

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/6



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-4100
Naslov projekta	Odkrivanje inovativnih učinkovin za regulacijo hemostaze z venomiko kače Vipera a. ammodytes
Vodja projekta	412 Igor Križaj
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7560
Cenovni razred	
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	106 Institut "Jožef Stefan"
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	312 Univerzitetni klinični center Ljubljana
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.06 Srce in ožilje
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.05 Druge medicinske vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Hemostaza je zelo občutljiv in visoko reguliran sistem. Natančna regulacija koagulacije krvi je vitalnega pomena za živali in človeka. Ni naključje, da so strupene kače tekom evolucije razvile celo paleto proteinov, katerih tarča so različni procesi tega sistema, s katerimi lahko onеспособijo svoje žrtve ali napadalce. Nekatere od teh molekul pa lahko človeškemu zdravju tudi

koristijo. Med temi jih je par že našlo pot v klinično prakso, za večino pa uporabnost v medicinske namene še ni znana. Te komponente kačjih strupov tako predstavljajo velik potencial za izboljšanje že obstoječih ali uvedbo popolnoma novih terapevtskih in diagnostičnih postopkov v medicini. Modras je kača, katerega strup pri človeku najbolj prizadene hemostatski sistem. V okviru tega projekta smo poglobili naše razumevanje strupne mašinerije modrasa, ki povzroča te učinke, za zdravljenje in/ali diagnostiko hemostatskih motenj pri človeku. V proteomskem pristopu smo izgradili knjižnico proteinskih/peptidnih komponent modrasovega strupa in raziskali ter opisali vse najpomembnejše komponente strupa, ki interferirajo s hemostazo pri človeku. Poleg fosfolipaz A2 smo so naši rezultati še zlasti poglobili poznavanje hemostatsko-aktivnih proteinaz (metalo-, serinske in aspartatno), disintegrinov in lektinov tipa C. Pripravili smo novo cDNA knjižnico strupne žleze modrasa, v njej iskali cDNA zaporedja komponent s potencialno medicinsko zanimivo uporabnostjo in jim določali strukturo. Tu smo si še posebej prizadevali za identifikacijo cDNA za amoditazo, fibrinolitično metaloproteinazo, ki obeta razvoj nove vrste antitrombotika.

ANG

Haemostasis is a very subtle and highly regulated system. The precise control of blood coagulation is essential to the life of animals, including humans, so it is no surprise that venomous snakes evolved the arsenal of proteins that target a variety of processes in this system in order to disable their prey or enemy. Some of these molecules can be used to benefit human health. Clinical applications have been found for some of these snake venom proteins, for the majority of them, however, no medical applications currently exist. They represent therefore a vast potential for improving existing or introducing novel therapies and diagnostic procedures in clinics. Nose-horned viper (*Vipera ammodytes ammodytes*) is a snake whose venom affects in men most severely his haemorrhagic system. In the course of this project we deepened the understanding of the viper's venom machinery that produces these effects to discover novel diagnostic and therapeutic procedures for curing human haemostatic disorders. In proteomic approach we constructed a library of protein/peptide components of the venom and described the most important components of the venom that interfere with the human haemostatic system. Besides on the haemostasis-related activity of sPLA2s, we shed new light particularly on haemostatically-active proteinase (metallo-, serine- and aspartic), disintegrines and C-type lectins. We prepared a new venom gland cDNAs library and searched it for cDNAs encoding molecules potentially applicable in therapy and/or diagnosis of human haemostatic disorders. We were particularly interested in finding the cDNA of ammodytase, a fibrinolytic metalloproteinase (MP) that we aimed to further developed towards a new type antithrombotic.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Iz strupne žleze modrasa (*Vipera a. ammodytes*) smo izolirali celokupno RNA, iz nje pa mRNA, ki smo jo uporabili za izdelavo cDNA knjižnice. S sekvenčno analizo 95 naključno izbranih cDNA-vključkov smo ocenili zastopanost mRNA prepisov za posamezne proteinske družine v strupu modrasa. Največji delež, približno 20% vseh molekul cDNA, pripada zapisom za inhibitorje metaloproteinaz (MP) iz kačjih strupov, s 15% jim sledijo zapisi za MP, serinske proteaze (SP), sekretorne fosfolipaze A2 (sPLA2) in lektine tipa C (snaclec), z 8% zapisi za heterodimerne disintegrine (Dis) ter s 5% in manj zapisi za sekretorne proteine bogate s cisteini (CRISP), vaskularni endotelijski rastni faktor in kimotripsinski inhibitor. 19% sekveniranih zapisov nismo mogli identificirati, 28% pa jih ne pripada komponentam strupa. Pripravljena cDNA knjižnica nam je služila za identifikacijo proteinskih komponent iz modrasovega strupa med proteomsko analizo tega. Strup smo razstavili na posamezne komponente dva različna načina: i) s pomočjo dvo-dimenzionalne elektroforeze (2-DE) in ii) z različnimi tehnikami tekočinske kromatografije (Mudpit). Z 2-DE smo strup razstavili na 208 proteinskih lis, ki smo jih

nato, eno za drugo, analizirali z masno spektrometrijo (MS). Proteine, ki smo jih identificirali s primerjavo njihovega delnega aminokislinskega zaporedja z zaporedji zbranimi v javno dostopni knjižnici proteinskih zaporedij NCBI in cDNA knjižnici modrasovega strupa, smo lahko razvrstili v enajst različnih proteinskih družin. Glede na podobnost s proteini iz drugih kačjih strupov, bi lahko predstavniki šestih proteinskih družin vplivali na hemostazo pri človeku.

S pomočjo gelske kromatografije smo surov strup modrasa ločili na več frakcij in izmerili, kako vplivajo na različne dele hemostaznega sistema. Iz posameznih frakcij smo nato z različnimi tehnikami tekočinske kromatografije očistili posamezne proteinske komponente do homogenosti ter s kliničnimi testi izmerili njihov vpliv na koagulacijo krvi ter agregacijo in aglutinacijo trombocitov. Rezultate smo objavili v preglednem članku v reviji Toxin Reviews [COBISS.SI-ID 27046439]. Proteinom z izrazitejšim hemostatskim učinkom smo določili poglobitve biokemijske lastnosti, kot so molekulska masa in delno aminokislinsko zaporedje. Z različnimi biokemijskimi testi smo ugotavljali vpliv teh proteinov na koagulacijo krvi na molekularnem nivoju. Ugotovili smo, da posamezne komponente modrasovega strupa vplivajo na različne dele hemostatskega sistema, tj. neposredno na krvne žile, na vazokonstrikcijo, na agregacijo trombocitov in na koagulacijo krvi. Izolirali smo več hemoragičnih MP iz podrazredov P-IIIa in P-IIIc, ki s proteolitsko razgradnjo komponent žilnih sten slabijo njihovo strukturo. Detajlno smo opisali dve izrazito hemoragični P-IIIc (heterodimerni) MP, VaH3 [COBISS.SI-ID 26474535] in VaH4 [COBISS.SI-ID 27268903]. Vazokonstrikcijo poškodovane krvne žile s svojim vazodilatatornim učinkom zavirata vaskularni endotelijski rastni faktor, vamin, in kalikreinu-podobni SP. Modrasove komponente zavirajo agregacijo trombocitov, inducirano preko različnih agonistov, ristocetina (snaclec in sPLA2), kolagena (dimerni Dis, P-IIIc MP in sPLA2) in ADP (dimerni Dis in sPLA2). Dimerni dizintegrini intenzivno zavirajo agregacijo trombocitov z vezavo na fibrinogeni receptor $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ preko svojega integrin-vezavnega motiva. Modrasove sPLA2 z razgradnjo plazemske membrane trombocitov preprečujejo tako njihovo agregacijo kot koagulacijo. Amoditoksini, nevrotoksične modrasove sPLA2, kot je že bilo ugotovljeno, koagulacijo zavirajo tudi tako, da preprečijo nastanek pro-trombinaznega kompleksa. Modrasove komponente zavirajo nastanek fibrinskih strdkov tako z razgradnjo fibrinogena (P-I ter P-IIIa/c MP, SP) kot fibrina (P-IIIc MP amoditaza). Izolirali smo in opisali fibrinogenolitsko P-IIIc MP (VaF1) brez hemoragične aktivnosti [COBISS.SI-ID 28236839] ter fibrino(geno)litsko SP [COBISS.SI-ID 27269159]. Nekatere modrasove P-IIIa/c MP zavirajo proces koagulacije tudi z razgradnjo pro-trombina in faktorja X (FX). Encimsko šibko aktivni homolog SP z netipično katalitično triado intenzivno zavira intrinzični del koagulacijskega sistema. Visokomolekularne komponente modrasovega strupa z aktivacijo koagulacijskih faktorjev skupne poti, FX in pro-trombina, ter intrinzičnega FIX delujejo pro-koagulantno. Identificirali smo tudi pro-koagulantne SP, ki aktivirajo FIX in FX.

Poleg boljšega razumevanja toksičnega delovanja modrasovega strupa predstavlja pregled hemostatskih aktivnosti strupnih proteinov skupaj s knjižnico njihovih primarnih struktur izhodišče nadaljnjih raziskav funkcionalno-strukturnih lastnosti izbranih komponent z namenom načrtovanja novih anti-trombotičnih spojin vodnic.

V sodelavi s kolegi iz Imunološkega zavoda v Zagrebu smo pripravili zajčje anti-serume, ki so vsebovali funkcionalna protitelesa specifična za vsako od dveh skupin komponent modrasovega strupa, ki pri ugrizu izzoveta najbolj izrazite patološke učinke, hemoragične

metaloproteinaze (H) in nevrotoksične amoditoksine (Atxs) in za obe skupini molekul skupaj. Vpletenost teh protiteles v nevtralizacijo toksičnosti celokupnega modrasovega strupa v miški smo izmerili z določitvijo ED50, ki je edini uradno odobreni test za določevanje učinkovitosti anti-serumov. Pokazali smo, da so polno funkcionalna anti-Atx protitelesa odgovorna za nevtralizacijo toksičnosti celotnega strupa, medtem ko anti-H protitelesa ne zaščitijo mišk. Z ED50 testom v miškah torej ne moremo določiti učinka protiteles specifičnih za modrasove hemoragine v anti-serumu in zato ni primeren za določanje kvalitete anti-serumov za potrebe humane medicine [COBISS.SI-ID 25699367]. Na podlagi strukturnih elementov fibrinolitične P-III MP, amoditaze, in nekaterih ohranjenih zaporedij modrasovih P-III MP, smo pripravili različne oligonukleotidne sonde z namenom identifikacije cDNA zapisa za amoditazo, molekulo, ki obeta razvoj v smeri novega tipa anti-trombotika v humani medicini. Kljub intenzivnemu in obširnemu pregledovanju cDNA klonov, cDNA zapisa za amoditazo na žalost nismo našli. Predvidevamo, da je lahko težava v nizki zastopanosti ali nestabilnosti mRNA za amoditazo. Zaradi opaznih dosežkov na področju proučevanja hemostaze in z njo povezanih patologij so nas povabili k razgovoru v priznani ameriški reviji Circulation [COBISS.SI ID 25997607]. Svoje delo smo predstavili v obliki vabljenih predavanj na jubilejni 20. konferenci Francoskega toksinološkega društva (SFET) v Parizu [COBISS.SI ID 26438695], na konferenci »Venoms 2013: making sense of venoms in health and disease« v Oxfordu [COBISS.SI-ID 27093031] in pa na konferenci »5th International Conference on Exogenous Factors Affecting Thrombosis and Hemostasis« v Amsterdamu [COBISS.SI-ID 26930983].

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

Zastavljene naloge smo praktično v celoti izvedli, v nekaterih delih pa celo precej preseglji naša pričakovanja in obljube. Nismo uspeli le s kloniranjem amoditaze, ki smo ga načrtovali, ker, kljub uporabi več različnih pristopov, nismo uspeli identificirati specifičnega zapisa za to molekulo v cDNA knjižnici modrasove strupne žleze.

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

Sprememb raziskovalnega projekta ni bilo, niti se v času izvajanja projekta ni spreminjala sestava projektne skupine.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	28236839	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Strukturna in biokemijska karakterizacija VaF1, P-IIIa fibrinogenolitične metaloproteinaze iz strupa modrasa
		<i>ANG</i>	Structural and biochemical characterisation of VaF1, a P-IIIa fibrinogenolytic metalloproteinase from <i>Vipera ammodytes ammodytes</i> venom
			V tem članku poročamo o izolaciji in karakterizaciji visokomolekularne

Opis	SLO	<p>metaloproteinaze s fibrinolitično aktivnostjo, VaF1, iz strupa modrasa (<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>). VaF1 in vitro šibko razgrajuje kolagen IV, nidogen in fibronektin, komponente ECM. Predvidoma izraža VaF1 antikoagulantno aktivnost saj hidrolizira fibrinogen, faktor X, protrombin in plazminogen, plazemske proteine, ki so vpleteni v koagulacijo krvi. Celotno aminokislinsko zaporedje prekursorske oblike VaF1 je bilo določeno s kloniranjem in sekveniranjem njene cDNA. VaF1 je tipična P-IIIa metaloproteinaza. Zanimivo, jo v standardnih eksperimentalnih pogojih antiserum proti celotnemu strupu ne prepozna zato bi lahko VaF1 sodelovala pri postseroterapijskih zapletih, npr. s povzročanjem neučinkovite koagulacije krvi pri zastrupljenem pacientu.</p>	
	ANG	<p>In this paper we report purification and characterization of a high molecular mass metalloproteinase with a fibrinogenolytic activity, termed VaF1, from the nose-horned viper (<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>) venom. VaF1 slightly degraded collagen IV, nidogen and fibronectin, components of the ECM, in vitro and it would be expected to exert anti-coagulant action, due to its hydrolysis of fibrinogen, factor X, prothrombin and plasminogen, plasma proteins involved in blood coagulation. The complete amino acid sequence of the precursor of VaF1 was deduced by cloning and sequencing its cDNA. VaF1 is a typical P-IIIa subclass snake venom metalloproteinase. Interestingly, in standard experimental conditions VaF1 is not recognised by antiserum against the whole venom, so it can contribute to postserotherapy complications, such as ineffective blood coagulation, in the envenomed patient.</p>	
	Objavljeno v	<p>Masson & cie; Biochimie; 2015; Vol. 109; str. 78-87; Impact Factor: 3.123; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Leonardi Adrijana, Sajevic Tamara, Latinović Zorica, Pungercar Jože, Lang Balijsa Maja, Trampuš-Bakija Alenka, Vidmar Robert, Halassy Beata, Križaj Igor</p>	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	26474535	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	VaH3, eden izmed glavnih hemoraginov v strupu <i>Vipera ammodytes ammodytes</i> , je homodimerna PIIIc metaloproteinaza	
	ANG	VaH3, one of the principal hemorrhagins in <i>Vipera ammodytes ammodytes</i> venom, is a homodimeric P-IIIc metalloproteinase	
Opis	SLO	<p>V tem delu smo opisali novo komponento modrasovega strupa, imenovano VaH3, kot močno hemoragično kačjo metaloproteinazo (SVMP). Molekula je dimerna in jo sestavlja dve identični podenoti mase 53.7 kDa. S proteinskim sekveniranjem in sekveniranjem cDNA zapisa za molekulo smo določili primarno strukturo celotnega proteina. Vsaka podenota je sestavljena iz metaloproteinazne, dizintegrinske in s Cysbogat domene, zato sodi v skupino PIIIc SVMP. Sekvenčno je VaH3 zelo podobna reprotinomu, ki inducirajo apoptozo vaskularnih endotelijskih celic. Antiamoditagijska protitelesa močno navzkrižno reagirajo z VaH3 in popolnoma nevtralizirajo njegovo hemoragičnost v podgani, kljub dejstvu, da ti dve hemoragični PIII SVMP iz strupa modrasa strukturno nista zelo homologni. VaH3 je hitro razgradila nekatere proteine, komponente bazalne membrane, kot tudi nekatere proteine iz krvne plazme, ki so udeleženi pri koagulaciji krvi. Omenjene proteolitske lastnosti zelo verjetno prispevajo k hemoragičnosti VaH3. Zgradili smo tridimenzionalni model VaH3, da bi si z njim pomagali razložiti strukturnofunkcijske povezave pri ADAM/ADAMTS družini proteinov. Ta družina proteinov, z visokim terapevtskim potencialom pri človeku, je strukturno namreč precej podobna VaH3.</p>	
		<p>In this work we have described a novel component, termed here VaH3, as a potentially hemorrhagic snake venom metalloproteinase (SVMP). Its</p>	

		<p>proteolytic activity and overall stability depend on the presence of Zn²⁺ and Ca²⁺ ions. VaH3 is a dimeric composed of two identical monomers of 53.7 kDa. The complete amino acid sequence of VaH3 was determined by protein and cDNA sequencing. Each of the identical glycoprotein subunits comprise a metalloproteinase, a disintegrinlike domain and a cysteine-rich domain, classifying VaH3 to the PIIIc class of SVMPs. It shows strong sequence similarity to vascular endothelial cell apoptosis-inducing reprotolysins. Antiammodytagin antibodies strongly crossreacted with VaH3 and completely neutralized its hemorrhagic activity in rat, despite the fact that these two hemorrhagic PIII SVMPs from V. a. ammodytes venom do not share a very high degree of amino acid sequence identity. VaH3 rapidly cleaved some basal membrane proteins, as well as some proteins involved in blood coagulation. These proteolytic activities most likely contribute to the hemorrhagic activity of VaH3. A threedimensional model of VaH3 was built to help explain structure-function relationships in ADAM/ADAMTS, a family of proteins having significant therapeutic potential and substantial sequence similarity to VaH3.</p>
	ANG	
Objavljeno v		Masson & cie; Biochimie; 2013; Vol. 95, issue 6; str. 1158-1170; Impact Factor: 3.123; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Sajevec Tamara, Leonardi Adrijana, Kovačič Lidija, Lang Balija Maja, Kurtović Tihana, Pungerčar Jože, Halassy Beata, Trampuš-Bakija Alenka, Križaj Igor
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	27268903
		Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Hemoragin VaH4 je kovalentna heterodimerna P-III metaloproteinaza iz strupa modrasa s potencialnim protitumorskim delovanjem
	ANG	Hemorrhagin VaH4, a covalent heterodimeric P-III metalloproteinase from Vipera ammodytes ammodytes with a potential antitumour activity
Opis	SLO	V tem članku smo opisali nov visokomolekularen hemoragin VaH4 v strupu modrasa (<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>). Izolirana molekula je kovalentni dimer dveh homolognih podenot, VaH4-A and VaH4-B. Izvedli smo celotno strukturno karakteriacijo podenote VaH4-A, struktura VaH4-B pa je bila določena delno. Obe podenoti spadata v družino P-III kačjih strupnik metaloproteinaz (SVMP). Hemoragična aktivnost te, rahlo kisle SVMP, je pogojena z njeno hidrolizo komponent ECM. VaH4 je tudi medicinsko pomembna, saj je citotoksična rakavim celicam, pa tudi zaradi svoje visoke strukturne podobnosti z ADAM/ADAMTS družino fiziološko zelo pomembnih humanih proteinov z visokim terapevtskim potencialom.
	ANG	In this paper we described a novel high molecular mass hemorrhagin, VaH4 in the venom the nose-horned viper (<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>). The isolated molecule is a covalent dimer of two homologous subunits, VaH4-A and VaH4-B. Complete structural characterization of A and partial characterization of B revealed that both belong to the P-III class of snake venom metalloproteinases (SVMPs). The hemorrhagic activity of this slightly acidic SVMP is ascribed to its hydrolysis of components of the ECM. VaH4 is also significant medically as we found it cytotoxic against cancer cells and due to its substantial sequence similarity to ADAM/ADAMTS family of physiologically very important human proteins of therapeutic potential.
Objavljeno v		Pergamon press; Toxicon; 2014; Vol. 77; str. 141-155; Impact Factor: 2.581; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.722; WoS: TU, YO; Avtorji / Authors: Leonardi Adrijana, Sajevec Tamara, Kovačič Lidija, Pungerčar Jože, Lang Balija Maja, Halassy Beata, Trampuš-Bakija Alenka, Križaj Igor
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

4.	COBISS ID	27046439	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Pregled hemostatsko aktivnih komponent strupa <i>Vipera ammodytes ammodytes</i> <i>ANG</i> An overview of hemostatically active components of <i>Vipera ammodytes ammodytes</i> venom	
Opis	<i>SLO</i>	Strup modrasa povzroči različne patološke učinke pri človeku, najbolj pa sta izražena krvavitev in poškodbe lokalnega tkiva. V tem delu smo opisali sistematično raziskavo komponent strupa, ki povzročajo krvavitve. Odkrili smo encime, ki razgradijo komponente bazalne lamine in zunaj celičnega matriksa, beljakovine v plazmi, ki sodelujejo pri koagulaciji krvi in regulaciji krvnega pritiska, inhibirajo od kolagena, adenzin difosfata in von Willebrandovega faktorja odvisno agregacije/aglutinacije trombocitov, aktivirajo faktor IX, faktor X in protrombin ter inhibirajo nastanek protrombinaznega kompleksa. Devet proteinov, ki vplivajo na hemostazo smo detaljno označili. Od teh so štiri potencialno zanimivi za medicinsko uporabo.	
	<i>ANG</i>	The venom of <i>Vipera ammodytes ammodytes</i> causes different pathologic effects in man, the most pronounced being hemorrhage and local tissue damage. In this paper we described a systematic exploration of the hemostatic part of the venom. We detected venom components that degrade components of basal lamina and extra cellular matrix, proteolyze plasma proteins involved in blood coagulation and regulation of blood pressure, inhibit collagen, adenosine diphosphate and von Willebrand factor dependent platelet aggregation/agglutination, activate factor IX, factor X and prothrombin, and inhibit prothrombinase complex formation. Nine venom proteins that affect hemostasis have been characterized in detail. Four of these have potential for medical exploitation.	
Objavljeno v	Taylor & Francis; 5th International Conference on Exogenous Factors Affecting Thrombosis and Hemostasis, EFATH 2013, 5-6 July 2013, Amsterdam; Toxin reviews; 2014; Vol. 33, no. 1/2; str. 33-36; Impact Factor: 0.842; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.771; WoS: YO; Avtorji / Authors: Sajevec Tamara, Leonardi Adrijana, Križaj Igor		
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
5.	COBISS ID	24433959	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Hemostatko aktivni proteini v kačjih strupih <i>ANG</i> Haemostatically active proteins in snake venoms	
Opis	<i>SLO</i>	V tem vabljenem preglednem članku smo opisali najbolj pomembne proteine v kačjih strupih, ki prizadenejo hemostatski sistem. Za nekatere med njimi je že bile pokazana medicinska uporabnost. Opisali smo tiste komponente strupov, ki so že dobile status zdravil za lajšanje hemostatskih bolezni ali pa za uporabo v diagnostiki teh bolezni. Za večino proteinov iz kačjih strupov, ki delujejo na hemostazo, pa klinične aplikacije v tem trenutku še niso znane. Članek zaključujemo s opisom najbolj obetavnih potencialnih aplikacij.	
	<i>ANG</i>	In this invited review we describe the most relevant haemostatically active proteins from snake venoms. Medical applications have already been found for some of these snake venom proteins. We describe those that have already been approved as drugs to treat haemostatic disorders or are being used to diagnose such health problems. No clinical applications, however, currently exist for the majority of snake venom proteins acting on haemostasis. We conclude with the most promising potential uses in this respect.	

Objavljeno v	Pergamon press; Toxicon; 2011; Vol. 57, no. 5; str. 627-645; Impact Factor: 2.508; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.705; WoS: TU, YO; Avtorji / Authors: Sajevec Tamara, Leonardi Adrijana, Križaj Igor
Tipologija	1.02 Pregledni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

		Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	26438695	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Odkrivanje inovativnih zdravil in diagnostičnih orodij za kontrolo hemostaze z venomiko kače <i>Vipera a. ammodytes</i>
		ANG	Discovering innovative drugs and diagnostic tools to control haemostasis by venomics of the <i>Vipera a. ammodytes</i> snake
	Opis	SLO	V vabljenem predavanju je bila mednarodna strokovna javnost seznanjena z najnovejšimi rezultati našega projekta venomike modrasa. Cilj projekta je opis vseh komponent v modrasovem stupu, ki vplivajo na hemostatski sistem pri človeku. Vsem komponentam strupa, ki interferirajo z agregacije trombocitov, koagulacijsko kaskado ali fibrinolizo je bil ovrednoten potencial za to, da se lahko uporabijo kot spojine vodnice v razvoju novih spojin za diagnostiko in zdravljenje vaskularnih tromboembolijskih motenj in bolezni. V tem smislu najbolj obetavne polipeptide kloniramo za pripravo večjih količin rekombinantnih produktov za nadaljnje poglobljene raziskave.
		ANG	The results of our project, venomics of <i>Vipera a. ammodytes</i> snake, were presented to the international scientific audience. The major goals of the project were to describe all components of the <i>Vipera a. ammodytes</i> venom that effect haemostatic system in men. We have evaluated the potential of individual components of the venom that interfere with platelet aggregation, coagulation cascade or fibrinolysis to become new drug lead candidates for diagnosis and treatment of thromboembolic diseases. In this context, the most promising polypeptides have been cloned to enable preparation of larger quantities of recombinant proteins for further research.
	Šifra	B.04 Vabljeno predavanje	
	Objavljeno v	Société Française pour l'Etude des Toxines = SFET; Toxines; 2012; Str. 31; Avtorji / Authors: Leonardi Adrijana, Sajevec Tamara, Križaj Igor	
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeno predavanje)	
2.	COBISS ID	271845120	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Hemostatsko-aktivni proteini iz strupa modrasa (<i>Vipera a. ammodytes</i>)
		ANG	Haemostatically active proteins from <i>Vipera a. ammodytes</i> venom
	Opis	SLO	Namen doktorskega dela je bil sistematično, s proteomsko in farmakološko analizo, raziskati hemostatskoaktivne komponente, ki so prisotne v strupu modrasa (<i>Vipera a. ammodytes</i>), s ciljem iskanja komponent modrasovega strupa, ki imajo določen potencial, da postanejo kandidatke za nova zdravila za regulacijo hemostaze in/ali, da se lahko uporabijo v diagnostiki motenj hemostatskega sistema pri človeku.
			This doctoral thesis aimed in systematic, proteomic and pharmacological, analysis of the hemostatically active components of <i>V. a. ammodytes</i>

		ANG	venom in order to discover components with potential to become new drug candidates to be used for regulation of hemostasis and/or diagnosis of hemostatic disturbances in men.
	Šifra	D.09	Mentorstvo doktorandom
	Objavljeno v	[T. Sajevec]; 2014; XVI, 177, [66] str.; Avtorji / Authors: Sajevec Tamara	
	Tipologija	2.08	Doktorska disertacija
3.	COBISS ID	27093031	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Venomika strupa modrasa za odkrivanje inovativnih učinkovin in diagnostičnih orodij
		ANG	Venomics of the Vipera a. ammodytes snake to discovery innovative drugs and diagnostic tools
	Opis	SLO	Strupene kače predstavljajo bogat vir visoko selektivnih in učinkovitih bioaktivnih spojin, ki so že privedle do razvoja nekaterih inovativnih zdravil. Kačji strupi so posebej bogati z učinkovinami, ki vplivajo na proces strjevanja krvi. Lahko delujejo pro- ali antikoagulantno na trombocite in faktorje strjevanja krvi ter razgrajujejo fibrinske strdke. V vabljenem predavanju je bila strokovna javnost seznanjena z rezultati našega projekta venomike modrasa. Cilj projekta je opis vseh komponent v modrasovem stupu, ki vplivajo na hemostatski sistem pri človeku. Modrasov strup smo ločili na 208 diskretnih frakcij in z masno spektroskopijo in bioinformatiko ugotovili, da pripadajo 13 različnim družinam proteinov. Vsem komponentam strupa, ki interferirajo z agregacije trombocitov, koagulacijsko kaskado ali fibrinolizo smo ovrednotili potencial za to, da se lahko uporabijo kot spojine vodnice v razvoju novih spojin za diagnostiko in zdravljenje vaskularnih tromboembolijskih motenj in bolezni. V tem smislu najbolj obetavne polipeptide kloniramo za pripravo večjih količin rekombinantnih produktov za nadaljnje poglobljene raziskave.
		ANG	Snake venoms are a rich source of proteins that act on a variety of physiological systems in mammals. Frequently, hemostatic and nervous systems are targeted by snake venom components, also in the case of the nosehorned viper (<i>Vipera a. ammodytes</i> Vaa) venom. This venom causes severe clotting disorders and hemorrhage in human. In an attempt to discover innovative procedures and drugs to treat or diagnose hemostatic disorders in man, the venom has been analysed systematically for its haemostatically active components. In a proteomic approach, proteins that affect integrity of blood vessels, activate or inhibit distinct steps in platelet aggregation and blood coagulation process have been detected and characterized. In our survey we separated the venom in 208 discrete fractions and, using mass spectrometry and bioinformatics, demonstrated that they contain proteins belonging to 13 different families. Among these we identified haemorrhagic proteases, as well as inhibitors of platelet aggregation and agglutination, acting on different platelet receptors and/or their ligands. We identified also components that affect blood coagulation, either activating different steps of this process or inhibiting it. Several more abundant haemostatically active proteins have already been thoroughly described on the molecular level. To comprehensively characterize also those only scarcely present in the venom we constructed Vaa venom gland cDNA library, from which we have been isolating specific nucleotide sequences, cloning them and preparing recombinant venom proteins for further studies.
	Šifra	B.04	Vabljeno predavanje
	Objavljeno v	s. n.]; Venoms 2013; 2013; Str. 13; Avtorji / Authors: Križaj Igor, Sajevec Tamara, Kovačič Lidija, Pungerčar Jože, Leonardi Adrijana	

	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeni predavanja)	
4.	COBISS ID	25997607	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Karakterizacija in kloniranje komponent modrasovega strupa, ki vplivajo na hemostatski sistem pri človeku
		ANG	Characterising and cloning the venom components of the nose-orned viper that affect the human haemostatic system
	Opis	SLO	Zaradi opaznih dosežkov na področju proučevanja hemostaze in z njo povezanih patologij so nas povabili k razgovoru v priznani ameriški reviji "Circulation". V razgovoru je IK opisal dosežke skupine na področju raziskav hemostatsko aktivnih komponent v kačjem strupu. Opisal je namen in cilje raziskav ter projekcijo dela v prihodnosti.
		ANG	Due to the conspicuous results in the study of haemostasis and haemostasis-related diseases we were invited to give an interview for a prominent American journal from this field "Circulation". In the interview IK described achievements of the group in the research of the haemostasis-affecting components in snake venom. He explained the purpose and goals of these studies and gave a projection of the future activities of the group.
	Šifra	F.21 Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Objavljeno v	American Heart Association, etc.; Circulation; 2012; Vol. 126, no. 1; str. f5-f6; Impact Factor: 15.202; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.736; WoS: DQ, ZD; Avtorji / Authors: Križaj Igor	
	Tipologija	1.22 Intervju	
5.	COBISS ID	36689157	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Analiza višjemolekularnih komponent modrasovega strupa, ki vplivajo na strjevanje krvi
		ANG	Analysis of higher molecular mass components of the nosehorned viper venom affecting haemostasis
	Opis	SLO	V višjemolekularnih frakcijah modrasovega strupa, dobljenih po gelski filtraciji surovega strupa, smo določili več hemostatsko aktivnih komponent. Potrdili smo prisotnost tako encimskih komponent (metaloproteinaz, serinskih proteinaz in fosfolipaz A2) kot komponent brez encimske aktivnosti (dizintegrinov in proteinov podobnih lektinom tipa C). Metaloproteinaze in serinske proteinaze so pokazale predvsem fibrinogenolitično aktivnost. Odkrili smo serinsko proteinazo, ki aktivira koagulacijski faktor X, ter serinsko proteinazo z močnim antikoagulantnim učinkom. Prav tako smo identificirali proteine podobne lektinom tipa C in dizintegrine, ki so povzročili inhibicijo agregacije trombocitov. Iz visokomolekularne frakcije modrasovega strupa, po gelski filtraciji surovega strupa, smo v homogeni obliki izolirali metaloproteinazo VaF2. Izražala je afibrinogenolitično aktivnost in ni bila hemoragična.
		ANG	In higher molecular mass fractions of the nosehorned viper venom, after gel filtration, we have determined several haemostatically active components. We have isolated enzymatic components (metalloproteinases, serine proteinases and phospholipases A2) and nonenzymatic components (disintegrins and C-type lectin-like proteins). Metalloproteinases and serine proteinases are mostly fibrinogenolytic. We have found a factor X activating serine proteinase and an anticoagulant serine proteinase. We have also identified C-type lectin-like proteins and disintegrins, which have inhibited platelet aggregation. From high molecular mass fraction after gel filtration of the nosehorned viper venom, we have

		isolated nonhemorrhagic metalloproteinase VaF2 in homogeneous form with afibrinogenolytic activity.
Šifra	D.10	Pedagoško delo
Objavljeno v	[M. Behrič]; 2013; X, 70 f.; Avtorji / Authors: Behrič Manca	
Tipologija	2.11	Diplomsko delo

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

1. KURTOVIĆ, Tihana, LEONARDI, Adrijana, LANG BALIJA, Maja, BRGLES, Marija, HABJANEC, Lidija, KRIŽAJ, Igor, HALASSY, Beata (2012): The standard mouse assay of anti-venom quality does not measure antibodies neutralising the haemorrhagic activity of *Vipera ammodytes* venom. *Toxicon* 59, 709-717 [COBISS.SI-ID 25699367].

2. HALASSY, Beata, BRGLES, Marija, HABJANEC, Lidija, LANG BALIJA, Maja, KURTOVIĆ, Tihana, MARCHETTI DESCHMANN, Martina, KRIŽAJ, Igor, ALLMAIER, Günter (2011): Intraspecies variability in *Vipera ammodytes* venom related to its toxicity and immunogenic potential. *Comparative biochemistry and physiology* 153, 223-230 [COBISS.SI-ID 24083495].

3. KURTOVIĆ, Tihana, BRGLES, Marija, LEONARDI, Adrijana, LANG BALIJA, Maja, SAJEVIC, Tamara, KRIŽAJ, Igor, ALLMAIER, Günter, MARCHETTI DESCHMANN, Martina, HALASSY, Beata (2014): VaSP1, catalytically active serine proteinase from *Vipera ammodytes* venom with unconventional active site triad. *Toxicon* 77, 93-104 [COBISS.SI-ID 27269159].

4. KURTOVIĆ, Tihana, BRGLES, Marija, LEONARDI, Adrijana, LANG BALIJA, Maja, KRIŽAJ, Igor, ALLMAIER, Günter, MARCHETTI-DESCHMANN, Martina, HALASSY, Beata (2011): Ammodytagin, a heterodimeric metalloproteinase from *Vipera ammodytes* venom with strong hemorrhagic activity. *Toxicon* 58, 570-582 [COBISS.SI-ID 25082151].

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine³

9.1. Pomen za razvoj znanosti²

SLO

Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) so vzrok za smrt globalno v kar 29% primerih kardiovaskularne bolezni. Ta žalostna statistika kvalificira kardiovaskularne patologije kot ene najbolj perečih za človeško vrsto. Bolezni ožilja so tudi eden glavnih zdravstvenih problemov prebivalcev Evropske unije. Po podatkih iz leta 2007 te vrste bolezni vsako leto prizadenejo več kot milijon prebivalcev EU. Po napovedih WHO bosta dva glavna vzroka smrti v svetu v letu 2030 ishemična srčna bolezen in kap (World Health Statistics 2008, WHO Statistical Information System – WHOSIS). Iz naštetih razlogov je eden od strateških prioritet Programa za kardiovaskularne bolezni v okviru WHO

(http://www.who.int/cardiovascular_diseases/priorities/en/) razvoj poceni inovacij in sistema za zdravljenje kardiovaskularnih bolezni, ki bi bile dostopne tudi najrevnejšim, za zmanjšanje smrtnosti kot posledice te vrste bolezni.

Antikoagulantni so osnova za preventivo in zdravljenje tromboembolijskih bolezni, ki so eden najresnejših zdravstvenih problemov današnjega časa v razvitih delih sveta, saj trenutno kar okrog 1 % celotne zahodne populacije prejema določeno obliko antitrombotske terapije. V teh delih sveta se človeška populacija pospešeno stara, zato je pričakovati, da se bo problem v prihodnosti še stopnjeval. Glede na to je intenzivno iskanje novih terapevtskih pristopov in substanc v boju zoper trombo-embolijske bolezni zelo relevantno v naporih za izboljšanje človeškega zdravja.

ANG

According to World Health Organization (WHO), 29% of global deaths are caused by cardiovascular diseases, qualifying these kind of pathologies as one of the most critical for the mankind. Venous thromboembolic disease is also a major problem in the European Union,

where it affects according to the 2007 data more than one million people every year. Moreover, WHO predicts that two leading causes of death in the world in 2030 will be ischemic heart disease and stroke (World Health Statistics 2008, WHO Statistical Information System – WHOSIS). Therefore, one of the strategic priorities of the WHO Cardiovascular Disease Programme (http://www.who.int/cardiovascular_diseases/priorities/en/) is to develop cost effective and equitable health care innovations for management of cardiovascular diseases to reduce morbidity and mortality caused by cardiovascular diseases.

Anticoagulants are pivotal for the prevention and treatment of thromboembolic disorders which are one of the most severe medical problems nowadays in developed world indicated by the fact that nearly 1% of the western population receives anticoagulant treatment. It is expected that the problem will expand in the following years, as the population in these parts of the world is rapidly aging. For these reasons, intensive search for novel therapeutic approaches and substances in this medical area is highly relevant.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Cilj predlaganega projekta je bil analiza strupne mašinerije modrasa, ki vpliva na hemostatski sistem pri človeku z namenom njenega razumevanja in izrabe za odkrivanje novih načinov za diagnosticiranje in terapijo hemostatskih motenj pri človeku. Pričakujemo, da bodo pridobljeni rezultati pomembno vplivali na možnosti za izboljšanje človeškega zdravja. Prizadevamo si, da bi zanimivi rezultati, ki smo jih pridobili, vzpodbudili še večjo sodelavo z domačo farmacevtsko industrijo.

Naš projekt je imel vsekakor zelo pozitiven družbeni učinek na področju izobraževanja. Raziskave so prispevale k znanstveni in strokovni rasti raziskovalcev in univerzitetnih učiteljev – več članov raziskovalne skupine namreč sodeluje v dodiplomskih in podiplomskih izobraževalnih programih na različnih visokošolskih ustanovah. Svoje znanje in izkušnje iz laboratorija smo uspešno prenašali na do- in podiplomske študente. Na tematiki tega projekta sta bili tako zaključeni eno diplomsko in eno doktorsko delo. Rezultate naših raziskav smo objavili v precejšnjem številu člankov in to v zelo kvalitetnih mednarodnih znanstvenih revijah. Naše izsledke smo predstavljali na mednarodnih znanstvenih in medicinskih srečanjih, večkrat tudi kot vabljeni predavatelji, in s tem večali prepoznavnost in znanstveni ugled Slovenije v svetu. Posebnega pomena za slovenski raziskovalni prostor in preko njega za celotno družbo je bilo uvajanje in uporaba najnovejših raziskovalnih tehnologij pri našem raziskovalnem delu, npr. proteomike in tehnologije površinske plazmonske rezonance (SPR).

ANG

The main goal of the proposed project is analysis of the nose-horned venom machinery that affects the human haemostatic system in order to understand and exploit these findings for discovery of novel diagnostic and therapeutic procedures to cure human haemostatic dysfunctions. Expected positive results will have high and immediate impact on improvement of human health. Pharmacologically interesting results will enable further strengthening of our collaboration with either domestic or foreign pharmaceutical industry.

Expectedly, the proposed research project will have several indirect positive impacts on our society. These are particularly expected in the field of education. The proposed research activities will in first of all aid to the scientific and professional growth of researchers and university teachers involved – several members of the planned project team are involved in teaching activities at undergraduate and postgraduate levels at different faculties. In the scope of the proposed project students will be educated, a young researcher on her PhD study, as well as several undergraduate students are planned to be involved working on their diplomas. Our knowledge and experiences will be thus directly transferred from the labs to the students. It is our ambition to publish results of our research work in high quality scientific journals and scientific monographs. Together with dissemination of our achievements through lectures on international scientific and medical conferences, we will tend to extend the recognition and scientific reputation of Slovenia in the World. Of the special importance for the Slovenian research sphere and through it for the whole society is also introducing and transferring of the latest research technologies that we are use in our experimental work. Besides proteomics and

the surface plasmon resonance technology (SPR), we use in our research also some of the latest functional genomics techniques, such as DNA-microarrays and as the only group in Slovenia the yeast SGA technology.

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

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

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<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="text"/>	<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					
	Informacijsko-komunikacijska					

G.07.01.	infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

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

13.Izjemni dosežek v letu 2014¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

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:

Institut "Jožef Stefan"

Igor Križaj

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

7.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/6

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

DA-FC-B4-9B-C2-75-8C-63-AE-6A-CD-9F-38-E7-58-56-79-BE-D8-4A