

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/149



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J1-2151
Naslov projekta	Membranski proteini - od statističnih modelov do strukture in mehanizma transporta
Vodja projekta	9775 Marjana Novič
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4173
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.04 Kemija 1.04.02 Strukturna kemija
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	1.04
- Veda	1 Naravoslovne vede
- Področje	1.04 Kemija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Poznavanje delovanja celičnih membran postaja vedno bolj aktualno tako za normalno delujoče celice kot celice v bolezenskem stanju. Skozi membrano prehajajo zdravilne učinkovine in tudi potencialni toksini, zato je poznavanje

mehanizmov prehoda pomembno pri razvoju zdravil in za toksikološke študije. Pri študiju membranskih proteinov je bistvena njihova transportna aktivnost za molekule različnih kemijskih struktur. Namen tega projekta je osvetliti mehanizem transporta skozi membrane in določiti strukturne podrobnosti nekaterih membranskih proteinov. Osnovna tarča predlaganega projekta je bilitranslokaza, to je transporter organskih anionov kot je bilirubin iz krvi v jetrne celice. Poznano je, da bilitranslokazo inhibira vrsta spojin različnih kemijskih struktur, kot so purini, pirimidini, antociani in njihovi derivati. Bilitranslokaza je tako morda vpletena pri delovanju flavonoidov, prav tako pa bi lahko igrala pomembno vlogo pri transportu ostalih polarnih spojin s terapevtskim delovanjem. Ena izmed nalog projekta je zbrati dodatne eksperimentalne podatke o transportni aktivnosti bilitranslokaze za strukturno različne spojine in postaviti model za ocenitev transportne aktivnosti za strukturno modificirane spojine. Korist takšnega modela ni samo napoved aktivnosti za nove spojine, ampak tudi interpretacija molekulskih strukturnih deskriptorjev in specifičnih strukturnih deskriptorjev, ki so uporabljeni med modeliranjem. Ti nam pomagajo pri razumevanju mehanizma transporta. Zaradi nepoznavanja sekundarne strukture bilitranslokaze predstavlja mehanizem njene transportne aktivnosti velik izziv. Zato je v nadaljevanju cilj projekta tudi je predlagati 3D strukturo bilitranslokaze na podlagi modelov. Uporabili bomo dva pristopa, prvič, strukturo transmembranskih segmentov bomo modelirali na podlagi znanih transmembranskih struktur drugih proteinov z uporabo teoretičnih strukturnih deskriptorjev s pomočjo strukture proteinov iz javno dostopnih bank podatkov: Protein Data Bank of Transmembrane Proteins; in drugič, naredili bomo model s pomočjo bio-simulacije s QM/MM in MD študijami izbranih bio-molekularnih sistemov, z upoštevanjem robnih pogojev - transmembranskih segmentov iz prvega pristopa. Aminokislinske segmente bilitranslokaze, ki bodo z modelom napovedani kot transmembranski segmenti, bomo izmerili z NMR tehniko in tako eksperimentalno potrdili njihovo 3D strukturo (alfa-vijačnice, beta-sodček).

ANG

The post-genomic era calls for a deep understanding of the role of cell membranes in normal cell function and disease states. Biological membranes form the barrier through which both drugs and toxic molecules enter the organism. Despite the difficulties encountered in bio membrane research, membrane transport is the common step determining the effect of most drugs. For studying and analyzing membrane proteins, their transport activity for molecules of diverse chemical structure is of crucial importance. The aim of this project is to shed light onto the mechanism of transport and structural details of specific membrane proteins. The main target of interest will be bilitranslocase, the transporter of organic anions, such as bilirubin, from blood to liver cells. It is inhibited competitively by number of structurally diverse molecules, including purines, pyrimidines (with their corresponding derivatives: nucleosides, nucleotides and congeners), anthocyanins and their mono- and di-glycosylated derivatives. Bilitranslocase may thus be involved in the bioactivity of flavonoids; it also makes it a good candidate for being a transport target for other polar molecules with therapeutic application. One of the goals of this project is to enrich the experimental data on the transport activity of bilitranslocase for structurally diverse compounds and develop a data-driven model for prediction of inhibition constants of structurally modified molecules. The benefit of the computational model is not only the prediction of inhibition constants for new molecules; the interpretation of structural descriptors and site-specific variables chosen in the procedure during the model optimization help us to better understand the driving forces that contribute to the transport mechanism. The lack of knowledge of the

secondary structure of bilitranslocase makes any explanation of the transport mechanism challenging. For this reason the next goal will be to build a model of 3D structure of bilitranslocase. Two approaches will be combined: first, the prediction of trans-membrane segments of the protein based on the graph-theoretical descriptors obtained from the information of membrane proteins of known 3D structures available in public databases (Protein Data Bank of Transmembrane Proteins), and second, QM/MM and MD studies of chosen biomolecular system under the constraints as obtained from the first approach. The aminoacid sequence of bilitranslocase predicted as trans-membrane segments will be acquired and assessed for its 3D structure (alpha-helical, beta-barrel) experimentally with the NMR method.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Informacija o 3D strukturi transportnih proteinov je ključna pri študiju transporta skozi membrano. Za številne **membranske transportne proteine** poznamo 3D strukturo, ki je bila določena eksperimentalno. Seveda je določitev 3D strukture z žarki X zahtevna naloga, predvsem zaradi zahtevne procedure izolacije in kristalizacije proteina, pri kateri se sekundarna struktura pogosto izgubi. Transmembranski proteini težko kristalizirajo zaradi njihove narave: hidrofobni membranski segmenti in hidrofilne zanke. Zaradi eksperimentalnih težav igrajo pri postavljanju hipotetičnih struktur in mehanizmov transporta veliko vlogo ***in-silico*** metode. Pomemben vir informacij so eksperimentalni podatki o transportni zmožnosti strukturno različnih spojin. Drug vir informacij pa so podatkovne baze transmembranskih proteinov že poznane strukture. S pomočjo znanih struktur lahko zakodiramo transmembranske domene na način, ki omogoča grupiranje in klasifikacijo glede na njihove strukturne karakteristike segmentov in eventualno lahko postavimo model za napoved transmembranskih segmentov. Ta model nato preverimo s testnim membranskim proteinom, za katerega lahko napovemo potencialne transmembranske domene. Izbrane segmente – potencialne transmembranske dele – smo natančneje obravnavali z metodami kvantna mehanika/molekulska mehanika (QM/MM) in molekulska dinamika (MD).

Raziskave tega projekta so usmerjene predvsem v študij transportnih lastnosti in 3D strukture **bilitranslokaze**, ki še ni eksperimentalno določena. Uporabili smo *in-silico* metode in podatke, pridobljene v preteklih raziskavah. Eksperimentalno smo določili (testirali) niz novih spojin kot inhibitorje bilitranslokaze. Prav tako smo uporabili eksperimentalne podatke NMR spektroskopije za določanje 3D strukture transmembranskih segmentov, napovedanih z modelom.

Zato, da dobimo zanesljive *in-silico* rezultate morajo biti izpolnjeni nekateri pogoji. Prvič, za prvo fazo raziskav mora biti na voljo dovolj velik niz podatkov (različne spojine) s poznanimi inhibicijskimi konstantami za bilitranslokazo. Drugič, kodiranje transmembranskih segmentov, ki so izbrani iz proteinske banke podatkov, mora biti skrbno izbrano na način, da opiše vse morebitne lastnosti, ki temeljijo na zaporednosti aminokislin. Naša osnovna hipoteza je, da zaporedje aminokislin določa strukturne lastnosti transmembranskih proteinov. Tretjič, QM/MM in MD simulacije morajo vsebovati kot robne pogoje čim večje število eksperimentalno določenih podatkov.

In-silico raziskave so bile opravljene v Laboratoriju za kemometrijo, Kemijski inštitut, Ljubljana. NMR raziskave so bile opravljene delno v Centru za NMR, Kemijski inštitut, Ljubljana, delno v sodelovanju s poljskim sodelavcem v Varšavi. Eksperimentalno določanje inhibicije bilitranslokaze je potekalo na Univerzi v Trstu, kjer sodelujemo s Prof. Sabino Passamonti (»Department of Biochemistry, Biophysics and Chemistry of Macromolecules, University of Trieste, Italy«).

Cilji raziskovalnega projekta so podrobno opredeljeni v devetih točkah, ki so bili opravljeni v petih sklopih raziskav:

Sklop 1: **a)** Obogatitev eksperimentalnih podatkov o transportni aktivnosti bilitranslokaze s strukturno raznolikimi spojinami; **b)** Razvoj modela, osnovanega na podatkovnem učnem nizu, za napoved inhibicijskih konstant molekul, ki so strukturno podobne tistim iz učnega niza.

Sklop 2: **c)** Sestavljanje podatkovnega niza trans-membranskih proteinov poznane 3D strukture, ki so dostopni v javnih podatkovnih bazah; **d)** Razvoj novih deskriptorjev, osnovanih na teoriji grafov, za reprezentacijo proteinskih sekvenc, primernih za manipulacijo z računalniki in uporabo v računskih modelih; **e)** Razvoj modelov na osnovi podatkovnih učnih nizov za grupiranje, klasifikacijo in napovedovanje trans-membranskih domen membranskih transporterjev, vključno bilitranslokaze.

Sklop 3: **f)** Preverjanje 3D strukture trans-membranskih domen membranskih transporterjev (v prvi vrsti bilitranslocase) z NMR metodo.

Sklop 4: **g)** Bio-molekularne simulacije (QM/MM, MD) ciljnega proteina – bilitranslokaze; **h)** Vpogled v vezavna mesta trans-membranskih proteinov kot je bilitranslokaza, ter identifikacija tistih delov strukture liganda, ki so vključeni v transportni mehanizem biološkega sistema, ki ga bomo študirali.

Sklop 5: **i)** Zbiranje zaključnih ugotovitev o transportnem mehanizmu bilitranslokaze in ocena verjetnosti, da je bilitranslokaza eden izmed transporterjev polarnih molekul s terapevtskimi učinki.

Večina raziskovalnega dela je potekala v Laboratoriju za kemometrijo na Kemijskem inštitutu (KI) Ljubljana. Eksperimentalni del raziskav - meritve inhibicijskih konstant bilitranslokaze – je bil opravljen na Oddelku za vede o življenju (LS) na Univerzi v Trstu, v sodelovanju s profesorico Sabino Passamonti. Z njeno raziskovalno skupino imamo dolgoletno sodelovanje in tudi formalen sporazum o znanstvenem sodelovanju med LS-UT in KI. QM/MM in MD simulacije smo izvajali v Laboratoriju za kemometrijo in v Laboratoriju za računalniške bioznanosti in bioinformatiko, oboje na KI, ter v Šalijevem laboratoriju, UCLA, USA. NMR spektre smo snemali in interpretirali v sodelovanju z NMR centrom na KI in delno v sodelovanju s poljskim sodelavcem v Varšavi.

V času trajanja projekta smo v celoti dokončali vse aktivnosti petih sklopov pod točkami od **a)** do **i)**. V prvem letu trajanja projekta smo v celoti ali delno opravili naloge prvega sklopa (**a, b**) in delno drugega (**c, d, e**). Določili smo transportno aktivnost bilitranslokaze za približno 60 spojin, večinoma derivatov nukleozidov, cilj pod točko **a)**. To delo je bilo opravljeno v sodelavi z Univerzo v Trstu (praktično usposabljanje mlade raziskovalke ŠŽ, ki je doktorirala 2010. Naredili smo tudi že prve modele na osnovi teh podatkov (cilj **b)**, ki smo jih v nadaljevanju še izboljšali. Rezultati modelov za napovedovanje prehoda molekul skozi celično membrano s pomočjo bilitranslokaze so objavljeni v [Anal. chim. acta. 2011, 705, 322-333, IF=4,555], [Acta chim. slov., 2011, 58, 385-392, IF=1,328] in [Anal. chim. acta, 2013, 759, 28-42. IF=4,555].

Cilj pod točko **c)** smo realizirali z izborom podatkovne baze transmembranskih proteinov. Na tej osnovi smo naredili prve modele (**d-e**) za napovedovanje alfa transmembranskih segmentov. Kot klasifikacijsko metodo smo najprej uporabili protitočno umetno nevronske mreže, v nadaljevanju pa smo razvili klasifikacijske modele na osnovi podpornih vektorjev (support vector machines, SVM). Modeli

delujejo zelo zanesljivo z relativno majhno napako, ocenjeno s pomočjo zunanega niza podatkov, ki jih nismo uporabili pri gradnji modela. Malo večji problem se je pokazal med »benchmarking« testom s povsem novimi proteinskimi sekvencami, katerih 3D struktura je bila rešena nedavno. Zato smo izboljšali modele z uporabo nove metode, SVM. Da smo lahko zgradili take modele, smo morali razviti ustrezno reprezentacijo proteinskih sekvenc, kar sodi pod realizacijo cilja **d**) [SAR QSAR environ. res., 2012, 23, 327-343, IF=2.086]. Rezultate razvoja modelov (cilj **e**) za napovedovanja transmembranskih segmentov smo objavili v [SAR QSAR environ. res., 2009, 20, 741-754, IF=1,682] in [Int. j. chem. model., 2012, 4, 205-219], medtem ko so rezultati za napovedovanje beta transmembranskih segmentov in izboljšane modela alfa segmentov pripravljeni – v fazi rokopisov. Poster, ki ga je na to tematiko predstavila mlada raziskovalka ARC na konferenci CPTMI 2009, je bil nagrajen kot najboljši poster konference. Mlada raziskovalka ARC te rezultate vključuje v doktorsko tezo, ki jo namerava zagovarjati pred junijem 2013.

Tretji sklop (točka **f**) predstavlja preverjanje 3D strukture z NMR metodo za tiste transmembranske domene proteinov, ki so bile napovedane z računskim modelom (TM1-TM4), razvitim v fazi projekta, opisani pod točko **e**). Najprej smo preverili stabilnost TM segmentov z metodami molekulske dinamike (cilj **g**), nato pa nadaljevali z NMR meritvami. Polipeptidne segmente, ki ustrezajo sekvencam transmembranskih segmentov, smo posneli z NMR spektroskopijo (v sodelovanju z NMR centrom KI in v Varšavi). Rezultati prvega polipeptidnega segmenta (TM3) so že objavljeni [PloS one, 2012, 7, e38967-14, IF=4,092], rezultati drugega polipeptidnega segmenta (TM2) pa so poslani v objavo, v revijo BBA Biomembrane, z naslovom "Structural Elucidation of Transmembrane Transporter Protein Bilitranslocase: Conformational analysis of the second transmembrane region TM2 by molecular dynamics and NMR spectroscopy". Študije stabilnosti vseh štirih transmembranskih segmentov (TM1-TM4) so bile narejene za vsak segment posebej v membranskem dvosloju, za vse štiri skupaj pa brez prisotnosti membrane, s pomočjo programa v skupini Andreja Šalija v UC-LA (3-mesečno gostovanje mlade raziskovalke ARC). V nadaljevanju nameravamo raziskati tudi druga dva transmembranska segmenta z NMR spektroskopijo (TM1 in TM4) ter njihove interakcije, kljub zaključenem financiranju s strani ARRS. Na srečo smo uspeli s prijavo EU INTERREG projekta TRANS2CARE, kar nam omogoča nadaljevanje raziskav.

Četrti sklop raziskav (**g, h**) sodi med računsko intenzivne metode. Molekulsko dinamiko (**g**) smo potrebovali za potrditev verodostojnosti rezultatov napovednih modelov; vsi štiri napovedani segmenti so se pokazali kot zelo stabilni. Identifikacija segmentov bilitranslokaze, vključenih v transport preko membrane, je bila najprej narejena s pomočjo analize 3D strukture segmentov, optimiziranih v membranskem dvosloju (**h**), potem pa za TM3 in TM2 še potrjena z NMR meritvami (**f**).

Nazadnje smo v petem sklopu (**i**) zbrali vse ugotovitve računskih in eksperimentalnih metod o transportnem mehanizmu bilitranslokaze in ocenjujemo, da je po vsej verjetnosti bilitranslokaza eden izmed transporterjev polarnih molekul skozi celično membrano, vključno z nekaterimi zdravilnimi učinkovinami. Mehanizem prehoda razlagamo s konformacijskimi spremembami predvsem dveh transmembranskih segmentov bilitranslokaze, TM2 in TM3, ki oba vsebujeta prolin, ki zlomi alfa vijačnico in glede na cis ali trans obliko odpre ali zapre poro, ki omogoča polarnim molekulam prehod preko membrane. Strukturi TM2 in TM3 smo potrdili eksperimentalno, v nadaljevanju pa načrtujemo

raziskave, ki bodo predlagano hipotezo transportnega mehanizma dodatno podprle.

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Namen projekta je bil osvetliti mehanizem transporta skozi membrane in določiti strukturne podrobnosti membranskega proteina bilitranslokaze, ki je transporter organskih anionov kot je bilirubin iz krvi v jetrne celice. Cilji so podrobno opredeljeni v devetih točkah: a) Povečati podatkovni niz strukturno različnih spojin, ki smo jim določili transportno aktivnost za bilitranslokazo; b) Razviti podatkovno-nadzorovan model za ocenjevanje transportne aktivnosti za sorodne molekule; c) Sestaviti podatkovni niz transmembranskih proteinov z znanimi 3D strukturami iz dostopnih podatkovnih baz; d) Razviti nove graf-teoretične deskriptorje segmentov proteina; e) Razviti model za grupiranje, klasifikacijo in napovedovanje proteinskih domen, ki se nahajajo v membranah; f) Preveriti 3D strukture transmembranskih domen proteinov z NMR metodo; g) Bio-molekulska simulacija proteinskih verig; h) Pojasniti vezavna mesta bilitranslokaze in identificirati dele ligandov, ki so vpleteni v transportni mehanizem; i) Oceniti bilitranslokazo kot kandidatko za transport polarnih spojin s terapevtskim učinkom.

Dokončali smo vse aktivnosti pod točkami od a) do i), pri tem da smo pri preverjanju 3D strukture z NMR metodo (f) pridobili nekaj podatkov šele po zaključku projekta, tako da vsi rezultati še niso objavljeni. V sodelovanju z Univerzo v Trstu smo določili transportno aktivnost bilitranslokaze za 81 spojin ter s tem povečali podatkovni niz strukturno različnih spojin (a), ki so služile za izgradnjo modelov (b). Naredili smo izbor podatkovne baze transmembranskih proteinov z znanimi 3D strukturami iz dostopnih baz (c). Na tej osnovi smo razvili strukturno reprezentacijo za aminokislinske sekvence segmentov (d) in nato zgradili modele, osnovane na umetni nevronske mreži in metodi podpornih vektorjev, za napovedovanje alfa in beta transmembranskih segmentov (e). Z NMR metodo smo preverili 3D strukture segmentov TM1-TM4 (f), ki smo jih kupili pri dobavitelju CASLO. Alfa vijačnice so potrjene za tri od teh segmentov, medtem ko za četrtega še nimamo povsem trdnih dokazov in raziskave nameravamo nadaljevati v okviru interreg EU projekta TRANS2CARE, ki smo ga pridobili zaradi dobrih rezultatov v sodelovanju z Univerzo v Trstu. Vse štiri segmente smo računsko preverili z biomolekularnimi simulacijami stabilnosti v membranskih dvoslojih (g); delo je bilo izvedeno delno na KI, delno med trimesečnim gostovanjem naše MR na »Computational Structural Biology« Univerze v Kaliforniji (Sali Lab). Rezultati segmenta TM3 so že objavljeni, rezultati drugega polipeptidnega segmenta (TM2) so poslani v objavo. Na podlagi vseh rezultatov smo ocenili mehanizem vezave ligandov oz. mehanizem aktivnega transporta molekul preko celične membrane (h) s pomočjo bilitranslokaze: pomembno vlogo igrajo vodikove vezi in konformacijske spremembe TM2 in TM3, pogojene s prisotnostjo prolina. Vsi rezultati kažejo, da bi bilitranslokaza lahko prenašala nekatere zdravilne učinkovine preko celične membrane.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Bistvenih sprememb ni bilo. Mladi raziskovalec Nikola Minovski po zaključku doktorata (maj 2011) ni več sodeloval na projektu.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	4723994	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Transportna aktivnost bilitranslokaze, izmerjena eksperimentalno in napovedana z modelom	
	ANG	Experimental determination and prediction of bilitranslocase transport activity	
Opis	SLO	<p>Transportno aktivnost membranskega proteina bilitranslokaze (TC # 2.A.65.1.1), ki ima vlogo prenašalca bilirubina iz krvi do jetrnih celic, smo eksperimentalno določili za različne endogene spojine, zdravila, purinske in pirimidinske derivate. Na osnovi eksperimentalnih podatkov smo na podlagi OECD pravil za QSAR modele zgradili modele, ki opisujejo povezavo med strukturo in aktivnostjo, ter ocenili njihovo napovedno zmogljivost za nove spojine. Domena uporabnosti modelov je bila ocenjena na osnovi evklidskih razdalj s pravili, ki se nanašajo na uporabljene metode modeliranja. Izbor vplivnih strukturnih spremenljivk je bil pomemben korak pri omenjeni metodologiji modeliranja. Interpretacijo izbranih spremenljivk smo naredili z namenom, da bi dobili vpogled v mehanizem prenosa skozi celično membrano preko bilitranslokaze. Validacija modelov je bila izvedena s predhodno določenim napovednim nizom. Klasifikacijski model je bil zgrajen za ločevanje aktivnih od neaktivnih spojin. Doseženi statistični parametri, kot so točnost, občutljivost in specifičnost so 0,73, 0,89 in 0,64. Samo aktivne spojine so bile uporabljene za izgradnjo modela za napoved inhibicijskih konstant bilitranslokaze. Dobljen model ima dobro napovedno zmogljivost; kvadratni koren povprečja kvadratov napak napovednega niza (RMSV) je 0,29 logaritemskih enot Ki.</p>	
	ANG	<p>The transport activity of a membrane protein, bilitranslocase (T.C. # 2.A.65.1.1), which acts as a transporter of bilirubin from blood to liver cells, was experimentally determined for a large set of various endogenous compounds, drugs, purine and pyrimidine derivatives. On these grounds, the structure-activity models were developed following the OECD principles of QSAR models and their predictive ability for new chemicals was evaluated. The applicability domain of the models was estimated by Euclidean distances criteria according to the applied modeling method. The selection of the most influential structural variables was an important stage in the adopted modeling methodology. The interpretation of selected variables was performed in order to get an insight into the mechanism of transport through the cell membrane via bilitranslocase. Validation of the optimized models was performed by a previously determined validation set. The classification model was build to separate active from inactive compounds. The resulting accuracy, sensitivity, and specificity were 0.73, 0.89, and 0.64, respectively. Only active compounds were used to develop a predictive model for bilitranslocase inhibition constants. The model showed good predictive ability; Root Mean Squared error of the validation set, RMSV = 0.29 log units of Ki.</p>	
Objavljeno v	<p>Universitet Anwerpen; Book of abstracts; Analytica chimica acta; 2011; Vol. 705, iss. 1/2; Str. 322-333; Impact Factor: 4.555; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.215; A': 1; WoS: EA; Avtorji / Authors: Župerl Špela, Fornasaro Stefano, Novič Marjana, Passamonti Sabina</p>		
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
2.	COBISS ID	4993562	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Strukturna analiza peptidnega segmenta transmembranskega transportnega proteina bilitranslokaze	
	ANG	Structural analysis of a peptide fragment of transmembrane transporter protein bilitranslocase	

Opis	SLO	<p>Uporaba kombinacije genomskih in post-genomskih pristopov hitro spreminja število identificiranih proteinskih prenašalcev. Transmembranski protein bilitranslokaza (TCDB 2.A.65) je že dolgo zanimiv zaradi svoje funkcije prenašalca organskih anionov. Ugotovljeno je bilo tudi, da je potencialni membranski prenašalec nekaterih učinkovin v celice in prav zaradi njegove vloge pri prenosu učinkovin je izjemno pomembno pridobiti nove informacije o njegovi strukturi. Trenutno je poznana le primarna struktura bilitranslokaze. V tem delu so transmembranski segmenti bilitranslokaze napovedani z že predhodno razvitim kemometrijskim modelom ter njihova stabilnost študirana s simulacijo molekulske dinamike (MD). V nadaljevanju so bile kot model celične membrane uporabljene micelle natrijevega dodecil sulfata (SDS). Predstavljena je 3D struktura peptida z 18 aminokislin dolgo verigo, ki pripada tretjemu transmembranskemu segmentu bilitranslokaze, pridobljena z uporabo večdimenzionalne NMR spektroskopije. Eksperimentalno je bilo potrjeno, da ima eden od transmembranskih segmentov bilitranslokaze strukturo alfa vijačnice s hidrofilnimi deli aminokislin usmerjenih v eno stran in je tako sposoben tvoriti kanal v membrani.</p>	
	ANG	<p>Using a combination of genomic and post-genomic approaches is rapidly altering the number of identified human influx carriers. A transmembrane protein bilitranslocase (TCDB 2.A.65) has long attracted attention because of its function as an organic anion carrier. It has also been identified as a potential membrane transporter for cellular uptake of several drugs and due to its implication in drug uptake, it is extremely important to advance the knowledge about its structure. However, at present, only the primary structure of bilitranslocase is known. In our work, transmembrane subunits of bilitranslocase were predicted by a previously developed chemometrics model and the stability of these polypeptide chains were studied by molecular dynamics (MD) simulation. Furthermore, sodium dodecyl sulfate (SDS) micelles were used as a model of cell membrane and herein we present a high-resolution 3D structure of an 18 amino acid residues long peptide corresponding to the third transmembrane part of bilitranslocase obtained by use of multidimensional NMR spectroscopy. It has been experimentally confirmed that one of the transmembrane segments of bilitranslocase has alpha helical structure with hydrophilic amino acid residues oriented towards one side, thus capable of forming a channel in the membrane.</p>	
	Objavljeno v	<p>Public Library of Science; PloS one; 2012; Vol. 7, iss. 6; str. e38967-1-e38967-14; Impact Factor: 4.092; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.096; A': 1; WoS: CU; Avtorji / Authors: Perdih Andrej, Roy Choudhury Amrita, Župerl Špela, Sikorska Emilia, Zhukov Igor, Šolmajer Tomaž, Novič Marjana</p>	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	4999194	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	SLO	Grafična predstavitev transmembranskih proteinov
		ANG	On graphical representation of trans-membrane proteins
		SLO	<p>V prvem delu članka je predstavljena nova grafična predstavitev proteinov, ki se prične s konstruiranjem mape proteina dobljenega iz matrike, katere elementi predstavljajo sosednje pare amino kislin v primarni strukturi proteina. Pri novi mapi proteina si lahko predstavljamo njene elemente kot vozlišča grafov, ki so poimenovani po istem vrstnem redu kot pri proteinski sekvenci. Najbližja vozlišča so povezana do najbližjega sosedu, ki ima manjšo oznako. V drugem delu je opisano konstruiranje binarnih kod, ki lahko služijo kot deskriptorji proteinov. Primer nove grafične predstavitve proteinov je prikazan na segmentih transmembranskih proteinov vgrajenih v membrano.</p>

		<p>In the first part of this paper, we present a novel graphical representation of proteins, which starts with constructing a map of a protein that is obtained from a matrix, the elements of which record the adjacencies of pairs of amino acids in the primary structure of a protein. Starting with the novel protein map, one interprets its matrix elements as vertices of a graph, which are labelled in sequential order as in the protein sequence. The nearest vertices are connected to the nearest neighbour which has a smaller label. In the second part of this paper, we describe the construction of protein binary codes that can serve as protein descriptors. This novel graphical representation of proteins is illustrated on segments of transmembrane proteins, which are embedded in the membrane</p>
	Objavljeno v	s. n.]; Computational methods in toxicology and pharmacology integrating internet resources; SAR and QSAR in environmental research; 2012; Vol. 23, iss. 3-4; str. 327-343; Impact Factor: 2.086; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.507; A': 1; WoS: DY, EV, JA, MC, YO; Avtorji / Authors: Randić Milan, Novič Marjana, Roy Choudhury Amrita, Plavšić Dejan
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	4344090 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Model za napovedovanje proteinskih transmembranskih segmentov, osnovan na podatkovni bazi</p> <p><i>ANG</i> Data-driven model for the prediction of protein transmembrane regions</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Podatke o sekvencah in transmembranskih segmentih smo zbrali iz podatkovne baze PDB. Celotni podatkovni niz obsega 5800 segmentov. Proteinske sekvence smo upodobili s pomočjo matrike dimenzije 20x20, kjer vsak element označuje aminokislinski par v segmentu. Z metodo nevronske mreže ('Counterpropagation neural network') smo postavili model, ki loči transmembranske segmente od ostalih.</p> <p><i>ANG</i> The data about sequences and transmembrane regions were collected from PDB (Protein Data Bank). The entire studied set consists of 5800 segments. Protein sequences were represented with 20x20 matrices, where each element indicates a pair of neighbouring amino-acids. Using the counterpropagation neural network we construct the model which separates the transmembrane regions.</p>
	Objavljeno v	Gordon and Breach Science Publishers; SAR and QSAR in environmental research; 2009; Vol. 20, no. 7/8; str. 741-754; Impact Factor: 1.682; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.442; WoS: DY, EV, JA, MC, YO; Avtorji / Authors: Roy Choudhury Amrita, Novič Marjana
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	4798234 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Reševanje strukture transmembranskih proteinov s pomočjo informacij iz javno dostopnih podatkovnih baz in eksperimentalnih podatkov o kompetitivni inhibiciji</p> <p><i>ANG</i> Structure elucidation of transmembrane proteins using public-available databases and experimental data on competitive inhibition</p>
		<p>Predstavljen je pristop k analizi kemijske strukture bilitranslokaze, membranskega proteina, ki prenaša bilirubin iz krvi v jetrne celice. Zaporedje aminokislin in informacije o sekundarni strukturi transmembranskih segmentov proteinov s poznano 3D strukturo uporabimo za napovedovanje transmembranskih domen strukturno nerešenih proteinov. S pomočjo poznanih struktur kodiramo transmembranske in ostale domene proteinov na tak način, da jih lahko s pomočjo računalniških programov grupiramo glede na njihove podstrukturne karakteristike in da</p>

Opis	SLO	lahko zgradimo model za napovedovanje transmembranskih segmentov. Prikazan model za napovedovanje transmembranski segmentov identificira štiri transmembranske alfa vijačnice, od katerih vsaka vsebuje okoli 20 aminokislin. Ta rezultat je delno potrjen z eksperimentalnimi študijami uporabe določenih protiteles, ki ustrezajo delom aminokislinskega zaporedja bilitranslokaze. Da bi razjasnili transportni mehanizem bilitranslokaze, smo testirali tudi niz strukturno raznolikih spojin za določitev njihove kompetitivne konstante inhibicije v preiskovanem sistemu protein-substrat. Informacija o kemijski strukturi majhnih molekul, ki ali prehajajo ali blokirajo transmembransko pot preko bilitranslokaze, nam pomaga graditi hipotezo o transportnem mehanizmu študirane biološke sistema.
	ANG	We present an approach towards structure elucidation of bilitranslocase, the membrane protein which transports bilirubin from blood to liver cells. The sequence and secondary structure information of transmembrane segments of proteins with known 3D structure is exploited to predict the transmembrane domains of structurally unresolved target protein. With the help of known structures the transmembrane domains are encoded in such a way that it is possible to group and classify them with respect to their specific sub-structural characteristics and to build a model for prediction of transmembrane segments. We have shown that the model for prediction of transmembrane segments proposed four transmembrane alpha helices, each containing around 20 amino acids. This result is partially confirmed with experimental studies using particular antibodies corresponding to parts of amino acid sequences of bilitranslocase. In order to shed light on the bilitranslocase transport mechanism, we also tested a set of non-congeneric compounds for their competitive inhibition constants in the investigated protein-substrate system. The information about chemical structure of small molecules that either pass or block the transmembrane path enabled by bilitranslocase helps us to build a hypothesis about the transport mechanism of the studied biological system.
	Objavljeno v	Slovensko kemijsko društvo =Slovenian Chemical Society; Acta chimica slovenica; 2011; Vol. 58, no. 3; str. 385-392; Impact Factor: 1.328;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.001; WoS: DY; Avtorji / Authors: Roy Choudhury Amrita, Župerl Špela, Passamonti Sabina, Novič Marjana
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

8.Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	4193562	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Napoved proteinskih transmembranskih segmenov iz sekvenc – kemometrijska analiza transmembranskih proteinov	
	ANG	Prediction of protein transmembrane regions from sequence information - a chemometrics exploration of transmembrane proteins	
Opis	SLO	Amrita Roy Choudhury (doktorska študentka) je dobila nagrado za najboljši poster na konferenci CMTPI ('Computational Methods in Toxicology and Pharmacology integrating Internet Resources'), ki je bila v Istanbulu od 4. do 8. julija 2009. Prikazuje kodiranje sekvenc in gradnjo modela za klasifikacijo transmembranskih segmentov.	
	ANG	Amrita Roy Choudhury was awarded for the best poster at CMTPI ('Computational Methods in Toxicology and Pharmacology integrating Internet Resources'), in Istanbul 4. -8. July 2009. The encoding of protein sequences and building of model for classification of transmembrane	

		segments of proteins.
Šifra	E.02 Mednarodne nagrade	
Objavljeno v	s.n.]; Fifth International symposium on computational methods in toxicology and pharmacology integrating internet resources; 2009; Str. 68; Avtorji / Authors: Roy Choudhury Amrita, Novič Marjana	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
2.	COBISS ID	4558618 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Pojasnjevanje strukture transmembranskih proteinov s pomočjo javno dostopnih baz podatkov in meritev kompetitivne inhibicije
	ANG	Structure elucidation of trans membrane proteins using public-available databases and experimental data on competitive inhibition
Opis	SLO	Informacije o strukturi trans-membranskih segmentov proteinov znanih 3D struktur uporabimo za napovedovanje trans-membranske domene strukturno nerešenih beljakovin. S pomočjo znanih struktur smo kodirali trans-membranske domene in zgradili model za napovedovanje trans-membranske segmentov. V bilitranslokazi smo napovedali štiri alfa-vijačne transmembranske segmente. Ta rezultat je deloma potrjen z eksperimentalnimi študijami s protitelesi.
	ANG	The information about the structure of trans-membrane segments of proteins of known 3D structure is exploited to predict the trans-membrane domains of structurally unresolved target protein. With the help of known structures the trans-membrane domains are encoded and a model for prediction of trans-membrane segments is built. Four transmembrane alpha helices were predicted in bilitranslocase. This result is partially confirmed with experimental studies using particular antibodies corresponding to parts of amino acid sequences of bilitranslocase.
Šifra	B.04 Vabljeni predavanje	
Objavljeno v	Heritage Institute of Technology; Book of abstracts; 2010; Str. 11; Avtorji / Authors: Roy Choudhury Amrita, Novič Marjana, Župerl Špela, Passamonti Sabina	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
3.	COBISS ID	250510848 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Kemometrijski pristop k iskanju povezav med kemijsko strukturo in lastnostjo učinkovin za njihovo načrtovanje in prenos v celice
	ANG	Chemometric treatment of structure property relationship for the design and transfer of drugs into cells: PhD Thesis
Opis	SLO	Del doktorske naloge je bil namenjen študiju inhibicije bilitranslokaze, transmembranskega proteina, katerega osnovna funkcija je prenos bilirubina iz krvi v jetrne celice. Testirali smo interakcije bilitranslokaze s purini, pirimidini ter njunimi derivati. Informacije o kemijski strukturi in inhibicijskih konstantah smo uporabili za gradnjo modelov z nevronske mreže. Pravilno klasifikacijo spojin in dobro napovedno zmogljivost smo dosegli z modelom protitočne nevronske mreže v povezavi z genetskim algoritmom, s povprečno napako (RMS) napovednega niza 0,47 log. enot interakcijske konstante.
	ANG	PhD thesis included the study of inhibition of bilitranslocase, a trans membrane protein, whose primary function is the transfer of bilirubin from blood to liver cells. We have tested the interaction with purine, pyrimidines and their derivatives. Information on chemical structure and inhibition constants were used to construct models with artificial neural networks. Correct classification of compounds and good predictive ability was achieved by counter-propagation neural network model coupled with a genetic algorithm; RMS error for the validation set was 0.47 log units of

		binding affinity.
Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom	
Objavljeno v	[Š. Župerl]; 2010; 241 str.; Avtorji / Authors: Župerl Špela	
Tipologija	2.08 Doktorska disertacija	
4.	COBISS ID	4708634 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Matematična obravnava biokemijskih podatkov za pojasnjevanje strukture transmembranskih segmentov proteinov
	ANG	Mathematical treatment of biochemical data for structure elucidation of transmembrane peptide regions
Opis	SLO	Predstavljen je pristop za pojasnjevanje strukture transmembranskih domen bilitranslokaze (BTL). BTL je membranski protein, ki prenaša bilirubin iz krvi v jetrne celice. Zaporedja in informacije o sekundarni strukturi transmembranskih segmentov proteinov, katerih 3D struktura je poznana, uporabimo za napovedovanje transmembranski domen proteinov, katerih 3D strukture ne poznamo. S pomočjo informacij strukturno poznanih proteinov trans-membranske domene kodiramo na tak način, da jih je mogoče grupirati glede na njihove strukturne karakteristike in zgraditi model za napovedovanje transmembranskih segmentov. Da bi raziskali transportni mehanizem bilitranslokaze, smo testirali niz raznolikih spojin na njihovo kompetitivno inhibicijo v preiskovanem proteinskem sistemu. Informacije o kemijski strukturi majhnih molekul, ki zavirajo bilitranslokazo pri prenosu standardnega substrata, nam pomaga graditi hipotezo o transportnem mehanizmu obravnavanega biološkega sistema.
	ANG	We present an approach towards structure elucidation of bilitranslocase (BTL) transmembrane regions. BTL is a membrane protein which transports bilirubin from blood to liver cells. The sequence and secondary structure information of transmembrane segments of proteins with known 3D structure is exploited to predict the transmembrane domains of structurally unresolved target protein. With the help of known structures the trans-membrane domains are encoded in such a way that it is possible to group and classify them with respect to their specific sub-structural characteristics and to build a model for prediction of transmembrane segments. In order to explore the bilitranslocase transport mechanism, we tested a set of non-congeneric compounds for their competitive inhibition constants in the investigated protein-substrate system. The information about chemical structure of small molecules that inhibit bilitranslocase helps us to build a hypothesis about the transport mechanism of the studied biological system.
Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
Objavljeno v	UP FAMNIT;UP PINT; Abstracts of the 7th Slovenian international conference on graph theory, Bled, Slovenia, 19-25 June 2011; 2011; Str. 118; Avtorji / Authors: Novič Marjana, Passamonti Sabina, Roy Choudhury Amrita, Župerl Špela	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
5.	COBISS ID	4777242 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Napoved transmembranskih beta-segmentov v membranskih proteinih z uporabo kemometrijskih metod
	ANG	Predicting transmembrane [beta]-strands of membrane protein using a chemometric approach
		Kljub pomembnosti transmembranskih proteinov in vedno večjega interesa zanje je velika večina membranskih proteinov še vedno premalo raziskana zaradi težav z eksperimenti. Za zapolnitev te vrzeli v znanju je razvitih več in-silico metod z namenom napovedati transmembranske regije, topologijo in strukturo proteinov. Čeprav lahko [alfa] transmembranske regije vijačnic

Opis	SLO	<p>napovedujemo z veliko natančnostjo, pa naletimo na večje težave v primeru transmembranskih [beta]segmentov. Krajši in manj hidrofobni transmembranski [beta]-segmenti predstavljajo težji problem za napovedne modele. Beta-transmembranski segmenti proteinov so prisotni v zunanji membrani bakterij ter v celih organelah - mitohondriji in kloroplasti. Delujejo kot ionskih transporterji in igrajo pasivno vlogo pri vnosu hranil. V tem delu predstavljamo izkustveni model za napoved transmembranskih beta segmentov J3-predelov transmembranskih domen. Model temelji na podlagi informacij o aminokislinskem zaporedju brez uporabe evolucijskih podatkov iz usklajevanja različnih zaporedij. Podatki o 3D strukturi [beta]-kanalov transmembranskih proteinov so zbrani iz javnih baz PDB in PDBTM. Sekvence ločimo na transmembranske in ne-transmembranske domene. Model je razvit na osnovi nelinearne protitočne umetne nevrnske mreže in s pomočjo matematičnih deskriptorjev, ki popisujejo beljakovinska zaporedja. Model kaže 83-odstotno natančnost napovedovanja, ko je preskušen z zunanjim nizom podatkov. Za nadaljnje izboljšanje napovedi za neznana zaporedja proteinov in odpravljanje lažno pozitivnih in negativnih napovedi smo vpeljali kontrolo na osnovi statističnih podatkov o porazdelitvi aminokislin v beta transmembranskih segmentih. Na koncu smo naredili primerjalno študijo med rezultati našega modela in napovedmi modelov, osnovanih na drugačnih algoritmihi, ki so na voljo za uporabo preko spleta.</p>
	ANG	<p>Despite the importance of transmembrane proteins and growing interest in them, the vast majority of the membrane proteins remains underexplored owing to experimental difficulties. To fill this knowledge gap, several in-silico methods are developed aiming to predict the transmembrane regions, topology and structure. Although prediction for [alpha]-helical transmembrane regions can be made with considerable accuracy, it is not so in case of transmembrane [beta]-strands. The shorter and less hydrophobic transmembrane [beta]-strands are much harder to predict. The [beta]-barrel transmembrane proteins are present in the outer membrane of bacteria, cell organelles like mitochondria and chloroplasts. They function as ion transporters and play role in passive nutrient uptake. In this work, we present a data-driven prediction model of J3-strand transmembrane region. The prediction is done based on amino acid sequence information without using any evolutionary data from multiple sequence alignments. Data on [beta]-barrel transmembrane proteins with atomic resolution structures and known transmembrane region is collected from public domain databases PDB and PDBTM. The protein sequences are separated into their transmembrane and non-transmembrane regions. The model is developed based on non-linear counter-propagation artificial neural network using mathematical descriptors defining the transmembrane protein sequences. The model shows 83% prediction accuracy when tested with external validation set. To further improve the prediction for unknown protein sequences and successfully eliminate false positives and negatives, statistical data on amino acid distribution in transmembrane [beta]-strands is incorporated in the final prediction. Finally, we did a benchmarking study comparing our developed prediction method with other algorithmic techniques and predictors available.</p>
Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
Objavljeno v	Kemijski inštitut = National Institute of Chemistry; Abstract book; 2011; Str. 42; Avtorji / Authors: Roy Choudhury Amrita, Novič Marjana	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Uspešna prijava na razpis Interreg EU projektov, TRANS2CARE (sodelovanje z Univerzo v Trstu)

Trans2care, Kick-Off Meeting, Trst, 21.11.2011

Stopar Katja, Župerl Špela, Novič Marjana: Chemometrics for discovery of knowledge from data; Case study – bilitranslocase

Trans2care, Trans2care Annual Meeting, Ferara, 19. – 20.4.2012

Stopar Katja: Researcher Report; Bilitranslocase and ceruloplasmin genetic sequences
Novič Marjana: Team Manager Report; Towards 3D structure of bilitranslocase

Objava informacije o publikaciji (PLoS ONE, 2012; 7(6): e38967.

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0038967> Povabilo uredniškega odbora serije Global Medical Discovery, ki išče članke, ki bi lahko bili pomembni pri odkrivanju novih zdravil. Na njihovo povabilo smo pripravili kratek povzetek in informacijo o objavljenem članku, v katerem poročamo o rezultatih raziskav strukturnih domen bilitranslokaze <http://globalmedicaldiscovery.com/key-scientific-articles/structural-analysis-of-a-peptide-fragment-of-transmembrane-transporter-protein-bilitranslocase/>.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Transport skozi celično membrano je pomemben v kemijskih in bioloških študijah proteinov, celični biologiji, biotehnologiji, biomedicinskih raziskavah in kemijski biologiji. Informacija o 3D strukturi transportnih proteinov je ključna pri študiju transporta skozi membrano. Vendar manj kot 1% struktur od približno 30000 proteinskih struktur v Protein Data Bank (PDB), pripada membranskim proteinom. Zaradi eksperimentalnih težav je zelo malo struktur membranskih proteinov eksperimentalno določenih, zato je vsaka informacija, pridobljena s pomočjo metod in-silico, pomembna in cenjena.

Namen in cilji projekta kot so: povečanje podatkovnega niza strukturno različnih spojin s transportno aktivnost za bilitranslokazo (BTL); podatkovno-nadzorovan model za ocenjevanje transportne aktivnosti BTL; model za grupiranje, klasifikacijo in napovedovanja proteinskih domen, ki se nahajajo v membranah; NMR meritve za 3D strukture transmembranskih domen proteinov ter Bio-molekulska simulacija BTL (QM/MM, MD) bodo pomagale pri pojasnjevanju vezavnih mest transmembranskih proteinov (BTL) in identifikaciji delov ligandov, ki so vpleteni v transportni mehanizem. Strukturna analiza BTL je do sedaj pokazala, da so štiri segmenti, dolgi okoli 20 aminokislin, vpeti v celično membrano, dve zanki sta zunaj, začetek in konec proteina (N-terminal in C-terminal) pa sta znotraj celice. Glede mehanizma transporta smo potrdili močno vlogo tvorbe vodikovih vezi in konformacijske spremembe transmembranskih segmentov, ki vsebujejo prolin.

Ugotovili smo, da bilitranslokaza prenaša skozi celično membrano nekatere antioksidante kot so flavonoli, predvsem antociane, ter nikotinsko kislino. Prenaša tudi nekatere nukleotide in nukleozide, kar je posebno pomembno zaradi funkcije čiščenja krvi razpadnih produktov v jetrnih celicah. Podrobnejše poznavanje mehanizma transporta nam bo omogočilo identificirati selektivne inhibitorje, ki bi na primer pospeševali prenos flavonolov, vendar zavirali prenos nikotinske kisline. Ocenjujemo, da je po vsej verjetnosti bilitranslokaza eden izmed transporterjev polarnih molekul skozi celično membrano, vključno z nekaterimi zdravilnimi učinkovinami.

Mehanizem prehoda razlagamo s konformacijskimi spremembami predvsem dveh transmembranskih segmentov bilitranslokaze, TM2 in TM3, ki oba vsebujeta prolin, ki zlomi alfa vijačnico in glede na cis ali trans obliko odpre ali zapre poro, ki omogoča polarnim molekulam prehod preko membrane. Poznavanje mehanizma transporta bilitranslokaze je ključno za razvoj novih zdravil, saj lahko ta protein šteje kot pomembno tarčo za zdravilne učinkovine. Po objavi prvih strukturnih podatkov o bilitranslokazi (PLoS ONE, 2012; 7(6): e38967.

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0038967> smo dobili povabilo uredniškega odbora serije Global Medical Discovery, ki išče članke, ki bi lahko bili pomembni pri odkrivanju novih zdravil. Na njihovo povabilo smo pripravili kratek povzetek in informacijo o objavljenem članku, v katerem poročamo o rezultatih raziskav strukturnih domen bilitranslokaze <http://globalmedicaldiscovery.com/key-scientific-articles/structural-analysis-of->

a-peptide-fragment-of-transmembrane-transporter-protein-bilitranslocase/.

ANG

The information about a 3D structure of a membrane protein is of great importance in the study of the protein transport mechanism. However, less than 1 % of structures out of approximately 30000 protein structures found in the Protein Data Bank (PDB), belong to membrane proteins. In the absence of the experimentally obtained 3D structures, every information obtained from in-silico approach is valuable.

The project research objectives, such as enrichment of experimental data on the transport activity of bilitranslocase (BTL) for structurally diverse compounds, data-driven model for prediction of BTL inhibition constants, model for grouping, classification and prediction of trans-membrane domains of membrane transport proteins, NMR experiments for comparison of predicted 3D structure of trans-membrane domains of membrane transport proteins, and bio-molecular simulations (QM/MM, MD) of bilitranslocase will help us getting insight into the binding sites of trans-membrane proteins, such as bilitranslocase, as well as to identify the structural fragments of the ligands involved in the transport mechanism studied in the particular biological system. Structural analysis of BTL has so far demonstrated that the four segments, about 20 amino acids long, are embedded in the cell membrane, two loops are outside, the beginning and end of the protein (N-terminal and C-terminal) are located within the cell. Regarding the mechanism of transport, we confirmed a strong role for the formation of hydrogen bonds and conformational changes of proline containing transmembrane segments. It has been found out that bilitranslocase transports certain antioxidants such as flavonols, especially anthocyanins, and nicotinic acid through the cell membrane. BTL is involved in transport of some of nucleotides and nucleosides, which is particularly important for blood cleansing function of the degradation products in liver cells. Detailed knowledge of the transport mechanism will allow us to identify selective inhibitors, such as in fostering the transfer of flavonols, but hold up the transfer of nicotinic acid. We collected evidence that bilitranslocase might be a drug transporter.

The mechanism of transport might be explained by conformational changes of two proline containing transmembrane segments, TM2 in TM3. The helix breaker proline can be in cis or trans form, which enables opening and closing of the pore which allows the polar molecules to pass the membrane. The knowledge about the mechanism of transport of bilitranslocase would be of crucial importance for drug development, since this protein has been identified as potential drug target. The publication of the first study on 3D structure of transmembrane domains of a membrane transporter bilitranslocase ((PLoS ONE, 2012; 7(6): e38967. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0038967>) attracted the attention of the Target Selection team of Global Medical Discovery Series, who invited us to prepare a short summary for a scientific alert (<http://globalmedicaldiscovery.com/key-scientific-articles/structural-analysis-of-a-peptide-fragment-of-transmembrane-transporter-protein-bilitranslocase/>).

10.2.Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Projekt "Membranski proteini - od statističnih modelov proti strukturi in transportnem mehanizmu" predstavlja raziskave v smernicah Evropskih raziskovalnih prioritet kot tudi prioritet Ministrstva za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo Republike Slovenije - za raziskave genomike in biotehnologije, vezane na zdravje, varne in kvalitetne hrane, ter trajnostnega razvoja. Poznavanje membranskih proteinov je pomembno v medicinski kemiji za razvoj zdravil, kot tudi za optimizacijo generičnih zdravil v farmacevtski industriji.

Danes se močno izkorišča naravne produkte s pozitivnim učinkom za zdravje, kot so npr. antioksidanti, kar nudi možnost novim podjetjem (SME). Rezultati tega projekta lahko pomagajo najti kemijsko modifikacijo posameznega antioksidanta, ki bi bolje penetriral skozi celično membrano s pomočjo bilitranslokaznega transportnega mehanizma.

Med rezultate tega projekta sodi tudi razvoj QSA(P)R modelov. Te rezultate lahko dodatno izkoristi skupnost informacijske tehnologije (IT), ki jih zanima (Q)SAR. Znansteviki informacijske tehnologije so že razvili nova orodja za drugačne aplikacije, ki so prilagodljivi za določene probleme. Za IT skupnost bo velik doprinos razvoj orodij za modeliranje, za identifikacijo novih tarč ter promoviranje novih rešitev za nekatere tematike v QSA(P)R.

Projekt je izvajala interdisciplinarna skupina, kar ustvarja kreativno in pozitivno delovno okolje

in pozitivno vpliva na izboljšane možnosti za kariero mlajših članov raziskovalne skupine. Integriran pristop k reševanju problemov na interdisciplinarnem področju je velikega pomena za današnjo znanstveno in ekonomsko družbo. Ta projekt je intenziviral usposabljanje in utrjuje interdisciplinarne povezave, kar lahko zelo poveča vpliv, omogoča konkurenčne raziskave, ter usposablja znanstvenike, sposobne reševati pereče probleme na tem področju. Kot kazalec relevantnosti predstavljenih raziskav je tudi pred kratkim sprejeti "Inter-reg" projekt (Financiranje predvideno v 2011) TRANS2CARE, v okviru katerega bomo skupaj z mnogimi slovenskimi in italijanskimi partnerji nadaljevali raziskave transmembranskih proteinov v različnih smereh - od teoretičnih strukturnih raziskav do medicinskih aplikacij.

ANG

Project »Membrane proteins - from statistics models towards structure and mechanism of transport« represents the research in the directions of the EU research priorities, as well as priorities of Slovenian research policy - for the research of genomics and health-related biotechnology; food safety and quality; sustainable development. The membrane transport is important in chemical and biological studies of proteins, cellular biology, biotechnology, biomedical research, and chemical biology. The new knowledge about the membrane proteins is important for the development of drugs, as well as for the optimizations employed by pharmaceutical industry directed towards generic drugs.

Nowadays the natural products with beneficial effect for human health, such as antioxidants, are becoming widely exploited and offer a possibility for new companies (SME). The results from this project might help finding a chemical modification of a particular antioxidant compound to better penetrate through the cellular membrane with help of bilitranslocase transport mechanism.

Among the results of this project is also the development of QSA(P)R models. These results can be additionally exploited in the information technology (IT) community interested in (Q)SARs. IT scientists have already developed new tools for other applications, and are flexible to tackle practical problems. For the IT community, the major benefit will be an advancement in their specific modeling tools, identifying new targets, whilst promoting novel solutions for some of the (Q)SAR issues.

The project is performed with the help of an interdisciplinary team, creating a positive impact on the enhanced career prospects of the younger team participants. An integrated approach towards solving problems at interdisciplinary interfaces is of great importance in nowadays scientific and economic society. This project is intensifying training activities at this interface and strengthen the interdisciplinary network that can lead to providing high-impact, economically competitive research and the training of scientists capable of solving urgent problem in this field.

The strengthening of the international connections is an important impact of this project. Through the collaboration with the University of Trieste we have achieved the access to new knowledge and promote our home institution and country. The project is also important for the education of young scientists. One of the goals of this project was to create an interdisciplinary environment that will deliver added value to the participants compared to carrying out their work in single research groups. The PhD students were trained within the network including groups located at two important European institutions in Slovenia and Italy. Through this training, the younger participants acquired stronger and more diverse career opportunities, in particular by getting to interact at the academia-industry interface.

As an indicator of the relevance of the presented research is the recently approved "Inter-reg" project TRANS2CARE (funding provided in 2011) in which we will together with many Italian and Slovenian partners continue the research of trans-membrane proteins in different directions - from theoretical structural research to medicinal applications.

**11. 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

--

12. 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 style="width: 150px;" 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 style="width: 150px;" 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 style="width: 150px;" 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 style="width: 150px;" 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					
	Varovanje okolja in trajnostni					

G.06.	razvoj	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

	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		

14.Izjemni dosežek v letu 2012¹³**14.1. Izjemni znanstveni dosežek**

V raziskavi [PloS one, 2012, 7, e38967-1-e38967-14] smo z 2D NMR spektroskopije potrdili računske modele enega od štirih transmembranskih segmentov (TM3). Alfa vijačnica je zlomljena zaradi prisotnosti prolina (Pro231 v TM3). Model za napovedovanje transmembranskih alfa vijačnic je bil narejen na osnovi metod nevronske mreže in podpornih vektorjev ob sočasni uporabi statistične analize dostopnih alfa TM segmentov s poznano 3D strukturo iz podatkovne baze. Prisotnost prolina v transmembranskih alfa vijačnicah je za razliko od alfa vijačnic v globularnih proteinih zelo pogosta. Gibljivost alfa vijačnic v membranskih transporterjih lahko pojasni mehanizem transporta, saj dinamičnost konformacij transmembranskih segmentov omogoča odpiranje in zapiranje pore skozi membrano. Ker tudi druga alfa vijačnica, ki smo jo napovedali kot transmembranski segment bilitranslokaze (TM2), vsebuje prolin (Pro85), lahko sklepamo, da sta obe vijačnici vpleteni v transportni mehanizem bilitranslokaze.

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Poleg številnih predstavitev in vabljenih predavanj na znanstvenih konferencah in univerzah štejem kot pomemben družbeno – ekonomski dosežek vabilo za intervju dr. Marjane Novič za International Innovation, Dissemination science, research and technology, kjer je opisala delo laboratorija za kemometrijo ter razjasnila kako je evropsko sodelovanje vpivalo na vzpon raziskav v Sloveniji. Predstavila je najnovejše raziskave o mehanizmu prenosa in strukturne informacije o bilitranslokazi, proteinu, ki je odgovoren za prenos organskih molekul iz krvi jetrne celice. Zadnja dognanja o mehanizmu transporta lahko pomagajo pri razvoju novih zdravil.

Objave v International Innovation so pomembne za diseminacijo rezultatov projektov, saj ta časopis berejo tako v znanstvenih krogih kot tudi v evropskih komisijah, kjer se pripravljajo razpisi za projekte, tako da lahko pomaga pri iskanju novih projektov in raziskovalnih partnerjev.

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:

Kemijski inštitut

Marjana Novič

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	13.3.2013
-----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/149

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ 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](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ 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](#)

⁶ 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](#)

⁷ 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](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ 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](#)

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

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² 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](#)

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (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](#)

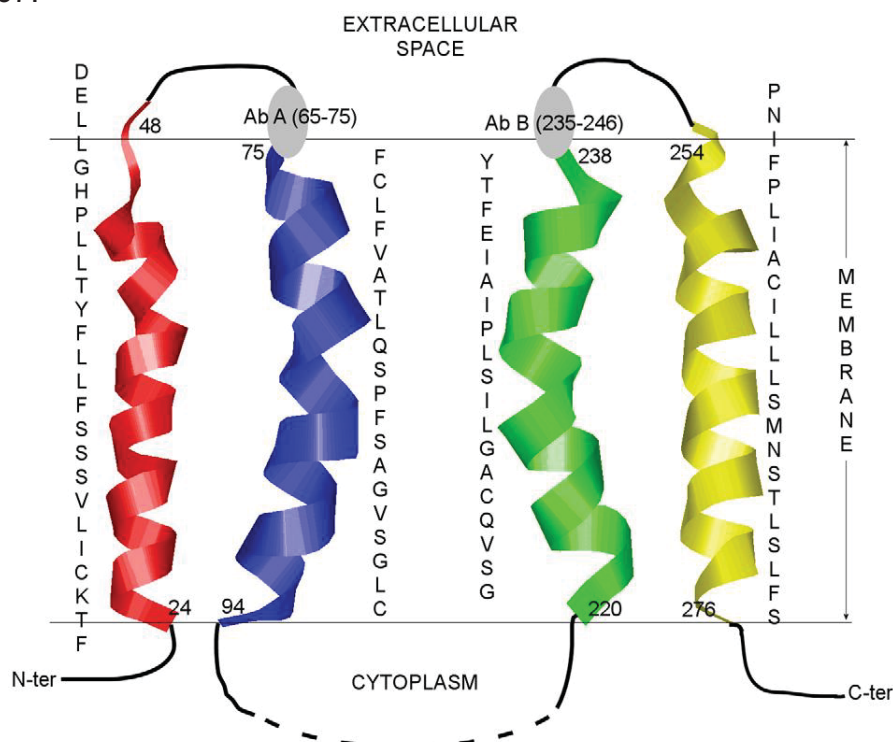
Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00

E6-83-8D-B9-37-4C-04-8E-46-31-5C-30-00-A5-CF-45-57-F5-30-E3

KEMIJA

Področje: 1.04.02 – Strukturna kemija

Dosežek 1: 1.01, Vir: Perdih Andrej, Roy Choudhury Amrita, Župerl Špela, Sikorska Emilia, Zhukov Igor, Šolmajer Tomaž, Novič Marjana, Structural Analysis of a Peptide Fragment of Transmembrane Transporter Protein Bilitranslocase, PLoS one, 2012, 7(6): e38967.



Z interdisciplinarnim pristopom k reševanju 3D strukture transmembranskega proteina **bilitranslokaze**, katerega osnovna funkcija je prenos bilirubina iz krvi v jetrne celice, poskušamo odgovoriti na vprašanje, ali bi lahko zdravilne učinkovine prešle celično membrano bilitranslokaze.

Z modelom za napovedovanje transmembranskih alfa vijačnic, ki je bil narejen na osnovi metod nevronskih mrež in podpornih vektorjev ob sočasni uporabi statistične analize dosegljivih transmembranskih alfa segmentov s poznano 3D strukturo iz podatkovne baze PDBTM, smo napovedali štiri transmembranske segmente (TM1-TM4) v obliki alfa vijačnice. Napovedi smo potrdili tudi s simulacijo molekulske dinamske v lipidnem dvosloju. S pomočjo 2D NMR spektroskopije smo dokazali, da je en od štirih napovedanih transmembranskih segmentov (TM3) v obliki alfa vijačnice, ki je približno na sredini nekoliko zlomljena (prekinjena) zaradi prisotnosti prolina (Pro231 v TM3). Hidrofilni deli aminokislin TM3 so usmerjeni v eno stran, kar nakazuje na sposobnost tvorjenja pore v membrani.