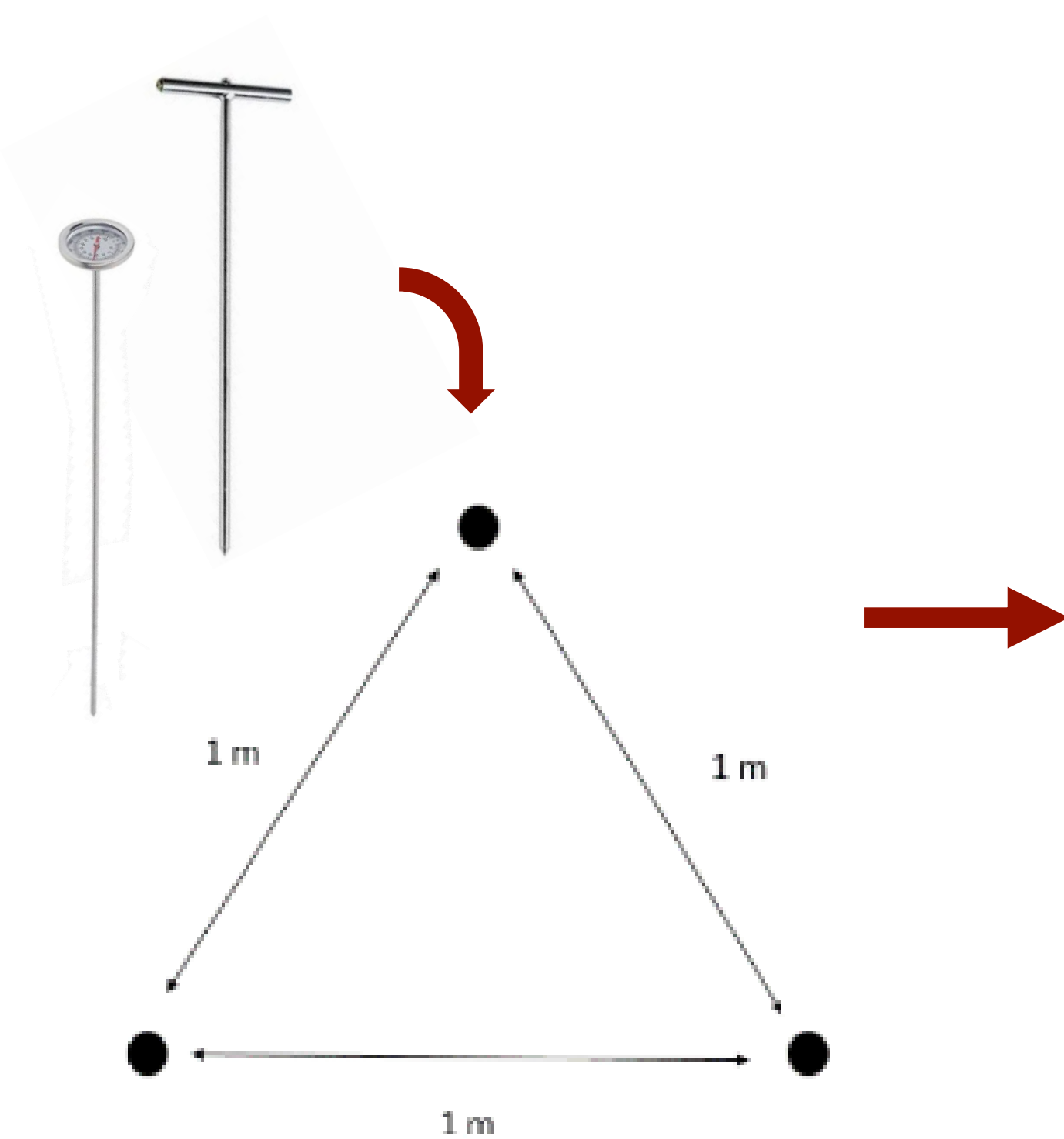
Registrering i Tiny Earth Discovery Database

- *Dette er siden hvor i registrerer alle de resultater der opsamles gennem forløbet*
- Gå sammen i jeres grupper hvor ÉN fra hver gruppe åbner sin computer
- Gå ind på: <https://discovery.tinyearth.wisc.edu/>
- Tryk 'Registrer' og udfyld informationen
 - Ved 'Nickname' skriver i jeres **Gruppe Nummer**
 - Ved 'Invitation Code' skriver i **StudentDiscovery2024**
- Du får nu tilsendt en mail, hvor kontoen skal godkendes
- Den mail der er brugt til registrering, gives nu til en studentermedhjælper

Nu...

Indsamling af jeres jord

Datablad - Indsamling af jord											
Indsamlet af:		Dato for indsamling:		Djorte:		Jordtype:		Temperatur (luft):		Temperatur (jord):	
Vej forholds på dato for indsamling:		Lokation:		GPS-kordinater (Google Earth):		Alder af jord:					



Tilbage hertil :

- Jordtype
- pH måling

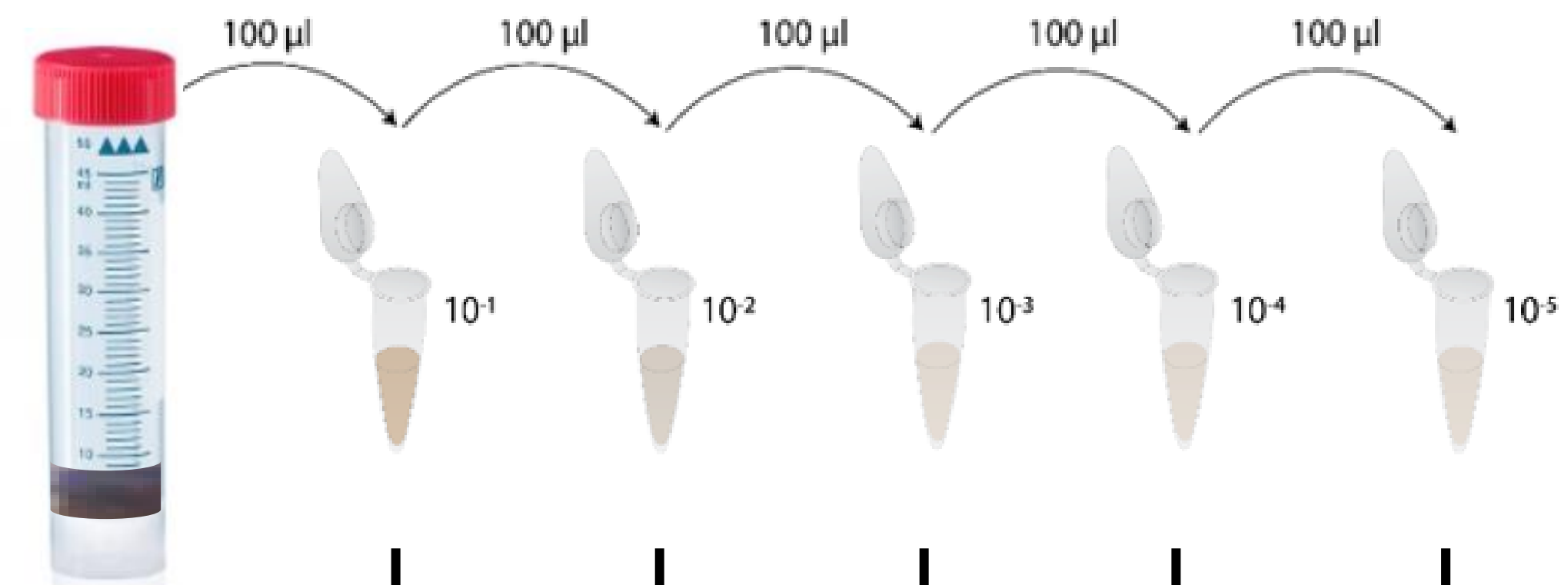
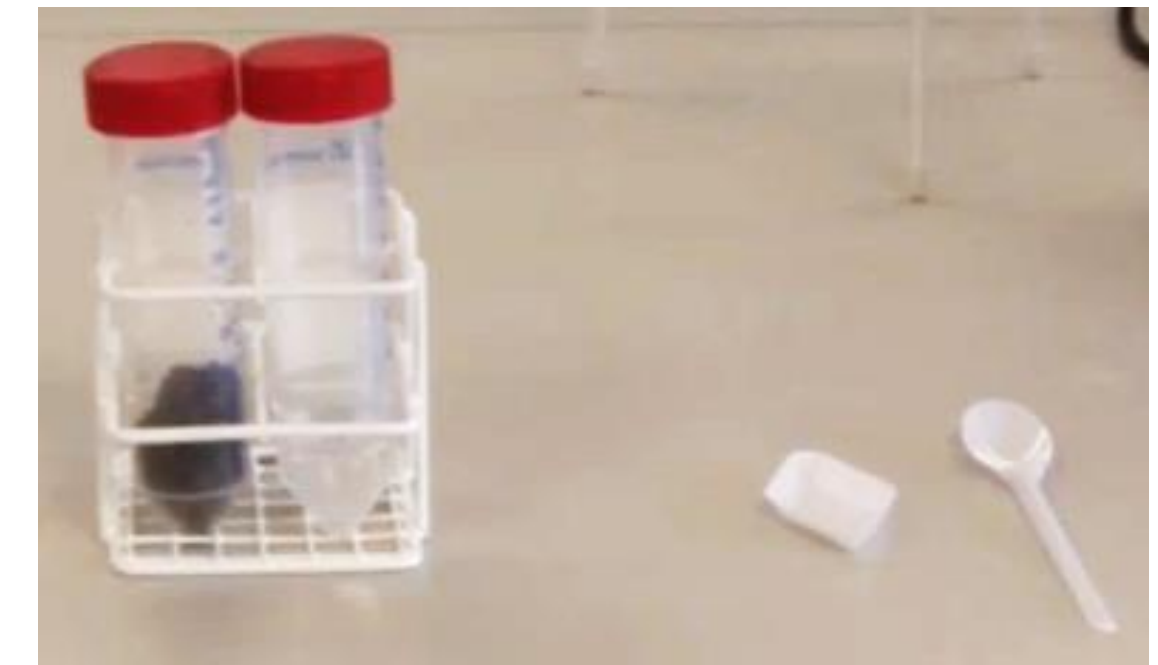
Jordtype bestemmelse:

<https://www.youtube.com/watch?v=GWZwbVJCNEc>

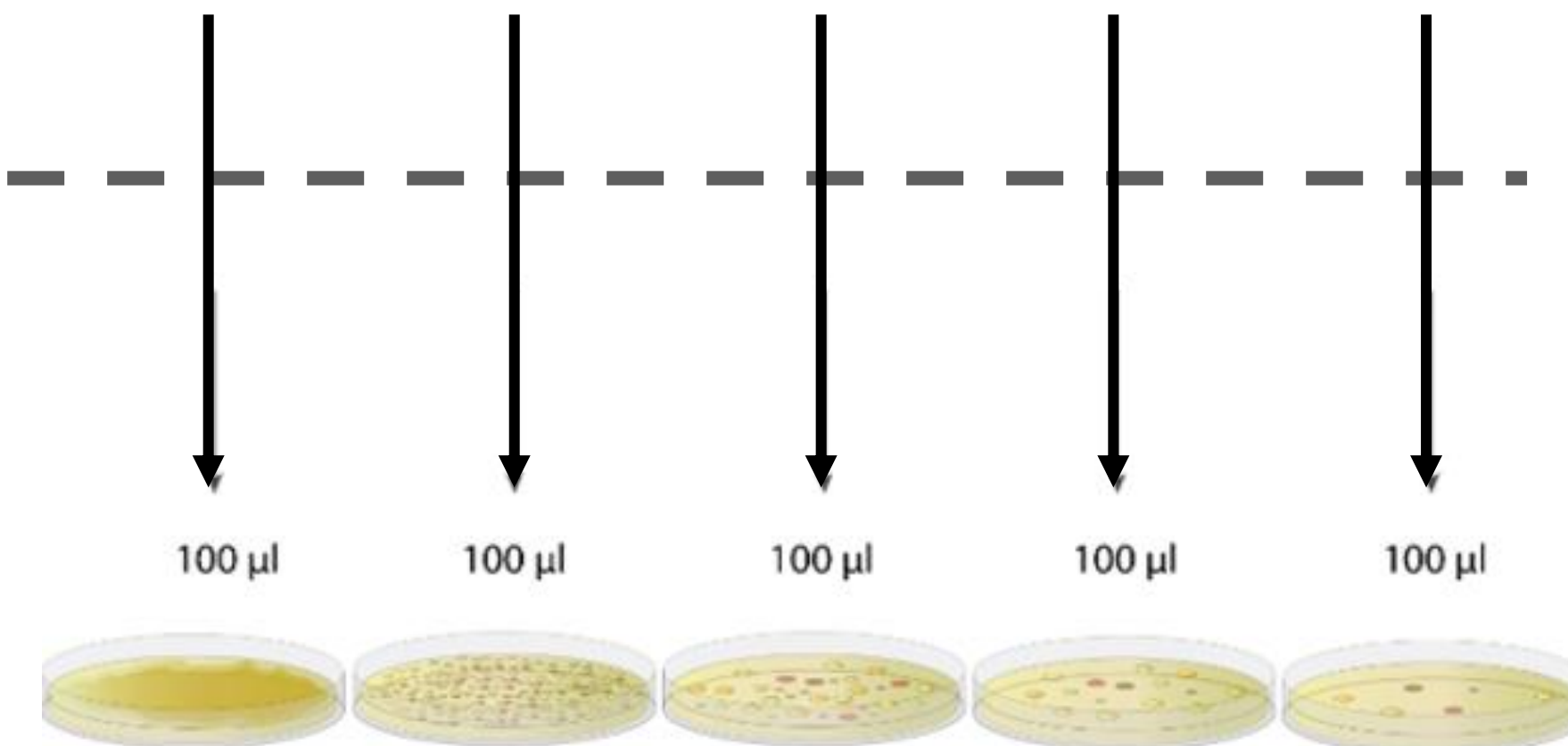
Nu...

Udpladning af jeres jordprøve

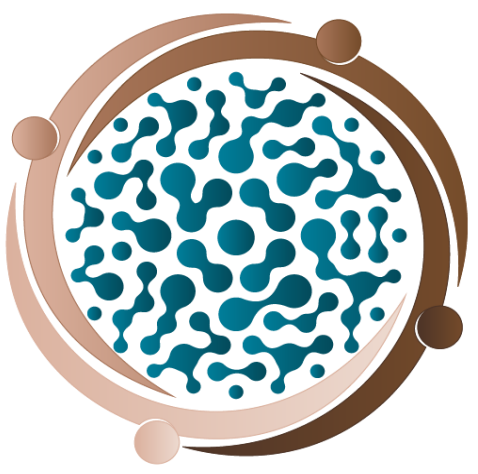
1. Afvej 1 g jord fra det andet rør fra jordindsamlingen
2. Tilføj nu det afvejede jord til røret der indeholder 9 mL 0,9% saltvand
3. Ryst/Vortex røret i 10 min
4. Lav fortyndningsrækken



-
5. Tag 5 agarplader "AC" og 5 agarplader med et valgfrit medie og udplad de 100µl med drigalskispatler og/eller glasperler



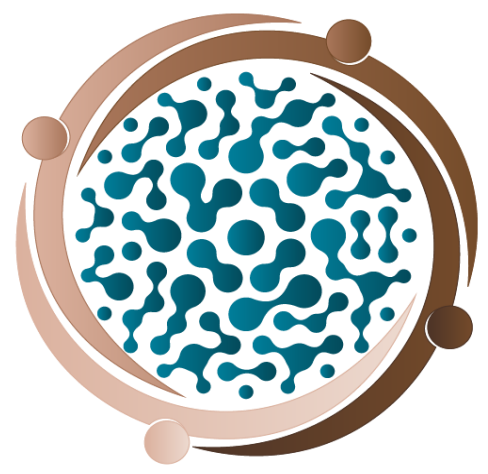
Nu...



Tilføj jordprøve i Tiny Earth Discovery Database

- Log ind på <https://discovery.tinyearth.wisc.edu/> som før
- I kan nu under 'My Entries' trykke 'Add New Entry' og vælge 'Environmental sample'
- Udfyld nu alt informationen **på engelsk** og tryk 'save'
 - Nickname: bestem selv et navn
 - Water content: kan ikke udfyldes

Nu...



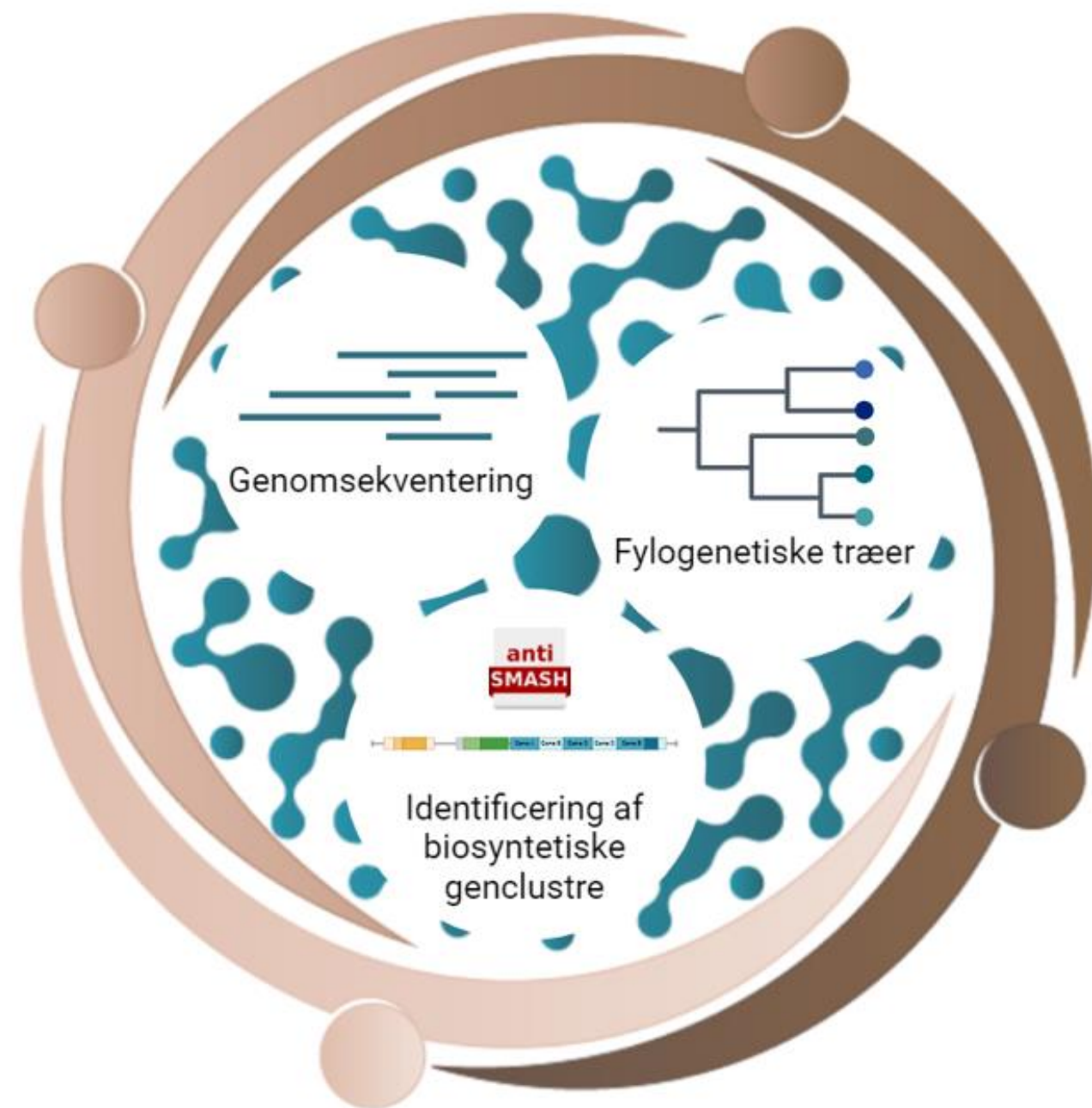
Tilføj fortyndingsrække i Tiny Earth Discovery Database

- Tilføj nu 'Serial Dilution Plates'
 - Nickname: navnet på mediet
 - Media used og concentration: vælg det medie i har. Alle medier, undtagen 10% NB, er 100%.
 - Additives og concentration: Nystatin og 50 ug/mL
 - Incubation temperature og duration: temperaturen på varmeskab eller stuetemperatur. Duration kan i først angive, når i tager plader ud af varmeskabet.
 - Dilution buffer: NaCl
 - CFU/g: kan i først angive når bakterier er groet op

SRP/SOP forløb

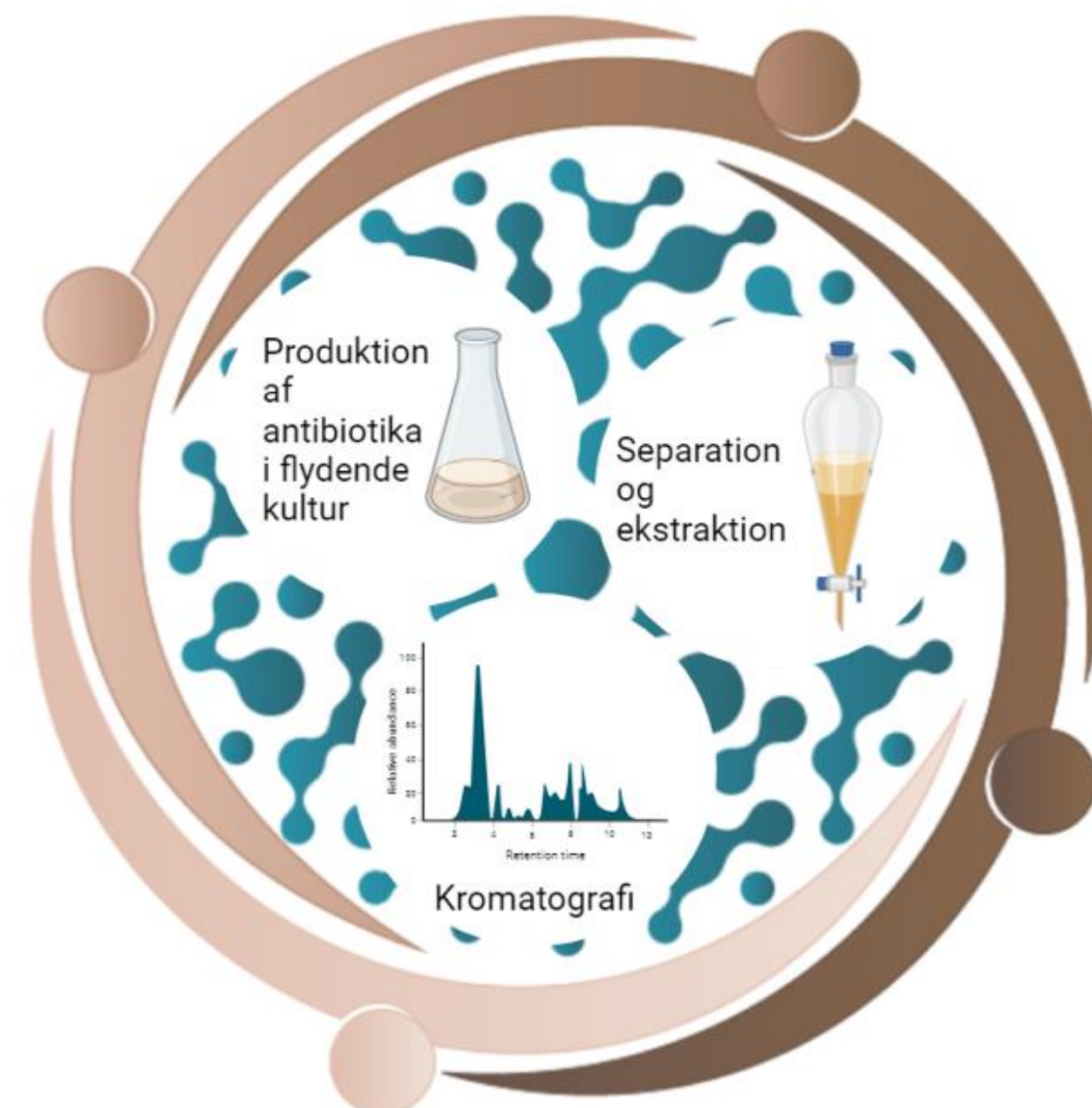
Forløb 1

Genomsekventering og bioinformatik

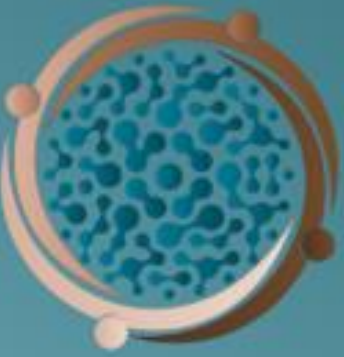


Forløb 2

Oprensning af antibiotika



Information om SRP og SOP forløb
(TILMELDINGSFRIST 20/12-2024)



20. januar 2025	Genomsekventering og bioinformatik	Oprensning af antibiotika
09.00-09.45	Velkommen Oplæg ved Tiny Earth Danmark	
10.00-12.00	Øvelse Intro til genomdata og verificering af isolaternes bioaktivitet	Øvelse Separation og ekstraktion af antibiotika fra flydende kulturer
12.00-13.00	Frokost	
13.00-13.45	Gæsteoplæg	
13.45-16.00	Øvelse Konstruktion af fylogenetiske træer	Øvelse Test ekstrakter for antimikrobiel aktivitet

21. januar 2025	Genomsekventering og bioinformatik	Oprensning af antibiotika
09.00-09.45	Oplæg ved Tiny Earth Danmark	
10.00-12.00	Øvelse Identificering af biosyntetiske genclustre	Øvelse HPLC forberedelse og kørsel
12.00-13.00	Frokost	
13.00-13.45	Resultatbehandling og diskussion	Resultatbehandling og diskussion
13.45-16.00	Præsentation af resultater og afslutning	

3. februar 2025	Genomsekventering og bioinformatik	Oprensning af antibiotika
16.00-18.00	Online spørgetime	