

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/94



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

|  |  |
|--|--|
| <b>Šifra projekta</b>                          | N5-0003  |
| <b>Naslov projekta</b>                         | SYNTOLL - Re-inženiring signalnega omrežja sesalske celice |
| <b>Vodja projekta</b>                          | 6628 Roman Jerala  |
| <b>Tip projekta</b>                            | N Projekti ESF in ERC                                      |
| <b>Obseg raziskovalnih ur</b>                  | 16824  |
| <b>Cenovni razred</b>                          | B  |
| <b>Trajanje projekta</b>                       | 07.2010 - 06.2013  |
| <b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>       | 104 Kemijski inštitut                                      |
| <b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b> |  |
| <b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>  | 3 MEDICINA<br>3.01 Mikrobiologija in imunologija           |
| <b>Družbeno-ekonomski cilj</b>                 | 07. Zdravje  |
| <b>Raziskovalno področje po šifrantu FOS</b>   | 1 Naravoslovne vede<br>1.07 Druge naravoslovne vede        |

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 2. Povzetek raziskovalnega projekta<sup>1</sup>

SLO

Signalizacija preko Tollu podobnih receptorjev predstavlja eno od najpomembnejših mehanizmov naravne imunosti. Medtem ko je signalizacija TLR koristna za funkcionalno zaščito proti okužbam, lahko prekomerna aktivacija TLR vodi do kroničnih vnetnih bolezni. Trenutno so male sintetične spojine poglavitni način zaviranja signalnih poti vedno bolj pa se uveljavljajo biološka zdravila in celična terapija. Projekt je sestavljen iz dveh vej - raziskav novih inhibitorjev TLR signalizacije in razvoja sintetično bioloških orodij za odziv in izgradnjo terapevtskih celičnih naprav. Raziskali smo molekularne mehanizme signalizacije preko TLR in odkril nove točke intervencije in

dve novi vrsti inhibitorjev. Najprej smo pojasnili vlogo vmesne domene ( INT ) adapterja signalizacije MyD88, ki prispeva k interakciji z domeno smrti (DD) MyD88 in IRAK kinaz. Peptidi iz INT domene, ki lahko prodrejo v celice z dodatkom PTD domene ali aciliranjem so učinkovito inhibirali TLR signalizacijo preko MyD88, tudi na živalskem modelu. Poleg tega smo ugotovili, da je tvorba dimera MyD88, posredovana preko domene TIR predstavlja poglobitni korak v signalizaciji. Domena TIR MyD88 z dodano dimerizacijsko domeno omogoči zelo močno inhibicijo vseh testiranih TLR signalnih poti. Da bi uvedli ustrezen celični odziv v terapevtske celice, jih moramo biti sposobni kontrolirati za natančen ponovljiv odziv na izbrane vhodne signale, kot so na primer prisotnost vnetnih citokinov ali njihova kombinacija z apoptotskimi signali. Uporabili smo modularne »Transcription-activator-like (TAL)« efektorje s katerimi smo uvedli ortogonalna NOR vrata v človeške celične linije, kar predstavlja osnovo za izgradnjo kompleksnih statičnih logičnih funkcij. Ta odkritja so bila osnova za študij izvedljivosti in učinkovitosti delovanja načrtovane sintetične naprave, ki se lahko odzove na vnetje z izdelavo protivnetnih bioloških zdravil, ki deluje na celičnih linijah, in jo testiramo na živalskih modelih, s čemer smo postavili osnovo za celično terapijo vnetnih bolezni.

ANG

Signaling through Toll-like receptors represents one of the most important mechanisms of innate immunity. While TLR signaling is beneficial for the functional defense against infection, excessive activation of TLRs can also cause chronic inflammatory diseases. Currently inhibition of signaling pathways through chemical inhibitors is the main therapeutic approach, however use by biological drugs and cell-based inhibition are becoming increasingly important. Project consisted of two branches – investigation of new inhibitors of TLR signaling and development of synthetic biological tools for the response and construction of therapeutic cellular devices. We investigated the molecular mechanisms of signaling through TLRs and discovered new points of intervention and new types of inhibitors. First we elucidated the role of the intervening domain (INT) of the signaling adapter MyD88, which contributes to interaction of death domains of MyD88 and IRAK kinases. Peptides from the INT domain that can penetrate cells through the addition of cell-penetrating domains or acylation were effective in inhibition of TLR signaling through MyD88 domain and were effective also in the animal model. Additionally we discovered that a dimer of MyD88, mediated by TIR domain represents the rate limiting step. TIR domain of MyD88 with added coiled-coil dimerization domain exhibited very potent inhibition of all tested TLR signaling pathways. Those two protein domains could be best implemented as intracellular inhibitors of signaling by engineering cellular signaling pathway. In order to introduce the appropriate cellular response into cells we need to be able to precisely and reproducibly trigger the appropriate response to the selected input signals, such as e.g. the presence of inflammatory cytokines or their combination with apoptotic signals. We used designable Transcription-activator like effectors to introduce orthogonal NOR gates into human cell lines, which built the background for construction of static logic functions. Feasibility and performance of the designed synthetic device that can respond to the inflammation by production of anti-inflammatory biological drugs is tested on cell lines as well as in vivo, establishing the principles for the cell-based therapy of inflammatory diseases.

### 3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>2</sup>

#### **Odkritje novih tipov inhibitorjev TLR signalne poti**

##### **Vloga INT domene MyD88**

V začetni fazi izvajanja projekta smo si za cilj zastavili odkriti, okarakterizirati ter izboljšati inhibitorno delovanje polipeptidnih domen ki preprečijo aktivacijo signalne poti Tollu-podobnih receptorjev. V

prvem leti izvajanja projekta smo odkrili in testirali dva nova načina inhibicije vnetja preko delovanja na posrednike naravne imunosti. Prvi pristop predstavlja peptidni segment intermediarnega dela adapterja MyD88, za katerega doslej nismo poznali biokemijskega ozadja pri signalizaciji. Odkrili smo, da se ta segment veže na domeno smrti («death domain») signalne kinaze IRAK4 ter da peptidni segment z dodano peptidno transdukcijsko domeno inhibira aktivacijo signalizacije preko TLR ter receptorja interlevkina1, ki igra pomembno vlogo v številnih vnetnih boleznih. Odkrili smo, da omenjeni peptid inhibira več TLR v primeru, da peptidu dodamo domeno, kot je npr. miristolacija ali peptidna transdukcijska domena s pomočjo katere ga lahko vnesemo v citosol. Pokazali smo, da je tarča za omenjen peptid IRAK4 oz. njegova domena smrti ter da peptid inhibira tudi aktivacijo primarnih celic.

### **Vloga dimerizacije TIR domene MyD88 in inhibiciji na osnovi dodane dimerizacijske domene**

Drug pristop k inhibiciji signalizacije naravne imunosti predstavlja dimerizacija domene TIR preko dodatka ovite vijačnice na N-koncu TIR domene. Podobno sestavo imajo bakterijski proteini, ki vsebujejo homologijo s TIR domeno (TcpB pri *B. abortus* in TcpC pri uropatogeni *E. coli*). Odkrili smo, da dimerizacijska domena bistveno izboljša sposobnost inhibicije aktivacije TLR, kar je mehanizem, ki ga uporabljajo bakterije, da se izognejo prepoznavanju imunskega odziva. Po drugi strani pa smo sami pripravili protein, ki vsebuje TIR domeno in ima sposobnost dimerizacije ter inhibira aktivacijo TLR najboljše od vseh testiranih inhibitorjev. Za oba tipa inhibitorjev smo vložili patentni prijavi, ker predstavljata potencialno uporaben terapevtski pristop za inhibicijo pretiranega vnetja, ki ima lahko škodljive zdravstvene posledice. Omenjena pristopa bomo vključili v pripravo celičnega senzorja za vnetje, ki bo aktiviral produkcijo inhibitornih spojin in s tem zmanjšal pretirano vnetje, kar je v načrtu za naslednje leto izvajanja projekta. MyD88, ki je potreben za aktivacijo naravnega imunskega odziva preko večine Tollu-podobnih receptorjev in rezultate objavili v ugledni reviji Journal of Immunology. MyD88 sestavlja domeni TIR ter DD ter med njima vmesni segment. Ugotovili smo, da se vmesni segment veže na . Pokazali smo, da se omenjen peptid veže na IRAK4 kinazo. Za vnos peptidov v celice smo dodali peptidno transdukcijsko domeno Antenapedia ali peptid modificirali z lavratom ali miristatom. Delovanje peptidov za inhibicijo smo pokazali na celičnih kulturah, stimuliranih z različnimi agonisti TLR, to je TLR2/6, TLR4, TLR5, TLR9, ne pa TLR3. Peptidi delujejo tudi *in vivo*, saj so zmanjšali tvorbo pro-vnetnih citokinov ter zmanjšali smrtnost zaradi endotoksemije. Tovrstne peptide bi lahko uporabili kot inhibitorje v umetni sintetični signalni poti. Dodatno smo raziskali zmožnost inhibicije signalizacije TLR preko TIR domen. Uporabili smo TIR domeno MyD88, ki kot monomer inhibira signalizacijo preko TLR4. Ugotovili smo, da dimerizacija TIR domene pomembno izboljša inhibicijo signalizacije vendar pri višji koncentraciji pride do konstitutivne aktivacije. Dodatek segmenta, ki tvori paralelni homodimerno obvito vijačnico iz *Brucella abortus* je izboljšal inhibicijo in preprečil konstitutivno aktivnost. Dodatek sintetične zelo stabilne dimerizacijske domene za obvito vijačnico k TIR domeni pa je še dodatno izboljšal inhibicijo celotnega spektra testiranih TLR ter IL1R in

deloval kot najboljši doslej opisan inhibitor na osnovi TIR domen. Tovrstne proteine bi lahko uporabili za terapevtsko inhibicijo vnetnih poti pri katerih poteka aktivacija preko interakcij TIR domen. Rezultate te raziskave smo objavili v članku v reviji J.Biol.Chem.

### **Sintezno-biološki pristop k celični terapiji**

Celična terapija postaja vedno bolj pomembna sestavina zdravljenja. Z ta namen smo razvijali orodja in prototipe terapevtskih celinah naprav na osnovi uravnavanja prepisovanja genov na osnovi vhodnih signalov. Pripravili smo nov način odziva celic na različne kombinacije vhodnih signalov, ki je univerzalen in lahko na njihovi osnovi v princip naredimo skoraj katerokoli logično operacijo. Konkretno pa smo za terapevtsko inhibicijo vnetja pripravili napravo, ki zaznava vnetje in se odzove s produkcijo terapevtskih učinkovin, ki zavirajo vnetje.

### **Razvoj umetnega uravnavanja celičnega odziva preko načrtovanih DNA-vezalnih domen**

Uravnavanje delovanja celic je zelo pomembno za terapevtsko uporabo, ki se vedno bolj uveljavlja. Celični odziv lahko oblikujemo preko uravnavanja prepisovanja genov s transkripcijskimi faktorji. Za razliko od omejenega nabora naravnih karakteriziranih transkripcijskih faktorjev lahko pripravimo umetne represorje s kombinacijo DNA vezalnih domen in domen, ki utišajo kromatin kot je KRAB. TALE (Transcription-activator like effector) domene lahko pripravimo proti skoraj kateremukoli nukleotidnemu zaporedju, kar nam omogoča pripravo NOT ter NOR logičnih vrat. S kombinacijo NOR vrat pa lahko pripravimo katerokoli logično funkcijo, kar smo tudi demonstrirali s pripravo vseh 16 dvovhodnih logičnih operacij v sesalskih celicah. Rezultate smo objavili v reviji Nature Chemical Biology.

### **Razvoj terapevtske celične naprave za zaznavanje in inhibicijo vnetja**

Za terapevtsko inhibicijo vnetja smo zasnovali sistem za zaznavanje vnetja v sesalskih celicah oz. organizmu ter sproščanje inhibitorjev provnetnih citokinov. Sistem zaznava aktivacijo transkripcijskega faktorja NFκB, katerega ojača in sproži pozitivno povratno zanko preko produkcije aktivatorja, sestavljenega iz DNA-vezalne domene ter aktivacijske domene VP16, ki aktivira sam sebe. Vnetje v okoliškem tkivu tako aktivira senzor, ki povzroči tvorbo receptorskega antagonista IL1R anakinra), ki ublaži vnetje v okoliškem tkivu. Zasnovali smo tudi stikalo, s katerim bomo lahko izključili aktivnost in produkcijo antiinflamatornih učinkovin. Sistem smo implementirali v obliki mikroenkapsuliranih celic HEK293, v katere smo vnesli DNA konstrukte za senzor, procesiranje signala ter produkcijo citokinov. Sistem uspešno deluje na celinah kulturah, eksperimenti na živalskem modelu pa bodo zaključeni v let 2014.

#### **4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>**

Delo na projektu je potekalo v skladu z načrtom. Izpolnili smo vse

zastavljen cilje glede inhibicije signalizacije TLR v sesalskih celicah in presegli cilje na področju sintezne biologije. Sistem protivnetne naprave dobro deluj v celičnih kulturah in ga implementiramo v živalskem modelu.

#### 5.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>4</sup>

Ni bilo večjih sprememb.

#### 6.Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

| Znanstveni dosežek |   |   |   |
|--------------------|---|---|---|
| 1.                 | COBISS ID   | 5026586   | Vir: COBISS.SI  |
| Opis               | Naslov  | <i>SLO</i>  | Supresija signalizacije TLR s protein, ki vsebujejo TIR domene  |
|                    |   | <i>ANG</i>  | Toll/interleukin-1 receptor domain dimers as the platform for activation and enhanced inhibition of Toll-like receptor signaling  |
|                    |   | <i>SLO</i>  | Domena TIR (Toll/IL1receptor) uravnava povezavo med receptorji TLR (Tollu podobnimi receptorji) ali IL1 družino receptorjev ter znotrajceličnimi signalnimi adapterji. Nastanek homotipskega dimera domen TIR aktivira signalizacijo, medtem ko jo mikrobnimi proteini, ki vsebujejo domene TIR, inhibirajo. V publikaciji je predstavljena vloga dimerizacijske platforme domen TIR za uravnavanje od MyD88 odvisne signalne poti. Bakterijski TCPji, ki vsebujejo dimerne domene z obvitimi vijačnicami učinkovito zavirajo TLR/IL1 signalizacijo tako pri nizkih kot visokih količinah, medtem ko dimeri človeških domen TIR v visokih količinah povzročijo aktivacijo signalne poti. Po drugi strani pa dimeri človeških domen TIR povezanih z močnimi obvitimi vijačnicami inhibirajo signalizacijo TLR in preprečijo konstitutivno aktivacijo receptorjev TLR. V predstavljenem molekularnem modelu signalizacije preko MyD88 predvidevamo, da je dimerizacija domen TIR omejujoči dejavnik pri nastanku signalnega kompleksa. Rezultate smo objavili v Journal of Biological Chemistry (IF 4,773). |
|                    |   | <i>ANG</i>  | TIR (Toll/IL1 receptor) domains mediate interactions between TLR (Tolllike) or IL1 family receptors and signaling adapters. While homotypic TIR domain interactions mediate receptor activation they are also usurped by microbial TIRdomain containing proteins for immunosuppression. suppression as well as for the activation of MyD88 signaling pathway. Coiled-coil dimerization domain, present in many bacterial TCPs, potently augments suppression of TLR/IL1R signaling. The addition of a strong coiledcoil dimerization domain conferred the superior inhibition against the wide spectrum of TLRs and prevented the constitutive activation by a dimeric TIR platform. We propose a molecular model of MyD88 mediated signaling based on the dimerization of TIR domains as the limiting step.  |
| Objavljeno v       | American Society of Biological Chemists.; The Journal of biological chemistry; 2012; Vol. 287, no. 37; str. 30993-31002; Impact Factor: 4.651;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Fekonja Ota, Benčina Mojca, Jerala Roman |   |   |
| Tipologija         | 1.01 Izvirni znanstveni članek  |   |   |
| 2.                 | COBISS ID   | 5408026   | Vir: COBISS.SI  |
| Naslov             | <i>SLO</i>  | Načrtovane DNA-vezalne domene omogočajo sestavo logičnih vezij v sesalskih celicah      |   |
|                    | <i>ANG</i>  | Designable DNA-binding domains enable construction of logic circuits in mammalian cells |   |

|        |              |  |                |
|--------|--------------|--|----------------|
| Opis   | SLO          | Elektronskega računalnika vezja, ki vsebujejo veliko število povezanih logičnih vrat istega tipa, kot je NOR stikalo , se lahko enostavno izdeluje in omogoča izvajanje poljubnih logičnih funkcij. V nasprotju z elektroniko pa moramo uporabiti ortogonalne gensko-regulatorne elemente zaradi proste difuzije v celicah. Kombinatorično raznolikost in ortogonalnost lahko zagotovimo z modularnimi DNK-vezalnimi domenami. Uporabili smo represorje na osnovi TAL efektorjev, za gradnjo ortogonalnih funkcijsko polnih NOR vrata za gradnjo logičnih vezij . Pokazali smo izvedbo vseh 16 dvovhodnih logičnih funkcij na osnovi kombinacij istega tipa NOR vrat v človeških HEK293 celicah. Poleg tega smo predstavili genetsko logično vezje, v katerem lahko izberemo izvedbo med AND in OR funkcijo za obdelavo podatkov. Ta dosežek demonstrira potencial modularnih transkripcijskih faktorjev za gradnjo kompleksnih bioloških naprav za obdelavo podatkov.   |                |
|        | ANG          | Electronic computer circuits consisting of a large number of connected logic gates of the same type, such as NOR, can be easily fabricated and can implement any logic function. In contrast, designed genetic circuits must employ orthogonal information mediators owing to free diffusion within the cell. Combinatorial diversity and orthogonality can be provided by designable DNA- binding domains. Here, we employed the transcription activator-like repressors to optimize the construction of orthogonal functionally complete NOR gates to construct logic circuits. We used transient transfection to implement all 16 two-input logic functions from combinations of the same type of NOR gates within mammalian cells. Additionally, we present a genetic logic circuit where one input is used to select between an AND and OR function to process the data input using the same circuit. This demonstrates the potential of designable modular transcription factors for the construction of complex biological information-processing devices.  |                |
|        | Objavljeno v | 2005-; Nature chemical biology; 2014; Vol. 10, no. 3; str. 203-208; Impact Factor: 12.948;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; A'': 1;A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Gaber Rok, Lebar Tina, Majerle Andreja, Šter Branko, Dobnikar Andrej, Benčina Mojca, Jerala Roman  |                |
|        | Tipologija   | 1.01 Izvirni znanstveni članek   |                |
| 3.     | COBISS ID    | 5023770  | Vir: COBISS.SI |
| Naslov | SLO          | Himerni flagelin kot cepivo, ki vsebuje adjuvantno delovanje za aktivacijo imunskega odziva proti okužbi z bakterijo <i>Helicobacter pylori</i>  |                |
|        | ANG          | Chimeric flagellin as the self-adjuvanting antigen for the activation of immune response against <i>Helicobacter pylori</i>  |                |
| Opis   | SLO          | Bakterija <i>Helicobacter pylori</i> lahko povzroči gastritis, želodčno razjedo in lahko vodi do raka želodca. Zdravljenje z antibiotiki ne ščiti gostitelja pred ponovne okužbe. <i>H. pylori</i> se izogne aktivaciji imunskega odziva ker tvori flagelin, ki na aktivira receptorja TLR%. Flagelin je poglavitna sestavina bičkov, ki so pomembni za preživetje bakterij v želodcu. TLR5, član Tollu podobnih receptorjev prepoznava flagellin večine bakterij, kot je <i>Escherichia coli</i> , vendar ne flagellina FlaA <i>H. pylori</i> . Sposobnost FlaA za aktivacijo TLR5 smo ustvarili z inženiringom himernega flagellina, v katerem smo oba končna segmenta <i>H. pylori</i> flagellina nadomestili z ustreznimi segmenti iz flagelina <i>E.coli</i> . Rekombinantni himerni flagelin se je pravilno zvil in je aktiviral TLR5. Zaznali smo občutno povečano tvorbo serumskih IgG in IgA protiteles pri miših, cepljenih z himernim flagelinom v primerjavi z mišmi cepljenimi s FlaA. Titri protiteles so ostali visoki še 8 mesecev po zadnjem cepljenju. Protitelesa so vezala flagellin iz lizata <i>H. pylori</i> . Cepljenje z himernim flagelinom iz miši je omogočil zaščito proti kolonizaciji <i>H. pylori</i> . Pristop z uporabo himernega flagelina lahko uporabimo za aktivacijo naravnega in pridobljenega imunskega odziva za |                |

|     |   |  |     |  |     |   |
|-----|---|--|-----|--|-----|---|
|     |   | izdelavo učinkovitih cepiv proti H. pylori ali drugim bakterijam, ki se izogibajo prepoznavanja s TLR5.  |     |  |     |   |
|     | ANG   | <p>Helicobacter pylori infection can cause gastritis, peptic ulcer and can lead to gastric cancer. Lengthy antibiotic therapy does not protect the host against reinfection. H. pylori evolved to evade the recognition of the immune response by modifying several of its components whose orthologous proteins from other bacteria activate the innate immune response. Flagella are essential for the H. pylori effective colonization of human duodenum and stomach. TLR5, a member of the Toll-like receptor family, recognizes flagellin of most bacteria, such as Escherichia coli, but does not recognize the flagellin FlaA of H. pylori. We restored the ability of FlaA for the recognition by TLR5 by engineering a chimeric flagellin, in which both terminal segments of H. pylori flagellin were replaced by the corresponding segments from TLR5-activating E. coli flagellin. Recombinant chimeric flagellin folded correctly and was able to activate TLR5. Significantly increased serum IgG and IgA antibody responses were determined in mice vaccinated with chimeric flagellin in comparison to mice vaccinated with a control protein (FlaA) or negative control. Antibody titers remained high even 8 months after the last immunization. Antibodies were able to bind native flagellin from H. pylori lysate. Vaccination with chimeric flagellin provided mice with significant protection against H. pylori. The approach of chimeric flagellin can therefore generate effective immunogens that enable activation of innate and adaptive immune response and can be used to construct efficient vaccines against H. pylori or other flagellated bacteria that evade TLR5 recognition.</p> |     |  |     |   |
|     | Objavljeno v  | Butterworth Scientific; Vaccine; 2012; Vol. 30, issue 40; str. 5856-5863; Impact Factor: 3.492; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.075; WoS: NI, QA; Avtorji / Authors: Mori Jerneja, Vranac Tanja, Smrekar Boštjan, Černilec Maja, Čurin-Šerbec Vladka, Horvat Simon, Ihan Alojz, Benčina Mojca, Jerala Roman   |     |  |     |   |
|     | Tipologija  | 1.01 Izvirni znanstveni članek   |     |  |     |   |
| 4.  | COBISS ID   | 8956756   Vir: COBISS.SI   |     |  |     |   |
|     | Naslov  | <table border="1"> <tr> <td>SLO</td> <td>Dizajn procesiranja informacije v celicah s pomočjo umetnih represorjev</td> </tr> <tr> <td>ANG</td> <td>Design of information processing in cells using artificial gene repressors</td> </tr> </table>   | SLO | Dizajn procesiranja informacije v celicah s pomočjo umetnih represorjev  | ANG | Design of information processing in cells using artificial gene repressors  |
| SLO | Dizajn procesiranja informacije v celicah s pomočjo umetnih represorjev   |  |     |  |     |   |
| ANG | Design of information processing in cells using artificial gene repressors  |  |     |  |     |   |
|     | Opis  | <table border="1"> <tr> <td>SLO</td> <td>V članku smo predstavili zasnovo skalabilnega regulatornega omrežja osnovanega na seriji ortogonalnih dizajniranih represorjev. Te represorje smo pripravili na osnovi DNA vezalnih domen narejenih iz cinkovih prstov, ki se vežejo na točno izbrano zaporedje DNA in imajo dodan efektor, ki prepreči ali stimulira transkripcijo. Na tej osnovi lahko pripravimo NOR vrata, ki omogočajo tvorbo katerekoli logične operacije v celicah.</td> </tr> <tr> <td>ANG</td> <td>The progress of synthetic biology allows one to design artificial repressors that inhibit selected genes. Combination of repressors enables construction of NOR logical gates that could form the foundation for information processing within cells. The theoretical potentials and limitations of constructing NOR gates were analyzed. They could be experimentally realized in bacterial cells. The number of required artificial repressors was analysed and temporal simulations of an example function were performed.</td> </tr> </table>   | SLO | V članku smo predstavili zasnovo skalabilnega regulatornega omrežja osnovanega na seriji ortogonalnih dizajniranih represorjev. Te represorje smo pripravili na osnovi DNA vezalnih domen narejenih iz cinkovih prstov, ki se vežejo na točno izbrano zaporedje DNA in imajo dodan efektor, ki prepreči ali stimulira transkripcijo. Na tej osnovi lahko pripravimo NOR vrata, ki omogočajo tvorbo katerekoli logične operacije v celicah. | ANG | The progress of synthetic biology allows one to design artificial repressors that inhibit selected genes. Combination of repressors enables construction of NOR logical gates that could form the foundation for information processing within cells. The theoretical potentials and limitations of constructing NOR gates were analyzed. They could be experimentally realized in bacterial cells. The number of required artificial repressors was analysed and temporal simulations of an example function were performed. |
| SLO | V članku smo predstavili zasnovo skalabilnega regulatornega omrežja osnovanega na seriji ortogonalnih dizajniranih represorjev. Te represorje smo pripravili na osnovi DNA vezalnih domen narejenih iz cinkovih prstov, ki se vežejo na točno izbrano zaporedje DNA in imajo dodan efektor, ki prepreči ali stimulira transkripcijo. Na tej osnovi lahko pripravimo NOR vrata, ki omogočajo tvorbo katerekoli logične operacije v celicah.  |  |     |  |     |   |
| ANG | The progress of synthetic biology allows one to design artificial repressors that inhibit selected genes. Combination of repressors enables construction of NOR logical gates that could form the foundation for information processing within cells. The theoretical potentials and limitations of constructing NOR gates were analyzed. They could be experimentally realized in bacterial cells. The number of required artificial repressors was analysed and temporal simulations of an example function were performed. |  |     |  |     |   |
|     | Objavljeno v  | Wydawnictwo Czasopism i Książek Technicznych "Sigma"; Przegląd Elektrotechniczny; 2012; No. 2; str. 105-109; Avtorji / Authors: Šter Branko, Gaber Rok, Avbelj Monika, Jerala Roman, Dobnikar Andrej   |     |  |     |   |
|     | Tipologija  | 1.01 Izvirni znanstveni članek   |     |  |     |   |

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

| Družbeno-ekonomski dosežek |              |  |
|----------------------------|--------------|--|
| 1.                         | COBISS ID    | 3070856 Vir: COBISS.SI   |
|                            | Naslov       | <i>SLO</i> Molekulski mehanizem signalizacije in inhibicije preko TLR4 in MyD88<br><i>ANG</i> Molecular mechanism TLR4 and MyD88-mediated signaling and inhibition   |
|                            | Opis         | <i>SLO</i> Vabljen predavanje na FEBS3+ konferenci v Opatiji.<br><i>ANG</i> Invited lecture at FEBS3+ conference in Opatija.   |
|                            | Šifra        | B.04 Vabljen predavanje  |
|                            | Objavljeno v | Croatian Society of Biochemistry and Molecular biology; From molecules to life and back; 2012; Str. 69; Avtorji / Authors: Jerala Roman, Manček Keber Mateja, Horvat Simon, Fekonja Ota, Avbelj Monika   |
|                            | Tipologija   | 1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)   |
| 2.                         | COBISS ID    | 4947482 Vir: COBISS.SI   |
|                            | Naslov       | <i>SLO</i> Dizajn proteinov v sintezni biologiji<br><i>ANG</i> Protein design in Synthetic biology   |
|                            | Opis         | <i>SLO</i> Vabljen predavanje na EMBO tečaju o sintezni biologiji v Buenos Airesu.<br><i>ANG</i> Invited lecture at EMBO course on synthetic biology in Buenos Aires.  |
|                            | Šifra        | B.04 Vabljen predavanje  |
|                            | Objavljeno v | 2012; Avtorji / Authors: Jerala Roman  |
|                            | Tipologija   | 3.16 Vabljen predavanje na konferenci brez natisa  |
| 3.                         | COBISS ID    | 4380954 Vir: COBISS.SI   |
|                            | Naslov       | <i>SLO</i> Zaviralni peptidi MyD88 odvisne signalne poti<br><i>ANG</i> Inhibitory peptides of the MyD88 dependent signaling pathway  |
|                            | Opis         | <i>SLO</i> V patentni prijavi smo zaščitili nove peptide ter lipopeptide, ki inhibirajo aktivacijo MyD88 oz. aktivacijo TLR, ki uporabljajo to pot. Delovanje peptidov inhibira vnetne procese, ki so povezani z okužbami s patogeni ter sterilno vnetje, ki je povezano s kroničnimi boleznimi.<br><i>ANG</i> The field of invention is a new inhibitory peptide containing a segment which inhibits the activation of MyD88. The invention comprehends the inhibitory peptide and its application for treatment of disease states connected with excessive activation of the innate immune response. |
|                            | Šifra        | F.32 Mednarodni patent   |
|                            | Objavljeno v | Urad Republike Slovenije za intelektualno lastnino; 2011; 29 str.; Avtorji / Authors: Jerala Roman, Avbelj Monika  |
|                            | Tipologija   | 2.24 Patent  |
| 4.                         | COBISS ID    | 4625690 Vir: COBISS.SI   |
|                            | Naslov       | <i>SLO</i> Sintezna biologija od razumevanja do načrtovanja celičnih strojev<br><i>ANG</i> Synthetic biology : from understanding to design of cellular machines   |
|                            | Opis         | <i>SLO</i> Vabljen predavanje na srečanju finskega društva za bioznanosti v Helsinkih<br><i>ANG</i> Synthetic biology : from understanding to design of cellular machines : lecture at The Finnish scientific society for Biosciences, Societas biochemica, biophysica et microbiologica Fenniae, Science forum, ChemBio 2011  |
|                            | Šifra        | B.04 Vabljen predavanje  |



|    |              |   |  |
|----|--------------|---|--|
|    | Objavljeno v | 2011; Avtorji / Authors: Jerala Roman   |  |
|    | Tipologija   | 3.14 Predavanja na tuji univerzi  |  |
| 5. | COBISS ID    | 4619290   | Vir: COBISS.SI   |
|    | Naslov       | SLO   | Fusion polypeptides comprising TIR and dimerization domain for modulation of TLR/innate immunity signaling   |
|    |              | ANG   | Patent application of TLR signaling inhibitors based on TIR domain fusion  |
|    | Opis         | SLO   | Odkrili smo da dimerizacija TIR domen bistveno izboljša inhibicijesignalizacije TLR. Pripravili smo fuzijo TIR domene adapterja MyD88 z N-končnim segmentom bakterijskega TcpB ter z dimerizacijsko domeno peptide GCN4, ki je še dodatno izboljšala inhibicijo.   |
|    |              | ANG   | We discovered that dimerization of TIR domain fusion significantly improves the inhibition of TLR signaling. We prepared a fusion between TIR domain of MyD88 adapter with the Nterminal domain of the bacterial TcpB and with artificial dimerization domain GCN, which additionally improved inhibition. |
|    | Šifra        | F.32 Mednarodni patent  |  |
|    | Objavljeno v | Urad Republike Slovenije za intelektualno lastnino; 2012; 61 str.; Avtorji / Authors: Jerala Roman, Fekonja Ota |  |
|    | Tipologija   | 2.24 Patent   |  |

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>7</sup>

|  |
|--|
|  |
|--|

## 9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>9</sup>

SLO

Odkritje novih mehanizmov inhibicije TLR oz. njihovega izboljšanja je pomembno za razumevanje molekulskega mehanizma celične signalizacije. Odkritje novih podrobnosti v mehanizmu celične signalizacije preko TLR receptorjev in MyD88 adapterja je pomembno za razumevanje delovanja naravne imunosti. Na osnovi odkritja vpliva INT domene smo ugotovili kakšno funkcijo ima ta domena adapterja MyD88, s čimer lahko tudi razložimo inhibitorno delovanje Myd88S inhibitornega alternativnega transkripta. Prav tako nam spoznanje izboljšanja inhibicije TIR domen omogoča razumevanje interakcij med TIR domenami v signalni poti TLR in je pomembno za številne vnetne bolezni, tako za infekcije kot za kronične vnetne bolezni. Oba tipa inhibicije sta potencialno zanimiva za terapevtsko inhibicijo vnetnih obolenj, kar smo pokazali z iznajdbo dveh novih tipov inhibitorjev TLR signalne poti – peptidov na osnovi INT domene ter TIR domene MyD88 z dodatkom dimerizacijske domene. Projekt je vpeljal uporabo principov sintezne biologije v manipulacijo imunskega odziva iz česar si lahko obetamo tudi zasnovano inovativnih pristopov k terapiji imunskega odziva, še posebej vnetja. Poseben pomen za znanost pa ima implementacija modularnih DNA vezalnih proteinov za pripravo genskih ortogonalnih NOR vrat.

ANG

Discovery of new mechanisms of inhibition of TLR and their improvement is important for understanding the molecular mechanisms of cell signaling. The discovery of new details in the mechanism of cell signaling through TLR receptors and MyD88 adapter is important for understanding the function of innate immunity. Based on the detection of the impact of the INT domain, we can explain the inhibition of Myd88S alternative transcript. Discovery of the action of dimeric TIR domains allows to improve inhibition of the TLR signaling and contributes to the

understanding of interactions between the TIR domains of proteins of the TLR signaling pathway, which is important for a number of inflammatory diseases, such as infections or chronic inflammatory diseases. Both types of inhibition are potentially interesting for therapeutic inhibition of inflammatory diseases. The project introduced the principles of synthetic biology in the manipulation of the immune response which is expected to provide innovative approaches to the treatment of an immune response, particularly inflammation. Of particular importance to science is the discovery of a modular implementation of DNA binding proteins for preparation orthogonal genetic NOR gate.

## 9.2.Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

Vnetje je povezano skoraj z vsemi boleznimi od okužb z mikrobi do kroničnih vnetnih bolezni kot so ateroskleroza, artritis ter rak. Novi pristopi k terapiji vnetnih obolenj so pomembni za izboljšanje zdravja, po drugi strani pa predvsem za razvoj sintezne biologije in v splošnem moderne biotehnologije v Sloveniji. Projekt ima neposredni pomen za družbo preko doseganja visokega mednarodnega nivoja znanosti in izobraževanja visoko usposobljenih kadrov, ki so najboljša naložba za razvoj gospodarstva. Razvoj inventivnih metod sintezne imunologije predstavlja z ekonomskega stališča odlično izhodišče za poslovne pobude. Tri odkritja smo zaščitili s patenti, kar omogoča bodisi prodajo licence bodisi ustanovitev podjetja, ki bi te rezultate poslovno izkoristilo. V projekt smo vključili mlade raziskovalce in dodiplomske študente in na ta način prispevali k povečanju števila visoko izobraženega kadra na področju biotehnologije.

ANG

Inflammation is associated with almost all diseases, from microbial infections to chronic inflammatory diseases such as atherosclerosis, arthritis and cancer. New approaches to the treatment of inflammatory diseases could be important for improving health, and on the other hand, also for the development of biotechnology in Slovenia. The project has direct relevance to the society through the achievement of high level of science and training of highly qualified personnel which represents the best investment for the economic development. The development of inventive methods of synthetic immunology is from an economic standpoint a perfect base for business initiatives. We filed patent applications for three inventions, which may allowing either their licensing or starting a company to commercially exploit the results. The project involved young researchers and graduate students and thus contributed to increasing the number of skillfully trained and innovative personnel in the field of biotechnology.

## 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        |  |   |
|-------------|--|---|
| <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 upravljavskih 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/varovanju 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 in podoktorske projekte iz gospodarstva!**  
**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 visokošolskega 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="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="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<sup>11</sup>**

|    |  |    |       |  |
|----|--|----|-------|--|
|    | 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 2013<sup>12</sup>****13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Uravnavanje delovanja celic je zelo pomembno za terapevtsko uporabo, ki se vedno bolj uveljavlja. Celični odziv lahko oblikujemo preko uravnavanja prepisovanja genov s transkripcijskimi faktorji. Za razliko od omejenega števila naravnih karakteriziranih transkripcijskih faktorjev lahko pripravimo umetne represorje s kombinacijo DNA vezalnih domen in domen, ki utišajo kromatin kot je KRAB. TALE (tTranscription-activator like effector) domene lahko pripravimo proti skoraj kateremukoli nukleotidnemu zaporedju, kar nam omogoča pripravo NOT ter NOR logičnih vrat. S kombinacijo NOR vrat pa lahko pripravimo katerokoli logično funkcijo, kar smo tudi demonstrirali s pripravo vseh 16 dvovhodnih logičnih operacij v sesalskih celicah. Rezultate smo objavili v reviji Nature Chemical Biology, ki je izšla začetek leta 2014.

**13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek**

V okviru raziskav na projektu smoprijavili 3 mednarodne patentne prijave za nov način inhibicije signalne poti preko TLR in MyD88 ter prijavo za načrtovana logična vrata v sesalskih celicah. Omenjeni patenti bi lahko po izvedbi predkliničnih raziskav pripeljali do komeercializacije in uporabe za izboljšanje zdravja.

**C. IZJAVE**

Podpisani izjavljam/o, da:

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

**Podpisi:**



*zastopnik oz. pooblaščen oseba  
raziskovalne organizacije:*

in

*vodja raziskovalnega projekta:*

Kemijski inštitut

Roman Jerala

## ŽIG

Kraj in datum: 

|           |           |
|-----------|-----------|
| Ljubljana | 12.4.2014 |
|-----------|-----------|

### Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/94

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

<sup>2</sup> 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](#)

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

<sup>4</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, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> 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](#)

<sup>6</sup> 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](#)

<sup>7</sup> 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](#)

<sup>8</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>9</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

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

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

<sup>12</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03

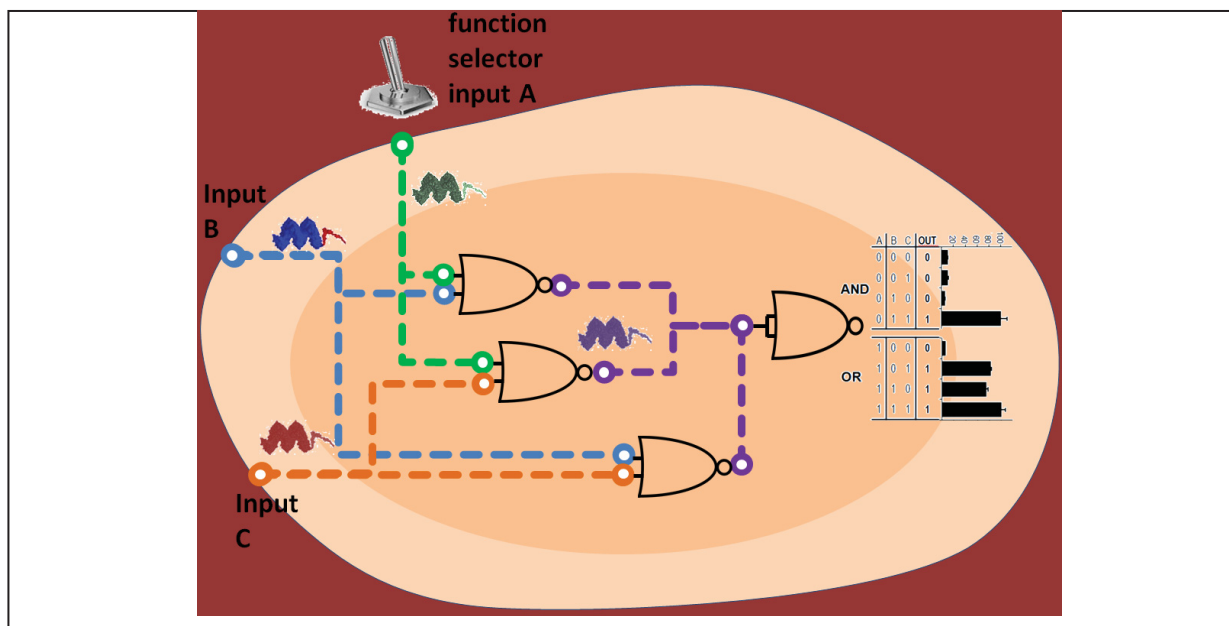
83-28-5B-00-E5-5A-89-BD-99-24-76-F5-83-26-BD-C8-23-4A-DA-47

## **Priloga 1**

# VEDA MEDICINA

Področje: 3.01 Mikrobiologija in imunologija

Dosežek: Uravnavanje celičnega odziva preko načrtovanih genskih logičnih vezij



Uravnavanje delovanja celic je zelo pomembno za terapevtsko uporabo, ki se vedno bolj uveljavlja. Celični odziv lahko usmerjamo preko uravnavanja prepisovanja genov s transkripcijskimi faktorji. Za razliko od omejenega števila naravnih karakteriziranih transkripcijskih faktorjev lahko pripravimo umetne represorje s kombinacijo DNA vezalnih domen in domen, ki utišajo kromatin kot je KRAB. TALE („Transcription-activator like effector“) domene lahko pripravimo proti skoraj kateremukoli nukleotidnemu zaporedju, kar nam omogoča pripravo NOT ter NOR logičnih vrat. S kombinacijo NOR vrat pa lahko pripravimo katerokoli logično funkcijo, kar smo tudi demonstrirali s pripravo vseh 16 dvovhodnih logičnih operacij v sesalskih celicah. Rezultate smo objavili v reviji Nature Chemical Biology.