

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/51



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z3-4061
Naslov projekta	Merklove celice: njihova vloga in delovanje pri zaznavanju mehanskega dražljaja na površini kože
Vodja projekta	23608 Janez Prešern
Tip projekta	Z Podoktorski projekt
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	1555 Univerza v Ljubljani, Naravoslovnotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.03 Nevrobiologija
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

Projekt se je nanašal na Merklovo celico, komponento Merklovega telesca, ki je počasi-adaptirajoči mehanoreceptor tipa 1. Naše raziskave so bile osredotočene na električne in mehanske odzive Merklove celice na mehansko draženje.

V laboratorijskem sklopu raziskav smo ugotovili, da Merklava celica na mehansko draženje odgovori z dvigom kalcijeve koncentracije, ki je odvisen od amplitude stimulusa. Tako so tri različne stimulusne amplitude (2, 6 in 10 μm) izzvale počasno povečanje kalcijeve koncentracije, ki je trajalo, dokler je bil stimulus prisoten. Z merjenjem eksocitoze smo ugotavljali delovanje v litetraturi opisanega eksocitotskega aparata, ki naj bi sproščal neurotransmiter v špranjo med končičem aferentnega živca in Merklavo celico. Zato smo

najprej uporabili vlak depolarizacijskih pulzov (-80 mV to +20 mV) in zabeležili v povprečju 10 fF povečanje površine membrane v 10 s. S počasno fotolizo smo nato ocenili celostno kapaciteto eksocitotičnega aparata. Povečanje membrane je doseglo višek (in plato) po približno 16 s in sicer za ~490 fF, kar je precej več kot pri uporabi depolarizacijskih pulzov. Prvič smo pokazali, da se Merklova celica na direktno mehansko stimulacijo odzove s tokovi, ki so ionsko-nespecifični, kar je razvidno iz razmerja med napetostjo na membrani in tokom (gostoto toka), kar je lastnost tokov skozi mehansko-občutljive ionske kanalčke (razmerje je skoraj linearno med vrednostmi membranske napetosti -60 in +40 mV). Hkrati smo pokazali, da so tokovi občutljivi na prisotnost molekul FM1-43, ki so poznane kot blokatorji mehansko-občutljivih ionskih kanalčkov. Naši rezultati kažejo, da so mehansko aktivirani tokovi na membrani Merklovih celic odvisni od amplitude stimulusa. Zmanjšanje amplitude stimulusa iz 1.0 na 0.5 μm je zmanjšalo maksimalni odziv za približno 43%.

Z izdelavo modela Merklove celice po metodi končnih elementov smo opisali mehanski odziv celice. Z modelom smo simulirali prej opisan (in pogosto uporabljen) laboratorijski poskus. Naši rezultati kažejo, da je drugi odvod spremembe celične površine po času (pospešek) manj primeren kot kandidat pri odpiranju ionskih kanalčkov, saj z njim ni moč kodirati amplitude stimulusa. Uporaba hitrosti ali relativne membranske površine se iz rezultatov našega projekta zdita bolj smiselna. V naslednjem koraku smo izdelali še »električni« model mehanosenzorične celice v kulturi in za vhodne podatke uporabili površino celične membrane in spremembo površine celične membrane po času. Izkazalo se je, da je, v primeru hitrosti kot vhodnega podatka, proces desenzitizacije lahko bistveno manj odvisen od mehanizmov na ionskem kanalu kot v primeru rabe površine celične membrane kot vhodnega podatka.

ANG

Our project focused on the Merkel cell, a component of a Merkel corpuscle component which is a slowly-adapting type of mechanoreceptor. The research focused on the mechanical and electrical response properties of the Merkel cell to the mechanical stimulus and its contribution to the overall responses of the mechanoreceptor.

We estimated the capacitance change due to the depolarization of the membrane potential. Primary culture of Merkel cells was used in the experiments. A series of membrane depolarizations from -80 mV to +20 mV initiated a slow exocytosis which increased cell surface for approximately 10 fF in ten seconds. The exocytosis is linked to the calcium concentration increase in the cells. A photolysis of caged calcium was used to evaluate the full capacity of the exocytosis apparatus. A calcium concentration change due to the mechanical stimulation was evaluated in Merkel cells embedded in the tissue (vibrissal follicle), using the calibrated prodder to deliver mechanical deformations. The three different stimulus amplitudes (2, 6 and 10 μm) elicited slow but reliable increase in relative calcium concentration, which reached its plateau in 4-5 seconds.

Mechanically activated currents were elicited with a calibrated prodder in cultured quinacrine-labeled Merkel cells. Currents reached their peak rapidly at all holding voltages. Peaks were in all cases followed by a slow decay, which lasted while the stimulation was present. J-V relationship between -60 and +40 mV was almost linear and the reversal potential was close to 0 mV, suggesting that mechanically activated currents are not ion-selective. Bath application of permeant styryl dye FM1-43, which acts as a blocker of mechanically sensitive channels, blocked mechanically activated currents in Merkel cells. Finally, the amplitude of elicited currents showed dependence on stimulus amplitude. Decreasing the stimulus from 1.0 to 0.5 μm did decrease the peak current density for approximately 43%.

Two model types were developed to describe the behavior of the Merkel cell during mechanical and electrical stimulation. We modeled the Merkel cell in primary culture in the similar experimental situation as described above. Our results show that second derivative of membrane surface change over time (acceleration) isn't a suitable candidate as a mechanochannel opener despite its Newton-physics attraction. Using acceleration it is not possible to code the stimulus amplitude, while velocity of membrane surface change (first derivative) or membrane surface itself do allow such coding.

A simplified "electrical" model was built after Hodgkin & Huxley to test suitability of both quantities as the putative mechano-channel openers. Our results show, that velocity seems "to assist" in ion current desensitization. Drop in the velocity complements the drop in mechanically activated ion current.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Projekt je imel dva komplementarna cilja. Prvi je bil posvečen delovanju Merklove celice v t.i. Merklovem kompleksu, počasi adaptirajočemu mehanoreceptorju tipa 1, ob mehanski

stimulaciji. Drugi cilj je bila izdelava dveh modelov Merklove celice, ki bi opisala njen mehanski in električni odziv na mehansko draženje. Merklova celica je eden od dveh sestavnih delov mehanoreceptorja, vendar sta njena odziva na mehansko draženje in zmožnost prispevanja k skupnemu odzivu nepoznana.

Laboratorijski del projekta smo razdelili na tri podsklope: 1) preučevanje kalcijeve dinamike ob mehanskem dražljaju, 2) sposobnosti eksocitoze ob draženju in 3) merjenje ionskih tokov na membrani Merklove celice ob mehanskem draženju, ki je bil najpomembnejši gradnik laboratorijskega dela projekta.

V naših eksperimentih smo uporabljali mehanski stimulator, sestavljen iz na koncu zataljene mikrokapilare, katere konica je imela premer med 1 - 2 μm ; sama kapilara je bila pritrjena na piezo kristal, raztegljiv le v eno dimenzijo. Slednji je imel 30 mikrometrski razpon in submikrometersko ločljivost. Za merjenje mehansko aktiviranih ionskih tokov in kapacitance smo Merklove celice pridobili iz foliklov brk samic miši seva B6. Folikli brkov imajo visoko gostoto Merklovih celic na svojem apikalnem delu. Merklove celice smo sprostili z uporabo encimov in mehanskim stresanjem; s tako pridobljenimi Merklovimi celicami smo vzpostavili primarno kulturo.

Kalcijevo dinamiko smo spremljali v Merklovih celicah *in situ*. Folikle smo izolirali z kože in odstranili zunanjo kapsulo. Dlako smo odrezali skoraj pri vrhu brka, sam folikel pa smo amputirali na bazalnem delu in tako odstranili del, ki skoraj ne vsebuje Merklovih celic. Po blagem encimatskem tretmaju folikle potopili v fiziološko raztopino, ki je vsebovala kalcijeve indikatorje (FURA 2AM/Oregon Green BAPTA-1 AM). Folikle smo pritrdili na dno kamrice, v kateri smo vzpostavili pretok fiziološke raztopine. S pomočjo mikroskopa smo kapilaro mehanskega stimulatorja smo previdno pristonili k površini apikalnega dela folikla. Kalcijev odziv smo merili s tremi različnimi amplitudami kvadratnega pulza: 2, 6 in 10 μm . Relativne spremembe v fluorescenci so pokazale počasen, a zanesljiv dvig kalcijeve koncentracije, ki je trajal ves čas stimulacije (6 s). Časovne konstante dviga kalcijeve koncentracije smo pridobili z »fitanjem« signalov z eksponentialno enačbo. Časovne konstante za vse tri stimulusne amplitude so bile v istem velikostnem razredu: 0.99, 0.91 in 1.35 ms za 2, 6 in 10 μm stimuluse. Naše meritve niso zaznale hitrega dviga kalcijeve koncentracije, kar se sklada z znanimi ugotovitvami, pridobljenimi z uporabo hipoosmotske raztopine kot mehanskega dražljaja (slika 1).

V naslednjem koraku smo ocenili sposobnost celice, da eksocitira in tako, vsaj teoretično, izloča vezikle z nevrotransmiterji. Merklove celice v primarni kulturi smo označili z FM1-43. Za detekcijo eksocitoze smo merili povečanje površine membrane celice, za kar smo uporabili »whole-cell patch-clamp« metodo vpete napetosti na membrani celice. Eksocitozo smo prožili z vlakom desetih 500 ms depolarizacijskih pulzov od -80 do +20 mV. Med posameznimi pulzi je bilo 500 ms premora. Po desetih sekundah stimulacije smo v povprečju namerili 10 fF povečanje površine Merklove celice (Slika 2). Počasno povečevanje celične membrane bi bilo lahko povezano z zlivanjem manjših serotoninskih veziklov, za katere je bila ugotovljena prisotnost v Merklovih celicah. Merjenje celotne eksocitotične sposobnosti Merklovih celic smo izvajali s počasnim fotolitičnim sproščanjem kalcija. Maksimum povečanja membranske površine smo dosegli po približno 16 s, membrana pa se je v tem času povečala za približno 490 fF (Slika 3). Plato bi lahko pojasnili z izčrpanjem zaloge veziklov. To povečanje je precej večje kot počasno skočno povečevanje membrane z vlakom depolarizacijskih pulzov, ko se je v 5 s depolarizacije membrana povečala le 10 fF.

Najpomembnejša komponenta projekta je bila ugotavljanje odziva Merklove celice na neposredno mehansko draženje. Merklove celice smo specifično označili s fluorescentnim barvilom »quinacrine«, ki ne spreminja odzivov SA1 mehanoreceptorja. Z zgoraj omenjenim mehanskim stimulatorjem smo deformirali membrano celice, hkrati pa smo z metodo »whole-cell patch-clamp« merili izzvine tokove na membrani. V prvem sklopu eksperimentov smo odziv Merklovih celic testirali najprej z 1 μm trapezoidnim stimulusom (80 $\mu\text{m}/\text{s}$) ob čemer smo vpeli membransko napetost na -80 mV. Po uspešni detekciji tokov smo v prvi liniji najprej izmerili odvisnost izmerjenih tokov od membranske napetosti (Slika 4A). Razmerje med izvanimi tokovi (preračunanimi na gostoto toka) in napetosti membrane je v področju -60 do +40 mV skoraj linearno. Reverzni potencial za izzvine ionske tokove pa smo določili blizu 0 mV (Slika 4B). Tok smo lahko merili ves čas tekom trajanja dražljaja, vendar se je amplituda izmerjenega toka počasi zmanjševala, kar smo lahko opisali z dvojno eksponentno enačbo. Ta del poskusov je pokazal, da so vznjeni tokovi ionsko nespecifični. Ionski tokovi, katere smo vzbudili z mehanskim draženjem, so občutljivi na farmakološko blokado z FM1-43, poznanim blokatorjem mehansko občutljivih ionskih kanalčkov (Slika 4C). V naslednjem koraku smo ugotavljali odnos med amplitudo stimulusa in amplitudo izzvanih tokov. Ugotovili smo, da so

ionski tokovi odvisni od stimulusa, saj je draženje z amplitudo stimulusa $0.5 \mu\text{m}$ izzvalo ionske tokove, katerih maksimalna amplituda je približno 43% manjša od tiste, izzvane v začetnem delu poskusa s stimulusno amplitudo $1 \mu\text{m}$ (Slika 4D). Stimulusne amplitude, višje od $1 \mu\text{m}$, so se izkazale za nepraktične, ker so irreverzibilno poškodovale celično membrano ali stik med mikropipeto merilne elektrode in celico.

Izdelali smo dva modela Merkllove celice, ki sta uporabna tudi pri študiju drugih živčnih celic, občutljivih na mehanski dražljaj. Prvi model je bil t.i. mikro-model, s katerim smo preučevali mehansko vedenje celice, ki je izpostavljena neposredni mehanski stimulaciji, kot je npr. opisana zgoraj. Uporabljeni način testiranja celic na mehanske tokove je pogost v raziskavah, vendar je iz stališča mehanike dogajanje na membrani celice med poskusom neopisano.

Izdelali smo model Merkllove celice v primarni kulturi po metodi končnih elementov (FEM). Poenostavljena geometrijska mreža eksperimentalne postavitve je bila izdelana v komercialnem CAD programu, ob čemer smo predpostavili fiksne stike med dnom petrijevke in celico ter med merilno elektrodo (mikrokapilaro) in celico. Osnovna oblika celice je bil rotacijsko-simetrični sploščen »blob«. Mehanski stimulator pa smo zasnovali kot cilindar s kroglastim koncem in premerom $2 \mu\text{m}$. Uporabili smo dva različna premera za model celice: 10 in $50 \mu\text{m}$. Prvi je ponazarjal celice dimenzij Merkllove celice, drugi pa mehanosenzorične celice, katere najdemo v ganglijih dorzalnega snopa hrbtenjače (DRG). Izhodni podatek modela je bila povprečna površina membrane celice v časovni enoti (slika 6, zgoraj levo; slika 5, spodaj). V modeliranju smo uporabili različne hitrosti stimulusa: 80 , 200 , 500 in $800 \mu\text{m/s}$, amplituda stimulusa pa se je povečevala v korakih po $0.75 \mu\text{m}$ do $9.75 \mu\text{m}$. V interpretaciji modela smo privzeli, da so mehanski kanali t.i. »stretch«, kar je skladno s farmakološkimi ugotovitvami drugih avtorjev, saj so občutljivi na Gd^{3+} .

Stimulusne amplitude, višje od $1 \mu\text{m}$, so za modele s premerom $10 \mu\text{m}$ dale rezultate, katerih interpretacija namiguje na poškodbe celic, kar je skladno z eksperimentalnimi rezultati na Merklvovih celicah. V post-procesiranju izhodnih podatkov smo izračunali še 1) spremembo površine celične membrane po času (hitrost; prvi odvod po času) in 2) hitrost spremembe površine celične membrane po času (pospešek, drugi odvod po času). Pospešek kot fizikalna količina je pogosto interpretiran kot najbolj prikladen za odpiranje mehansko občutljivih kanalov, saj se ga da direktno prevesti v silo preko Newtonove mehanike. Vendar smo z našim modelom pokazali, da s pospeškom ni mogoče kodirati različnih amplitud stimulusa, saj je bil maksimalni pospešek običajno dosežen ob prvem stiku membrane s stimulatorjem (slika 6, spodaj; slika 7). Hkrati pa je tudi razmerje med pospeškom pri posamezni amplitudi in odzivom relativno ravno. Membranski raztezek in hitrost membranskega raztezka sta bolj primerna kandidata za odpiranje »stretch« kanalov, vendar membranski raztezek doseže svoj maksimum približno 20ms za maksimumom hitrosti ob isti stimulusni amplitudi, kar je najverjetneje prepočasi.

Nadalje smo razvili električni model odziva senzorične celice, s katerim smo testirali membranski raztezek in hitrost membranskega raztezka kot primerna kandidata za odpiranje mehanskih kanalov. Model ni vezan na velikost celice, od njegove kalibracije pa je odvisno, za kateri tip celice se ga uporablja. Gre za model po Hodgkin & Huxleyu, ki predvideva da je i) tekom poskusa membrana celice vpeta na npr. -80mV in ii) da je adaptacija povezana z inaktivacijo. Model smo kalibrali na objavljene rezultate za DRG senzorične nevrone (Hao & Delmas, 2010). Model je pokazal, da sta tako membranski raztezek kot hitrost membranskega raztezka primerna kandidata za odpiranje kanalov (z omenjeno izjemo zaradi časovnega zamika pri membranskem razteku). Vendar je iz rezultatov razvidno, da je delovanje modela pri uporabi hitrosti kot vhodnega podatka drugačno. V tem primeru je časovna konstanta deaktivacije za dve magnitudi manjša kot v primeru samega membranskega raztezka (7.00ms vs 0.045ms , sliki 8 in 9). To gre pripisati hitremu padcu hitrosti raztezka, kar do sedaj v bioloških poskusih ni bilo upoštevano.

Z našim projektom smo prvič neposredno pokazali:

- 1) da Merklvova celica odgovori z ionskimi tokovi na neposredno mehansko stimulacijo
- 2) da Merklvova celica ob depolarizaciji eksocitira, kar je prva potrditev delovanja v literaturi opisanega sistem eksocitotskega aparata
- 3) da lahko Merklvova celica eksocitira čez daljše obdobje, kar je skladno z idejo, da Merklvova celica prispeva statični del odziva počasno-adaptirajočega mehanoreceptorja tipa 1
- 4) kaj se dogaja na membrani celice ob mehanski stimulaciji (z izdelavo FEM modela)
- 5) da preferenčna fizikalna količina, ki odpira t.i. »stretch« ionske kanalčke verjetno nista pospešek in sama membranska površina, pač pa sprememba površine celične membrane po času (hitrost).

Tekom projekta smo uspešno sodelovali s podjetjem C3M d.o.o., s katerim smo izdelali FEM

model Merklove celice.

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

Izvajanje programa dela je v večji meri sledilo načrtom projekta. Cilji obeh sklopov so bili v večji meri doseženi. Kljub nekaterim metodoloških spremembam (glej točko 5) lahko ocenimo projekt in njegov dosežke kot uspešne. Neposredno smo potrdili hipotezo, da Merklova celica poseduje mehansko občutljive ionske kanalčke in da se odziva na mehansko draženje tudi s povečanjem znotrajcelične koncentracije kalcija. Pokazali smo, da Merklova celica ob depolarizaciji odgovori z eksocitozo, kar je posredno odpira/podpira možnost, da pride do izločanja nevrotransmitterja. Dodatno smo dokazali, da lahko Merklove celice eksocitirajo preko daljšega časovnega obdobja, kar je še en posredni dokaz, da lahko Merklove celice delujejo kot detektor statičnega pritiska na tkivo.

Izdelali smo tako »električni« kot mehanski model Merklove celice, pri čemer smo pri slednjem sodelovali s podjetjem C3M d.o.o. in raziskovalci programske skupine NTF. Z mehanskim modelom smo z izključevanjem uspeli pokazati najverjetnejšo obliko mehanskega stimulusa, ki sodeluje pri odpiranju mehansko občutljivih ionskih kanalčkov. Nenadejano smo z »električnim« modelom ugotovili, da lahko hitrost spreminjanja površine celične membrane prispeva k desenzitizaciji mehansko-aktiviranega ionskega toka.

Izpostavil bi zgledno sodelovanje z obema gostiteljskima organizacijama, Inštitutom za fiziologijo Medicinske fakultete v Mariboru, na katerem sem opravljal laboratorijske poskuse in podjetjem C3M d.o.o., ki je sodelovalo pri izdelavi mehanskega modela.

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

Tekom izvajanja projekta sta bili potrebni dve metodološki spremembi. Prva je povezana s sevom miši J2XnEGFP, katerega osebki imajo Merklove celice označene s fluorescenčnim proteinom in pri katerem ni potrebe po dodatnih označevalcih. Žal so se osebki tega seva že v osnovni liniji izkazali s šibko ali neobstoječo fluorescenco v Merklovih celicah. Osvežitev seva ni bila možna zaradi stroškov in časa, zato smo morali v večini poskusov Merklove celice označiti z barvilom FM1-43, ki specifično označi vse celice z ionskimi kanalčki, občutljivimi na mehanske dražljaje, vendar hkrati le-te tudi blokira. V poskusih, kjer je bila zahtevana mehanska občutljivost celice (merjenje mehansko aktiviranih tokov, spremembe koncentracije kalcija), pa smo celice zato označili z barvili quinacrine ali pa smo v redkih primerih neoznačene celice identificiral z manipulacijo membranske napetosti, s katero sem preveril, ali gre za nevzdražnostno celico, kot je npr. fibroblast, ali pa gre za vzdražno (Merklovo) celico. Druga sprememba pa je bila nadomestitev snemanja električnih potencialov membran Merklovih celic *in situ* s snemanjem iz celic v primarni kulturi. Izkazalo se je, da dostop do Merklovih celic ovira zunanja ovojnica vibrisalnega folikla, ki preprečuje dostop z mikropipeto, s katero snemamo membranski potencial. Ovojnica je ahtevala agresiven encimatski tretman s kolagenazo tipa 1a, vendar se je izkazalo, da je tak postopek v vseh primerih uničil strukturo folikla. Snemanje sprememb električne napetosti na membrani opravljam v primarni celični kulturi, ovrednotenje prispevka Merklove celice opravljam posredno, preko spremembe kapacitance celice.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	še ni voden v COBISS	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Znanstveni članek z naslovom "Mehansko vzbujeni ionski tokovi v Merklovi celici" avtorjev Prešerna, Slak Rupnika in Rodiča
		ANG	Scientific paper: Mechanically activated currents in Merkel cell by authors Prešern, Slak Rupnik and Rodič
	Opis	SLO	Opis ionskih tokov, vzbujenih z mehanskim draženjem celične membrane Merklove celice, njihovih lastnosti in njihove odvisnosti od amplitude dražljaja
		ANG	Description of mechanically activated currents in Merkel cells, their properties and stimulus amplitude dependence.

	Objavljeno v	submitted to J Neurosci	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	še ni vnešen v COBISS	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Prispevek z naslovom "Funkcionalni mikroanatomski model Meissnerjevega telesca", avtorjev Vodlakove, Vidriha, Piriha, Prešerna, Škorjanca in Rodiča
		ANG	Vodlak, Vidrih, Piriha, Prešern, Škorjanc, Rodič: Functional microanatomical model of Meissner corpuscle
	Opis	SLO	Opis mehanskega odziva Meissnerjevega telesca med mehansko obremenitvijo.
		ANG	Description of mechanical behavior of Meissner corpuscle during the mechanical deformation
	Objavljeno v	submitted to Eurohaptics 2014	
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	še ni vnešen v COBISS	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Prispevek z naslovom "Funkcionalni mikroanatomski model Meissnerjevega telesca", avtorjev Vodlakove, Vidriha, Piriha, Prešerna, Škorjanca in Rodiča
		ANG	Vodlak, Vidrih, Piriha, Prešern, Škorjanc, Rodič: Functional microanatomical model of Meissner corpuscle
	Opis	SLO	Opis mehanskega odziva Meissnerjevega telesca med mehansko obremenitvijo.
		ANG	Development of computer models for the study of mechanoreception.
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
	Objavljeno v	submitted to Eurohaptics 2014	
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Naš projekt je značilno prispeval k poznavanju fiziologije Merklvih celic in k delu fiziologije čutil, ki se nanaša na mehansko vedenje celic in aktivacijo mehanskih tokov pod vplivom sile neposredno na celično membrano.

Z našim delom smo

- 1) prvič pokazali in opisali ionske tokove, aktivirane z direktnim mehanskim draženjem celične membrane Merklve celice, njihove lastnosti in njihovo odvisnost od stimulusne amplitude,
- 2) prikazali aktivacijo eksocitoznih mehanizmov Merklve celice,
- 3) pokazali, da lahko Merklva celica eksocitira čez daljše časovno obdobje, kar je skladno z idejo o kodiranju statičnega mehanskega pritiska,
- 4) opisali mehansko vedenje celice v poskusih pod točko 1) z izdelavo modela po metodi

končnih elementov in nenazadnje

5) pokazali, da pospešek membranskega raztezka verjetno ni količina, ki prispeva k odpiranju mehansko-občutljivih ionskih kanalčkov tipa »stretch«.

ANG

Our project noticeably contributed to both the knowledge about the physiology of Merkel cells and also to the part of sensory physiology concerning the activation of mechanically activated ion currents due to the physical force applied on the investigated cell's membrane.

With our work we have for the first time:

- 1) showed and described the ion currents elicited by a direct mechanical stimulation of Merkel cell's membrane, their properties and their dependence of stimulus amplitude,
- 2) showed the activation of the exocytotic machinery in Merkel cells,
- 3) showed that Merkel cell is able to sustain exocytosis over longer time period, which is supports the idea of the static pressure coding,
- 4) described the mechanical behaviour of a cell in experiments from 1) by building a finite-element model of a cell in the experiments and
- 5) showed that acceleration of the membrane stretch possibly isn't the physical quantity that contributes to the opening of the stretch ion channels.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Prispevek projekta za razvoj Slovenije lahko strnemo v tri točke.

Prvič, projekt je imel pomembno vlogo pri izobraževanju človeških virov. Pri razvoju modelov sta sodelovala diplomantka matematike in doktor gradbeništva, ki sta tako pridobila pomembne izkušnje z modeliranjem bioloških sistemov. Na podlagi sodelovanja je bil v letošnjem letu spisan in oddan tudi članek (glej zgoraj).

Drugič, projekt je pomemben s stališča povezovanja različnih področij, ki so v Sloveniji - in v nasprotju z večino evropskih držav - pogosto še vedno obravnavana ločeno. S stališča projekta menimo, da se je področje fiziologije čutil izkazalo idealno za konvergenco različnih področij, kot sta biomedicina in inženirstvo. Preko podjetja C3M d.o.o., s katerim smo sodelovali pri razvoju modelov, smo pridobili povezave do potencialnih partnerjev v industriji, s katerimi načrtujemo aplikacijo na področju razvoja novih modelov.

In tretjič, projekt je služil pri promociji slovenskega »know-how« in prenosu novih metodologij v slovensko znanost. Projektne ideje smo predstavili na Univerzi v Göteborgu (september, 2011), kjer smo se spoznali z nekaterimi metodami dela s tkivi, ki vsebujejo mehanoreceptorje, kar smo kasneje uporabili pri izvajanju projekta. Rezultate dela smo predstavili na interni konferenci konzorcija NanoBioTouch (Birmingham, november 2013), kar je služilo promociji slovenske znanosti, mi pa smo pridobili in v Slovenijo prinesli znanje o raziskovalno/razvojni metodologiji partnerjev konzorcija.

ANG

Project impact can be summarized into three important points.

First, the project had an important role in education of human resources. Development of models was greatly assisted by a construction engineer and a mathematician, who gained their first knowledge in modeling the biological systems. Cooperation resulted in submitted paper (see above).

Second, we consider this project a pioneer in bridging the gaps and thus linking the traditionally separated scientific fields Slovenia. We consider sensory physiology as an ideal field for convergence of biomedical and engineering know-how, what we showed by collaboration with the C3M d.o.o. Over this external partner we linked-up with potential partners in industry with some of which we plan further collaboration.

Last but not least: the project promoted Slovenian know-how and successfully transplanted selected methodology into our local scientific milieu. Project ideas were first presented at the

University of Gothenburg (September, 2011), where we obtained knowledge about certain aspects of work with tissues containing mechanosensitive structures which we later applied in our work. Project results were also presented at the internal conference of NanoBioTouch consortium (Birmingham, November 2013).

**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

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani,
Naravoslovnotehniška fakulteta

Janez Prešern

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/51

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](#)

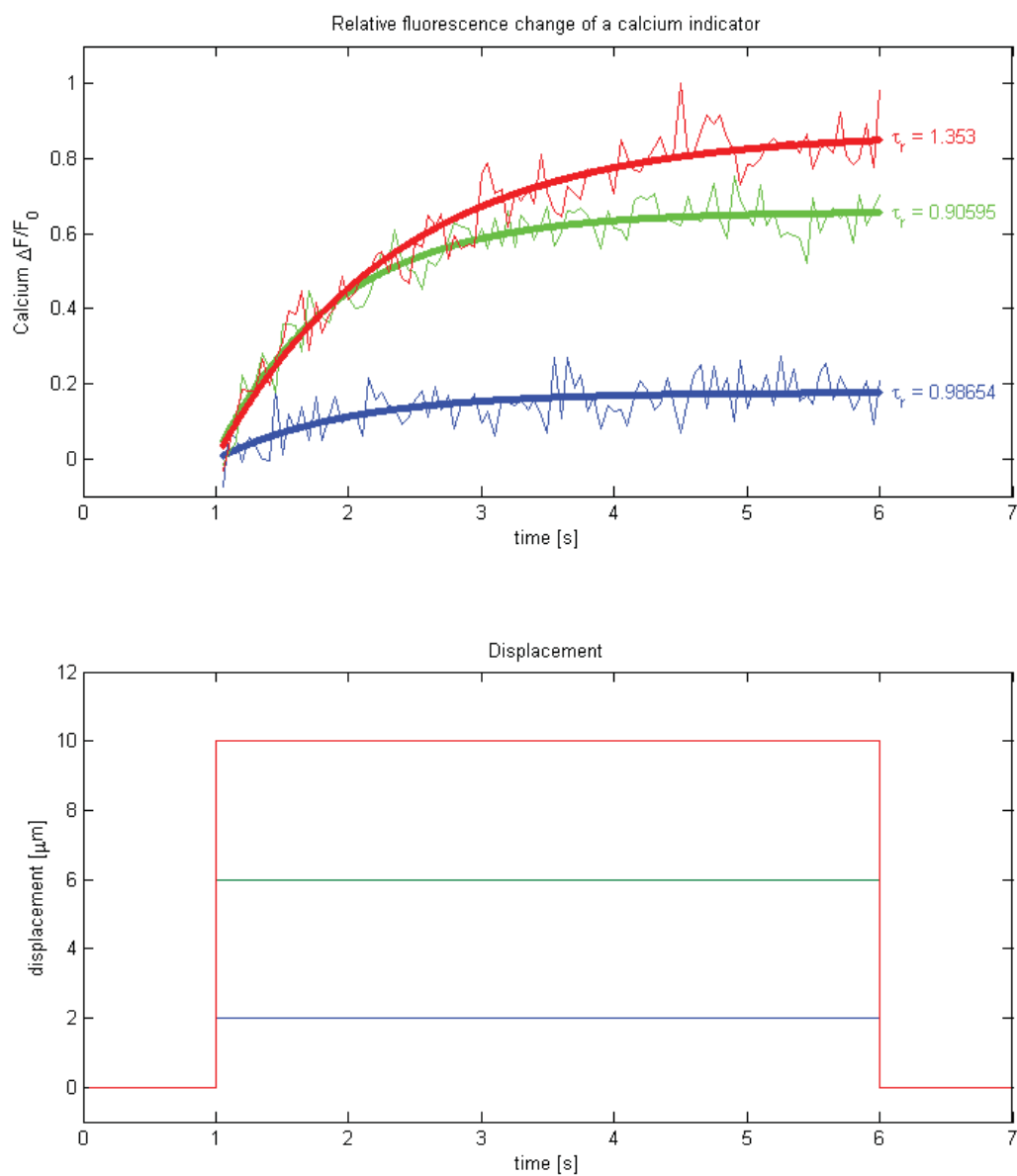
¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

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](#)

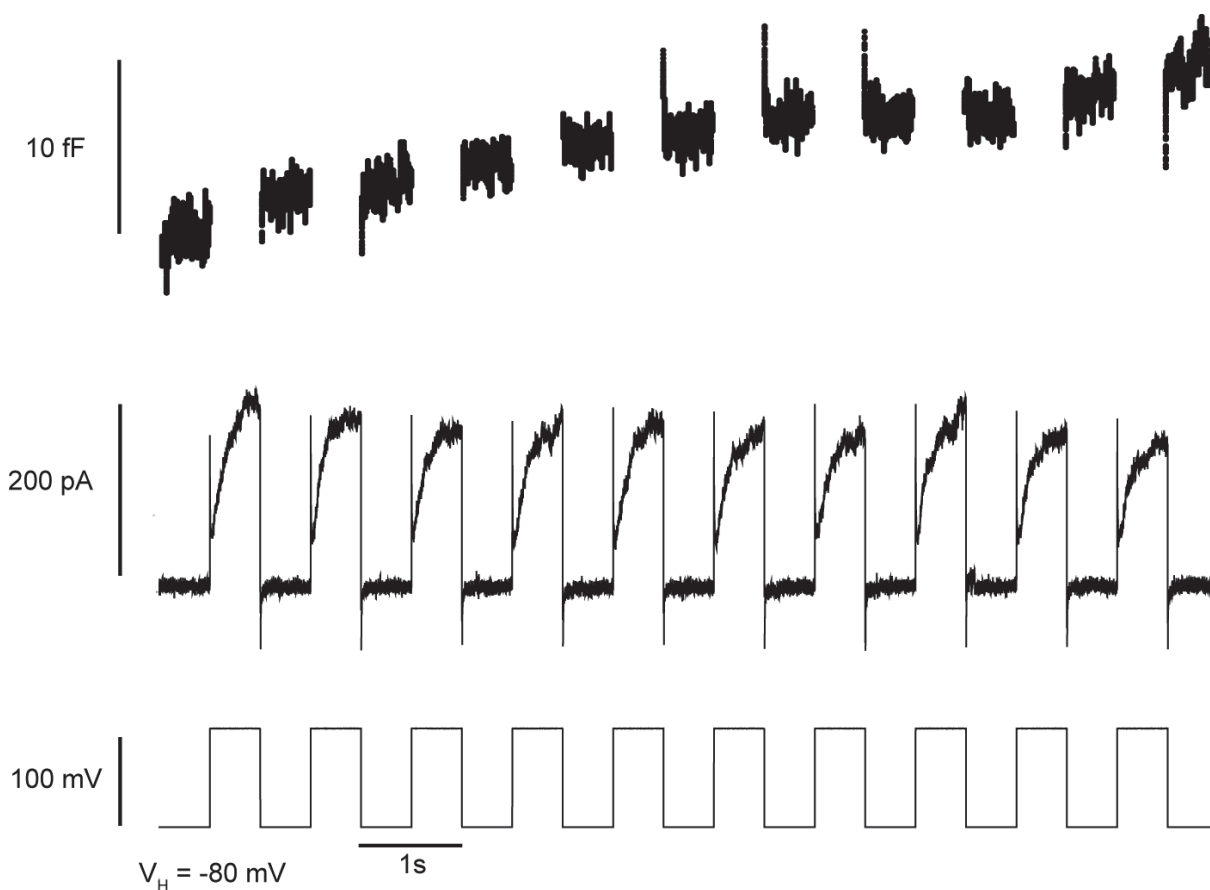
Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03
A7-49-04-F4-A4-BF-E9-5B-D8-0A-29-56-74-5D-36-F3-82-FC-25-CD

Priloga 1



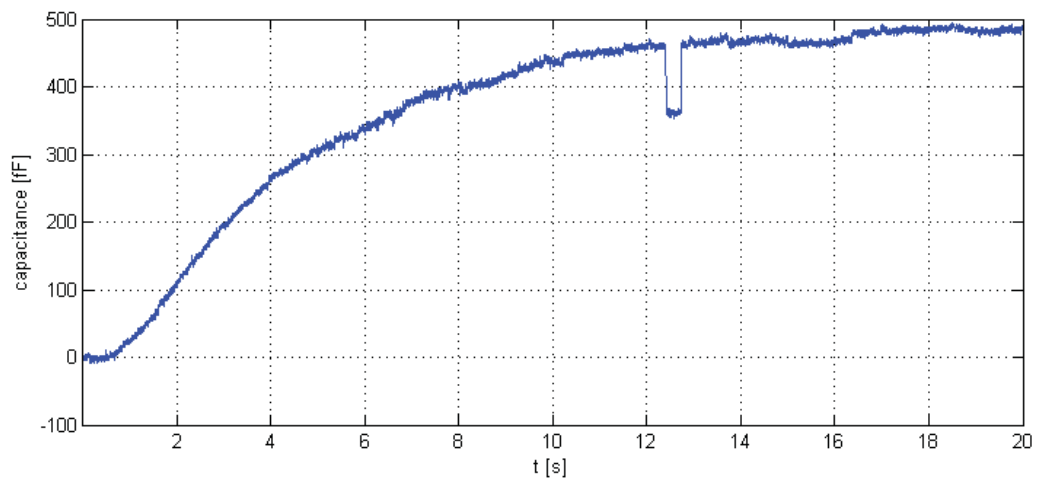
Slika 1. Sprememba koncentracije kalcija v Merklvih celicah ob različnih amplitudah mehanskega draženja.

Figure 1. Calcium increase in Merkel cells due to the various amplitudes of mechanical stimulus.



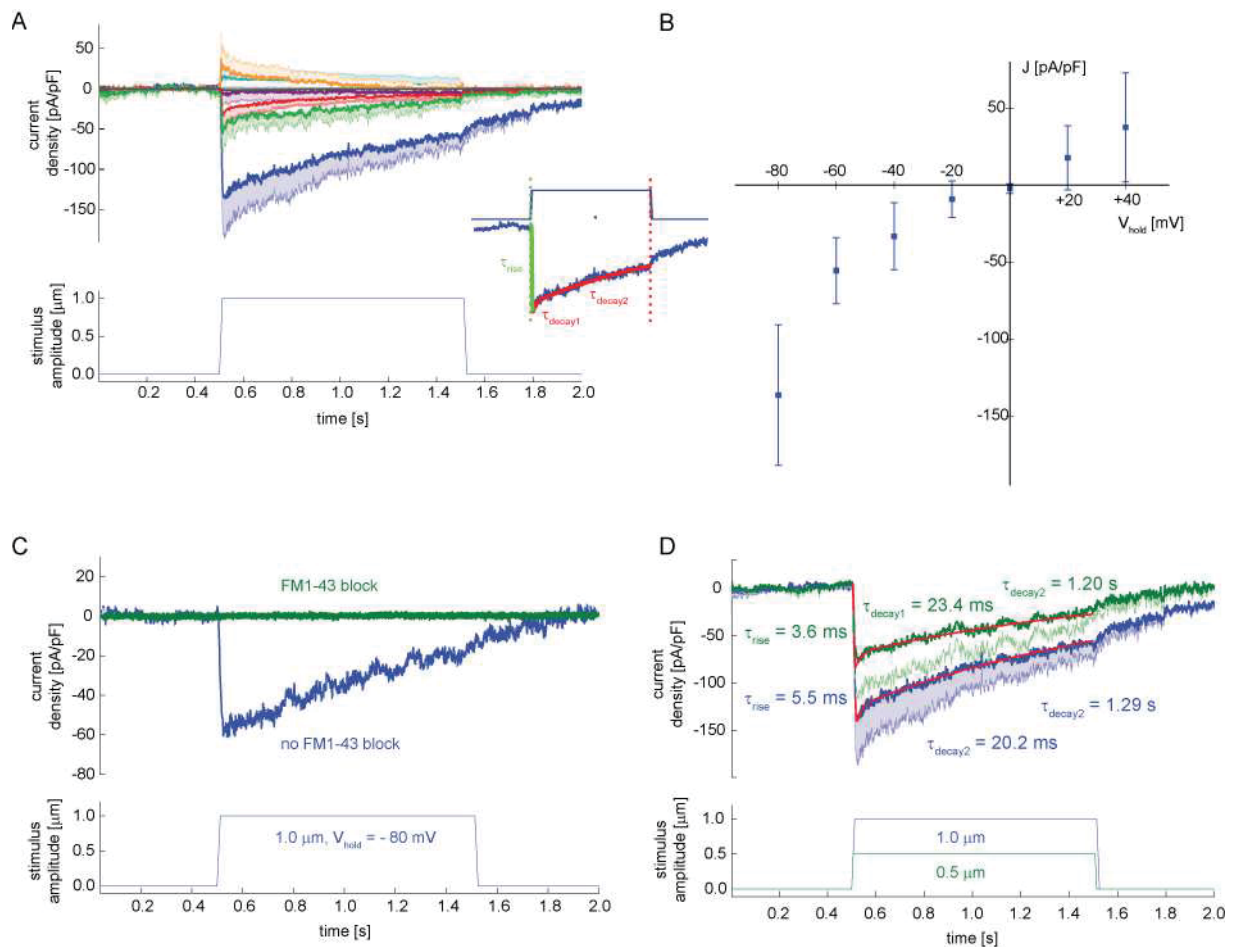
Slika 2. Sprememba membranske kapacitance ob vlaku depolarizacij membrane Merkllove celice.

Figure 2. Capacity change due to the train of membrane depolarizations in Merkel cell.



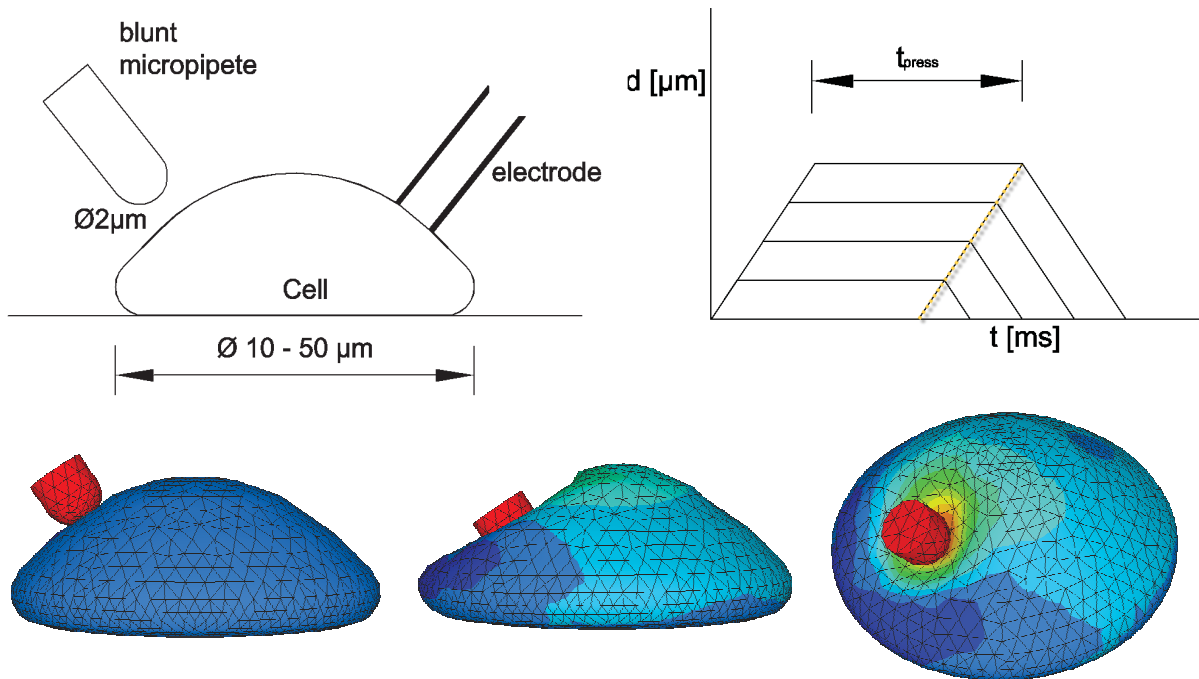
Slika 3. Maksimalna kapaciteta eksocitoznega aparata v Merklvih celicah, izmerjena s pomočjo fotolitičnega sproščanja kalcija v celici.

Figure 3. Photolytic un-caging of calcium triggered maximum response of the exocytotic apparatus in Merkel cells.



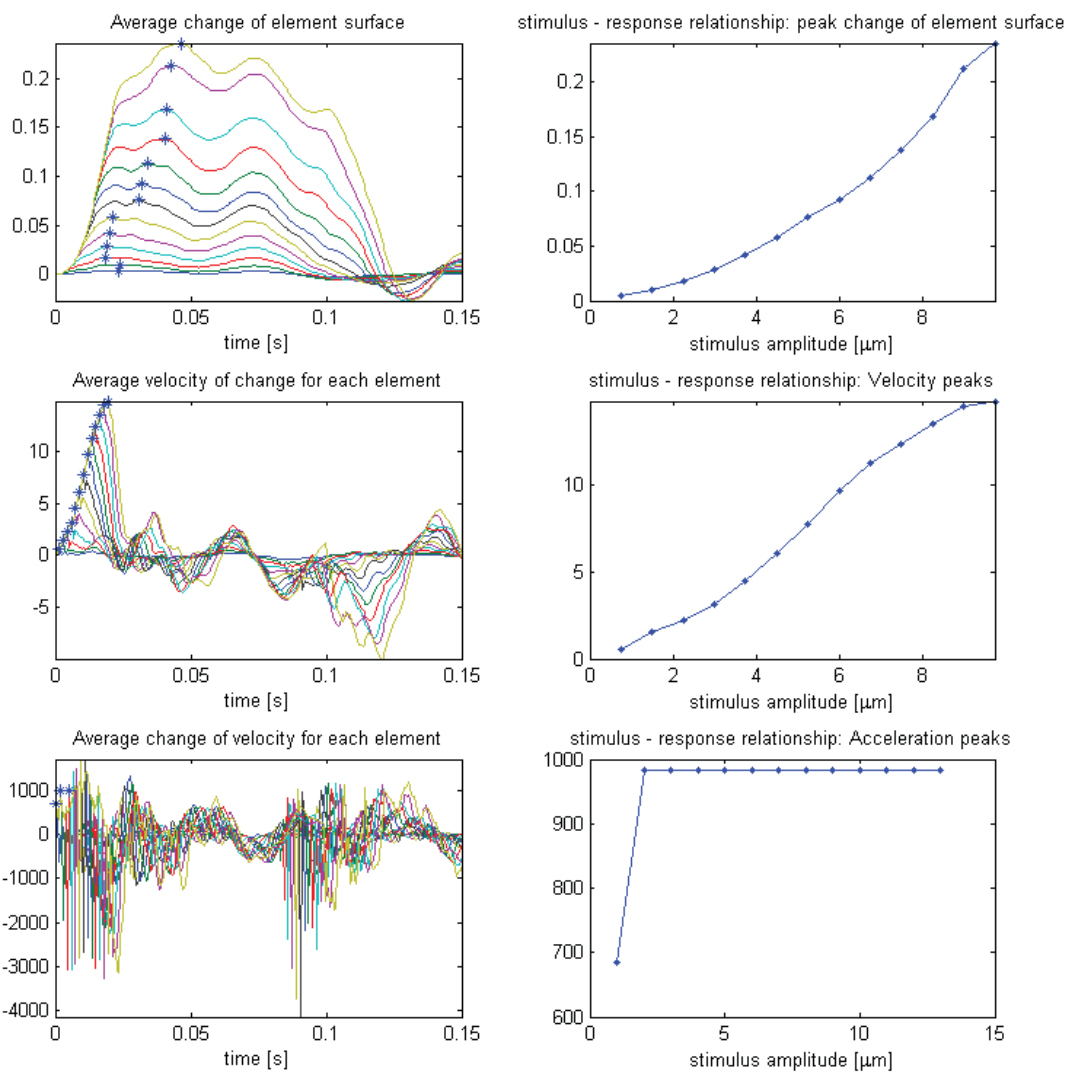
Slika 4. A: Ionski tokovi kot posledica mehanskega stimula pri različnih vrednostih membranskega potenciala. B: razmerje med gostoto ionskega toka in napetostjo na membrane. Razmerje je med -60 in 40 mV skoraj linearno. C: Vpliv blokatorja ionskih kanalov na izmerjene tokove. FM1-43 popolnoma blokira mehanske tokove. D: odvisnost mehanskih tokov od amplitude stimula

Figure 4. A: Mechanically activated currents at different holding voltages. 1 μm stimulus was used. Inset shows how the time constants of the currents were measured. B: Peak current density – voltage relationship of the mechanically evoked currents from the previous figure. The relationship between -60 and +40 mV is roughly linear with current reversal potential close to 0 mV. C: Pharmacological block of mechanically activated ion currents with bath application of FM1-43. D: Stimulus amplitude dependence of mechanically evoked ion currents.



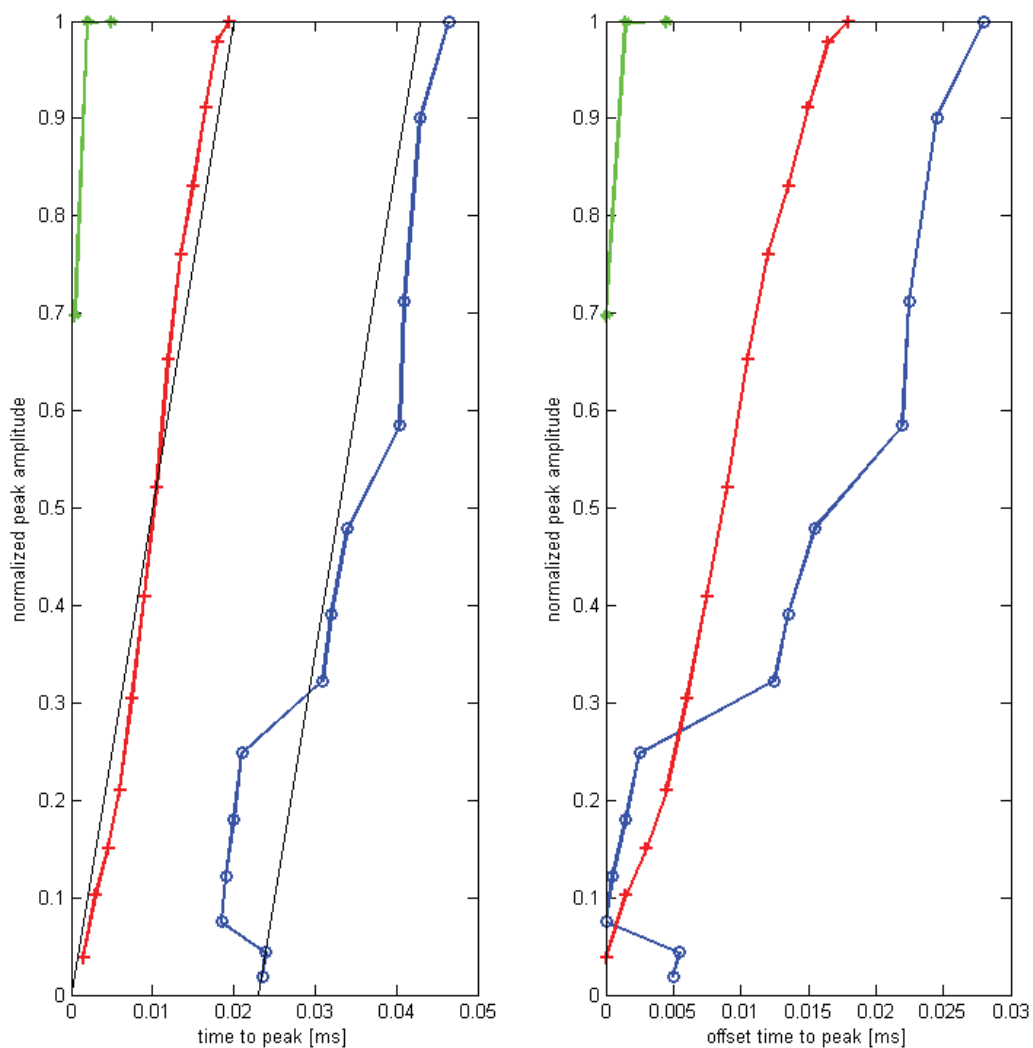
Slika 5. Zgoraj levo: Izdelava modela Merkleve celice v kulturi po metodi končnih elementov. Model je uporaben tudi za druge mehansko-vzdražne celice, kot so na primer senzorični nevroni iz korenine dorzalnega ganglija. Zgoraj desno: stimulusni protokol. Trajanje platoja je 100 ms, hitrost dviga pa se je spreminjala. Posamezni amplitudni korak je $0.75\mu\text{m}$. Število korakov je odvisno od premera celica. Spodaj levo: model tik pred obremenitvijo. Spodaj sredina in desno: model, ko obremenitev doseže plato. Relativni raztezek membrane je prikazan z barvami.

Figure 5. Design of finite-elements model (FEM) of Merkel cell in culture (or/and other mechanically sensitive cells, like dorsal-root ganglia sensory neuron). Top row, left: Model design. Two fixed surfaces are contact between Petri dish bottom and the recording electrode. Top row, right: loading protocol, the steps were $0.75\mu\text{m}$ and number of steps depended on the size of the cell. Stimulus plateau duration was 100 ms. Bottom row, left: just before stimulus; Bottom row center and right: when stimulus reaches full amplitude. Relative membrane stretch is color-coded.



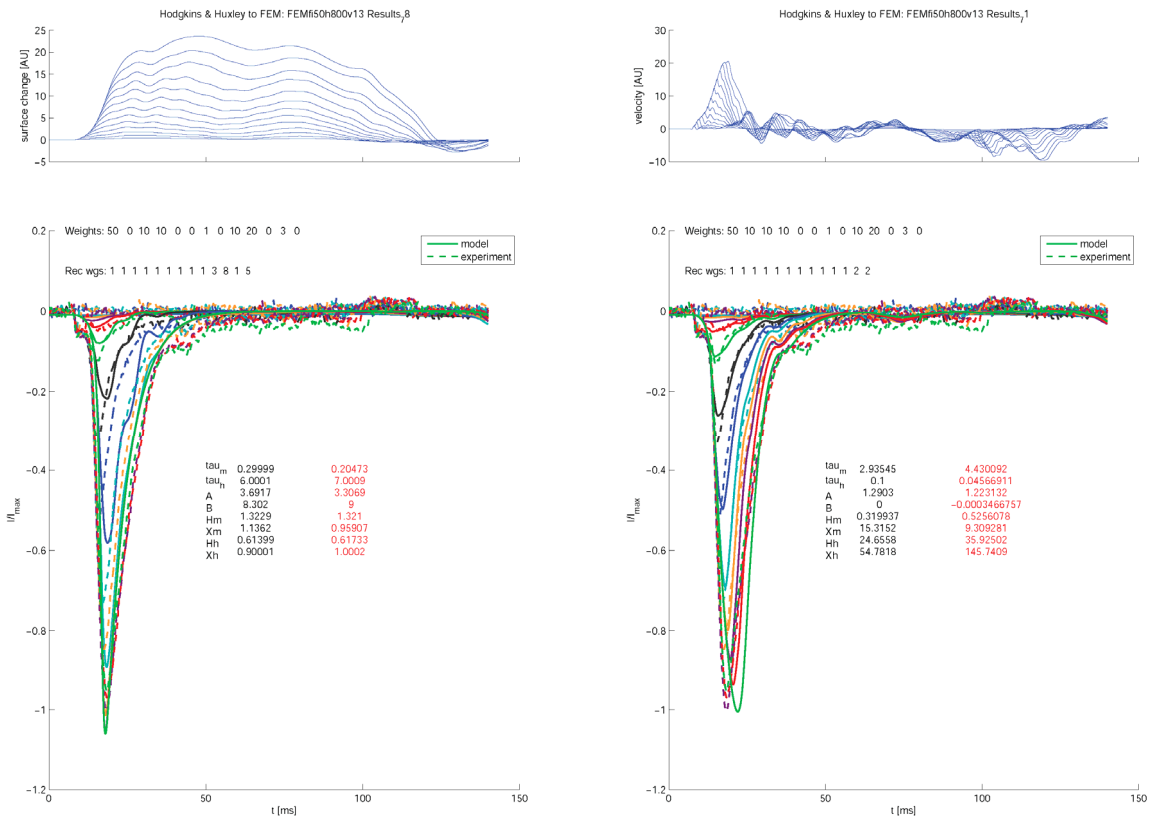
Slika 6. Rezultati FEM modela. V levem stolpcu v zgornji vrstici je prikazan relativni povprečni raztezek membrane. V desnem stolpcu iste vrstice je prikazano razmerje med amplitudo dražljaja in maksimalnim membranskim raztezkom. V drugi vrstici levo je prikazana histrost raztezka (sprememba po času) membrane. Desno v isti vrstici je prikaz odnos med stimulusno amplitude in najvišjo hitrostjo ob tej amplitudi stimulusa. V spodnji vrstici levo je prikazan pospešek (sprememba hitrosti raztezka po času) raztezka membrane. Desno v isti vrsti je prikazan odnos med stimulusno amplitude in maksimalnim pospeškom ob tej amplitudi. Prikazana slika je za celični model s premerom $50 \mu\text{m}$ in hitrostjo stimulacije $500 \mu\text{m/s}$. Pospešek ne vsebuje informacije o amplitude dražljaja.

Figure 6. Output of the FEM model. Top row shows the relative membrane stretch. On the right is the relationship between stimulus amplitude and the membrane stretch. Middle row shows velocity of membrane stretch (change over time) and peaks relative to the stimulus amplitude. Bottom row shows acceleration of membrane stretch (change of velocity over time) and peaks relative to the stimulus amplitude. Shown results are for the cell model with $50 \mu\text{m}$ diameter and $500 \mu\text{m/s}$ stimulus velocity. Acceleration does not bear any amplitude information.



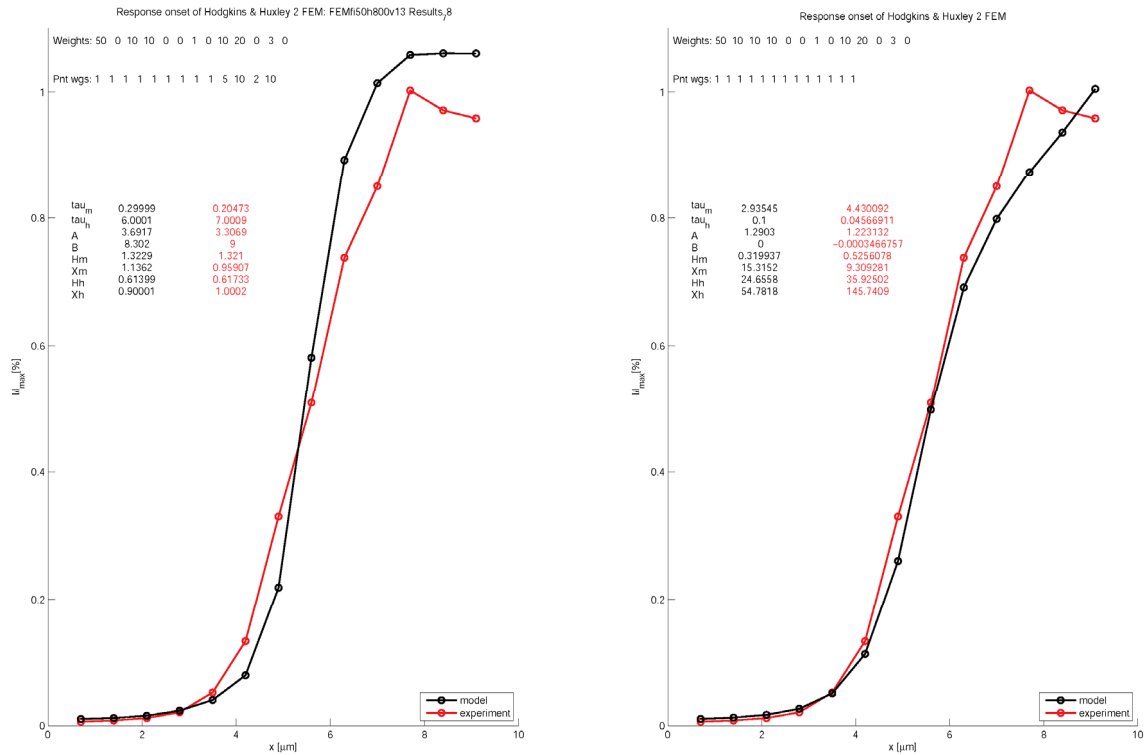
Slika 7. Levo: časi potrebni, da odgovor modela doseže maksimum: raztezek membrane (modra barva), hitrost raztezka (rdeča barva) in pospešek raztezka (zelena barva). S črnima linijama je za primerjavo označen čas, potreben da mehanski stimulator doseže neko željeno amplitudo stimulusa. Desno: isto, a so krivulje zaradi lažje primerjave premaknjene v izhodišče.

Figure 7. Left: Time-to-peak for membrane stretch (blue), velocity of membrane stretch (red) and acceleration of membrane stretch (green). Amplitudes are normalized to 1. Black line show the time needed for a prodder to reach desired amplitude. Right: same as left, but offset to 0 ms. Again, the acceleration cannot code any amplitude difference as most of the amplitudes use elicit the maximum acceleration at the moment of prodder impact with the cell.



Slika 8. Levo: odziv poenostavljenega modela po Hodgkinu in Huxleyu na raztezek membrane. Desno: odziv istega modela na hitrost membranskega raztezka. Vhodni parametri so na sliki prikazani v črni barvi, izhodni (izračunani) pa v rdeči barvi. τ_m in τ_h sta časovni konstanti aktivacije in deaktivacije. Eksperimentalni podatki pridobljeni iz literature.

Figure 8. Left: Simplified Hodgkin & Huxley model response to the membrane stretch amplitude as an input. Right: Simplified Hodgkin & Huxley model response to the velocity of membrane stretch as an input. Model output parameters shown in red, initial values in black. τ_m and τ_h are time constants of current activation and deactivation. Experimental data obtained from the literature.



Slika 9. Levo: vrhovi odziva poenostavljenega modela po Hodgkinu in Huxleyu na raztezek membrane. Desno: vrhovi odziva istega modela na hitrost membranskega raztezka. Vhodni parametri so na sliki prikazani v črni barvi, izhodni (izračunani) pa v rdeči barvi. τ_m in τ_h sta časovni konstanti aktivacije in deaktivacije. Eksperimentalni podatki so bili pridobljeni iz literature.

Figure 9. Left: Simplified Hodgkin & Huxley model response to the membrane stretch amplitude as an input. Right: Simplified Hodgkin & Huxley model response to the velocity of membrane stretch as an input. Model output parameters shown in red, initial values in black. τ_m and τ_h are time constants of current activation and deactivation. Experimental data obtained from the literature.