

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2011-1/209

## ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J1-0848
<b>Naslov projekta</b>	Antikancerogeno delovanje bioaktivnih spojin cianobakterijskega izvora v nasprotju možganskih tumorjev - glioblastomov
<b>Vodja projekta</b>	7802 Tamara Lah Turnšek
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	5.193
<b>Cenovni razred</b>	D
<b>Trajanje projekta</b>	02.2008 - 01.2011
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	105 Nacionalni inštitut za biologijo
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	103 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)

#### 1.1. Družbeno-ekonomski cilj<sup>1</sup>

<b>Šifra</b>	02.
<b>Naziv</b>	Okolje

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

1.	Naziv	
	Naslov	
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

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

Značilna delovanja številnih predstavnikov biološko aktivnih snovi naravnega izvora se že tisočletja uporabljajo za zdravljenje različnih bolezni, vključno z rakavimi obolenji. V sklopu tega projekta smo želeli raziskati delovanje »netoksičnih« cikličnih peptidov, ki jih proizvajajo cianobakterije (CCP) na različne celične linije humanega izvora, ki so prisotne v raznoliki populaciji mikrookolja malignega glioblastoma (GBM), ki je najbolj pogost in malignen možganski tumor. Terapevtske tarče niso neobhodno le GBM celice, temveč tudi različne vrste stromalnih celic, ki podpirajo tumorsko razrast, kot so to nevtrofilni levkociti, ki med drugim izločajo proteolizni encim elastazo, za katero so menili, da sodeluje pri raztapljanju izvenceličnega matriksa in omogoča tumorskim celicah migracijo. Nekateri »netoksični« CCP inhibirajo vrsto proteoliznih encimov, med drugimi tudi serinske proteinaze, kot je elastaza.

Na drugi strani lahko CCP reagirajo s citoskeletnimi elementi (sesalskih) celic, pred kratkim pa je bila odkrita celo sposobnost indukcije lize z virusi inficiranih prokariotskih celic. V tem projektu smo torej želeli preverjati biološke aktivnosti predstavnikov dveh glavnih skupin CP, depsipectida planktopeptina BL1125 (PP BL1125) in CP z ureido vezjo, anabenopeptinov B (An B) in F (An F), ki so bili izolirani iz cianobakterije *Planktothrix rubescens*. Ker so rezultati raziskav pokazali, da uporabljeni CCP vendarle niso netoksični, smo jih poimenovali ne-hepatotoksični CCP (n-hCCP).

Še posebej smo: (a) želeli preučiti kinetične parametre CCP, da bi ugotovili ciljne proteaze na katere delujejo in njihovo primernost za nadaljnjo uporabo za tretiranje glioblastomov; nadalje (b) preskusiti delno potrjeno delovanje CP na polimerizacijo in agregacijo proteinov celičnega citoskeleta in s tem vpliv na migracijo celic in (c) preveriti smo želeli sposobnost indukcije litičnega cikla pri humanih celicah s tiho virusno okužbo, kar bi morda lahko uporabili tudi na GBM celicah, kjer bi po analogiji viruse vnesli s celičnimi vektorji, ki jih proučujemo v laboratoriju v okviru Programa P1.0245 in drugih projektov.

Po preliminarnih rezultatih se je izkazalo, da lahko delo na projektu razdelimo v tri sklope.

- I Prvi del je zajemal izolacijo in karakterizacijo CCP ter preučitev učinkov in inhibitornih lastnosti izbranih CCP s stališča nekaterih delno poznanih bioloških aktivnosti, še posebej proteolizne inhibicije.
- II V drugem delu smo določili vpliv treh pogostih CCP na izbrane celične procese normalnih in malignih človeških možganskih celicah. Matičnih celic iz razlogov navedenih spodaj – nismo uporabljali.
- III V Tretjem sklopu smo se zato osredotočili na ekotoksikološke raziskave, kjer smo preučevali vlogo in pomen cianobakterijskih citoskeletnih elementov pri celični lizi ter posledično sproščanju cianopeptidov v okolje.

#### **PRVO LETO**

##### **Eksperimentalni del:**

- V začetni fazi projekta smo se osredotočili na izolacijo cianobakterijskih cikličnih peptidov s pomočjo HPLC/PDA in masno spektroskopijo.
- Pričeli smo z biokemijsko karakterizacijo oz. identifikacijo inhibitornih lastnosti

izoliranih ne-hepatotoksičnih cikličnih cianopeptidov (n-hCCP) z uporabo sintetičnih paranitroanilidnih (p-NA) in aminometilkumarinskih (AMC) substratov ter v nadaljevanju tudi z substratom naravnega izvora - elastinom. Meritve smo izvajali spektrofotometrično oz. spektrofluorimetrično.

- Proučevali smo učinke n-hCCP na normalne človeške astrocite in glioblastomske celice. Določili smo vpliv teh substanc na viabilnost normalnih človeških astrocit in njihovih malignih vrst – glioblastomskih celic z merjenjem spremembe metabolne aktivnosti (z določitvijo njihove citotoksičnosti) in vpliva na proliferacijo (MTT test) ter s samim štetjem celic ob uporabi barvila Tripan modro.

- Glede na ugotovitev, da je BL1125 elastazni inhibitor, smo v kliničnem delu projekta v prvem letu tudi imunohistokemijsko določevali neutrofilno elastazo v vzorcih glioblastomov (GBM Podatke za bolnike (okoli 20 vzorcev) smo dobili v sodelovanju s Kliniko za Nevrokirurgijo UKC v Ljubljani (sodelovanje s prof. dr. V Dolencem)). Rezine parafinskih količkov tumorjev so pripravili na Oddelku za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani (sodelovanje z prof. dr. Nino Gale in dr. Maro Popovič). Rezine smo označevali s protitelesi proti več različnim tumorskim markerjem.

### **Rezultati:**

Iz naravnega cveta *Planktothrix rubescens* smo uspešno izolirali ne-hepatotoksične ciklične cianopeptide (n-hCCP) planktopeptin BL1125 (PP BL1125) in anabenopetina B in F (AnP B in F) ter jih okarakterizirali na podlagi spektrov in retenzijskih časov.

Dokazali smo, da je depsi-peptid PP BL1125 močan kompetitivni inhibitor s tesno vezavo na levkocitno (HLE) in pankreasno (PE) elastazo (HLE  $K_i = 2,9$  nM; PE  $K_i = 7,2$  nM) ter kimotripsina ( $K_i = 6.1$  nM). Planktopeptin BL1125 ne inhibira tripsinskih peptidaz. Na drugi strani sta AnP B in F bolj selektivna, saj inhibirata obe elastazi (AnP B/HLE  $K_i = 0,73$   $\mu$ M; AnP F/HLE  $K_i = 0,42$   $\mu$ M; AnP B/PE  $K_{i,1} = 1,5$   $\mu$ M;  $K_{i,1}$  AnP F/PE = 1,2  $\mu$ M), vendar ne inhibirata kimotripsina. Anabenopeptina sta linearna kompetitivna inhibitorja elastaz z dvema konstantama inhibicije (AnP B/PE  $K_{i,2} = 59$   $\mu$ M;  $K_{i,2}$  AnP F/PE = 65  $\mu$ M), kar kaže na vezavo dveh molekul inhibitorja na dve različni mesti na encimu.

Vsi trije testirani n-hCCP kažejo citotoksičnost in znižajo metabolno aktivnost normalnih človeških astrocit po 24 urah, medtem ko so glioblastomske celice U87 MG bolj odporne, kar ni nepričakovano. Zaznali smo citotoksične učinke na normalne celice tudi pri daljšem učinkovanju (42 – 96 ur). Predpostavili smo citostatsko delovanje n-hCCP.

Rezultati imunohistokemijskega določevanja neutrofilne elastaze v vzorcih glioblastomov v nasprotju s pričakovanjem in literaturnimi podatki niso pokazali močnega barvanja oz. koncentracije tega encima. Kot pričakovano, se je ta seveda nahajal v glavnem v infiltrirajočih nevtrofilnih levkocitih, ki indicirajo inflamatorni odziv tumorjev. Zelo močno pa je bila prisotna reaktivnost na makrofage, ki smo jih barvali s CD68 in so vsebovali tudi znatne količine katepsina B. Med obema markerjema obstoji določena korelacija. Problem takšne interpretacije je v tem, da tudi glialne celice v glioblastomih začno izražati ta marker in so tako po vsebnosti CD68 in katepsina B primerljive z makrofagi. Oboje seveda korelira z malignostjo, vendar se prav tu izgubi značilna razlika med obema vrstama celic. Rezultati se navezujejo na publikacijo *Strojnik in sod. (Anticancer Research, 2009)*.

### Zaključki:

- **Zaključimo lahko, da lahko depsipeptid PP BL1125 uvrstimo med najmočnejše inhibitorje elastaz iz družine depsipeptidov in je sposoben inhibirati delovanje encimov ne samo na umetnih substratih, temveč tudi razgradnjo elastina naravnega izvora. Ugotovili smo, da testirani n-hCCP ne inhibirajo tripsina, urokinaze, kalikreina 1 in cisteinskih peptidaz (katepsinov B, K, L in S). Rezultati so objavljeni v delu *Bubik in sod. (Biological Chemistry, 2008)* (glej zgoraj).**
- **Ne glede na zgornje rezultate aktivnost n-hCCP ni neposredno uporabna za razvoj protimorskih agensov, ki temelje na inhibiciji elastazne aktivnosti v primeru glioblastoma. Seveda to ne izključuje njihove možne uporabe v drugih boleznih kot je npr. kronično vnetje.**
- **Naši preliminarni rezultati pa so nadalje podobno kakor tudi podatki iz literature pokazali na to, da bi testirani n-hCCP utegnili vplivati tudi na znotrajcelično strukturno organizacijo preko vpliva na proteinske fosfataze in citoskeletne elemente, kar smo v naslednjem letu tudi testirali.**

### DRUGO LETO:

#### Eksperimentalni del:

- V drugem letu smo nadaljevali s preučevanjem vpliva izoliranih n-hCCP na izbrana celična modela *in vitro*. Z metodo imunocitokemijskega barvanja proliferacijskega markerja Ki-67 smo želeli potrditi negativni vpliv le-teh na celično proliferacijo.

- Nadaljevali smo z biokemijsko karakterizacijo n-hCCP ter v poskuse vključili še hepatotoksični ciklični cianopeptid mikrocistin-LR. Mikrocistin-LR (MC-LR) je najbolj znan predstavnik skupine hepatotoksičnih heptapeptidov - mikrocistinov, katerih toksično delovanje je že bilo dokazano na različnih celičnih nivojih.

- Spektrofotometrično smo z uporabo p-NA substrata preučevali vpliv n-hCCP in MC-LR na aktivnost Ser-Thr proteinski fosfatazi -1 in -2A.

- Z imunocitokemijskim barvanjem citoskeletnih elementov – mikrotubulov in aktinskih filamentov - smo preverili predpostavko, da izbrani n-hCCP vplivajo tudi na znotrajcelično organizacijo.

- Vpliv n-hCCP na invazijski potencial glioblastoma U87 smo preverili z 2D modelom Boydenovih kamric.

#### Rezultati:

Poskusi z imunocitokemijskim barvanjem proliferacijskega markerja Ki-67 so potrdili predhodne rezultate, saj smo zaznali znižamo proliferacijsko aktivnost celic NHA že po 48 urah. Presenetljivo smo tudi pri celicah U87 zaznali rahlo znižano proliferacijo, ki pa ni bila statistično značilna.

Ugotovili smo, da MC-LR ne inhibira levkocitne in pankreasne elastaze, kimotripsina, urokinaze in kalikreina 1. V nasprotju z n-hCCP pa MC-LR močno inhibira tripsin ( $IC_{50} = (0,21 \pm 0,13) \mu M$ ), kar je popolnoma nova ugotovitev glede biološke aktivnosti MC-LR. Namen poskusov je bil pridobiti kinetične in biokemijske podatke, ki nam bodo v pomoč pri študijah strukturnih lastnosti n-hCCP ter pri ugotavljanju učinkov

le-teh na normalne in tumorske celice v primerjavi z znanim hepatotoksičnim ciano-peptidom MC-LR.

Dinamična fosforilacija in defosforilacija proteinov predstavljata zelo pomemben mehanizem celične regulacije. Protein fosfatazi -1 in -2A (PP-1 in PP-2A) sta dve izmed najpomembnejših Ser-Thr fosfataz, katerih aktivnost je močno inhibirana z MC-LR. V naših poskusih smo dokazali, da so tudi testirani n-hCCP inhibitorji PP-1 in PP-2A, vendar v manjši meri kot MC-LR ( $IC_{50}$  za MC-LR v nM območju,  $IC_{50}$  za n-hCCP v  $\mu$ M območju). MC-LR smo uporabili kot pozitivno kontrolo, naši rezultati pa se ujemajo z literaturo.

Inhibitorno delovanje biološko aktivnih substanc vodi do hiperfosforilacije in posledično do številnih učinkov na celičnem nivoju, tudi do apoptoze. Spremembe v organizaciji elementov citoskeleta (mikrotubulov in aktinskih filamentov), ki so najverjetneje posledica inhibicije fosfataz, smo opazili tudi *in vitro* na sesalskih celicah (normalnih in tumorskih), ki smo jih izpostavili n-hCCP v netoksičnih koncentracijah. V glioblastomskih celicah n-hCCP povzročajo reorganizacijo mikrotubulov, koncentriranje le-teh okrog jedra, agregacijo aktinskih filamentov vzdolž celične membrane in inhibicijo tvorbe aktinskih skupkov, ki imajo pomembno vlogo pri gibljivosti celic. Normalne astrocite so bile žal v primerjavi s tumorskimi veliko bolj občutljive.

Pri testiranju vpliva n-hCCP na invazijski potencial celic U87 smo ugotovili, da le-ti na invazijo ne vplivajo statistično značilno, se pa v 24 urah delež invadirajočih celic rahlo zniža.

#### Zaključki:

- **Zaključimo lahko, da smo prvi določili inhibicijske parametre protein fosfataz -1 in -2A (PP-1 in PP-2A) za izbrane n-hCCP (članek v pripravi).**
- **Prvič smo tudi opisali vpliv izbranih n-hCCP na gibljivost (glioblastomskih) celic, ki se kaže predvsem zmanjšanjem številu pseudopodijev. Normalne celice (astrocite) so bile žal v primerjavi s tumorskimi veliko bolj občutljive, oboje pa dokazuje prisotnost citolitičnega in citostatskega učinka CCP na človeške celice (članek v pripravi). Opaženi marginalni vpliv n-hCCP na invazijo je najverjetneje posledica citostatskega učinka n-hCCP na celice.**

#### TRETJE LETO:

Zaradi težav pri pridobivanju ustreznih glioblastomskih vzorcev za izolacijo primarnih GBM celic na eni strani ter na drugi zaradi problemov, ki so se pokazali v zvezi s kultiviranimi mezenhimskimi matičnomo celicami (MSC) iz kostnega mozga (*objavljeno v Torsvik e tal., Cancer Research, 2010*), smo del projekta, kjer smo načrtovali z n-hCCP vplivati na interakcije med obema vrstama celic, opustili.

Raziskave smo usmerili bolj na področje ekotoksikologije. Nadaljevali smo z razvijanjem metode imunocitokemijskega (IC) barvanja cianobakterijskega citoskeletnega ogrodja akseničnih laboratorijskih monokultur in naravnih vzorcev cianobakterij z uporabo protiteles proti sesalskemu  $\alpha$ -tubulinu. V predhodnih raziskavah smo namreč proučili pojav indukcije litičnega cikla temperiranih cianofagov pri cianobakterijah ter različnimi metodami (tudi imunocitokemijo) potrdili, da biološka aktivnost n-hCCP lahko sproži indukcijo litičnega cikla, ki posledično vodi v propad cianobakterijskega cveta (*objavljeno Sedmak in sod., 2009*).

#### Eksperimentalni del:

- Proučevali in optimizirali smo imunocitokemijsko (IC) zaznavanje cianobakterijskega

citoskeletnega ogrodja akсениčnih laboratorijskih monokultur in naravnih vzorcev cianobakterij.

- Z Western blot metodo smo na proteinskih ekstraktih različnih cianobakterijskih sevov določili prisotnost in molekulsko maso z IC metodo zaznanih proteinov.

- S programom BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) smo poiskali podobna zaporedja v proteinski banki in identificirali tiste proteine, ki imajo iskano aminokislinsko zaporedje.

- Spremljali smo pojavljanje toksične cianobakterije *Planktothrix rubescens* v Blejskem jezeru. Izvedli smo osnovne meritve karakterizacije cianobakterij ter s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) identificirali vsebnost cianobakterijskih hepatotoksičnih mikrocistinov (hCCP) in ne-hepatotoksičnih cikličnih cianopeptidov (n-hCCP), ki jih bomo v prihodnje tudi izolirali.

#### Rezultati:

- Z novo IC metodo smo uspešno zaznali tubulinu podobne elemente v različnih cianobakterijskih vzorcih, predvsem v času delitve (delitvena plošča) in lize.

- Z iskanjem podobnih zaporedij v proteinski banki smo identificirali proteine z iskanim aminokislinskim zaporedjem in ugotovili, da cianobakterija *Microcystis aeruginosa* PCC7806 ne vsebuje tubulina; našli pa smo nove kandidate, na katere se lahko uporabljeno protitelo veže – na neimenovani protein (Unnamed protein product), ki spada v superdružino AAA motornih proteinov.

- Western blot kvantifikacijska metoda ni bila popolnoma uspešna za vse cianobakterijske vzorce, saj je bila prisotna močna nespecifična vezava. Pri vseh vzorcih smo poleg interakcij pri nižjih Mw dobili izrazit band pri molekulski masi 55kDa ali malo višje, kar sicer popolnoma ne ustreza Mw neimenovanega proteina (68 kDa).

- Ob spremljanju toksične cianobakterije *Planktothrix rubescens* v Blejskem jezeru smo ugotovili, da se cvet v daljšem obdobju (september-januar) pojavlja v različnih plasteh jezera, sprva v metalimnijskem območju, kjer uspevajo organizmi pri nižjih intenzitetah svetlobe, ter izraziteje kasneje kot površinski cvet. Ne glede na globino masovnega pojava, smo v različnih časovnih obdobjih zaznali prisotnost enakih toksinov, vendar se količina le-teh spreminja. V nadaljevanju bomo posamezne cianobakterijske toksine in n-hCCP tudi izolirali.

#### Zaključki:

- **Zaključimo lahko, da novo odkritje, da je možno z anti-tubulinskimi protitelesi označevati citoskeletne elemente tudi pri cianobakterijah in ostalih fitoplanktonskih organizmih odpira številne možnosti aplikacije. Predpostavljamo posredno detekcijo citoskeletnih elementov preko AAA motornih proteinov.**
- **Nadaljne ekotoksikološke raziskave lahko vodijo tudi k odkritju novega proteina, ki sodeluje pri zgoraj omenjenih procesih. Iz rezultatov spremljanja pojava cvetenj v naravnem okolju (Blejsko jezero) lahko sklepamo na časovno dinamiko izražanja različnih vrst n-hCCP, kar bomo proučevali v nadaljnjih ekotoksikoloških raziskavah.**

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

Prvi cilj našega projekta je bilo ovrednotenje cianobakterijskih peptidov s stališča vpliva na fenotipsko obnašanje normalnih možganskih celic (astrocit in infiltrirajočih levkocitov, to so polimorfonuklearni neutrofilni limfociti - PMNL) v primerjavi z malignimi glioblastomskimi celicami istega izvora. Želeli smo poiskati molekularne mehanizme opazovanih sprememb in lastnosti teh celic pod vplivom n-hCCP zaradi možne uporabe teh naravnih spojin v antikancerogenem delovanju.

Drug cilj je bil po analogiji z vplivi n-hCCP v naravnem vodnem okolju (liza cvetov) preučiti pojav tudi v skupkih – ko-kulturah tumorskih in mezenhimskih matičnih celic.

Menimo, da je bil prvi cilj v celoti realiziran, saj smo ugotovili, da imajo poleg znanega hepatotoksičnega MC-LR tudi izbrani n-hCCP veliko biokemijskih aktivnosti, ki kažejo na potencialno uporabo v farmaciji, medicini, kmetijstvu in različnih tehnoloških procesih (Bubik in sod., 2008). Močna inhibicija neutrofilne elastaze bi bila lahko farmakološko pomembna, vendar v naših vzorcih GBM nismo ugotovili velike vsebnosti teh celic, kar je v nasprotju z nekaterimi literaturnimi podatki. Zato smo v tej stopnji nadaljnih poskusov v zvezi z anti-elastazno aktivnostjo depsipectida PP BL1125 nismo izvajali. Naše raziskave so pokazale, da so izbrani n-hCCP bolj toksični za normalne astrocite kot za GBM celice kar ni nepričakovano, saj so tumorske celice veliko manj občutljive na spremembe v svojem mikrookolju. Vendar zaključujemo, da tudi GBM celice kažejo specifične spremembe v viabilnosti in morfologiji ter posledično nekoliko zmanjšani migratorni sposobnosti kot posledica izpostavitve CCP. V poskusih na človeških *in vitro* modelih smo pridobili ogromno podatkov, ki nas usmerjajo v nadaljne študije vpliva biološko aktivnih snovi iz cianobakterij na *in vitro* modelih sesalskih celic.

Drugi cilj ni bil realiziran zaradi objektivnih težav (glej spodaj); zaradi delnega pomanjkanja primarnih GBM celičnih kultur bolnikov, zato smo delali le z modelnimi celičnimi kulturami GBM (U87-MG), na drugi strani pa smo imeli probleme s pridobivanjem normalnih mezenhimskih celic kostnega mozga (MSC-BM) in njihovo dozdevno transformacijo – kar se je izkazalo za kontaminacijo s tumorskimi celicami. Slednje se je istočasno dogajalo v več laboratorijih v svetu in je opisano v naši (so-avtorstvo) publikaciji (*Torsvik in sod., Cancer res 2010*). Zato smo delo preusmerili v študij n-hCCP in njihovih učinkov v naravnem vodnem okolju. Uspelo nam je opisati številne učinke teh naravnih peptidov in spremembe v njihovem izražanju v vodnem okolju, kar ponuja popolnoma nove podatke na področju ekotoksikologije, saj opisujejo njihovo vlogo v naravi.

Menimo torej, da smo projekt v celoti uresničili ter seveda deloma tudi s pomočjo sofinanciranja preko drugih projektov pridobili še dodatne rezultate in s tem morda celo presegli zastavljene cilje tega projekta.

## **5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>5</sup>**

Načrtovano delo za 1. In 2. leto smo realizirali v celoti, v tretjem letu pa je prišlo zaradi objektivnih razlogov, pogojenih s samimi rezultati začetnega dela projekta, do smiselnih preusmeritev v poteku raziskovalnega dela.

- a) V raziskovalnem programu projekta je bila predvidena opredelitev kliničnega pomena potencialnih tarčnih encimov CCP v prognozi glioblastomov, kar se je izkazalo za nesmiselno zaradi nizkega izražanja elastaz v GBM, kar je v

nasprotju z dvema publikacijama v literaturi. Razlike temeljijo morda na različnih subpopulacijah proučevanih GBM ali pa premajhni močni populaciji preučevanih vzorcev (n=20).

- b) Prav tako smo del raziskav želeli nameniti tudi študiju sprožanja litičnega učinka CCP na transformirane hMSC v ko-kulturah GBM sferoidov. Vzroki za opustitev tega dela so navedeni zgoraj.
- c) Delo smo zato nadomestili z dodatnimi, nenačrtovani raziskavami v ekotoksikološkimi delu projekta v tretjem letu.

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

Znanstveni rezultat			
1.	Naslov	SLO	Citotoksične in inhibitorne aktivnosti izbranih ne-hepatotoksičnih cikličnih peptidov iz cianobakterij
		ANG	Cytotoxic and peptidase inhibitory activities of selected non-hepatotoxic cyclic peptides from cyanobacteria
	Opis	SLO	Članek predstavlja rezultate biokemijskih raziskav, kjer smo dokazali in ovrednotili inhibicijske sposobnosti izbranih n-hCCP na delovanje nekaterih serinskih in lizosomalnih cisteinskih proteaz. Prikazani so tudi vplivi n-hCCP na fenotipske lastnosti normalnih in tumorskih možganskih celičnih linij, kot je viabilnost in proliferacija.
		ANG	The article describes the results of biochemical study, where we demonstrated and validated inhibitory activities of the selected n-hCCP against some of serine and lysosomal cysteine proteases. Also some of their effects on normal and tumour cell line phenotype characteristics, such as viability and proliferation are described.
	Objavljeno v	BUBIK, A., SEDMAK, B., NOVINEC, M., LENARČIČ, B., LAH TURNŠEK, T.. Cytotoxic and peptidase inhibitory activities of selected non-hepatotoxic cyclic peptides from cyanobacteria. Biol Chem, 2008, 389, 1339-1346, doi: 10.1515/BC.2008.153. JCR IF: 3.035	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
COBISS.SI-ID	21960743		
2.	Naslov	SLO	Imunološko barvanje cianobakterijskega citoskeleta: zaznavanje cianobakterijske lize, izzvane s planktopeptinom BL1125
		ANG	Cyanobacterial cytoskeleton immunostaining: the detection of cyanobacterial cell lysis induced by planktopeptin BL1125
	Opis	SLO	To delo predstavlja prvi eksperimentalni dokaz o obstoju trajnega prokariotskega citoskeleta. Opisana je tudi vloga lizogenije pri razpadu cianobakterijskih cvetov in eksperimentalni dokaz o obstoju in tvorbi žarišč lizogenih cianobakterij. Pri založbi Oxford Univ. Press so se odločili, da dajo posnetke iz našega članka na naslovnico novembrske številke Vol. 31, No. 11, članek pa so uvrstili na prvo mesto med predstavljenimi znanstvenimi članki.
		ANG	This work is the first experimental proof and demonstration of the existence of prokaryotic cytoskeleton. Also, the role of lysogeny during the cyanobacterial bloom lysis and experimental evidence of the presence and formation of focal point, is presented. Oxford Univ. Press have decided to put the image from this article on the cover page of November issue of Vol. 31, No. 11 and the article was ranked as the first among the presented scientific papers.
	Objavljeno v	SEDMAK, B., CARMELI, S., POMPE NOVAK, M., TUŠEK-ŽNIDARIČ, M., GRACH-POGREBINSKY, O., ELERŠEK, T., ŽUŽEK, M. C., BUBIK, A., FRANGEŽ, R.. Cyanobacterial cytoskeleton immunostaining: the detection of cyanobacterial cell lysis induced by planktopeptin BL1125. J. plankton res., 2009, 10 str., [in press]. <a href="http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbp076">http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbp076</a> , doi: 10.1093/plankt/fbp076	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
COBISS.SI-ID	2070607		
3.	Naslov	SLO	Spontana maligna transformacija človeških mezenhimskih matičnih celic odraža navskrižno kontaminacijo: premaknimo raziskave na pravi tir.



		ANG	Spontaneous malignant transformation of human mesenchymal stem cells reflects cross-contamination: putting the research field on track.
	Opis	SLO	V tem prispevku smo skupaj s prvo avtorico iz skupine Rolfa Bjerkviga, ki sodeluje z mnogimi evropskimi laboratoriji na mezenhimskih matičnih celicah, opisovali svoja opazovanja na procesu transformacije MSC. Ta ni bila spontana, kot so že poročale nekatere skupine, pa pač pa povzročena s kontaminacijo jo tumorskih celic, gojenih v teh laboratorijih. To je pomembno sporočilo, ki svari pred objavo morebitnih lažnih rezultatov, če identitete celic v kulturah redno ne preverjamo z DNA prstnim odtisom.
		ANG	In this contribution we described, along with the first author from the group of Rolf Bjerkvig, collaborating with many European laboratories, on the observation of MSC transformation. This has been previously described as spontaneous, but here we reported that this was not the case, but in fact the consequence of contamination with the tumour cells, kept in these laboratories. This is an important message warning against false results, when cells are not regularly tested by DNA fingerprinting to assure their identity.
	Objavljeno v		TORSVIK, Anja, PRIMON, Monika, LAH TURNŠEK, Tamara, MOTALN, Helena. Spontaneous malignant transformation of human mesenchymal stem cells reflects cross-contamination: putting the research field on track - letter. Cancer res. (Baltimore), 2010, vol. 70, no. 15, str. 6393-6396. <a href="http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1305">http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1305</a> , doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1305.
	Tipologija		1.03 Kratki znanstveni prispevek
	COBISS.SI-ID		226670307
4.	Naslov	SLO	Liza cianobakterijskega cveta - najpomembnejši trenutek, ki ogroža zdravje ljudi in okolja
		ANG	Cyanobacterial bloom lysis - the most critical moment for human and environmental health
	Opis	SLO	Ob razpadu cveta se cianobakterijski produkti, ki se nahajajo v celični notranjosti, masovno sprostijo v vodno telo. Zato predstavlja cianobakterijska liza ključni trenutek, ki je pomemben za zdravje ljudi in okolja. Tem delu smo predpostavili nov mehanizem kontrole cianobakterijske populacije, kjer igrajo najpomembnejšo vlogo temperatni virusi, ki dovoljujejo proliferacijo najbolj kompetitivnih vrst. Ta teorija prav tako razlaga visoko stopnjo produkcije ne-toksičnih cvetenj in variabilnost produkcije bioaktivnih CCP tudi v monospecifičnih cvetovih.
		ANG	During cell lysis are cyanobacterial products, mainly confined to the interior of the cells, massively released. Therefore this phenomenon is the most critical moment for human and environmental health. We have proposed a new mechanism of cyanobacterial population control, where temperate viruses, that allow extensive proliferation of the most competitive species, play the central role. This theory explains also the high frequency of non-toxic blooms and the variability of bioactive CCP's production even in almost mono-specific blooms
	Objavljeno v		SEDMAK, Bojan. Cyanobacterial bloom lysis - the most critical moment for human and environmental health. V: SEDMAK, Bojan (ur.). Program and abstract book : health & environment workshop on scientific cooperation Slovenia-Brazil, Ljubljana, Piran, [4-7 Jun 2010]. Ljubljana: National institute of biology, 2010, str. 17-18.
	Tipologija		1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljeni predavanja)
	COBISS.SI-ID		27091929
5.	Naslov	SLO	Vizualizacija cianobakterijskega citoskeleta - metodologija in aplikacije
		ANG	Cyanobacterial cytoskeleton visualization - method and applications
	Opis	SLO	Uspešno smo razvili metodo za vizualizacijo cianobakterijskega citoskeletnega ogrodja z uporabo protiteles proti sesalskemu alfa -tubulinu. Zaznali smo ogrodje v celičnih linijah <i>Microcystis aeruginosa</i> in v okoljskih vzorcih. Metoda nam omogoča sledenje lize cianobakterijskega cveta, identifikacijo poškodovanih in liziranih vrst cianobakterij in celo druge vrste fitoplanktona. Ločimo lahko med zdravimi in senescentnimi organizmi ter z zaznavanjem delitvene plošče tudi proliferacijo.
			We developed the visualisation of the cyanobacterial cytoskeletal framework

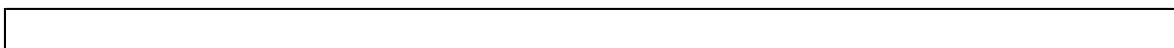
	ANG	using anti-bovine alpha-tubulin mouse monoclonal antibodies on <i>Microcystis aeruginosa</i> cell lines in vitro and on various cyanobacterial bloom samples from nature. This method allows us to pursue cyanobacterial bloom lysis, to identify already damaged and lysed cyanobacterial genera or even species along with other phytoplankton. Additionally we can discriminate between healthy and senescent organisms, and by visualisation of the division ring the proliferation potential of cyanobacteria.
Objavljeno v		Objavljeno v BUBIK, Anja, FRANGEŽ, Robert, LAH TURNŠEK, Tamara, SEDMAK, Bojan. Cyanobacterial cytoskeleton visualization - method and applications. V: 8th International Conference on Toxic Cyanobacteria (ICTC8), Istanbul, August 29th - September 4th, 2010. Official Program and Abstract Book. [Istanbul: s.n., 2010], str. 9.
Tipologija	1.08	Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
COBISS.SI-ID		27445721

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

Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat		
1.	Naslov	SLO Svetovanje in ukrepanje v primeru napada
		ANG Consulting and measures in the case of attack
Opis	SLO	Pogodba z MORS (Štev 4300-1117/2009-1), kjer gre za sofinanciranje organizacijskih, materialnih in kadrovskih priprav v NIBu za strokovno svetovanje in ukrepanje v primeru napada z orožji ali sredstvi za množično uničevanje ter s klasičnimi sredstvi. Delo poteka v skladu z dokumentom "Merila za organiziranje in usposabljanje enot NIB." Enota NIB-GEN dela na področju mikrobioloških toksinov v vodah.
	ANG	Contract with MORS (4300-117/2009-1) is related to the co-financing of organisational, material and human resources alert and professional counselling in the case of attack by arms and other means for mass destruction. The activities are carried out in agreement with the document "The Regulation of organisation and qualifications by NIB units". The members of the programme group are working in the field of microbiological toxins in waters.
	Šifra	
	Objavljeno v	Contract with MORS (4300-117/2009-1) is related to the co-financing of organisational, material and human resources alert and professional counselling in the case of attack by arms and other means for mass destruction. The activities are carried out in agreement with the document "The Regulation of organisation and qualifications by NIB units". The members of the programme group are working in the field of microbiological toxins in waters.
	Tipologija	2.13 Elaborat, predštudija, študija
	COBISS.SI-ID	25349081
2.	Naslov	SLO Organizacija mednarodnega srečanja: Zdravje & okolje: delavnica o znanstvenem sodelovanju med Slovenijo in Brazilijo
		ANG Organisation of international meeting: Health & environment workshop on scientific cooperation between Slovenia and Brazil
Opis	SLO	Na delavnici so ugledni znanstveniki iz več Brazilskih univerz in institutov, ki delujejo na področjih, ki so sorodna z delovanjem NIBa in slovenski raziskovalci predstavili svoje delo in se dogovorili o skupnem raziskovalnem in izobraževalnem delu, kjer načrtujemo izmenjavo študentov profesorjev in skupni doktorski program med Univerzo Rio de Janeiro in NIBom- UL. Srečanje je podprla tudi Ambasada Republike Brazilije v Slovenii.
	ANG	Distinguished researchers from Brazilian universities and institutes, that are active in fields of interest for NIB, visited the scientists for both countries presented their research and discussed the exchange of the students and professors. They also planned joint doctoral programmes between Rio de Janeiro University and NIB. The conference was supported by The Embassy of the Republic of Brazil in Slovenia.
	Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja

	Objavljeno v	SEDMAK, Bojan (ur.). Program and abstract book : Health & environment workshop on scientific cooperation Slovenia-Brazil, Ljubljana, Piran, [4-7 Jun 2010]. Ljubljana: National institute of biology, 2010. 52 str.	
	Tipologija	2.30 Zbornik strokovnih ali nerecenziranih znanstvenih prispevkov na konferenci	
	COBISS.SI-ID	27090393	
3.	Naslov	SLO	www.h.
		ANG	www.h.
	Opis	SLO	To je igrani dokumentarno umetniški film o pomenu biologije in našega dela za okolje in zdravje, ki odgovarja tudi na druga eksistenčna vprašanja sodobnega sveta, ujetega med tehnološki razvoj in ohranjanje življenjskega ravnotežja.
		ANG	This is the artistic documentary film about the importance of biology and the contribution of science to solving the environmental and health problems. The film also responds to other existential questions of the modern world and society, caught between technological development and the preservation of life balance.
	Šifra	F.18 Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Objavljeno v	SEDMAK, Bojan, LETNAR, Tomaž, LIKON, Rado, HRIBERNIK, Jasna, LAH TURNŠEK, Tamara. www.h. [2010]; [S.l.]: Nacionalni inštitut za biologijo. DVD	
	Tipologija	2.18 Raziskovalni ali dokumentarni film, zvočni ali video posnetek	
COBISS.SI-ID	2338895		
4.	Naslov	SLO	Konferenca o eksperimentalni in translacijski onkologiji –CETO in članica uredniškega odbora izdaje Knjige Abstraktov
		ANG	Conference on Experimental and Translational Oncology – CETO and member of Editorial board member of the Conference Book of Abstracts
	Opis	SLO	So-organizatorstvo šeste Mednarodne Konference o Eksperimentalni in Translacijski Onkologiji – CETO in so-urednica Proceedingov: v 2010 je bila konferenca spet organizirana ob največji mednarodni udeležbi in z maksimalnim številom mladih raziskovalcev iz Slovenije do sedaj, to je skupaj 150 znanstvenikov iz EU in ZDA
		ANG	Co-organisation of the sixth International Conference on Experimental and Translational Oncology – CETO and co-editor of Proceedings: In 2010 the Conference CETO was organised with greatest international participation and younger scientists from Slovenia so far with over 150 scientists from EU and USA.
	Šifra	C.01 Uredništvo tujega/mednarodnega zbornika/knjige	
	Objavljeno v	SERŠA, LAH TURNŠEK in KOS (ur.). 6th Conference on Experimental and Translational Oncology, Kranjska gora, Slovenia, March, 24-28, 2010, SERŠA, Gregor (ur.), KOS, Janko (ur.), LAH TURNŠEK, Tamara (ur.), KRANJEC, Simona (ur.). Book of abstracts. Ljubljana: Association of Radiology and Oncology, 2010. 175 str. ISBN 978-961-91302-3-0. kategorija: SU (S) točke: 2.5, št. avtorjev: 1/4	
	Tipologija	2.31 Zbornik recenziranih znanstvenih prispevkov na mednarodni ali tuji konferenci	
COBISS.SI-ID	250253824		
5.	Naslov	SLO	
		ANG	
	Opis	SLO	
		ANG	
	Šifra		
	Objavljeno v		
	Tipologija		
	COBISS.SI-ID		

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



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

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>10</sup>

SLO

Prednost in znanstvena izvirnost projekta je v edinstveni interdisciplinarnosti, ki omogoča povezavo raziskav cianobakterijskih sekundarnih metabolitov z njihovo vlogo v naravnem vodnem okolju (ekotoksikologijo) in s preučevanjem vpliva le-teh na človeške normalne in tumorske celice (karcinogeneza). Temeljna nova spoznanja o raznih vrstah CCP, pridobljenih v tem projektu, se lahko uporabljajo kot orodja za razumevanje mnogih življenjskih procesov in naravnih zakonitosti, oziroma prispevajo k razumevanju, kakšno nevarnost lahko ti predstavljajo v vodnem okolju.

Z našimi raziskavami smo pridobili uporabne ekotoksikološke podatke, ki so ključni za ocenjevanje tveganja ter uvedbo ustreznih preventivnih ukrepov pri izpostavljenosti okolja, živali in ljudi tem snovem. S poskusi smo veliko doprinesli k odkrivanju pomena in učinkovanja n-hCCP v naravnem okolju ter k hitrejšemu razvoju novih ekotoksikoloških metod in novih molekularnih tarč, kar je zelo pomembno za zdravje ljudi.

Uspelo nam je pridobiti pomembne podatke o vlogi in pomenu izbranih cianobakterijskih peptidov in prvič smo okarakterizirali njihove inhibicijske aktivnosti, ki jim strokovna javnost pripisuje velik pomen.

Na vseh teh področjih sodelujemo z znanstvenimi institucijami v Sloveniji in svetu, kar nam omogoča dostop do najnovejših tehnologij in kvaliteten prenos znanja

ANG

Unique interdisciplinarity, which links the research of cyanobacterial secondary metabolites with gene analysis (toxicogenomics) and with study of the metabolite effect on normal and tumour cells (carcinogenesis), offer many advantages and originality of scientific results. New results on different CCP add to our understanding of many biological processes and contribute to understanding the threat cyanobacterial metabolites present to water environment.

We obtained very useful ecotoxicological data, which are crucial for environmental risk assessment and for establishment of the appropriate preventive steps concerning environmental, animal and human exposures. We determined the role and impact of CCP in natural environment and contributed considerably to the faster development of new ecotoxicological methods and targets that is important for human health. Our results present very important information about the role and significance of selected cyanobacterial peptides. Further, we were the first to thoroughly characterize their inhibitory activities.

Our group collaborates with many scientific institutes from Slovenia and abroad on several different fields and these connections are effective in the knowledge transfer and enable us to work using new technologies.

### 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>11</sup>

SLO

Cvetenje cianobakterij v povezavi z eutrofikacijo površinskih voda je v zadnjih desetletjih vedno bolj pogost pojav po vsem svetu kot tudi v Sloveniji. Zato raziskave na cianobakterijah samih in njihovih sekundarnih metabolitih prinašajo pomembne informacije o nevarnostih, ki jih cianobakterije predstavljajo za vodno telo in tudi za človeka. Rezultati na in vitro celičnih modelih predstavljajo pomembno osnovo za načrtovanje novih potencialnih farmacevtskih učinkovin oziroma na drugi strani za preprečevanje negativnih vplivov n-hCCP na zdravje ljudi.

Rezultati s področja ekotoksikologije predstavljajo pomembno podlago za izboljšanje slovenske vodne zakonodaje, usmerjajo k izboljšanju ravnanja z vodnimi viri ter osveščajo prebivalstvo. Vzpodbujajo spremljanje ekološkega stanja površinskih voda in ne nazadnje vplivajo tudi na ekonomijo - s poznavanjem naravnih zakonitosti in temu ustreznim spreminjanjem politike varstva narave lahko namreč vplivamo tudi na klimatske spremembe.

Nova metodologija IC barvanja cianobakterij in tudi ostalih fitoplanktonskih organizmov ponuja številne možnosti aplikacije, ki jih je moč ponuditi tudi na trgu; to so spremljanje kondicije cianobakterij, identifikacija cianobakterijskih in fitoplanktonskih vrst ter najpomembnejše - spremljanje cianobakterijske lize in razpada cveta.

Smatramo, da so naši rezultati zelo pomembni za so-kreiranje in implementacijo okoljske zakonodaje, saj prihaja do masovnega pojava cianobakterij pogosto tudi v Sloveniji, kar

posledično ogroža naravne ekosisteme kot tudi zdravje ljudi in živali.

ANG

Cyanobacterial blooms in relation to the eutrophication of surface waters are common events worldwide and in Slovenia. Therefore cyanobacteria and their metabolites present a good model for estimating the threat of cyanobacterial population to water bodies and also to humans. These results on in vitro cell models provide some interesting data for new pharmaceutical drugs design and also for preventing the negative effects on human health.

The results in the field of ecotoxicological provide an important data for improvement of Slovenian water legislation and promote ecotoxicological monitoring of surface water status in Slovenia and affect the national economy as the changes of nature safety policy could positively influence the climate changes.

Newly developed methodology of IC staining of cyanobacteria and other phytoplankton organisms opens way to many applications that could be offered on the market; following up the cyanobacterial fitness, identification of cyanobacterial and phytoplankton strains and the most important - following up the cyanobacterial bloom lysis.

#### 10. Samo za aplikativne projekte!

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

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

<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljaljskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	



Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="text"/>
Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

**11. Samo za aplikativne projekte!****Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visoko-šolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

**Komentar**

--

**12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki [12](#)**

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

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

### C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

#### Podpisi:

Tamara Lah Turnšek	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

21.4.2011

**Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2011-1/209**

<sup>1</sup> Zaradi spremembe klasifikacije družbeno ekonomskih ciljev je potrebno v poročilu opredeliti družbeno ekonomski cilj

po novi klasifikaciji. [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>4</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> 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 (obrazložitev). V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

**PRIMER** (v slovenskem jeziku):

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

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

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

**Tipologija:** 1.01 - Izvirni znanstveni članek

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

<sup>7</sup> Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

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

<sup>8</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja. [Nazaj](#)

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

<sup>11</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Rubrike izpolnite/prepišite skladno z obrazcem "Izjava sofinancerja" (<http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>), ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2011-1 v1.01

75-B0-36-44-09-BC-E4-9A-58-AA-C9-98-9B-3E-6F-4C-4E-67-94-69