

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/28

## ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

|  |   |
|--|---|
| <b>Šifra projekta</b>                          | J2-9764   |
| <b>Naslov projekta</b>                         | Elektrozlivanje celic v biologiji, biotehnologiji in medicini   |
| <b>Vodja projekta</b>                          | 10268 Damijan Miklavčič   |
| <b>Tip projekta</b>                            | J Temeljni projekt  |
| <b>Obseg raziskovalnih ur</b>                  | 4.725   |
| <b>Cenovni razred</b>                          | C   |
| <b>Trajanje projekta</b>                       | 01.2007 - 12.2009   |
| <b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>       | 1538 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko  |
| <b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b> |   |
| <b>Družbeno-ekonomski cilj</b>                 | 13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF) |

#### 2. Sofinancerji<sup>1</sup>

|    |        |  |
|----|--------|--|
| 1. | Naziv  |  |
|    | Naslov |  |
| 2. | Naziv  |  |
|    | Naslov |  |
| 3. | Naziv  |  |
|    | Naslov |  |

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta<sup>2</sup>

Z uporabo protokola najprej pulz in nato stik smo optimizirali parametre, ki vplivajo na zlivanje celic. Med temi so električni parametri in lastnosti medijev. Določili smo amplitudo, število in frekvenco dovajanja električnih pulzov, pri katerih dobimo optimalen izplen zlitih celic in hkrati dobro preživetje. Uporabili smo tudi električne pulze, ki smo jih dovajali v različnih smereh. Na ta način zagotovimo večji delež permeabilizirane in s tem tudi fuzogene

membrane. To poveča izplen fuzije celic. Optimalne parametre, ki smo jih pridobili z uporabo protokola najprej pulz in nato stik, smo nato uporabili pri metodah v okviru protokola najprej stik in nato pulz. Da bi zagotovili čim boljše primerjavo, smo najprej izpopolnili metodo detekcije zlitih celic. Primerjali smo metode faznega kontrasta, obarvanja citozola ter dvojnega obarvanja citozola v kombinaciji z barvanjem jeder ter kot najboljšo izbrali metodo dvojnega obarvanja citozola.

V okviru protokola najprej stik in nato pulz smo primerjali dve metodi. Pri prvi metodi stik med celicami zagotavljamo z dielektroforezo, pri drugi pa s spontanimi stiki, ki nastanejo med celicami pri usedanju na podlago. Ta metoda je nova in je izpeljana iz metode za zlivanje pritrjenih celic. Možno jopridobivanje hibridomov, ker je primerna tudi za suspenzijske tipe celic. Ta t.i. »metoda usedanja« izkorišča stike med celicami, ki se usedejo in rahlo pritrdijo na podlago, a so še okrogle. Z omenjenima metodama smo za več celičnih linij preverili vpliv različne amplitude električnih pulzov na izplen zlivanja, ki smo ga detektirali z dvojnimi obarvanjem. Ugotovili smo, da so vrednosti amplitude električnih pulzov, ki povzročijo največji izplen zlivanja celic, nekoliko večje od amplitud, ki so potrebni za uspešno permeabilizacijo. V primeru zlivanja celic različnih velikosti (kot je to v primeru pridobivanja hibridomov) smo optimalne parametre pulzov določili na osnovi narejenih krivulj permeabilizacije celic. Uporabili smo napetosti, s katerimi uspešno elektroporiramo manjše celice (limfocite B), in še ne permeabiliziramo ireverzibilno vseh mielomskih celic, ki so večje in zato dosežemo učinkovito permeabilizacijo že pri majših vrednostih električne amplitude pulzov. Ugotovili smo, da na uspešnost elektroporacije poleg velikosti vplivajo tudi biološke lastnosti celic. Le te so v našem primeru izničile vpliv razlike v velikosti na elektroporacijo mišjih in humanih celic NS1. Ugotovili pa smo veliko razliko med krivuljama elektroporacije mielomskih celic in krivuljo elektroporacije limfocitov B. Večja amplituda pulzov, potrebna za elektroporacijo limfocitov B, je v skladu z dejstvom, da so te celice bistveno manjše od obojih mielomskih celic.

Na zlivanje celic vplivajo tudi lastnosti medijev, zato smo proučili tudi vpliv osmolarnosti medijev. Zanimala nas je predvsem povezava med nabrekanjem celic, ki je odvisno od osmolarnosti medija, in izplenom zlivanja celic. Na povečanje volumna celic vpliva osmolarnost medija pred dovajanjem pulzov in tudi medija, v katerem se nahajajo celice po koncu pulzov. Določili smo potek nabrekanja različnih vrst celic v hipoozmolarnem mediju in iz rezultatov določili optimalen čas za dovajanje električnih pulzov, pri katerem vpliv nabrekanja celic na zlivanje uspešno izkoristimo. Potek nabrekanja in optimalen čas za dovajanje pulzov se za različne celice razlikujeta.

Na osnovi koncepta modularnega razvoja in izgradnje elektroporatoja smo izdelali nov generator bipolarnih oziroma sinusnih električnih pulzov do ponavljalne frekvence 3 MHz, ki omogoča dielektroforetsko tvorjenje verig celic v suspenziji. Take verige zagotavljajo stik med celicami, ki jih želimo zlivati. Načrtali in izdelali smo tudi nove elektrode (komoro) za zlivanje majhnih volumnov celic, ki omogoča dovajanje pulzov v različnih smereh. Preizkusili smo jo za zlivanje in gensko transfekcijo celic.

V sodelovanju z Laboratorijem za mikrosenzorske strukture in elektroniko na Fakulteti za elektrotehniko smo izdelali elektrode za dielektroforezo in druge vrste električnih manipulacij celic. Elektrode bodo namenjene pripravi in

ločevanju hibridomov. Preizkusili pa smo jih že za zagotavljanje stika med celicami in za ločevanje različno velikih celic.

V sodelovanju s Centrom za razvoj in proizvodnjo diagnostičnih reagentov na Zavodu RS za transfuzijsko medicino smo začeli s preizkušanjem metode zlivanja celic z električnimi pulzi za produkcijo monoklonskih protiteles.

Preučili smo permeabilizacijo posameznih vrst celic v električnem polju in uspeli pridobiti prve heterohibridomne celice iz humanih limfocitov in mišjih mielomskih celic.

V zadnjem letu smo nadaljevali z delom na področju pridobivanja hibridomnih celic za proizvodnjo monoklonskih protiteles. Za zlivanje humanih limfocitov B in mišjih mielomov NS1 smo uporabili več različnih naborov parametrov električnih pulzov. Obdelave z različnimi nabori parametrov električnih pulzov smo primerjali med seboj. Z zlivanjem limfocitov B z mišjimi mielomi NS1 smo pridobili humane mišje heterohibridome, ki jih s polietilen glikolom niso uspeli pripraviti. Izplen zlivanja je primerljiv izplenu zlivanja mišjih limfocitov B in mišjih mielomov, ki ga uspešno izvajajo v Centru za razvoj in proizvodnjo diagnostičnih reagentov s konvencionalno metodo zlivanja s pomočjo polietilen glikola.

#### 4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>

Dobili smo rezultate zlivanja celic z uporabo obeh obstoječih protokolov (najprej pulz in najprej stik). Izdelali smo nov generator bipolarnih oziroma sinusnih električnih pulzov, ki omogoča dielektroforetsko tvorjenje verig celic v suspenziji in s tem zlivanje celic po protokolu najprej stik in nato pulz. Za ta protokol smo tudi optimizirali parametre, ki vplivajo na zlivanje celic. Izplen zlivanja celic in njihovo preživetje pa lahko dodatno izboljšamo tudi z izbiro medija. V ta namen smo preizkusili tudi vpliv različnih medijev na proces zlivanja celic, predvsem njihove ozmolarnosti. Iz pridobljenih podatkov smo izluščili optimalne pogoje za zlivanje različnih celičnih linij v hipoozmolarnem mediju. Načrtali in izdelali smo tudi nove elektrode in komoro za zlivanje majhnih volumnov celic. Novo komoro smo zaščitili s patentom. Preizkusili smo jo za zlivanje celic in tudi za gensko transfekcijo celic. Primerjali smo protokola najprej pulz in nato stik ter najprej stik in nato pulz. Na podlagi rezultatov zaključujemo, da je od preizkušenih metod

(centrifugiranje, dielektroforeza in usedanje celic) najuspešnejša zadnja. Tudi na stik med celicami vpliva veliko dejavnikov. Poleg že omenjenega vpliva ozmolarnosti je za metodo usedanja pomemben še način rasti celic, ki jih zlivamo. Le ta vpliva na kakovost stika med celicami. Z metodo usedanja smo v sodelovanju s Centrom za razvoj in proizvodnjo diagnostičnih reagentov uspešno pripravili heterohibridome za proizvodnjo monoklonskih protiteles.

Delovni sklop 1 (optimizacijo parametrov za zlivanje celic) smo realizirali skozi vsa tri leta. Nalogo 1 (preučevanje in vpliv električnih parametrov na zlivanje celic) in Nalogo 2 (preučevanje vpliva lastnosti medijev) smo realizirali v prvem in drugem letu. Ker smo ugotovili, da se optimalni parametri za različne celice bistveno razlikujejo, smo v tretjem letu razširili raziskavo na več vrst celic. Preučili smo električne parametre in vpliv osmolarnosti medija na celice, ki smo jih uporabili za pridobivanje hibridomske celične linije za proizvodnjo monoklonskih protiteles. V zadnjem letu smo začeli z realizacijo Nalogo 3 (vpliv temperature in tubulinskega citoskeleta na izplen zlivanja). Začeli smo s poskusi obarvanja tubulinskega citoskeleta s fluorescentnim barvilom, ki nam bo omogočalo določitev vloge citoskeleta pri zlivanju.

V Delovnem sklopu 2 (načrtovanje in izdelava novih elektroporatorjev, elektrod in komor za zlivanje celic) smo realizirali Nalogo 1 (teoretični in numerični izračuni za dielektroforezo) in Nalogo 2 (razvoj uporabniškega grafičnega vmesnika). Delno smo realizirali Nalogo 3 (izdelavo novega prototipa elektroporatorja), Nalogo 4 (načrtovanje in izdelava novih elektrod in komor za zlivanje) pa v celoti.

V Delovnem sklopu 3 smo realizirali Nalogo 1 (primerjava metod zlivanja celic pri uporabi makroskopskih elektrod) in delno tudi Nalogo 2 (primerjava metod

pri uporabi mikrokomore).

## 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta<sup>4</sup>

Program je potekal po načrtu. Ni bilo sprememb.

## 6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

|    |              | Znanstveni rezultat   |
|----|--------------|---|
| 1. | Naslov       | SLO Primerjava zliivanja različnih vrst celic in prenos metode na zliivanje celic za pridobivanje heterohibridomov  |
|    |              | ANG The comparisson of fusion of different types of cells and transfer of this method on cells for hybridoma production   |
|    | Opis         | SLO V tem članku smo primerjali elektropermeabilizacijo in elektrozliivanje dveh celičnih linij. Rezultate smo detektirali s štejetjem jeder v celicah. Metodo, ki smo jo razvili za zliivanje modelnih celic, smo nato uporabili za zliivanje mišjih mielomov in človeških limfocitov B in uspeli pripraviti heterohibridome za proizvodnjo monoklonskih protiteles.   |
|    |              | ANG In this paper we compared electropermeabilization and electrofusion of two cell lines. Results were detected by counting nuclea in the cells. The method, developed for fusion of model cell lines were then used for fusion of mouse mieloma cells and human lymphocytes B. Heterohybridomas were prepared.  |
|    | Objavljeno v | TRONTELJ, Katja, REBERŠEK, Matej, KANDUŠER, Maša, ČURIN-ŠERBEC, Vladka, ŠPROHAR, Marjana, MIKLAVČIČ, Damijan. Optimization of bulk cell electrofusion in vitro for production of human-mouse heterohybridoma cells. Bioelectrochemistry. [Print ed.], Nov. 2008, vol. 74, no. 1, str. 124-129.  |
|    | Tipologija   | 1.01 Izvirni znanstveni članek  |
|    | COBISS.SI-ID | 6587988   |
| 2. | Naslov       | SLO Vpliv hipotoničnega pufru in elektroporacije na dinamiko nabrekanja in viabilnost celic na optimizacijo elektrofuzije   |
|    |              | ANG The influence of hypotonic buffer and electroporation on swelling dynamics and viability of cells on cell electrofusion optimization  |
|    | Opis         | SLO Ugotovili smo, da se različne celične linije razlikujejo po svoji občutljivosti na inkubacijo v hipotoničnih pogojih. Zato moramo dinamiko nabrekanja v hipotoničnem pufru določiti za vsako celično linijo posebej. Povečan volumen celic v hipotoničnem pufru, ki je zaradi elektroporacije dolgotrajnejši, lahko prispeva k izboljšanju učinkovitosti elektrofuzije. Viabilnost celic se po inkubaciji v hipotoničnem pufru ni zmanjšala. Pri izbiri parametrov elektroporacije v hipotoničnem pufru moramo upoštevati tudi povečanje celic.   |
|    |              | ANG It is known that hypotonic fusion buffer improves electrofusion efficiency. We determined that different cell lines differ in their tolerance for incubation in hipoosmolar conditions. Swelling dynamics must be therefore determined for every cell line. The duration of increased cell volume is prolonged by electroporation and can improve electrofusion efficiency. Viability of cells after incubation in hypotonic buffer was not affected. For determination of electroporation parameters for electroporation of cells in hypotonic buffer, swelling of the cells must be taken into account. |
|    | Objavljeno v | UŠAJ, Marčo, TRONTELJ, Katja, HUDEJ, Rosana, KANDUŠER, Maša, MIKLAVČIČ, Damijan. Cell size dynamics and viability of cells exposed to hypotonic treatment and electroporation for electrofusion optimization = [Vpliv hipotoničnega pufru in elektroporacije na dinamiko nabrekanja in viabilnost celic za optimizacijo elektrofuzije]. Radiol. oncol. (Ljubl.), 2009, vol. 43, no. 2, str. 108-119.  |
|    | Tipologija   | 1.01 Izvirni znanstveni članek  |

|    |              |         |
|----|--------------|---------|
|    | COBISS.SI-ID | 7142996 |
| 3. | Naslov       | SLO     |
|    |              | ANG     |
|    | Opis         | SLO     |
|    |              | ANG     |
|    | Objavljeno v |         |
|    | Tipologija   |         |
|    | COBISS.SI-ID |         |
| 4. | Naslov       | SLO     |
|    |              | ANG     |
|    | Opis         | SLO     |
|    |              | ANG     |
|    | Objavljeno v |         |
|    | Tipologija   |         |
|    | COBISS.SI-ID |         |
| 5. | Naslov       | SLO     |
|    |              | ANG     |
|    | Opis         | SLO     |
|    |              | ANG     |
|    | Objavljeno v |         |
|    | Tipologija   |         |
|    | COBISS.SI-ID |         |

## 7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

| Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat |              |      |  |
|--|--------------|------|--|
| 1.                                     | Naslov       | SLO  | Razvoj in izdelava koničaste komore z vgrajenimi elektrodami.  |
|  |              | ANG  | Development and production of electrode tip chamber  |
|  | Opis         | SLO  | V patentni prijavi smo zaščitili koničasto komoro z vgrajenimi elektrodami. Komora predstavlja pomemben napredek pri izvedbi postopka elektroporacije, elektrofuzije in elektrotransfekcije, saj omogoča permeabilizacijo celic v homogenem električnem polju, pri čemer je potrebne bistveno manj manipulacije celic.                     |
|  |              | ANG  | The developed and protected electrode tip chamber is an important improvement of the electroporation, electrofusion and electrotransfection processes, since it enables electroporation of cells in an uniform electric field with reduced number of cellmanipulations needed.   |
|  | Šifra        | F.33 | Patent v Sloveniji   |
|  | Objavljeno v |      | TRONTELJ, Katja, REBERŠEK, Matej, MIKLAVČIČ, Damijan. Koničasta komora z vgrajenimi elektrodami za elektroporacijo manjšega volumna, za elektrofuzijo in gensko transfekcijo : patent št. SI 22368, datum objave 30. 4. 2008 : številka prijave 200600250, datum prijave 25. 10. 2006. Ljubljana: Urad RS za intelektualno lastnino, 2008. |
|  | Tipologija   | 2.24 | Patent   |
| COBISS.SI-ID                           | 6613076      |      |  |
| 2.                                     | Naslov       | SLO  | Elektrozlivanje in preživetje celic mišjega melanoma (B16-F1) in ovarijskih celic kitajskega hrčka (CHO).  |
|  |              | ANG  | Electrofusion and survival of mouse melanoma (B16-F1) and chinese hamster ovary (CHO) cells  |
|  |              |      | Na omenjeni konferenci je bila prvič opisana modifikacija elektrozlivanja celic, ki se pritrdijo na podlago. Namesto konfluentne celične kulture uporabimo celice, ki so se le rahlo pritrdile podlage in pri tem ohranile   |

|              |  |   |
|--------------|--|---|
| Opis         | SLO  | sferično obliko. Opisana metoda za doseganje stika med celicami je bila predstavljena na dveh celičnih linijah. Rezultati so pokazali da sta delež zlitih celic in preživetje celic po elektroporaciji odvisna od uporabljene celične linije. Deleži zlitih celic, ki smo jih dosegli z novo metodo, so primerljivi z do sedaj objavljenimi raziskavami.  |
|              | ANG  | Modified adherence method was described for the first time. This method uses cells that was allowed to attach slightly to the surface and retain spherical shape instead of using the confluent cell culture. The described method for cell contact achievement was used on two cell lines. The results show that fusion yield and viability of cells after electroporation are cell line dependent. Yields of fused cells, obtained with the described method was comparable with results of other published researches. |
| Šifra        | B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci   |   |
| Objavljeno v | UŠAJ, Marko, KANDUŠER, Maša, TRONTELJ, Katja, MIKLAVČIČ, Damijan. Electrofusion and viability of mouse melanoma (B16-F1) and Chinese hamster ovary (CHO) cells. V: XXth International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, May 10-14, 2009, Sibiu, Romania. Abstracts. [S. l.: Bioelectrochemical Society], 2009, str. 153-154.                             |   |
| Tipologija   | 1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci  |   |
| COBISS.SI-ID | 7081812  |   |
| 3. Naslov    | SLO  | Testiestiranje komore z integriranimi elektrodami za elektroporacijo celic v suspenziji in ekspresijo GFP na CHO celicah.   |
|              | ANG  | Pipette tip with integrated electrodes for electroporation of cells in suspension tested for GFP expression in CHO cells.   |
| Opis         | SLO  | Komoro z integriranimi elektrodami, ki smo je razvili v našem laboratoriju smo testirali za elektroporacijo in elektrotransfekcijo celic CHO. V tem delu smo pokazali, da je komora z integriranimi elektrodami primerna za elektroporacijo celic v suspenziji in transfekcijo celic. Uporabili smo električne pulze v različnih smereh, ki so uspešnejši za elektroporacijo celic kot enosmerni.   |
|              | ANG  | Pipette tip with integrated electrodes, developed in in our laboratory, was tested for electroporation and electrotransfection of CHO cells. In this work we showed that pipette tip with integrated electrodes is suitable equipment for electroporation of cells in suspension and for transfection of cells. Electric pulses in different directions were used that were more succesful at electroporation of cells than pulses in one direction.  |
| Šifra        | B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci   |   |
| Objavljeno v | KANDUŠER, Maša, REBERŠEK, Matej, TRONTELJ, Katja, MIKLAVČIČ, Damijan. Pipette tip with integrated electrodes for electroporation of cells in suspension tested for GFP expression in CHO cells. V: XXth International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, May 10-14, 2009, Sibiu, Romania. Abstracts. [S. l.: Bioelectrochemical Society], 2009, str. 169. |   |
| Tipologija   | 1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci  |   |
| COBISS.SI-ID | 7081556  |   |
| 4. Naslov    | SLO  | Laboratorijska vaja na mednarodni podiplomski šoli  |
|              | ANG  | Laboratory excercise at international scientific workshop and postgraduate course   |
| Opis         | SLO  | Laboratorijska vaja je pripravljena tako, da udeleženci lahko sami izvedejo poskus elektrofuzije celic z metodo usedanja. Celice obarvane s fluorescentnima barviloma CMRA in CMFDA nasadijo na ploščico in jim dovolijo, da se usedejo in rahlo pritrdijo na podlago. Takrat celice izpostavijo hipoozmoloarnemu pufri in po ustreznem času dovedejo električne pulze. Rezultate ovrednotijo na fluorescentnem mikroskopu.   |
|              | ANG  | Laboratory excercise is designed so that it enables participants to do the experiment of electrofusion by means of modified adherence method. Cells, dyed with fluorescent dyes CMRA and CMFDA, are plated and allowed to adhere slightly to the surface of the plate. Cells are then exposed to hypooosmolar buffer and electroporated after appropriate time. The results are evaluated on a fluorescent microscope.  |
| Šifra        | F.18 Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)  |   |

|              |  |   |   |
|--------------|--|---|---|
|              | Objavljeno v   | TRONTELJ, Katja, UŠAJ, Marko. Cell electrofusion. V: KRAMAR, Peter (ur.), KANDUŠER, Maša (ur.). Workbook of the electroporation based technologies and treatments : international scientific workshop and postgraduate course, November 15-21, 2009, Ljubljana, Slovenia. 1. izd. Ljubljana: Založba FE in FRI, 2009, str. 33-35. |   |
|              | Tipologija   | 1.25 Drugi članki ali sestavki  |   |
|              | COBISS.SI-ID   | 7425108   |   |
| 5.           | Naslov   | SLO   | Vpliv hipotoničnega pufru in elektroporacije na dinamiko nabrekanja in viabilnost celic na optimizacijo elektrofuzije   |
|              |  | ANG   | The influence of hypotonic buffer and electroporation on swelling dynamics and viability of cells on cell electrofusion optimization  |
|              | Opis   | SLO   | Ugotovili smo, da se različne celične linije razlikujejo po svoji občutljivosti na inkubacijo v hipotoničnih pogojih. Zato moramo dinamiko nabrekanja v hipotoničnem pufru določiti za vsako celično linijo posebej. Povečan volumen celic v hipotoničnem pufru, ki je zaradi elektroporacije dolgotrajnejši, lahko prispeva k izboljšanju učinkovitosti elektrofuzije. Viabilnost celic se po inkubaciji v hipotoničnem pufru ni zmanjšala. Pri izbiri parametrov elektroporacije v hipotoničnem pufru moramo upoštevati tudi povečanje celic.   |
|              |  | ANG   | It is known that hypotonic fusion buffer improves electrofusion efficiency. We determined that different cell lines differ in their tolerance for incubation in hypoosmolar conditions. Swelling dynamics must be therefore determined for every cell line. The duration of increased cell volume is prolonged by electroporation and can improve electrofusion efficiency. Viability of cells after incubation in hypotonic buffer was not affected. For determination of electroporation parameters for electroporation of cells in hypotonic buffer, swelling of the cells must be taken into account. |
|              | Šifra  | B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci  |   |
| Objavljeno v | UŠAJ, Marko, TRONTELJ, Katja, KANDUŠER, Maša, MIKLAVČIČ, Damijan. The influence of hypoosmolar medium and electric field on cell volume. V: SERŠA, Gregor (ur.), KOS, Janko (ur.), LAH TURNŠEK, Tamara (ur.), KRANJIC, Simona (ur.), JEVNIKAR, Zala (ur.), OBERMAJER, Nataša (ur.). 5th Conference on Experimental and Translational Oncology, Kranjska gora, Slovenia, March, 26-30, 2008. Book of abstracts. Ljubljana: Association of Radiology and Oncology, 2008, str. 126. |   |   |
| Tipologija   | 1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci  |   |   |
| COBISS.SI-ID | 6436692  |   |   |

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>2</sup>

|   |
|---|
| <p>Poleg že objavljenih in zgoraj navedenih člankov so v okviru nastali še trije članki, ki so sprejeti v objavo.</p> <p>Prvi je pregledni članek, ki bo izšel v reviji Medicinski razgledi. V njem je zlivanje celic opisano v širšem kontekstu spontanega biološkega zlivanja v živih organizmih, prikazane so možne uporabe zlitih celic in njihovih produktov, opisane pa so tudi metode, ki jih uporabljamo za izvedbo elektrozlivanja.</p> <p>Drugi članek bo izšel v reviji Journal of Membrane Biology in predstavlja nadaljevanje raziskave, objavljene v Ušaj e tal., 2009, v kateri smo določili optimalno osmolarnost hipotoničnega medija ter čas inkubacije. S temi podatki smo v novem članku določili optimalne parametre električnega polja za elektrozlivanje v hipotoničnem mediju. Rezultati zlivanja dveh celičnih linij so pokazali, da je delež zlitih celic odvisen od uporabljene celične linije. Primerjava deleža zlitih celic v hipotoničnem in izotoničnem mediju je potrdila dejstvo, da je hipotonični medij bolj primeren za elektrozlivanje celic.</p> <p>Tretji članek je sprejet v objavo v Journal of Visualised Experiments. V njem smo opisali novo metodo za zlivanje celic z usedanjem, t.i. modificirano metodo pritrdjevanja. Pri tej metodi dosežemo stik med celicami na ta način, da jim dovolimo, da se rahlo pritrdijo na podlago, pri čemer pa še vedno ohranijo okroglo obliko. S to metodo dobimo dobre rezultate zlivanja, z njo smo tudi pripravili heterohibridome za proizvodnjo monoklonskih protiteles.</p> |
|---|



## 9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>9</sup>

SLO

Elektrozlivanje bioloških celic je uporabna, vendar zaenkrat slabo izkoriščena metoda. Zlivanje ima pomembno vlogo v proizvodnji monoklonskih protiteles, v imunoterapiji različnih bolezni za pripravo celičnih cepiv, v zadnjem času pa so pokazali, da je zlivanje tudi mehanizem, po katerem poteka regeneracija tkiv pri celični transplantaciji. Vse biološke celice so dovzetne za elektrozlivanje, vendar se med seboj še dokaj nepredvidljivo razlikujejo v električnih in ostalih parametrih, ki so potrebni za doseganje optimalnega izplena viabilnih zlitih celic.

V izvedenem projektu smo preučili parametre električnega polja, ozmolarnost in prevodnost fuzijskega medija za več različnih vrst celic. Poznavanje optimalnih parametrov za elektroporacijo posameznih celičnih vrst je še posebej pomembno za izbiro optimalnih parametrov, ko zlivamo različne vrste celic med seboj.

Poznavanje vrednosti parametrov, s katerimi bi pokrili čim več različnih celic, je pomembno tudi za razvoj opreme za zlivanje celic (elektroporator, elektrode in komore). Na tem področju smo naredili nekaj posameznih korakov, kot so razvoj in izdelava večjih specialnih elektrod, uporabniški grafični vmesnik v .NET okolju za krmiljenje novega prototipa elektroporatorja in nov generator bipolarnih oziroma sinusnih električnih pulzov, ki omogoča dielektroforetsko tvorjenje verig celic v suspenziji in s tem zlivanje celic po protokolu najprej stik in nato pulz. Tekom razvoja elektrofuzije so raziskovalci uporabljali mnoge različne tehnike za doseganje stika med celicami. Popolne metode, ki bi ustrezala vsem aplikacijam, še ni. V okviru projekta smo preizkusili različne obstoječe metode za doseganje stika med celicami. Z modifikacijo metode zlivanja pritrjenih celic smo razvili novo metodo za doseganje stika med celicami, t.i. modificirano metodo pritrjevanja. S to metodo smo pridobili heterohybridome med mišjimi NS1 celicami in humanimi limfociti B. To je pomembno, saj je pridobivanje človeških monoklonskih protiteles še vedno trd oreh za raziskovalce.

Proces elektrofuzije še ni pojasnjen na molekularnem nivoju. V okviru tega projekta smo začeli s poskusi opazovanja zlivanja celic na nivoju tubulinskega citoskeleta. Ti poskusi bodo omogočili razumevanje mehanizma zlivanja in identifikacijo parametrov, ki vanjo vplivajo, pa so zaenkrat še nepoznani.

ANG

Electrofusion of biological cells is an efficient and potentially very useful method, but a widespread recognition of its merits has not yet taken place. Cell fusion plays an important role in production of monoclonal antibodies and in immunotherapy of various diseases for preparation of cell vaccines. Lately it was shown that cell fusion is also a mechanism that mediates cell tissue regeneration at cell transplantation. All biological cells are prone to fusion, however, they differ still in electrical and other parameters needed for optimal cell fusion in still an unpredictable manner.

In this project we studied parameters of the electric field, osmolarity and conductivity of cell fusion medium for different cell types. It is important to know optimal parameters for electroporation of different cell types is especially important when different types of the cells are to be fused.

Knowing the values of the parameters that are optimal for as many as possible different cells is important also for the development of the equipment for electrofusion (electroporator, electrodes and chambers). In this field we developed some of the parts needed, such as graphical user interface in .NET environment that is used to control new prototype of electroporator and a new generator of bipolar electrical pulses or sinusoidal signals for dielectrophoretic pearl chain formation and thus fusion of cells in contact first protocol.

During the development of electrofusion researchers used many different techniques for cell contact achievement. Perfect method that would be suitable for different applications have not been developed yet. During this project we tested some of the described methods for cell contact achievement. By modification of method for fusion of plated cells we developed a new method for cell contact achievement, e.g. modified adherent method. Using this method we produced heterohybridomas between mouse myeloma cells and human lymphocytes B. This is an important achievement since production of human monoclonal antibodies is still problematic in comparison to animal monoclonal antibodies.

Process of electrofusion is also not explained on molecular level. During this project we started the experiments of studying cells on the level of tubulin cytoskeleton. These experiments will help to understand the mechanism of electrofusion and to identify the unknown parameters that influence electrofusion.

### 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

Z vsebino elektrozlivanja smo se vključili v mednarodno znanstveno delavnico in podiplomsko šolo (international scientific workshop and postgraduate course), ki ga je v letu 2009 že četrtoč zapovrstjo organiziral Laboratorij za biokibernetiko na Fakulteti za elektrotehniko Univerze v Ljubljani. S to vsebino smo obogatili program te šole, ki privablja vedno več udeležencev in študentov iz celega sveta.

TRONTELJ, Katja, UŠAJ, Marko. Cell electrofusion. V: KRAMAR, Peter (ur.), KANDUŠER, Maša (ur.). Workbook of the electroporation based technologies and treatments : international scientific workshop and postgraduate course, November 15-21, 2009, Ljubljana, Slovenia. 1. izd. Ljubljana: Založba FE in FRI, 2009, str. 33-35.

Novo področje elektrofuzije je bilo prenešeno tudi v pedagoški proces na Fakulteti za elektrotehniko, kjer so potekale raziskave.

ANG

The thematic of electrofusion was incorporated in the International scientific workshop and postgraduate course that was organized in 2009 by the Laboratory of biocybernetics at the Faculty of electrical engineering for the fourth time. This was the enrichment of the program of this school, which was recognized as valuable school by attendees from the whole world.

TRONTELJ, Katja, UŠAJ, Marko. Cell electrofusion. V: KRAMAR, Peter (ur.), KANDUŠER, Maša (ur.). Workbook of the electroporation based technologies and treatments : international scientific workshop and postgraduate course, November 15-21, 2009, Ljubljana, Slovenia. 1. izd. Ljubljana: Založba FE in FRI, 2009, str. 33-35.

Electrofusion is a new field of research and was also transferred in the educational process at the Faculty of electrical engineering.

### 10. Samo za aplikativne projekte!

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

| Cilj        |  |   |
|-------------|--|---|
| <b>F.01</b> | <b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b> |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.02</b> | <b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>                   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.03</b> | <b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>     |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.04</b> | <b>Dvig tehnološke ravni</b>                                   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.05</b> | <b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>       |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |

|             |  |   |
|-------------|--|---|
| <b>F.06</b> | <b>Razvoj novega izdelka</b>   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.07</b> | <b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.08</b> | <b>Razvoj in izdelava prototipa</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.09</b> | <b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>                                |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.10</b> | <b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>                      |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.11</b> | <b>Razvoj nove storitve</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.12</b> | <b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.13</b> | <b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>           |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.14</b> | <b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b> |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.15</b> | <b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>                             |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |

|             |  |   |
|-------------|--|---|
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.16</b> | <b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>                     |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.17</b> | <b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>                    |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.18</b> | <b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>    |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.19</b> | <b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>                          |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.20</b> | <b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.21</b> | <b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>                             |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.22</b> | <b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>                   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.23</b> | <b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>           |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.24</b> | <b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b> |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |

|             |  |   |
|-------------|--|---|
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.25</b> | <b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>           |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.26</b> | <b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b> |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.27</b> | <b>Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.28</b> | <b>Priprava/organizacija razstave</b>                                  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.29</b> | <b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>              |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.30</b> | <b>Strokovna ocena stanja</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.31</b> | <b>Razvoj standardov</b>   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.32</b> | <b>Mednarodni patent</b>   |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.33</b> | <b>Patent v Sloveniji</b>  |   |
|             | Zastavljen cilj  | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov   | <input type="text"/>                              |
| <b>F.34</b> | <b>Svetovalna dejavnost</b>  |   |
|             |  |   |

|             |                    |   |
|-------------|--------------------|---|
|             | Zastavljen cilj    | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat           | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov | <input type="text"/>                              |
| <b>F.35</b> | <b>Drugo</b>       |   |
|             | 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!**

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

|             | Vpliv  | Ni vpliva             | Majhen vpliv          | Srednji vpliv         | Velik vpliv           |  |
|-------------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--|
| <b>G.01</b> | <b>Razvoj visoko-šolskega izobraževanja</b>        |                       |                       |                       |                       |  |
| 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"/> |  |
| <b>G.02</b> | <b>Gospodarski razvoj</b>                          |                       |                       |                       |                       |  |
| 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"/> |  |
| <b>G.03</b> | <b>Tehnološki razvoj</b>                           |                       |                       |                       |                       |  |
| 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="text"/>                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.04</b> | <b>Družbeni razvoj</b>                             |                       |                       |                       |                       |  |
|             |  |                       |                       |                       |                       |  |

|              |  |                       |                       |                       |                       |  |
|--------------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--|
| 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"/> |  |
| <b>G.05.</b> | <b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.06.</b> | <b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>                                       | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.07</b>  | <b>Razvoj družbene infrastrukture</b>  |                       |                       |                       |                       |  |
| 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"/> |  |
| <b>G.08.</b> | <b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>                           | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.09.</b> | <b>Drugo:</b>  | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |

**Komentar**

|  |
|--|
|  |
|--|

**12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki<sup>11</sup>**

|              |   |    |  |              |
|--------------|---|----|--|--------------|
| 1.           | <b>Sofinancer</b>   |    |  |              |
|              | <b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b> |    |  | <b>EUR</b>   |
|              | <b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>                               |    |  | <b>%</b>     |
|              | <b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b>                    |    |  | <b>Šifra</b> |
|              |   | 1. |  |              |
|              |   | 2. |  |              |
|              |   | 3. |  |              |
|              |   | 4. |  |              |
|              |   | 5. |  |              |
|              | <b>Komentar</b>   |    |  |              |
| <b>Ocena</b> |   |    |  |              |
| 2.           | <b>Sofinancer</b>   |    |  |              |
|              | <b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje</b>                               |    |  | <b>EUR</b>   |

|    |   |  |              |
|----|---|--|--------------|
|    | <b>trajanja projekta je znašala:</b>  |  |              |
|    | <b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>                               |  | <b>%</b>     |
|    | <b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b>                    |  | <b>Šifra</b> |
|    | 1.  |  |              |
|    | 2.  |  |              |
|    | 3.  |  |              |
|    | 4.  |  |              |
|    | 5.  |  |              |
|    | <b>Komentar</b>   |  |              |
|    | <b>Ocena</b>  |  |              |
| 3. | <b>Sofinancer</b>   |  |              |
|    | <b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b> |  | <b>EUR</b>   |
|    | <b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>                               |  | <b>%</b>     |
|    | <b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b>                    |  | <b>Šifra</b> |
|    | 1.  |  |              |
|    | 2.  |  |              |
|    | 3.  |  |              |
|    | 4.  |  |              |
|    | 5.  |  |              |
|    | <b>Komentar</b>   |  |              |
|    | <b>Ocena</b>  |  |              |

### C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

#### Podpisi:

|                                      |    |                                   |
|--------------------------------------|----|-----------------------------------|
| Damijan Miklavčič                    | in |                                   |
| podpis vodje raziskovalnega projekta |    | zastopnik oz. pooblaščen oseba RO |



Kraj in datum:

Ljubljana

15.4.2010

## Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/28

<sup>1</sup> Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

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

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

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

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

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

**PRIMER** (v slovenskem jeziku):

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

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

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

**Tipologija:** 1.01 - Izvirni znanstveni članek

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

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

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

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

<sup>8</sup> 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](#)

<sup>9</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Rubrike izpolnite/prepišite skladno z obrazcem "Izjava sofinancerja" (<http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>), ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

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

0A-54-E0-C2-FD-4D-5C-49-EA-FD-3A-8F-85-21-42-D9-B0-3F-E4-36