

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/110



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-3617
Naslov projekta	Uravnavanje izražanja genov in celično signaliziranje pri epidermolysis bullosa simplex: dedna bolezen krhkosti kože s številnimi obrazi
Vodja projekta	14305 Mirjana Liović
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	8426
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	05.2010 - 04.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	104 Kemijski inštitut
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.07 Metabolne in hormonske motnje
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

Pod skupnim imenom epidermolysis bullosa (EB) poznamo izredno težke dedne bolezni krhkosti kože, ki so pogostoma s smrtnim izidom. Med temi so bolniki z epidermolysis bullosa simplex Dowling-Meara (EBS-DM) obliko bolezni najbolj dovzetni za razvoj karcinoma bazalnih celic kože (BCC). Rakave spremembe večinoma nastajajo na delih kože, ki so pogostoma izpostavljeni soncu. Nedavno smo pokazali, da je izredna krhkost kože pri EBS-DM pacientih posledica ne samo izgube funkcije keratinskega citoskeleta zaradi mutacij v keratinih 5 ali 14 (ki se izključno izražata v bazalnem celičnem sloju kože), temveč tudi posledičnega znižanja izražanja genov, ki

kodirajo medcelične povezovalne proteine. Predvsem ko gre za težke mutacije v keratinskih genih, so te resen fiziološki stres za EBS-DM keratinocite. Posledica tega je stalna aktivacija MAP kinaz (ERK, p38, JNK), glavnih poti celičnega stresnega odgovora. Obenem so vse te spremembe lahko tudi prednost, saj čeprav zelo krhki, EBS-DM keratinociti hitreje zapirajo rane kot zdrave, kontrolne celice. Iz zgoraj omenjenega je razvidno, da so mutacije v keratinih lahko ključnega pomena za usmerjanje EBS-DM keratinocitov v metabolični program, ki pod določenimi pogoji lahko pripelje do razvoja karcinoma kože. Naš projekt je imel namen testirati in podati dokaze v korist te hipoteze. Kot modelni sistem smo uporabili primarne in nesmrtno celične linije, ki so pridobljene iz kože EBS-DM bolnikov in zdravih oseb. Glede na višjo dovzetnost za razvoj BCC pri EBS-DM bolnikih, nas je predvsem zanimalo primerjati celice pred in po izpostavljanju škodljivim učinkom gama žarkov, oz. preučevati odziv celic na poškodbe DNK. Dokazali smo, da je odpornost keratinskih mutant bistveno spremenjena v odnosu na kontrolne keratinocite, ter da je pri mutantih znižano izražanje nekaterih ključnih genov v signalni kaskadi popravičnih mehanizmov poškodb DNK, kot so pH2AX, pATM, pBRCA1, ter morda še najpomembnejši člen, pChk2, ki ima pomembno vlogo pri zaviranju celičnega cikla v G2/M fazi. Poleg tega smo ugotovili, da EBS-DM keratinociti imajo tudi zvišano izražanje proteinov Bcl-2 (sodeluje pri notranji apoptotski poti) in FLIP (zavira delovanje kaspaze-8 in zavira celično smrt že na zgodnji stopnji zunanje poti apoptoze). Rezultati projekta kažejo, da spremenjeno delovanje različnih signalnih poti pri EBS-DM keratinocitih, ima za posledico moteno delovanje G2/M kontrolne točke celičnega cikla in zvišano izražanje nekaterih antiapoptotičnih proteinov. Zato je povsem možno, da prav ti mehanizmi, ki pomagajo EBS-DM keratinocitom premagati negativne učinke mutacij v keratinih, lahko obenem povzročijo, da poškodovane celice kdaj tudi uidejo kontrolnim mehanizmom celične smrti in tako pri EBS-DM pacientih dajo začetek rakavim spremembam bazalnih celic kože.

ANG

Amongst the large group of severe and often deadly skin fragility disorders called epidermolysis bullosa (EB), patients with the epidermolysis bullosa simplex Dowling-Meara type (EBS-DM) are much more likely to develop basal cell carcinoma (BCC) than any other subtype. Interestingly it is the light-exposed areas of their skin that appear most often to give rise to BCCs. We have shown that epithelial fragility in EBS-DM patients may be the result of the combined loss of keratin cytoskeleton function due to mutations in keratins 5 or 14 (which are exclusively expressed in the basal cell layer of the epidermis), and the consequently decreased expression of many cell junction and cell adhesion proteins. Severe keratin mutations also present an intrinsic physiological stress, as the MAPK stress response signaling pathways (JNK, ERK, p38) are constantly active in EBS-DM keratinocytes. At the same time this is also an advantage, as EBS-DM keratinocytes are faster at closing wounds than healthy, control cells. Therefore it appears that changes induced by keratin mutations in EBS-DM keratinocytes may be critical in affecting major processes of the cell metabolism, which under certain circumstances may lead to non-melanoma skin cancer development. Our project aimed to test and provide evidence for this hypothesis. We used as model system primary and immortalized EBS-DM patient-derived and control keratinocytes. As EBS-DM patients are more prone to BCC development in light exposed areas of the skin, we concentrated on investigating the consequences of exposure to ionizing radiation (IR) and the DNA damage stress response in these cells. We have found that after exposure to IR keratin mutant expressing cells recover differently and much slower than control cells, as well as that a number of key proteins in the DNA damage response pathway are affected, such as pH2AX, pATM, pBRCA1 and most importantly, pChk2, which has a role in the G2/M cell cycle checkpoint. In addition, EBS-DM mutants have an increased expression of Bcl-2 and FLIP proteins, both with a function in promoting cell survival by modulating the intrinsic (Bcl-2) and extrinsic (FLIP) apoptotic pathways. The results of this project thus indicate that keratin gene mutations may also interfere with the G2/M checkpoint and cause an up-regulation of pro-survival proteins. Although all these changes may in fact help EBS-DM keratinocytes overcome the negative effects of severe keratin gene mutations, at the same time they may also aid severely damaged cells to escape mechanisms regulating cell death and preventing tumor formation. Therefore, it is quite plausible that damaged EBS-DM keratinocytes may sometimes escape these control mechanism and thus give rise to malignant transformation of basal cells in EBS-DM patient skin.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Bulozna epidermoliza simpleks je dedna bolezen kože, za katero je značilna izredna krhkost epitelijskih tkiv, predvsem kože, in nastajanje mehurjev in izjemno bolečih ran. Povzročajo jo mutacije v genih za keratina 5 in 14, ki tvorita intermediarne filamente citoskeleta bazalnih celic kože. Najtežja oblika bolezni je Dowling-Meara (DM) fenotip, katerega povzročajo le težke mutacije oz. aminokislinske spremembe, ki motijo polimerizacijo že samih keratinskih filamentov in s tem nastajanje funkcionalne citoskeletne mreže. Pokazali smo, da so takšne mutacije resen fiziološki stres za EBS-DM keratinocite, zaradi česa imajo stalno aktivirane MAP kinazne signalne poti celičnega stresnega odgovora (ERK, JNK in p38) (D'Alessandro et al., *J Cell Sci.*, 115(Pt 22):4341, 2002; Liovic et al., *Exp Cell Res.*, 314(10):2066, 2008). Poleg tega povzročajo tudi znižanje izražanja genov, ki kodirajo medcelične povezovalne proteine, kar še stopnjuje krhkost epitelijskega tkiva (Liovic et al., *Exp Cell Res.*, 315(17):2995, 2009). Obenem te spremembe lahko prinesejo tudi določene prednosti, saj EBS-DM keratinociti hitreje zapirajo rane kot kontrolne celice. Nedavno so objavili klinično študijo, ki je 20 let spremljala zdravstveno stanje pacientov iz različnih skupin (tipov in podtipov) bulozne epidermolize (Fine et al., *J Am Acad Dermatol.*, 60(2):203, 2009). Ugotovili so, da ravno EBS-DM pacienti imajo kar 44% kumulativno frekvenco za razvoj bazalnega celičnega carcinoma (BCC) kože po 55. letu starosti. Poleg tega je pri EBS-DM pacientih BCC nastajal pretežno v predelih kože, ki so bila pogosto izpostavljena soncu, kar govori tudi o možni vlogi naravnega sevanja ter zanj vezanih zaščitnih mehanizmov. Zato je cilj našega projekta bil preveriti hipotezo, ali stanje fiziološkega stresa, v katerem se že nahajajo EBS-DM keratinociti zaradi težkih mutacij v keratinskih genih, lahko povzroči tudi pomembne razlike v celičnem odgovoru na DNK poškodbe. Predpostavili smo, da pri EBS-DM keratinocitih je spremenjeno delovanje celičnega odgovora na DNK poškodbe, kar lahko posredno povzroči nastajanje rakavih sprememb. Kot modelni sistem smo uporabili primarne in nesmrtnne celične linije, ki so pridobljene iz kože EBS-DM bolnikov in zdravih oseb. Celične linije smo pridobili v sodelovanju s prof. dr. Ellen Bigitte Lane, Institute of Molecular Medicine, Singapore, in prof. dr. Hans Torma, Univerza v Upsali, Švedska. Skupno smo v študijo vključili 5 nesmrtnih (3 EBS-DM mutante in 2 zdrave, kontrolne celične linije), ter 2 primarne celične linije (1 mutanta in ena kontrola). Na razpolago smo imeli sistem za obsevanje, ki ga imajo v skupini prof. dr. Gregorja Serše, na Onkološkem Inštitutu v Ljubljani, zato nas je predvsem zanimal odziv celic pred in po izpostavljanju škodljivim vplivom ionizirajočega sevanja, ki povzroča dvojnoveržne prekinitve DNK. Celične linije uporabljene v tej študiji so bile prvo primerjane med seboj za pogoje in način rasti v gojišču z in brez seruma. Zato smo naredili teste proliferacije, metabolične aktivnosti in test tesnosti medceličnih stikov v kulturi. Iz teh eksperimentov smo zaključili, da serum lahko vpliva na končne rezultate, zato smo se odločili, da vse nadaljnje eksperimente opravimo na celicah, ki so bile gojene v gojišču brez seruma (Zupancic et al., *Arch Dermatol Res.*, 304(9):765, 2012). Zaradi tega je bilo potrebno pripraviti posebne pasaže vseh celičnih linij, ki so bile prilagojene za rast izključno v gojišču brez seruma. Za analizo učinka ionizirajočega sevanja smo prvo določili primerno dozo, pri kateri celice ne bodo pomrle. Za nesmrtnne celice je ta bila 4.5Gy, za primarne celice 1Gy. Nato smo preverili stopnjo proliferacije celic po obsevanju in spremljali rast celic 7 dni. Ugotovili smo, da čeprav mutante v normalnih pogojih rasti običajno rastejo hitreje, po obsevanju se njihova rast upočasni in je bistveno nižja od kontrolnih celic. Na enak način smo spremljali metabolično aktivnost celic (meri se aktivnost mitohondrijskih dehidrogenaz) in ugotovili, da medtem ko si kontrolne celice postopoma opomorejo med 4. in 7. dnem po obsevanju, istočasno je pri mutantih metabolična aktivnost še vedno na nizki ravni. To pomeni, da so EBS-DM mutante bolj občutljive na posledice izpostavljanja ionizirajočem sevanju kot kontrolne celice. Glede na to, da je eden od možnih učinkov obsevanja tudi senescenca celic, smo nato opravili še eksperimente z beta galaktozidazo. Dokazali smo, da celične linije uporabljene v tej študiji po obsevanju niso senescenčne in s tem, da pridobljeni rezultati niso artefakt kakšnih sekundarnih procesov. Z uporabo protitelesa za celični marker proliferacije Ki67 smo z imunofluorescenčnim barvanjem ugotovili, da so obsevane celice še vedno proliferativno aktivne tudi 7 dni po obsevanju. S testi klonogenosti smo dokazali, da EBS-DM mutante tudi tvorijo več klonov kot kontrolne celice. Med opisanimi rezultati so bili najbolj zanimivi tisti, ki kažejo, da so EBS-DM keratinociti bolj občutljivi na ionizirajoče sevanje ter, da tvorijo več klonov kot zdrave celice, kar je predvsem značilno za rakave celice. Zato smo z analizo po Westernu preverili izražanje niza tarčnih proteinov, ki imajo vlogo pri celičnem odgovoru na DNK poškodbe, aktivaciji DNK popravnih mehanizmov ter sprožanju apoptoze. Med temi izstopata pATM in

BRCA1, ki sta pri EBS-DM keratinocitih znižani po obsevanju, in pChk2, ki je pri mutantah znižan že pred samim obsevanjem. Po obsevanju smo pChk2 pri mutantah sploh težko zasledili. Znižano izražanje pChk2 in BRCA1 je značilno za kromosomsko nestabilnost in nastanek rakavih sprememb. Omeniti je treba tudi protein p53, ki je pri mutantah povišan, ima pa pomembno vlogo ne samo v začetnih fazah stresnega odgovora na sevanje, temveč tudi pri fragmentaciji DNK pri apoptozi. Glede na te rezultate smo zato preverili, ali po obsevanju pride do morfoloških sprememb celičnih jeder, kar služi tudi kot indikator strukturnih sprememb v kromosomskem materialu in pri fragmentaciji jeder. Za to smo uporabili protitelo za lamin A, ki je sestavni del nuklearne lamine in s katerim je lamina direktno povezana na kromatin. Največja odstopanja smo ponovno zasledili pri keratinskih mutantah. V tem delu eksperimentov smo dodatno še testirali enega izmed možnih mehanizmov prenosa fizičnega učinka težke mutacije v keratinih 5 ali 14, na izražanje genov v jedru. Za ta namen smo uporabili shRNA za plektin 1C, ki povezuje celični citoskelet s jedrnim, oz. keratinske intermediarne filamente z nuklearno lamino. Žal se je izkazalo, da ko se v EBS-DM keratinocitih izniči delovanje tega povezovalnega proteina, so posledice za celice prehude, saj so postale senescenčne in odmrle.

Iz eksperimentov na proteinskih mikromrežah s celičnimi ekstrakti celic, ki so rasle v normalnih pogojih rasti, smo zasledili, da EBS-DM keratinocitih imajo tudi zvišano izražanje niza pro- in anti-apoptotskih proteinov, ki sodelujejo v signalnih poteh receptorjev smrti. Iz tega ni bilo razvidno, ali so mutante več ali manj občutljive na tovrstno stimulacijo, zato smo se odločili še spremljati odgovor EBS-DM in kontrolnih celic na stimulacijo z TNF alfa in TRAILom. Titracijske krivulje so za optimalne pogoje testov določile koncentracijo liganda 200ng/ml ob 24hr inkubaciji. Testi metabolične aktivnosti po 24 hr stimulaciji so pokazali, da so EBS-DM mutante bistveno bolj odporne na delovanje teh citokinov, kot kontrolne celice. Z analizo po Westernu smo tudi preverili izražanje niza proteinov, ki sodelujejo v teh signalnih poteh: ekstrinzični, oz. receptorsko spodbujeni apoptozi (TNFR1, TNFR2, DR3, DR5, Fas, RIP1, DcR3, FADD, TRADD, FLIP) in intrinzični, oz. notranji signalni poti apoptoze (Bcl-2, pBcl-2(Thr56), pBcl-2(Ser70), Bcl-xL, Mcl-1, Bak, Bim, Bax, Puma, Bid, Bad, pBad, Bik, XIAP, kaspaza-3). Med temi izstopata Bcl-2 in FLIP, ki sta oba pri mutantah zvišana, imata pa vlogo pri zaviranju apoptoze in s tem spodbujata mehanizme preživetja celic.

V zaključek, v tej obsežni študiji smo dokazali, da je odpornost keratinskih težkih mutant na ionizirajoče sevanje nižja v odnosu na kontrolne keratinocite. To je lahko posledica tega, da je pri mutantah znižano izražanje nekaj ključnih genov v signalni kaskadi celičnega odgovora na poškodbo DNK. Pri tem je morda še najpomembnejši člen pChk2, ki ima vlogo pri zaviranju celičnega cikla v G2/M fazi in, katerega je izražanje močno znižano pri mutantah. Poleg tega smo ugotovili, da EBS-DM keratinociti imajo tudi zvišano odpornost na delovanje citokinov smrti, ki pa je lahko posledica povišanega izražanja proteinov Bcl-2 (sodeluje pri notranji apoptotiki poti) in FLIP (zavira delovanje kaspaze-8 in zavira celično smrt že na zgodnji stopnji zunanje poti apoptoze). Rezultati našega projekta kažejo, da spremenjeno delovanje različnih signalnih poti pri EBS-DM keratinocitih, ki so posledica težkih mutacij v keratinih 5 ali 14, po vsej verjetnosti povzročajo tudi moteno delovanje G2/M kontrolne točke celičnega cikla in zvišano izražanje nekaterih anti-apoptotskih proteinov. Zato je povsem možno, da vsi ti mehanizmi, ki do določene mere pomagajo EBS-DM keratinocitom premagati negativne učinke težkih mutacij v keratinih 5 ali 14, obenem lahko tudi prispevajo k temu, da poškodovani EBS-DM keratinociti lahko kdaj uidejo kontrolnim mehanizmom celične smrti, kar bi lahko pri EBS-DM pacientih povzročilo začetek rakavih sprememb kože. Vsi opisani rezultati so vključeni v članek, ki bo v kratkem poslan v objavo v revijo Journal of Cell Science, obenem so pa doktorska naloga doktorantke Tine Zupančič s Kemijskega Inštituta v Ljubljani. Gre za izvirne nove rezultate od izrednega pomena ne samo za področje molekularne dermatologije, temveč tudi celične biologije, saj nam odkriva veliko novega o citoskeletu in vlogi keratinskih intermediarnih filamentov pri metabolizmu epiteljskih celic.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev²

Cilji in program dela tega projekta so bili realizirani v celoti, s čim je finalno bila tudi dokazana naša začetna hipoteza.

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

V teku raziskovalnega projekta je bilo le nekaj manjših sprememb v sestavi raziskovalne skupine, o čemu smo vsako leto sprotno obveščali ARRS.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

		Znanstveni dosežek	
1.	COBISS ID	30115545	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Celični testi, ki temeljijo na keratinocitih in njihove možne pomankljivosti
		ANG	Keratinocyte-based cell assays
	Opis	SLO	Celične linije pridobljene iz biopsij kože pacientov z epidermolysis bullosa simplex so, kot in vitro modelni sistem, bile od izjemnega pomena za spoznavanje vloge keratinskega citoskeleta v epitelijskih celicah v normalnih pogojih rasti in bolezni. Ker pristopi genske terapije zaenkrat še niso imeli večjega uspeha pri zdravljenju te skupine bolezni, se je pojavil kot možen pristop tudi uporaba majhnih molekul, oz. testiranje knjižnic novih ali pa že obstoječih aktivnih spojin. Tudi v te namene se kot in vitro modelni sistemi pogostoma uporabljajo celične linije pridobljene od pacientov. Žal se raziskovalci pogostoma ne zavedajo pomena in posledic uporabe takšnih celičnih linij za testiranje učinkovitosti spojin. V tem primeru gre predvsem za izbiro najbolj optimalnih pogojev rasti celičnih linij, ki izvirajo iz različnih oseb in posledično imajo tudi različno genetsko ozadje. V tem članku predstavljamo vpliv različnih dejavnikov na odgovor celic v najbolj pogostoma uporabljenih celičnih testih (testi proliferacije, metabolične aktivnosti in migracije), ki lahko celo pripeljejo do napačnih zaključkov. rezultati omenjenih testov so pogostoma od bistvenega pomena pri selekciji aktivnih spojin za nadaljnja testiranja kot novih učinkovin za zdravljenje določenih bolezni.
		ANG	As an in vitro model system, patient-derived epidermolysis bullosa simplex keratinocytes have had an immense impact on what we know today about keratin filament function and their role in disease development. In the absence of gene therapy, screening compound libraries for new or better drugs is another approach to improve existing treatments for genodermatoses. However in this study, we report of the potential pitfalls when using this type of cell lines as a "reporter" system. When cell lines with different genetic backgrounds are being used in cell based assays, the greatest obstacle is to determine the most appropriate culture conditions (i.e., the composition of medium, number of cells plated and number of days in culture). We demonstrate how culture conditions can greatly interfere with the cellular response in cell-based assays (cell proliferation, metabolic activity and migration), potentially also giving rise to misleading data.
	Objavljeno v	Springer; Archives for dermatological research; 2012; Vol. 304, iss. 9; str. 765-768; Impact Factor: 2.708; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.81; A': 1; WoS: GA; Avtorji / Authors: Zupančič Tina, Ozir Mateja, Törmä Hans, Komel Radovan, Liović Mirjana	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
2.	COBISS ID	5014298	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Inkluzijska telesa kot nov dostavni sistem za rekombinantne proteine v epitelijske celice
		ANG	Inclusion bodies as potential vehicles for recombinant protein delivery into epithelial cells
		V tej raziskavi smo predstavili nov pristop dostave rekombinantnih	

	Opis	SLO	proteinov, ki temelji na uporabi inkluzijskih teles. Kot gostiteljski sistem smo izbrali konvencionalni sev E.coli, medtem ko je naš modelni protein keratin 14. Keratini so kompleksni polimeri, ki tvorijo mrežo keratinskega citoskeleta. Da bi nastali filamenti je potrebno, da se prvo monomerni keratin 14 poveže v dimerne podenote s keratinom 5, nato pa šele iz dimernih podenot nastanejo posamezni filamenti. Naši rezultati kažejo, da bi se inkluzijska telesa lahko uporabila za razvoj novega dostavnega sistema keratinov v celice kože in, predstavlja nov možen pristop za zdravljenje skupine bolezni, ki jo poznamo pod skupnim imenom epidermolitična buloza.
		ANG	We present the potential of inclusion bodies (IBs) as a protein delivery method for polymeric filamentous proteins. We used as cell factory a strain of E. coli, a conventional host organism, and keratin 14 (K14) as an example of a complex protein. Keratins build the intermediate filament cytoskeleton of all epithelial cells. In order to build filaments, monomeric K14 needs first to dimerize with its binding partner (keratin 5, K5), which is then followed by heterodimer assembly into filaments
	Objavljeno v	BioMed Central; Microbial cell factories; 2012; Vol. 11, iss. 1; str. [1-14], 67; Impact Factor: 3.306; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.864; A': 1; WoS: DB; Avtorji / Authors: Liović Mirjana, Ozir Mateja, Bedina Zavec Apolonija, Peternel Špela, Komel Radovan, Zupančič Tina	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	28273369	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Kemijski čeperoni ščitijo epidermolysis bullosa simplex keratinocite pred temperaturnim stresom in agregacijo keratinov
		ANG	Chemical chaperones protect epidermolysis bullosa simplex keratinocytes from heat stress-induced keratin aggregation
	Opis	SLO	Epidermolysis bullosa simplex je bolezen krhkosti kože, ki jo povzročajo mutacije v keratinih K5 in K14. Za EBS ni zdravila. Ko so EBS keratinociti gojeni in vitro, lahko opazimo agregate keratinskih filamentov, ki spominjajo na agregate, ki nastajo pri drugih boleznih napačnega zvijanja proteinov. Za slednje je znano, da se fenotip bolezni lahko izboljša (ublaži) z uporabo molekularnih čeperonov ali pa z aktivacijo ubikvitinproteozomskega sistema. V tej raziskavi smo sledili spremembam na nivoju MAP kinaznega signaliziranja po izpostavljanju EBS keratinocitov temperaturnemu stresu (43°C, 30 min) in uporabi dveh kemijskih čeperonov, trimethylamine Noxide (TMAO) in 4phenylbutyrate (4PBA). V raziskavi smo uporabili tudi MAPK inhibitorje, ter inhibitorje proteozomskega sistema. Tretman EBS keratinocitov s TMAO ali 4PBA je izjemno znižalo nastajanje keratinskih agregatov. Obenem, TMAO vpliva tudi na aktivacijo p38 in JNK MAP kinaz, ter izražanje heatshock proteina HSPA1A, ki kolokalizira s fosforiliranim keratinom 5 v EBS keratinocitih. V naši raziskavi smo odkrili nove tarčne proteine, ki odpirajo pot za razvoj novih terapevtskih pristopov.
ANG	Epidermolysis bullosa simplex (EBS) is a blistering skin disease caused by mutations in keratin genes (KRT5 or KRT14), with no existing therapies. Aggregates of misfolded mutant keratins are seen in cultured keratinocytes from severe EBS patients. In other protein-folding disorders, involvement of molecular chaperones and the ubiquitin-proteasome system may modify disease severity. In this study, the effects of heat stress on keratin aggregation in immortalized cells from two patients with EBS (KRT5) and a healthy control were examined with and without addition of various test compounds. Heat-induced (43 °C, 30 minutes) aggregates were observed in all cell lines, the amount of which correlated with the donor phenotype. In EBS cells pre-exposed to proteasome inhibitor, MG132, and p38-		

		mitogen-activated protein kinase (MAPK) inhibitor, SB203580, the proportion of aggregate-positive cells increased, suggesting a role of proteasomes and phosphorylation in removing mutated keratin. In contrast, aggregates were reduced by pretreatment with two chemical chaperones, trimethylamine N-oxide (TMAO) and 4-phenylbutyrate (4-PBA). TMAO also modulated stress-induced p38/c-jun N-terminal kinase (JNK) activation and expression of heat shock protein (HSPA1A), the latter of which colocalized with phosphorylated keratin 5 in EBS cells. Taken together, our findings suggest therapeutic targets for EBS and other keratinopathies.
Objavljeno v		Williams & Wilkins; The Journal of investigative dermatology; 2011; Vol. 131, issue 8; str. 1684-1691; Impact Factor: 6.314; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.839; A'': 1; A': 1; WoS: GA; Avtorji / Authors: Chamcheu Jean Christopher, Navsaria Harshad, Pihl-Lundin Inger, Liović Mirjana, Vahlquist Anders, Törmä Hans
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO Vpliv ionizirajočega sevanja na keratin 5 ali 14 mutirane keratinocite ANG The effects of ionizing radiation on keratin 5 or 14 mutant keratinocytes
	Opis	SLO Predavanje na European Cytoskeletal Forum konferenci v Fribourgu, Švica, Septembra 2013 ANG Oral presentation at the European Cytoskeletal Forum meeting in Fribourg, Switzerland, September 2013
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	Prispevek na konferenci brez natisa
	Tipologija	3.15 Prispevek na konferenci brez natisa
2.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO Mutacija v K18 (S230T) moti razporeditev/vgrajevanje klavdina 4 in ZO1 proteinov tesnih stikov. ANG The K18S230T mutation displaces tight junction proteins claudin 4 and ZO1 and results in increased paracellular permeability in vitro.
	Opis	SLO Predavanje na konferenci "Society for Histochemistry & COST NANONET, Intermediate filaments in health and disease" v Pragi, Češka, Junija 2013. ANG Oral presentation at the "Society for Histochemistry & COST NANONET, Intermediate filaments in health and disease" meeting in Prague, Czech Republic, June 2013
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	Prispevek na konferenci brez natisa
	Tipologija	3.15 Prispevek na konferenci brez natisa
3.	COBISS ID	30198233 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Receptorji celične smrti in DNK popravilni mehanizmi so spremenjeni pri EBS Dowling/Meara keratinocitih ANG Death receptor signaling and DNA damage response mechanisms are altered in EBS Dowling-Meara keratinocytes

Opis	SLO	Predavanje in poster na mednarodni konferenci ESDR 2012 v Veneciji, Italija	
	ANG	Oral presentation and poster at the ESDR 2012 meeting in Venice, Italy	
Šifra	F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj		
Objavljeno v	Williams & Wilkins; The Journal of investigative dermatology; 2012; Vol. 132, suppl. 2; str. S101; Impact Factor: 6.193; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.81; WoS: GA; Avtorji / Authors: Zupančič Tatjana, Ozir Mateja, Bolshakov Viacheslav N., Lane Birgitte E., Serša Gregor, Törmä Hans, Liović Mirjana		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
4.	COBISS ID	30125273	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Kako utišati okvarjene gene v globini kože	
	ANG	How to silence mutated genes deep in the skin	
Opis	SLO	V intervjuju je predstavljen problematika bolezni kože vezanih na keratine in najnovejše pristope k razvoju možnih terapij.	
	ANG	In this interview I presented the field of hereditary disorders of the skin linked to keratin gene mutations, and the progress being made in the search for possible new therapy approaches.	
Šifra	F.30 Strokovna ocena stanja		
Objavljeno v	Delo; Delo; 2012; Letn. 54; str. 16; Avtorji / Authors: Liović Mirjana		
Tipologija	1.22 Intervju		

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^Z

Trenutno imamo v recenziji še dva izvorna znanstveno-raziskovalna članka:

1. "Intestinal cell barrier function in vitro is severely compromised by keratin 8 and 18 mutations identified in patients with inflammatory bowel disease", Tina Zupancic, Jure Stojan, Ellen Birgitte Lane, Radovan Komel, Apolonija Bedina-Zavec, Mirjana Liovic, v reviji PLOS One (IF 3.73)
2. "Archaeosomes can efficiently deliver any type of cargo into skin cells", Apolonija Bedina-Zavec, Ajda Ota, Tina Zupancic, Radovan Komel, Nataša Poklar Ulrih, Mirjana Liovic, v reviji Microbial Cell Factories (IF 3.31)

Raziskovalni članki ostalih članov:

1. Nanoparticles isolated from blood: a reflection of vesiculability of blood cells during the isolation process, Suštar V, BedinaZavec A, Stukelj R, Frank M, Bobojević G, Janša R, Ogorevc E, Kruljc P, Mam K, Simunič B, MančekKeber M, Jerala R, Rozman B, Veranič P, Hägerstrand H, KraljIglič V. Int J Nanomedicine. 2011;6:273748.
2. Postprandial rise of microvesicles in peripheral blood of healthy human donors, Suštar V, BedinaZavec A, Stukelj R, Frank M, Ogorevc E, Janša R, Mam K, Veranič P, KraljIglič V. Lipids Health Dis. 2011 Mar 21;10:47.
3. The Caco-2 cell culture model enables sensitive detection of enhanced protein permeability in the presence of N-decyl-β-d-maltopyranoside. Marušič M, Zupančič T, Hribar G, Komel R, Anderluh G, Caserman S. N Biotechnol. 2013 Jun 25;30(5):507-15.

Delo v strokovnih komisijah:

1. M. Liovic, članica predsedstva Evropskega Citoskeletnega Foruma od 2013 naprej.
2. M. Liovic, članica sveta Javnega Zavoda Zdravstveni dom dr. Franca Ambrožiča, Postojna, od 2013 naprej.
3. M. Liovic, nadomestna predstavnica Slovenije pri COST/NANONET incijativi EU od 2012 naprej.
4. M. Liovic, član programskega komiteja "Society for Histochemistry & COST NANONET, Intermediate filaments in health and disease" v Pragi, Češka, Junija 2013.
5. M. Liovic, organizator kongresa European Cytoskeleton Forum 2015 v Ljubljani.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

S popolno realizacijo ciljev in programa tega raziskovalnega projekta je bila dokazana naša začetna hipoteza o izrednem pomenu proteinov (v našem primeru gre za keratine), ki tvorijo intermediarne filamente citoskeleta, za normalno delovanje celičnega metabolizma. V tej študiji smo dokazali, da so posledice težkih mutacij v keratinih 5 ali 14 zelo resne in, da celo lahko vplivajo na izražanje proteinov, ki sodelujejo pri odgovoru celic na DNK poškodbe, v celičnem ciklu in pri regulaciji celične smrti. Posledično so takšne spremembe dejansko res lahko vzročnik povišane incidence bazalnega celičnega karcinoma kože pri pacientih z dedno boleznijo kože epidermolysis bullosa simplex. Gre za izvirne, nove rezultate od izrednega pomena ne samo za področje molekularne dermatologije, temveč tudi celične biologije, saj odkrivajo veliko novega o citoskeletu in vlogi keratinskih intermediarnih filamentov pri metabolizmu epitelijskih celic, ter nam obenem zastavlja novo vprašanje, ali so lahko keratini celo vrsta novih tumor supresorjev?

ANG

With the complete fulfilment of the aims and the research program of this grant we provided compelling evidence in support of our initial hypothesis regarding the exceptional role of the proteins (in this case keratins) that form the intermediate filament cytoskeleton in normal cell metabolism. We have shown that the consequences of severe keratin 5 or 14 gene mutations go beyond the simplistic view of keratins being only a structural support to cells. This study uncovers that keratins and keratin mutations may even alter the expression of proteins involved in the DNA damage stress response, cell cycle and regulation of cell death. Therefore it is quite plausible that such changes in cell metabolism may result with a higher incidence of basal cell carcinoma in the skin of epidermolysis bullosa simplex patients. This is truly original and novel data, which is of consequence not only for the field of molecular dermatology, but also for basic cell biology, by unveiling new knowledge about the cytoskeleton and the role of keratin intermediate filaments in cell metabolism. At the same time this data is already challenging us with a new question, whether keratins may be also a type of tumor suppressor?

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

S svojimi raziskovalnimi dosežki, njihovo odmevnostjo, aktivnim sodelovanjem na mednarodnih konferencah in pri njihovi organizaciji, ter vpetostjo v delovanje mednarodnih teles, smo direktno prispevali k ugledu slovenske znanosti in države Slovenije. Naše delo je ponudilo niz novih tarčnih molekul za zdravljenje širokega spektra trenutno še vedno neozdravljivih genodermatoz, kot tudi izzvali znastveno javnost z možnostjo nove vloge keratinskih proteinov, ne samo kot kliničnih indikatorjev nastajanja, oziroma stopnje razvoja tumorjev, temveč tudi kot možnega samega vira nastanka nekaterih tumorskih sprememb.

ANG

With our research data and the resulting scientific achievements, our participation at international conferences and the role in their organization, as well as our involvement in the function of European organizations, we actively contributed to a high impact image of Slovenian science and the Republic of Slovenia. In addition, our research has now presented a number of

new potential targets for therapy development of a large family of currently still incurable genodermatoses, as well as challenged the scientific community with the possible new role of keratin proteins: not only as indicators of the process of transformation/stage of tumor growth, but also as the potential source of certain type of neoplastic changes.

**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 upravljaljskih 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="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.03.04.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj						
G.04.01.	Dvig kvalitete življenja		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete						
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj						
G.07	Razvoj družbene infrastrukture						
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva						
G.09.	Drugo:						

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 2013¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

V tej študiji smo dokazali, da so posledice težkih mutacij v keratinih 5 ali 14 zelo resne in, da celo lahko vplivajo na izražanje proteinov, ki sodelujejo pri odgovoru celic na DNK poškodbe, v celičnem ciklu in pri regulaciji celične smrti. Posledično so takšne spremembe dejansko res lahko vzročnik povišane incidence bazalnega celičnega karcinoma kože pri pacientih z dedno boleznijo kože epidermolysis bullosa simplex. Gre za izvirne, nove rezultate od izrednega pomena ne samo za področje molekularne dermatologije, temveč tudi celične biologije, saj odkrivajo veliko novega o citoskeletu in vlogi keratinskih intermediarnih filamentov pri metabolizmu epitelijskih celic, ter nam obenem zastavlja novo vprašanje, ali so lahko keratini celo vrsta novih tumor supresorjev?

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Kot rezultat naših prizadevanj v zadnjih treh letih in glede na izjemen pomen naših raziskovalnih rezultatov, ki so bili predstavljeni tudi v obliki predavanj in posterjev na mednarodnih konferencah, smo dosegli visoko odmevnost, ki je bila lansko leto nagrajena z dvema dosežki: članstvom M. Liović v upravnem odboru European Cytoskeleton Forum-a, vodilne Evropske organizacije za raziskave na področju citoskeleta, ter s članstvom M. Liović v programskem odboru mednarodne konference "Society for Histochemistry & COST NANONET, Intermediate filaments in health and disease" v Pragi, Češka, junija 2013.

Vrhunec vseh naših dosedanjih raziskovalnih rezultatov in odmevnosti našega dela je, da smo pridobili organizacijo Evropskega kongresa European Cytoskeleton Forum 2015, ki bo potekala od 30/8/ do 4/9/2015 v Plaza Hotelu v Ljubljani, na katerem bo sodelovalo 30 vabljenih predavateljev iz Evrope, Amerike in Azije, ter skupno čez 150 delegatov.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Medicinska
fakulteta

Mirjana Liović

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/110

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

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

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

[Nazaj](#)

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

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

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

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

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

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

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

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

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

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (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/2014 v1.03

38-86-3F-7C-A5-63-6E-71-32-D4-3F-7A-06-EA-D0-07-06-0E-B0-06

Priloga 1

Severe keratin 5 and 14 gene mutations affect the keratinocyte DNA damage stress response and may alter the G2/M cell cycle checkpoint

