

Oznaka poročila: ARRS-RPROG-ZP-2015/154



ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROGRAMA

(za obdobje 1. 1. 2009 - 31. 12. 2014)

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROGRAMU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem programu

Šifra programa	P1-0010
Naslov programa	Folding in dinamika biomolekularnih sistemov FOLDING AND DYNAMICS OF BIOMOLECULAR SYSTEMS
Vodja programa	9899 Franc Avbelj
Obseg raziskovalnih ur (vključno s povečanjem financiranja v letu 2014)	25500
Cenovni razred	C
Trajanje programa	01.2009 - 12.2014
Izvajalci raziskovalnega programa (javne raziskovalne organizacije - JRO in/ali RO s koncesijo)	104 Kemijski inštitut
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.04 Kemija
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.04 Kemija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROGRAMA

2. Povzetek raziskovalnega programa¹

SLO

Zvitje proteinov je proces pri katerem preide protein iz denaturiranega stanja v biološko aktivne nativne konformacije. Manjši monomerni in v vodi topni proteini se lahko večkrat

zviijejo v nativno stanje in razvijejo *in vitro*, brez dodatnih biokemičnih mehanizmov, ki so prisotni v celicah. Za te proteine je zato v sekvenci aminokislinskih ostankov in v pogojih okolice vsebovana vsa potrebna informacija za izgradnjo tridimenzionalnih struktur nativnih konformacij. Način, kako se ta informacija uporabi pri zvitju, še ni pojasnjen. To je problem zvitja proteinov. Revija Science je problem zvitja proteinov uvrstila med 125 ključnih problemov znanosti (*Science*, 2005, **309**, 78). Razumevanje zvitja proteinov na molekularnem nivoju bo imelo pomembno vlogo pri odkrivanju vzrokov za nastanek številnih bolezni, ki so posledica napačnega zvitja in pri odkrivanju metod zdravljenja le teh.

Glavni cilj raziskovalnega programa je kvantitativno ovrednotenje energetike tistih nekovalentnih interakcij, ki sodelujejo pri zvitju proteinov in vezavi ligandov na receptorje. Poznavanje narave in energetike teh interakcij je, kljub velikemu številu študij, še vedno pomanjkljivo. Nova spoznanja na tem področju bodo morda ključnega pomena za dokončno rešitev problema zvitja proteinov. V preteklem raziskovalnem obdobju smo odkrili, da imajo najmanjši peptidi (dipeptidi) strukture, ki so zelo podobne strukturam aminokislinskih ostankov v proteinih. To odkritje omogoča razvoj povsem novega potencialnega polja za napovedovanje struktur proteinov z računalniki, ki bo baziral na strukturah peptidov v vodni raztopini. Prispevke posameznih interakcij k energiji proteina bomo določili iz konformacijskih ravnotežnih konstant, ki jih bomo izmerili z vibracijsko in NMR spektroskopijo. Te prispevke bomo nato postopoma vgrajevali v novo potencialno polje.

Med nekovalentnimi interakcijami se bomo še posebej osredotočili na vodikove vezi in hidrofobne interakcije. Energetiko vodikovih vezi bomo študirali s pomočjo eksperimentalnih podatkov stabilnosti mutantov 'amid v ester', ki kažejo na dominantno vlogo vodikovih vezi pri zvitju proteinov. Večina raziskovalcev zvitja proteinov pa meni, da so hidrofobne interakcije glavna gonilna sila pri zvitju proteinov. Še vedno ni povsem jasno, kaj je razlog za te interakcije na molekularnem nivoju. Hidrofobne interakcije bomo študirali z vibracijsko spektroskopijo in teoretskimi metodami. Z NMR, vibracijsko spektroskopijo in simulacijami molekularne dinamike bomo ovrednotili gibljivost ligandov in receptorjev v prostem in vezanem stanju in raziskali vpliv gibljivosti na stabilnost interakcij ligand-receptor. Študirali bomo mehanizme tvorbe amiloidnih vlaken in iskali možnosti, kako tvorbo vlaken zavirati ali celo preprečiti. V primeru točkovnih mutacij, ki vodijo do nepravilnega zvitja, pa bomo preučevali vlogo različnih šaperonov, ki se uporabljajo v klinični praksi. S kombinacijo teoretičnih in eksperimentalnih metod bomo preučevali splošne molekularne mehanizme delovanja proteinov.

ANG

Protein folding is a process in which a molecule is transformed from the denatured state to its biologically active native conformations. It has long been established that simple soluble monomeric proteins can refold *in vitro* without any additional biochemical machinery. For such proteins, all the information needed to build the three-dimensional structures resides in the sequence of amino acid residues and the environmental conditions. However, the general problem on how the amino acid sequences dictate the three-dimensional structures remains unsolved. The problem of how proteins fold - the protein folding problem - is one of the top 125 scientific puzzles facing scientists today (*Science*, 2005, **309**, 78). Detailed understanding of the molecular events in folding and misfolding processes of proteins may be important for improving therapies of numerous misfolding diseases.

The main objective of this research program is to quantitatively determine the energetics of non-covalent interactions that are involved in the protein folding process and in the

formation of ligand-receptor complexes. The nature and energetics of these interactions are, despite large efforts, still poorly understood. New insights into these interactions may lead us closer to the final solution to the protein folding problem. Recently we have shown that even dipeptides exhibit structural features that are very similar to those of the residues in proteins. This discovery opens prospect for the development of a new force field for predicting protein structures that is based on the structures of peptides in aqueous solution. The energy contributions of individual interactions will be determined from the conformational equilibrium measured by the vibrational and NMR spectroscopy and then gradually incorporated into the new potential force field.

Among the non-covalent interactions, we will focus on the hydrogen bonding and hydrophobic interactions. The energetics of hydrogen bonding will be studied using the experimental stabilities of amide-to-ester mutants, which indicate that hydrogen bonds are the dominant interactions in proteins. On the other hand, hydrophobic interactions are generally considered to be the driving force in protein folding; however, it is still not clear what their molecular origin is. These interactions will be studied using vibrational spectroscopy and theoretical methods. We will use NMR, vibrational spectroscopy, and molecular dynamics simulations to evaluate the flexibility of ligands and receptors in the free and bound state and investigate the influence of flexibility on the stability of ligand-receptor interactions. We will study the mechanisms of formation of amyloid fibers searching for the ways how to inhibit or even prevent the formation of fibers. In the case of misfolding that is a consequence of point mutations, we will study the role of different chaperones that help establishing the native protein function.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem programu, (vključno s predloženim dopolnjenim programom dela v primeru povečanja financiranja raziskovalnega programa v letu 2014)²

SLO

V preteklem programskem obdobju smo naredili pomemben napredek pri razumevanja fizikalnih osnov zvitja proteinov. Rezultate smo objavili v najuglednejših znanstvenih revijah, med njimi: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS; IF≈10)*, *J. Am. Chem. Soc. (JACS; IF≈11)* in *Phys. Rev. Lett. (PRL; IF≈8)*. Članek o strukturah dipeptidov (*PNAS*, 2011, **108**, 1794) je bil s strani ARRS izbran za enega največjih dosežkov slovenske znanosti v letu 2011.

Osredotočili smo se predvsem na naslednje ožje tematike zvitja proteinov: interakcije v proteinih še posebej vloga hidrofobnih interakcij, struktur peptidov, interakcije ligand-receptor, tvorba amiloidnih vlaken in razvoj potencialnega polja za napovedovanje struktur proteinov.

Narava in energetika interakcij v proteinih

Za celovito rešitev problema zvitja proteinov je potrebno razumevanje neveznih interakcij v proteinih, katerih narava in energetika sta relativno slabo poznani. Nedavno kalorimetrično izmerjene solvacijske entalpije nekaterih dipeptidnih analogov so potrdile našo hipotezo, da princip aditivnosti prispevkov posameznih interakcij v proteinih, s katerim se pojasnjujejo eksperimentalno določene spremembe proste energije zvitja proteinov, ne velja za interakcije peptidnih skupin z vodo. Glavna posledica neveljavnosti principa aditivnosti je, da je vrednost solvacijske entalpije peptidne vezi, ki je najpomembnejši parameter pri analizi termodinamike zvitja proteinov, napačna. Naše ugotovitve kažejo, da je potrebno termodinamiko zvitja proteinov popolnoma revidirati (*PNAS*, 2009, **106**, 3137).

Predstavili smo nov pogled na mehanizem hidrofobnega efekta. Efekt spremlja zmanjšanje entropije v vodi, ki obdaja hidrofobni topljenec. Hidrofobni efekt smo

utemeljili s pojavom močno korelirane izmenjave vodikovih vezi med molekulami vode v bližini hidrofobnega topljenca. Ugotovili smo, da se korelacije pri interakciji med molekulami vode pojavijo kot kompenzacija za zmanjšanje fluktuacij elektrostatskega polja, kar je posledica prisotnosti hidrofobne površine. Zaradi neposredne zveze med stopnjo koreliranosti med posameznimi deli v sistemu in entropijo, vodi porast korelacij v sistemu nujno do zmanjšanja entropije. Novo sliko hidrofobnega efekta smo utemeljili s sistematično izvedenimi Monte-Carlo simulacijami vode ob prisotnosti različnih hidrofobnih topljencev (*JACS*, 2012, **134**, 17574), (*PRL* 2013, **111**, 127801-1).

V nadaljevanju smo prišli do zaključka, da morajo teoretični modeli, ki se uporabljajo pri atomističnih simulacijah, za pravilen opis hidrofobnega učinka nujno predhodno reproducirati polarizacijske efekte vodnih molekul, kar je osnova za kooperativnost med vodikovimi vezmi. Ta pogoj ni izpolnjen pri klasičnih simulacijah, ki uporabljajo nepolarizabilna polja sil. Na podlagi številnih testnih študij smo natančno določili simulacijske protokole, ki so potrebni, da dosežemo najboljše ujemanje med teoretičnimi in eksperimentalnimi podatki za strukturne in dinamične lastnosti vode ob hidrofobnih topljencih, če pri simulacijah uporabimo DFT ab-initio MD metode.

Strukture peptidov

Še do nedavnega se je predpostavljalo, da tvorijo majhni peptidi v vodnih raztopinah tako imenovane konformacije naključnega klobčiča. V našem laboratoriju smo pokazali, da temu ni tako in da imajo celo dipeptidi strukturne značilnosti, ki so zelo podobne tistim v proteinih (*PNAS*, 2011, **108**, 1794). Z vibracijsko spektroskopijo smo določili strukture oz. porazdelitev treh glavnih konformacij dipeptidov v vodi. Pokazali smo, da je porazdelitev deležev posameznih konformacij zelo odvisna od vrste stranske verige. V vabljenem komentarju revije ameriške akademije znanosti je Jan Hermans zapisal, da so naši objavljeni rezultati pomemben dosežek za razumevanje zvitja proteinov (*PNAS*, 2011, **108**, 3095), s pomembnimi implikacijami za razvoj novih potencialnih polj za napovedovanje struktur proteinov.

Interakcije ligand-receptor

Interakcije ligand-receptor so podobne nekovalentnim interakcijam v proteinih. Poznavanje njihove narave in energetike, pa je ključno tudi za racionalno načrtovanje novih zdravilnih učinkovin. Z uporabo metod nuklearne magnetne resonance (NMR) in računalniških simulacij molekulske dinamike smo raziskovali dinamične procese v kompleksih ligand-receptor in njihov vpliv na interakcije ligand-receptor. Opredelitev teh interakcij na osnovi rigidnih kristalnih struktur namreč ni zadostna. Določili smo način vezave več vrst novih inhibitorjev receptorja MurD (*J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 2899, *ChemMedChem*, 2010, **5**, 286, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 2880 in 3964, *Curr. Med. Chem.* 2011, **18**, 2517, *PloS One*, 2012, **7**, 1, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **83**, 92). V raziskanih kompleksih smo odkrili medsebojno povezane dinamične procese, ki so posledica notranje gibljivosti ligandov in receptorja. Ugotovili smo, da ti procesi vplivajo na konformacijo vezanih ligandov, stabilnost vezavnih interakcij in prilagodljivost vezavnega mesta. Z upoštevanjem dinamičnega vidika smo razvili lasten postopek virtualnega rešetanja in z njim odkrili novo skupino inhibitorjev MurD z drugačnim strukturnim skeletom od poznanih inhibitorjev, ki kljub manjšemu številu interakcij z receptorjem po *in vitro* inhibitorski aktivnosti sodijo med boljše inhibitorje MurD (*Patent* : SI 24317 (A), 2014-09-30). Določili smo način vezave intrinzično fleksibilnega piridiletanol(fenetil)aminskega inhibitorja na človeški CYP51 (*J. Chem. Inf. Model*, 2014, **54**, 3384), ki ni bil mogoč z rentgensko difrakcijo. Ugotovili smo ključne interakcije za selektivnost teh derivatov, ki pomembno prispevajo k razumevanju strukturnih zahtev za selektivnost CYP51 inhibitorjev.

Tvorba amiloidnih vlaken

Polipeptid polilizin (PLL) je idealen model za študij proteinske fibrilacije. V raziskavah

smo se osredotočili na določevanje porazdelitve konformacij PLL v odvisnosti od okolja in stopnje agregacije z uporabo infrardeče spektroskopije. Pokazali smo, da pri nizkih pH vrednostih PLL zaseda P_{II} in β konformaciji. Z višanjem pH vrednosti se začnejo pojavljati zametki α vijačnic. Višanje temperature povzroča tvorbo β struktur. Z analizo amidnega III območja smo pokazali, da lahko v področju β struktur PLL ločimo med aminokislinskimi ostanki, ki so v β konformaciji, β -traku, β -ploskvi ali v amiloidnem vlaknu (*Biophys. Chem.*, 2013, **175176**, 47).

Vodikove vezi kislinskih soli

V letu 2014 smo nadaljevali z raziskavami nihajnih spektrov kristalov z vodikovimi vezmi dolžine O...O od 2.48Å do 2.56Å. Največjo pozornost smo usmerili na dihidrat oksalne kisline, ker ramanski spekter kaže štiri anomalije pri hlajenju in izotopski zamenjavi, a manj v infrardečih spektrih. Za potrditev hipoteze o mehanizmih teh anomalij smo spektralnim analizam dodali še meritve električne prevodnosti, izračun nihajnih frekvenc s programom VASP in meritev relaksacijskega časa T₁. Poleg tega primera smo obravnavali IR spektre kalijevega hidrogen ftalata, ki ima poleg številnih praktično pomembnih fizikalnih lastnosti še odprto vprašanje lociranja traku valenčnega nihanja hidroksilne skupine. V literaturi je vsaj pet predlogov, toda nobeden od njih ne drži. Naš predlog se nanaša na infrardeči trak pri 1960 cm⁻¹, katerega temperaturne spremembe kažejo na sklopitev valenčnega OH nihanja s polaritoni.

Razvoj nove generacije potencialnih polj in algoritmov za napovedovanje struktur proteinov

Razvijamo povsem novo potencialno polje za študij zvitja proteinov. Potencialno polje gradimo na osnovi eksperimentalnih podatkov peptidov v vodnih raztopinah. Pričakujemo, da bomo potencialno polje v kratkem razvili do te mere, da bo zmožgel pravilno napovedati strukture manjših proteinov.

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

SLO

Ocenjujemo, da smo v minulem obdobju dosegli zastavljene raziskovalne cilje. Na več področjih, ki zadevajo fundamentalne principe zvitja proteinov smo uspeli utemeljiti nove poglede, za katere pričakujemo, da bodo bistvenega pomena pri dokončni rešitvi problema zvitja proteinov.

Razvili smo prve verzije novega potencialnega polja za študij mehanizmov zvitja proteinov. V svetu uveljavljena potencialna polja sil (Amber, Charmm, Gromos) ne zmorejo napovedati struktur dipeptidov, verjetno zato, ker slonijo na eksperimentalnih podatkih amidov in drugih enostavnih majhnih molekulah. Potencialno polje zato gradimo na osnovi eksperimentalnih podatkov peptidov v vodnih raztopinah, kar predstavlja bistveno spremembo paradigme.

V preteklem obdobju smo naredili velik napredek pri razumevanju hidrofobnega efekta. Predstavili smo nov pogled na mehanizem hidrofobnega efekta. S pojavom močno korelirane izmenjave vodikovih vezi med molekulami vode smo pojasnili zmanjšanje entropije vode v bližini hidrofobnega topljenca. Kaže pa, da je osnovni princip mikroskopskega mehanizma tega pojava v spremenjeni jakosti vodikovih vezi med molekulami vode, ki so v neposredni bližini hidrofobnega topljenca. Pojav je na meji opazljivosti tako eksperimentalnih kot teoretičnih metod, zaradi česar moramo pri svojih raziskavah uporabiti in razviti metode, ki močno presegajo natančnost standardnih pristopov. V nadaljevanju želimo razvito metodologijo za obravnavo hidrofobnega efekta pri idealiziranih topljencih prenesti na realne polipeptidne sisteme in proteine ter kvantificirati njegove učinke.

V dosedanjih raziskavah smo pokazali, da je za določevanje struktur majhnih peptidov v vodnih raztopinah ključna uporaba vibracijske spektroskopije (infrardeče, ramanske in VCD). Z razvojem metodologije vrednotenja amidnih III trakov smo na seriji blokiranih aminokislin potrdili prvotne hipoteze o strukturalni odvisnosti posameznih komponent spektrov. Analiza amidnih III trakov pa nam razkrije tudi porazdelitev konformacij večjih peptidov (primer poli-L-lizina). Ostaja še generalizacija uporabljene metode na večjih peptidih in proteinih.

Z metodami NMR spektroskopije in simulacijami molekularne dinamike smo raziskali vpliv dinamičnih procesov na interakcije ligand-receptor in določili način vezave intrinzično fleksibilnih ligandov. Naši rezultati so pokazali, da notranja gibljivost molekul lahko odločilno vpliva na te interakcije in s tem povzroča razlike v inhibitorni aktivnosti ligandov z različnimi strukturalnimi skeleti, ki jih ni mogoče pojasniti s študijem rigidnih kristalnih struktur kompleksov ligand-receptor. Z upoštevanjem dinamičnega vidika smo razvili lasten postopek virtualnega rešetanja in z njim odkrili novo skupino inhibitorjev ligaze MurD, ki brez nadaljnje optimizacije dosegajo enako stopnjo aktivnosti kot večstopenjsko optimizirani inhibitorji. Prvič smo uspeli določiti način vezave intrinzično fleksibilnega piridiletanol(feniletil)aminskega inhibitorja na človeški CYP51, ki je odkril nove smernice za načrtovanje selektivnih glivnih inhibitorjev.

5.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega programa oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave programske skupine v letu 2014⁴

SLO

Ni bilo sprememb.

6.Najpomembnejši znanstveni rezultati programske skupine⁵

		Znanstveni dosežek	
1.	COBISS ID	4611098	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Populacije treh glavnih konformacij dipeptidov 19 osnovnih aminokislin
		ANG	Populations of the three major backbone conformations in 19 amino acid dipeptides
Opis	SLO	<p>Za določevanje relativnih populacij treh najpomembnejših konformacij (PII, β, and α_R) 19 dipeptidov glavnih amino-kislin smo analizirali amidno III območje v vibracijskih spektrih. Rezultati predstavljajo osnovo za razvoj novih potencialnih polj za študij struktur polipeptidov. Za vse dipeptide sta najbolj pogosti konformaciji PII in β. Izjema je dipeptid Gly. Za vse dipeptide je populacija α_R konformacije manjše od 10 %. Izjema je Gly dipeptid, ki ima zelo kompleksno porazdelitev konformacij v ϕ, ψ prostoru in nejasno asignacijo amidnih III trakov. Populacije β in PII konformacij se med 19 dipeptidi zelo razlikujejo. Trak med 1317 in 1306 cm^{-1} smo pripisali PII konformaciji, trak med 1304cm^{-1} in 1294 cm^{-1} smo pripisali α_R konformaciji in trak med 1294 in 1270 cm^{-1} konformaciji β. Intenzitete treh trakov smo merili z oslajeno totalno refleksijsko spektroskopijo in ramansko spektroskopijo. Z obema spektroskopskima metodama so bili pridobljeni konsistentni rezultati, tako v frekvencah kot v relativnih populacijah. Konformaciji β in PII sta bili asignirani s pomočjo sklopitvenih konstant 3J(HN,Hα) v odvisnosti od relativne populacije β konformacij. Assignacija PII konformacije je v skladu s podatki ramanske optične aktivnosti. Temperaturna odvisnost relativnih populacij β in PII konformacij je za alanin in leucin med 30 in 60°C v skladu s standardnim Boltzmannovim modelom med 30 in 60°C.</p> <p>The amide III region of the peptide infrared and Raman spectra has been used to determine the relative populations of the three major backbone conformations (PII, β, and α_R) in 19 amino acid dipeptides. The results provide a benchmark for force field or other methods of predicting</p>	

		backbone conformations in flexible peptides. There are three resolvable backbone bands in the amide III region. The major population is either PII or β for all dipeptides except Gly, whereas the α R population is measurable but always minor ($< 10\%$) for 18 dipeptides. (The Gly ϕ, ψ map is complex and so is the interpretation of the amide III bands of Gly.) There are substantial differences in the relative β and PII populations among the 19 dipeptides. The band frequencies have been assigned as PII, 1317-1306 cm^{-1} ; α R, 1304-1294 cm^{-1} ; and β , 1294-1270 cm^{-1} . The three bands were measured by both attenuated total reflection spectroscopy and by Raman spectroscopy. Consistent results, both for band frequency and relative population, were obtained by both spectroscopic methods. The β and PII bands were assigned from the dependence of the $3J(\text{HN}, \text{Ha})$ coupling constant (known for all 19 dipeptides) on the relative β population. The PII band assignment agrees with one made earlier from Raman optical activity data. The temperature dependences of the relative β and PII populations fit the standard model with Boltzmann-weighted energies for alanine and leucine between 30 and 60°C.
	ANG	
	Objavljeno v	National Academy of Sciences; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America; 2011; Vol. 108, no. 5; str. 1794-1798; Impact Factor: 9.681; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.271; A'': 1; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Grdadolnik Jože, Mohaček-Grošev Vlasta, Baldwin Robert Lesh, Avbelj Franc
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	4103962 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Izvor spremembe solvacijske entalpije peptidne skupine ob dodatku sosednjih peptidnih skupin
		ANG Origin of the change in solvation enthalpy of the peptide group when neighboring peptide groups are added
	Opis	SLO Nedavno kalorimetrično izmerjene solvacijske entalpije nekaterih dipeptidnih analogov so potrdile našo hipotezo, da princip aditivnosti ne velja za interakcije peptidnih skupin z vodo. Glavna posledica neveljavnosti principa aditivnosti je, da je vrednost solvacijske entalpije peptidne vezi, ki je najpomembnejši parameter pri analizi termodinamike zvitja proteinov, popolnoma napačna. Kot testni sistem smo uporabili eksperimentalno določene hitrosti izmenjave vodika na peptidnih vezeh. Računi pokažejo, da je napaka predvsem posledica zanemarjanja vpliva sosednjih NHCO skupin.
		ANG Recent calorimetric measurements of the solvation enthalpies of some dipeptide analogs confirm our earlier prediction that the principle of group additivity is not valid for the interaction of the peptide group with water. We examine the consequences for understanding the properties of peptide solvation. A major consequence is that the current value of the peptide solvation enthalpy, which is a basic parameter in analyzing the energetics of protein folding, is seriously wrong. Electrostatic calculations of solvation free energies provide an estimate of the size and nature of the error.
	Objavljeno v	National Academy of Sciences; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America; 2009; Vol. 106, no. 9; str. 3137-3141; Impact Factor: 9.432; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.33; A'': 1; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Avbelj Franc, Baldwin Robert Lesh
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	5094426 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Fizikalni izvor padca entropije ob hidrofobni hidraciji

		ANG	Physical origin underlying the entropy loss upon hydrophobic hydration
Opis		SLO	Predstavili smo nov pogled na mehanizem hidrofobnega efekta. Razumevanje hidrofobnega efekta na molekularnem nivoju je ključnega pomena za razlago vrste kemijskih in bioloških pojavov. Efekt spremlja zmanjšanje entropije v vodi, ki obdaja hidrofobni topljenec. Hidrofobni efekt utemeljimo s pojavom močno korelirane izmenjave vodikovih vezi med molekulami vode v bližini hidrofobnega topljenca. Ugotovili smo, da se korelacije pri interakciji med molekulami vode pojavijo kot kompenzacija za zmanjšanje fluktuacij elektrostatskega polja, kar je posledica prisotnosti hidrofobne površine. Zaradi neposredne zveze med stopnjo koreliranosti med posameznimi deli v sistemu in entropijo, vodi porast korelacij v sistemu nujno do zmanjšanja entropije. Novo sliko hidrofobnega efekta, ki jo lahko formuliramo kot princip, da je elektrostatski šum na posamezno molekulo vode maksimiran, tako da lahko vsaka molekula vode tvori maksimalno število vodikovih vezi, podpremo s sistematično izvedenimi MonteCarlo simulacijami vode ob prisotnosti različnih hidrofobnih topljencev.
		ANG	The hydrophobic effect (HE) is commonly associated with the demixing of oil and water at ambient conditions and plays the leading role in determining the structure and stability of biomolecular assembly in aqueous solutions. On the molecular scale HE has an entropic origin. It is believed that hydrophobic particles induce order in the surrounding water by reducing the volume of configuration space available for hydrogen bonding. Here we show with computer simulation results that this traditional picture, based on average structural features of hydration water, configurational properties of single water molecules, and up to pairwise correlations, is not correct. Analyzing collective fluctuations in water clusters we are able to provide a fundamentally new picture of HE based on pronounced many-body correlations affecting the switching of hydrogen bonds (HBs) between molecules. These correlations emerge as a nonlocal compensation of reduced fluctuations of local electrostatic fields in the presence of an apolar solute. We propose an alternative view which may also be formulated as a maximization principle: The electrostatic noise acting on water molecules is maximized under the constraint that each water molecule on average maintains as many HBs as possible. In the presence of the solute the maximized electrostatic noise is a result of nonlocal fluctuations in the labile HB network giving rise to strong correlations among at least up to four water molecules.
Objavljeno v	American Chemical Society; Journal of the American Chemical Society; 2012; Vol. 134, issue 42; str. 17574-17581; Impact Factor: 10.677; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.175; A": 1; A': 1; WoS: DY; Avtorji / Authors: Godec Aljaž, Merzel Franci		
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
4.	COBISS ID	36953605	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Mehke fluktuacije določajo hidrofobno interakcijo	
	ANG	Soft collective fluctuations governing hydrophobic association	
Opis	SLO	Tradicionalno razlagamo interakcijo med dvema privlačnima hidrofobnima delcema na osnovi sproščanja entropijsko frustriranih molekul vode, ki se nahajajo v njuni hidratacijski lupini. Vendar pa ta slika ne zajema kinetike procesa približevanja delcev, zato je ni mogoče uporabiti za celovit mikroskopski opis hidrofobne interakcije (HI). V tem delu na podlagi Monte Carlo simulacij para nepolarnih topljencev z velikostjo manjših molekul pokažemo odločilno vlogo kolektivnih fluktuacij v mreži vodikovih vezi za ustrezno mikroskopsko sliko HI. Glavni prispevek k HI je sprostitev translacijskih korelacij med topljencem in vodo. Obstoj maksimuma toplotne kapacitete ob desolvacijski barieri je povezan z mehčanjem	

		fluktuacij ne-vodikovo-vezanih vod in relaksacijo večdelčnih korelacij v mreži labilnih vodikovih vezi. Pokaže se, da je odločilni mikroskopski dogodek, ki je odgovoren za kinetiko hidrofobne asociacije, pojav kritične kolektivne fluktuacije hidratacijske vode, ki izpodrine znaten delež vodikovo vezanih skupkov iz notranje v zunanje območje prve hidratacijske lupine.
	ANG	The interaction between two associating hydrophobic particles has traditionally been explained in terms of the release of entropically frustrated hydration shell water molecules. However, this picture cannot account for the kinetics of hydrophobic association and is therefore not capable of providing a microscopic description of the hydrophobic interaction (HI). Here, Monte Carlo simulations of a pair of molecular-scale apolar solutes in aqueous solution reveal the critical role of collective fluctuations in the hydrogen bond (HB) network for the microscopic picture of the HI. The main contribution to the HI is the relaxation of solute-water translational correlations. The existence of a heat capacity maximum at the desolvation barrier is shown to arise from softening of non-HB water fluctuations and the relaxation of many-body correlations in the labile HB network. The microscopic event governing the kinetics of hydrophobic association has turned out to be a relatively large critical collective fluctuation in hydration water displacing a substantial fraction of HB clusters from the inner to the outer region of the first hydration shell.
	Objavljeno v	American Physical Society; Physical review letters; 2013; Vol. 111, iss. 12; str. 127801-1 - 127801-5; Impact Factor: 7.728; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.852; A': 1; A': 1; WoS: UI; Avtorji / Authors: Godec Aljaž, Smith Jeremy C., Merzel Franci
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	4121626 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Študija načina vezave derivatov naftalen-N-sulfonyl-D-glutaminske kisline, novih inhibitorjev ligaze MurD, z uporabo NMR spektroskopije in simulacij molekularne dinamike
	ANG	NMR and molecular dynamics study of the binding mode of naphthalene-N-sulfonyl-D-glutamic acid derivatives: novel MurD ligase inhibitors
	Opis	SLO S kombinacijo NMR metod in računalniških simulacij molekularne dinamike smo določili način vezave serije novih derivatov naftalen-N-sulfonyl-D-glutaminske kisline na ligazo MurD. Mur ligaze so nedavno odkriti bakterijski encimi, ki sodelujejo v procesih membranske biogeneze v celicah bakterij in so zato primerne nove proteinske tarče za razvoj protibakterijskih učinkovin. Kljub številnim poskusom še vedno ni zadovoljivih rezultatov na področju razvoja novih protibakterijskih učinkovin, ki bi delovale kot inhibitorji Mur ligaz. Neuspeh dosedanjih poskusov je mogoče pripisati nezadostni učinkovitosti obstoječe metodologije načrtovanja novih zdravilnih učinkovin. Strukturno podprte metode preveč slonijo na togih molekularnih strukturah, ki so bile določene z rentgensko difrakcijo. Zato so raziskave dinamično-strukturnih značilnosti vezave novih inhibitorjev Mur zelo aktualne. V naših študijah smo z NMR metodami prepoznali konformacijsko fleksibilnost novih inhibitorjev v vezavnem mestu encima in jo raziskali z računalniškimi simulacijami molekularne dinamike kompleksov inhibitor-receptor. Določili smo vpliv fleksibilnosti na posamezne interakcije inhibitor-receptor. Ugotovili smo, da je stopnja fleksibilnosti povezana s specifičnimi elementi molekularne strukture ligandov in z razlikami v njihovi inhibitorni aktivnosti. Pokazali smo, da dodatne hidrofobne interakcije inhibitor-receptor povečajo inhibitorno aktivnost novih ligandov in definirali molekularne segmente, ki jih tvorijo. Podali smo smernice za načrtovanje aktivnejših analogov.
		The binding mode of naphthalene-N-sulfonyl-D-glutamic acid derivatives, novel MurD ligase inhibitors was determined using a combination of NMR

	ANG	<p>methods and theoretical simulations of molecular dynamics. Mur ligases are recently discovered intracellular bacterial enzymes that are involved in the peptidoglycan biosynthetic pathway in bacterial cells and are therefore attractive protein targets for development of novel antimicrobial agents. Despite several attempts there are still no satisfactory results regarding the development of novel antibacterial drugs with potent inhibitor activity against Mur ligases. This is a consequence of insufficient effectiveness of drug design methodologies. Too much expectation has been placed on rigid molecular structures determined by X-ray diffraction. Therefore the studies of dynamical and structural aspect of binding mode of novel Mur ligases inhibitors are necessary. In our studies the conformational flexibility of bound inhibitors was identified by NMR experiments and further examined by unrestrained molecular dynamic simulations. The results revealed the differing degrees of inhibitor flexibility and their effect on particular inhibitor-receptor contacts. The degree of conformational flexibility depends on the specificity of the inhibitor molecular structure and adaptability within the binding site and can be related to the differences in the activity of novel inhibitors. The importance of hydrophobic inhibitor-receptor interactions for increased inhibitory activity of novel ligands was specified and the segments of molecular structure that are responsible for them were identified. The guidelines for the design of more active analogues were given.</p>
Objavljeno v		American Chemical Society; Journal of medicinal chemistry; 2009; Vol. 52, no. 9; str. 2899-2908; Impact Factor: 4.802; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.396; A': 1; WoS: DX; Avtorji / Authors: Simčič Mihael, Hodošek Milan, Humljan Jan, Kristan Katja, Urleb Uroš, Kocjan Darko, Golič Grdadolnik Simona
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati programske skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	258135552 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Določitev načina vezave novih inhibitorjev ligaze MurD
		ANG Determination of the binding mode of novel MurD ligase inhibitor
	Opis	<p>Doktorska disertacija predstavlja pomemben prispevek k racionalnemu načrtovanju novih protibakterijskih učinkovin, ki bi delovale na znotrajcelične encime ligaze Mur. Postavili smo novo metodologijo za študij nekovalentnih interakcij ligandov z ligazami Mur, ki je sestavljena iz metod NMR in teoretičnih simulacij molekularne dinamike in ključno nadgradi študije teh interakcij z rentgensko difrakcijo. Uspeli smo določiti način vezave več novih vrst inhibitorjev ligaze MurD, za katere kristalna struktura v kompleksu z receptorjem ni znana. Tudi pri kompleksih za katere je znana kristalna struktura smo statičen pogled nadgradili z dinamičnimi lastnostmi. Odkrili smo hitra gibanja domen receptorja in fleksibilnost vezanih ligandov. S študijem vpliva dinamičnih procesov na interakcije ligand-receptor smo uspeli razložiti razlike v aktivnosti ligandov z različnimi strukturnimi skeleti in podali smernice za načrtovanje aktivnejših analogov in za odkrivanje novih učinkovitih inhibitorjev z novimi načini vezave. Postavljena metodologija bo uporabna tudi za študij interakcij ligandov z drugimi receptorji podobne velikosti.</p> <p>Doctoral dissertation represents an important contribution to the rational design of new antibacterial agents that would act on intracellular enzymes Mur ligases. We set a new methodology for the study of non-covalent</p>

			interactions of ligands with Mur ligases, which consists of NMR methods and theoretical simulations of molecular dynamics and crucially upgrades studies of these interactions by using the X-ray diffraction. We were able to determine the binding mode of several new types of MurD ligase inhibitors, for which a crystal structure in complex with the receptor is not known. Even in complexes with known crystal structure the static view was upgraded with the dynamic properties. We discovered fast receptor domain motions and flexibility of bound ligands. By studying the effect of dynamic processes on the ligand-receptor interactions, we managed to explain differences in the activities of ligands with different structural scaffolds and gave guidelines for the design of more active analogues and for the discovery of new effective inhibitors with novel binding modes. The applied methodology will allow also the study of ligand interactions with other receptors of similar size.
	Šifra	D.09	Mentorstvo doktorandom
	Objavljeno v	[M. Simčič]; 2011; 212 str.; Avtorji / Authors: Simčič Mihael	
	Tipologija	2.08	Doktorska disertacija
2.	COBISS ID	2418788	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Večdelčne korelacije pri hidrofobnih interakcijah
		ANG	Many-body correlations in hydrophobic interactions
	Opis	SLO	Doktorska disertacija posega na področje mikroskopske slike hidrofobne interakcije, ki je izjemnega pomena pri razumevanju procesov v molekularni biofiziki. Rezultati temeljijo na atomističnih Monte-Carlo simulacijah vode in generičnih modelov topljencev ob uporabi metod klasične statistične mehanike. V delu je predstavljena vrsta inovativnih metodoloških pristopov ter obsežne in skrbno izvedene analize kot tudi teoretske novosti, ki bistveno dopolnjujejo obstoječo fizikalno sliko hidrofobnega efekta. V delu je nedvoumno pokazano, da je konsistenten opis hidrofobnega efekta možen le ob upoštevanju večdelčnih korelacij med molekulami vode. Glavne rezultate in ugotovitve doktorskega dela je mogoče zajeti v štiri sklope, ki so kritično umeščeni v kontekst obstoječih dognanj in med katerimi vsak posebej predstavlja tudi odlično izhodišče za nadaljnje raziskave. Obravnava: i) odziv molekul vode na naraščajočo polarno motnjo modelnih topljencev, ii) mikroskopski izvor padca entropije pri hidrofobni hidrataciji, iii) vlogo večdelčnih korelacij pri interakciji med dvema hidrofobnima topljencema ter uvede iv) koncept lokalne termodinamike kot najprimernejšega orodja za opis lokalnih nehomogenosti v tekočinah.
		ANG	PhD thesis deals with the microscopic picture of hydrophobic interaction, which is crucial for understanding many phenomena in molecular biophysics. Results are based on atomistic Monte-Carlo simulations of water and generic model solutes using methods of classical statistical mechanics. The work demonstrates an application of a series of innovative methodological approaches as well as of theoretical innovations that significantly complement the existing physical picture of the hydrophobic effect. It is clearly shown that the consistent description of the hydrophobic effect is possible only upon the proper inclusion of many-body correlations between water molecules. The main results and conclusions of the doctoral thesis can be summarized in four parts: i) water molecules response to the increasing solute polarity, ii) the microscopic origin of the entropy loss upon hydrophobic hydration, iii) the role of many-body correlations at the interaction between two hydrophobic solutes, and iv) the concept of local thermodynamics as the most appropriate tool to describe local inhomogeneities in liquids.

	Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom	
	Objavljeno v	[A. Godec]; 2012; 113 str.; Avtorji / Authors: Godec Aljaž	
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija	
3.	COBISS ID	267472384	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Spektroskopsko določevanje konformacij kratkih peptidov alanina, poli-L-lizina in inzulina pri tvorbi amiloidnih fibril : doktorska disertacija.
		ANG	Spectroscopic characterization of conformations of short alanine peptides, poly-L-lysine, and insulin during formation of amyloid fibrils
	Opis	SLO	Z uporabo infrardeče spektroskopije smo razvili vpogled v sekundarno strukturo peptida tako, da smo določili asignacijo amidnih trakov različnih konformacij modelnega peptida poli-L-lizina (PLL). PLL v vodi pri nizkih pH vrednostih v večini zavzame PII in β strukture, medtem ko se pri višjih pH vrednostih in nizkih temperaturah pojavi karakteristični vrh za α vijačno konformacijo. Višje temperature inducirajo tvorbo β struktur, ki pa so hkrati tudi komponente amiloidnih fibril. Terapevtski pomen za pridobivanje poglobljenega znanja o fibrilaciji inzulina v povezavi s sladkorno boleznijo tipa I je pripeljal do študij, ki se osredotočajo na kinetiko fibrilacije in strukturne lastnosti. Fibrile inzulina kažejo na lastnosti, ki so skupne vsem amiloidnim vlaknom, to so podolgovata in nerazvejana morfologija, značilen difrakcijski vzorec prečnih β -ploskev ter Tioflavin T fluorescenca. Kinetične parametre smo lahko primerjali s tistimi, ki smo jih pridobili s Tioflavin T fluorescenco. Koncentracijske meritve so nakazale, da je hitrost elongacije fibril v skladu z reakcijo prvega reda. Opazili smo taljenje α -vijačnice in PII konformacije nativnega inzulina in tvorbo β -ploskev.
		ANG	By applying infrared spectroscopy, we have gained the insights into peptide secondary structures through assignation of the amide bands for different conformations of the model peptide poly-L-lysine (PLL). In water at low pH values, PLL mainly possessed the PII and β structures, while at higher pH values and low temperatures, characteristic band for the α -helical conformation was found. The increase in temperature induced the formation of β structures that are components of amyloid fibrils. The therapeutic importance of gaining a detailed knowledge on insulin fibrillation in relation to type I diabetes has led to intensive studies focusing on its fibrillation kinetics and structural characteristics. Insulin fibrils feature the characteristics that are common to all amyloid fibrils, such as an elongated, unbranched morphology, characteristic cross- β diffraction pattern and Thioflavin T fluorescence. The kinetic parameters were comparable to those obtained with Thioflavin T fluorescent measurements. We observed the melting of α -helix and PII conformation of native insulin with the formation of β -sheets.
	Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom	
	Objavljeno v	[A. Mirtič]; 2013; XVI, 139 str.; Avtorji / Authors: Mirtič Andreja	
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija	
4.	COBISS ID	5059354	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	NMR podprto načrtovanje novih inhibitorjev encima MurD: v smeri novih učinkovitih protibakterijskih terapevtikov
		ANG	NMR-assisted design of novel murD inhibitors: towards new potent antibacterial agents
	Opis	SLO	Predstavili smo našo strategijo načrtovanja novih protibakterijskih učinkovin, ki temelji na razvoju izpopolnjenih strukturno podprtih metod načrtovanja učinkovin, vpeljavi novih proteinskih tarč in razvoju inhibitorjev, ki delujejo na več tarč hkrati. Podali smo celovit pregled rezultatov naših NMR podprtih raziskav načina vezave različnih vrst novih

		inhibitorjev muramilnih ligaz. Izpostavili smo naše nedavno odkritje kompleksnih dinamičnih procesov v kompleksih ligand-receptor in pokazali kako vplivajo na interakcije ligand-receptor in na s tem povezano biološko aktivnost ligandov.
	ANG	Our strategy for the development of novel antibacterial agents, which is based on the improvement of structure based drug design methodology, implementation of novel protein targets and development of multi-target inhibitors was presented. An overview of results of our NMR based investigation of binding mode of various types of novel muramyl ligase inhibitors was given. Our recent discovery of complex dynamic processes in ligand-receptor complexes was highlighted. The effects of these processes on ligand-receptor interactions and related ligand inhibitory activities were presented.
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje
	Objavljeno v	[s. n.]; Final program & abstract book; 2012; Str. 35; Avtorji / Authors: Golič Grdadolnik Simona
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)
5.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO Gostujoči profesor na Univerzi v Cagliariju, Sardinija Italija
		ANG Visiting professor, University of Cagliari, Sardinia, Italy
	Opis	SLO Jože Grdadolnik je v letu 2013 kot gostujoči profesor tri mesece predaval na Univerzi v Cagliariju. Na Fakulteti za kemijo in geologijo je predstavil dva sklopa predavanj s področja vibracijske spektroskopije bioloških molekul dodiplomskim študentom in slušateljem doktorskega študija kemije in biokemije. Število predavanj je ustrezalo 2 ECTS točkama.
		ANG Jože Grdadolnik spent three months at University of Cagliari (Sardinia, Italy) as visiting professor. He lectured themes from vibrational spectroscopy of biological molecules to undergraduate and doctoral students of chemistry and biochemistry at Faculty of Chemistry and Geology (2 ECTS).
	Šifra	B.05 Gostujoči profesor na inštitutu/univerzi
	Objavljeno v	Predavanja niso objavljena.
	Tipologija	3.14 Predavanja na tuji univerzi

8. Drugi pomembni rezultati programske skupine⁷

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov programske skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

V zadnjih nekaj letih so bili odkriti genomi številnih organizmov, od virusov do človeka. Iz zaporedja baznih parov DNA so bili s pomočjo genske kode odkriti novi proteini, ki so temeljni gradniki žive celice in imajo pomembno vlogo. Žal pa za večino teh proteinov ne poznamo tridimenzionalnih struktur in bioloških funkcij. Za razumevanje delovanja celic bi morali poznati tridimenzionalne strukture in funkcije vseh proteinov, ki so zapisani v DNA.

Določanje struktur proteinov z eksperimenti je izjemno drag in dolgotrajen postopek. Veliko hitreje in ceneje bi bilo napovedovati tridimenzionalne strukture proteinov s pomočjo

računalniških algoritmov. Iz znanih tridimenzionalnih struktur je pogosto mogoče sklepati na biološke funkcije in druge lastnosti proteinov. Rešitev problema zvitja proteina je izredno pomembna zato, ker bo omogočila napovedovanje tridimenzionalnih struktur in v določenih primerih tudi funkcij proteinov, ki so zakodirani v genomih človeka in drugih organizmov. Pričakuje se, da bo imela rešitev problema zvitja proteinov izjemno močan vpliv na razvoj različnih področij znanosti, predvsem kemije, biologije in medicine. Za rešitev problema zvitja proteinov je ključno, da razvijemo tako potencialno polje, ki bo pravilno opisalo strukturo in dinamiko proteinov.

Razumevanje zvitja proteinov na molekularnem nivoju bo imelo pomembno vlogo tudi pri odkrivanju vzrokov za nastanek mnogih bolezni, nekaterih zelo hudih npr.: Alzheimerjeva in Parkinsonova bolezen, diabetes tipa II, cistična fibroza, prionske bolezni, itd. Vzrok za nastanek teh bolezni je napačno zvitje proteinov v alternativne tridimenzionalne oblike ('misfolding'), ki niso funkcionalne.

Uspešne metode za napovedovanje tridimenzionalnih struktur proteinov bodo postale nepogrešljivo orodje za modeliranje kompleksov ligand-receptor, encim-substrat in drugih proteinskih interakcij, kar bo omogočilo načrtovanje novih učinkovin.

Pričakovani rezultati raziskav interakcij ligand-receptor bodo nudili osnovo za razvoj učinkovitejših metod za načrtovanje zdravilnih učinkovin. Razumeti moramo, kako dinamični procesi vplivajo na vezavo ligandov, da lahko razvijemo učinkovite strukturno-dinamično podprte metode za načrtovanje zdravilnih učinkovin. Ustrezna obravnava dinamičnih učinkov je aktualna in vroča tema v raziskovalni skupnosti, ki se ukvarja z razvojem zdravilnih učinkovin in bo omogočila nastanek tako imenovane "dobe gibljivosti" v odkrivanju zdravil.

ANG

The genomes of many organisms have been published recently, from viruses to humans. The main goal of these efforts is to find the sequences of all proteins encoded in the genomes of organisms. Numerous new proteins have been uncovered using the genetic code; however, their structures and biological functions are generally unknown. To understand how the cell works it is crucial that three-dimensional structures and biological functions of all proteins encoded in DNA sequence are known.

Determinations of three-dimensional structures and functions of proteins is extremely difficult and time consuming task. It would be much faster and less expensive if we could predict three-dimensional structures of proteins with computers. Biological function and other properties of proteins can then be deduced from their three-dimensional structures. Solving the protein folding problem is extremely important, because it will make possible to predict three dimensional structures and functions of all proteins encoded in the human genome and genomes of other living organisms. It is expected that solution of the protein folding problem would have a huge impact on science, particularly on chemistry, biology and medicine. For solving the protein folding problem it is crucial to develop the potential force field, which will correctly describe structure and dynamics of proteins.

Detailed knowledge of the molecular events in protein folding is important for understanding causes of hundreds of diseases including some of the most dreadful disorders like: Alzheimer's and Parkinson's diseases, some types of cancer, type II diabetes, cystic fibrosis, transmissible prion diseases ("mad cow" disease), etc. The reason for these disorders is misfolding of proteins into alternative three-dimensional forms.

Successful method for predicting three-dimensional structures of proteins will become an indispensable tool for modeling ligand-receptor complexes, enzyme-substrate and other protein interactions, which will enable the design of novel drugs.

The anticipated results of the studies of ligand-receptor interactions will offer the basis for development of more efficient methodology for drug design. We have to understand how dynamic processes affect the ligand binding, so we can develop new and efficient structure-dynamic-based methods for drug design. Proper treatment of dynamic effects is currently the

hot topic in drug-design community and will enable the establishment of the so called "flexibility era" in drug discovery.

9.2.Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Predlagani raziskovalni program je izviren in temelji na naših dosedanjih raziskavah. Rezultati raziskav so bili objavljeni v najuglednejših mednarodnih znanstvenih revijah (Proc. Natl. Acad. Sci. USA; J. Am. Chem. Soc.; Phys. Rev. Lett.), kar dokazuje, da so naše raziskave v svetovnem vrhu. S temi rezultati promoviramo Slovenijo v svetovnih znanstvenih krogih. Raziskovalna skupina ima izkušnje, sposobnosti in potrebno opremo za izvedbo in uspešen zaključek načrtovanih študij.

Na osnovi naših rezultatov smo pridobili industrijske projekte. Za farmacevtsko firmo Lek in Krka izvajamo vrsto projektov, kjer sodelujemo pri raziskavah novih biološko aktivnih učinkovin, kar zahteva uporabo najsodobnejših metodologij in instrumentalne opreme. Z razvojem in uporabo NMR in vibracijske spektroskopije rešujemo konkretne probleme s katerimi se pri proizvodnji in analizi produktov soočajo v farmacevtskih družbah Lek in Krka, kar ima direkten vpliv na razvojne projekte naših partnerjev iz farmacevtske industrije.

Pri raziskavah ligand-receptor interakcij bomo izbrali receptorje za odkrivanje novih spojin vodnic, ki imajo lahko takojšen učinek na razvoj nekaterih vrst nujno potrebnih zdravil, kot so novi antibiotiki in antimikotiki. V Evropski uniji se v bolnišnicah vsako leto okuži dva milijona ljudi z bakterijskimi infekcijami, od tega jih skoraj dvesto tisoč umre, ker razpoložljivi antibiotiki ne učinkujejo. Tudi odpornost gliv postaja kritična, še posebej ob upoštevanju visoke smrtnosti sistemskih glivnih infekcij, ki ogrožajo ljudi z oslabljenim imunskim sistemom, kot so bolniki z aidsom in rakasti bolniki, pacienti po presaditvi organov, in mnogi drugi.

Uspešne teoretske metode za napovedovanje tridimenzionalnih struktur proteinov bodo izjemno pospešile razvoj znanosti in vplivale na razvoj novih aplikacij v Sloveniji (predvsem v farmacevtskih firmah Lek in Krka). Teoretska rešitev problema zvitja proteinov bo imela največji vpliv na načrtovanje novih zdravil. Načrtovanje novih učinkovin je pogosto neuspešno zato, ker je za mnoge biomolekularne sisteme model delovanja učinkovin "ključ - ključavnica" preveč poenostavljen. Ob vezavi liganda na receptor se namreč poleg konformacije liganda pogosto spremeni tudi konformacija proteinskega receptorja. Z rešitvijo problema zvitja proteinov bomo lahko take spremembe napovedali z računalnikom, kar bo pocenilo razvoj in s tem proizvodnjo novih zdravil.

Obvladovanje najzahtevnejših metod računalniških simulacij biomolekularnih sistemov, NMR in vibracijske spektroskopije je pomembno za utrjevanje nacionalne identitete. Z razvojem novih metod pa prispevamo k povečanju znanja na tistih področjih znanosti, ki so trenutno ključna za tehnološki napredek v svetu in s tem tudi v Sloveniji (proizvodnja novih zdravil, medicina, biotehnologija).

Pri raziskavah sodelujejo mladi raziskovalci. Mladi raziskovalci pridobivajo znanje, ki je potrebno za izpeljavo temeljnih raziskovalnih projektov kot tudi razvojnih projektov v farmacevtski industriji.

Naša skupina sodeluje pri mednarodnih eksperimentih CASP, kjer z raziskovalci s vsega sveta postopno izboljšujemo metode napovedovanja tridimenzionalnih struktur proteinov (CASP; 'Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction'; <http://predictioncenter.gc.ucdavis.edu>). Na CASP2 in CASP4 smo se uvrstili med najboljše v ab initio napovedovanju tridimenzionalnih struktur proteinov, kar je bilo nagrajeno z dvema vabljenima predavanjema.

ANG

The proposed research program is original and is based on our previously published research. The results of this research have been published in the scientific journals with very high impact factors (Proc. Natl. Acad. Sci. USA; J. Am. Chem. Soc.; Phys. Rev. Lett.), which shows that our research is of high quality. With these results we promote Slovenian science. The research team

is experienced, highly qualified and have all the necessary equipment to successfully execute and complete the proposed research program.

Based on these credentials we obtained industrial projects. We have performed a series of projects for the pharmaceutical companies Lek in which we study new drugs using modern methodology. Developing and using new methods of NMR and vibrational spectroscopy we solve actual problems encountered by the pharmaceutical companies Lek and Krka in production and analysis of their drugs, which directly influences the development project of our partners from the pharmaceutical industry.

At the investigation of ligand-receptor interactions the selected receptors will enable the design of new leads, which can have immediate effect on the development of certain classes of urgently required therapeutic agents including new antibiotics and antimycotics. In the EU two million patients in hospitals catch bacterial infections every year and almost 200 thousand of them die, because the existent antibiotics do not help. The fungal resistance is also becoming critical, especially considering high mortality rates of systemic fungal infections, which threaten patients, whose immune system is compromised, including AIDS, cancer, transplant patients, and many others.

Theoretical solution of the protein-folding problem will accelerate the development of science and technology in Slovenia (particularly in pharmaceutical firms Lek and Krka). The largest improvement is expected in drug-design. Current drug-design techniques are largely unsuccessful due to the approximations imposed by the simple "lock and key" model of drug action. The interactions of receptor and ligand molecules are often accompanied by changes in their conformations. Such changes will be predicted by the new algorithms, which would considerably decrease the cost of developing new drugs.

Implementation of modern methods of computer simulations of biomolecular systems, NMR and vibrational spectroscopy is in our national interest. The development of these techniques is crucial for technological progress of some branches in Slovenia.

Young researchers participate in the research. Young researchers are acquiring important knowledge required for realization of basic research project as well as development project in pharmaceutical industry.

We cooperate in the international experiments CASP. Formally, this is the competition among research groups in predicting protein three-dimensional structures; however, the main goal of these experiments is to improve general knowledge in this field of research (CASP; Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction; <http://predictioncenter.gc.ucdavis.edu>). On CASP2 and CASP4 we were among the best in the ab initio prediction of the three-dimensional structures of proteins, which was awarded with two invited lectures.

10. Zaključena mentorstva članov programske skupine pri vzgoji kadrov v obdobju 1.1.2009-31.12.2014¹¹

10.1. Diplome¹²

vrsta usposabljanja	število diplom
bolonjski program - I. stopnja	1
bolonjski program - II. stopnja	
univerzitetni (stari) program	5

10.2. Magisterij znanosti in doktorat znanosti¹³

Šifra raziskovalca	Ime in priimek	Mag.	Dr.	MR	

28554	Mihael Simčič	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
29492	Martina Glušič	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
32103	Andreja Mirtič	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
27752	Špela Klofutar	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	
24898	Petra Igličar	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	

Legenda:

Mag. - Znanstveni magisterij
Dr. - Doktorat znanosti
MR - mladi raziskovalec

11. Pretok mladih raziskovalcev – zaposlitev po zaključenem usposabljanju¹⁴

Šifra raziskovalca	Ime in priimek	Mag.	Dr.	Zaposlitev	
29492	Martina Glušič	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	F - Drugo	
32103	Andreja Mirtič	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	E - Tujina	
27752	Špela Klofutar	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	C - Gospodarstvo	
28554	Mihael Simčič	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	A - raziskovalni zavodi	

Legenda zaposlitev:

A - visokošolski in javni raziskovalni zavodi
B - gospodarstvo
C - javna uprava
D - družbene dejavnosti
E - tujina
F - drugo

12. Vključenost raziskovalcev iz podjetij in gostovanje raziskovalcev, podoktorandov ter študentov iz tujine, daljše od enega meseca, v obdobju 1.1.2009-31.12.2014

Šifra raziskovalca	Ime in priimek	Sodelovanje v programski skupini	Število mesecev	
0	Agneska Sablovs	C - študent – doktorand	3	

Legenda sodelovanja v programski skupini:

A - raziskovalec/strokovnjak iz podjetja
B - uveljavljeni raziskovalec iz tujine
C - študent – doktorand iz tujine
D - podoktorand iz tujine

13. Vključevanje v raziskovalne programe Evropske unije in v druge mednarodne raziskovalne in razvojne programe ter drugo mednarodno sodelovanje v obdobju 1.1.2009-31.12.2014¹⁵

SLO

Evropski projekt: FP7-2009-REGPOT-1, ARCADE, št. 245866. Naslov: *Advancement of research capability for the development of new functional compounds*. Partner prof. dr. S. Golič Grdadolnik.

Evropski projekt: NECSO, št. 310344 Nanoscale Enhanced Characterisation of Solar Selective Coatings, lifetime assessment modelling, partner: doc. dr. Franci Merzel.

Mednarodni projekt The Human Frontier Science Program: HFSP RGP0009/2008-C,

Struktura in mehanizem citoplazemskega dineina. Nosilec doc. dr. Andrej Vilfan, IJS.
Izvajalec doc. dr. Franci Merzel.

Slovensko-ciprski bilateralni projekt: *Odkrivanje fenomena zvitja proteinov preko konformacijske analize majhnih linearnih peptidov.* Nosilca prof. dr. S. Golič Grdadolnik in prof. dr. T. Mavromoustakos.

Slovensko-hrvaški bilateralni projekt: *Študij preferenčnih konformacij peptidov v vodnih raztopinah z uporabo vibracijske spektroskopije.* Nosilec prof. dr. Jože Grdadolnik in dr. Vlasta Mohaček Grošev.

Slovensko-madžarski bilateralni projekt s prof. Eriko Balog, Univerza Semmelweis, Budimpešta, *Vpliv vezave liganda na gibljivost proteinov.* Nosilec doc. dr. Franci Merzel.

Slovensko-francoski bilateralni projekt "Proteus" s prof. Markom Johnsonom, ILL, Grenoble, *Dinamika DNK: nevtronsko sipanje in numerične simulacije.* Nosilec doc. dr. Franci Merzel.

Slovensko-romunsko bilateralni projekt s Prof. Danom Mihailescujem, Univerza Bukarešta, *Napovedovanje strukture in dinamike proteinov z uporabo THz spektroskopije in molekularnega modeliranja.* Nosilec doc. dr. Franci Merzel.

14. Vključenost v projekte za uporabnike, ki so v obdobju trajanja raziskovalnega programa (1.1.2009–31.12.2014) potekali izven financiranja ARRS¹⁶

SLO

Z izraelskim podjetjem BrightSource Industries Israel smo sodelovali pri testiranju in modeliranju življenjske dobe premazov za absorberje sončne svetlobe.

Na področju farmacevtske kemije sodelujemo z Lek d.d. Ljubljana in Krka d.d. Novo mesto. Z uporabo vibracijske spektroskopije smo analizirali nečistoče, določevali kristalne polimorfe in stopnjo kristaliničnosti, določevali tipe in jakost interakcij ter kvantitativno določevali vsebnost komponent v zmesih. S firmo Lek d.d. sodelujemo tudi pri razvoju novih učinkovin.

Z metodami FTIR in NMR spektroskopije smo sodelovali z industrijskim partnerjem Lek pri raziskavah reakcijske kinetike derivatizacije nekaterih polisaharidov. Določali smo tudi podrobne spektralne značilnosti nastalih produktov in kvantitativna razmerja med njimi. Izvedene raziskave na derivatiziranih polisaharidih so bile ključne za razvoj in analizo farmacevtskih formulacij industrijskega partnerja. Naslov: *Določevanje vrste celuloze na zunanji strani tablete.* Nosilec prof.dr. Jože Grdadolnik.

Z Lekom d. d. smo sodelovali pri uvedbi novih metod za izbor farmacevtskih ekscipientov (pomožnih snovi za povečano dostavo in stabilnost makrolidnih učinkovin), ki so zelo slabo topne v fizioloških medijih. Pri tem smo odkrili farmacevtsko formulacijo, ki prekaša farmako-kinetske značilnosti sorodnega produkta glavnega konkurenta našega industrijskega partnerja. Naslov: *Določevanje karboksiliranega dekstrana med reakcijo.* Nosilci: Urban Novak, dr. Darko Kocjan, prof. dr. Jože Grdadolnik.

Z uporabo infrardeče, ramanske in NMR spektroskopije smo analizirali nečistoče, določevali vrsto kristalnih polimorfov in stopnjo kristaliničnosti, določevali tipe in jakost interakcij med učinkovinami in pomožnimi snovmi v peletah ter kvantitativno določevali vsebnost komponent v zmesih za Krko. Pogodba II/24-106 259, 106632/2007, Aneksi 2-6. Nosilec prof. dr. Jože Grdadolnik.

15. Ocena tehnološke zrelosti rezultatov raziskovalnega programa in možnosti za njihovo implementacijo v praksi (točka ni namenjena raziskovalnim programom s področij humanističnih ved)¹⁷

SLO

--

16. Ocenite, ali bi doseženi rezultati v okviru programa lahko vodili do ustanovitve spin-off podjetja, kolikšen finančni vložek bi zahteval ta korak ter kakšno infrastrukturo in opremo bi potrebovali

možnost ustanovitve spin-off podjetja	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
potrebni finančni vložek	EUR
ocena potrebne infrastrukture in opreme ¹⁸	

17. Izjemni dosežek v letu 2014¹⁹

17.1. Izjemni znanstveni dosežek

--

17.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni;
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja in obdelavo teh podatkov za evidence ARRS;
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v papirnati obliki;
- so z vsebino poročila seznanjeni in se strinjajo vsi izvajalci raziskovalnega programa.

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
matične RO (JRO in/ali RO s
koncesijo):*

Kemijski inštitut

in

vodja raziskovalnega programa:

Franc Avbelj

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

13.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROG-ZP-2015/154

¹ Napišite povzetek raziskovalnega programa v slovenskem jeziku (največ 3.000 znakov vključno s presledki – približno pol strani, velikost pisave 11) in angleškem jeziku (največ 3.000 znakov vključno s presledki – približno pol strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, v katerem predstavite raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega programa in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. V primeru odobrenega povečanja obsega financiranja raziskovalnega programa v letu 2014 mora poročilo o realizaciji programa dela zajemati predložen program dela ob prijavi in predložen dopolnjen program dela v letu 2014.

Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

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

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

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

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke (največ pet), ki so nastali v okviru izvajanja raziskovalnega programa. Družbeno-ekonomski dosežek iz obdobja izvajanja programa 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 programa ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega programa iz obdobja izvajanja programa v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki (približno 1/3 strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

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

⁹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki (približno 2/3 strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov vključno s presledki (približno 2/3 strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

¹¹ Upoštevajo se le tiste diplome, magisteriji znanosti in doktorati znanosti (zaključene/i v obdobju 1.1.2009–31.12.2014), pri katerih so kot mentorji sodelovali člani programske skupine. [Nazaj](#)

¹² Vpišite število opravljenih diplom v času izvajanja raziskovalnega programa glede na vrsto usposabljanja. [Nazaj](#)

¹³ Vpišite šifro raziskovalca in/ali ime in priimek osebe, ki je v času izvajanja raziskovalnega programa pridobila naziv magister znanosti in/ali doktor znanosti ter označite doseženo izobrazbo. V primeru, da se je oseba usposabljala po programu Mladi raziskovalci, označite "MR". [Nazaj](#)

¹⁴ Za mlade raziskovalce, ki ste jih navedli v tabeli 11.2. točke (usposabljanje so uspešno zaključili v obdobju od 1.1.2009 do 31.12.2014), izberite oz. označite, kje so se zaposlili po zaključenem usposabljanju. [Nazaj](#)

¹⁵ Navedite naslove projektov in ime člana programske skupine, ki je bil vodja/koordinator navedenega projekta. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

¹⁶ Navedite naslove projektov, ki ne sodijo v okvir financiranja ARRS (npr: industrijski projekti, projekti za druge naročnike, državno upravo, občine idr.) in ime člana programske skupine, ki je bil vodja/koordinator navedenega projekta. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

¹⁷ Opišite možnosti za uporabo rezultatov v praksi. Opišite izdelke oziroma tehnologijo in potencialne trge oziroma tržne niše, v katere sodijo. Ocenite dodano vrednost izdelkov, katerih osnova je znanje, razvito v okviru programa oziroma dodano vrednost na zaposlenega, če jo je mogoče oceniti (npr. v primerih, ko je rezultat izboljšava obstoječih tehnologij oziroma izdelkov). Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

¹⁸ Največ 1.000 znakov vključno s presledki (približno 1/6 strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

¹⁹ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega programa v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki, velikost pisave 11). 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](#)