

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/244



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J1-4305
Naslov projekta	Spremembe lipidnih membran pri boleznih
Vodja projekta	15686 Gregor Anderluh
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7560
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	104 Kemijski inštitut 106 Institut "Jožef Stefan" 381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.05 Biokemija in molekularna biologija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V mnogih temeljnih bioloških procesih in boleznih, vključno z bakterijskimi infekcijami in parazitizmom, imajo osrednjo vlogo interakcije med posebnimi proteini in tarčnimi membranami. Proteini, ki poškodujejo integriteto plazemske ali znotrajceličnih membran v končni fazi vodijo v celično smrt. Zato je bistvenega pomena razumevanje mehanizmov delovanja proteinov na membrane na molekularnem nivoju. Za številne proteine, ki reagirajo z membranami, še vedno ni zadovoljive razlage o tem, kako poškodujejo celično membrano. V evoluciji so se razvili subtilni

mehanizmi, ki omogočajo invazijo molekul in celo organizmov v celice brez obsežnih poškodb membrane ali okolišnjega tkiva. Ti vključujejo dinamično preoblikovanje membran, podobno tistim, ki se dogajajo pri celičnem gibanju, delitvi, podaljševanju dendritov in vezikularnem transportu. V tem projektu smo želeli raziskati nekatere od teh aktivnosti pri pomembni naddružini proteinov: kompleks membranskega napada/perforina in od holesterola odvisnih citolizinov (angl. membrane attack complex/perforin and cholesterol-dependent cytolysins, MACPF/CDC).

Proteinska naddružina MACPF/CDC (>350 članov) je definirana na osnovi podobnosti zaporedij proteinov imunskega sistema (kompleksa membranskega napada komplementa, ang. Membrane-Attack Complex, MAC, in PerForiNa, PFN) ter na osnovi strukturne podobnosti z od holesterola odvisnimi citolizini (ang. cholesterol-dependent cytolysins, CDC). Podobna zgradba nakazuje na možne podobne mehanizme delovanja MACPF proteinov pri procesu tvorbe transmembranskih por. Proteini MACPF in CDC tako predstavljajo ohranjeno proteinsko naddružino, povezano s temeljnimi procesi pri okužbah in imunosti. Glavna funkcijska značilnost te proteinske naddružine je sposobnost tvorbe transmembranskih por. Pokazali so, da MACPF/CDC proteini na površini membrane tvorijo nepopolne prstane ali loke, ki so funkcionalni in morda skupaj z membranskimi lipidi tvorijo stene membranske pore. Poleg tega nekateri MACPF/CDC proteini sploh nimajo sposobnosti tvorbe por. Potrebno je torej določiti ali je interakcija z membranami sploh potrebna za aktivnost vseh proteinov te družine.

V okviru predlaganega projekta smo želeli raziskati biokemijske in nekatere strukturne lastnosti kompleksov proteini-lipidi, katerih nastanek inducirajo različni MACPF/CDC proteini: človeški PFN, listeriolizin O (LLO) iz bakterije *Listeria monocytogenes* in glivni dvokomponentni protein, ki tvori pore, ostreolizin (Oly). PFN in LLO sta biokemijsko dobro opredeljena, medtem ko so lastnosti in funkcija Oly in ostalih podobnih proteinov še vedno večinoma neznane. Glavni cilj projekta je opisati molekulske mehanizme, s katerimi navedeni proteini povzročajo večje in manjše spremembe v strukturi lipidnih membran. Takšne spremembe membrane so povezane z biološko vlogo teh proteinov in lahko prispevajo k novim pogledom na mehanizme, s katerimi ubijajo tarčne celice.

ANG

Protein-membrane interactions have a central role in many fundamental biological processes and diseases, including bacterial infections and parasitism. Protein-induced damage of plasma or intracellular membranes integrity leads ultimately to cell death. It is, therefore, important to understand how proteins affect membranes at the molecular level. How proteins break the membrane barrier is still not satisfactorily explained for many diverse groups of membrane interacting proteins. Subtle mechanisms have evolved that allow the invasion of molecules and even organisms through cells without gross damage of membranes or nearby tissues. They involve dynamic remodelling of membranes, similar to those in movement, division, extension of neuronal arbors and vesicle trafficking. In this project we plan to study some of such activities of an important protein superfamily, the membrane attack complex/perforin and cholesterol-dependent cytolysin (MACPF/CDC) proteins.

The MACPF/CDC protein family (>350 members) was defined on the basis of sequence similarity between proteins of the immune systems Membrane-Attack Complex (MAC) of the complement system and PerForiN (PFN), and structural similarity to cholesterol-dependent cytolysins (CDC). The similar architecture by analogy implies that MACPF proteins might act by a similar mechanism of transmembrane pore formation. MACPFs and CDCs thus represent an ancient protein lineage associated with fundamental processes in infection and immunity and, hence, they are collectively referred to as the MACPF/CDC superfamily. Transmembrane pore formation is the hallmark characteristic of this protein family, however, membrane perforation is not all that these proteins are capable of. It was shown that MACPF/CDCs may form incomplete rings or arcs on the surface of the membrane, which are functional and possibly lined with membrane lipids in the ion conductive pathway. Furthermore, not all of the MACPF/CDC proteins possess pore forming activity and it remains to be determined even if membrane interactions are needed for the activity of all of them.

In the proposed project we plan to study biochemical and some structural properties of protein-lipid complexes induced by several MACPF/CDC proteins: human PFN, listeriolysin O (LLO) from *Listeria monocytogenes*, and a fungal bicomponent pore forming protein ostreolysin (Oly). While

PFN and LLO are extensively biochemically characterised, properties and function of Oly and other similar proteins are largely unknown. The main aim of this project is to describe the molecular mechanism of large- and small-scale changes in membrane structure induced by these proteins. Such membrane changes are connected with biological role of these proteins and can open new horizons to understand how they kill target cells.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

V projektu smo raziskovali delovanje MACPF/CDC proteinov s poudarkom na biološki aktivnosti in tvorbi transmembranskih por. MACPF/CDC proteini imajo pomembno vlogo v bakterijski patogenezi, imunskem sistemu in razvoju organizmov. V projektu smo raziskovali predvsem delovanje človeškega perforina, listeriolizina O (LLO) iz bakterije *Listeria monocytogenes* in nekatere MACPF proteine, ki jih najdemo pri glivah. V projektu smo zasledovali naslednje specifične cilje:

- i) Opredelitev novih glivnih dvokomponentnih MACPF/CDC proteinov,
- ii) Razvoj sond za označevanje membran,
- iii) Določitev atomske strukture LLO,
- iv) Določitev strukturnih in funkcionalnih lastnosti por, ki jih povzročajo MACPF/CDC proteini in
- v) Opis večjih strukturnih sprememb membrane, ki jih povzročajo MACPF/CDC proteini

i) Opredelitev novih glivnih dvokomponentnih MACPF/CDC proteinov

Opravili smo podrobno bioinformatično analizo prisotnosti komponent A in B pri glivah. Na spletu sta preko baze podatkov MycoCosm dosegljiva genoma dveh različnih sevov glive *Pleurotus ostreatus*. Ob njuni analizi smo ugotovili, da sta genomska zapisa za gena PlyA in PlyB neposredna sosedata in se pod različnimi pogoji prepisujeta v RNA. Na ustanovi Joint Genome Institute (JGI) so nedavno določili genome 8 vrst iz rodu *Aspergillus*, zaporedja so dostopna preko baz podatkov MycoCosm in *Aspergillus* Genome Database (AspGD). Ugotovili smo, da so zapisi za gen A prisotni pri vseh vrstah *Aspergillus*, ponekod tudi po dvakrat, zapisi za B pa samo v nekaterih primerih; tam je gen B lahko sosednji, lahko pa se nahaja tudi še nekje drugje v genomu. Ideja konzorcija EUFGEN: EURotiales Functional GENomics consortium je primerjati nova genomska zaporedja z že poznanimi zaporedji tudi in vivo, zato smo vrste *Aspergillus* s poznanim genomom prejeli iz zbirke mikroorganizmov CBS-KNAW fungal biodiversity centre. Oba proteina A iz egerolizinske družine proteinov v glivi *A. niger* smo izrazili v bakteriji *E. coli*. Enega od obeh smo očistili, odrezali His rep in preverili hemolitično aktivnost. Ta protein ni bil hemolitično aktiven, niti samostojno niti v kombinaciji s PlyB. Z namenom razumeti biološko vlogo teh proteinov pri glivi *A. niger* smo raziskali izražanje teh proteinov in ugotovili, da se uzražajo predvsem ob nastanku primordijev gliv. Raziskali smo tudi nekatere stresne pogoje in kako vplivajo na izražanje. To delo še poteka v okviru doktorske disertacije Maruše Novak. Raziskali smo distribucijo proteinov z MACPF-domeno in egerolizinskih proteinov v glivah, ter komentirali njihovo biološko vlogo v organizmih, ki jih proizvajajo (Ota et al. (2014) [COBISS.SI-ID 3121999]).

Nadalje smo okarakterizirali elektrofiziološke lastnosti pore, ki jih ostreolizin A ustvari v membranah živih celic (CHO in neuroblastomske celice) v kombinaciji s proteinom iz naddružine MACPF, pleurotolizinom B. Ugotovili smo, da citolitični kompleks OlyA/PlyB tvori ionsko neselektivne pore, ki se razlikujejo v velikosti in prevodnosti. Ta del projekta je bil objavljen v Schlumberger et al. (2014) [COBISS.SI-ID 2958415]. Opisali smo tudi mehanizem tvorbe pore bikomponentnega kompleksa OlyA/PlyB in opisali strukturne lastnosti takšnih por (Ota et al. (2013) [COBISS.SI-ID 26868007]). Izkazalo se je, da so pore glivnih dvokomponentnih MACPF/CDC proteinov presenetljivo podobne tistim, ki jih tvorijo MACPF proteini in od holesterola-odvisni bakterijski citolizini.

Razporeditev, biološke aktivnosti ter biotehnoške in biomedicinske aplikacije egerolizinskih proteinov smo opisali tudi v preglednem članku. Egerolizini imajo namreč širok razpon morebitnih biotehnoških in biomedicinskih aplikacij (lahko služijo kot označevalci membranskih lipidnih domen, kot biomarkerji izpostavljenosti glivam, njihovi geni lahko služijo kot tarče za detekcijo gliv v času okužbe, protitelesa proti egerolizinom pa so lahko orodja za določanje glivnih patogenov) (Novak et al. (2015) [COBISS.SI-ID 3264591]).

ii) Razvoj sond za označevanje membran

Membranski rafti so udeleženi v številnih ključnih bioloških procesih v zdravem organizmu, saj delujejo kot platforme za ustaljene signalizacijske poti, obenem pa njihova disfunkcionalnost ali okvara privede do različnih bolezenskih stanj. Za membranske rafte je tako bilo ugotovljeno, da igrajo pomembno vlogo v nevroloških, (Alzheimerjeva, Parkinsonova in prionske bolezni) in kardiovaskularnih boleznih, v karcinogenezi in pri imunskih boleznih kot je sistemski lupus eritematosus ter pri okužbi z virusom HIV, kar naredi membranske rafte izjemno zanimive tarče v luči farmakoloških pristopov za zdravljenje in preprečevanje teh bolezni. V okviru projekta smo razvili stabilno, netoksično rekombinantno fluorescenčno različico proteina ostreolizina A za katerega smo pokazali, da se veže na s holesterolom in sfingomielinom bogata področja v membranah celic. Z omenjenim označevalcem smo tudi dokazali obstoj teh domen v celicah in spremljali njihovo dinamiko potovanja po celici. Razvita molekula bi lahko v prihodnosti služila kot ključno (in do sedaj edino) orodje v bazičnih in aplikativnih biomedicinskih raziskavah biologije membranskih raftov in z njimi povezanih patoloških stanj. Ta del projekta je bil objavljen v članku Skočaj et al. (2014) [COBISS.SI-ID 3072591]. Delo, ki je potekalo v okviru doktorske naloge Mateja Skočaja je bilo nagrajeno s Krkino nagrado.

S kolegi iz Japonske (skupina Toshihida Kobayashi-ja, Riken, Tokyo) smo tudi objavili članek, ki opisuje lipidno specifičnost proteina ekvinatoksina v primerjavi s proteinom lizeninom (Rieko et al. (2012) [COBISS.SI-ID 5025562]).

iii) Določitev atomske strukture LLO

Očistili smo tudi znatne količine proteina listeriolizina O in nekatere njegove mutante (MACPF/CDC protein iz bakterije *Listeria monocytogenes*). Pridobljene proteine, predvsem divji tip in mutirano različico, ki ni aktivna pri višjem pH, smo poskusili kristalizirati. Za divji tip smo v nekaterih pogojih pridobili kristale in jim preliminarno opredelili lastnosti, vendar smo ugotovili, da niso primerni za nadaljnje delo. Kristalizacijske pogoje za divji tip in mutanto smo razširili na dodatne pogoje (različna sestava pufrov, različne temperature), vendar je v vmesnem času o kristalni zgradbi poročala skupina iz Nemčije.

Delo smo zato usmerili v nekatere od mutantov, ki kažejo spremenjeno aktivnost, saj bi na ta način podrobno opredelili molekularni mehanizem delovanja listeriolizina. S sodelavci na biofizikalnem inštitutu v Trentu (skupina Maura Dalla Serre) smo pripravili očiščene verzije mutantov listeriolizina O in jim opredelili funkcijske lastnosti (hemoliza in poskusi na planarnih lipidnih membranah). Opredelili smo mutante proteina na mestu 311, kjer je v listeriolizinu prisoten histidin, pri vseh ostalih homologih pa druge aminokisliline. Ker je listeriolizin od pH odvisen protein smo ta histidin zamenjali v druge aminokisliline in pokazali, da takšna zamenjava po vsej verjetnosti ne vpliva na pH specifičnost proteina, ampak generalno na njegovo stabilnost. Rezultate smo objavili letos (Podobnik et al., Scientific Reports, sprejeto v tisk). Dodatno so zanimivi poskusi na planarnih lipidnih membranah, kjer smo spreminjali sestavo lipidov. Ta poskus smo opravili samo z divjim tipom listeriolizina in pokazali, da je tvorba por močno odvisna od prisotnosti holesterola in drugih lipidov. Objavili smo tudi članek v katerem smo opisali nekatere lastnosti listeriolizina (npr. od pH odvisno agregacijo in funkcijske lastnosti, ki so pomembne za njegovo aktivnost) (Bavdek et al. (2012) [COBISS.SI-ID 4881690]).

Za raziskave delovanje MACPF/CDC proteinov je izjemno uporabna metoda planarnih lipidnih membrane, ki smo jo uporabili za analizo lastnosti por divjega tipa listeriolizina in nekaterih njegovih mutantov. S sodelavci iz Italije smo objavili pregledni članek o uporabi te metode pri raziskovanju delovanja od holesterola odvisnih citolizinov (Marchioretto et al. (2013) COBISS.SI-ID 5308186).

iv) Določitev strukturnih in funkcionalnih lastnosti por, ki jih povzročajo MACPF/CDC proteini

V bakulovirusnem sistemu za izražanje proteinov nam je uspelo pripraviti funkcionalen človeški in mišji perforin. To je izjemno zahteven protein in razvili smo sistem za izražanje rekombinantnega perforina v insektnih celicah. Uspelo nam je pridobiti mikrogramske količine aktivnega proteina in tudi nekatere neaktivne mutante, ki smo jih uporabili pri raziskovanju interakcij z membranami. Izvedli smo tudi nekaj funkcijskih študij, kjer smo raziskovali, kako se na protein vežejo nekateri dvovalentni ioni in kaj to pomeni za hemolitsko aktivnost. Z biofizikalnimi metodami površinske plazmonske resonance in termoforeze smo opredelili interakcije rekombinantnega mišjega in

nativnega človeškega perforina in določili KD za vezavo kalcijevih ionov. Le-ti so izjemno pomembni za interakcije z lipidnimi membranami, saj brez vezave ionov le-te ne potečejo. To delo je potekalo v okviru doktorske disertacije Omarja Naneha in je pripravljeno za objavo. Izražanje in čiščenje mišjega perforina in njegove funkcijske lastnosti smo opisali v znanstvenem članku, ki ga bomo v kratkem poslali v objavo.

Objavili smo dva pregledna članka v katerih smo opisali tvorbo transmembranskih por proteinov MACPF/CDC. Le-te se lahko tvorijo s t.i. loki, ki so nezaključene agregirane oblike proteinov na membranah, a so hkrati sposobne tvorbe pore (Gilbert et al. (2013) [COBISS.SI-ID 5056026] in Gilbert et al. [COBISS.SI-ID 5633526]). En od člankov je bil objavljen v najboljši znanstveni reviji s področje biokemije in molekularne biologije, Trends in Biochemical Sciences.

v) Opis večjih strukturnih sprememb membrane, ki jih povzročajo MACPF/CDC proteini

Za študij morfološki sprememb lipidnih membran po vezavi proteinov MACPF/CDC smo pripravili orjaške unilamelarne vezikle (ang. giant unilamellar vesicles) iz ostankov eritrocitnih membran. Modelnemu sistemu smo opredelili funkcijske lastnosti (prisotnost funkcionalnih proteinov, prisotnost lipidov, integriteta membran itn.). Objavili smo publikacijo, kjer opisujemo pripravo orjaških unilamelarnih veziklov iz eritrocitnih membran s pomočjo elektroporacije (Mikelj et al. (2013) COBISS.SI-ID 36978693). Orjaške unilamelarne vezikle smo uporabili tudi pri raziskovanju lastnosti por listeriolizina in neaktivne mutante. Pokazali smo, da LLO tvori pore, ne pa invaginacij kot npr. perforin. S fluorescenčnimi dekstrani smo opredelili kinetiko vžajanja molekul skozi pore in velikost pore. Delo bomo nadaljevali v okviru doktorske naloge Saše Rezelj in raziskali vpliv lipidov na lastnosti por.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Ocenjujemo, da smo v glavnem realizirali zastavljene cilje projekta. Pripravili smo nekatere od proteinov MACPF/CDC in opredelili nekatere njihove lastnosti. Predvsem smo podali pomemben vpogled v mehanizem interakcij z lipidnimi membranami in tvorbe pore za proteina perforin in listeriolizin. Opredelili smo tudi lastnosti glivnega proteina MACPF/CDC iz *A. niger* in nakazali njegovo biološko aktivnost.

Zastavljene vmesne cilje smo realizirali v celoti:

- očistili smo vse proteine, ki smo jih potrebovali za študije, vključno s perforinom, listeriolizinom in obemi komponentami MACPF/CDC proteina iz glive *A. niger*.
- pripravili smo poliklonska protitelesa proti OlyA in OlyB in tudi protitelesa proti proteinu A145 *A. niger* (manjša podenota proteina MACPF/CDC), ker ni bilo v načrtu projekta.
- opisali smo funkcijske lastnosti LLO in nekaterih mutantov na različnih lipidnih membranah.
- razvili smo fluorescenčno sondo na osnovi OlyA in raziskali njeno razporeditev v celicah.
- pripravili smo modelni sistem za raziskovanje učinkov proteinov MACPF/CDC (orjaški unilamelarni vezikli pripravljene iz eritrocitnih membran) in opredelili smo interakcije nekaterih MACPF/CDC proteinov z njimi (npr. listeriolizin).

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Program raziskovalnega projekta se ni spremenil. Bilo je nekaj manjših kadrovske sprememb pri skupinah, ki sodelujejo na projektu, ki pa na izvedbo niso vplivala.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

	Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	5633562	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Tvorba pore na meji interfazi med proteini in lipidi	

		ANG	Membrane pore formation at protein-lipid interfaces
Opis	SLO		V preglednem članku v eni od najbolj prestižnih biokemijskih revij smo objavili pregled delovanja nekaterih MACPF/CDC proteinov, s poudarkom na tvorbi por s t.i. loki. V zadnjem času se je izkazalo, da transmembranske pore lahko nastanejo tudi z nepopolnimi agregati proteinov MACPF/CDC, pa tudi drugih.
	ANG		We have described pore formation by MACPF/CDC proteins in one of the best biochemical journals. We discuss pore formation of MACPF/CDC proteins, and others, with an emphasis on formation of pores by arcs, which are unfinished rings formed at the surface of lipid membranes by pore-forming proteins.
Objavljeno v			Elsevier Trends Journals; TiBS; 2014; Vol. 39, issue 11; str. 510-516; Impact Factor: 13.522; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A'': 1; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Gilbert Robert J., Dalla Serra Mauro, Froelich Christopher J., Wallace Mark I., Anderluh Gregor
Tipologija			1.02 Pregledni znanstveni članek
2.	COBISS ID	5056026	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO		Efekti proteinov MACPF/CDC na lipidne membrane
	ANG		Effects of MACPF/CDC proteins on lipid membranes
Opis	SLO		V preglednem članku smo opisali, kako protieni MACPF/CDC vplivajo na lipidne membrane. Povzeli smo njihove lastnosti zgradbe in delovanja, s poudarkom na tvorbi transmembranskih por.
	ANG		Recent work on the MACPF/CDC superfamily of pore-forming proteins has focused on the structural analysis of monomers and pore-forming oligomeric complexes. We set the family of proteins in context and highlight aspects of their function which the direct and exclusive equation of oligomers with pores fails to explain. Starting with a description of the distribution of MACPF/CDC proteins across the domains of life, we proceed to show how their evolutionary relationships can be understood on the basis of their structural homology and re-evaluate models for pore formation by perforin, in particular. We furthermore highlight data showing the role of incomplete oligomeric rings (arcs) in pore formation and how this can explain small pores generated by oligomers of proteins belonging to the family. We set this in the context of cell biological and biophysical data on the proteins' function and discuss how this helps in the development of an understanding of how they act in processes such as apicomplexan parasites gliding through cells and exiting from cells.
Objavljeno v			Birkhäuser; Cellular and molecular life sciences; 2013; Vol. 70, issue 12; str. 2083-2098; Impact Factor: 5.856; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A': 1; WoS: CQ, DR; Avtorji / Authors: Gilbert Robert J., Mikelj Miha, Dalla Serra Mauro, Froelich Christopher J., Anderluh Gregor
Tipologija			1.02 Pregledni znanstveni članek
3.	COBISS ID	26868007	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO		Membranski holesterol, sfingomielin in ostreolizin A so nujno potrebni za tvorbo por povzročenih s pleurotolizinom B
	ANG		Membrane cholesterol and sphingomyelin, and ostreolysin A are obligatory for pore-formation by a MACPF/CDC-like pore-forming protein, pleurotolysin B
			Iz gobe <i>Pleurotus ostreatus</i> smo izolirali nativna bikomponentna proteinska tvorca por ostreolizin A (OlyA) in pleurotolizin B (PlyB) ter pripravili njune

	Opis	SLO	rekombinantne različice, da smo preučili njuno vezavo na lipide in mehanizem tvorbe transmembranskih por v naravnih in umetnih lipidnih membranah. Pokazali smo, da se OlyA selektivno veže na membrane s povečano vsebnostjo holesterola in sfingomielina, vendar jih sam ne permeabilizira. DeltaPlyB, z delecijo na Nkoncu in z domeno kompleksa komplementa/perforina (MACPF), je spontano oligomeriziral v raztopini in se le šibko in nespecifično vezal na lipide in sam ni permeabiliziral membran. Opredelili smo strukturne lastnosti por. Na osnovi strukturnih in funkcionalnih lastnosti so te pore zelo podobne tistim, ki jih tvorijo MACPF proteini in od holesterolaodvisni bakterijski citolizini.
		ANG	From the fungus <i>Pleurotus ostreatus</i> , we isolated native bicomponent pore forming proteins, ostreolysin (OlyA) and pleurotolysin B (PlyB), and produced their recombinant variants, to study their lipidbinding characteristics and mechanism of poreformation in natural and artificial lipid membranes. We showed that OlyA binds selectively to membranes rich in cholesterol and sphingomyelin, but it does not permeabilize them. The recombinant, Nterminally truncated deltaPlyB with the membrane attack complexperforin (MACPF) domain, spontaneously oligomerized in solution, and bound weakly and unspecifically to lipid membranes but was not able to perforate them on its own. However, binding of deltaPlyB to the cholesterol and sphingomyelinenriched membranes, and consequently, their permeabilization was dramatically promoted in the presence of OlyA. On these membranes, deltaPlyB and OlyA formed predominantly 13meric oligomers, with outer 19.7 nm and 4.9 nm inner diameter, as imaged with electron microscopy. These oligomers representing transmembrane pores could dimerize and thus promoted aggregation of vesicles. We found that OlyA is obligatory for the deltaPlyB binding to membranes rich in cholesterol and sphingomyelin and their permeabilization. Based on the structural and functional characteristics of deltaPlyB/OlyA pores, it was shown that they are similar to MACPF proteins and bacterial cholesteroldependent cytolysins (CDC).
	Objavljeno v	Masson & cie; Biochimie; 2013; Vol. 95, iss. 10; str. 1855-1864; Impact Factor: 3.123;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Ota Katja, Leonardi Adrijana, Mikelj Miha, Skočaj Matej, Wohlschlager Therese, Künzler Markus, Aebi Markus, Narat Mojca, Križaj Igor, Anderluh Gregor, Sepčič Kristina, Maček Peter	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	5025562	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Subcelična lokalizacija sfingomielina na osnovi uporabe dveh sond, ki temeljita na toksinih, ki tvorijo pore
		ANG	Subcellular localization of sphingomyelin revealed by two toxin-based probes in mammalian cells
	Opis	SLO	Sfingomielin je pogost lipid celičnih membran. Znotrajcelična razporeditev sfingomielina ostaja nepojasnjena. Tukaj smo za označevanje sfingomielina uporabili dve različni sond, temelječi na proteinih: ekvinatoksin iz morske vetrnice in lizenin iz deževnika. Pokazali smo, da ima plazemska membrana sfingomielin v različnih domenah: takšne, ki se obarvajo samo z lizeninom, z ekvinatoksinom ali takšne, ki jih obarvata obe sondi. Uporaba dveh različnih sond bo omogočila dodaten vpogled v različne procese v celicah, kjer je vključen sfingomielin.
		ANG	Sphingomyelin is an abundant lipid of cell membranes. The subcellular distribution of sphingomyelin remains unexplained. Here we examined staining of sphingomyelin in plasma membranes by two different probes, equinatoxin, a protein from sea anemones, and lysenin, a protein from earthworm. We show that plasma membrane has heterogeneous sphingomyelin pools: a pool stained by only lysenin, by EqtII, and one that

		is stained by both toxins. The use of the two sphingomyelin-binding probes will provide additional insights into various sphingomyelin- mediated processes in cells.
	Objavljeno v	Blackwell Science; Genes to cells; 2012; vol. 17, iss. 8; str. 720-727; Avtorji / Authors: Yachi Rieko, Uchida Yasunori, Balakrishna Bhat Hema, Anderluh Gregor, Kobayashi Toshihide, Taguchi Tomohiko, Arai Hiroyuki
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	4881690 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> pH odvisnost agregacije in tovrbe por listeriolizina O
		<i>ANG</i> pH dependence of listeriolysin O aggregation and pore-forming ability
	Opis	<i>SLO</i> Listeriolizin O je pomemben virulenčni dejavnik, vpletena v pobeg bakterije <i>Listeria monocytogenes</i> iz fagolizosoma. pH odvisno delovanje še ni popolnoma razjasnjeno in tukaj smo raziskali funkcijske in strukturne lastnosti listeriolizina O. Pokazali smo hitro agregira pri temperaturah nad 30 stopinj in pri nevtralnem pH. Agregati imajo biofizikalne lastnosti amiloida. Predlagamo, da LLO spontano agregira pri nevtralnem pH in da je to lahko glavni mehanizem njegove inaktivacije.
		<i>ANG</i> Listeriolysin O is the major factor implicated in the escape of <i>Listeria monocytogenes</i> from the phagolysosome. It is not understood entirely how pH specific mechanism of action is achieved by this protein. Here we studied functional and structural properties of this protein and showed that it rapidly aggregates at temperatures above 30 degrees and at neutral pH. The aggregates had the biophysical properties of amyloid. We therefore suggest that LLO spontaneously aggregates at the neutral pH found in the host cell cytosol and that this is a major mechanism of LLO inactivation.
	Objavljeno v	Blackwell; FEBS journal; 2012; Vol. 279, iss. 1; str. 126-141; Impact Factor: 4.250; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Bavdek Andrej, Kostanjšek Rok, Antonini Valeria, Lakey Jeremy H., Dalla Serra Mauro, Gilbert Robert J., Anderluh Gregor
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<i>SLO</i> Domača nagrada za raziskovalno delo
		<i>ANG</i> A domestic awards for achievements in science
	Opis	<i>SLO</i> Preglova nagrada Kemijskega inštituta za vrhunske dosežke
		<i>ANG</i> Pregl prize of the National Institute of Chemistry for extraordinary achievements
	Šifra	E.01 Domače nagrade
	Objavljeno v	http://www.ki.si/novice/single-prikaz/novice/novica/kemijski-institut-danes-otvoril-preglov-raziskovalni-center-in-podelil-preglovo-nagrado-za-izjemne/
	Tipologija	3.25 Druga izvedena dela
2.	COBISS ID	5288730 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Delo z gensko spremenjenimi organizmih [!] in varnost pri delu
		<i>ANG</i> Work with genetically modified organisms

	Opis	SLO	Dijake nove generacije raziskovalcev ved o življenju in poletnega raziskovalnega tabora smo pripravili na delo z gensko spremenjenimi organizmi v obliki dveh izobraževanj in ustreznih učnih gradiv.
		ANG	A new generation of researchers, students of life sciences and college pupils, were prepared to work with genetically modified organisms in two courses and by using relevant teaching materials.
	Šifra	D.08 Upravljanje in razvoj raziskovalnega dela	
	Objavljeno v	Ministrstvo za izobraževanje, znanost in šport; 2013; 17 str.; Avtorji / Authors: Kraševac Nada, Husić Muharem	
	Tipologija	2.05 Drugo učno gradivo	
3.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Član uredniškega odbora znanstvene revije
		ANG	Member of editorial board of scientific journal
	Opis	SLO	Gregor Anderluh je član uredniškega odbora znanstvene revije Analytical Biochemistry (ISSN: 0003-2697). Med člani uredniškega odbora je edini Slovenec, v njem je samo nekaj evropskih članov. Analytical Biochemistry je vodilna revija na področju analitske kemije (JCR uvrstitev 9/68) in biokemijske metodologije (18/56). Je tudi v zgornji polovici revij s področja biokemije in molekulske biologije (106/262). Trenutni faktor vpliva (2012) je 2.305. Letno izide 22 števil.
		ANG	Gregor Anderluh is a member of the editorial board of the scientific journal Analytical Biochemistry (ISSN: 0003-2697). He is the only Slovenian and one of the few European researchers in the editorial board. Analytical Biochemistry is one of the leading journals in the fields of analytical chemistry (JCR ranking 9/68) and biochemical methodology (18/56). It is also in the top half of the journals in the fields of biochemistry and molecular biology (106/262). The current (2012) impact factor of the journal is 2.305. Twenty two numbers are issued annually.
	Šifra	C.06 Članstvo v uredniškem odboru	
	Objavljeno v	http://www.journals.elsevier.com/analytical-biochemistry-methods-in-the-biological-sciences/	
Tipologija	4.00 Sekundarno avtorstvo		
4.	COBISS ID	5537050	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Poletna delavnica Genetika
		ANG	Summer workshop Genetics
	Opis	SLO	Organizirali smo poletno delavnico s področja genetike, molekularne biologije in biokemije. Delavnica je bila organizirana z namenom približati te biološke discipline širši javnosti, predvsem pa jih na zabaven način prikazati otrokom.
		ANG	We have organised a summer workshop from the fields of genetics, molecular biology and biochemistry. We organised the workshop in order to promote these biological disciplines to wider public. In particular we wished to bring them closer to children.
	Šifra	D.10 Pedagoško delo	
	Objavljeno v	Kemijski inštitut; 2014; II, 25 str.; Avtorji / Authors: Bedina Zavec Apolonija, Kraševac Nada, Lenarčič Jelka, Mohorič Luka, Košir Nika, Tkalec Kristijan, Zabret Blaž, Rojko Nejc, Juvan Neža, Cajnko Miša Mojca, Jamnik Maja, Tomšič Tea, Dečko Urška, Anderluh Gregor	
Tipologija	2.05 Drugo učno gradivo		

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^Z

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine^S

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Projekt je bil usmerjen v raziskovanje temeljnih biomedicinskih procesov in pomembnih molekul: vlogo proteinov pri modeliranju celičnih membran, 3D zgradbo membranskih proteinov in novo skupino MACPF proteinov, ki specifično reagira z membranskimi nanodomenami (»lipidnimi rafti«). Spremembe strukture celičnih membran posredovane s proteini so ključne za mnoge celične procese, kot npr. fuzija ali fizija membran ali preoblikovanje oblike celičnih veziklov. Vsem dosedanjim modelom spreminjanja oblike membran je skupno, da se integriteta membrane med procesom ne spreminja. V projektu smo raziskali tvorbo por nekaterih medicinsko pomembnih proteinov in opredelili njihove funkcijske lastnosti. Pomembno smo prispevali k razumevanju interakcij med proteini in membranami. Opisali smo tudi novo skupino bikomponentnih MACPF/CDC proteinov, ki tvorijo pore in opredelitev njihovih lastnosti je bila potrebna v luči njihove aktivnosti in neznane biološke vloge. Še posebej zanimiva je nizkomolekularna komponenta, saj smo zanjo pokazali, da se specifično veže na lipidne rafte in pokazali, da je uporabna kot molekularno orodje v celični biologiji. Od njihovega odkritja so lipidni rafti izjemno zanimivi za znanstveno skupnost in nujno potreben je razvoj fluorescenčnih sond na osnovi OlyA za označevanje posameznih molekul ali skupkov molekul v raftih. Izsledki projekta so pomembni tudi zato, ker smo dodatno osvetlili razumevanje funkcije medicinsko pomembnih proteinov MACPF/CDC superdružine. Pripravili smo aktiven mišji perforin in opredelili njegove interakcije z lipidnimi membranami. Uspešna priprava funkcionalnega perforina in nekaterih novih modelnih sistemov, ki smo jih razvili v okviru projekta, bodo dali zagon novim raziskavam na celicah in eksperimentalnih živalih, ki bodo dokončno razjasnili ta za imunski sistem pomemben proces. Tudi razumevanje mehanizma patogenosti bakterije *L. monocytogenes* je medicinsko zelo pomembno, uspelo pa nam je opredeliti lastnosti transmembranskih por listeriolizina, ki so bile do zdaj slabo poznane.

ANG

The project focused on research of basic biomedical processes and important molecules: role of proteins in remodelling of cellular membranes, 3D structure of some pore-forming proteins and new group of MACPF proteins that specifically associate with membrane nanodomains ("lipid rafts"). Cellular membranes remodelling by proteins is essential in membrane-membrane interactions such as fusion and fission or single membrane reshaping. It is in common to know models of membrane remodelling studied so far that all mostly consider membrane integrity constant. We have described pore formation by some of the medically important proteins and characterise their functional properties. We contributed to understanding of interactions of proteins with lipid membranes. We have also described a novel group of bi-component MACPF/CDC proteins, which form pores and characterisation of their properties is important for understanding of their, yet unknown, biological activity. The low-molecular weight component is particularly interesting. We have shown that it binds to lipid rafts and that it can be used in cell-biology applications. Since their discovery lipid rafts attracted an enormous interest in scientific community. In this respect, development of fluorescent probes specific for particular components or clusters of molecules found in lipid rafts is necessity. The outcomes of the project are important also because they enable better understanding of medically important MACPF/CDC proteins. We have prepared an expression system for mouse perforin and define its interactions with lipid membranes. Successful preparation of mouse perforin and some of the model lipid systems that were prepared during the project will open doors to further experimentation, on cells and experimental animals, which will finally resolve this mechanism so important for the immune system. Also the understanding of pathogenicity of *L. monocytogenes* is medically extremely important. We succeeded in describing properties of pores formed by listeriolysin O.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Aplikativne vrednosti projekta za Republiko Slovenijo so naslednje: promocija znanosti in znanstvenih odkritij na področju proteinskih interakcij z lipidnimi membranami, trening in izobraževanje mlajših raziskovalcev za uporabo modernih tehnologij in metod, razvoj novih raziskovalnih orodij v lipidni biokemiji in celicni biologiji itn. Nadaljnji razvoj modernih biofizikalnih metod, kot sta npr. površinska plazmonska resonanca in termoforeza, skupaj z razvojem nekaterih modelnih lipidnih sistemov, bo omogočil, da bo slovenska znanost bolj kompetitivna. Ker so pristopi sorazmerno novi, pričakujemo, da ga bodo v svoje delo vključile tudi nove raziskovalne skupine v Sloveniji in tujini. Skupina glavnega raziskovalca ima vedno več izkušenj s tem pristopom in postaja ena od vodilnih skupin za merjenje interakcij molekul v regiji. Ta projekt bo omogočil nadaljnji razvoj metodologije in s tem razširil možnosti eksperimentiranja s to metodo.

ANG

The applicative value of the proposed study for Republic of Slovenia is multiple: promotion of science and scientific discoveries in the field of protein-membrane interactions, training of young researchers, development of new technologies and methods, development of new research tools in lipid biochemistry, etc. The further development of modern biophysical approaches, such as surface plasmon resonance and thermophoresis, together with development of some of the model lipid systems, will render Slovenian science more competitive. The approaches are relatively new to science and not many groups explore it fully. The group of principal investigator is becoming very experienced in protein-lipid interaction studies by these approaches. This project will enable to develop the expertise even further by designing novel assays and thus extending capabilities of this interesting and useful method.

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

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

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<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/varovanju 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	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<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="text"/>	<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="text"/>	<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"/>	
	Tehnološko prestrukturiranje					

G.03.02.	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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

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

13. Izjemni dosežek v letu 2014¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

V najbolj pomembni pregledni reviji s področja biokemije, Trends in biochemical Sciences, smo objavili pregledni članek v katerem opisujemo različne načine in raznolikost mehanizmov s katerimi proteini lahko tvorijo pore v bioloških membranah. Pore lahko nastanejo z vgradnjo t.i. obročev (ang. "rings"), kar je veljalo v znanstveni literaturi dolgo časa kot edini močni način nastanka por. Kasneje se je izkazalo, da pore lahko nastanejo tudi z nepopolnimi obroči, t.i. loki (ang. "arcs"). Ta oblika je zanimiva, saj poro tvori protein in lipidi iz membrane. Članek je revija izbrala za naslovno temo novembrske številke.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Organizirali smo poletno delavnico s področja genetike, molekularne biologije in biokemije. Delavnica je bila organizirana z namenom približati te biološke discipline širši javnosti, predvsem pa jih na zabaven način prikazati otrokom. Delavnica je potekala konec avgusta v Laboratoriju za molekularno biologijo in nanobiotehnologijo.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Gregor Anderluh

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

16.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/244

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

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

⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

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

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

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

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). 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 / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2015 v1.00a

8A-60-04-76-C7-5D-76-F5-6C-E0-8B-E1-78-9B-20-A5-50-CB-27-CF

Priloga 1

Trends in Biochemical Sciences

An official publication of the INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY



Donut shaped
membrane pores

CellPress

GILBERT, Robert J., DALLA SERRA, Mauro, FROELICH, Christopher J., WALLACE, Mark I., ANDERLUH, Gregor. Membrane pore formation at protein-lipid interfaces. *TiBS*, ISSN 0968-0004. [Regular ed.], Nov. 2014, vol. 39, issue 11, str. 510-516, ilustr. [http://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/pdf/S0968-0004\(14\)00165-0.pdf](http://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/pdf/S0968-0004(14)00165-0.pdf), doi: 10.1016/j.tibs.2014.09.002. [COBISS.SI-ID 5633562]