

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/282



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-2069
Naslov projekta	Uporaba magnetne nanotehnologije za transfekcijo normalnih in tumorskih celic
Vodja projekta	8800 Gregor Serša
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4173
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	302 ONKOLOŠKI INŠTITUT LJUBLJANA
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	2431 NANOTESLA INSTITUT - Razvojni center nanotehnologij na področju magnetnih materialov in kompozitov
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.04 Onkologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.03 Medicinske vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	3.01
- Veda	3 Medicinske vede
- Področje	3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Genska terapija je novejši, naprednejši pristop zdravljenja, s katerim vnesemo genski material v tarčne celice, z namenom spremeniti njihove biološke lastnosti. Uporablja se tako pri nadomeščanju okvarjenih genov, za vnašanje genov z imunomodulatornim

delovanjem, pri genski kemoterapiji in žilno ciljani genski terapiji. Učinkovitost genske terapije, lokalne ali sistemske, je odvisna predvsem od uspešnosti transfekcije tarčnega tkiva. Za prenos genskega materiala ločimo dva sistema, virusnega in nevirusnega. V zadnjem času se zaradi varnosti vedno bolj uveljavljajo nevirusni načini vnosa, kot je električno posredovan vnos, s katero imamo že veliko izkušenj, in z nanodelci posredovana transfekcija – magnetofekcija, ki predstavlja poseben izziv, kjer lahko specifično kopičimo magnetne nanodelce z vezano plazmidno DNA v območju izpostavljenemu zunanemu magnetnemu polju.

Namen projekta je bil razviti primerne feritne magnetne nanodelce velikosti manj kot 50 nm, na katere lahko vežemo plazmidno DNA z izbranim genom in jih z izpostavitvijo zunanemu magnetnemu polju kopičimo na tarčnem mestu. S to metodo genskega prenosa, magnetofekcijo, smo predvidevali, da lahko uspešno transfeciramo normalne in tumorske celice *in vitro* kot tudi eksperimentalne tumorje *in vivo*, tako z reporterskimi kot terapevtskim genom.

Rezultati projekta potrjujejo, da je s primerno sintezo in oplaščenjem moč pripraviti primerne superparamagnetne naodelce, na katere lahko vežemo plazmidno DNA. Metoda oplaščenja delcev, ki smo jo uporabili je bila z PEI in PAA, na katero se DNA veže elektrostatsko. Tako sintetizirani nanodelci se uspešno internalizirajo v celice, normalne in rakave, in v njih lahko zasledimo kopičenje prepisanega produkta. Tako smo zaznali izražanje reporterskega proteina GFP, kot tudi terapevtskega proteina interleukina 12 (IL-12). Uspešnost magnetofekcije se je pokazala superiorna metodam magnetofekcije, kot so komercialno dostopne metode, in tudi elektroporaciji, kot alternativni nevirusni metodi genskega prenosa. V nadaljevanju smo *in vivo* na mišjem tumorskem modelu dokazali uspešnost magnetofekcije v tumorjih in njen terapevtski potencial. Tumorji zdravljeni z magnetofekcijo s plazmidom za IL-12 so se signifikantno zmanjšali in uspešnost metode je bila primerljiva z metodo elektroporacije. Dokazali smo tudi nizek profil toksičnosti magnetofekcije.

Metoda magnetofekcije se je pokazala kot varna in učinkovita na predkliničnem tumorskem modelu. S tem rezultati nakazujejo na možnost razvoje te tehnologije kot nevirusnega dostavnega sistema v genski terapiji raka.

ANG

Gene therapy is a novel, more advanced treatment approach, in which genetic material is introduced into the cells in order to change their biological properties. It is used as gene replacement or correctional therapy, suicide gene therapy, immunomodulatory or vascular targeted therapy. The effectiveness of gene therapy, either local or systemic, depends on transfection efficiency in targeted tissue. There are two major systems for the transfer of genetic material, viral and non-viral. For safety reasons, lately particularly non-viral approaches for transfection are gaining, such as electroporation, in which we have vast experience, and a nanoparticle mediated transfection – magnetofection, as a new approach. Magnetofection utilizes ferrous magnetic nanoparticles coupled with plasmid DNA that can be specifically accumulated with an external magnetic field.

The purpose of the project was to develop suitable ferrous magnetic nanoparticles, less than 50 nm in diameter, which can be coupled with plasmid DNA encoding particular gene and subsequent exposed to an external magnetic field in order to accumulate complexes at the targeted site. We assumed that this transfection method, magnetofection, can successfully transfect normal and tumor cells *in vitro* as well as experimental tumors *in vivo* with reporter as well as therapeutic genes.

The results of the project confirm that with an appropriate synthesis method and coating we can prepare suitable superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for subsequent coupling with the plasmid DNA. Synthesized SPIONs were coated and functionalized with a double layer of endosomolytic polymers, polyacrylic acid (PAA) and polyethylenimine (PEI), before the plasmid DNA was electrostatically bound. Thus, the prepared complexes for magnetofection are successfully internalized into normal and tumor cells as a transcribed products accumulate in them. The expression of reporter green fluorescence protein (GFP) as well as therapeutic protein interleukin 12 (IL-12) in the cells indicates efficient transfection. Magnetofection with prepared complexes was superior in transfection efficiency to commercially available magnetic nanoparticles or lipofection, and comparable to electrically-mediated transfer, as an alternative non-viral method for gene transfer. In addition, we demonstrated also a therapeutic potential of magnetofection on murine tumor model *in vivo*. Experimental tumors treated with magnetofection with plasmid DNA encoding IL-12 were significantly reduced and the efficiency of magnetofection is comparable to electrically-mediated transfer. We also demonstrated low toxicity profile of magnetofection.

Magnetofection was demonstrated as a safe and effective transfection method on preclinical

tumor models. The results indicate a potential for development of this technology as non-viral delivery system in gene therapy of cancer.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Magnetofekcija nevirusna metoda vnosa genskega materiala v celice in tkiva, ki temelji na uporabi biokompatibilnih magnetnih nanodelcev z vezanimi nukleinskimi kislinami in se po izpostavitvi zunanjemu magnetnemu polju specifično kopičijo na tarčnem mestu. Številne študije so že pokazale, da imajo fizikalno-kemijske lastnosti magnetnih nanodelcev velik vpliv na nadaljnjo obdelavo njihove površine z ustreznimi funkcionalnimi skupinami in kasnejšo vezavo nukleinskih kislin, na njihovo biokompatibilnost, internalizacijo v celice in posledično na učinkovitost magnetofekcije.

Namen celotnega projekta je bil razvoj metode oz. sinteznega postopka, s katerim bi uspeli pripraviti biokompatibilne superparamagnetne nanodelce, ki merijo manj kot 50 nm v premeru in so primerni za uporabo pri magnetofekciji tako s poročevalskim kot terapevtskim genom v sistemih kot so normalne in tumorske celične linije *in vitro* ter mišice in različne vrste eksperimentalnih tumorjev *in vivo*. Hkrati pa je bil namen tudi preveriti akutno toksičnost in razporejanje tako sintetiziranih magnetnih nanodelcev *in vivo* ter učinkovitost magnetofekcije v primerjavi z magnetofekcijo s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci in drugimi nevirusnimi metodami transfekcije (električno posredovan vnos, lipofekcija).

Prve magnetne nanodelce smo pripravili z metodo obarjanja v reverzni mikroemulziji tipa voda v olju. Obarjanje je potekalo iz vodne raztopine Fe²⁺ in Fe³⁺ v skladu s Schickorjevo reakcijo v reverznih micelih, razpršenih v oljni fazi, pri reakciji z vodno raztopino alkalnega obarjalnega reagenta. V izogib visoki reaktivni sposobnosti in oksidacijsko-redukcijskim procesom nanodelcev smo njihovo površino oplaščili z inertnim biokompatibilnim anorganskim silicijevim dioksidom oziroma siliko. Za biomedicinsko aplikacijo smo oplaščene magnetne nanodelce dispergirali v 0,9% fiziološki raztopini, končni pH magnetne tekočine prilagodili na fiziološki pH 7,4 in na koncu še sterilizirali v avtoklavu 15 min pri 121°C. Temu je sledilo določanje fizikalno-kemijskih lastnosti (velikost, oblika, fazna sestava, magnetizacija, zeta potencial) sintetiziranih nanodelcev, preverjanje citotoksičnosti (MTS test in test klonogenosti), na različnih celičnih linijah *in vitro*. Rezultati testiranj so pokazali, da smo uspešno pripravili s siliko oplaščene nanodelce, manjše od 50 nm, ki so necitotoksični v določenih koncentracijah in posedujejo specifične magnetne lastnosti za dostavljanje različnih molekul v celice. Iz tega je bil pripravljen članek o sintezi, karakterizaciji in biokompatibilnosti nanodelcev (*Prijic et al. J Membrane Biol 2010; 236: 167-79*).

Ker na s siliko oplaščene magnetne nanodelce nismo uspeli popolnoma vezati nukleinskih kislin in ker je bila zato tudi učinkovitost magnetofekcije kljub njihovem učinkovitemu vstopanju predvsem v tumorske celice pod vplivom magnetnega polja nizka, smo se lotili priprave novih superparamagnetnih železo-oksidnih nanodelcev (SPIONs) vse od sinteze in oplaščenja do končne funkcionalizacije za vezavo nukleinskih kislin. Sintetizirali smo jih z metodo soobarjanja železovih sulfatov iz vodnih raztopin v alkalnem mediju in za tem oplaščili z biokompatibilno natrijevo soljo poliakrilne kisline (PAA) ter jih tako zaščitili ne le pred oksidacijo, temveč tudi pred agregacijo ter aglomeracijo, kar je vitalnega pomena za preprečitev embolije *in vivo*. Za nadaljnjo vezavo nukleinskih kislin smo površino predhodno steriliziranih SPIONs (filtriranje skozi filter s porami 0,22 µm) funkcionalizirali

s kationskim hidrofilnim polimerom polietileniminom (PEI). Na novo sintetiziranim oplaščenim in funkcionaliziranim SPIONs smo določili fizikalno-kemijske lastnosti in preverili njihovo biokompatibilnost *in vitro* ter *in vivo*.

Z našimi novimi SPIONs smo uspešno opravili magnetofekcijo poročevalskega gena za GFP kot tudi terapevtskega gena za IL-12 na vseh izbranih celičnih linijah *in vitro*. Rezultati magnetofekcije reporterskega gena za GFP v celice mišjega melanoma B16F1, pridobljeni s fluorescentnim invertnim mikroskopom in pretočnim citometrom, so pokazali statistično značilno večjo učinkovitost kot rezultati magnetofekcije s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci in primerljivo učinkovitost z že uveljavljenimi metodami transfekcije, kot sta lipofekcija in električno posredovan vnos. Kvalitativno s presevnim elektronskim mikroskopom in kvantitativno z atomsko emisijsko spektrometrijo z induktivno sklopljeno plazmo smo dokazali vstopanje novih SPIONs v mezotelne celice MeT-5A, mišje fibroblaste L929 in celice mišjega in humanega melanoma, B16F1 in SK-MEL 28.

S postopkom »up-and-down« po priporočilih Organizacije za gospodarsko sodelovanje in razvoj (OECD) smo preverili akutno toksičnost SPIONs na miših seva BALB/c, da bi s tem lahko nakazali na varno nadaljnjo uporabo SPIONs kot dostavnih sistemov v mišice in eksperimentalne tumorje *in vivo* z magnetofekcijo. Dokazali smo, da več stokrat višji odmerki SPIONs od terapevtskih niso povzročili smrti ali patoanatomskih sprememb organov. Visoki odmerki se kopičijo v organih retikuloendotelnega sistema, medtem ko pri terapevtskih odmerkih nismo zaznali statistično značilnega odstopanja v koncentraciji železa v omenjenih organih glede na kontrolo.

Učinkovitost magnetofekcije sprednjih goleničnih mišic s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP smo spremljali neinvazivno *in vivo* s fluorescentnim stereo mikroskopom in jo primerjali z učinkovitostjo električno posredovanega vnosa pDNA v mišice. Magnetofekcija mišic s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, ni bila uspešna, medtem ko je po električno posredovanem vnosu fluorescenca transfeciranih mišičnih vlaken presevala skozi kožo na goleni.

Učinkovitost magnetofekcije tumorjev s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, smo preverili na dveh tumorskih modelih: mišjem melanomu B16F1, ki je singenski mišim linije C57Bl/6 in tudi zaradi najboljših rezultatov *in vitro* magnetofekcije na celični liniji B16F1 ter adenokarcinomu mlečne žleze TS/A, ki je singenski mišim linije BALB/c, na katerih smo ocenjevali akutno toksičnost in biodistribucijo SPIONs-PAA ter SPIONs-PAAPEI-pDNA. Poleg tega smo učinkovitost magnetofekcije obeh tipov tumorjev s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, primerjali z drugimi nevirusnimi dostavnimi sistemi. Glede na zmrzle rezine tumorjev je bila transfekcija obeh tumorskih modelov s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP učinkovita s SPIONs-PAA-PEI v prisotnosti in odsotnosti zunanega magnetnega polja ter z električno posredovanim vnosom, medtem ko transfekcija samo s PEI ni bila uspešna. Na zmrzlih rezinah tumorjev so bile vidne razlike v učinkovitosti vnosa pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP glede na tumorski model, kot tudi razlike v vzorcu izražanja GFP glede na način vnosa pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP v tumor.

Učinkovitost magnetofekcije mišjega melanoma B16F1 s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, je bila po 30 minutni

izpostavitvi zunanjemu magnetnemu polju podobna učinkovitosti transfekcije tumorjev SPIONs-PAA-PEI v odsotnosti zunanjega magnetnega polja. Izražanje GFP je bilo po magnetofekciji in transfekciji mišjega melanoma B16F1 s SPIONs-PAA-PEI točkovno, medtem ko je bilo izražanje GFP po električno posredovanem vnosu pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP homogeno razpršeno. Magnetofekcija adenokarcinoma mlečne žleze TS/A s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, je bilo po 30-minutni izpostavitvi zunanjemu magnetnemu polju bolj učinkovita kot transfekcija tumorjev s SPIONs-PAA-PEI v odsotnosti zunanjega magnetnega polja.

Učinkovitost magnetofekcije adenokarcinoma mlečne žleze TS/A s pDNA z vključenim terapevtskim genom za IL-12, vezano na SPIONs-PAA-PEI, smo primerjali z električno posredovanim vnosom pDNA z vključenim terapevtskim genom za IL-12 ter SPIONs-PAA-PEI v odsotnosti zunanjega magnetnega polja. Magnetofekcija adenokarcinoma mlečne žleze TS/A s pDNA z vključenim terapevtskim genom za IL-12, vezano na SPIONs-PAA-PEI, se je izkazala kot učinkovita metoda genskega zdravljenja s spodbujanjem imunskega odziva. Trikratna magnetofekcija je ob 30-minutni izpostavitvi zunanjemu magnetnemu polju pripomogla k statistično značilnemu zmanjšanju volumna tumorjev v primerjavi s tumorji kontrolne skupine. Protitumorski učinek je bil viden pet dni po zadnji magnetofekciji in je bil prisoten le ob izpostavitvi tumorjev zunanjemu magnetnemu polju. Prav tako je bil šest dni po zadnjem električno posredovanem vnosu pDNA z vključenim terapevtskim genom za IL-12 opažen protitumorski učinek, ki je bil primerljiv z magnetofekcijo. Deset dni po prvem zdravljenju je bil zaostanek v rasti tumorjev po magnetofekciji $7,8 \pm 1,3$ dni, po električno posredovanem vnosu pa $6,6 \pm 1,1$ dni. Glede na to, da je bil protitumorski učinek po magnetofekciji tumorjev s pDNA z vključenim terapevtskim genom za IL-12, vezano na SPIONs-PAA-PEI, primerljiv s tistim po električno posredovanem vnosu, katerega varnost in učinkovitost se že preverjata v kliničnih študijah, ima magnetofekcija s SPIONs-PAA-PEI izredno visok potencial za prenos v klinično prakso.

Iz celotnega *in vitro* in *in vivo* dela, narejenega z novimi SPIONs, je bil pripravljen in objavljen obsežen raziskovalni članek z naslovom Surface modified magnetic nanoparticles for immuno-gene therapy of murine mammary adenocarcinoma avtorjev Prijič S., Prosen L., Čemažar M., Ščančar J., Romih R., Lavrenčak J., Bregar V.B., Cör A., Kržan M., Žnidaršič A., Serša G. v reviji Biomaterials 2012; **33**: 4379-91.

Za učinkovito uvedbo magnetofekcije iz predkliničnih v klinično raziskovanje smo naredili dodatne raziskave na optimizaciji postopka sinteze SPIONs. Preučevali smo vpliv različnih spremenljivk v korakih sinteze SPIONs in priprave SPIONs-PAA-PEI kompleksov za magnetofekcijo na njihove fizikalno-kemijske lastnosti in učinkovitost magnetofekcije mišje melanomske celične linije B16F1 *in vitro*. Dokazali smo robustnost sintezne metode in ponovljivo uspešnost magnetofekcije s tako pripravljenimi kompleksi za magnetofekcijo *in vitro*. Ključni korak pri pripravi kompleksov za učinkovito dostavo genov v celice je funkcionalizacija SPIONs. Iz dobljenih rezultatov smo pripravili članek z naslovom Magnetofection – a reproducible method for gene delivery to melanoma cells o optimizaciji sinteze magnetnih nanodelcev avtorjev Prosen L., Prijič S., Mušič B., Lavrenčak J., Maja Čemažar M., Serša G. in ga poslali v revijo Journal of Biomedicine and Biotechnology, Special Issue on Nanobiotechnology. Trenutno še čakamo na revizijo.

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

V prvem letu projekta smo zastavili tri specifične cilje, in sicer pripravo biokompatibilnih superparamagnetnih nanodelcev, ovrednotenje njihovih fizikalno-kemijskih značilnosti in morebitne citotoksičnosti. Zastavljene cilje smo v celoti realizirali, saj smo uspešno pripravili s siliko oplašene nanodelce, manjše od 50 nm, ki so necitotoksični v določenih koncentracijah in posedujejo specifične magnetne lastnosti.

V drugem letu je bil namen raziskovalnega projekta uporaba superparamagnetnih železo-oksidskih nanodelcev (SPIONs) kot dostavnih sistemov za nukleinske kisline v celice, mišice in eksperimentalne tumorje z magnetofekcijsko tehnologijo. Namen dela prvega sklopa raziskav je bil opraviti magnetofekcijo s poročevalskim in terapevtskim genom in njeno učinkovitost primerjati z magnetofekcijo s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci in drugimi nevirusnimi metodami transfekcije *in vitro*. Namen drugega sklopa pa je bil preveriti akutno toksičnost, razporejanje magnetnih nanodelcev *in vivo*. V prvem sklopu raziskav smo optimirali različne parametre, ki so odločilni za uspešnost magnetofekcije. Cilj smo dosegli, saj smo uspešno opravili magnetofekcijo na več celičnih linijah s pDNA z vključenim tako poročevalskim genom za GFP kot tudi terapevtskim genom za IL-12. Poleg tega smo dokazali, da je učinkovitost magnetofekcije celic s pDNA z vključenim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, večja kot učinkovitost magnetofekcije s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci ter primerljiva z že uveljavljenima metodama, lipofekcijo in električno posredovanim vnosom. Na podlagi rezultatov teh raziskav smo vložili dve patentni prijavi. V drugem sklopu smo preverili akutno toksičnost SPIONs *in vivo* in dokazali, da več stokrat višji odmerki SPIONs od terapevtskih niso povzročili smrti in patoanatomskih sprememb organov.

V tretjem letu smo nadaljevali z *in vivo* poskusi magnetofekcije. Magnetofekcija sprednjih goleničnih mišic miši s pDNA z vključenim poročevalskim genom za GFP, vezano na SPIONs-PAA-PEI, v našem primeru ni bila uspešna, medtem ko je bila uspešnost magnetofekcije eksperimentalnih tumorjev miši *in vivo* potrjena na dveh tumorskih modelih, melanomu in adenokarcinomu mlečne žleze. S trikratno magnetofekcijo šibko imunogenega adenokarcinoma mlečne žleze s pDNA z vključenim terapevtskim genom za IL-12 smo dosegli protitumorski učinek, ki je bil primerljiv s protitumorskim učinkom po električno posredovanem vnosu, katerega varnost in učinkovitost se že preverjata v kliničnih študijah.

Realizirali smo vse cilje raziskovalnega projekta, saj imajo glede na izsledke naših raziskav SPIONs-PAA-PEI kot dostavni sistem za vnos nukleinskih kislin z magnetofekcijsko tehnologijo visok potencial za prenos v klinično prakso. Na podlagi pridobljenega znanja smo pripravili pregledni znanstveni članek, na podlagi naših izsledkov pa smo objavili dva izvirna znanstvena članka, od tega enega v odlični reviji Biomaterials, ki je vodilna revija na svojem področju.

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

Ni sprememb.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	967035	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Povečano vstopanje magnetnih nanodelcev v maligne celice pod vplivom zunanjega magnetnega polja.
		<i>ANG</i>	Increased cellular uptake of biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles into malignant cells by an external magnetic field
	Opis	<i>SLO</i>	Magnetni nanodelci se preučujejo kot dostavni sistemi različnih molekul v celice. Namen študije je bil oceniti fizikalnokemijske lastnosti, citotoksičnost, vstopanje in potovanje naših magnetnih nanodelcev v celicah. Pripravili smo v fiziološki raztopini stabilne nanodelce velikosti 10 nm, ki niso toksični za celice različnih linij v številnih koncentracijah. Nanodelci so učinkovito vstopali v različne celice, najbolj pa v maligne celice v prisotnosti zunanjega magnetnega polja.
			Magnetic nanoparticles are examined as delivery systems for different molecules. The aim of our study was to evaluate physicochemical properties, cytotoxicity, cellular uptake and trafficking pathways of the

		ANG	customsynthesized magnetic nanoparticles. We managed to prepare in isotonic solution stable magnetic nanoparticles with a diameter of 10 nm, which were not cytotoxic in a broad range of concentrations. They were readily internalized into different cells, however exposure to magnetic field increased their cellular uptake, predominantly into malignant cells.
	Objavljeno v		Springer; The journal of membrane biology; 2010; Vol. 236, no. 1; str. 167-179; Impact Factor: 1.630; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.078; WoS: CQ, DR, UM; Avtorji / Authors: Prijič Sara, Ščančar Janez, Romih Rok, Čemažar Maja, Bregar Vladimir Boštjan, Žnidaršič Andrej, Serša Gregor
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	980859	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Elektrogenska terapija s plazmidom za IL12 za zdravljenje raka
		ANG	Cancer electrogene therapy with interleukin-12
	Opis	SLO	Pregledni članek povzema številne predklinične in klinične raziskave elektrogenske terapije s plazmidom za IL12. Predklinične raziskave so pokazale učinkovitost elektrogenske terapije s plazmidom za IL12 tako na lokalnem kot tudi sistemskem nivoju. Translacija raziskav v kliniko v humani in veterinarski onkologiji je prinesla pozitivne rezultate, kar je spodbuda za nadaljnje raziskovanje elektrogenske terapije s plazmidom za IL12, katere potencial se kaže tudi v kombinaciji z uveljavljenimi metodami zdravljenja raka.
		ANG	The review article is a comprehensive review of preclinical and clinical studies on IL12 electrogene therapy of cancer. The preclinical studies have demonstrated that IL12 gene electrotransfer is an effective approach as local or systemic treatment. Translation of preclinical studies into clinical trials in human and veterinary oncology has started with encouraging results that would hopefully lead to further investigation of this therapy, also in combination with other cancer treatment modalities.
	Objavljeno v		Bentham Science Publishers; Current gene therapy; 2010; Vol. 10, no. 4; str. 300-311; Impact Factor: 4.902; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.717; A': 1; WoS: KM; Avtorji / Authors: Čemažar Maja, Jarm Tomaž, Serša Gregor
	Tipologija		1.02 Pregledni znanstveni članek
3.	COBISS ID	1071739	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Magnetni nanodelci kot tarčni dostavni sistemi v onkologiji
		ANG	Magnetic nanoparticles as targeted delivery systems in oncology
	Opis	SLO	V preglednem članku so opisane aplikacije magnetne nanotehnologije v onkologiji. Posebni poudarek je na genski terapiji, magnetofekciji, ki predstavlja zanimiv in uporaben nevirusni sistem za lokalno dostavo gole plazmidne DNA v tumorje.
		ANG	In the review paper are described applications of magnetic nanoparticles in oncology. Special emphasis is on gene therapy, magnetofection, which is a promising local, nonviral delivery system for naked plasmid DNA into the tumors.
	Objavljeno v		Slovenian Medical Society - Section of Radiology; Croatian Medical Association - Croatian Society of Radiology; Radiology and oncology; 2011; Vol. 45, no. 1; str. 1-16, I; Impact Factor: 0.912; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.889; WoS: DM; Avtorji / Authors: Prijič Sara, Serša Gregor
	Tipologija		1.02 Pregledni znanstveni članek
4.	COBISS ID	1237883	Vir: COBISS.SI

Naslov	<i>SLO</i>	Magnetni nanodelci z modificirano površino za imunogeno terapijo mišjega mamarnega adenokarcinoma
	<i>ANG</i>	Surface modified magnetic nanoparticles for immuno-gene therapy of murine mammary adenocarcinoma
Opis	<i>SLO</i>	Pripravili smo superparamagnetne nanodelce železovega oksida (SPIONs), oplaščene in funkcionalizirane z dvojnim slojem endosomolitičnih polimerov, poliakrilno kislino (PAA) in polietileniminom (PEI). Na SPIONs-PAA-PEI smo vezali plazmidno DNA z vključenim reporterskim genom za zeleni fluorescenčni protein (pDNAGFP) oziroma terapevtskim genom za interleukin-12 (pDNAIL-12). Biokompatibilni SPIONs so primerni vektorji za vnos nukleinskih kislin z magnetofekcijo v celice in tumorje. Učinkovitost magnetofekcije celic in tumorjev s pDNAGFP oz. pDNAIL-12, vezano na SPIONs-PAA-PEI, je večja od učinkovitosti magnetofekcije s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci oziroma lipofekcije ter primerljiva z električno posredovanim vnosom. Protitumorski učinek po magnetofekciji tumorjev s SPIONs-PAA-PEI-pDNAIL-12 je primerljiv s tistim po električno posredovanem vnosu, katerega varnost in učinkovitost se že preverjata v kliničnih študijah, zato ima magnetofekcija izredno visok potencial za prenos v kliniko za gensko terapijo raka s spodbujanjem imunskega odziva.
	<i>ANG</i>	We synthesized superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs), coated and functionalized with a double layer of endosomolytic polymers, polyacrylic acid (PAA) and polyethylenimine (PEI). Onto SPIONs-PAA-PEI we bound plasmid DNA carrying reporter gene for green fluorescent protein (pDNAGFP) or therapeutic gene for interleukin-12 (pDNAIL-12). Biocompatible SPIONs are suitable vectors for gene delivery via magnetofection into cells and tumors. Magnetofection of cells and tumors with pDNAGFP or pDNAIL-12, bound to SPIONs-PAA-PEI, was superior in transfection efficiency to commercially available SPIONs or lipofection, and comparable to electrically-mediated transfer. Antitumor effect was after magnetofection with pDNAIL-12, bound to SPIONs-PAA-PEI, comparable to that of electrically-mediated transfer. Magnetofection of tumors using SPIONs-PAA-PEI-pDNAIL-12 holds great potential for the further refinement aimed at cancer immuno-gene therapy since the safety and efficacy of correspondingly efficient electrically-mediated transfer is already being tested in clinical studies for gene therapy.
Objavljeno v	Butterworth Scientific Limited; Biomaterials; 2012; Vol. 33, iss. 17; str. 4379-4391; Impact Factor: 7.404; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.017; A": 1; A': 1; WoS: IG, QE; Avtorji / Authors: Prijčič Sara, Prosen Lara, Čemažar Maja, Ščančar Janez, Romih Rok, Lavrenčak Jaka, Bregar Vladimir Boštjan, Cör Andrej, Kržan Mojca, Žnidaršič Andrej, Serša Gregor	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine²

Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	34792453
	Vir:	COBISS.SI
Naslov	<i>SLO</i>	Magnetni nanodelci za vnos nukleinskih kislin s pomočjo magnetnega polja
	<i>ANG</i>	Magnetic nanoparticles for nucleic acid delivery by magnetic field
Opis	<i>SLO</i>	Razvili smo unikaten postopek priprave biokompatibilnih, površinsko obdelanih magnetnih nanodelcev za vnos nukleinskih kislin v celice pod vplivom zunanjega magnetnega polja.
		We developed unique procedure for synthesis of biocompatible,

		ANG	surfacemodified magnetic nanoparticles for nucleic acid delivery by an external magnetic field.
	Šifra	F.33	Patent v Sloveniji
	Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2010; 11 str.; Avtorji / Authors: Prijič Sara, Bregar Vladimir Boštjan, Rajnar Nevenka, Žnidaršič Andrej	
	Tipologija	2.23	Patentna prijava
2.	COBISS ID	34792709	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Magnetofekcija plazmidne DNA s poročevalskim genom v celice melanoma B16F1, gojene in vitro, s superparamagnetnimi nanodelci v prisotnosti zunanega magnetnega polja
		ANG	Magnetofection of plasmid DNA coding a reporter gene in B16F1 melanoma cells, grown in vitro with superparamagnetic nanoparticles in the presence of external magnetic field
	Opis	SLO	Patent se nanaša na magnetofekcijo plazmidne DNA (pDNA) s poročevalskim genom v celice melanoma B16F1, gojene in vitro, s superparamagnetnimi nanodelci v prisotnosti zunanega magnetnega polja. Vključuje postopke priprave in površinske obdelave superparamagnetnih nanodelcev, postopek vezave vodne raztopine PEI in pDNA na predhodno sterilizirane superparamagnetne nanodelce ter postopek transfekcije kompleksa superparamagnetnih nanodelcev s PEI in pDNA v celice melanoma B16F1 in vitro s pomočjo zunanega magnetnega polja za dostave genskega materiala in zdravilnih učinkovin v celice, gojene in vitro, za različne biomedicinske in biotehnoške aplikacije.
		ANG	The patent refers to magnetofection of plasmid DNA (pDNA) coding a reporter gene in B16F1 melanoma cells grown in vitro with superparamagnetic nanoparticles in the presence of external magnetic field. It includes procedures for the preparation and surface treatment of superparamagnetic nanoparticles, the process of binding of an aqueous solution of PEI and pDNA on previously sterilized superparamagnetic nanoparticles and transfection of the complexes of superparamagnetic nanoparticles with PEI and pDNA in B16F1 melanoma cells in vitro by an external magnetic fields for delivery of genetic material and therapeutic substances in cells grown in vitro for different biomedical and biotechnological applications.
	Šifra	F.33	Patent v Sloveniji
	Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2012; 12 str.; Avtorji / Authors: Prijič Sara, Serša Gregor, Čemažar Maja, Bregar Vladimir Boštjan, Rajnar Nevenka, Žnidaršič Andrej	
	Tipologija	2.24	Patent
3.	COBISS ID	1391995	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Uporaba superparamagnetnih nanodelcev za magnetofekcijo reporterskih in terapevtskih genov v celice, mišice in eksperimentalne tumorje miši
		ANG	The use of superparamagnetic nanoparticles for magnetofection of reporter and therapeutic genes into cells, muscles and experimental tumors in mice
	Opis	SLO	Dr. Sara Prijič je prejela Krkino nagrado za študente podiplomskega študija za doktorsko delo z naslovom Uporaba superparamagnetnih nanodelcev za magnetofekcijo reporterskih in terapevtskih genov v celice, mišice in eksperimentalne tumorje miši. Tema njenega doktorata je bila priprava superparamagnetnih nanodelcev železovega oksida, oplaščenih in funkcionaliziranih z dvojnimi slojem endosomolitičnih polimerov, poliakrilno kislino in polietileniminom in določitev učinkovitosti magnetofekcije oziroma protitumorski učinek nanodelcev z vezanim reporterskim ali terapevtskim

		genom. Raziskovalni dosežki doktorske naloge so bili predstavljeni tudi v kratkem prispevku v Zborniku Krkinih nagrad.
	ANG	Dr. Sara Prijič was awarded Krka's prize 2012 for postgraduate students for her PhD thesis The use of superparamagnetic nanoparticles for magnetofection of reporter and therapeutic genes into cells, muscles and experimental tumors in mice. The main topic of her thesis was preparation of superparamagnetic nanoparticles of iron oxide, coated and functionalized with endosomolytic polymers, polyacrylic acid and polyethylenimine and determination of magnetofection efficacy and antitumour effect of nanoparticles with either reporter or therapeutic genes. Research achievements of the PhD thesis were included in the Proceedings of Krka Prizes.
Šifra	E.01	Domače nagrade
Objavljeno v	Krka; 42. Krkine nagrade; 2012; Str. 61; Avtorji / Authors: Prijič Sara	
Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Prof. Serša in prof. Čemažarjeva sta aktivno opravljata tudi v pedagoško delo na Univerzi v Ljubljani in Univerzi na Primorskem, kjer predavata na dodiplomskem in podiplomskem študiju. Poleg tega sta mentorja tudi dodiplomskih študentom različnih smeri: radiološka tehnologija, zdravstvena nega, biologija.

Podiplomski študent Boštjan Markelc, je pod mentorstvom prof. Čemažarjeve prejel v letu 2009 Univerzitetno Prešernovo nagrado in trenutno uspešno zaključuje s svojim doktorskim delom. Poleg pedagoškega dela je prof. Serša vodja Oddelka za eksperimentalno onkologijo na Onkološkem inštitutu Ljubljana, prof. Čemažar pa je prodekanja za raziskovalno in razvojno delo Fakultete za vede o zdravju, Univerze na Primorskem.

Pokojni direktor Nanotesla Inštituta Ljubljana, doc.dr. Žnidaršič, je v času raziskovalnega projekta vestno opravljal pedagoško delo na Univerzi v Mariboru in sodeloval z mnogimi domačimi in tudi tujimi poslovnimi partnerji.

V okviru raziskovalnega projekta sta bili vloženi 2 patentni prijavi s področja priprave magnetnih nanodelcev (ena je bila v letu 2012 potrjena v patent; COBISS ID: 34792709), objavljena 2 raziskovalna članka in en pregledni članek na temo nanotehnologije v biomedicini ter uspešno zaključena doktorska disertacija Sare Prijič.

Na področju magnetofekcije trenutno dela druga mlada raziskovalka in bo z raziskovalnim delom nadaljevala v okviru drugega projekta, kjer so zastavljeni cilji razviti magnetofekcijo za antiangiogeno zdravljenje tumorjev.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Večina kliničnih študij genske terapije se poslužuje virusov kot dostavnih sistemov. Pomanjkljivosti uporabe virusov kot dostavnih sistemov nukleinskih kislin so pomanjkanje ciljnih receptorjev na gostiteljevi celici, obstoječ imunski sistem gostitelja, sprožitev specifičnega imunskega odgovora gostitelja proti virusnim epitopom, možnost rekombinacije genetskega materiala gostitelja in virusa ter zelo obsežna infrastruktura, ki je potrebna za proizvodnjo virusnih partiklov. Zato so se kljub dejstvu, da velja učinkovitost transfekcije z virusnimi dostavnimi sistemi za največjo, pričeli razvijati novi, nevirusni dostavni sistemi. Nanodelci predstavljajo enega izmed najpomembnejših novih nevirusnih dostavnih sistemov za ciljan vnos terapevtskih molekul, pri čemer magnetni nanodelci predstavljajo prav poseben

dostavni sistem, ki ga je mogoče usmerjati z magnetnim poljem in tako vnos terapevtskih molekul še dodatno lokalizirati. Ker se nanodelci zaradi svoje relativno velike specifične površine v primerjavi s prostornino obnašajo popolnoma drugače kot kemijsko enak material večjih dimenzij, je za uspešno uporabo v biomedicinskih aplikacijah ključno poznavanje njihovih specifičnih fizikalno-kemijskih lastnosti. Ker se po kemijski sestavi enaki nanodelci, a različni glede na fizikalne lastnosti, kot so oblika, velikost, magnetizacija itd., specifično obnašajo v živem sistemu, je potrebno za sleherne nanodelce najprej ovrednotiti njihovo biokompatibilnost ter vstopanje, mobilnost in kopičenje v celicah oziroma in vitro modelu tkiva. Nova spoznanja o obnašanju magnetnih nanodelcev so ključna pri optimizaciji postopka magnetofekcije za ciljno gensko terapijo z magnetnim poljem. Rezultati raziskav v okviru projekta bodo dali nova znanstvena spoznanja, ki bodo uporabljena pri nadaljnjih raziskavah in projektih s področja biomedicinske nanotehnologije magnetnih materialov. Z vsemi realiziranimi cilji raziskovalnega projekta smo dokazali, da imajo superparamagnetni železo-oksidi nanodelci kot dostavni sistem za vnos nukleinskih kislin z magnetofekcijsko tehnologijo visok potencial za prenos v klinično prakso.

ANG

The majority of clinical studies of gene therapy use viruses as transport vehicles for therapeutics. The use of viruses as gene delivery systems is limited due to the receptor dependent host tropism, preexisting immunity of the host, induced immune response by the virus, potential recombination of viral and host cell genetic material and largescale infrastructure for virion production. Because of that and despite the fact that the highest transfection efficiency is obtained by using viruses as vehicles for nucleic acids, new methods have begun developing. Nanoparticles represent novel and very promising nonviral delivery systems for targeted introduction of therapeutic molecules. Moreover, magnetic nanoparticles are even more specialized delivery systems because they are able to be manipulated with the help of an external magnetic field which accentuates the selectivity targeted introduction of therapeutic molecules. Due to the relatively big surface area in comparison to the volume nanoparticles possess unique physicochemical properties which distinguish them from the chemically identical bulk material. Hence, using nanoparticles for biomedical applications strict characterization of their physicochemical properties is essential. Different physical properties, such as shape, size and magnetization, of otherwise chemically identical nanoparticles greatly affect biodistribution. For that reason every particular nanoparticles need to be evaluated for biocompatibility, cellular uptake, mobility and accumulation within the cells and in vitro tissue model. New understandings about magnetic nanoparticles' behavior in vitro are vital for the optimization of magnetofection for targeted gene therapy by an external magnetic field. The results obtained from the project will provide novel scientific recognitions which will be the basis for further research and projects in the field of biomedical nanotechnology.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Interdisciplinarni pristop predstavlja učinkovito rešitev za probleme, ki se pojavijo pri vse večji specializiranosti znotraj znanstvenih disciplin, a je v Sloveniji na žalost še v povojih. Vključevanje nanotehnologije v biomedicino pridobiva na čedalje večjem pomenu, zato so rezultati raziskav v okviru projekta pomembni ne le zaradi rezultatov samih, temveč tudi za spodbujanje sodelovanja več različnih znanstvenih disciplin. Poleg tega bodo rezultati raziskave doprinesli nova znanja relativno mlademu področju biomedicinske nanotehnologije, kar je pomembno ne le za Slovenijo, temveč tudi v svetovnem merilu. Nova spoznanja o obnašanju magnetnih nanodelcev v živem sistemu so osnova za optimizacijo proizvodnje magnetnih nanodelcev, katere produkti bodo na trgu na voljo za vse institucije, ki se ukvarjajo z biomedicinsko nanotehnologijo tako na raziskovalnem kot tudi na uporabnem nivoju.

ANG

Interdisciplinary approach represents efficient solution for the problems which derive from the fast rate specialization within the particular scientific field, however, in Slovenia this approach in science is just evolving. Incorporation of nanotechnology into biomedical applications is gaining importance; thus this project and its results will not only contribute to the introduction of nanotechnology to biomedicine but also encourage the collaboration

between various scientific fields. Moreover, the results of this project will enrich the treasury of knowledge of relatively young field of biomedical nanotechnology not only in Slovenia but also worldwide. New findings about the behavior of magnetic nanoparticles in living matter will be the basis for further optimization of largescale production of magnetic nanoparticles intended for institutions dealing with biomedical nanotechnology on an applied and research level.

**11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

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

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

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljaljskih 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 upravljaljskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

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

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

G.03.04.	Drugo:		<input type="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						
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj						
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						
G.09.	Drugo:						

Komentar

--

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

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

14.Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

Superparamagnetne nanodelce železovega oksida (SPIONs) smo oplaščili in funkcionalizirali z dvojnimi slojem endosomolitičnih polimerov, poliakrilno kislino (PAA) in polietileniminom (PEI). Na SPIONs-PAA-PEI smo vezali plazmidno DNA z reporterskim genom za zeleni fluorescenčni protein (pDNAGFP) oz. terapevtskim genom za interlevkin-12 (pDNAIL-12). Učinkovitost magnetofekcije celic in tumorjev s pDNAGFP oz. pDNAIL-12, vezano na SPIONs-PAA-PEI, je večja od učinkovitosti magnetofekcije s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci oziroma lipofekcije ter primerljiva z električno posredovanim vnosom. Protitumorski učinek po magnetofekciji tumorjev s SPIONs-PAA-PEI-pDNAIL-12 je primerljiv s tistim po električno posredovanem vnosu, katerega varnost in učinkovitost se že preverjata v kliničnih študijah, zato ima magnetofekcija izredno visok potencial za prenos v kliniko za gensko terapijo raka s spodbujanjem imunskega odziva.

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Patent se nanaša na magnetofekcijo plazmidne DNA (pDNA) s poročevalskim genom v celice melanoma B16F1, gojene in vitro, s superparamagnetnimi nanodelci v prisotnosti zunanega magnetnega polja. Vključuje postopke priprave in površinske obdelave superparamagnetnih nanodelcev, postopek vezave vodne raztopine PEI in pDNA na predhodno sterilizirane superparamagnetne nanodelce ter postopek transfekcije kompleksa superparamagnetnih nanodelcev s PEI in pDNA v celice melanoma B16F1 in vitro s pomočjo zunanega magnetnega polja za dostavo genskega materiala in zdravilnih učinkovin v celice, gojene in vitro, za različne biomedicinske in biotehnološke aplikacije.

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:

ONKOLOŠKI INŠTITUT LJUBLJANA

Gregor Serša

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/282

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

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

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

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

[Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

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

⁷ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

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

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

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

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

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

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

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

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

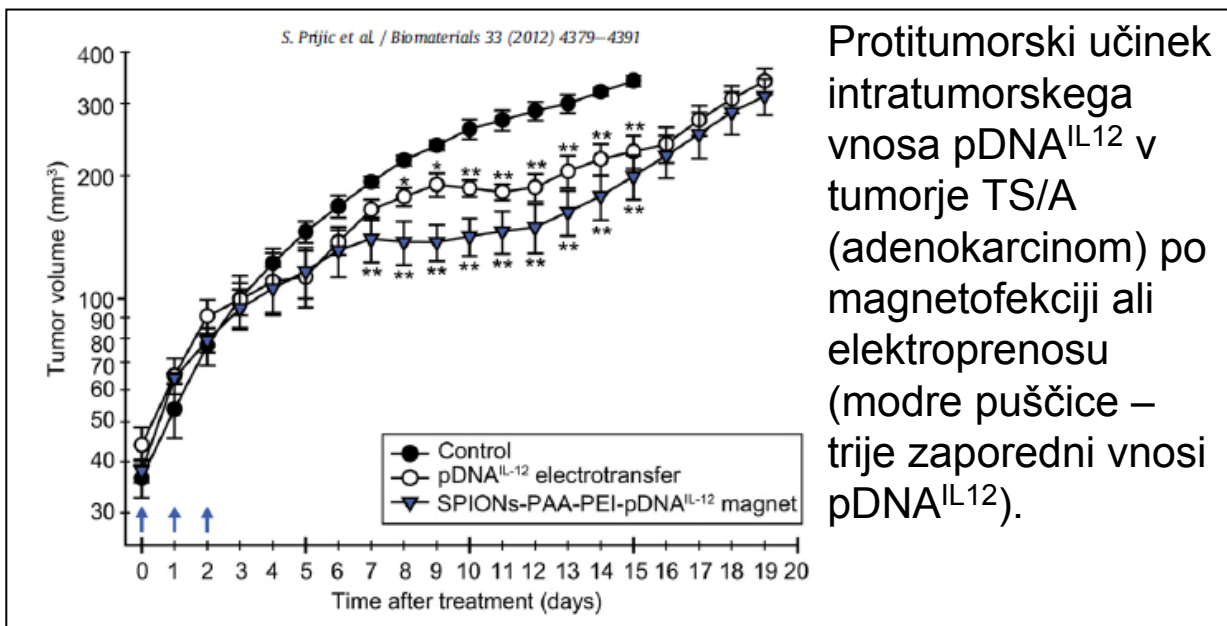
Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00

4D-37-D9-D1-43-36-9E-E8-47-CE-63-20-28-BC-24-32-65-A0-A9-86

Medicina

Področje: 3.04 Onkologija

Dosežek 1: Objava članka v reviji Biomaterials, Vir: PRIJIČ, Sara, PROSEN, Lara, ČEMAŽAR, Maja, ŠČANČAR, Janez, ROMIH, Rok, LAVRENČAK, Jaka, BREGAR, Vladimir Boštjan, ČOR, Andrej, KRŽAN, Mojca, ŽNIDARŠIČ, Andrej, SERŠA, Gregor. Surface modified magnetic nanoparticles for immuno-gene therapy of murine mammary adenocarcinoma. *Biomaterials*. 2012, vol. 33, iss. 17, 4379-4391, [COBISS.SI-ID [1237883](#)],



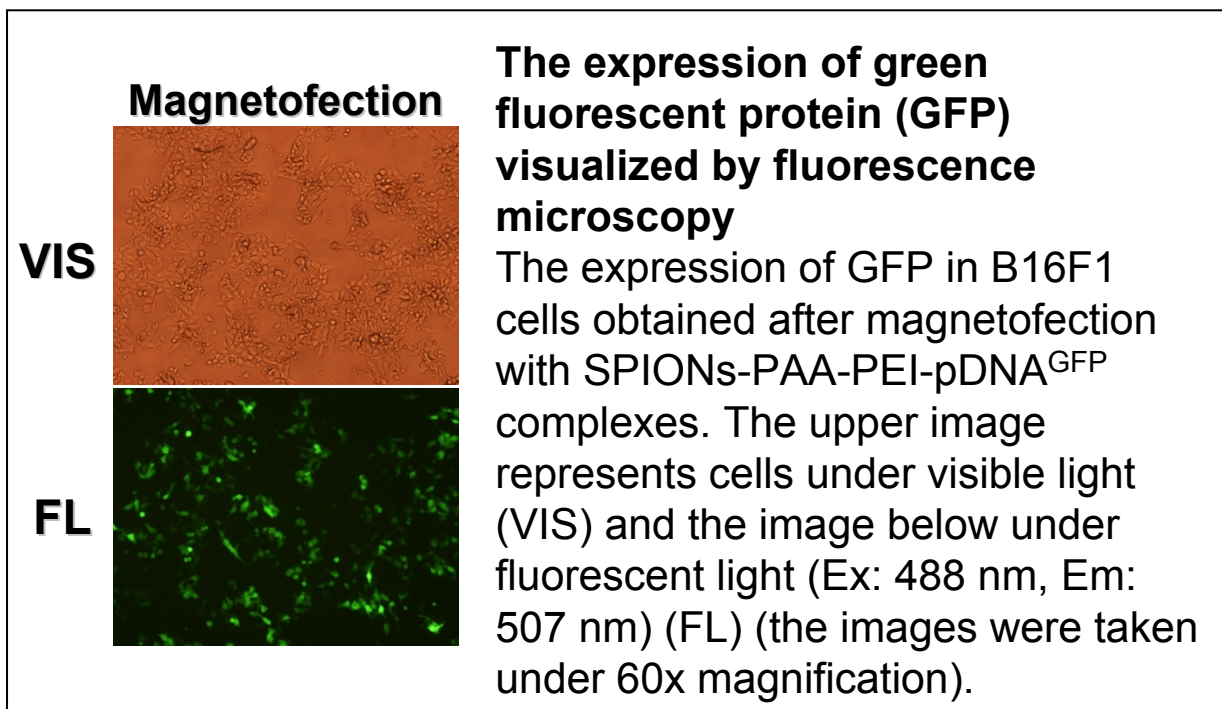
Protitumorski učinek intratumorskega vnosa pDNA^{IL12} v tumorje TS/A (adenokarcinom) po magnetofekciji ali elektroprenosu (modre puščice – trije zaporedni vnosi pDNA^{IL12}).

Superparamagnetne nanodelce železovega oksida (SPIONs) smo oplaščili in funkcionalizirali z dvojnimi sloji endosomolitičnih polimerov, poliakrilno kislino (PAA) in polietileniminom (PEI). Na SPIONs-PAA-PEI smo vezali plazmidno DNA z reporterskim genom za zeleni fluorescenčni protein (pDNA^{GFP}) oz. terapevtskim genom za interlevkin-12 (pDNA^{IL-12}). Učinkovitost magnetofekcije celic in tumorjev s pDNA^{GFP} oz. pDNA^{IL-12}, vezano na SPIONs-PAA-PEI, je večja od učinkovitosti magnetofekcije s komercialno dostopnimi magnetnimi nanodelci oziroma lipofekcije ter primerljiva z električno posredovanim vnosom. Protitumorski učinek po magnetofekciji tumorjev s SPIONs-PAA-PEI-pDNA^{IL-12} je primerljiv s tistim po električno posredovanem vnosu, katerega varnost in učinkovitost se že preverjata v kliničnih študijah, zato ima magnetofekcija izredno visok potencial za prenos v kliniko za gensko terapijo raka s spodbujanjem imunskega odziva.

VEDA Medicina

Področje: 3.04 Onkologija

Dosežek 2: Patent, Vir: PRIJIČ, Sara, SERŠA, Gregor, ČEMAŽAR, Maja, BREGAR, Vladimir Boštjan, RAJNAR, Nevenka, ŽNIDARŠIČ, Andrej. Magnetofekcija plazmidne DNA s poročevalskim genom v celice melanoma B16F1, gojene *in vitro*, s superparamagnetnimi nanodelci v prisotnosti zunanjskega magnetnega polja: *patent SI 23577 (A)*, 2012-06-29. Ljubljana: Urad RS za intelektualno lastnino, 2012. 12 str., ilustr. [COBISS.SI-ID [34792709](#)]



Patent se nanaša na magnetofekcijo plazmidne DNA (pDNA) s poročevalskim genom v celice melanoma B16F1, gojene *in vitro*, s superparamagnetnimi nanodelci v prisotnosti zunanjskega magnetnega polja. Vključuje postopke priprave in površinske obdelave superparamagnetnih nanodelcev, postopek vezave vodne raztopine PEI in pDNA na predhodno sterilizirane superparamagnetne nanodelce ter postopek transfekcije kompleksa superparamagnetnih nanodelcev s PEI in pDNA v celice melanoma B16F1 *in vitro* s pomočjo zunanjskega magnetnega polja za dostavo genskega materiala in zdravilnih učinkovin v celice, gojene *in vitro*, za različne biomedicinske in biotehnološke aplikacije.