

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/231



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-4195
Naslov projekta	USTVARJANJE LINIJE MULTIPOTENTNIH / PLURIPOTENTNIH MATIČNIH CELIC IZ ODRASLEGA HUMANEGA TKIVA JAJČNIKA IN MOD: PERSPEKTIVA ZA REPRODUKTIVNO IN REGENERATIVNO MEDICINO.
Vodja projekta	6087 Irma Virant Klun
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	8430
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	312 Univerzitetni klinični center Ljubljana
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	302 ONKOLOŠKI INŠTITUT LJUBLJANA 311 Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino 481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.05 Reprodukcijska človeka
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V okviru tega raziskovalnega projekta smo dokazali, da v odraslem tkivu jajčnika prevladujeta dva tipa matičnih celic:

- 1.) mezenhimske matične celice, ki izražajo številne označevalce multipotentnih matičnih celic,
- 2.) majhne matične celice s premerom do 4 mikrometre, ki izražajo nekatere označevalce pluripotentnih matičnih celic.

Mezenhimske matične celice smo uspešno vzgojili po encimski razgradnji biopsatov skorje odraslega jajčnika in po osamitvi iz aspiratov folikularne tekočine v programu zunajtelesne oploditve. Male matične celice, ki so izražale označevalce pluripotentnih matičnih celic pa smo na podlagi izraženega označevalca SSEA-4, značilnega za pluripotentne matične celice, osamili z dvema različnima metodama: magnetno-aktivirajočim (MACS) in fluorescenčno-aktivirajočim (FACS) celičnim sortiranjem iz populacije celic, pridobljenih s postrganjem površinskega epitelija jajčnika pri ženskah v reprodukcijskem obdobju, pomenopavznih ženskah in ženskah s prezgodnjo menopavzo. Ugotovili smo, da te matične celice predstavljajo relativno majhen delež vseh celic, a smo jih lahko namnožili in gojili v laboratoriju več mesecev. Tako mezenhimske matične celice kot male matične celice, ki so izražale nekatere označevalce pluripotentnih matičnih celic smo dokazali s številnimi metodami, vključno z imunocitokemijo in molekularno genetsko analizo. Mezenhimske matične celice so izražale specifičen vzorec multipotentnosti, ki se je razlikoval od mezenhimskih matičnih celic iz kostnega mozga. Z vsemi metodami smo dokazali izražanje označevalcev multipotentnosti oziroma pluripotentnosti, z izjemo tvorbe teratomov po transplantaciji v miške z zavrtim imunskim sistemom. Male matične celice iz odraslih jajčnikov smo prvič namočili do te mere, da smo lahko določili vzorec izražanja genov z mikromrežami in najbolj zanimive gene validirali z metodo RT-PCR. Ugotovili smo, da so izražale nekatere označevalce, značilne za primordialne zarodne celice in številne označevalce, značilne za pluripotentnost in germinalno linijo. Zanimivo je, da smo zelo podobni populaciji matičnih celic z enako metodologijo osamili tudi iz tkiva mod brez spermijev, zamrznjenega v programu zunajtelesne oploditve. Tako mezenhimske matične celice kot male matične celice z izražanjem nekaterih označevalcev pluripotentnosti smo uspešno diferencirali v somatske celice vseh treh kličnih linij (endoderma, mezoderma in ektoderma) z ustreznimi diferenciacijskimi protokoli.

ANG

In the frame of this research project we confirmed two populations of stem cells which predominate in the adult human ovaries:

- 1.) mesenchymal stem cells that express several markers of multipotent stem cells,
- 2.) small stem cells with diameters of up to 4 micrometers, which express several markers of pluripotent stem cells.

Mesenchymal stem cells were successfully cultured after enzymatic degradation of cortex biopsies from adult human ovaries and after isolation from aspirated follicular fluid in the in vitro fertilization program. Small stem cells that expressed some markers of pluripotency were selected from the population of cells scraped from the ovarian surface epithelium of reproductive-age women, postmenopausal women and women with premature ovarian failure by two different methods based on the expression of marker of pluripotency SSEA-4: magnetic-activated cell sorting (MACS) and fluorescence-activated (FACS) cell sorting. It has been found that these stem cells represented a relatively small proportion of all cells but we were able to proliferate and culture them in the lab for more months. Both, mesenchymal stem cells and small stem cells expressing some markers of pluripotency were confirmed by several methods including immunocytochemistry and molecular genetic analysis. Mesenchymal stem cells expressed a specific pattern of multipotency, different than mesenchymal stem cells from the bone marrow. The expression of markers of multipotency or pluripotency has been confirmed by all methods, except the formation of teratoma after transplantation into immunodeficient mice. Small stem cells from the ovaries have been for the first time proliferated to the extent to analyze them on gene expression profile by microarrays and to validate the most interesting genes by RT-PCR. We found that they expressed some genes specific for primordial germ cells, and several genes related to pluripotency and

germinal lineage. It is interesting, that similar populations of stem cells were isolated from frozen-thawed testicular tissue without sperm from the in vitro fertilization program by the same methodology. Both, mesenchymal stem cells and small stem cells expressing a degree of pluripotency were successfully differentiated in vitro into cells of all three germ layers (endoderm, mesoderm and ectoderm) by appropriate differentiation protocols.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Program raziskovalnega projekta je bil dobro in korektno realiziran. Ključna hipoteza je bila, da so v odraslih reproduktivnih tkivih človeka prisotne matične celice, ki jih je možno osamiti, namnožiti v laboratoriju in jih v pogojih in vitro diferencirati v druge tipe celic z ustreznimi protokoli diferenciacije. Hipotezo smo v celoti potrdili, saj smo uspešno:

- osamili matične celice iz tkiva odraslih jajčnikov (MACS in FACS),
- osamili matične celice iz tkiva odraslih mod brez spermijev (FACS),
- namnožili in gojili matične celice iz jajčnikov in mod v laboratoriju več mesecev, pri čemer smo ugotovili ustrezne pogoje gojenja (gojišče, podlaga),
- dokazali matične celice iz odraslih jajčnikov in mod oziroma njihovo izražanje označevalcev multipotentnosti in pluripotentnosti s številnimi različnimi metodami:
 - imunocitokemijo,
 - aktivnostjo alkalne fosfataze (AF),
 - pretočno citometrijo,
 - molekularno genetsko analizo: mikromreže in RT-PCR; vključili smo tudi analizo na posamičnih celicah oziroma skupkih celic,
 - analizo proteinov z metodo Western blot,
 - elektronsko in drugo mikroskopijo,
 - transplantacijo v miške z zavrtim imunskim sistemom (teratomi se niso tvorili).
- matične celice iz jajčnikov in mod smo v laboratoriju diferencirali v druge tipe celic vseh treh ključnih linij, to je:
 - adipogene celice (mezoderm),
 - osteogene celice (mezoderm),
 - pankreasnim-podobne celice (endoderm),
 - neuralnim-podobne celice (ektoderm).

Prav tako smo matične celice uspešno razvili v jajčnim podobne celice v pogojih in vitro ob prisotnosti darovane folikularne tekočine (iz programa zunajtelesne oploditve), ki vsebuje številne substance, pomembne za rast in dozorevanje jajčne celice. Diferencirane celice smo dokazovali imunocitokemično in genetsko z izražanjem ustreznih označevalcev.

Ugotovili smo, da lahko z enako metodologijo tako iz tkiva odraslih jajčnikov kot tkiva odraslih mod brez spermijev osamimo dve različni populaciji matičnih celic: mezenhimske matične celice, ki izražajo specifičen vzorec multipotentnosti, ki se razlikuje od mezenhimskih matičnih celic iz kostnega mozga in majhne matične celice s premerom do 4 mikrometre, ki izražajo specifičen vzorec pluripotentnosti. Oba tipa matičnih celic sta pokazala dobro plastičnost in sposobnost diferenciacije v druge tipe celic vseh treh ključnih linij v pogojih in vitro. Pri svojem delu smo sodelovali s strokovnjaki iz drugih dežel, pri čemer so bile genetske analize matičnih celic opravljene v Nemčiji (Univerza v Heidelbergu, Miltenyi). Glavni zaključek našega dela je, da sta populaciji matičnih celic iz odraslih reproduktivnih organov zelo zanimivi tako za reproduktivno medicino (regeneracija reproduktivnih organov) kot tudi za regenerativno medicino (zdravljenje degenerativnih bolezni), kar kliče k nadaljevanju raziskave.

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

Ocenjujemo, da smo raziskovalno hipotezo tega raziskovalnega projekta potrdili in dobro realizirali delo. Delo je bilo učinkovito in pridobljeni rezultati relevantni in zanimivi, saj so bili objavljeni v:

- 8 eksperimentalnih člankih, objavljenih v SCI revijah,
- 2 preglednih člankih, objavljenih v SCI revijah,
- 2 poglavjih v mednarodnih monografijah na temo matičnih celic.

Na osnovi prepoznavnosti smo prišli do:

- 2 vabljenih gostujočih uredništev - dveh posebnih izdaj revij s faktorjem vpliva na temo matičnih celic v reproduktivnih tkivih,

V okviru raziskovalnega projekta je bilo tudi na osnovi rezultatov:

- zaključeno eno doktorsko delo (Medicinska fakulteta),
- zaključeno eno diplomsko delo (Biotehniška fakulteta).

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

Ni bilo sprememb programa raziskovalnega projekta, prišlo pa je do sprememb članov projektne skupine. V okviru raziskovalnega projekta se je ena oseba upokojila (Prof. Tomaž Tomaževič) in ena oseba je na žalost preminila zaradi težke bolezni (Prim. Jasna Šinkovec). Obe osebi sta bili nadomeščeni z drugimi raziskovalci iz inštitucije oziroma raziskovalne skupine, ki je prijavila projekt.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	1847163	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Osamitev domnevnih mezenhimijskih matičnih celic iz jajčnika odraslega človeka
		ANG	Putative mesenchymal stem cells isolated from adult human ovaries
	Opis	SLO	NAMEN: Namen te raziskave je bil pokazati, da so zdravi jajčniki odraslega človeka lahko vir celic, ki kažejo značilne lastnosti mezenhimijskih matičnih celic (MMC) v razmerah in vitro. Metode in rezultati: Celice, ki so bile osamljene iz skorje jajčnika in poimenovane domnevne mezenhimijske matične celice iz jajčnika (MMC iz jajčnika) so bile primerjane z MMC osamljenimi iz kostnega mozga in s fibroblasti osamljenimi iz kože odraslega človeka. Primerjava teh celic na ravni mRNA za 84 genov (z uporabo RT ² Profiler™ PCR mrež) je pokazala, da se MMC iz jajčnika razlikujejo od ostalih dveh tipov primerjanih celic. MMC iz jajčnika so izražale enake gene kot MMC iz kostnega mozga, čeprav pa so bili nekateri geni statistično značilno različno izraženi. Pokazala se je tudi raznolikost med vzorci MMC iz jajčnika. MMC iz jajčnika so izražale gene značilne za MMC, kot so CD105, CD44, CD90, MCAM, CD73 in VCAM1. Z uporabo imunocitokemije je bilo dodatno potrjeno tudi izražanje označevalcev CD44, CD90, MCAM in STRO1. MMC iz jajčnika so kazale multipotentne lastnosti, saj so bile sposobne diferenciacije v adipocitom, osteocitom, nevroblastom in v celicam trebušne slinavke podobne celice. Zaključki: Jajčniki zdravega odraslega človeka so lahko zanimiv vir celic, ki kažejo značilne lastnosti MMC v razmerah in vitro, zato smo te celice poimenovali domnevne mezenhimijske matične celice iz jajčnika. Te celice izražajo gene, ki kodirajo pglavne označevalce MMC in imajo zanimiv diferencijski potencial. Na podlagi teh rezultatov predlagamo MMC iz jajčnika kot nov tip MMC, ki ima nekaj skupnih lastnosti z MMC iz kostnega mozga. Kljub temu kažejo različne in specifične lastnosti in niso fibroblasti.

		<p>from ovarian cortex tissue and named putative ovarian mesenchymal stem cells (PO-MSCs), were compared to bone marrow-derived MSCs (BM-MSCs) and to adult human dermal fibroblasts (HDFs). The results of a gene expression analysis using the Human Mesenchymal Stem Cell RT% Profiler% PCR Array revealed that PO-MSCs were different than fibroblasts. They expressed most of the analyzed genes as BM-MSCs, although some genes were differentially expressed. However, the heterogeneity of PO-MSCs samples was revealed. The PO-MSCs expressed the characteristic genes related to MSCs, such as CD105, CD44, CD90, M-CAM, CD73 and VCAM1. In addition, the expression of markers CD44, CD90, M-CAM and STRO-1 was confirmed in PO-MSCs using immunocytochemistry. The PO-MSCs showed multipotent character, since they were able to differentiate into the cells of adipogenic, osteogenic, neural and pancreatic lineage. CONCLUSIONS: Healthy adult human ovaries can harbour an interesting population of cells showing typical MSCs characteristics under in vitro conditions and for this reason we named these cells putative MSCs. These cells express genes encoding main MSCs markers and have an interesting differential potential. Based on these results, we propose PO-MSCs as a novel type of MSCs which share some similarities with BM-MSCs. Nevertheless they show distinct and specific characteristics and are not fibroblasts.</p>
	Objavljeno v	Plenum Press; Journal of assisted reproduction and genetics; 2014; Vol. 31, no. 8; str. 959-974; Impact Factor: 1.772; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.993; WoS: KM, SD, WF; Avtorji / Authors: Štimpfel Martin, Cerkovnik Petra, Novaković Srdjan, Maver Aleš, Virant-Klun Irma
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	30679001 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Osamitev, določitev in diferenciacija celic, ki izražajo označevalce pluripotentnosti/multipotentnosti, iz jajčnika odraslega človeka</p> <p><i>ANG</i> Isolation, characterization and differentiation of cells expressing pluripotent/multipotent markers from adult human ovaries</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Še vedno je splošno sprejeto, da se pluripotentne matične celice ne nahajajo v jajčnikih odraslega človeka, čeprav vedno večje število raziskav potrjuje obstoj pluripotentnih oziroma multipotentnih matičnih celic v jajčnikih sesalcev, vključno s človekom. Cilj te raziskave je bil iz jajčnika odraslega človeka osamiti pluripotentne oziroma multipotentne matične celice, jih določiti in diferencirati v razmerah in vitro. Po encimski razgradnji majhnih koščkov biopsij skorje jajčnika, pridobljenih od 18 žensk, smo uspešno vzpostavili celično kulturo pri 17 ženskah in opazili nastanek skupkov celic. Z različnimi metodami smo dokazali celice oziroma skupke celic, ki so izražali nekatere označevalce pluripotentnosti (alkalna fosfataza, SSEA4, OCT4, SOX2, NANOG, LIN28, STELLA), germinalne linije (VASA) in multipotentnosti (MCAM/CD146, Thy1CD90, STRO1). Te celice, vključno z majhnimi celicami s premerom do 4 µm in pozitivnimi za SSEA4, so kazale visoko stopnjo plastičnosti. V razmerah in vitro smo jih lahko diferencirali v različne somatske celice vseh treh zarodnih plasti. Čeprav pa te celice niso tvorile teratomov po presaditvi v miši SCID. Naši rezultati kažejo, da je tkivo jajčnika potencialni vir pluripotentnih/multipotentnih matičnih celic, ki bi bile varne za uporabo v regenerativni medicini.</p> <p>Pluripotent stem cells are still generally accepted not to exist in adult human ovaries, although increasing studies confirm the presence of pluripotent/multipotent stem cells in adult mammalian ovaries, including those of humans. The aim of this study is to isolate, characterize and differentiate in vitro stem cells that originate from the adult human ovarian cortex and that express markers of pluripotency/multipotency. After</p>

		enzymatic degradation of small ovarian cortex biopsies retrieved from 18 women, ovarian cell cultures were successfully established from 17 and the formation of cell colonies was observed. The presence of cells/colonies expressing some markers of pluripotency (alkaline phosphatase, surface antigen SSEA-4, OCT4, SOX-2, NANOG, LIN28, STELLA), germinal lineage (DDX4/VASA) and multipotency (M-CAM/CD146, Thy-1/CD90, STRO-1) was confirmed by various methods. Stem cells from the cultures, including small round SSEA-4-positive cells with diameters of up to 4 µm, showed a relatively high degree of plasticity. We were able to differentiate them in vitro into various types of somatic cells of all three germ layers. However, these cells did not form teratoma when injected into immunodeficient mice. Our results thus show that ovarian tissue is a potential source of stem cells with a pluripotent/multipotent character for safe application in regenerative medicine.
	Objavljeno v	Springer New York; Springer; Cell and tissue research; 2013; Vol. 354, no. 2; str. 593-607; Impact Factor: 3.333; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.89; WoS: DR; Avtorji / Authors: Štimpfel Martin, Skutella Thomas, Cvjetičanin Branko, Meznarič Marija, Dovč Peter, Novaković Srdjan, Cerkovnik Petra, Vrtačnik-Bokal Eda, Virant-Klun Irma
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	888492 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Osamitev majhnih domnevnih matičnih celic pozitivnih za SSEA-4 iz površinskega epitelija odraslih jajčnikov človeka z dvema različnima metodama</p> <p><i>ANG</i> Isolation of Small SSEA-4-Positive Putative Stem Cells from the Ovarian Surface Epithelium of Adult Human Ovaries by Two Different Methods</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Površinski epitelij odraslih jajčnikov je v literaturi že bil predlagan kot izvor matičnih celic, zato je bil poimenovan "germinalni" epitelij. Pred kratkim je več študij potrdilo prisotnost matičnih celic, ki izražajo označevalce pluripotentnih matičnih celic v odraslih jajčnikih sesalcev, vključno s človekom. Namen te študije je bil iz površinskega epitelija odraslih jajčnikov človeka osamiti populacijo matičnih celic na osnovi izražanja označevalca SSEA-4 (stage-specific embryonic antigen-4), povezanega s pluripotentnostjo, z dvema različnima metodama: magnetno-aktivirajočim in fluorescenčno-aktivirajočim celičnim sortiranjem. Obe metodi sta omogočili osamitev zelo podobne, relativno homogene populacije majhnih celic s premerom do 4 mikrometre, ki so izražale SSEA-4, iz suspenzije celic, pridobljene s postrganjem biopsata skorje jajčnika žensk v reproduktivnem obdobju, pomenopavznih žensk in žensk s prezgodnjim prenehanjem delovanja jajčnikov. Imunocitokemične in genetske analize so pokazale, da so te male domnevne matične celice izražale nekatere označevalce primordijalnih zarodnih celic in pluripotentnosti in bi lahko bile povezane z razvojem jajčnim podobnih celic in vitro, ki so izražale nekatere transkripcijske faktorje, značilne za jajčne celice ob prisotnosti darovane folikularne tekočine, ki vsebuje substance, pomembne za rast in razvoj jajčne celice. Matičnost teh celic mora biti dalje raziskovana.</p> <p><i>ANG</i> The adult ovarian surface epithelium has already been proposed as a source of stem cells and germinal cells in the literature, therefore it has been termed the germinal epithelium. At present more studies have confirmed the presence of stem cells expressing markers of pluripotency in adult mammalian ovaries, including humans. The aim of this study was to isolate a population of stem cells, based on the expression of pluripotency-related stage-specific embryonic antigen-4 (SSEA-4) from adult human ovarian surface epithelium by two different methods: magnetic-activated cell sorting and fluorescence-activated cell sorting. Both methods made it possible to isolate a similar, relatively homogenous population of small,</p>

		SSEA-4-positive cells with diameters of up to 4 micrometers from the suspension of cells retrieved by brushing of the ovarian cortex biopsies in reproductive-age and postmenopausal women and in women with premature ovarian failure. The immunocytochemistry and genetic analyses revealed that these small cells, putative stem cells, expressed some primordial germ cell and pluripotency-related markers and might be related to the in vitro development of oocyte-like cells expressing some oocyte-specific transcription factors in the presence of donated follicular fluid with substances important for oocyte growth and development. The stemness of these cells needs to be further researched.
	Objavljeno v	Hindawi Pub. Co.; BioMed research international; 2013; Vol. 2013; 15 str.; Impact Factor: 2.706; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.947; WoS: DB, QA; Avtorji / Authors: Virant-Klun Irma, Skutella Thomas, Hren Matjaž, Gruden Kristina, Cvjetičanin Branko, Vogler Andrej, Šinkovec Jasna
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	29674201 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Potencialne matične celice v zamrznjenem in odmrznjenem tkivu mod brez spermijev pri neplodnih moških, vključenih v program zunajtelesne oploditve</p> <p><i>ANG</i> Potential stemness of frozen-thawed testicular biopsies without sperm in infertile men included into the in vitro fertilization programme</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Opisujemo prisotnost potencialnih matičnih celic v majhnih koščkih zamrznjenega in odmrznjenega tkiva mod brez spermijev, pridobljenih z biopsijo mod pri šestih neplodnih pacientih, vključenih v program zdravljenja neplodnosti. Pri pacientih je bil ugotovljen sindrom Sertolijevih celic samostojno ali v povezavi z zastojem dozorevanja spolnih celic. Da bi ohranili naravno nišo matičnih celic, smo vse celice pridobljene z encimsko razgradnjo tkiva mod gojili skupaj in tudi v različnih gojiščih. Z različnimi metodami smo pokazali na obstoj mezenhimskih matičnih celic in embrionalnim matičnim celicam podobnih celic v vzpostavljenih celičnih kulturah. V teh celičnih kulturah smo ugotovili razvoj celičnih skupkov, za katere je analiza z metodo PCR v realnem času z analizo multivariance pokazala, da izražajo gene značilne za pluripotentne matične celice. Ob prisotnosti folikularne tekočine, pripravljene na enak način kot serum, so potencialne matične celice osamljene iz moda kazale določeno raven plastičnosti, saj so spontano diferencirale v adiopocitom in nevroblastom podobne celice. Z uporabo diferenciacijskih protokolov so se matične celice osamljene iz moda diferencirale v nevroblastom in celicam trebušne slinavke podobne celice. Ta raziskava kaže, da bi lahko bilo tkivo mod brez spermijev pridobljeno v programu zdravljenja neplodnosti, pomemben vir matičnih celic, čeprav se ga v klinični praksi običajno zavrže; potrebne so nadaljnje raziskave.</p> <p><i>ANG</i> We describe the potential stemness of a small amount of frozen-thawed testicular tissue without sperm obtained by biopsy from six patients undergoing assisted reproductive treatment. The patients were diagnosed with Sertoli Cell-Only Syndrome alone or combined with maturation arrest. Trying to provide the natural stem cell niche for cultured stem cells, all isolated cells from enzymatically degraded biopsies were cultured together in different culture media and the presence of putative mesenchymal and putative pluripotent ES-like stem cells was indicated using different methods. High throughput real-time quantitative PCR followed by multivariate analysis revealed the formation of distinct cell clusters reflecting high degree of similarity and some of these cell clusters expressed the genes characteristic for pluripotent stem cells. In the presence of the follicular fluid, prepared as serum, putative testicular stem</p>

		cells showed a certain degree of plasticity, and spontaneously differentiated into adipose-like and neuronal-like cells. Additionally, using differentiation protocols putative testicular stem cells were differentiated into neuronal- and pancreatic-like cells. This study shows that in assisted reproduction programmes, testicular tissue with no sperm might be an important source of stem cells, although it is discarded in daily medical practice; this requires further research.
	Objavljeno v	Däär al-Našr al-Ilikträunäi; Journal of Biomedicine and Biotechnology; 2012; Vol. 2012; str. [1-15], art. ID 291038; Impact Factor: 2.880; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.864; WoS: DB, QA; Avtorji / Authors: Štimpfel Martin, Skutella Thomas, Kubista Mikael, Maličev Elvira, Conrad Sabine, Virant-Klun Irma
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	1727099 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Izražanje označevalcev povezanih z mezenhimskimi matičnimi celicami in plastičnost aspiriranih foliklovih celic pridobljenih pri neplodnih ženskah</p> <p><i>ANG</i> Expression of mesenchymal stem cells-related genes and plasticity of aspirated follicular cells obtained from infertile women</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Po odvzetju jajčnih celic za postopek oploditve z biomedicinsko pomočjo, se aspirate foliklov jajčnika, ki so bogati s somatskimi foliklovimi celicami, v dnevni klinični praksi zavrže. Čeprav nekateri dokazi kažejo, da se med aspiriranimi foliklovimi (AF) celicami nahajajo manj diferencirane celice z lastnostmi matičnih celic. Cilj te raziskave je bil v razmerah in vitro gojiti AF celice in analizirati njihov vzorec genskega izražanja. Z uporabo RT2 Profiler PCR mrež, smo preučili vzorec izražanja 84 genov, ki so povezani s pluripotentnostjo, mezenhimskimi matičnimi celicami (MMC) in diferenciacijo. AF celice pridobljene iz foliklovih aspiratov pacient vključenih v program asistirane reprodukcije in obogatene s hipoosmotskim šokom, se je primerjalo z MMC iz kostnega mozga in s fibroblasti. V AF celicah je bilo zaznано izražanje 57 genov: 16 genov (OCT4, CD49f, CD106, CD146, CD45, CD54, IL10, IL1B, TNF, VEGF, VWF, HDAC1, MITF, RUNX2, PPARG, in PCAF) je bilo bolj izraženih in 20 genov (FGF2, CASP3, CD105, CD13, CD340, CD73, CD90, KDR, PDGFRB, BDNF, COL1A1, IL6, MMP2, NES, NUDT6, BMP6, SMURF2, BMP4, GDF5, in JAG1) je bilo manj izraženih v AF celicah v primerjavi z MMC iz kostnega mozga. Geni izraženi v AF celicah so bili v večini v povezavi z MMC in v povezavi z delovanjem jajčnika in so se razlikovali od genov izraženih v fibroblastih. V razmerah in vitro gojenih celičnih kulturah AF celic so prevladovale celice granulose, bile pa so uspešno diferencirane v adipocitrom, osteocitom in pankreasnim celicam podobne celice. Povišano izražanje nekaterih genov specifičnih za MMC in diferenciacija v razmerah in vitro nakazuje na prisotnost suppopulacije AF celic s specifičnimi lastnostmi matičnih celic, ki pa so različne od lastnosti MMC iz kostnega mozga in od fibroblastov.</p> <p><i>ANG</i> After removal of oocytes for in vitro fertilization, follicular aspirates which are rich in somatic follicular cells are discarded in daily medical practice. However, there is some evidence that less differentiated cells with stem cell characteristics are present among aspirated follicular cells (AFCs). The aim of this study was to culture AFCs in vitro and to analyze their gene expression profile. Using the RT2 Profiler PCR array, we investigated the expression profile of 84 genes related to stemness, mesenchymal stem cells (MCSs), and cell differentiation in AFCs enriched by hypoosmotic protocol from follicular aspirates of infertile women involved in assisted reproduction programme in comparison with bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) and fibroblasts. Altogether the expression of 57 genes was detected in AFCs: 16 genes (OCT4, CD49f, CD106, CD146, CD45, CD54, IL10, IL1B, TNF, VEGF, VWF, HDAC1, MITF,</p>

		RUNX2, PPARG, and PCAF) were upregulated and 20 genes (FGF2, CASP3, CD105, CD13, CD340, CD73, CD90, KDR, PDGFRB, BDNF, COL1A1, IL6, MMP2, NES, NUDT6, BMP6, SMURF2, BMP4, GDF5, and JAG1) were downregulated in AFCs when compared with BM-MSCs. The genes which were upregulated in AFCs were mostly related to MSCs and connected with ovarian function, and differed from those in fibroblasts. The cultured AFCs with predominating granulosa cells were successfully in vitro differentiated into adipogenic-, osteogenic-, and pancreatic-like cells. The upregulation of some MSC-specific genes and in vitro differentiation into other types of cells indicated a subpopulation of AFCs with specific stemness, which was not similar to those of BM-MSCs or fibroblasts.
Objavljeno v		Hindawi Pub. Co.; BioMed research international; 2014; Vol. 2014; Impact Factor: 2.706; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.947; WoS: DB, QA; Avtorji / Authors: Džafić Edo, Štimpfel Martin, Novaković Srdjan, Cerkovnik Petra, Virant-Klun Irma
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	277605376 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Osamitev, določitev in diferenciacija matičnih celic iz jajčnika in moda odraslega človeka <i>ANG</i> Isolation, characterization, and differentiation of stem cells from adult human ovaries and testicles
	Opis	<i>SLO</i> Zaključeno doktorsko delo, ki je potekalo v okviru tega raziskovalnega projekta. <i>ANG</i> Finished Ph. D. Thesis which has been performed in the frame of this research project.
	Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom
	Objavljeno v	[M. Štimpfel]; 2015; VIII, 90 f.; Avtorji / Authors: Štimpfel Martin
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija
2.	COBISS ID	1483436 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Matične celice odraslega jajčnika <i>ANG</i> Adult ovary stem cells
	Opis	<i>SLO</i> Poglavje v mednarodni monografiji na temo matičnih celic <i>ANG</i> Chapter in an international monography on the subject of stem cells
	Šifra	B.06 Drugo
	Objavljeno v	Humana Press; Adult stem cells; 2014; Str. 239-264; Avtorji / Authors: Virant-Klun Irma, Štimpfel Martin, Skutella Thomas
	Tipologija	1.17 Samostojni strokovni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji
3.	COBISS ID	1163180 Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<i>SLO</i> VIRANT-KLUN, Irma (gostujoči urednik). Stem cells in reproductive tissues : from the basics to clinics, (BioMed research international, vol. 2013, (2013)). New York: Hindawi Pub. Co., 2013. <i>ANG</i> VIRANT-KLUN, Irma (gostujoči urednik). Stem cells in reproductive tissues : from the basics to clinics, (BioMed research international, vol.

		2013, (2013)). New York: Hindawi Pub. Co., 2013.
Opis	SLO	Vabljeni gostujoča urednica posebne izdaje na temo matičnih celic v reproduktivnih tkivih
	ANG	Invited Guest Editor of special issue on the subject of stem cells in reproductive tissues
Šifra	C.03	Vabljeni urednik revije (guest-associated editor)
Objavljeno v	BioMed research international, vol. 2013, (2013)). New York: Hindawi Pub. Co., 2013	
Tipologija	4.00 Sekundarno avtorstvo	
4.	COBISS ID	928684 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Matične celice mejno malignega ovarijskega karcinoma
	ANG	Borderline ovarian cancer stem cells
Opis	SLO	Izbrana oralna predstavitev rezultatov na temo matičnih celic jajčnika na letnem srečanju Evropskega združenja za humano reprodukcijo in embriologijo (ESHRE, London, 2013)
	ANG	Selected oral presentation on the subject of ovarian stem cells, Annual Meeting of European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE, London, 2013)
Šifra	B.03	Referat na mednarodni znanstveni konferenci
Objavljeno v	Oxford University Press; Abstracts of the 29th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and embryology, London, United Kingdom, 7-10 July, 2013; Human reproduction; 2013; Vol. 28, suppl. 1; str. i52; Impact Factor: 4.585; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.993; WoS: SD, WF; Avtorji / Authors: Virant-Klun Irma, Štimpfel Martin, Cvjetičanin Branko, Vrtačnik-Bokal Eda, Skutella Thomas	
Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeni predavanje)	
5.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Vodenje Laboratorija za zunajtelesno oploditev
	ANG	Leadership of the in Vitro Fertilization Lab
Opis	SLO	Vpeljana nova znanja o celičnih kulturah na osnovi evropskih direktiv o celicah in tkivih humanega izvora
	ANG	Introduced new knowledge on cell cultures based on European Human Cell and Tissue Directives
Šifra	D.07	Vodenje centra/laboratorija
Objavljeno v	Novost v standardnih operativnih postopkih (SOP) laboratorija	
Tipologija	2.12 Končno poročilo o rezultatih raziskav	

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

1.01 Izvirni znanstveni članek:

-VIRANT-KLUN, Irma, SKUTELLA, Thomas, KUBISTA, Mikael, VÖGLER, Andrej, ŠINKOVEC, Jasna, MEDEN-VRTOVEC, Helena. Expression of Pluripotency and Oocyte-Related Genes in Single Putative Stem Cells from Human Adult Ovarian Surface Epithelium Cultured In Vitro in the Presence of Follicular Fluid. BioMed research international, ISSN 2314-6141, 2013, vol. 2013, 18 str., ilustr. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/861460/>, doi: 10.1155/2013/861460. [COBISS.SI-ID 889004]

-VIRANT-KLUN, Irma, ŠTIMPFEL, Martin, CVJETIČANIN, Branko, VRTAČNIK-BOKAL, Eda, SKUTELLA, Thomas. Small SSEA-4-positive cells from human ovarian cell cultures : related to embryonic stem cells and germinal lineage?. Journal of ovarian research, ISSN 1757-2215. [Online ed.], 2013, vol. 6, iss. 24, 19 str. <http://www.ovarianresearch.com/content/pdf/1757-2215-6-24.pdf>, doi: 10.1186/1757-2215-6-24. [COBISS.SI-ID 887980]

1.02 Pregledni znanstveni članek:

-VIRANT-KLUN, Irma, KRIJGSVELD, Jeroen. Proteomes of animal oocytes : what can we learn for human oocytes in the In Vitro Fertilization Programme?. BioMed research international, ISSN 2314-6141, 2014, vol. 2014, ilustr. [COBISS.SI-ID 1735084]

-DŽAFIĆ, Edo, ŠTIMPFEL, Martin, VIRANT-KLUN, Irma. Plasticity of granulosa cells : on the crossroad of stemness and transdifferentiation potential. Journal of assisted reproduction and genetics, ISSN 1058-0468, Oct. 2013, vol. 30, iss. 10, str. 1255-1261, ilustr. [COBISS.SI-ID 1162924]

-VIRANT-KLUN, Irma, ŠTIMPFEL, Martin, SKUTELLA, Thomas. Stem cells in adult human ovaries : from female fertility to ovarian cancer. Current pharmaceutical design, ISSN 1381-6128, 2012, vol. 18, iss. 3, str. 283-292, ilustr. [COBISS.SI-ID 890028]

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Večina raziskovalnega dela v okviru tega raziskovalnega projekta je bilo pionirskega v mednarodnem merilu. Naše delo je pokazalo, da je možno iz odraslih reproduktivnih tkiv, tako jajčnikov kot mod, z enako metodologijo osamiti dve različni populaciji matičnih celic: mezenhimske matične celice, ki izražajo specifičen vzorec multipotentnosti in predvsem - populacijo malih matičnih celic s premerom do 4 mikrometre, ki zraža določno stopnjo pluripotentnosti. Te matične celice je možno namnožiti in gojiti v laboratoriju več mesecev. Z ustreznimi diferenciacijskimi protokoli jih je možno diferencirati v druge tipe celic vseh treh kličnih linij (endoderma, mezoderma in ektoderma), zato se kažejo kot zelo zanimive tako za reproduktivno medicino za regeneracijo reproduktivnih organov kot za regenerativno medicino za zdravljenje degenerativnih bolezni. Rezultati našega dela, objavljeni v mednarodni znanstveni literaturi so velika vzpodbuda za druge raziskovalce k tovrstnim raziskavam, ki lahko vodijo tako k novim odgovorom na področju bazične znanosti kot tudi klinični uporabi v bodočnosti. Še vedno namreč prevladuje splošno mnenje, da v odraslem jajčniku človeka ni matičnih celic in da je število foliklov oziroma jajčnih celic ob rojstvu dokončno.

ANG

The majority of research work in the frame of this research project was pioneering at the international level. Our work showed that two different populations of stem cells can be isolated from adult human reproductive tissues, ovaries and testicles, by the same methodology: mesenchymal stem cells, which express a specific pattern of multipotency and especially - a population of small stem cells with diameters of up to 4 micrometers, which express a degree of pluripotency. These stem cells can be proliferated and cultured in the lab for several months. It is possible to differentiate them into other types of cells of all three germ layers (endoderm, mesoderm, ectoderm) by appropriate differentiation protocols therefore these cells are very interesting for reproductive medicine to regenerate the reproductive organs and for regenerative medicine to treat the degenerative diseases. The results of our work published in the international scientific literature can encourage other researchers into this kind of research, which may answer some questions in the basic science and lead into the clinical application in the future. In general, it is still accepted that stem cells do not exist in adult human ovaries and that the number of follicles at the time of birth is finite.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Raziskovalni projekt je bil za Slovenijo izjemnega pomena, ker:

- je v Sloveniji drugače pomanjkanje raziskav na področju matičnih celic,
- je prinesel novo metodologijo in znanja na področju matičnih celic, ki bodo uporabna tudi v bodoče,
- je s številnimi objavami v mednarodni znanstveni literaturi povečal vpliv in prepoznavnost naše države v svetu,
- je povezal več slovenskih raziskovalnih skupin, ki bodo sodelovale tudi v bodoče,
- je omogočil nadaljnje mednarodno sodelovanje,
- vzgojil odlične mlade raziskovalce, ki bodo nadaljevali s tovrstnimi raziskavami.

ANG

The research project was extremely important for Slovenia because:

- there is otherwise a lack of stem cell research,
- it brought new methodology and knowledge on stem cells, which will be useful in the future,
- it increased the impact and reputation of our country due to our several publications in the scientific literature,
- it connected different Slovenian research groups, which will also collaborate in the future,
- it enabled the further international collaboration,
- excellent young researchers were educated who will continue with stem cell research in the future.

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/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	<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"/>	

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	<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

Naslov: Prve celične linije matičnih celic iz odraslega jajčnika človeka.

V laboratoriju smo prvič nasploh vzpostavili celične linije matičnih celic iz jajčnika človeka. Gre za dva tipa matičnih celic: mezenhimske matične celice, ki izražajo specifičen vzorec multipotentnosti in majhne matične celice s premerom do 4 mikrometre, ki izražajo določeno stopnjo pluripotentnosti. Matične celice je možno diferencirati v druge tipe celic vseh treh zarodnih plasti. Zanimive so tako za reproduktivno medicino za regeneracijo reproduktivnih organov kot za regenerativno medicino za zdravljenje degenerativnih bolezni. Celice so bile dokazane po vseh veljavnih kriterijih za določevanje matičnih celic.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

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:

Univerzitetni klinični center Ljubljana

Irma Virant Klun

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

16.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/231

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](#)

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
ED-62-A7-9D-1A-25-40-80-41-D3-9E-0D-69-74-9C-94-24-5C-D5-DF

Priloga 1

VEDA: 3. Medicina

Področje: 3.05 Reprodukcijska človeka

Dosežek 1: Prve celične linije matičnih celic iz odraslega jajčnika človeka.

Vir: Prof. Irma Virant-Klun. Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Cell Tissue Res. 2013 Nov;354(2):593-607. doi: 10.1007/s00441-013-1677-8. Epub 2013 Jul 3.

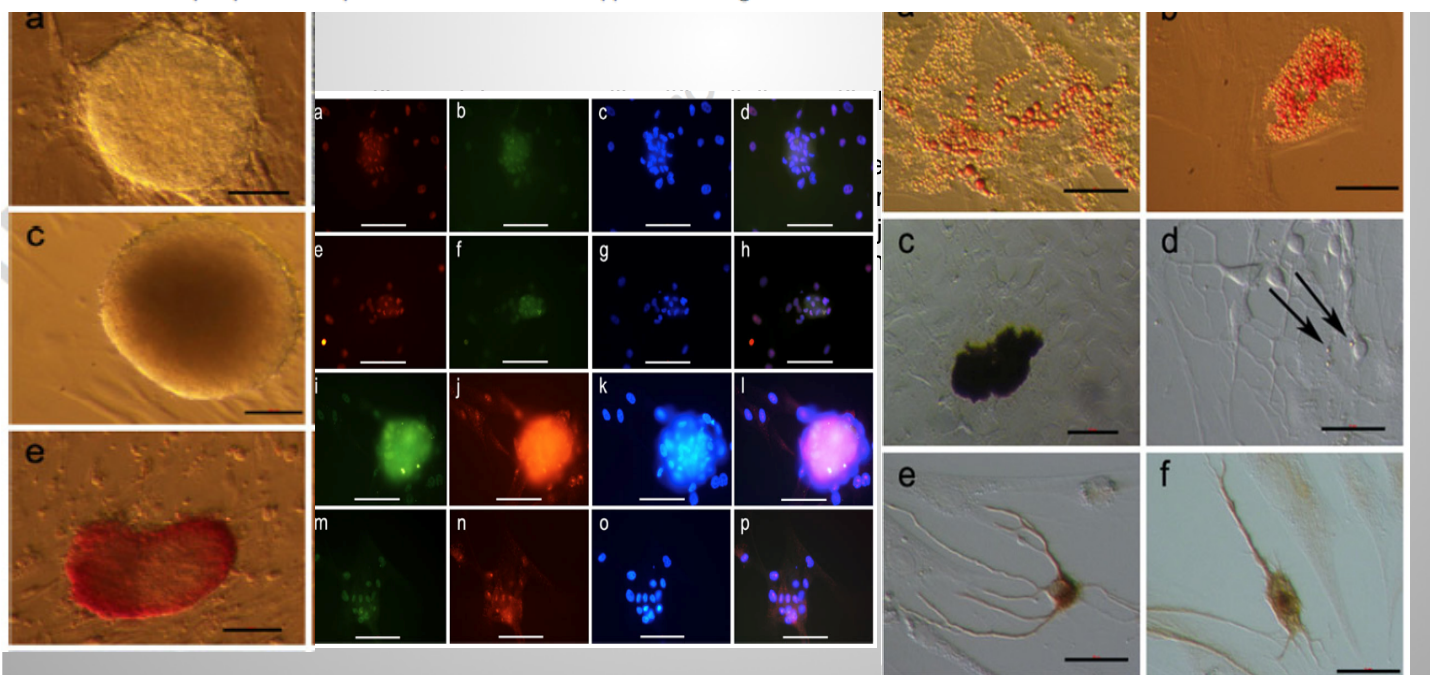
Isolation, characterization and differentiation of cells expressing pluripotent/multipotent markers from adult human ovaries.

Stimpfel M¹, Skutella T, Cvjeticanin B, Meznaric M, Dovc P, Novakovic S, Cerkovnik P, Vrtacnik-Bokal E, Virant-Klun I.

Author Information

Abstract

Pluripotent stem cells are still generally accepted not to exist in adult human ovaries, although increasing studies confirm the presence of pluripotent/multipotent stem cells in adult mammalian ovaries, including those of humans. The aim of this study is to isolate, characterize and differentiate in vitro stem cells that originate from the adult human ovarian cortex and that express markers of pluripotency/multipotency. After enzymatic degradation of small ovarian cortex biopsies retrieved from 18 women, ovarian cell cultures were successfully established from 17 and the formation of cell colonies was observed. The presence of cells/colonies expressing some markers of pluripotency (alkaline phosphatase, surface antigen SSEA-4, OCT4, SOX-2, NANOG, LIN28, STELLA), germinal lineage (DDX4/VASA) and multipotency (M-CAM/CD146, Thy-1/CD90, STRO-1) was confirmed by various methods. Stem cells from the cultures, including small round SSEA-4-positive cells with diameters of up to 4 μm , showed a relatively high degree of plasticity. We were able to differentiate them in vitro into various types of somatic cells of all three germ layers. However, these cells did not form teratoma when injected into immunodeficient mice. Our results thus show that ovarian tissue is a potential source of stem cells with a pluripotent/multipotent character for safe application in regenerative medicine.



V Laboratoriju za oploditev z biomedicinsko pomočjo smo prvič nasploh vzpostavili celične linije matičnih celic iz odraslega jajčnika človeka. Gre za dva tipa matičnih celic: mezenhimske matične celice, ki izražajo specifičen vzorec multipotentnosti in majhne matične celice s premerom do 4 mikrometre z določeno stopnjo pluripotentnosti. Matične celice je možno diferencirati v druge tipe celic vseh treh zarodnih plasti. Zanimive so tako za reproduktivno medicino za regeneracijo reproduktivnih organov kot za regenerativno medicino za zdravljenje degenerativnih bolezni. Celice so bile dokazane po vseh veljavnih kriterijih za določevanje matičnih celic.