

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/97

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-9548
Naslov projekta	Mehanizem in diagnostika replikacije prionov
Vodja projekta	6628 Roman Jerala
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4.245
Cenovni razred	D
Trajanje projekta	01.2007 - 12.2009
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Družbeno-ekonomski cilj	13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)

2. Sofinancerji¹

1.	Naziv	
	Naslov	
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta²

Glavna naloga prvega dela projekta je bilo določiti predele mišjega prionskega proteina (mPrP), ki se strukturno preuredijo, in sicer z omejevanjem posameznih segmentov z disulfidnimi vezmi. Rekombinantne variante proteina mPrP z dodatnimi disulfidi smo pripravili v bakterijskem sistemu, jih izolirali in zvilili ter jim določili sekundarno strukturo in termodinamsko stabilnost. Določene mutante so bile bistveno bolj stabilne kot protein divjega tipa. Spremljali smo tudi *in vitro* fibrilizacijo mutant, kar nam je omogočilo, da določimo vlogo posameznih delov globularne domene v strukturni spremembi PrP. V skladu s predpostavko, da pri fibrilizaciji ne pride do

porušitve nativnega disulfidnega mostička, mutanta z dodatnim disulfidom med vijačnico 2 (H2) in vijačnico 3 (H3) fibrilizira. V nasprotju z nekaterimi prej predlaganimi strukturnimi modeli PrP^{Sc} pa disulfidi v domeni A (B1-H1-B2) ne preprečijo fibrilacije. Ugotovili smo, da sposobnost fibrilacije ni odvisna od termodinamske stabilnosti proteina temveč od položaja dodatnega disulfida v strukturi. S fibrilacijskimi študijami smo torej ugotovili, da omejitve gibljivosti znotraj domen A(B1-H1-B2) ali B (H2-H3), ne prepreči fibrilacije. Povezava domene A z domeno B pa prepreči pretvorbo. Ti rezultati kažejo, da v začetni stopnji pretvorbe pride do ločitve domen A in B v področju med B2 in H2, kar je tudi pogoj za fibrilacijo. To dodatno potrjuje fibrilacija mutant z dvema dodatnima disulfidnima mostičkoma, pri katerih se en disulfidni mostiček nahaja v domeni A, drug pa v domeni B. Izbrane mutante z dodatnimi disulfidnimi vezmi smo izrazili tudi v sesalskih celičnih modelih prionskih bolezni na osnovi linij HpL3-4 in L929 in tudi tu pokazali, da povezava domen A in B prepreči propagacijo prionov. Publikacija je v pripravi (priložena verzija pred pregledom ostalih avtorjev).

V drugem delu projekta smo preučevali nove pristope v diagnostiki prionskih bolezni. Tetracisteinska oznaka omogoči specifično vezavo majhnih fluorescenčnih biarzinskih spojin. Pripravili smo pravilno zvite rekombinantne mišje prionske proteine, pri katerih smo tetracisteinsko oznako uvedli v različne predele proteina. Medtem ko umestitev oznake na konca proteina ne vpliva na fibrilacijo, tetracisteinska oznaka med H2 in H3 inhibira pretvorbo. Pokazali smo, da reagent FIAsh lahko detektira konformacijske spremembe in razlikuje med nativno obliko PrP in fibrilami in na osnovi tega razvili kvantitativni test za določitev količine pretvorjenega PrP. Pripravili smo tudi celične linije HpL3-4 in L929, v katere smo stabilno vnesli mPrP s tetracisteinsko oznako na N- oziroma C-koncu. Pokazali smo, da se ti TC-mutanti pretvarjata pod vplivom mišjih prionov 22L. Razvili smo tudi nov sintezni postopek za pridobivanje biarzinskih reagentov, ki je enostavnejši in ima večji izkoristek kot obstoječi postopki. Rezultate tega dela smo objavili v reviji FEBS Journal.

Vezavo na pretvorjeno obliko PrP smo raziskali tudi s testiranjem molekularnih označevalcev za zaživiljenjsko diagnostiko prionskih bolezni s pozitronsko izsevno tomografijo, kjer smo izmerili vezavo spojine FDDNP, ki se že uporablja za diagnostiko Alzheimerjeve bolezni. Pojavnost Alzheimerjeve bolezni je v Indiji, kjer se začimba kurkuma dnevno uporablja v prehrani, nižja kot v drugih državah. Glavna sestavina kurkume, kurkumin, preprečuje nastanek novih in pospešuje razgradnjo obstoječih amiloidnih leh pri mišjem modelu Alzheimerjeve bolezni, inhibira pa tudi nastanek patološke oblike prionskega proteina v celičnem modelu prionskih bolezni. Zanimal nas je mehanizem delovanja te naravne spojine. Ugotovili smo, da se kurkumin veže na obe obliki z večjim deležem β -strukture, tako na β -oligomere kot tudi na amiloidne fibrile. V levo-sučni orientaciji se veže na fibrile prionskega proteina, kar ustreza tudi predpostavljenemu modelu fibril. Kurkumin prepozna tudi delno razvito obliko, ki je prisotna v kislem pH in ima podobno kot nativna oblika velik delež α -strukture. Gre za prvi opisan primer, ko je delno razvita oblika prionskega proteina lahko tarča netoksične spojine naravnega izvora. Naši rezultati spodbujajo nadaljnje raziskave kurkumina in njegovih derivatov z izboljšanimi farmakološkimi lastnostmi za diagnostiko in terapijo amiloidnih bolezni. Rezultate smo objavili v reviji Journal of Neurochemistry..

Tekom projekta smo tesno sodelovali s tujino predvsem v povezavi s celičnimi modeli prionskih bolezni (dr. Ina Vorberg, Tehnična univerza v Muenchnu ter prof. Adriano Aguzzi, Univerzitetna bolnišnica Zurich). V zvezi s projektom smo do sedaj objavili 3 znanstvene članke, delo je bilo predstavljeno na 3 posterjih in vabljenem predavanju na mednarodni konferenci oziroma na konferenci z mednarodno udeležbo, v povezavi s projektom je tudi doktorat, ki je bil nagrajen s Krkino nagrado.

4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Kot je razvidno iz spodnje preglednice smo zastavljene raziskovalne cilje izvedli.

PREDLAGANA NALOGA	OCENA REALIZACIJE
Disulfidne mutante PrP	

1.1 Izbor disulfidnih mutant PrP	REALIZIRANO
1.2 Priprava točkovnih mutacij	REALIZIRANO
1.3 Priprava in izolacija rekombinantnih proteinov v bakterijah	REALIZIRANO
1.4 Analiza biokemijskih in biofizikalnih lastnosti disulfidnih mutant	REALIZIRANO
1.5 Priprava stabilnih celičnih linij in analiza izražanja disulfidnih mutant v celičnih linijah	REALIZIRANO
1.6 Analiza infektivnosti oz. pretvorbe disulfidnih mutant v SCA	REALIZIRANO
1.7 Analiza vpliva disulfidnih mutant na strukturo in dinamiko prionskega proteina	REALIZIRANO
Odvisnost fluorescence PrP v odvisnosti od konformacije	
2.1 Izbor in priprava PrP variant s tetracisteinsko oznako	REALIZIRANO
2.2 Konformacijska odvisnost fluorescence kompleksa PrP-C4:FlAsH	REALIZIRANO
2.3 Analiza spremembe fluorescence ob pretvorbi PrP-C4 v živih celica	REALIZIRANO

V začetku izvajanja projekta smo sodelovali v EU projektu 6 OP TSEUR, v katerem smo si zastavili za cilj raziskati mehanizem nastanka patogenih prionov ter pripraviti nov tip testa, ki bi zaznaval pretvorbo prionskega proteina.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta⁴

Ni bilo večjih oz. pomembnejših sprememb.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni rezultat		
1.	Naslov	SLO: Mehanizem vezave kurkumina na prionski protein (PrP) ANG: Mechanism of curcumin binding to prion protein (PrP)
	Opis	SLO: Definirali smo mehanizem delovanja kurkumina, glavne sestavine začimbe kurkume, pri inhibiciji pretvorbe PrP. Pokazali smo, da se kurkumin veže tako na amiloidne fibrile kot tudi na tope β -oligomere. Kurkumin ne prepozna nativne α -oblike PrP, veže pa se na delno odvito obliko, ki nastane pri kislih pH. To je prva objava, ki opisuje vezavo netoksične spojine naravnega izvora na delno odvito obliko PrP. Naši rezultati spodbujajo nadaljnje raziskave kurkumina in derivatov z izboljšanimi farmakološkimi lastnostmi v diagnozi in terapiji amiloidnih bolezni. ANG: We defined the mechanism of inhibition of PrP conversion by curcumin, the active ingredient of spice turmeric. We showed binding of curcumin to both toxic β -oligomers as well as to amyloid fibrils. Curcumin bound to partially unfolded α -form PrP, formed at acidic pH, but not to the native PrP. This is the first description of a nontoxic compound of natural source binding to the partially unfolded intermediate of the prion protein. Our results are important for potential use of curcumin and its derivatives with improved pharmacological features for diagnosis and therapy of amyloid diseases.
	Objavljeno v	HAFNER BRATKOVIČ, Iva, GAŠPERŠIČ, Jernej, ŠMID, Lojze, BRESJANAC, Mara, JERALA, Roman. Curcumin binds to the α -helical intermediate and to the amyloid form of prion protein - a new mechanism for the inhibition of PrPSc accumulation. J. neurochem., 2008, 104 (6), 1553-1564, JCR IF (2008): 4.5, citatov: 6
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	3896346

2.	Naslov	SLO	Karakterizacija nabora protiteles POM proti prionskemu proteinu
		ANG	Characterization of set of antibodies POM against prion protein
	Opis	SLO	Strukturna pretvorba prionskega proteina, do katere pride pri prionskih boleznih, ni dobro poznana predvsem zaradi pomanjkanja informacij o strukturi patološke oblike PrPSc. Tako se velik nabor dobro definiranih protiteles proti prionskemu proteinu, ki so usmerjena proti različnim epitopom na PrP, lahko izkaže za neprecenljivega pri raziskovanju strukture PrPSc in karakterizaciji prionskih sevov. Pokazali smo tudi, da lahko ta protitelesa uporabimo v različnih eksperimentalnih tehnikah, kar še povečuje njihovo uporabnost v bazičnih raziskavah in diagnostiki.
		ANG	The structural conversion of prion protein occurring in prion disease is not well characterized, especially due to the lack of knowledge on the structure of pathological form, PrPSc. Thus a comprehensive set of well characterized antibodies directed against various epitopes on PrP might prove invaluable in obtaining structural information on PrPSc and characterization of prion strains. We also show that this antibody set can be used in various experimental platforms, which even broadens its applicability in basic research and diagnostics.
	Objavljeno v		POLYMERIDOU, Magdalini, MOOS, Rita, SCOTT, Mike, SIGURDSON, Christina, SHI, Yong-zhong, YAJIMA, Bill, HAFNER BRATKOVIČ, Iva, JERALA, Roman, HORNEMANN, Simone, WÜTHRICH, Kurt, BELLON, Anne, VEY, Martin, GREY, Graciela, JAMES, Michael N. G., KAV, Nat, AGUZZI, Adriano. The POM monoclonals: a comprehensive set of antibodies to non-overlapping prion protein epitopes. PLOS one, 2008, vol. 3, no. 12, str. e3972-1-e3872-17.
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
COBISS.SI-ID		4096794	
3.	Naslov	SLO	Prionski protein s tetracisteinsko oznako omogoča razlikovanje med nativno in pretvorjeno obliko PrP
		ANG	Tetracysteine-tagged prion protein allows discrimination between the native and converted forms
	Opis	SLO	Opisali smo novo metodo za sintezo biarzinskih spojin, za katere je značilno, da se specifično vežejo na tetracisteinsko peptidno oznako. Slednje smo vnesli v različna področja mišjega prionskega proteina (PrP) in razvili kvantitativno metodo za spremljanje pretvorbe PrP, ki ne uporablja proteaz, ampak temelji na različni prepoznavi monomerne in patološke oblike z biarzinskim reagentom. Pokazali smo, da lahko detektiramo s tetracisteinsko oznako označen PrP v celičnih kulturah, kar še razširja možnost uporabe te metode za detekcijo in študij konformacijskih bolezni.
		ANG	We report a new method for the synthesis of biarsenical reagents, which are then used to monitor murine PrP (mPrP) misfolding. We introduced tetracysteine (TC) tags which bind biarsenical compounds into mPrP and devised a quantitative protease-free method for following PrP conversion, based on the ability of the biarsenical reagent to differentiate between the monomeric and fibrilized form of TC-tagged PrP, and showed that TC-tagged mPrP could be detected on cells, thereby expanding the potential use of this method for the detection and study of conformational diseases.
	Objavljeno v		FEBS Journal, 277 (2010) 2038-2050.
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
COBISS.SI-ID		4377626	
4.	Naslov	SLO	Disulfidni mostički določajo predele, ki sodelujejo v konformacijski pretvorbi prionskega proteina (PrP)
		ANG	Disulfide tethers define the segments undergoing conformational change upon prion protein conversion (PrP)
	Opis	SLO	Kljub trem Nobelovim nagradam, podeljenim v povezavi s prioni, ostaja ključno vprašanje neodgovorjeno: kateri deli PrP se v patološkem procesu konformacijsko preuredijo. Posamezne segmente PrP smo omejili z disulfidnimi vezmi in spremljali njihov vpliv na strukturno pretvorbo. V nasprotju z večino objavljenih strukturnih modelov naši rezultati nakazujejo, da se večina sekundarnih strukturnih elementov ohrani, kar je pomembno tudi pri načrtovanju novih terapij. Za doktorsko delo, ki vsebuje te rezultate, je bila podeljena Krkina nagrada, članek pa je pripravljen (priloga).
			Despite three awarded Nobel prizes related to prion diseases the key

		ANG	unanswered question is the identification of structural segments that undergo rearrangement in PrP conversion. We tethered the selected structural segments of PrP by disulfide tethers and following their effect on conversion. In contrast to most published structural models our results showed that the majority of secondary structure elements remain intact, which is important in designing new therapies. Krka Prize was awarded for PhD thesis describing these results, publication is in preparation (enclosed).
	Objavljeno v		V: Prion 2007 : 26-28 September 2007, Edinburgh, Scotland, UK : book of abstracts. Edinburgh [Scotland, UK]: [NeuroPrion], 2007, str. 24. - HAFNER BRATKOVIČ, Iva.
	Tipologija		1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
	COBISS.SI-ID		3808538
5.	Naslov	SLO	Vabljen predavanje o prionskih proteinih, Ofir, Portugalska
		ANG	Invited lecture on the biology of prion proteins, Ofir, Portugal
	Opis	SLO	JERALA, Roman. Skrivnosti in težave prionskega proteina : [vabljen predavanje] PENS poletna šola "Novel molecular strategies to treat neurodegenerative diseases". Ofir [Portugalska], Julij 8-15, 2007. Predstavil sem trenutno stanje razumevanja in naše rezultate raziskav prionskih bolezni.
		ANG	JERALA, Roman. The mysteries and misdeeds of the prion protein : [invited lecture at] PENS summer school "Novel molecular strategies to treat neurodegenerative diseases". Ofir [Portugal], July 8-15, 2007. Prof. Jerala presented the current state of the art and project group's results on prion diseases.
	Objavljeno v		Novel molecular strategies to treat neurodegenerative diseases". Ofir [Portugal], July 8-15, 2007.
	Tipologija		1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljen predavanje)
	COBISS.SI-ID		3769626

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat		
1.	Naslov	SLO	Sodelovanje na mednarodnem tekmovanju iz sintezne biologije (iGEM))
		ANG	Participation in international synthetic biology competition (iGEM)
	Opis	SLO	Člani programske skupine so z metodološkim znanjem, pridobljenim z delom na projektu (delo na celičnih linijah, produkcija in karakterizacija proteinov in proteinskih nanostruktur) kot mentorji študentom iz Univerze v Ljubljani vsako leto sodelovali na mednarodnem tekmovanju iz sintezne biologije, kjer so vselej dosegli lep uspeh in tako pomagali k prepoznavnosti slovenske znanosti v svetu. Za te uspehe je bila slovenska ekipa tudi nominirana za World Technology Award 2010.
		ANG	Members of the project group have provided experimental training (cell culture, production and characterization of proteins and protein nanoparticles) for students of University of Ljubljana in international synthetic biology competition This contributed to the recognition of Slovenian science around the world. For these successes iGEM Team Slovenia was nominated for World Technology Award 2010.
	Šifra		B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v		Golden medal winner at the International Genetically Engineered Machine competition = iGEM project 2009]. Cambridge [MA, USA]: Massachusetts Institute of Technology, 30 Oct - 2 Nov 2009. http://2009.igem.org/Team:Slovenia
	Tipologija		1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
	COBISS.SI-ID		4319770
2.	Naslov	SLO	Sodelovanje v vzgojno-izobraževalnem procesu
		ANG	Participation in education
		SLO	Trije člani programske skupine redno sodelujejo pri izvedbi dodiplomskega in podiplomskega študija na Univerzi v Ljubljani. V povezavi s tem projektom

Opis		se je 2008 zaključilo eno doktorsko delo, dva doktorska študenta pa zaključujeta svoje delo, zagovora pričakovana v 2010 in 2011.
	ANG	Three members of the project group participate in undergraduate or graduate studies at University of Ljubljana. One PhD thesis connected to this project has been defended in 2008, additionally two PhD students are still working with PhD defense expected in 2010 and 2011.
Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom	
Objavljeno v	HAFNER BRATKOVIČ, Iva. Vpliv strukturnih sprememb prionskega proteina na infektivnost in vezavo specifičnih reagentov : [doktorska disertacija]. [Ljubljana: I. Hafner Bratkovič], 2008. VII, 109 f., ilustr., tabele.	
Tipologija	1.13 Objavljeni povzetek strokovnega prispevka na konferenci	
COBISS.SI-ID	238644480	
3. Naslov	SLO	Zoisovo priznanje za vrhunske znanstvene dosežke na področju molekularne biologije in biotehnologije
	ANG	Zois award for outstanding scientific achievements in molecular biology and biotechnology
Opis	SLO	Med dosežki, za katere je bilo podeljeno Zoisovo priznanje prof. Romanu Jerali so tudi dosežki na področju raziskav prionov.
	ANG	Among achievements for which the Zois award was presented to prof. Jerala there were also results on the research of prion proteins.
Šifra	E.01 Domače nagrade	
Objavljeno v	Spletna stran MVZT, mediji	
Tipologija	3.25 Druga izvedena dela	
COBISS.SI-ID	4330266	
4. Naslov	SLO	Dr. Roman Jerala : [radijski intervju v oddaji Podobe znanja]
	ANG	Dr. Roman Jerala : [radio interview v oddaji Podobe znanja]. Ljubljana: [COBISS.SI-ID 4187930]
Opis	SLO	Dr. Roman Jerala : [radio interview v oddaji Podobe znanja]. Prof. Jerala je med ostalim predstavil rezultate raziskav skupine na prionskem proteinu, s poudarkom na dleovanju kurkumina. Predstavitev je bila primerna širšemu krogu poslušalcev.
	ANG	Dr. Roman Jerala : [radio interview in the radio emission Podobe znanja]. In this interview prof. Jerala presented results of his group on prion proteins with emphasis on the effet of curcumin. Presentation was appropriate to the wide audience.
Šifra	B.06 Drugo	
Objavljeno v	Radio Slovenija, III. program, program Ars, 5. jun. 2009. 30 min.	
Tipologija	3.11 Radijski ali TV dogodek	
COBISS.SI-ID	4187930	
5. Naslov	SLO	
	ANG	
Opis	SLO	
	ANG	
Šifra		
Objavljeno v		
Tipologija		
COBISS.SI-ID		

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Kljub intenzivnemu raziskovanju na področju prionskih bolezni še vedno ni znano, kakšna je struktura patološke oblike prionskega proteina. S pomočjo načrtovanih disulfidnih mostičkov, ki so povezali izbrane elemente sekundarne strukture prionskega proteina, smo določili predele PrP, podvržene konformacijski spremembi. V nasprotju z drugimi modeli PrPSc naši rezultati nakazujejo, da se večina v celični obliki prisotnih elementov sekundarne strukture tekom konformacijske spremembe ohrani. Študije in vitro so podprte tudi z rezultati na celičnih modelih prionskih bolezni. Določitev strukture patološke oblike je pomembna tudi pri načrtovanju potencialnih terapij za te smrtne bolezni. Pokazali smo, da se kurkumin specifično veže na patološke oblike prionskega proteina, ne pa tudi na normalno obliko PrP. Poleg vezave kurkumina na strukturo PrP z visokim deležem beta sekundarne strukture, kurkumin prepoznava tudi v kislem nastajajoči intermediat - delno odvitto alfa obliko PrP. Gre za prvi objavljeni prikaz vezave spojine naravnega izvora na delno odvitto obliko PrP. Pokazali smo tudi specifično vezavo kurkumina na plake rezin možganov umrlega vCJB. Poleg inhibitornega delovanja bi bili kurkumin in njegovi bolj stabilni derivati primerni tudi za zaživiljenjsko diagnostiko prionskih bolezni. Tekom projekta smo razvili tudi nove reagente za diagnostiko prionskih bolezni. Objavili smo nov postopek sinteze biarzinskih spojin, ki se specifično vežejo na tetracisteinsko oznako. Tetracisteinsko oznako smo uvedli v mišji prionski protein in razvili metodo za detekcijo konverzije PrP, ki ne uporablja razgradnje s proteinazo K. Pokazali smo tudi specifično označevanje PrP s tetracisteinsko oznako v celičnih kulturah.

ANG

Despite extensive research in the field of transmissible spongiform encephalopathies, there is still not much knowledge on the structure of pathological form of prion protein. Engineered disulfide bridges tethering selected segments of prion protein enabled us to define regions amenable to conversion. In contrast to the majority of proposed PrPSc models our results show that majority of secondary structure elements are conserved upon structural conversion. In vitro fibrilization results are further supported by cell culture models of prion disease. Defining the structure of the pathological form is important in design of possible therapies for these devastating diseases. We showed that curcumin, the active ingredient of the spice turmeric, binds specifically to pathological forms of prion protein but not to the normal protein. In addition to binding to structures with high content of beta secondary structure, curcumin also labeled a partially unfolded alpha helical form, an intermediate formed at acidic pH. This is the first report of natural non-toxic compound binding to partially unfolded alpha PrP. We also showed curcumin labels prion plaques in vCJD brain sections. In addition to its inhibitory action on formation of amyloid PrP, curcumin or its derivatives with increased stability might be useful for diagnostics of prion disease in living patients. During the project we also developed new reagents for the detection of PrP conversion. We report a new synthesis method for production of biarsenical reagents which bind specifically to tetracysteine motif. We introduced tetracysteine tag into mouse prion protein and developed protease-free protocol for detection of PrP conversion. We also showed specific labeling of tetracysteine-tagged PrP in cell culture.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Tekom projekta smo intenzivno sodelovali z najboljšimi evropskimi skupinami na področju prionskih bolezni. Poleg izmenjave idej je naša študentka obiskala laboratorij dr. Ine Vorberg (TUM), kjer se je naučila rokovati s celičnimi modeli prionskih bolezni. Dodatno se je pri tem naučila pripravljati stabilne celične linije s pomočjo retrovirusov, kar nameravamo izkoristiti tudi na drugih področjih naših raziskav. V ta namen smo obnovili in registrirali nekaj laboratorijev 2. varnostne stopnje na našem oddelku.

ANG

During the project we cooperated strongly with the best groups in the field of transmissible spongiform encephalopathies in Europe. In addition to exchange of ideas our student visited the laboratory of dr. Ina Vorberg (TUM) where she learned how to work with cell culture models of prion disease and additionally how to prepare cell lines stably expressing gene of interest by viral transduction, which we plan to use in the future also in other fields of our research. With such experiments in mind we renovated and registered several laboratories at our department as biosafety level 2.

10. Samo za aplikativne projekte!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem 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	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	

F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

--

11. Samo za aplikativne projekte!

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visoko-šolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					

G.09.	Drugo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------	---------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

Komentar

--

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki¹¹

1.	Sofinancer		
	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			
2.	Sofinancer		
	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			
3.	Sofinancer		
	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		

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, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> 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:

Roman Jerala	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

19.4.2010

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/97

¹ Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Samo v primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

PRIMER (v slovenskem jeziku):

Naslov: Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s katepsinom X;

Opis: Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

Objavljeno v: OBERMAJER, N., PREMZL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates $\beta 2$ - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

Tipologija: 1.01 - Izvirni znanstveni članek

COBISS.SI-ID: 1920113 [Nazaj](#)

⁶ Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ 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](#)

⁹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

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

¹¹ Rubrike izpolnite/prepišite 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](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2010 v1.00a

EB-DF-55-17-27-7F-49-40-A4-84-44-0E-3D-BC-D1-C1-E8-DC-24-B2