

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/11



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-2020
Naslov projekta	MOLEKULARNA ANALIZA IMUNSKEGA ODZIVA IN INTERAKCIJ OB HKRATNIH OKUŽBAH Z AVIARNIMI MIKOPLAZMAMI IN VIRUSI
Vodja projekta	5008 Mojca Narat
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4173
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	406 Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.02 Živalska produkcija in predelava 4.02.01 Genetika in selekcija
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	4.02
- Veda	4 Kmetijske vede
- Področje	4.02 Znanosti o živalih in mlekarstvu

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Izhodišče projekta je bilo slabo poznavanje kompleksnih molekularnih interakcij, ki se odvijajo v gostitelju ob mešanih naravnih okužbah ali vakcinacijah. Posebej pomembne so subklinične okužbe in njihov vpliv na potek vakcinacij. Za model proučevanja smo si izbrali okužbo z aviarno mikoplazmao *Mycoplasma synoviae* (MS), ki pogosto poteka subklinično ter virus atipične

kokošje kuge (NDV). Naša hipoteza je bila, da mikoplazme posedujejo mehanizme, s katerimi v času predhodne okužbe oslabijo gostiteljevo imunsko obrambo in povečajo dovzetnost za okužbo z virusi ter da se dvojna okužba na nivoju prepisovanja genov v gostiteljevih celicah bistveno razlikuje v primerjavi enojno okužbo. Proučevali smo molekule, za katere iz predhodnih raziskav vemo, da so glavne imunogene molekule in hkrati vpletene v invazivnost/infektivnost omenjenih mikrobov. To so hemaglutinini, encimi proteaze, nevraminidaze in nukleaze, ki so imunogene molekule hkrati pa delujejo na celice in molekule gostitelja. V raziskavi smo ugotovili, da MS poseduje številne mehanizme, s katerimi zmanjšuje učinkovitost gostiteljeve obrambe: lahko vdira v gostiteljeve celice in se tako umakne imunski obrambi hkrati pa se raznese iz prvotnega mesta okužbe na druga mesta. Glavne imunogene molekule, hemaglutinine, izraža spremenljivo in se s tem izmika protitelesni obrambi. Poseduje cisteinsko proteazo, ki cepi gostiteljeve IgG in nevraminidazo, ki desializira gostiteljeve IgG, kar oboje zmanjšuje učinkovitost protitelesne imunске obrambe. Poseduje tudi nukleazno aktivnost, ki razgrajuje DNA v gostiteljevih celicah. Pokazali smo, da se ob okužbi z MS spremeni metabolni profil v gostiteljevih celicah in občutljivost za hormone in citokine, ter da se v velikem deležu celic (40%) aktivira mehanizem apoptoze in poveča prepisovanje številnih genov, ki so vpleteni v imunski odziv kot tudi genov, ki so vpleteni v razgradnjo tkiva. Model je bilo hrustančno tkivo oz. hondrociti, kjer so se povišano izražali geni za vnetne citokine, iNOs, kaspazi 3 in 8, p53, BAK, p38 in endonukleazo G, kasneje pa tudi NFκB in HtrA ter CD44 in metaloproteaze. Vsi ti mehanizmi prispevajo na eni strani k propadu lokalnega tkiva in izpostavljanju avtoantigenov (dokazali smo prisotnost avtoproteles v krvi in sinovialnih tekočinah iz artritčnih sklepov okuženih živali), na drugi strani pa k manj učinkoviti imunski obrambi, kar drugim mikrobom omogoča naselitev in perzistiranje v gostitelju. Izvedli smo obsežen *in vivo* poskus na kokošnjih embrijih in *in vitro* poskus na kokošnjih trajnih celičnih linijah. Po posamični ali zaporedni okužbi embrijev in celic z mikoplazmo ali/in virusom/virusnim cepivom, smo analizirali izražanje genov v embrionalnih tkivih oz. v celicah. Ugotovili smo, da je MS močnejše aktivirala imunске gene v primerjavi z NDV, kljub temu, da je slednji bolj patogen. Pri zaporednem okuževanju embrijev je okužba z NDV signifikantno znižala nivo izražanja imunskih genov, ki so bili predhodno stimulirani z MS.

ANG

Starting point of the project was the lack of information about the complex molecular interactions that take place in the host during natural infections or vaccinations. Here, subclinical infections are important because they can influence the outcome and the efficacy of vaccination. Our models for analyzing molecular interactions during infection were avian pathogens *Mycoplasma synoviae* (MS), whose infection is often subclinical, and Newcastle disease virus (NDV). Our hypothesis was that mycoplasmas possess mechanisms that enable them to weaken host's immune defense during infection and enhance susceptibility to virus infections by altering the gene expression in host cells, which differs between individual and consecutive infections. We analyzed the main immunogenic molecules that influence the infectivity of both pathogens. As has been shown in previous studies these molecules include hemagglutinins, proteases, neuraminidases and nucleases that have immunogenic properties and also affect host's molecules. We have demonstrated numerous mechanisms by which MS lowers the efficacy of the host's defense: MS can invade host cells and avoid immune defense and spread from the point of infection to other parts of the host. The main immunogenic molecules, hemagglutinins, are expressed variably which helps MS to avoid antibody immune response. MS also possess cysteine protease that is capable to digest host's IgG and neuraminidase which desialilates host's IgG, both limiting the efficacy of antibody immune defense. Nuclease activity, that has also been demonstrated can degrade host's DNA. We have demonstrated modulation of methabolic pathways during MS infection in host cells and increased sensitivity for hormones and cytokines. In 40% of MS-infected cells mechanisms of apoptosis were triggered, accompanied with up-regulation of many genes associated with immune response and tissue degradation. In infected chicken cartilage tissue or chondrocytes increased levels of cytokine, iNOS, caspase 3 and 8, p53, BAK, p38, endonuclease G, NFκB, HtrA, CD44 and metaloprotease genes were detected. All these mechanisms contribute to degradation of local tissue and exposure of autoantigens (we proved the presence of autoantibodies in synovial fluids from arthritic

joints of infected animals) and to less effective immune defense which enables colonization and persistence of other pathogens.

We have also performed an extensive *in vivo* experiment on chicken embryos and *in vitro* experiment on chicken immortalized cell lines. After individual or consecutive infections of embryos and cells with mycoplasma and/or virus/virus vaccine, we analyzed gene expression in embryonic tissues or cells. We showed that MS is a more potent activator of immune genes than NDV, although the latter is more pathogenic. In consecutively infected embryos, most MS-induced cytokine genes were significantly down-regulated after NDV infection.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Izmed mikroorganizmov, ki so bili vključeni v preiskavo, le za bakterijo *Mycoplasma synoviae* doslej ni bilo znano, ali vdira v celice gostitelja. Zato smo izvedli poskus invazivnosti *Mycoplasma synoviae* na trajnih in primarnih kokošjih celičnih linijah: eritrocitih (CER), trajni liniji embrionalnih fibroblastov (CEC-32) in primarni celični liniji hondrocitov (CCH). Relativno frekvenco invazije (RIF) smo določili s pomočjo t.i. gentamicinskega invazijskega testa, in sicer 24 h po infekciji. Invazivnost smo dodatno potrdili z imunodetekcijo in fluorescenčno mikroskopijo. Oba testa sta pokazala, da so vsi testirani sevi *M. synoviae* invadirali v kokošje celice znotraj 24 h inkubacije.

Tipski sev WVU 1853 je bil bolj invaziven za CER in CEC-32 (RIF 6-krat višji kot RIF referenčne vrste *M. gallisepticum* Rlow in seva ULB 02/T6) in podobno invaziven kot *M. gallisepticum* Rlow. Terenska izolata *M. synoviae* sta bila še manj invazivna za CCH kot tipski sev WVU 1853 in *M. gallisepticum* Rlow. Opravili smo poglobljeno študijo učinkov *M. synoviae* na viabilnost kokošjih celic. Ugotovili smo, da 24 ur po okužbi celic CEC32 in CCH upade viabilnost za 40%. Mehanizem propada je sprožanje apoptoze, kar smo dokazali z analizo fenotipskih sprememb in analizo izražanja genov. Povišano je izražanje genov za iNOs, kaspazi 3 in 8, p53, BAK, p38 in endonukleazo G, kasneje pa tudi NFκB in HtrA ter CD44. Čeprav del gostiteljevih celic propade, je invazivnost mehanizem, s katerim se bakterija razširja po gostitelju in se izmika imunskemu protitelesnemu odzivu. Hkrati lahko pričakujemo, da se gostiteljeve celice, v katerih je prisotna mikoplazma, odzivajo na okoljske dejavnike, kamor lahko prištevamo tudi sočasne okužbe, drugače, kot celice, ki ne vsebujejo mikoplazme, kar smo v nadaljnjih raziskavah tudi pokazali. S poskusi na fenotipskih mikromrežah smo namreč pokazali, da so z mikoplazmo okužene celice mnogo bolj občutljive na delovanje določenih hormonov in citokinov, predvsem vnetnih citokinov, zaradi česar hitreje propadajo. Imajo tudi bistveno spremenjen metabolizem. Okužba z *M. synoviae* inducira sintezo vnetnih citokinov – tako v imunskih celicah, kot so npr. makrofagi pa tudi v neimunskih celicah, npr. hondrocitih. Vnetne citokine smo dokazali v sinovialnih tekočinah kokoši, ki so po okužbi z *M. synoviae* razvile vnetni sinovitis. V poskusu *in vitro* smo ugotovili, da 6 urna okužba CCH z živo bakterijo *M. synoviae* sproži povečano prepisovanje gena za PADI 3 (citrulinaza), 24 urna okužba pa genov za IL-β in iNOS. Citrulinaza odceplja arginin (ARG) in s tem izpostavlja nove epitope za avto-protitelesa. Vsi ti mehanizmi skupaj: okužba, povečana količina vnetnih citokinov in hkrati povečana občutljivost okuženih celic so dejavniki, ki povzročijo propad hrustančnih celic in izpostavljanje novih epitopov, ki predstavljajo avtoantigene. Ugotovili smo tudi, da je eden od najmočnejših avtoantigenov enolaza, kjer pa gre za molekularno mimikrijo, saj protitelesa, ki nastajajo proti mikoplazemski enolazi reagirajo tudi z kokošjo enolazo, saj je njuna stopnja a.k. identičnosti zelo visoka.

Citokini, ki so prisotni kot posledica predhodne okužbe, npr. mikoplazemske, lahko torej bistveno vplivajo na potek imunskega odziva ob vakcinaciji z oslavljenimi virusi.

Definirali smo več faktorjev virulentnosti *M. synoviae*, *M. gallisepticum* in nekaterih virusov. Dokazali smo, da ima *M. synoviae* nukleazno aktivnost. Del tega zmanjšanja viabilnosti gre pripisati tudi delovanju nukleaze. Opravili smo poglobljeno analizo nukleazne aktivnosti *M. synoviae*. Le ta namreč lahko oslabi gostiteljeve celice, ki se nato ob anti-virusni vakcinaciji ne morejo ustrezno odzvati, lahko pa celo bistveno doprinese k celični smrti. Nukleazna aktivnost je bila dokazana mikoplazemskim celicam, membranam, citoplazmatski frakciji in gojišču, v katerem so bile gojene celice *M. synoviae*. Nukleazna aktivnost je bila pogojena s prisotnostjo kalcijevih ionov. Bila je najmočnejša v nevtralnem in rahlo bazičnem pH-ju ter pri pH 5. Okužba z *M. synoviae* je povzročila, morfološke spremembe (vakuolizacija citoplazme) in razgradnjo

nomske DNA v celicah CEC-32. Sekvencirali smo nukleotidna zaporedja nukleaz MS53_0110 in MS53_0284 pri treh sevih bakterije *M. synoviae*. Pri poravnavi so bile opažene manjše razlike med zaporedji, v obliki enojnih nukleotidnih substitucij (z izjemo delecije pri tipskem sevu). V obe nukleazi smo vnesli točkovne mutacije na mestu TGA kodona, ki pri mikoplazmah kodira aminokislino triptofan in ne stop kodon kot pri *E. coli*, ki nam je v nadaljevanju poskusa služila kot ekspresijski sistem za produkcijo nukleaz. Nastale PCR produkte smo vnesli v plasmid pQE-30 in s konstruktom transfecirali kompetentne celice *E. coli* DH5 α . Pričakujemo, da bosta imela oba rekombinantna proteina nukleazno aktivnost in sposobna razgraditi dsDNA. S potrditvijo funkcionalnosti rekombinantnih nukleaz MS53_0110 in MS53_0284, na podlagi njunega nukleotidnega zaporedja iz podatkovne baze NCBI želimo dokazati, da sta za dokazano nukleazno aktivnostjo celic *M. synoviae* odgovorni ti dve nukleazi.

Znano je, da je nukleazna aktivnost prisotna pri nekaterih RNA virusih, kakršen je tudi NDV. Ker je LaSota virus lentogeni sev NDV, obstajajo indici, da ima tudi LSV nukleazno aktivnost in v takem primeru je učinek na gostiteljeve celice ob vakcinaciji potenciran.

Za *M. synoviae* in *M. gallisepticum* je bila dokazana tudi sinteza cisteinske proteinaze. Cepi kokošje IgG v fragmente Fc in Fab. Tudi v teh poskusih smo s pomočjo spremembe 8-ih TGA kodonov v TGG kodone pripravili rekombinatni protein in dokazali njegovo aktivnost in vitro, ki je bila enaka aktivnosti encima v bakterijah. Razgradnja gostiteljevih IgG je učinkovit mehanizem onesposabljanja obrambe. V kontekstu mešanih okužb pa je treba tako aktivnost enega mikroba upoštevati, saj lahko pripomore k manjši obrambni sposobnosti gostitelja proti drugim mikrobov in tudi proti vakcinalnim virusom, kar lahko pomeni zmanjšan učinek vakcinacije.

Za *M. synoviae*, *M. gallisepticum*, virus aviarne influence (AIV), virus *LaSotta* ter *O. rhinotracheale* smo dokazali nevraminidazno aktivnost (NEAC) ter razvili nov, hiter in zanesljiv test dokazovanje NEAC. Nevraminidaza NanH je povezana z invazivnostjo in s patološkimi procesi. Odceplja sialično kislino iz glikoproteinov gostiteljskih celic in v sluzi iz sapnika (omogočena adhezija) in iz težke verige kokošjih imunoglobulinov, zaradi česar le ti niso več učinkoviti. Hkrati smo dokazali, da nevraminidaza iz *M. synoviae* v kokoših inducira nastanek specifičnih protiteles, ki vsaj delno inhibirajo njeno delovanje. Podobne mehanizme smo opisali tudi za tri vrste pasjih mikoplazem, kjer ima prehodna okužba z mikoplazmami lahko vpliv a kasnejše okužbe z virusi in/ali na vakcinacije proti virusnim okužbam.

Pomembno je torej vedeti, da imajo nekateri mikroorganizmi, v tem primeru mikoplazme in virusi (*M. synoviae* in NDV: nevraminidazna aktivnost, nukleazna aktivnost) podobne encimske mehanizme in zato predhodna (večkrat subklinična, prikrita) okužba z *M. synoviae* lahko bistveno spremeni pričakovane učinke vakcinalnih virusov.

Zato smo izvedli relativno obsežen poskus eksperimentalne okužbe piščančjih embrijev z *M. synoviae* WVU 1853, ptičjim paramiksovirusom tipa 1 (NDV) LaSota in z obema hkrati. Tri dni po okužbi smo iz embrijev osamili jetra, vranico, timus, fabricijevo burso ter izolirali RNA. Po reverzni transkripciji v cDNA smo s qRT-PCR analizirali izražanje genov, za katere smo iz predhodnih študij domnevali, da so vpleteni v poteku okužbe: CTSL (cathepsin L), C3 (complement component 3), PRDX1 (peroxiredoxin 1, transcript variant 4), IL-2, IL-8, IL-12p40, IL-16, IL-18 in LITAF, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, iNOS, lymphotactin (XCL1), CXCL-14, MIP-1 β (CCL4), TGF- β 4. Primerjali smo izražanje genov med posameznimi organi in med posameznimi okužbami oz. z neokuženimi embriji. Izražanje genov je bilo različno glede na organ in glede na vrsto okužbe (*M. synoviae* : NDV).

Okužba z MS je povzročila povišano izražanje genov za vnetne dejavnike v vseh organih. Geni, ki so imeli statistično značilno povišano izražanje glede na kontrolo so bili: IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-12p40, IL-16, IL-18, MIP-1 β (CCL4), iNOS in LITAF (lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha factor), z različnim nivojem izražanja med organi. Okužba z NDV je signifikantno povišala izražanje genov IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-16 in MIP-1 β v timusu in vranici, ki pa je bilo bistveno nižje kot pri okužbi z MS. Rezultati namigujejo, da je MS močnejše aktivirala imunske gene v primerjavi z NDV, kljub temu, da je slednji bolj patogen. Pri zaporednem okuževanju embrijev je naknadna okužba z NDV signifikantno znižala nivo izražanja imunskih genov, ki so bili predhodno stimulirani s strani MS.

Alantoisne tekočine (ALF) embrijev, ki so bili inokulirani z virusom, so bile analizirane na prisotnost nevraminidazne aktivnosti. Le ta je bila dokazana v vseh preiskanih vzorcih. V nekaterih ALF je bila dokazana tudi prisotnost interferona γ , kar kaže na prisotnost vnetnih procesov.

Vse spremembe, ki jih povzroča okužba z *M. synoviae*, lahko bistveno vplivajo na kasnejši potek dogodkov ob obveznih anti-virusnih vakcinacijah. Zato smo v zaključni fazi projekta s študijo

učinkov *M. synoviae* in antivirusne vakcine na viabilnost kokošjih celic *in vitro* na genskem nivoju pogledali, kako vakcinalni virus NDV vpliva na mehanizme, ki smo jih doslej opisali. Eksperimentalno smo okužili celice trajne linije makrofagov HD11 z MS in vakcino, Gumpeskal+IB+EDS (Veterina). Omenjena vakcina se uporablja v perutninarski industriji za zaščito kokoši pred Gumborsko bolezen, infekcijskim bronhitisom, sindromom padca nesnosti in NDV virusom. Za analizo smo izbrali časovno obdobje 6 ur po okužbi z MS, kar naj bi predstavljalo vakcinacijo živali v akutni fazi okužbe z MS, ter 24 ur po okužbi z MS, kar naj bi predstavljalo vakcinacijo v kronični fazi okužbe. Narejen je bil test viabilnosti celic z reagentom XTT in zmerili smo količino NO v supernatantih. Celice HD11, ki so bile okužene z MS, so imele v supernatantih povišano koncentracijo NO, ki je najprej naraščala in se ustalila po 30 h. Rezultati NO in viabilnosti nakazujejo, da vakcina in čas inokulacije vakcine po okužbi z MS, vplivata na stopnjo sinteze NO in viabilnost celic. Tako na primer v primerjavi s celicami, ki so okužene z MS, inokulacija vakcine po 6 urah infekcije z MS močno zniža nastanek NO, inokulacija po 24 urah okužbe z MS pa koncentracijo NO rahlo zviša. Dinamika preživetja celic okuženih z MS je padala s časom inkubacije in po 72 h dosegla 20 %. Podoben trend dinamike preživetja so imele tudi akutno in kronično okužene celice z MS in cepivom. Iz vseh vzorcev je bila izolirana RNA, izveden je bil reverzni prepis cDNA in narejena analiza izražanja večjega števila genov. Pri poskusu, ki je posnemal cepljenje kronično okuženega gostitelja (dodajanje cepiva 24 h po okužbi celic z MS) ni prišlo do signifikantnih sprememb v izražanju preiskovanih imunskih genov glede na posamično okužbo z MS. Pri poskusu, kjer smo skušali vzpostaviti stanje, podobno cepljenju akutno okuženega gostitelja (dodajanje virusnega cepiva 6 h po okužbi celic z MS) smo opazili povišano izražanje genov za LITAF, IL-16, IFN- α in IFN- γ . Geni za iNOS, IL-8 in IL-16 (24 h po dodatku cepiva) so imeli znižano izražanje.

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

Ocenjujem, da je bil program na raziskovalnem projektu v veliki meri realiziran. Postavljene hipoteze (i: *Domneva, da ob sobivanju mikrobov v gostitelju pride do medsebojnih interakcij, predvsem zanimivo vprašanje delovanja nevraminidaz obeh mikrobov; ii) Domneva, da okužba gostiteljevih celic z enim mikrobom nujno spremeni celice tako v smislu vitalnosti kot v smislu sinteze določenih proteinov; iii) domneva, da se predhodno okužene celice odzivajo na naknadno okužbo z drugim patogenom drugače, kot neokužene celice*) so bile vse preverjene in potrjene, večinoma s predlaganimi pristopi in metodami. Zastavljeni cilji (a) *ugotoviti molekularne osnove interakcij med mikoplazemskimi in virusnimi hemaglutinini, nevraminidazami ter proteazami b) na celičnih modelih primerjati potek imunskega odziva ob posamični, zaporedni in hkratni okužbi c) ugotoviti posledice dvojnih okužb na imunski odziv gostitelja na celičnem nivoju (viabilnost, nivo apoptoze/nekroze, razmerje med določenimi celičnimi subpopulacijami: CD8:CD4, TH1:TH2) na proteinskem nivoju (sinteza citokinov, HSP) in na genskem nivoju d) ugotoviti posledice dvojnih okužb za vsakega od mikrobov (invazivnost, mobilnost) e) določiti gene, ki so modulirani z obema mikroboma hkrati in gene, ki so značilno modulirani z enim mikrobom; f) ugotoviti učinek virusov na zmožnost vezave mikoplazem na TLR*) so bili vsi doseženi z izjemo tistih (delnih) ciljev, ki so bili vezani na poskus in vivo na poskusnih živalih: razmerje med populacijami imunskih celic CD8:CD4 in TH1:TH2 ni bilo določeno. Za izvedbo tega poskusa se je ob spremembi zakonodaje o delu s poskusnimi živalmi (sprejeta v obdobju trajanja projekta) izkazalo, da bi za zagotovitev pogojev za bivanje poskusnih živali morali investirati precejšnja sredstva (nabava novih kletk), ki pa niso bila predvidena. Bil pa je izveden sklop poskusov, ki niso bili direktno in jasno napovedani, povezani pa so z zadnjim ciljem - vpliv virusov na zmožnost vezave MS na TLR. Zadnji poskusi za doseg tega cilja še tečejo. Pri poskusih z MS smo namreč odkrili doslej nepoznan ligand za TLR-15, ki je TLR, značilen samo za ptice in iz tega vidika še posebej zanimiv pri študiju okužb perutnine. Pripravili smo rec TLR-15 in mAb anti TLR-15, ki služita kot orodje za raziskave delovanja TLR-15 in bo uporabljeno v proučevanju vpliva virusa na vezavo MS na TLR-15.

S tematiko projekta so bila delno povezani trije doktorati in objavljenih: 5 izvornih znanstvenih člankov v mednarodnih revijah (4x 1A1, 1x1A2), ki se direktno navezujejo na rezultate projekta, 2 prispevka (2x 1C) ki izhajata iz metodologije, osvojene pri projektu, in 4 prispevki (2x 1A1, 1x 1A2, 1x 1A4), ki so povezani s projektom (delni rezultati, povezani z drugimi projekti). Rezultati so bili predstavljeni na 30 mednarodnih konferencah v obliki predavanj (7x) in povzetkov.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma

sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Sprememba v realizaciji programa je nastala pri izvedbi poskusa in vivo na poskusnih živalih (kokoših). Med potekom projekta se je delno spremenila zakonodaja, ki opredeljuje pogoje za vzdrževanje živali. Po novi zakonodaji bi morali imeti drugačne kletke za kokoši, kar pa je bil prevelik finančni zalogaj. Tako smo opustili eno točko v napovedanih ciljnih in sicer, nismo izvedli in vivo okužbe na odraslih živalih ampak samo na embrijih.

Manjša sprememba je bila tudi, da smo med raziskavo odkrili ligand za TLR-15 in smo izvedli del dodatnih poskusov, ki so potrdili uvodno odkritje. To odkritje absolutno sodi v okvir projekta, saj je ligand diacilirani peptidni del hemaglutinina *M. synoviae*, ki sproži naravni imunski odziv v vseh doslej testiranih kokošjih celicah.

Spremembe v sestavi programske skupine so bile povezane z nadomeščanjem delavk na porodniškem dopustu (tehniška sodelavka in raziskovalka) in zaradi prerazporejanja raziskovalcev na druge projekte, kar smo nadomestili z vključevanjem mladih raziskovalcev po zaključku doktorata v naši skupini, da so lahko zaključili del raziskav na projektu. Sprememb v obsegu projektne ur ni bilo.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek																				
1.	<table border="1"> <tr> <td>COBISS ID</td> <td>2439560</td> <td>Vir: COBISS.SI</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Naslov</td> <td>SLO</td> <td>Mycoplasma synoviae invadira ne-fagocitne kokošje celice in vitro</td> </tr> <tr> <td>ANG</td> <td>Mycoplasma synoviae invades non-phagocytic chicken cells in vitro</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Opis</td> <td>SLO</td> <td>Dokazali smo, da <i>M. synoviae</i> invadira kokošje celice. Ta mehanizem bakteriji omogoča raznašanje po telesu gostitelja in izmikanje imuneseckemu odzivu. Relativno frekvenco invazije (RIF) smo določili gentamicinskim invazivnim testom z imunodetekcijo za štiri seve <i>M. synoviae</i> in v treh vrstah kokošjih celic: eritrocitih (CER), embrionalnih fibroblastih (CEC-32) in primarni celični liniji hondrocitov (CCH). Tipski sev WVU 1853 je bil bolj invaziven za CER in CEC-32 in podobno invaziven za CCH kot <i>M. gallisepticum</i> Rlow. Terenska izolata <i>M. synoviae</i> sta bila še manj invazivna za CCH.</td> </tr> <tr> <td>ANG</td> <td>The invasive capacity of <i>Mycoplasma synoviae</i> was demonstrated. This mechanism enables mycoplasma dissemination and avoiding to host immune defense. Using gentimicin invasion assay and immunostaining relative invasive frequency (RIF) was demonstrated for four <i>M. synoviae</i> strains in three chicken cell types: erythrocytes (CER), embryonic fibroblasts (CEC-32) and primary cell culture of chicken chondrocytes (CCH). Type strain WVU 1853 was more invasive for CCH and CEC-32 cells and similarly invasive for CCH as <i>M. gallisepticum</i> Rlow. Field strains of <i>M. synoviae</i> were even less invasive for CCH.</td> </tr> <tr> <td>Objavljeno v</td> <td colspan="2">Elsevier; Veterinary Microbiology; 2009; Issues 1-2, Vol. 138; str. 114-119; Impact Factor: 2.874; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.91; A': 1; WoS: QU, ZC; Avtorji / Authors: Dušanić Daliborka, Berčič Rebeka Lucijana, Cizelj Ivanka, Salmič Simona, Narat Mojca, Benčina Dušan</td> </tr> <tr> <td>Tipologija</td> <td colspan="2">1.01 Izvirni znanstveni članek</td> </tr> </table>	COBISS ID	2439560	Vir: COBISS.SI	Naslov	SLO	Mycoplasma synoviae invadira ne-fagocitne kokošje celice in vitro	ANG	Mycoplasma synoviae invades non-phagocytic chicken cells in vitro	Opis	SLO	Dokazali smo, da <i>M. synoviae</i> invadira kokošje celice. Ta mehanizem bakteriji omogoča raznašanje po telesu gostitelja in izmikanje imuneseckemu odzivu. Relativno frekvenco invazije (RIF) smo določili gentamicinskim invazivnim testom z imunodetekcijo za štiri seve <i>M. synoviae</i> in v treh vrstah kokošjih celic: eritrocitih (CER), embrionalnih fibroblastih (CEC-32) in primarni celični liniji hondrocitov (CCH). Tipski sev WVU 1853 je bil bolj invaziven za CER in CEC-32 in podobno invaziven za CCH kot <i>M. gallisepticum</i> Rlow. Terenska izolata <i>M. synoviae</i> sta bila še manj invazivna za CCH.	ANG	The invasive capacity of <i>Mycoplasma synoviae</i> was demonstrated. This mechanism enables mycoplasma dissemination and avoiding to host immune defense. Using gentimicin invasion assay and immunostaining relative invasive frequency (RIF) was demonstrated for four <i>M. synoviae</i> strains in three chicken cell types: erythrocytes (CER), embryonic fibroblasts (CEC-32) and primary cell culture of chicken chondrocytes (CCH). Type strain WVU 1853 was more invasive for CCH and CEC-32 cells and similarly invasive for CCH as <i>M. gallisepticum</i> Rlow. Field strains of <i>M. synoviae</i> were even less invasive for CCH.	Objavljeno v	Elsevier; Veterinary Microbiology; 2009; Issues 1-2, Vol. 138; str. 114-119; Impact Factor: 2.874; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.91; A': 1; WoS: QU, ZC; Avtorji / Authors: Dušanić Daliborka, Berčič Rebeka Lucijana, Cizelj Ivanka, Salmič Simona, Narat Mojca, Benčina Dušan		Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
COBISS ID	2439560	Vir: COBISS.SI																		
Naslov	SLO	Mycoplasma synoviae invadira ne-fagocitne kokošje celice in vitro																		
	ANG	Mycoplasma synoviae invades non-phagocytic chicken cells in vitro																		
Opis	SLO	Dokazali smo, da <i>M. synoviae</i> invadira kokošje celice. Ta mehanizem bakteriji omogoča raznašanje po telesu gostitelja in izmikanje imuneseckemu odzivu. Relativno frekvenco invazije (RIF) smo določili gentamicinskim invazivnim testom z imunodetekcijo za štiri seve <i>M. synoviae</i> in v treh vrstah kokošjih celic: eritrocitih (CER), embrionalnih fibroblastih (CEC-32) in primarni celični liniji hondrocitov (CCH). Tipski sev WVU 1853 je bil bolj invaziven za CER in CEC-32 in podobno invaziven za CCH kot <i>M. gallisepticum</i> Rlow. Terenska izolata <i>M. synoviae</i> sta bila še manj invazivna za CCH.																		
	ANG	The invasive capacity of <i>Mycoplasma synoviae</i> was demonstrated. This mechanism enables mycoplasma dissemination and avoiding to host immune defense. Using gentimicin invasion assay and immunostaining relative invasive frequency (RIF) was demonstrated for four <i>M. synoviae</i> strains in three chicken cell types: erythrocytes (CER), embryonic fibroblasts (CEC-32) and primary cell culture of chicken chondrocytes (CCH). Type strain WVU 1853 was more invasive for CCH and CEC-32 cells and similarly invasive for CCH as <i>M. gallisepticum</i> Rlow. Field strains of <i>M. synoviae</i> were even less invasive for CCH.																		
Objavljeno v	Elsevier; Veterinary Microbiology; 2009; Issues 1-2, Vol. 138; str. 114-119; Impact Factor: 2.874; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.91; A': 1; WoS: QU, ZC; Avtorji / Authors: Dušanić Daliborka, Berčič Rebeka Lucijana, Cizelj Ivanka, Salmič Simona, Narat Mojca, Benčina Dušan																			
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek																			
2.	<table border="1"> <tr> <td>COBISS ID</td> <td>2835848</td> <td>Vir: COBISS.SI</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Naslov</td> <td>SLO</td> <td><i>Mycoplasma gallisepticum</i> in <i>Mycoplasma synoviae</i> izražata cisteinsko proteazo CysP, ki cepi kokošji IgG na Fab in Fc.</td> </tr> <tr> <td>ANG</td> <td><i>Mycoplasma gallisepticum</i> and <i>Mycoplasma synoviae</i> express a cysteine protease CysP, which can cleave chicken IgG into Fab and Fc</td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="2">Za razgradnjo kokošjih IgG ob okužbi z <i>M. synoviae</i> in <i>M. gallisepticum</i> odgovorna cisteinska proteaza CysP. <i>M. gallisepticum</i> in <i>M. synoviae</i> imata enak gen, ki kodira cisteinsko proteazo CysP, ki je podobna papinski proteazi (CaA poddružina). Primerjava genskih sekvenc za CysP iz 18-ih</td> </tr> </table>	COBISS ID	2835848	Vir: COBISS.SI	Naslov	SLO	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> in <i>Mycoplasma synoviae</i> izražata cisteinsko proteazo CysP, ki cepi kokošji IgG na Fab in Fc.	ANG	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> and <i>Mycoplasma synoviae</i> express a cysteine protease CysP, which can cleave chicken IgG into Fab and Fc		Za razgradnjo kokošjih IgG ob okužbi z <i>M. synoviae</i> in <i>M. gallisepticum</i> odgovorna cisteinska proteaza CysP. <i>M. gallisepticum</i> in <i>M. synoviae</i> imata enak gen, ki kodira cisteinsko proteazo CysP, ki je podobna papinski proteazi (CaA poddružina). Primerjava genskih sekvenc za CysP iz 18-ih									
COBISS ID	2835848	Vir: COBISS.SI																		
Naslov	SLO	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> in <i>Mycoplasma synoviae</i> izražata cisteinsko proteazo CysP, ki cepi kokošji IgG na Fab in Fc.																		
	ANG	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> and <i>Mycoplasma synoviae</i> express a cysteine protease CysP, which can cleave chicken IgG into Fab and Fc																		
	Za razgradnjo kokošjih IgG ob okužbi z <i>M. synoviae</i> in <i>M. gallisepticum</i> odgovorna cisteinska proteaza CysP. <i>M. gallisepticum</i> in <i>M. synoviae</i> imata enak gen, ki kodira cisteinsko proteazo CysP, ki je podobna papinski proteazi (CaA poddružina). Primerjava genskih sekvenc za CysP iz 18-ih																			

Opis	SLO	<p>sevov <i>M. synoviae</i> in 10-ih sevov <i>M. gallisepticum</i> je pokazala polimorfizem, vključno z delecijami. Sedem sevov <i>M. synoviae</i>, tudi tipski WVU 1853, ima na 3'-koncu gena <i>cysP</i> delecijo 39-ih nukleotidov. V istem področju gena <i>cysP</i> smo našli pri sevih <i>M. gallisepticum</i> delecijo kar 66 nukleotidov. Obe vrsti, <i>M. synoviae</i> in <i>M. gallisepticum</i> sta razgradili kIgG v fragmente, ki ustrezajo Fab (~ 45 kDa) in Fc težke verige kIgG (~ 60 kDa). Za pridobitev rCysP smo v genu <i>cysP</i> seva ULB 925 <i>M. synoviae</i> spremenili 8 TGA kodonov v TGG. Rekombinatni CysP je razgradil kIgG na Fab in Fc fragment. To nakazuje, da je CysP odgovorna za razgradnjo gostitelevih IgG, ki je bilo opaženo ob prisotnosti <i>M. synoviae</i> in verjetno je enak mehanizem tudi pri <i>M. gallisepticum</i>. To je prvi opis take encimske aktivnosti pri mikoplazmah in nakazuje na doslej neomenjeno strategijo teh dveh vrst mikoplazem za preživetje v gostitelju tudi ko je že aktivirana protitelesan imunska obramba.</p>	
	ANG	<p>Major poultry pathogens <i>M. gallisepticum</i> and <i>M. synoviae</i> share a gene encoding a putative cysteine protease CysP similar to papain cysteine (CaA subfamily). Comparison of the <i>cysP</i> gene sequences of 18 <i>M. synoviae</i> and 10 <i>M. gallisepticum</i> strains sequenced in this study showed polymorphisms, including deletions. Seven <i>M. synoviae</i> strains, including the type strain WVU 1853, had a 39 bp deletion in the 3' end of the <i>cysP</i> gene. In the same <i>cysP</i> region, all <i>M. gallisepticum</i> strains showed a deletion of 66bp. Immunoblot analysis with specific antibodies demonstrated that <i>M. synoviae</i> strains expressed CysP, which was approximately 65 kDa. Both <i>M. synoviae</i> and <i>M. gallisepticum</i> were able to digest chicken IgG (cIgG). Incubation of cIgG (-170 kDa) with <i>M. synoviae</i> or <i>M. gallisepticum</i> cells (-15 h at 37°C) results in a papain-like cleavage pattern of cIgG and fragments corresponding to the antigenbinding fragment of IgG (Fab, -45kDa) and the crystallizable region fragment (Fc) of the IgG heavy chain (dimer of -60 kDa). Iodoacetamide (50 mM) prevented cleavage of cIgG by both <i>Mycoplasma</i> species. Following site-directed mutagenesis (eight TGA codons were changed to TGG) the <i>cysP</i> gene of <i>M. synoviae</i> ULB 925 was expressed as a His-tagged protein in a cell-free system. Purified recombinant CysP (rCysP; -67kDa, pI-8) cleaved cIgG into Fab and Fc fragments. This indicates that CysP is responsible for the cIgG cleavage caused by <i>M. synoviae</i> and probably, by <i>M. gallisepticum</i>. This is the first evidence to our knowledge that mycoplasmas have enzymes that can cleave the host IgG and indicates a novel strategy used by <i>M. gallisepticum</i> and <i>M. synoviae</i> for prolonged survival despite the antibody response of their host.</p>	
	Objavljeno v	Society for General Microbiology; Microbiology; 2011; Vol. 157, no. 2; str. 362-372; Impact Factor: 3.061; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.321; WoS: QU; Avtorji / Authors: Cizelj Ivanka, Berčič Rebeka Lucijana, Dušanić Daliborka, Narat Mojca, Kos Janko, Dovč Peter, Benčina Dušan	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	2941832	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Različice gena za vlhA pri bakterijah <i>Mycoplasma synoviae</i> , izoliranih iz kokoši	
	ANG	Variation of vlhA gene in <i>Mycoplasma synoviae</i> clones isolated from chickens	
		<p><i>Mycoplasma synoviae</i> sintetizira hemaglutinin VlHA, ki se cepi v N-terminalni del oz. lipoprotein MSPB, in C-terminalni del oz. MSPA. Prejšnje študije so pokazale, da so znotraj populacij možne rekombinacije 3'-konca izraženega gena vlhA s psevdogeni vlhA <i>M. synoviae</i>, ki se namnožijo v kokoši. Intratrahealna inokulacija seva ULB 02/T6 je razkrila le nekaj variacij glede na inokulirano kulturo. Kulturam <i>M. synoviae</i>, ki smo jih pridobili iz kokoši, smo določili od časa odvisno diverzifikacijo gena vlhA, z</p>	

Opis	SLO	monoklonskimi protitelesi 3B4 in 50 pa smo raziskali spremembe v epitopu MSPB. Pri kulturah, izoliranih 8. in 18. dan po inokulaciji (p.i.), je večina kolonij imela variacijo epitopov za mAb 2B4 in 50. Spremenjeno je bilo tudi nukleotidno zaporedje 3'- konca gena vlhA. Nadaljnja diverzifikacija se je pojavila pri kulturah izoliranih 8. teden in 5. mesec p.i. Nukleotidno zaporedje gena vlhA iz izoliranih kultur je bilo z nukleotidnim zaporedjem gena vlhA inokulirane kulture ULB 02/T6 identično le v 65 do 80 %. Večina teh kultur je imela v nukleotidnem zaporedju gena vlhA stop kodon, ki bi povzročil prezgodnji konec prevajanja. Zanimivo pa je, da je imela ena kultura izolirana 8 teden p.i. (klon T6-8W/IT2A) v minimalno 1140 bazah identično nukleotidno zaporedje zaporedju prvega psevdogena vlhA, ki se nahaja nad izraženim genom vlhA. Naša študija prva dokazuje od časa odvisno diverziteteto gena vlhA pri populacijah <i>M. synoviae</i> izoliranih iz sarnikov kokoši.	
	ANG	<i>Mycoplasma synoviae</i> synthesizes haemagglutinin vlhA, which cleaves into the N-terminal part, a lipoprotein MSPB, and a C-terminal part MSPA. Previous studies have shown that the 3'-end of the expressed vlhA gene can recombine with vlhA pseudogenes in a process called gene conversion, but there have been no data about diversification of the expressed vlhA gene in <i>M. synoviae</i> populations replicating in chickens. Following intratracheal inoculation with the <i>M. synoviae</i> strain ULB 02/T6, which showed only minor vlhA gene variation prior to inoculation, we investigated temporal changes in MSPB epitopes defined by monoclonal antibodies (mAbs) 3B4 and 50, as well as diversification of the vlhA gene sequence in <i>M. synoviae</i> populations recovered from chicken tracheas. In cultures isolated 8 and 18 days post inoculation (p.i.), most colonies showed variation of MSPB epitopes for mAbs 3B4 and 50. They also changed 3'-end vlhA gene sequences. Further diversity of the vlhA gene occurred in cultures isolated 8 weeks and 5 months p.i. The vlhA gene sequences from isolated cultures shared only 65 to 80% sequence identity with vlhA gene of the inoculated ULB 02/T6 culture. Notably, in most of those cultures their vlhA gene sequences contained stop codons potentially causing premature terminations of translation. Interestingly, in one culture isolated 8 weeks p.i. (clone T6-8W/IT2A) the 3'-vlhA gene sequence was identical in the last 1140 bases to that of the first vlhA pseudogene positioned the most far (upstream) of the expressed vlhA gene. This is the first demonstration of temporal diversity of the vlhA gene in <i>M. synoviae</i> populations isolated from chicken tracheas.	
	Objavljeno v	World Veterinary Poultry Assoc.; Avian pathology; 2011; Vol. 40, no. 5; str. 481-489; Impact Factor: 1.711; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.939; A': 1; WoS: ZC; Avtorji / Authors: Slavec Brigita, Berčič Rebeka Lucijana, Cizelj Ivanka, Narat Mojca, Zorman-Rojs Olga, Dovč Peter, Benčina Dušan	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	2859912	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Nevraminidaza <i>Mycoplasma synoviae</i> desializira težke verige kokošnjih imunoglobulinov G in glikoproteine iz trahealnega mukusa.	
	ANG	Neuraminidase of <i>Mycoplasma synoviae</i> desialylates heavy chain of the chicken immunoglobulin G and glycoprotein of chicken tracheal mucos	
Opis	SLO	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> in <i>Mycoplasma synoviae</i> sta patogena, ki okužujeta perutnino in si delita gene, vključno z genom nanH, ki kodira sialidazo (nevraminidazo). Predhodne študije so pokazale razlike v nevraminidazni encimski aktivnosti pri sevih <i>M. synoviae</i> in celo odsotnost te aktivnosti pri dveh sevih ULB 925 in ULB 9122. S to študijo smo pokazali, da sevi <i>M. synoviae</i> , ki nimajo NEAC (nevraminidazne aktivnosti) ne izražajo funkcionalne NanH nevraminidaze. Seva <i>M. synoviae</i> ULB 925 in ULB 9122, ki nimata NEAC, imata delekcijo adenina v različnih področjih	

		<p>gena nanH. Delecija adenina ima pri obeh sevih za posledico nastanek stop kodona in prevajanje gena NanH se predčasno zaključi. Seva ULB 925 in ULB 9122 nista desializirala fetuina, transferina in tudi ne kokošnjih glikoproteinov, ki jih sevi <i>M. synoviae</i> z normalnim genom nanH in NEAC desializirajo. Sta pa desializirala različne kokošje glikoproteine z SA[alfa](2-6)gal vsebnostjo, vključno z težko verigo IgG. Inhibitor nevraminidaze,</p>
	ANG	<p>Major poultry pathogens, <i>Mycoplasma gallisepticum</i> and <i>Mycoplasma synoviae</i> share several genes, including nanH that encodes their sialidases (neuraminidases). Previous studies have shown considerable differences in neuraminidase enzymatic activity (NEAC) in <i>M. synoviae</i> strains and NEAC absence in individual cultures of two strains, ULB 925 and ULB 9122. The present study shows that their cultures lacking NEAC did not express NanH neuraminidase detectable by specific antibodies. In cultures of <i>M. synoviae</i> ULB 925 and ULB 9122, which lacked NEAC and detectable NanH, deletions of a single adenine in different nanH regions of each strain created translational frameshifts resulting in TAA (UAA) stop codons and premature termination of translation. ULB 925 and ULB 9122 with such nanH mutations did not desialylate reference fetuin and transferrin or chicken glycoproteins that <i>M. synoviae</i> strains with NEAC efficiently desialylated.</p> <p>They desialylated several chicken serum glycoproteins with SA[alfa](2-6)gal moieties, including the immunoglobulin G heavy chain. Neuraminidase inhibitor 2,3-didehydro-2-deoxy-N-acetylneuraminic acid inhibited such desialylation otherwise caused by <i>M. synoviae</i> WVU 1853 neuraminidase. WVU 1853 also cleaved sialic acid from SA[alfa](2-3)gal moieties from glycoproteins of mucos from chicken tracheas. This is the first demonstration that <i>M. synoviae</i> desialylates glycoproteins of its host.</p>
	Objavljeno v	World Veterinary Poultry Assoc.; Avian pathology; 2011; Vol. 40, no. 3; str. 299-308; Impact Factor: 1.711; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.939; A': 1; WoS: ZC; Avtorji / Authors: Berčič Rebeka Lucijana, Cizelj Ivanka, Dušanić Daliborka, Narat Mojca, Zorman-Rojs Olga, Dovč Peter, Benčina Dušan
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	3013768
		Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p>SLO <i>Mycoplasma synoviae</i> inducira povečano izražanje apoptotskih genov, izločanje dušikovega oksida in pojav apoptotskega fenotipa v okuženih kokošnjih hondrocitih</p> <p>ANG <i>Mycoplasma synoviae</i> induces upregulation of apoptotic genes, secretion of nitric oxide and appearance of an apoptotic phenotype in infected chicken chondrocytes</p>
	Opis	<p>SLO Namen študije je bila analiza interakcije med artritogeno bakterijo <i>Mycoplasma synoviae</i> in kokošnjimi hondrociti. Pokazali smo, da bakterija bistveno zmanjša respiracijo hondrocitov in spremeni morfolologijo celic: skrčenje celic, kondenzacijo citoplazme in jeder ter formacijo membranskih invaginacij, napolnjenih z jedrnim materialom, ki se odcepljajo od celic. To so fenotipski znaki apoptoze, s katerimi se skladajo tudi rezultati na genskem nivoju. Pokazali smo, da je 24 ur po okužbi povečano izražanje genov NOS2, Mapk11, CASP8 in Casp3, 24 in 72 ur po okužbi pa genov AIFM1, NFκB1, htrA3 and BCL2. Povečana sinteza NO je bila dokazana tudi v supernatantu kulture celic. Rezultati kažejo, da okužba hondrocitov z <i>M. synoviae</i> povzroča apoptozo celic, kar prispeva k poškodbi in propadu hrustančnega tkiva.</p> <p>The objective of this study was to analyze the interaction of an arthrogenic <i>Mycoplasma synoviae</i> strain WVU 1853 with chicken chondrocytes. We found that <i>M. synoviae</i> significantly reduces chondrocyte respiration. This was accompanied by alterations in chondrocyte morphology, namely cell</p>

	ANG	shrinkage and cytoplasm condensation, as well as nuclear condensation and formation of plasma membrane invaginations containing nuclear material, which appeared to cleave off the cell surface. In concordance with these apoptosis-like events in chondrocytes, transcription was increased in several pro-apoptotic genes. 24 h after infection, strong upregulation was assayed in NOS2, Mapk11, CASP8 and Casp3 genes. 24 and 72 h incubation of chondrocytes with M. synoviae induced upregulation of AIFM1, NFκB1, htrA3 and BCL2. Casp3 and NOS2 remained upregulated, but upregulation ceased for Mapk11 and CASP8 genes. Increased production of nitric oxide was also confirmed in cell supernates. The data suggests that chicken chondrocytes infected with M. synoviae die by apoptosis involving production of nitric oxide, caspase 3 activation and mitochondrial inactivation. The results of this study show for the first time that mycoplasmas could cause chondrocyte apoptosis. This could contribute to tissue destruction.
Objavljeno v		EDP sciences;BioMed Central; Veterinary research; 2012; Vol. 43, no. 7; str. 1-14; Impact Factor: 4.060;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.939; A'': 1;A': 1; WoS: ZC; Avtorji / Authors: Dušanić Daliborka, Benčina Dušan, Oven Irena, Cizelj Ivanka, Benčina Mojca, Narat Mojca
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	2506888 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Organizacija slovenskega biokemijskega in genetskega kongresa z mednarodno udeležbo- članica znanstvenega odbora ANG Organisation of Slovenian Biochemical Society and Genetic Society congress with international participation- member of scientific committee
	Opis	SLO Nosilka projekta je bila med aktivnimi organizatorji kongresa, organizatorka in vodja sekcije "odnosi med patogeni in gostitelji". Na kongresu so bili predstavljeni tudi rezultati iz raziskav na projektu in sicer rezultati raziskav endonukleazne aktivnosti M. synoviae (plakat) in rezultati raziskav imunogenih regij virusa aviarnne influence (kratko predavanje), kar sodi v prvi sklop poskusov definiranja patogenih dejavnikov bakterij in virusov, ki hkrati okužujejo perutnino. ANG Project leader was the member of congress scientific committee, responsible for organization of "host pathogen interactions" session and the chair of the session. Some results from the project were also presented: experiments and results, demonstrating that M. synoviae possess membrane associated endonuclease activity (poster) and results from the investigation of immunogenic proteins of avian influenza virus H5N1 (short lecture). All these results are from the first group of announced experiments designed for defining factors of virulence and pathogenicity of mycoplasmas and viruses.
	Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja
	Objavljeno v	Slovenian Biochemical Society;Genetic Society of Slovenia; Book of abstracts; 2009; Str. 138; Avtorji / Authors: Dušanić Daliborka, Bolha Luka, Oven Irena, Benčina Dušan, Narat Mojca
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
2.	COBISS ID	2533512 Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Referat na mednarodni znanstveni konferenci: Kokoš, okužena z bakterijo Mycoplasma synoviae
	ANG	Lecture at the international scientific conference: Being chickens infected with Mycoplasma synoviae
Opis	SLO	V prispevku (predavanje na svetovnem veterinarskem kongresu-sekcija perutninarstvo) so zbrana vsa nova dognanja v zvezi s potekom okužbe z M. synoviae: povezave med invazivno sposobnostjo, endonukleazno aktivnostjo in zmanjšano viabilnostjo gostiteljevih celic; povezave med sposobnostjo M. synoviae, da inducira spremenjeno izražanje določenih genov v imunskih in neimunskih celicah (CCH) in metabolno aktivnostjo teh celic. Predstavljani so bili rezultati poskusa na fenotipskih mikromrežah, kar je bila prva razskava te vrste na področju raziskav odnosov med patogeni in gostitelji.
	ANG	The contribution was presented as a lecture at the world veterinary congress-poultry association. All new aspects of M. synoviae infection were presented: link between invasive capacity and endonuclease activity of M. synoviae and drop of viability of infected CCH; link between M. synoviae capacity to influence the gene expression in CCH and changes in metabolism of infected CCH. Experiment on phenotype microarray (PM) was one of very few using eukaryotic cells in PM and very first one in the area of host-pathogen interaction experiments using PM.
Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
Objavljeno v	Editions Okad; Book of abstracts; 2009; Str. [130], 09-B1-1; Avtorji / Authors: Narat Mojca, Dušanić Daliborka, Lavrič Miha, Oven Irena, Benčina Dušan, Maughan Michele N., Keeler Calvin L.	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
3. COBISS ID	2745480	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Referat na mednarodni znanstveni konferenci: V sinovialnih tekočinah kokoši, okuženih z Mycoplasma synoviae, so prisotni vnetni citokini in autoprotitelesa.
	ANG	Lecture at the international scientific conference: Synovial fluid of Mycoplasma synoviae infected chickens contains pro-inflammatory cytokines and autoantibodies
Opis	SLO	V prejšnjih študijah smo pokazali, da ima bakterija M. synoviae močan vpliv na izražanje genov v makrofagih. V tej študiji smo preučili, ali so v sinovialnih tekočinah kokoši okuženih z M. synoviae prisotna lokalna avtoprotitelesa specifična za proteine hrustanca. Prvi rezultati kažejo na prisotnost protiteles proti večjem številu proteinov hrustanca in hondrocitov. Obenem nas je zanimala tudi prisotnost citokinov v sinovialnih tekičinah in smo dokazali prisotnost citokinov IL1-β, IL-6, IFN-α, IL-18, IL-2, IL12 in IFN-γ.
	ANG	In our previous studies, we demonstrated a strong effect of M. synoviae on gene and protein expression of macrophages. In this study, synovial fluids of infected chickens were analysed for presence of local autoantibodies against cartilage proteins. Preliminary results show presence of local autoantibodies against several proteins of chondrocytes and cartilage. Additionally, we performed a cytokine profile of synovial fluids of infected chickens and found presence of IL1-β, IL-6, IFN-α, IL-18, IL-2, IL12 and IFN-γ.
Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
Objavljeno v	Diamond Congress Ltd., the secretariat of the Conference; Scientific program & proceedings; 2010; Str. 21; Avtorji / Authors: Dušanić Daliborka, Kastelic Saša, Benčina Dušan, Narat Mojca	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	

4.	COBISS ID	3160968	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Referat na mednarodni konferenci: Vpliv okužbe z bakterijo <i>Mycoplasma synoviae</i> in ptičjim paramiksovirusom tipa 1 na izražanje imunskih genov v kokošnjih embrijih
		<i>ANG</i>	Lecture at the international scientific conference: Effect of <i>Mycoplasma synoviae</i> and Newcastle disease virus infection on the innate immune response gene modulation in chicken embryos
	Opis	<i>SLO</i>	<p>Bakterija <i>Mycoplasma synoviae</i> (MS) in ptičji paramiksovirus tipa 1 (NDV) sta ekonomsko pomembna patogena mikroba, ki okužujeta perutnino. Okužba z MS lahko povzroči povišano izražanje številnih imunskih genov pri kokoših, ni pa jasno ali povzroči podoben učinek tudi pri kokošnjih embrijih. Cepiva proti NDV se že desetletja pridobiva v oplojenih kokošnjih jajcih kjer se NDV razmnožuje, ni pa znan učinek virusnega razmnoževanja na imunski odziv embrijev. Zato smo v tej študiji analizirali vpliv posamične in zaporedne okužbe z MS in NDV na izražanje imunskih genov v kokošnjih embrijih. Z MS smo okuževali 10 dni in z NDV 17 dni stare embrije. Pri zaporednem okuževanju smo 10 dni stare embrije okužili z MS in nato na 17. dan z NDV. Vse embrije smo žrtvovali na 19. dan, jim osamili jetra, vranico, Fabricijevo burzo in timus ter iz njih izolirali RNA za analizo ekspresije imunskih genov s qRT-PCR. Za kontrolo so nam služili neokuženi embriji.</p> <p>Okužba z MS je povzročila povišano izražanje vnetnih genov v vseh organih. Geni, ki so imeli statistično značilno povišano izražanje glede na kontrolo so bili: IFN-α, IFN-γ, IL-1β, IL-12p40, IL-16, IL-18, MIP-1β (CCL4), iNOS in LITAF (lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha factor), z različnim nivojem izražanja med organi. Okužba z NDV je signifikantno povišala izražanje genov IFN-γ, IL-1β, IL-6, IL-16 in MIP-1β v timusu in vranici, ki pa je bilo bistveno nižje kot pri okužbi z MS. Rezultati namigujejo, da je MS močnejše aktivirala imunske gene v primerjavi z NDV, kljub temu, da je slednji bolj patogen. Pri zaporednem okuževanju embrijev je okužba z NDV signifikantno znižala nivo izražanja imunskih genov, ki so bili stimulirani s strani MS. Mehanizem tovrstnega znižanja izražanja imunskih genov še ni znan.</p>
		<i>ANG</i>	<p>MS upregulates a number of genes involved in immune response in chickens, but it was not clear whether it changes expression of these genes in chicken embryos. For decades NDV live vaccines have been produced using chicken embryonated eggs for NDV replication, but there was little data about the expression of their innate immune response genes. In this study, the influence of MS and NDV infection on cytokine gene expression in chicken embryos was analyzed. Ten-day-old specific-pathogen-free (SPF) chicken embryos were infected with MS type strain WVU 1853. Seven days later half of them were additionally inoculated with lentogenic NDV strain LaSota (LSV), whereas, a separate group of 17-day-old SPF embryos was inoculated with LSV only. Untreated SPF embryos represented a control. All embryos were sacrificed on the 19th day and their liver, spleen, bursa of Fabricius and thymus used for gene expression analysis using quantitative real-time RT-PCR.</p> <p>MS infection resulted in an obvious upregulation of major inflammatory cytokine genes. A significant upregulation of IFN-α, IFN-γ, IL-1β, IL-12p40, IL-16, IL-18, MIP-1β (CCL4), iNOS and lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha factor (LITAF) genes was detected, with different expression profiles between the tested tissues. LSV inoculation significantly upregulated only IFN-γ, IL-1β, IL-16, and MIP-1β genes in thymus and spleen, but in a lesser extent than MS. This suggests that MS is a more potent activator of cytokine genes in embryos than NDV, although the latter is more pathogenic. When LSV was introduced after on-going MS infection most MS-induced immune genes were significantly downregulated.</p>

	Šifra	B.03	Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	s.n.; Scientific programme & abstracts; 2012; Str. 55; Avtorji / Authors: Bolha Luka, Cizelj Ivanka, Dušanič Daliborka, Benčina Dušan, Slavec Brigita, Zorman-Rojs Olga, Narat Mojca	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
5.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Prehod mlajših sodelavcev (MR) v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah
		ANG	Transition of young researchers to the economy - research development
	Opis	SLO	Daliborka Dušanič je bila MR, vpeta v opisani projekt. Po zmagi na regijskem biokampu je bila objavljena za zaposlitev v družbi Novartis in sicer v razvojnem oddelku. Ljubljana, 23. maj 2012 – Ob zaključku Regijskega BioCampa 2012 so razglasili najboljše študente iz tekmovalnega dela. V sklopu dogodka, ki ga je letos že drugič za perspektivne mlade strokovnjake s področja naravoslovja iz regije Alpe-Adria organiziral Lek, član skupine Sandoz, sta se pri pripravi študije primera najbolj izkazala Daliborka Dušanič iz Biotehniške fakultete v Ljubljani in.... ...se je med vsemi udeleženci najbolj izkazala pri povezovanju znanstvenega in poslovnega načina razmišljanja, ki sta za uspeh v farmaciji izjemno pomembna ...Zmagovalca regijskega BioCampa 2012 se bosta pridružila udeležencem na že tradicionalnem svetovnem Novartisovem BioCampu, ki bo potekal letos konec avgusta v Baslu v Švici. Skupaj z najboljšimi mladimi strokovnjaki naravoslovnih znanosti s celega sveta bosta v okviru tridnevnega seminarja pridobivala novo znanje ter spoznavala izkušnje in trende na področju biotehnologije in biofarmacije.
		ANG	Daliborka Dušanič was a young researcher, who was invited to join the Novartis development team after winning the Regional Biocamp. Ljubljana, May 23rd, 2012 - At the conclusion of the Regional BioCamp 2012, the winners of the competition part were announced. As a part of the event, which has been organized for the second time by Lek, a Sandoz Company, for promising science students from the Alpe-Adria region, Daliborka Dušanič from Biotechnical Faculty, Ljubljana and...showed they were the best able to connect the scientific and business way of thinking, which is of key importance for success in the pharmaceutical industry. ...The winners of the Regional BioCamp 2012 will join the participants at the annual Novartis International BioCamp, which will be held at the end of August this year in Basel, Switzerland. Together with the top young science experts from all around the globe they will attend a three-day seminar, gaining new knowledge and experience and learning about trends in biotechnology and biopharmacy.
	Šifra	F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov
	Objavljeno v	Lek, farmacevtska družba d.d.: SPOROČILO ZA JAVNOST št. 5-2012	
	Tipologija	2.07 Bibliografija	

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

1. Znanstvene objave-del rezultatov

BERČIČ, R.L. et al. Demonstration of neuraminidase activity in Mycoplasma neurolyticum and of neuraminidase proteins in three canine Mycoplasma species. Vet. microbiol., 2012, vol. 155, no. 2/4, str. 425-429.[2958984]

CIRKVENČIČ, N. et al. Distribution of chicken cathepsins B and L, cystatin and ovalbumin in extra-embryonic fluids during embryogenesis. Br. Poult. Sci., 2012, vol. 53, no. 5, str. 623-630. [3132296]

BOLHA, L. et al. Comparison of methods for relative quantification of gene expression using real-time PCR. Acta agric. Slov., 2012, letn. 100, št. 2, str. 97-106.

DUŠANIČ, D. et al. Setting up a gene expression study for tissue cells by method of quantitative real-time PCR. Acta agric. Slov., 2012, letn. 100, št. 1, str. 19-28. [3081864]

KASTELIC, S. et al. Ornithobacterium rhinotracheale has neuraminidase activity causing desialylation of chicken and turkey serum and tracheal mucus glycoproteins. Vet. microbiol., 2013, vol. 162, issues 2-4, str. 707-712. [3150984]

2. Objave v zaključni fazi:

Oven I., Resman K., Dušanič D., Benčina D., Keeler C. L., Narat M. Diacylated lipopeptide from Mycoplasma synoviae mediates TLR15 induced innate immunity response: Veterinary research Dušanič D., Benčina D., Oven I., Narat M. Phenotypic characterization of Mycoplasma synoviae induced changes in the metabolic and sensitivity profile of in vitro infected chicken chondrocytes Journal of Zhejiang University Science B

Luka Bolha in sod. Immunomodulatory effect of Mycoplasma synoviae and lentogenic Newcastle disease virus co-infection in chicken embryos.

Bolha L., Dušanič D., Benčina D., Cizelj I., Oven I., Dovč P., Narat M. Mycoplasma synoviae possess nuclease activity which can degrade host's genomic DNA during in vitro infection of CEC-32 cells.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Mikoplazme in virusi predstavljajo dve skupini patogenih mikrobov z različnim načinom življenja v mnogokrat skupnih gostiteljih. Večina dosedanjih raziskav je bilo usmerjenih v proučevanje patoloških sprememb in molekularnih mehanizmov ob posamičnih okužbah, zato so rezultati naše raziskave, ki je bila usmerjena na proučevanje skupnih učinkov dveh pogostih mikrobov, med redkimi te vrste in so pomembni za širše področje raziskav med patogeni in gostitelji. Namen raziskave je bil ugotoviti potek imunskega odziva v primeru mešanih okužb, bakterijske in virusne hkrati. Model je bil izbran na podlagi predhodnih izkušenj in rezultatov proučevanja aviarnih bakterijskih (*M. synoviae*) in virusnih NDV (AIV) patogenov. Odkrili in opisali smo več mehanizmov vplivanja na gostiteljeve celice s strani mikoplazme (invadiranje v gostiteljeve celice, vpliv na metabolne zahteve gostiteljevih celic, sprožanje apoptoze, induciranje povečanega izražanja metaloproteaz, posedovanje nukleazne, nevraminidazne in proteazne aktivnosti) in potrdili, da okužba z mikoplazmo na več načinov vpliva na propad tkiva in na zmanjšanje učinkov imunske obrambe gostitelja. Opisali smo način, s katerim mikoplazma inducira avtoimunske oblike vnetnega sinovitisisa. Vsi ti rezultati, ki se nanašajo na okužbo z mikoplazmo, so bili opisani prvič, objavljeni v priznanih mednarodnih revijah in pomenijo nova bazična spoznanja na področju raziskav te vrste mikrobov in imunskega odziva nanje. Okužbe z mikoplazmami pogosto potekajo subklinično in so v diagnostiki pogosto prezrte. Naša raziskava kaže, da pa imajo okužbe z mikoplazmo lahko pomemben negativen učinek na imunske zmožnosti gostitelja, kar lahko v primeru naknadne virusne okužbe vpliva na razvoj bolezni. Znanje je pomembno tudi za razumevanje teh okužb pri drugih živalih in pri človeku, kjer se sumi, da so humane mikoplazme vpletene v mnoge bolezni, med drugim tudi v indukcijo avtoimunskega artritisa. V nadaljevanju smo proučevali, kako se imunski sistem razvijajočega se kokošjega embrija odzove na okužbo z mikoplazmo in na naknadno okužbo z virusom. Poskus in vitro na celičnih linijah kokošjih embrionalnih fibroblastov je namreč potrdil, da vsak tip mikroba aktivira določeno skupino imunskih genov, medtem ko prisotnost obeh hkrati vsako posamezno sliko bistveno spremeni. Analiza izražanja genov po okužbi kokošjih embrijev z bakterijo *M. synoviae*, z virusom NDV in zaporedno z obema mikroboma, je bil prvi tovrstni poskus, ki je pokazal razlike v izražanju genov glede na okužbo in tudi v različnih organih. Gre za informacije, ki so pomembne za razumevanje najzgodnejših molekularnih dogodkov v aktivaciji imunskega odziva, kar je predvsem pomembno pri okužbah, ki se prenašajo preko valilnih jajc, kot je npr. *M. synoviae*. Pokazali smo, da je okužba z mikoplazmo povzročila spremembe v izražanju večjega števila genov, drugih genov in v drugačnem obsegu kot okužba

z virusom. Za vsako okužbo posebej smo za več organov ločeno določili kateri geni so značilno izraženi v povečanem obsegu. Pri študiji zaporedne hkratne okužbe smo ugotovili, da prisotnost virusa vpliva na izražanje genov tako, da zmanjša nivo izražanja genov, ki ga aktivira predhodna okužba z mikoplazmo. To so povsem nove ugotovitve, pomembne za razumevanje imunskih procesov in hkrati pomembne za napovedovanje dogodkov pri vakcinacijah živali in ljudi. Ti rezultati prispevajo podatke, ki so potrebni pri načrtovanju sestavin vakcin in časovnih okvirov vakcinacij živali in ljudi. Čeprav je bila študija opravljena na modelu mikrobov, ki okužujejo perutnino, imajo rezultati pomen tudi iz vidika nepredvidljivih dogodkov pri pojavu ptičje gripe, kjer je pri virusu aviarnе influence tipa H5N1 prišlo do menjave gostitelja in je virus okuževal tudi ljudi. Mikoplazme namreč tudi pri ljudeh povzročajo pogosto subklinične bolezni dihal, zato je poznavanje molekularnih mehanizmov, ki jih sprožata ta dva tipa mikrobov relevantno tudi za humano medicino.

ANG

Mycoplasmas and viruses represent two groups of pathogenic microorganisms with different way of life in frequently common hosts. Most previous studies were mainly focused on analyzing pathological differences and molecular mechanisms during individual infections. Our study has an emphasis on the analysis of common effects caused by the two pathogens and results are among few that are important for describing relationship between the host and both pathogens.

The aim of this study was to determine host's immune response during mixed bacterial-virus infection. The model for our study was chosen based on previous experience and results from analyzing avian bacterial (*M. synoviae*) and virus (NDV, AIV) pathogens. We determined and described many mechanisms by which mycoplasmas influence host's cells (invading into host cells, influencing host's metabolic requirements, triggering apoptosis, inducing increased expression of metalloproteases; possessing nuclease, neuraminidase and protease activity) and confirmed that mycoplasma infection in various ways influences tissue degradation and lowers host's immune defense. We described the mechanism by which mycoplasmas induce autoimmune form of infectious synovitis. All results regarding mycoplasma infection were described for the first time and published in distinguished international journals. They represent new basic knowledge in mycoplasma and immune response toward mycoplasma infection. Infections with mycoplasmas are often subclinical and frequently overlooked by diagnostics. Our study indicates that mycoplasma infection may have an important negative effect on host's immune capability, which may, after subsequent virus infection, affect disease development. This knowledge is also important for understanding consecutive infections in other animals and humans, where human mycoplasmas are thought to influence the development of various diseases, including induction of autoimmune arthritis. We also analyzed the response of developing immune system in chicken embryos toward consecutive mycoplasma-virus infection. The in vitro experiment on chicken embryonic fibroblast cell line confirmed that every microbe activated a certain group of immune genes, while the presence of both pathogens altered those gene expression profiles. Gene expression analysis of chicken embryos following infection with *M. synoviae*, NDV or consecutive infection with both pathogens was first suchlike experiment that showed differences in gene expression after each type of infection and also between different organs. This data is significant for understanding early molecular events in the activation of immune response, which is important especially at vertical transmission of the infection through hatching eggs, e.g. *M. synoviae*. We showed that mycoplasma infection modulated expression of more genes in different extent than virus infection. For every type of infection we analyzed expression of immune genes in several organs and determined which genes were significantly modulated in every organ separately. In consecutively infected embryos we determined inhibition of mycoplasma-induced genes, most likely affected by the presence of the virus. These are novel findings, important for understanding immune processes and also for predicting the outcome of vaccinations in animals and humans. Our results may contribute the data necessary for planning vaccine components and time intervals for animal and human vaccinations. Although the study was performed on microbes that infect poultry, our results have importance from the aspect of unpredictable events in the occurrence of bird flu where the avian influenza virus type H5N1 changed hosts and also infected humans. Mycoplasmas also cause subclinical respiratory infections in humans, which makes understanding of molecular mechanisms triggered by these pathogens relevant also for human medicine.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Perutninski proizvodi (meso, jajca, njihovi izdelki) predstavljajo že 50% proteinov živalskega izvora v prehrani ljudi, perutninarstvo pa je v SLO med najvažnejšimi živilorejskimi panogami. Kužne bolezni, ki jih povzročajo bakterije, tudi *M. synoviae* in *M. gallisepticum* in virusi povzročajo veliko ekonomsko škodo. Ogromna gospodarska škoda preti ob razširitvi okužbe z virusom aviarne influence H5N1, kjer je dodatno skrb zbujajoče dejstvo, da virus potencialno lahko okužuje tudi ljudi. Glede na pričakovano popolno ustavitev uporabe antibiotikov v živiloreji, bo situacije postala še težja in potrebni bodo novi pristopi za znižanje škode, posledice okužb.

Opravljen raziskava je prinesla relevantne nove podatke v smislu razumevanja interakcij med patogeni na molekularnem nivoju in v smislu razumevanja skupnih učinkov na gostitelja. Predvsem je v podrobnosti razjasnila molekularne dogodke ob okužbi z mikoplazmo, ki je lahko prisotna v populaciji živali (in ljudi) v subklinični okužbi in se pri perutnini vertikalno prenaša. V takem primeru se vakcinacija proti virusnim okužbam izvede na že potekajočo okužbo z mikoplazmo. Za bolj zahtevno perutninsko proizvodnjo v odsotnosti antibiotikov je razumevanje teh mehanizmov nujno. V sedanjih pogojih živiloreje bi z boljšim znanjem lahko zmanjšali ekonomsko škodo, ki je marsikdaj posledica hkratnih okužb z mikoplazmami in virusi iz inaktiviranih vakcin. Načrtovanje novih vakcinskih pripravkov in novih strategij temelji prav na poznavanju podatkov, kot smo jih zbrali v naši raziskavi.

Mikoplazme in virusi so patogeni mikrobi, ki tudi na farmah prašičev in prežvekovalcev (govedo, ovce, koze) predstavljajo velik problem in informacije, dobljene v projektu so lahko uporabne tudi za razumevanje in reševanje težav pri drugih živalskih vrstah, kar lahko prinese pozitivne gospodarske učinke, predvsem na področju živiloreje in veterine.

Kokošji embriji se še vedno uporabljajo za produkcijo vakcin, zato bodo informacije, kako morebitno vertikalno prenesena okužba z *M. synoviae* lahko vpliva na razmnoževanje virusov in kakšni so skupni učinki na embrio, dobrodošle tudi za razumevanje mehanizmov, ki vplivajo na pospešeno odmiranje embrijev v postopkih pridobivanja virusov za vakcine.

Mikoplazemske okužbe celičnih linij, ki se masovno uporabljajo za raziskave in predstavljajo dobrodošle modele za proučevanje najrazličnejših mehanizmov (farmacija, kozmetična industrija, toksikologija, ekologija), so zelo pogoste in mnogokrat neopazne. Ocenjujemo, da so naši rezultati pomembni za pravilno vrednotenje rezultatov, pridobljenih na celičnih linijah.

Okužbe ljudi s humanimi mikoplazmami so pogoste še posebej v vrtcih in šolah ter v bolnišnicah in mnogokrat le subklinične ter podcenjene v diagnostiki. Rezultati, dobljeni na živalskem modelu kažejo, da je organizem, ki je že okužen z mikoplazmo lahko bolj dovzeten za naknadne okužbe z virusi hkrati pa je učinek virusov drugačen, če je osebek hkrati okužen z mikoplazmo. Poznana je vpletenost okužbe z mikoplazmami na potek okužbe z virusom HIV.

Mycoplasma pneumoniae je pogost bolnišnični patogen in okuženi ljudje so dovzetni za nadaljnje okužbe z virusi, kar bistveno podaljša čas bivanja v bolnišnicah. Poseben pomen imajo rezultati za razumevanje poteka bolezni ob okužbi z virusom aviarne influence H5N1, za katerega so gostitelj ptice.

ANG

Poultry products (meat, eggs, and their byproducts) already represent 50% protein of animal origin in human diet, making poultry one of the most important livestock branches in Slovenia. Infectious diseases caused by bacteria, including *M. synoviae* and *M. gallisepticum*, and viruses cause major economic losses that may be also influenced by avian influenza virus H5N1 spreading. Here additional concerns exist, because H5N1 infection can spread to humans. Regarding the expected gradual termination of antibiotic usage in livestock production, the situation may become even more difficult and new procedures for reducing economic damage and infections necessary.

New relevant results were gained in our study in the sense of understanding interactions between pathogens on molecular level and their mutual effect to the host. Molecular events during mycoplasma infection have been clarified in detail, which can be present in animal (and human) populations in a subclinical form and may be transferred vertically in poultry. Thus, vaccination against viruses is performed on previously mycoplasma-infected host. In intense poultry industry with the absence of antibiotic treatment, understanding these mechanisms is essential. In current livestock conditions, use of new knowledge could reduce economic losses which are often caused by consecutive infections with mycoplasmas and viruses from attenuated vaccines. Designing new vaccination preparations and vaccination strategies is based on the knowledge as obtained in our study.

Mycoplasmas and viruses are pathogenic microorganisms that cause difficulties in pig and ruminant (cattle, sheep, and goat) farms as well. Information gathered in this project could be useful for understanding and solving problems involving other animal species which may bring positive effects to the economy, especially in stockbreeding and veterinary sciences. Vaccines are still largely produced by using chicken embryos for virus propagation which makes information, how vertically transmitted *M. synoviae* infection affects virus propagation and what are the mutual effects of both pathogens on the embryo, welcome for understanding the mechanisms that influence embryo mortality.

Mycoplasma infections of cell lines that are widely used for various researches and represent useful models for analyzing numerous mechanisms (pharmacy, cosmetic industry, toxicology, ecology) are frequent and often unnoticed. We estimate that our data is important for the correct evaluation of results, acquired using cell lines. Human infections with human mycoplasmas are frequent especially in kindergartens, schools and hospitals and are often subclinical and underestimated in diagnostics. Results acquired from animal models show that mycoplasma-infected organisms can be much more susceptible for subsequent virus infection and that the effect of virus infection differs when mycoplasmas are additionally present in the host. Influence of mycoplasma infection on the course of HIV infection is known. Mycoplasma pneumoniae is a frequent pathogen in hospitals where infected individuals are susceptible for subsequent virus infections which significantly prolongs the time of staying in the hospital. Our results have special importance for understanding disease development following avian influenza virus H5N1 infection whose natural hosts are birds.

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 upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanju 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="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		EUR

projekta je znašala:		
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

Objava v reviji, ki je prva na področju (Leto2011:Faktor vpliva4.06; Uvrstitev1/145)

DUŠANIĆ, Daliborka, BENČINA, Dušan, OVEN, Irena, CIZELJ, Ivanka, BENČINA, Mojca, NARAT, Mojca. Mycoplasma synoviae induces upregulation of apoptotic genes, secretion of nitric oxide and appearance of an apoptotic phenotype in infected chicken chondrocytes. Veterinary research, 2012, vol. 43, no. 7, str. 1-14. <http://www.veterinaryresearch.org/content/pdf/1297-9716-43-7.pdf>, doi: 10.1186/1297-9716-43-7. [COBISS.SI-ID 3013768], [JCR, WoS do 6. 5. 2012: št. citatov (TC): 0, čistih citatov (CI): 0, normirano št. čistih citatov (NC): 0, Scopus do 5. 9. 2012: št. citatov (TC): 1, čistih citatov (CI): 0, normirano št. čistih citatov (NC): 0] kategorija: 1A1 (Z1, A'', A'); uvrstitev: SCI, Scopus, MBP; tipologijo je verificiral OSICN točke: 28.33, št. avtorjev: 6

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Mojca Narat

ŽIG

Kraj in datum:

Domžale,	13.3.2013
----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/11

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna 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.arrs.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 priložko/-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

54-C1-CE-78-BB-0E-6B-95-40-F1-79-9B-D0-AF-5D-AD-E4-9A-30-DF