

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/188



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-4123
Naslov projekta	Inhibitorji cisteinskih karboksipeptidaz kot regulatorji avtoimunskih in nevrodegenerativnih procesov
Vodja projekta	4648 Janko Kos
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7560
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	106 Institut "Jožef Stefan"
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	311 Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino 381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta 787 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.06 Biotehnologija 4.06.01 Tehnologija rekombinantne DNA
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.07 Druge naravoslovne vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Katepsina B in X sta lizosomski cisteinski karboksipeptidazi. Katepsin B je splošno prisoten v večini celic z jedrom, katepsin X pa se nahaja predvsem v imunskih in nevronskih celicah. Naša raziskovalna skupina je pred kratkim ugotovila da katepsin X regulira aktivnost limfocitnega funkcijsko pridruženega

antigena 1 (LFA-1), poglobitnega beta-2 integrinskega receptorja v limfocitih T, ki je odgovoren za T celično signalizacijo, spremembe citoskeleta, migracijo, izražanje celičnih podaljškov. Prekomerna aktivnost LFA-1 vodi do nastanka avtoimunih bolezni, kot je na primer luskavica. Do sedaj je bilo razvitih kar nekaj zdravil, ki omejujejo delovanje LFA-1, vendar se niso izkazala kot primerna za zdravljenje avtoimunih bolezni, saj ne zagotavljajo zadostne selektivnosti. Naši rezultati kažejo, da katepsin X omogoča bolj fino regulacijo aktivnosti LFA-1 s stopenjsko razgradnjo citoplazemskega konca beta verige LFA-1, kar povečuje pomembnost inhibitorjev katepsina X. V nevronskih celicah je tarča delovanja katepsina X γ -enolaza, glikolitični encim, ki ima pomembno vlogo pri proliferaciji nevronskih celic in neuritogenezi. Aktivni katepsin X z razgradnjo C konca γ -enolaze onemogoči njeno neurtrofično aktivnost, saj s tem prepreči vezavo na prenašalni protein γ 1 sintrofin in njen prenos do plazemske membrane, kar je ključna stopnja v delovanju γ -enolaze v nevronskih celicah. Dokazali smo, da inhibitorji katepsina X preprečijo razgradnjo γ -enolaze in povečajo proliferacijo in neuritogenezo nevronskih celic, kar je lahko zelo pomembno za zdravljenje ali preprečevanje neurodegenerativnih bolezni. V okviru projekta smo določili signalne poti, ki vodijo do regulacije delovanja nevronskih celic in in vitro in testirali različne inhibitorje katepsina X kot možne neuroprotektivne dejavnike. Z uporabo dostavnih sistemov, kot so biorazgradljivi polimerni nanodelci, smo zagotovili njihovo kontrolirano sproščanje in selektivno delovanje v tarčnih celicah. Razvili smo tudi in vitro modele proliferajočih keratinocitov in limfocitov T ter nevronskih celic, ki ponazarjajo patologijo luskavice in neurodegenerativnih bolezni, na katerih smo preučevali delovanje izbranih inhibitorjev in dostavnih sistemov. Najbolj obetavne protikatepsinske spojine in formulacije smo testirali tudi in vivo na živalskih neurodegenerativnih modelih Alzheimerjeve in Parkinsonove bolezni ovrednotili farmakološko delovanje inhibitorjev katepsina X in dokazali njihovo neuroprotektivno delovanje.

ANG

Cathepsins B and X are lysosomal cysteine carboxypeptidases. Cathepsin B is present in practically all cells and tissues, whereas cathepsin X is localized predominantly in immune and neuronal cells. We discovered that cathepsin X may regulate the activity of lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1), the predominant beta-2 integrin receptor in T cells that regulates T cell signalling, cytoskeletal remodelling, migration, the growth of cellular extensions like uropods and nanotubes, and formation of the immunological synapse. Excess activity of LFA-1 leads to autoimmune diseases such as psoriasis. Several drugs have been developed to impair LFA-1 function, however, they are not appropriate for the therapy due to insufficient selectivity. Our results show that cathepsin X enables more fine regulation of LFA-1 activity by gradual degradation of the cytoplasmic tail of beta 2 chain of LFA-1, what increases the potential of cathepsin X inhibitors in the therapy. In neuronal cells, γ -enolase is a target for cathepsin X. It is a glycolytic enzyme with additional functions in the proliferation of neuronal cells and neuritogenesis. Cathepsin X cleaves the C-terminal end of γ -enolase, impairing the neurotrophic function of the latter. The cleavage prevents the binding of γ -enolase to γ 1-syntrophin, a scaffold protein which is responsible for the translocation of γ -enolase to the plasma membrane, a key step in its neurotrophic function. We demonstrated that inhibition of cathepsin X prevents the cleavage of γ -enolase and increases the proliferation of neuronal cells and neuritogenesis, events which are very important for the treatment and prevention of neurodegenerative diseases. We discovered also signalling pathways leading to the regulation of neuronal cells and tested various cathepsin X inhibitors as potential neuroprotective agents. Their selectivity and controlled release can be obtained by using delivery systems such as biodegradable polymeric nanoparticles. We have developed also in vitro cell models using keratinocytes, T cells, neuronal cells and cells of microglia to resemble the pathological processes of psoriasis and neurodegenerative diseases. These models were used to test the selected inhibitors and delivery systems. The

most promising anti-cathepsin X compounds and formulations were tested in vivo on animal neurodegenerative models of Alzheimer and Parkinson diseases and evaluated for their pharmacological and neuroprotective properties.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

V vsem obdobju financiranja smo uspešno izvedli dela na vseh štirih sklopih raziskovalnega projekta. Pri študijah delovanja katepsinov v imunskih in nevrodegenerativnih boleznih smo uspešno uporabili nove sintezne inhibitorje katepsinov B, H in X, nove inhibitorje katepsina X smo dodatno pripravili v zadnjem letu izvajanja projekta. Pri katepsinu X smo postavili uspešen model utišanja njegovega izražanja v nevroblastomskih SH-SY5Y celicah, U937 in NK celicah. Z uporabo sintetskih peptidov, ki ponazarjajo naravne substrate za posamezne katepsine, smo uspešno dokazali specifične cepitve, ki smo jih predhodno odkrili s proteomskim pristopom, kot so C konci gama enolaze in gama sintrofina za katepsin X, N konec talina za katepsin H in profilin 1 za katepsin X.

Uspešno smo razvili dostavne sisteme za ciljan vnos proteaznih inhibitorjev. V sodelovanju z Univerzo v Groningenu in ostalimi sodelavci na EU projektu Nanophoto smo na mišjem modelu preverili uporabnost pegiliranih PLGA nanodelcev, v katere smo vklopili aktivno učinkovino, za ciljanje tumorjev. Za ciljan vnos smo uporabili različne ligande, kot so protitelo cetuksimab, folna kislina, epidermalni rastni dejavnik, protitelesa proti katepsinu B, dober rezultat smo dobili s anti-citokeratinskimi monoklonskimi protitelesi (*Nanomedicine*, 2012, 7, 663-677). Poleg PLGA nanodelcev smo proučevali tudi uporabo magnetnih in hitosanskih nanodelcev (*J. Nanopart. Res.*, 2012, 14, 1151-1-1151-14). V ta namen smo preučevali tudi ligande gobjega izvora, kot so proteazni inhibitorji (*J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 3898-3907) in lektini (*J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 10602-10612).

Vlogo inhibitorjev cisteinskih proteaz v imunskih celicah smo preučevali na modelu dendritičnih celic in makrofagov, diferenciranih iz monocitov, monocitni celični liniji U937, primarnih NK celicah in T celični liniji Jurkat. Pomembna je pojasnitev vloge inhibitorja cistatina F pri regulaciji delovanja katepsinov v dendritičnih, NK (*Eur. J. Cell Biol.*, 2012, 91, 391-401), in monocitnih celicah (*Eur. J. Cell Biol.*, 2012, 91, 757-764.) ter vloge cisteinskih katepsinov pri tvorbi in delovanju protruzijskih podosomov v makrofagih (*Eur. J. Immunol.*, 2012, 42, 3429-3441).

Pri proučevanju vloge cisteinskih proteaz in njihovih inhibitorjev smo podrobno preučili signalne poti, ki jih regulira katepsin X z delovanjem na C konec gama enolaze. Gama enolaza je glikolizni encim, ki pa deluje tudi kot nevrotrofični dejavnik. Ugotovili smo, da podobno kot ostali nevrotrofični rastni dejavniki deluje na Trk in p75NTR receptorja, kot ključni signalni poti, ki se pri tem aktivirata, pa sta fosfatidil-inozitol 3-kinazna pot (PI 3-k) in z mitogenom aktiviranim proteinom kinazna (MAPK) signalna pot (*Biochem. J.* 2012, 443, 439-450). Preko PI 3-k signalne poti γ -enolaza spodbuja preživetje nevronov, medtem ko sta za proces nevrigenoze, t.j. rasti nevrinov, potrebni aktivaciji obeh signalnih poti, PI 3-k in MAPK. Poleg glavnega receptorja signalizacije v nevronskih celicah Trk, smo v PC12 celicah kot modelu nevronskih celic preverili še vpliv gama enolaze in katepsina X na signaliziranje preko p75NTR receptorja. Ta receptor je odgovoren za sprožitve apoptoze v nevronskih celicah, apoptozo preko tega receptorja sproži tudi amiloid beta peptid (A β), ki je glavna toksična molekula pri Alzheimerjevi bolezni. Ugotovili smo da je bila toksičnost A β peptida zmanjšana v prisotnosti C končnega peptida gama enolaze, ki je povzročil zmanjšano izražanje proapoptotičnega proteina Bax in povečano izražanje antiapoptotičnega proteina Bcl-2 ter zmanjšano aktivacijo kaspaze 3. A β povzroči povečano površinsko izražanje p75NTR, tretiranje celic z gama enolaznim peptidom pa zmanjša aktivacijo mitogen-aktivacijskih kinaz p38 in Jun-N, ki sta p75NTR nadaljnja efektorja signaliziranja apoptoze. Gama enolaza se tudi kolokalizira z p75NTR, kar smo dokazali s konfokalno mikroskopijo in imunoprecipitacijo. Rezultati ponovno povdarjajo potencialno vlogo enolaznega

peptida pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni. Objavili smo jih v ugledni reviji *Neuromolecular Medicine*. Glede na odmevnost dosedanjih rezultatov o vlogi cisteinskih katepsinov v neurodegenerativnih boleznih smo dobili vabilo za objavo preglednega članka v reviji *Molecular Neurobiology* (*Molecular neurobiology*, 2014, vol. 49, 1017-1030)

Pri študijah vloge cisteinskih katepsinov in vivo smo se osredotočili na vlogo katepsina X v neurodegenerativnih procesih in vitro in in vivo. Tako smo na mišjem modelu Alzheimerjeve bolezni Tg2576, ki izraža povečane vrednosti amiloidnega beta proteina, prikazali interakcijo katepsina X in γ -enolaze v okolici amiloidnih plakov v možganih obolelih živali. Aktivna oblika γ -enolaze je v okolici amiloidnih plakov prisotna le v celicah mikroglije. Povečano izražanje γ -enolaze kot posledica delovanja amiloidnega β peptida in njeno neuroprotektivno delovanje je bilo potrjeno na celični kulturi mikroglije. Inhibitor katepsina X AMS36, ki smo ga predhodno izolirali na Fakulteti za farmacijo v zadostnih količinah, nam je pokazal, da se protektivno delovanje gama enolaze v njegovi prisotnosti močno poveča. Tako smo pridobili dve obetavni učinkovini, ki bi lahko služili v terapiji neurodegenerativnih obolenj, to je inhibitor katepsina X AMS36 in peptid, ki posnema C konec gama enolaze in poseduje nevrotrofično mesto. Te rezultate smo objavili v znanstvenem članku v reviji *Aging Cell*, 2013, 12, 604-614, ki je ena od vodilnih na področju. Rezultati so že dosegli velik odmev v znanstveni skupnosti. Testiranje inhibitorja in peptida smo nadaljevali na podganjem modelu Parkinsonove bolezni po indukciji s 6-hidroksidopaminom. Testiranje smo izvedli tudi na celičnem modelu inducirane toksičnosti z 6-hidroksidopaminom in dokazali, da inhibitor katepsina X AMS36 prepreči toksično delovanje 6-hidroksidopamina in prepreči celično smrt PC12 in SH-SY5Y celic, kar kaže na to da je katepsin X lahko odgovoren za z dopaminom povzročeno celično smrt in da je udeležen v patogeno kaskado pri neurodegenerativnih boleznih, kot je Parkinsonova bolezen. Te rezultate smo objavili v reviji *Neuropharmacology*, 2014, 82, 121-131.

Z uporabo inhibitorja katepsina X AMS36 in proteomskih metod, kot sta 2D elektroforeza in masna spektroskopija, smo določili novo molekulo tarčo katepsina X, ki pa se izraža predvsem v tumorskih celicah. To je profilin 1, znan tumorski supresor. Profilin 1 se kolokalizira s katepsinom X znotrajcelično v perinuklearnem območju, in na plazemski membrani. Specifično cepitev na C koncu smo prikazali z uporabo sintetskega peptida in z rekombinantnim proteinom. Profilin 1 kot tumorski supresor ureja polimerizacijo aktina in celično adhezijo, te funkcije pa so povezane z vezavnimi mesti na C koncu molekule, predvsem tistimi za vezavo poli-L-prolinskih ligandov. Intaktni profilin 1 veže poli-L-prolinski ligand klatrin značilno bolje kot cepljeni profilin 1, kar smo dokazali z inhibitorjem AMS36 in imunoprecipitacijo profili-1/klatrin kompleksa. Polimerizacija aktina, ki je odvisna od vezave poli-L-prolinskih ligandov na profilin 1, je bila povečana ob prisotnosti AMS36 in po utišanju katepsina X z siRNA. Ta študija, objavljena v reviji *Plos One*, kaže dodatno možnost uporabe inhibitorja AMS36 pri zdravljenju malignih bolezni.

Za preučevanje vloge inhibitorjev cisteinskih proteaz v imunskih celicah smo razvili model primarnih keratinocitov, keratinocitne celične linije in in limfocitov T. V celicah smo določili prisotnost proteinskega nivoja in aktivnega katepsina X, sledili smo tudi nivo LFA-1 in njenega liganda ICAM-1. Ugotovili smo, da do povišanega izražanja ICAM-1 pride šele po indukciji celic z IFN-gama. V kokulturah keratinocitov in limfocitov T (Jurkat) ali v prisotnosti kondicioniranega gojišča celic Jurkat v gojišču celic za keratinocite se poveča adhezija keratinocitov za 20%. Inhibitorji katepsina X še dodatno povečajo adhezijo. Podobno se adhezija poveča, če v celicah Jurkat nadizrazimo katepsin X. Rezultati potrjujejo aktivno vlogo katepsina X pri aktivaciji LFA-1 receptorja, pri celični adheziji, ki poteka prek tega receptorja in pri medsebojnih interakcijah imunskih celic in keratinocitov.

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

V času izvajanja projekta smo izpolnili zastavljene cilje. V okviru prvega sklopa smo razvili in sintetizirali specifične inhibitorje karboksipeptidaz katepsinov B in X in jih ovrednotili na celičnih modelih. Lastnosti in količine so nam omogočile nadaljnje delo v in vitro in in vivo študijah. Razvili smo tudi druge pristope inaktivacije encimov, kot so monoklonska protitelesa in siRNA.

V drugem sklopu so prav tako izpolnjeni cilji projekta, saj smo pripravili različne oblike nanodostavnih sistemov, s katerimi lahko ciljamo določene celice in tkiva in specifično dostavimo proteazne inhibitorje. Nekateri nanodostavni sistemi so bili že testirani in vivo in izkazujejo dobre FK/FD lastnosti.

V okviru tretjega sklopa smo opredelili molekulske tarče za delovanje cisteinskih karboksipeptidaz v imunskih celicah, kot so beta veriga integrinskega receptorja, talin in aktinidin. Dokazali smo aktivno vlogo katepsina X pri modulaciji aktina, tvorbi celičnih izrastkov, adheziji in migraciji limfocitov T. V makrofagih smo dokazali, da je tudi katepsin B udeležen pri tvorbi protruzijskih podosomov, ki razgrajujejo zunajcelični matriks (ECM) in so udeleženi v celični migraciji. Pomembna je tudi pojasnitev vloge cistatina F v imunskih celicah. Pomembna je bila pojasnitev signalnih poti delovanja katepsina X in njegovih tarč, predvsem gama enolaze, v nevronskih in imunskih celicah. Delovanje cisteinskih karboksipeptidaz smo preverili tudi na celičnih modelih primarnih keratinocitov in na keratinocitnih celičnih linijah, ki smo jih gojili v kokulturah z imunskimi celicami.

Potrdili smo našo hipotezo, da inhibitorji cisteinskih karboksipeptidaz vplivajo na stimulacijo rasti keratinocitov, kar potrjuje naše prejšnje rezultate in omogoča nadaljnje študije regulacije luskavice in drugih imunskih bolezni z uporabo omenjenih inhibitorjev.

V okviru četrtega sklopa smo opredelili vlogo katepsina X in njegove tarče gama enolaze v nevronskih celicah in celicah mikroglie. Nevroprotektivno delovanje gama enolaze in nasprotni efekt katepsina X smo potrdili tudi na in vivo modelu. Pojasnili smo tudi molekularne mehanizme delovanja gama enolaze in katepsina X. Prvi rezultati testiranja inhibitorja katepsina X AMS36 na in vivo modelu so pokazali nevroprotektivno delovanje. Pomembno je tudi odkritje nove molekularne tarče katepsina X, to je profilina 1, kar lahko dodatno pojasni agresivno vlogo katepsina X v nevrodegenerativnih procesih.

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

Večjih sprememb programa raziskovalnega dela med izvajanjem projekta ni bilo. V razširjenem programu dela za večji projekt smo planirali tudi in vivo študije vpliva inhibitorjev cisteinskih karboksipeptidaz na modelih luskavice, vendar smo morali zaradi manjšega obsega financiranja ta del opustiti.

Tekom izvajanja projekta je prišlo do manjših sprememb sestave projektne skupine, o čemer smo poročali v letnih poročilih. Te spremembe niso vplivale na izvedbo projekta.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek												
1.	<table border="1"> <tr> <td>COBISS ID</td> <td>3441265</td> <td>Vir: COBISS.SI</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Naslov</td> <td>SLO</td> <td>Nevroprotektivno delovanje gama enolaze v mikrogliji mišjega modela Alzheimerjeve bolezni je regulirano s katepsinom X</td> </tr> <tr> <td>ANG</td> <td>Neuroprotective role of [gamma]-enolase in microglia in a mouse model of Alzheimer's disease is regulated by cathepsin X</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Gama enolaza je nevrotrofični dejavnik, ki vspodbuja rast, diferenciacijo, preživetje in regeneracijo nevronov. Nevrotrofično aktivnost regulira cisteinska proteaza katepsin X, ki cepi C konec molekule. Preiskovali smo</td> </tr> </table>	COBISS ID	3441265	Vir: COBISS.SI	Naslov	SLO	Nevroprotektivno delovanje gama enolaze v mikrogliji mišjega modela Alzheimerjeve bolezni je regulirano s katepsinom X	ANG	Neuroprotective role of [gamma]-enolase in microglia in a mouse model of Alzheimer's disease is regulated by cathepsin X			Gama enolaza je nevrotrofični dejavnik, ki vspodbuja rast, diferenciacijo, preživetje in regeneracijo nevronov. Nevrotrofično aktivnost regulira cisteinska proteaza katepsin X, ki cepi C konec molekule. Preiskovali smo
COBISS ID	3441265	Vir: COBISS.SI										
Naslov	SLO	Nevroprotektivno delovanje gama enolaze v mikrogliji mišjega modela Alzheimerjeve bolezni je regulirano s katepsinom X										
	ANG	Neuroprotective role of [gamma]-enolase in microglia in a mouse model of Alzheimer's disease is regulated by cathepsin X										
		Gama enolaza je nevrotrofični dejavnik, ki vspodbuja rast, diferenciacijo, preživetje in regeneracijo nevronov. Nevrotrofično aktivnost regulira cisteinska proteaza katepsin X, ki cepi C konec molekule. Preiskovali smo										

	Opis	SLO	izražanje in kolokalizacijo gama enolaze in katepsina X v možganih Tg2576 mišjega modela Alzheimerjeve bolezni, ki povišano izraža amiloidni prekursorjski protein. Intaktna oblika gama enolaze, ki izraža nevrotrofično aktivnost, je prisotna v celicah mikroglie v bližini senilnih plakov. Dokazali smo njeno neuroprotektivno delovanje proti A β toksičnosti.
		ANG	Gama-enolase is a neurotrophic-like factor promoting growth, differentiation, survival and regeneration of neurons. Its neurotrophic activity is regulated by cysteine protease cathepsin X which cleaves the C-terminal end of the molecule. We have investigated the expression and co-localization of gama-enolase and cathepsin X in brains of Tg2576 mice overexpressing amyloid precursor protein. Gamma enolase intact form, exhibiting neurotrophic activity, was observed in microglia cells in close proximity to senile plaque and was proved to be neuroprotective against A β toxicity.
	Objavljeno v	Blackwell; Aging cell; 2013; Vol. 12, iss. 4; str. 604-614; Impact Factor: 5.939; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.368; A'': 1; A': 1; WoS: DR, LI; Avtorji / Authors: Pišlar Anja, Glavan Gordana, Obermajer Nataša, Živin Marko, Schliebs Reinhard, Kos Janko	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	3492209	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	C končni peptid gama enolaze zmanjša z amiloid beta inducirano apoptozo preko p75(NTR) signaliziranja
		ANG	C-terminal peptide of [gama]-enolase impairs amyloid- β -induced apoptosis p75 ^[sup] (NTR) signaling
	Opis	SLO	Gama enolaza kaže zaščitni efekt proti nevrotoksičnemu amiloid beta proteinu (A β) v PC12 celicah. Toksičnost A β peptida je bila zmanjšana v prisotnosti C končnega peptida, ki je povzročil zmanjšano izražanje proapoptotičnega proteina Bax in povečano izražanje antiapoptotičnega proteina Bcl-2 ter zmanjšano aktivacijo kaspaze 3. A β povzroči povečano površinsko izražanje p75 nevrotrofičnega receptorja (p75NTR), tretiranje celic z gama enolaznim peptidom pa zmanjša aktivacijo mitogen-aktivacijskih kinaz p38 in Jun-N, ki sta p75NTR nadaljnja efektorja signaliziranja apoptoze. Gama enolaza se tudi kolokalizira z p75NTR. Rezultati kažejo potencialno vlogo enolaznega peptida pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni.
		ANG	Gama-enolase exerts a protective effect against amyloid- β -peptide (A β)-induced neurotoxicity in PC12 cells. A β -induced toxicity was abolished in the presence of the active C-terminal peptide of gamma-enolase, which caused downregulation of the pro-apoptotic protein Bax and upregulation of the anti-apoptotic protein Bcl-2, as well as reduced caspase-3 activation. Exposure to A β increased surface expression of p75 neurotrophin receptor (p75NTR), and the pretreatment with gamma enolase peptide suppressed the activation of mitogen-activated protein kinases p38 and Jun-N-terminal kinase, which are p75NTR downstream effectors in apoptotic signaling. Gamma enolase also colocalized with p75NTR. Our results indicate the possible use of gama enolase C-terminal peptide for treating or preventing Alzheimer's disease.
Objavljeno v	Humana Press; Neuromolecular medicine; 2013; Vol. 15, iss. 3; str. 623-635; Impact Factor: 3.885; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.675; WoS: RU; Avtorji / Authors: Pišlar Anja, Kos Janko		
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
3.	COBISS ID	3559025	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Cisteinski katepsini v nevroloških boleznih
		ANG	

		Cysteine cathepsins in neurological disorders
Opis	SLO	Povečana proteolizna aktivnost je glavni znak mnogih patoloških procesov, tudi neurodegeneracije, staranja možganov in drugih starostnih bolezni. Proteolizna aktivnost cisteinskih katepsinov je kontrolirana s strani proteinskih endogenih inhibitorjev, ki pa očitno izgubijo svojo funkcijo v primeru neurodegenerativnih procesov. Eksogeni sintetski inhibitorji, ki imajo večji inhibični potencial, so bolj primerni kot terapevtski agensi za zdravljenje nevroloških bolezni. . Porušena proteolizna aktivnost je znak
	ANG	Increased proteolytic activity is a hallmark of several pathological processes, including neurodegeneration. Recent studies reveal that a disturbed balance of their enzymatic activities is the first insult in brain aging and age-related diseases. The proteolytic activity of cysteine cathepsins is controlled by endogenous protein inhibitors which evidently fail to perform their function in neurodegenerative processes. Exogenous synthetic inhibitors, which may augment their inhibitory potential, are considered as possible therapeutic tools for the treatment of neurological disorders.
Objavljeno v	Humana Press; Molecular neurobiology; 2014; Vol. 49, iss. 2; str. 1017-1030; Impact Factor: 5.286;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.675; A ¹ : 1; WoS: RU; Avtorji / Authors: Pišlar Anja, Kos Janko	
Tipologija	1.02 Pregledni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	3194993 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	C terminalni peptid gama enolaze omogoča celično preživetje in razrast nevitov po aktivaciji PI 3-K/Akt in MAPK/ERK signalnih poti
	ANG	Gama-enolase C-terminal peptide promotes cell survival and neurite outgrowth by activation of PI 3-K/Akt and MAPK/ERK signaling pathways
Opis	SLO	Gama enolaza, glikolitični encim, je specifično izražena v nevronih. Izkazuje nevrotrofično aktivnost in regulira rast, diferenciacijo, preživetje in regeneracijo nevronov. V tej študiji smo preiskali vlogo gama enolaze v PI 3-kinase/Akt) in MAPK/ERK (mitogen-activated protein kinase/ extracellular-signal-regulated kinase) signalnih poteh, za katere je znano, da jih aktivirajo nevrotrofični dejavniki. Dokazali smo, da je PI 3-K/Akt signalna pot prioriteta pri celičnem preživetju, pri stimulaciji razraščanja nevitov z gama enolazo pa sta aktivirani obe poti, to je PI 3-K in ERK1/2, kar vodi do izražanja GAP-43 proteina, ki je specifičen za cone rasti.
	ANG	Gama-Enolase, a glycolytic enzyme, is expressed specifically in neurons. It exerts neurotrophic activity and has been suggested to regulate growth, differentiation, survival and regeneration of neurons. In this study, we investigated the involvement of gama enolase in PI 3-kinase/Akt) and MAPK/ERK (mitogen-activated protein kinase/ extracellular-signal-regulated kinase) signaling, the two pathways triggered predominantly by neurotrophic factors. While the PI 3-K/Akt pathway, rather than the MAPK/ERK pathway, is involved in gama-enolase-enhanced cell survival, gama-enolase-stimulated neurite outgrowth requires both pathways, i.e. the activation of both PI 3-K and ERK1/2, leading to subsequent expression of growth cone-specific GAP-43 protein.
Objavljeno v	Biochemical Society; Biochemical journal; 2012; Vol. 443; str. 439-450; Impact Factor: 4.654;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; A ¹ : 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Pišlar Anja, Obermajer Nataša, Kos Janko	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

7.Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Zoisova nagrada Republike Slovenije za vrhunske raziskovalne rezultate na področju proteoliznih encimov in njihove regulacije
	ANG	Zois prize of the Republic of Slovenia for excellent achievements in the field of proteolytic enzymes and their regulation
Opis	SLO	Vlada Republike Slovenije je leta 2013 podelila vodji projekta prof. dr. Janku Kosu Zoisovo nagrado za vrhunske dosežke na področju raziskav proteoliznih encimov in njihove regulacije. Upoštevani so bili dosežki v zadnjih sedmih letih. Nagrada predstavlja najvišje priznanje raziskovalnemu delu v državi.
	ANG	The government of the Republic of Slovenia delivered Zois prize to prof. Janko Kos for excellent research achievements in proteolysis and its regulation. The results of last seven years were considered for evaluation. Zois prize is the highest award for research work in the Republic of Slovenia.
Šifra	E.01 Domače nagrade	
Objavljeno v	Delo, priloga Znanost, 28. november 2013	
Tipologija	1.05 Poljudni članek	
2.	COBISS ID	266440192 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Organizacija mednarodne konference o eksperimentalni in translacijski onkologiji
	ANG	Organisation of international conferences on experimental and translational oncology
Opis	SLO	V aprilu 2013 smo bili člani projektne skupine soorganizatorji 7. Mednarodne konference o eksperimentalni in translacijski onkologiji. Namen konference je bil prikazati najnovejše domače in tuje raziskave na področjih karcinogeneze, mehanizmov nastanka in napredovanja raka, protitumorskega imunskega odziva, novih tarč za terapijo, protitumorskih zdravil insistemov za njihov vnos na mesto delovanja, še poseben poudarek pa je bil na hitrejšem prenosu rezultatov raziskav v klinično prakso. Prispevki so objavljeni v reviji Radiology & Oncology (IF 1,95), pri kateri je vodja projektne skupine tudi urednik.
	ANG	In 2013 the the members of project group coorganised 7th Conference on Experimental and Translational Oncology. These conferences are already traditional and well established and known internationally. The aim of the conference was to present the most recent research in the fields of carcinogenesis, mechanisms of tumour progression, antitumour immune response, new drugs and therapeutic targets, and delivery systems, with a special focus on faster transfer of the results of basic research to clinical practice. The proceedings are published in Radiology & Oncology (IF 1,95) where the project leader participates as editor.
Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja	
Objavljeno v	Association of Radiology and Oncology; 2013; 216 str.; Avtorji / Authors: Serša Gregor, Kos Janko, Lah Turnšek Tamara, Čemažar Maja, Filipič Metka, Kranjc Simona, Markelc Boštjan	
Tipologija	2.25 Druge monografije in druga zaključena dela	
3.	COBISS ID	266232832 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Uravnavanje nevrotrofične aktivnosti [gama]-enolaze s proteolitičnimi

		encimi in pomen pri nevrodegenerativnih boleznih
	ANG	Regulation of neurotrophic activity of gamma enolase by proteolytic enzymes and its role in neurodegenerative diseases
Opis	SLO	Anja Pišlar je v letu 2013 zagovarjala doktorsko delo, ki je bilo opravljeno v okviru tega projekta. Doktorsko delo je bilo nagrajeno s Preglovo nagrado.
	ANG	Anja Pišlar defended in year 2013 doctoral thesis, which was implemented within this project. Doctoral thesis was awarded by Pregl prize.
Šifra	D.09	Mentorstvo doktorandom
Objavljeno v	[A. Pišlar]; 2013; X, 226 str.; Avtorji / Authors: Pišlar Anja	
Tipologija	2.08	Doktorska disertacija

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Članom projektne skupine so v preteklem obdobju vložili tri patentne prijave. Bili so zelo aktivni kot univerzitetni učitelji in asistenti. Med drugim smo bili mentorji 6 doktorandom, in 23 diplomantom na 1. bolonski stopnji in 2. ugi bolonski stopnji. Delovali so v mnogih strokovnih institucijah doma in v tujini, organizirali mednarodna strokovna srečanja in bili člani uredniških odborov. Člani projektne skupine so bili poleg Zoisove nagrade tudi prejemniki Pregljeve in Krkine nagrade in nagrade Slovenskega biokemijskega društva.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti²

SLO

Raziskave v okviru predlaganega projekta se vključujejo v sodobne znanstvene trende na področju poznavanja delovanja proteoliznih encimov in procesov imunskega odziva. Dosedanje raziskave, ki jih je opravila naša raziskovalna skupina na področju regulacije integrinskih receptorjev v levkocitnih celicah, so odprle novo področje raziskav in v svetu vzbudile veliko zanimanje, saj so bile že dosedaj velikokrat citirane v najuglednejših revijah, kar nekaj raziskovalnih skupin pa nadaljuje z delom na tem področju. Poznavanje mehanizmov regulacije integrinskih receptorjev omogoča poznavanje bistva delovanja imunskih celic in lahko razloži pojave, ki vodijo do nastanka avtoimune bolezni, kot je luskavica. Naše raziskave nam bodo omogočile poznavanje vloge katepsina X v imunskih procesih, to pa je ključno, če želimo to proteazo uporabiti kot tarčo za razvoj novih zdravil. Samo selektivna inhibicija posamezne proteaze, ki je dejansko udeležena v kvarnem patološkem procesu, lahko prinese uspeh pri zdravljenju, uporaba splošnih proteaznih inhibitorjev se je v mnogih primerih izkazala kot neprimerna, saj povzroča vrsto stranskih učinkov. Kot neprimerena se je izkazala tudi uporaba učinkovin, ki popolnoma blokirajo delovanje integrinskih receptorjev v vseh imunskih celicah, nekatera od teh zdravil so morali celo umakniti iz klinične rabe. Kot izvirni prispevek k znanosti tako označujemo tudi pojasnitev delovanja katepsina X in njegove tarče γ -enolaze ter posledično njuni vlogi v procesih nevrodegeneracije kot tudi pojasnitev pomena inhibicije katepsina X in s tem potenciranega delovanja γ -enolaze. Poznavanje mehanizmov propada nevronske celice in pa molekularnih tarč, katerih regulacija lahko te procese ustavi ali omili, lahko vodi do novih učinkovitih zdravil, ki so na področju nevrodegenerativnih bolezni še kako zaželeni. Uporaba polimernih dostavnih sistemov pa lahko delovanje novih zdravil še bolj omeji le na celice, ki so dejansko udeležene v patoloških procesih. Projektna skupina bo pri svojem raziskovalnem delu uporabljala najsodobnejše znanstvene tehnike in metodologije, ki jih je že vpeljala v raziskovalno prakso, njena povezanost z vrhunskimi raziskovalci v Sloveniji in mednarodnem prostoru pa zagotavlja pretok znanja in uspešno izvedbo projekta.

ANG

The research in the proposed project is part of the advanced trends in science in the fields of proteolytic enzymes and processes of the immune response. Recent results obtained by our group on the regulation of integrin receptors in leukocytes, have opened up a new field of

research, which has met with a wide and positive response in the scientific community, evidenced by multiple citations in journals with the highest impact factors. Further, some groups are continuing with the research, based on our results. Knowing the mechanisms of regulation of integrin receptors has enabled the basic processes in immune cells to be understood and may well explain the events leading to autoimmune diseases such as psoriasis. Our studies will define the role of cathepsin X in immune processes. This is very important if this protease is to be used as the target for the development of new drugs. Only selective inhibition of a particular protease that is truly involved in pathological processes, can lead to progress in therapy. The use of nonselective general protease inhibitors has been compromised, causing serious side effects. The therapeutic application of drugs that totally block the action of integrin receptors in immune cells is also inadequate, and some of them have had to be withdrawn from clinical practice. As an original scientific contribution we can draw attention to the newly revealed mechanism of action of cathepsin X on g-enolase and to the role of both proteins in the processes of neurodegeneration as well as the role of cathepsin X inhibitors and their ability to potentiate neurotrophic activity of g-enolase. Understanding the mechanisms of degeneration of neuronal cells and identification of molecular targets involved in these processes provides the essential basis for the development of new, effective drugs that are essential for treating neurodegenerative diseases. Within the proposed project we expect to prove that our approach of selective inhibition of integrin receptors in T cells with protease inhibitors enables fine regulation of their activity and reduces harmful side effects. The successful use of polymeric delivery systems will further limit the action of new drugs to cells that are involved in the pathological processes. Our project group will use the most recent techniques and methods that have already been introduced into laboratory practice. The collaboration with leading researchers in Slovenia and worldwide will guarantee rapid transfer of knowledge, good science and successful implementation of the project.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

V času sodobnega načina življenja je skrb za zdravje in preventiva bistvenega pomena, ki omogoča tudi visok socio-ekonomski razvoj posameznika, naroda in družbe, zato je vsakršni korak, ki pripomore k povečanju celokupnega statusa zdravja, v razvitem in razvijajočem svetu izjemno pomemben. Še posebej so pomembna nova znanja in nova zdravila pri boleznih, kjer do sedaj učinkovitega zdravljenja še ne poznamo, kot je to primer pri avtoimunih in neurodegenerativnih boleznih. Zelo pomemben je doprinos predlaganega projekta za vse stopnje univerzitetnega izobraževanja, saj je omogočil študentom pridobiti nova znanja, v izvedbo projekta so bila vključena diplomska in doktorska dela na področju farmacevtske biokemije in biotehnologije. To je omogočila velika vpetost članov projektne skupine v pedagoške procese na Univerzi v Ljubljani in na Podiplomski šoli Jožefa Stefana, in kot gostujočih profesorjev na tujih univerzah. Novo vrhunsko znanje je povečalo sodelovanje s tujimi raziskovalnimi skupinami, povečalo na ta način njegovo izmenjavo in pa možnosti za pridobitev novih evropskih in drugih sredstev za izvajanje naših raziskav.

ANG

ANG

Medical treatment, health care and prevention are important elements in the socio-economic development of modern society, and every step towards better health is important. In particular, new knowledge and new drugs are essential for treating diseases where existing therapies are not effective, for example in autoimmune diseases and neurodegenerative diseases.

The contribution of the proposed project was very important also for all levels of university education. It enabled students to acquire new knowledge and the project's implementation provided opportunities for diploma and doctoral training in the fields of pharmaceutical biochemistry and biotechnology, since the members of the project team are involved in the

pedagogical process at the University of Ljubljana and Postgraduate School Jožef Stefan, and as visiting professors at other universities. The results of this project will also foster our collaboration with other research groups, increasing knowledge exchange and the opportunity to obtain new European and other funds for financing our science.

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

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

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

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

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

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

Komentar

--

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
	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

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

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

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

Članek, objavljen v vrhunski reviji *Seminars in Cancer Biology*, opisuje nenavadne lastnosti in vloge cisteinske karboksipeptidaze katepsina X v malignih procesih. Avtorji predstavijo naravne molekularne tarče, ki jih razgrajuje ta proteaza in razložijo mehanizme, ki vodijo do napredovanja bolezni. Za razliko od podobnih lizosomskih proteaz katepsin X ne razgrajuje zunajceličnega matriksa, ampak omogoča napredovanje raka z regulacijo delovanja integrinskih receptorjev, gama enolaze, kemokina CXCL-12, bradikinina, huntingtina in profilina-1. Njegova vloga pri napredovanju raka je še posebej pomembna v primeru, da v tumorjih utišamo prekomerno delovanje drugih proteoliznih encimov. V tem primeru se izražanje katepsina X poveča, kar omogoči rezervno pot tumorske proteolize. To spoznanje pa je pomembno pri uporabi proteaznih inhibitorjev v protitumorski terapiji.

Članek je bil objavljen v reviji *Seminars in Cancer Biology*, 31:76-83. Epub 2014 May 14., IF

9,1.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Institut "Jožef Stefan"

Janko Kos

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

9.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/188

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

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

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

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

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

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

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

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

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da

katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

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

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

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

¹¹ Rubrike izpolnite / 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](#)

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

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

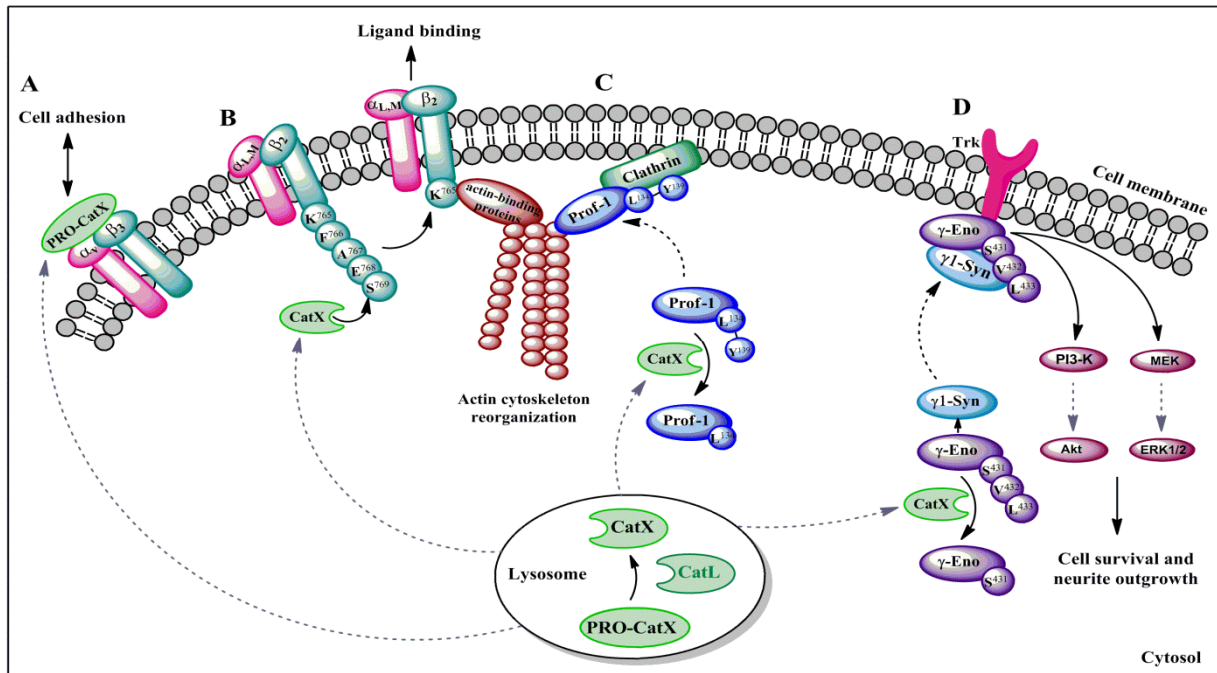
B4-F6-0E-01-F9-11-82-05-73-AE-2F-6A-A8-E4-DE-93-39-BE-5E-4C

Priloga 1

BIOTEHNIKA

Področje: 4.6 Biotehnologija

Delovanje katepsina X pri raku Vir: Kos, J., Vižin, T., Pečar Fonovič, U., Pišlar, A. *Intracellular signaling by cathepsin X: Molecular mechanisms and diagnostic and therapeutic opportunities in cancer* (2014) *Seminars in Cancer Biology*, 31:76-83. Epub 2014 May 14., IF 9,1.



Mehanizem delovanja katepsina X

Članek, objavljen v vrhunski reviji *Seminars in Cancer Biology*, opisuje nenavadne lastnosti in vloge cisteinske karboksipeptidaze katepsina X v malignih procesih. Avtorji predstavijo naravne molekularne tarče, ki jih razgrajuje ta proteaza in razložijo mehanizme, ki vodijo do napredovanja bolezni. Za razliko od podobnih lizosomskih proteaz katepsin X ne razgrajuje zunajceličnega matriksa, ampak omogoča napredovanje raka z regulacijo delovanja integrinskih receptorjev, gama enolaze, kemokina CXCL-12, bradikinina, huntingtina in profilina-1. Njegova vloga pri napredovanju raka je še posebej pomembna v primeru, da v tumorjih utišamo prekomerno delovanje drugih proteoliznih encimov. V tem primeru se izražanje katepsina X poveča, kar omogoči rezervno pot tumorske proteolize. To spoznanje pa je pomembno pri uporabi proteaznih inhibitorjev v protitumorski terapiji.

Poznavanje mehanizmov delovanja katepsina X pri napredovanju raka pojasnjuje kompleksno vlogo proteoliznih encimov pri tej bolezni in omogoča terapevtski pristop, ki prepreči povratno proteolizno aktivnost pri protitumorski terapiji s proteaznimi inhibitorji.