

Oznaka poročila: ARRS-RPROG-ZP-2015/112



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	P4-0176
Naslov programa	Molekularna biotehnologija: od dinamike bioloških sistemov do aplikacij Molecular Biotechnology: from Dynamics of Biological Systems to Applications
Vodja programa	6628 Roman Jerala
Obseg raziskovalnih ur (vključno s povečanjem financiranja v letu 2014)	66100
Cenovni razred	D
Trajanje programa	01.2009 - 12.2014
Izvajalci raziskovalnega programa (javne raziskovalne organizacije - JRO in/ali RO s koncesijo)	104 Kemijski inštitut 311 Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.06 Biotehnologija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.04 Medicinska biotehnologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROGRAMA

2.Povzetek raziskovalnega programa¹

SLO

Program Molekularna biotehnologija je dosegel največje uspehe na področjih

molekularne imunologije ter sintezne biologije. Na področju raziskav naravne imunosti smo prispevali k razumevanju mehanizmov prepoznavanja patogenov in signalizaciji signalov za nevarnost preko Tollu-podobnih receptorjev in preko adapterskega proteina MyD88. Poleg razumevanja mehanizmov signalizacije smo prispevali tudi k terapiji vnetnih bolezni ter vloge vnetnih signalnih poti pri limfomu. Najpomembnejši dosežki so pojasnitev molekulskega mehanizma aktivacije receptorja TLR4/MD-2 preko LPS (Resman in sod., JBC 20109), uporaba himerni flagelin kot učinkovito cepivo proti infekciji z bakterijo *H.pylori* (Mori in sod., Vaccine 2012), vloga šaperona Unc93B1 za prepoznavanje izvencelične dvRNA preko TLR3 (Pohar is sod., JBC 2013), pojasnitev mehanizma delovanja antimalarikov pri avtoimunskih boleznih, (Kužnik in sod., J.Immunol 2011), mehanizem delovanja adapterskega proteina MyD88 ter priprava inhibitorjev signalne poti preko dimerizacije TIR domen MyD88 (Fekonja in sod, JBC 2012), vloga INT domene MyD88 (Avbelj in sod., J.Immunol. 2011) ter mehanizem konstitutivne aktivacije mutante MyD88 v limfomu (Avbelj in sod., Blood 2014).

Na področju sintezne biologije bili najpomembnejši preboji na biosintezi, izvedbe logičnih operacij v sesalskih celicah ter priprave novega tipa proteinskega zvitja. Biosintetske encime smo uredili preko fuzije z DNA-vezalnimi proteinskimi domenami ter linearnim zaporedjem vezalnih domen DNA s čemer smo izboljšali biosintezo treh biosintetskih poti (Conrado in sod., NuclAcidsRes 2012). DNA vezalne domene TAL smo uporabili za pripravo ortogonalnih genskih logičnih vrat NOR. Na osnovi več ortogonalnih NOR vrat smo pripravili vseh 16 dvovhodnih logičnih vrat v sesalskih celicah. Poglavitna prednost predstavljenega sistema je v možnosti priprave velikega števila ortogonalnih vrat s katerimi lahko pripravimo bolj kompleksna logična veza (Gaber in sod., Nat.Chem.Biol. 2014). Ta pristop smo nadgradili s pripravo bistabilnega genskega stikala na osnovi ortogonalnih TALE proteinov, kjer smo dosegli bistabilnost s pomočjo pozitivne povratne zanke ter kompeticijo med aktivatorji in represorji za isto vezavno mesto. Ta pristop obeta možnost priprave velikega števila ortogonalnih stikal, ki so pomembna za regulacijo ter kot biološke sponminske enote (Lebar in sod., Nat.Comm. 2014). Pomemben preboj na področju sintezne biologije in kemijske biologije je bila priprava novega tipa dizajniranih proteinov (Gradišar in sod., Nat.Chem.Biol. 2013). Na osnovi dimernih segmentov obvitih vijačnic smo pripravili polipeptidno verigo sestavljeno iz 12 segmentov obvitih vijačnic, ki tvorijo 6 ortogonalnih parov in ki se lahko sestavi v tetraeder. Na več različnih načinov smo pokazali uspešno tvorbo tetraedra in pravilno topologijo. Nov vzorec zvitja proteinov predstavlja začetek novega področja bionanomaterialov in ima lahko veliko načinov uporabe.

ANG

The most important achievements of the research program Molecular Biotechnology were in the fields of molecular immunology and synthetic biology. In the research of innate immunity, we contributed to the understanding of mechanisms of pathogen recognition and signaling danger signals via Toll-like receptors and via the adapter protein MyD88. In addition to understanding the mechanisms of signaling, we also contributed to the treatment of inflammatory diseases and on the role of inflammatory signaling pathways in the lymphoma. The most important achievements were elucidation of the molecular mechanism of activation of the receptor TLR4 / MD-2 via LPS (Resman et al., JBC 20109), the use of chimeric flagellin as an effective vaccine against the bacterium *H. pylori* (Mori et al., Vaccine 2012), the role of chaperone Unc93B1 to the recognition of extracellular dsRNA via TLR3 (Pohar is et al., JBC 2013), elucidation of the mechanism of action of antimalarials in autoimmune diseases (Kužnik et al., J. Immunol 2011), adapter protein MyD88 and the preparation of inhibitors of signaling pathways (Fekonja et al, JBC 2012), the role of INT domain MyD88 (Avbelj et al., J. Immunol. 2011), and the mechanism constitutive activation of mutants of MyD88 in lymphoma (Avbelj et al., Blood 2014). In the field of synthetic biology the most important breakthroughs were in the biosynthesis, design of logic operations in mammalian cells and design of a new type of protein folds. Biosynthetic enzymes were arranged through the fusion of DNA-binding

protein domains and the linear sequence of the DNA binding sites which improved the biosynthesis of three biosynthetic pathways (Conrado et al., NuclAcidsRes 2012). TALE DNA binding domains were used for the preparation of orthogonal genetic logic gate NOR and prepared all 16 two-input logic gates in mammalian cells. The main advantage of the presented system is the possibility of preparing a large number of orthogonal gates through for the design of complex logical functions (Gaber et al., Nat.Chem.Biol. 2014). This approach was upgraded to prepare bistable genetic switch based on orthogonal TALE proteins, where we achieved bistability by a positive feedback loop and competition between activators and repressors. This approach opens the prospects of preparing a large number of orthogonal switches, which are important for the regulation and as a memory units (Lebar et al., Nat.Comm. 2014). A major breakthrough in the field of synthetic biology and chemical biology was the preparation of a new type of modular designed protein folds (Gradišar et al., Nat.Chem.Biol. 2013). On the basis of orthogonal dimerizing coiled-coil segments we prepared a polypeptide chain consisting of 12 segments, which self- assembled into a nanoscale tetrahedron. This new paradigm of protein folding represents the foundation of a new field of modular bionanomaterials with many potential new features and uses.

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

Najpomembnejši rezultati raziskovalnega programa so bili s področja imunologije, sintezne biologije in raziskav prionskih proteinov.

Na področju imunologije smo se uveljavili z raziskavami mehanizmov naravne imunosti. Odkrili smo molekulski mehanizem aktivacije receptorja TLR4/MD-2 preko LPS, ki se je skladal z istočasno določeno kristalno strukturo kompleksa. Ugotovili smo, da ob vezavi lipida A na MD-2 ostane izpostavljen del hidrofobne acilne verige lipida A, katerega preko hidrofobne interakcije prepozna ektodomena TLR4 in sproži dimerizacijo (Resman in sod., JBC 20109). S področja aktivacije TLR4 smo sicer objavili 12 člankov v mednarodnih revijah, v katerih smo pojasnili prepoznavanje različnih kemotipov LPS in različnih bakterij. Raziskali smo mehanizem aktivacije TLR5 kjer smo določili stehiometrijo vezave flagelina na receptor 2:2 (Ivičak-Kocjan in sod., BBRC 2013) , ter uporabili himerni flagelin kot učinkovito cepivo proti infekciji z bakterijo *H.pylori* (Mori in sod., Vaccine 2012). Nadaljevali smo raziskave na endosomalnih TLR, ki prepoznavajo nukleinske kisline in odkrili dodatno vlogo šaperona Unc93B1 (Pohar in sod., JBC 2013) ter pojasnili mehanizem delovanja antimalarikov pri vnetnih boleznih, ki delujejo tako, da preprečijo vezavo nukleinskih kislin na receptorje TLR9, TLR7 in TLR3 (Kužnik in sod., J.Immunol 2011). Endosomalne TLR smo uspeli aktivirati preko sintetične spojine, kjer smo kombinirali vezavo na transferinski receptor za vnos v celice ter vezavo nukleinskih kislin (Smole in sod. Inn.Immun. 2013). V raziskavah mehanizma delovanja adapterskega proteina MyD88 smo pokazali, da je za aktivacijo signalne poti pomembna dimerizacija TIR domene MyD88, ki služi kot platforma za tvorbo Myddosomskega

kompleksa. Pripravili smo inhibitorje signalne poti preko dimerizacije TIR domen MyD88, ki so inhibirali vse testirane TLR (Fekonja in sod., JBC 2012), poleg tega pa smo izboljšali molekularni mehanizem Myddosoma, ker smo pokazali vlogo INT domene MyD88 ter pripravili peptidne inhibitorje, ki v celicah in v miših inhibirajo signalizacijo (Avbelj in sod., J.Immunol. 2011).

Na področju sintezne biologije smo zabeležili nekaj pomembnih prebojev, najprej s pripravo organizacije biosintetskih encimov preko fuzije z DNA-vezalnimi proteinskimi domenami ter linearnim zaporedjem vezalnih domen DNA (cinkovih prstov), s katerimi smo uspeli izboljšati biosintezo resveratrola ter v sodelovanju s sodelavci iz univerz Cornell ter Berkeley še dveh biosintetskih poti (Conrado in sod., NuclAcidsRes 2012).

V biosintezi primarnega metabolizma smo raziskovali vpliv skrajšanih oblik fosfofruktokinaze in pokazali izboljšanje produkcije nekaterih industrijsko pomembnih metabolitov (Papagioanni in sod., J.Biotech. 2013) Istočasno pa smo pokazali, da je modifikacija 6PFK pomembna tudi za metabolizem rakavih celic in potencialno pomembna tarča (Šmerc in sod., PlosONE 2011).

DNA vezalne domene TAL smo uporabili za pripravo ortogonalnih genskih logičnih vrat NOR, ki sodelovala v sesalskih celicah. Na osnovi več ortogonalnih NOR vrat smo nato pripravili vseh 16 dvovhodnih logičnih vrat v sesalskih celicah ter pokazali njihovo delovanje v HEK293 celicah. Izvedli smo tudi primer trovhodnih logičnih vrat kot primer kjer lahko usmerjamo zbor opravljanja logičnih operacij preko enega vhoda. Poglavitna prednost predstavljenega sistema je v možnosti priprave velikega števila ortogonalnih vrat s katerimi lahko pripravimo bolj kompleksna logična veza (Gaber in sod., Nat.Chem.Biol. 2014). Na področju sintezne biologije je zelo pomemben preboj priprava novega tipa dizajniranih proteinov. Na osnovi dimernih segmentov obvitih vijačnic smo pripravili polipeptidno verigo sestavljeno iz 12 segmentov obvitih vijačnic, ki tvorijo 6 ortogonalnih parov in ki se lahko sestavi v tetraeder. Na več različnih načinov smo pokazali uspešno tvorbo tetraedra in pravilno topologijo. Ta rezultat pomeni nov vzorec zvitja proteinov in predstavlja začetek novega področja bionanomaterialov, podobno kot DNA nanotehnologija, ki se je začela pred 30 leti. Priprava takšnih proteinskih struktur ima lahko veliko načinov uporabe in to odkritje je bilo zelo odmevno (Gradišar in sod., Nat.Chem.Biol. 2013).

V okviru programa smo dosegli veliko rezultatov na področju raziskav prionskih proteinov. Pripravili smo mutante prionskega proteina, ki je kovalentno povezan preko disulfidnih vezi med različnimi elementi sekundarne strukture. S tem inovativnim pristopom smo uspeli mapirati kateri elementi sekundarne strukture se med pretvorbo prionskega proteina ne spremenijo. Ugotovili smo, da je bistveno odprtje dveh poddomen, medtem ko znotraj njih ni večjih konformacijskih sprememb. Na osnovi teh rezultatov smo postavili model pretvorbe preko nastanka dimerov z izmenjanimi domenami (Hafner-Bratkovič in sod., JBC 2011). Analizirali smo kako različne oblike agregatov prionskega proteina aktivirajo naravni imunski odziv preko inflammasoma in ugotovili, da najmočnejše aktivira inflammasom

prionske fibrile in manj agregati in monomeri. Predlagali smo, da aktivacija mikroglije s prioni povzroči sproščanje IL-1 β , ki je toksičen za nevrone (Hafner-Bratkovič, Cell.Mol. Life Sci. 2012). V raziskavah prionskih proteinov smo sodelovali z raziskovalci iz U.Mass., U.Zurich; U.Bonn. Določili smo epitop monoklonskega protitelesa V5B2, ki specifično označi možgane obolelih za prenosljivimi spongiformnimi encefalopatijami (TSE). Ugotovili smo, da se protitelo veže na fragment prionskega proteina (PrP226*)(Kosmač in sod., 2011), ki se kopiči v možganih obolelih za TSE ter razvili hiter diagnostični test za njegovo detekcijo. Pripravili smo nova monoklonska protitelesa, ki specifično prepoznavajo različne epitope na prionskem proteinu in obogatili nabor protiteles za raziskave prionskega proteina ter za razvoj diagnostike TSE. Vzpostavili smo diagnostiko sumov na vCJB (varianta Creutzfeldt-Jakobove bolezni), ki se lahko prenaša s krvjo.

V okviru dodatnih aktivnosti smo izvedli nadgradnjo celične logike zgoraj opisanih NOR vrat (Gaber et al., NatChemBiol 2014). V tem primeru smo se lotili priprave genskega preklopnega stikala na osnovi dizajniranih TALE vezalnih proteinov. Ugotovili smo, da kombinacija dveh represorjev ne deluje zaradi nekooperativne vezave na DNA. To oviro smo zaobšli z dizajnom pozitivne povratne zanke ter tekmovanja za vezalno mesto med aktivatorjem in represorjem. S tako spremenjenim vezjem smo uspeli pokazati preklap med obema stanjema v sesalskih celicah pod vplivom dveh kemijskih signalov (objavljeno v Lebar in sod., Nature Communications 2014).

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

SLO

Planirana področja raziskav v naslednjem šestletnem obdobju so bila:

- a. molekularni mehanizmi naravne imunosti
- b. mehanizmi pretvorbe prionskega proteina
- c. posttranslacijska metabolična regulacija za biosintezo ter v patoloških procesih
- d. uporabna imunologija za diagnostiko in zdravljenje (v povezavi z a in b)

Na vseh področjih programa smo dosegli zastavljene cilje in jih v večini primerov pomembno presegli. To še posebej velja za področji naravne imunosti in sintezne biologije, ki sta zelo propulzivni in hitro razvijajoči se področji. Na teh področjih smo dosegli pomembne in v svetu odmevne preboje (glej najpomembnejše znanstvene in družbenoekonomske dosežke). Dosegli smo pomembne korake v razumevanju mehanizma delovanja receptorjev TLR4, TLR3, TLR9, TLR5, v precejšnji meri več kot smo predvidevali v predlogu projekta. Na področju sintezne biologije smo odprli področja, ki bodo zagotovo pomembna kot temeljna orodja sintezne biologije vendar bodo predvidoma vodila tudi v uporabo za reševanje pomembnih problemov. To velja predvsem za področje bionanomaterialov ter načrtovano regulacijo oz. opravljanje logičnih operacij v celicah. Nekateri dosežki s področja biosinteze bodo najbrž najhitreje uporabni za dejanske aplikacije v industriji.

Na področju raziskav prionskih proteinov smo dosegli pomembno odkritje s področja mehanizma pretvorbe prionskega proteina, z raziskavo delovanja različnih oblik prionskega proteina pa smo povezali raziskave prionskih proteinov s področjem imunologije. Na področju razvoja cepiv nove generacije

smo dosegli zastavljene cilje, saj smo dokazali, da lahko cepivo, ki v eni molekuli združuje antigen in adjuvans, veliko uspešneje vzpodbudi imunski odziv, kot »tradicionalno« cepivo, kjer sta antigen in adjuvans ločena. Uspehi programa so vidni v znanstvenih objavah v vodilnih znanstvenih revijah ter v številnih vabljenih predavanjih na znanstvenih srečanjih ter na univerzah v tujini.

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

SLO

Sestava programske skupine se je med izvajanjem programa dinamično spreminjala, z odhodi raziskovalcev v industrijo ter druge akademske inštitucije ter s prihodom novih članov. Vsebina programa se je prilagajala dosežkom znanosti v svetu v času od prijave programa, tako da lahko zaključimo, da nam je uspelo doseči znanstvene in tehnološke preboje, katerih si ob času prijave programa niti nismo mogli zamisliti.

6.Najpomembnejši znanstveni rezultati programske skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	5408026	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	<i>SLO</i>	Načrtovane DNAvezalne domene omogočajo sestavo logičnih vezij v sesalskih celicah
		<i>ANG</i>	Designable DNA-binding domains enable construction of logic circuits in mammalian cells
		<i>SLO</i>	Elektronska računalniška vezja, ki vsebujejo veliko število povezanih logičnih vrat istega tipa, kot so vrata NOR, lahko enostavno izdelamo, omogočajo pa izvajanje katerekoli logične operacije. V nasprotju z elektronskimi vezji moramo zaradi proste difuzije v celicah uporabiti ortogonalne genske regulatorne elemente. Kombinatorično raznolikost in ortogonalnost lahko zagotovimo z modularnimi DNA-vezalnimi domenami. Logična vezja smo sestavili na osnovi ortogonalnih NOR vrat, pri čemer smo uporabili represorje na osnovi TAL-efektorjev. Na osnovi kombinacij NOR vrat smo izvedli vseh 16 dvovhodnih logičnih operacij v človeških celicah HEK293 in pokazali, da po enakem principu lahko sestavimo tudi bolj zapleteno logično vezje. Ta dosežek demonstrira potencial modularnih transkripcijskih faktorjev za gradnjo kompleksnih bioloških naprav za obdelavo podatkov.
		<i>ANG</i>	Electronic computer circuits consisting of a large number of connected logic gates of the same type, such as NOR, can be easily fabricated and can implement any logic function. In contrast, designed genetic circuits must employ orthogonal information mediators owing to free diffusion within the cell. Combinatorial diversity and orthogonality can be provided by designable DNAbinding domains. Here, we employed the transcription activator-like repressors to optimize the construction of orthogonal functionally complete NOR gates to construct logic circuits. We used transient transfection to implement all 16 twoinput logic functions from combinations of the same type of NOR gates within mammalian cells. Additionally, we present a genetic logic circuit where one input is used to select between an AND and OR function to process the data input using the same circuit. This demonstrates the potential of designable modular transcription factors for the construction of complex biological informationprocessing

			devices.
	Objavljeno v		2005-; Nature chemical biology; 2014; Vol. 10, no. 3; str. 203-208; Impact Factor: 13.217; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A'': 1; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Gaber Rok, Lebar Tina, Majerle Andreja, Šter Branko, Dobnikar Andrej, Benčina Mojca, Jerala Roman
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	5222682	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Načrtovanje polipeptidnega tetraedra iz ene polipeptidne verige
		<i>ANG</i>	Design of a single-chain polypeptide tetrahedron assembled from coiled-coil segments
	Opis	<i>SLO</i>	Predstavili smo strategijo za oblikovanje polipeptidnih nanostrukturnih poliedrov, ki temelji na modularni uporabi ortogonalnih dimerizacijskih segmentov. Zasnovali smo in eksperimentalno dokazali tvorbo tetraedra, da se sam sestavi iz ene polipeptidne verige, ki vsebuje 12 segmentov za tvorbo ovitih vijačnic ločenih z gibljivimi peptidi. Pot polipeptidne verige preko robov tetraedra določa vrstni redu segmentov, kjer vsak od šestih robov tetraedra tvori dimer ovite vijačnice. Ta platforma predstavlja temelje za gradnjo novih topoloških polipeptidnih struktur, ki temeljijo na nizu ortogonalnih polipeptidnimi segmentov. Gre za pomemben preboj na področju sintezne biologije in članek je doživel izjemen odmev v revijah Nature, Science, Nature Chemical Biology...
		<i>ANG</i>	interactions, and it is still very challenging to design new protein folds de novo. Here we present a strategy to design selfassembling polypeptide nanostructured polyhedra based on modularization using orthogonal dimerizing segments. We designed and experimentally demonstrated the formation of the tetrahedron that selfassembles from a single polypeptide chain comprising 12 concatenated coiled coil-forming segments separated by flexible peptide hinges. The path of the polypeptide chain is guided by a defined order of segments that traverse each of the six edges of the tetrahedron exactly twice, forming coiledcoil dimers with their corresponding partners. The coincidence of the polypeptide termini in the same vertex is demonstrated by reconstituting a split fluorescent protein in the polypeptide with the correct tetrahedral topology. Polypeptides with a deleted or scrambled segment order fail to selfassemble correctly. This design platform provides a foundation for constructing new topological polypeptide folds based on the set of orthogonal interacting polypeptide segments. This is one of the milestones in synthetic biology, with comments in journals Nature, Science, Nature Chemical Biology...
	Objavljeno v		2005-; Nature chemical biology; 2013; Vol. 9, issue 6; str. 362-366; Impact Factor: 13.217; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A'': 1; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Gradišar Helena, Božič Abram Sabina, Doles Tibor, Vengust Damjan, Hafner Bratkovič Iva, Mertelj Alenka, Webb Ben, Šali Andrej, Klavžar Sandi, Jerala Roman
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	5564186	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Bistabilno gensko stikalo na osnovi načrtovanih DNA vezavnih domen
		<i>ANG</i>	A bistable genetic switch based on designable DNA-binding domains
			Bistabilna stikala so temeljni regulatorni elementi kompleksnih sistemov,

Opis	SLO	od elektronike do živih celic. Načrtovana genetska preklopna stikala so bila zgrajena iz parov naravnih transkripcijskih represorjev povezanih na tak način, da zavirata drug drugega. Kompleksnost inženirstva regulatornih vezij se lahko poveča z uporabo ortogonalnih regulatorjev transkripcije na osnovi DNA vezavnih domen. V tem delu smo se lotili priprave preklopnih stikal na osnovi ortogonalnih TAL regulatorjev. Osnovno preklopno stikalo na osnovi dveh represorjev, ki vsebuje domene TAL efektorjev, ni vzpostavilo bistabilnosti v sesalskih celicah, ker se TAL efektorji na DNA vežejo kot monomeri. Ta temeljni problem smo rešili z uvedbo pozitivne povratne zanke, sestavljene iz aktivatorja, ki temelji na istih vezavnih domenah kot represorji in tekmuje za isto operatorsko DNA mesto. Ta logična zasnova genskega vezja je vzpostavila nelinearnost in epigenetsko bistabilnost v človeških celičnih linijah. To načelo bo mogoče uporabiti za uporabo drugih monomernih DNA vezavnih domen, kot je sistem CRISPR, ter za uporabo za različne namene od reprogramiranja celic do izgradnje digitalnega biološkega spomina.	
	ANG	Bistable switches are fundamental regulatory elements of complex systems, ranging from electronics to living cells. Designed genetic toggle switches have been constructed from pairs of natural transcriptional repressors wired to inhibit one another. The complexity of the engineered regulatory circuits can be increased using orthogonal transcriptional regulators based on designed DNA-binding domains. However, a mutual repressor-based toggle switch comprising DNA-binding domains of transcription-activator-like effectors (TALEs) did not support bistability in mammalian cells. Here, the challenge of engineering a bistable switch based on monomeric DNA-binding domains is solved via the introduction of a positive feedback loop composed of activators based on the same TALE domains as their opposing repressors and competition for the same DNA operator site. This design introduces nonlinearity and results in epigenetic bistability. This principle could be used to employ other monomeric DNA-binding domains such as CRISPR for applications ranging from reprogramming cells to building digital biological memory.	
	Objavljeno v	Nature Publishing Group; Nature communications; 2014; Vol. 5; str. 1-13, 5007; Impact Factor: 10.742;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.663; A'': 1;A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Lebar Tina, Bezeljak Urban, Golob Anja, Jerala Miha, Kadunc Lucija, Pirš Boštjan, Stražar Martin, Vučko Dušan, Zupančič Uroš, Benčina Mojca, Forstnerič Vida, Gaber Rok, Lonžarič Jan, Majerle Andreja, Oblak Alja, Smole Anže, Jerala Roman	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	5607194	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Aktivacija mutante MyD88 povezane z limfomom preko oligomerizacije TUIR domene povzročene z alosterijo	
	ANG	Activation of lymphoma-associated MyD88 mutations via allostery-induced TIR domain oligomerization	
	Opis	SLO	MyD88 je ključni signalizacijski adapter TLR in interleukin - 1 receptorjev . Ponavljajoče mutacije povezane z limfomom, predvsem Leu265Pro (L265P) v TIR domeni MyD88 omogoči preživetje celic limfoma zaradi konstitutivne aktivacije NFκB transkripcijskega faktorja. Ugotovili smo, da mutacija domene TIR poveča oligomerizacijo in spontane tvorbe citosolnih agregatov Myddosome v celičnih linijah limfoma, podobno učinku dimerizacije domen TIR . Blokiranje MyD88 oligomerizacije inducira apoptozo. Domena L265P TIR lahko pritegne endogeni MyD88 za nastanek oligomera in hiperaktivnost. Simulacija molekulske dinamike in analiza dodatnih mutacij je pokazala, da je konstitutivno aktivacija posledica alosterične oligomerizacije.

5.			ANG	Myeloid differentiation 88 (MyD88) is the key signaling adapter of Toll-like and interleukin-1 receptors. Recurrent lymphoma-associated mutations, particularly Leu265Pro (L265P), within the MyD88 Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain sustain lymphoma cell survival due to constitutive nuclear factor κ B signaling. We found that mutated TIR domains displayed an intrinsic propensity for augmented oligomerization and spontaneous formation of cytosolic Myddosome aggregates in lymphoma cell lines, mimicking the effect of dimerized TIR domains. Blocking of MyD88 oligomerization induced apoptosis. The L265P TIR domain can recruit the endogenous wild-type MyD88 for oligomer formation and hyperactivity. Molecular dynamics simulations and analysis of additional mutations suggest that constitutive activity is caused by allosteric oligomerization.
	Objavljeno v			Grune and Stratton.; Blood; 2014; Vol. 124, iss. 26; str. 3896-3904; Impact Factor: 9.775; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.037; A'': 1; A': 1; WoS: MA; Avtorji / Authors: Avbelj Monika, Wolz Olaf-Oliver, Fekonja Ota, Benčina Mojca, Repič Matej, Mavri Janez, Krüger Jens, Schärfe Charlotta, Delmiro-Garcia Magno, Panter Gabriela, Kohlbacher Oliver, Weber Alexander N. R., Jerala Roman
	Tipologija			1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS ID		2971761	Vir: COBISS.SI
	Opis	Naslov	SLO	Pojasnitev mehanizma delovanja antimalarikov za zdravljenje vnetnih bolezni kot je revmatoidni artritis
			ANG	Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines
			SLO	Endosomalni TLR igrajo pomembno vlogo pri prirojenem imunskem odzivu kot tudi pri avtoimunskih boleznih. Za terapijo sistemskega lupusa eritematozusa že dolgo uporabljajo antimalarike klorokin, hidroksiklorokin in kinakrin. Njihovo inhibicijo aktivacije endosomskih TLR so pripisali inhibiciji endosomskega zakisanja, kar je pogoj za aktiviranje teh receptorjev. Ugotovili smo, da klorokin inhibira le aktivacijo endosomske TLR preko nukleinskih kislin, ker celo poveča aktivacijo TLR8 z malo sintetično spojino R848. Izmerili smo neposredno vezavo antimalarikov na nukleinske kisline, z uporabo spektroskopije in določili njihovo celično colocalization. Nadaljnja analiza je pokazala, da druge nukleinske kisline vezavo spojine, kot propidijevim jodidom, inhibira tudi aktiviranje endosomske TLR in colocalized nukleinske acidsto endosomov. Ugotovili smo, da imidazoquinolini, ki so agonisti TLR7/8, zavirajo aktivacijo TLR9 in TLR3 celo v odsotnosti TLR7 ali TLR8, in njihov mehanizem inhibicije je podoben delovanju antimalarikov. V nasprotju s bafilomycinom, nobeden od testiranih antimalariki in imidazoquinolinov ne inhibira endosomske proteolize ali povečala endosomskega pH, kar potrjuje, da zaviranje pH kisanja ni vzrok za inhibicijo. Sklepamo, da direktna vezava inhibitorjev na nukleinske kisline prekrije njihov TLR vezavni epitop kar lahko pojasni učinkovitost teh spojin pri zdravljenju avtoimunskih bolezni. Članek je bil od objave citiran že več kot 100 krat.
			ANG	Endosomal TLRs play an important role in innate immune response as well as in autoimmune processes. In the therapy of systemic lupus erythematosus, antimalarial drugs chloroquine, hydroxychloroquine, and quinacrine have been used for a long time. Their suppression of endosomal TLR activation has been attributed to the inhibition of endosomal acidification, which is a prerequisite for the activation of these receptors. We discovered that chloroquine inhibits only activation of endosomal TLRs by nucleic acids, whereas it augments activation of TLR8 by a small synthetic compound, R848. We detected direct binding of antimalarials to nucleic acids by spectroscopic experiments and determined their cellular colocalization. Further analysis revealed that other nucleic acid-binding

		compounds, such as propidium iodide, also inhibited activation of endosomal TLRs and colocalized with nucleic acids to endosomes. We found that imidazoquinolines, which are TLR7/8 agonists, inhibit TLR9 and TLR3 even in the absence of TLR7 or TLR8, and their mechanism of inhibition is similar to the antimalarials. In contrast to bafilomycin, none of the tested antimalarials and imidazoquinolines inhibited endosomal proteolysis or increased the endosomal pH, confirming that inhibition of pH acidification is not the underlying cause of inhibition. We conclude that the direct binding of inhibitors to nucleic acids mask their TLR-binding epitope and may explain the efficiency of those compounds in the treatment of autoimmune diseases.
Objavljeno v		Williams & Wilkins; The journal of immunology; 2011; Vol. 186, no. 8; str. 4794-8408; Impact Factor: 5.788; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.167; A': 1; WoS: NI; Avtorji / Authors: Kužnik Alenka, Benčina Mojca, Švajger Urban, Jeras Matjaž, Rozman Blaž, Jerala Roman
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati programske skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	4330266	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Zoisova nagrada za vrhunske znanstvene dosežke na področju molekularne biologije in biotehnologije
		ANG	Awards for scientific achievements Medal for services awarded by the President of Slovenia, Zois award for scientific achievements for 2009
	Opis	SLO	Vodja raziskovalnega programa je prejel najvišje državno priznanje za Predsednik republike Slovenije v letu 2014 podelil Medaljo za zasluge za dosežke na visokošolskem izobraževanju in za znanstvene dosežke, kar je redko priznanje za znanstvenike.
		ANG	Leader of the program receive the highest national award for scientific achievements, Zois award in 2009. In 2014 he received the Medal for services by the president of the Republic of Slovenia, which is very seldom awarded to scientists.
	Šifra	E.01	Domače nagrade
	Objavljeno v	Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo Republike Slovenije; 2009; Avtorji / Authors: Jerala Roman	
	Tipologija	3.25	Druga izvedena dela
2.	COBISS ID	4757018	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Mednarodne nagrade na mednarodnem tekmovanju iz sintezne biologije iGEM v letih 2008-2012
		ANG	Awards received at the iGEM international competition in years 2008-2012
	Opis	SLO	Ekipe študentov Univerze v Ljubljani so pod vodstvom in mentorstvom članov programske skupine dosegle velike uspehe na tekmovanju raziskovalnih projektov iz sintezne biologije iGEM v letih 2009-2012. Slovenske ekipe so na tem tekmovanju 3x zmagale, 1krat osvojile drugo mesto v generalni razvrstitvi, 5x so se uvrstili med finaliste, 4x zmagale na posameznih področjih in osvojile vrsto drugih nagrad, kar jih postavlja kot daleč najbolj uspešno ekipo v zgodovini tekmovanja, kjer sodelujejo najuglednejše svetovne univerze iz vseh celin sveta.

			Uspehi na tem tekmovanju so izjemno cenjeni na področju sintezne biologije in projekti slovenskih ekip so bili osnova za odpiranje novih raziskav v programski skupini, hkrati pa so služili za usposabljanje mladih raziskovalcev, ki so v večini nadaljevali usposabljanje v doktoratu v Sloveniji ali na najboljših univerzah po svetu (Rockefeller, Harvard, UCSF, ETH..).
		ANG	Teams of students of the University of Ljubljana, under the direction and supervision of the members of the program group achieved great success in the competition of research projects in synthetic biology iGEM in 2009/2012. Slovenian teams that won this competition 3 times, 1 time they won the second place in the general classification, 5x they were finalists, 4x won in tracks and won several other awards, placing them as by far the most successful team in the history of this competition, which involved the world's most prestigious universities from all continents of the world. Success in this contest are extremely appreciated in the field of synthetic biology projects and were the basis for the creation of new research directions in the program group, while they served for the training of young researchers, most of which continued the doctoral training in Slovenia or in the best universities around the world (Rockefeller, Harvard, UCSF, ETH ..).
	Šifra	E.02 Mednarodne nagrade	
	Objavljeno v	2010; Avtorji / Authors: Ilc Tina, Lebar Tina, Stošički Tjaša, Tomšič Nejc, Turnšek Jernej, Žnidarič Matej, Bordon Jure, Češnovar Rok, Petroni Mattia, Pustoslemšek Rok	
	Tipologija	3.25 Druga izvedena dela	
3.	COBISS ID	5380890	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Vabljen predavanja na mednarodnih znanstvenih konferencah in univerzah
		ANG	Invited lectures at international conferences and universities
	Opis	SLO	Vodja programa je imel številna vabljen priznanja na svetovnih znanstvenih srečanjih s področja imunologije in sintezne biologije. Leta 2013 je imel predavanje na 15.svetovnem kongresu imunologije v Mailanu, na svetovnem kongresu sintezne biologije SB6.0 v Londonu, na Gordonski Raziskovalni Konferenci o peptidiv v Venturi, CA. Prof. Jerala je tudi predaval na univerzah v tujini v doma, kot so Univerza Harvard (Wyss institute), UCLA, Univerza na Dunaju, Univ. Osaka, Tokio, Bristol, Trondheim, Cambridge...
		ANG	Program leader had numerous invited lectures at world conferences in immunology and synthetic biology, such as the 15th international congress in immunology in Milan and world conference in synthetic biology SB6.0 in London in 2013 and Gordon Research Conference on peptides in ventura, CA. prof. Jerala also had invited lectures at universities abroad and in Slovenia, including Harvard university (Wyss institute), UCLA, Univ. Vienna, Osaka, Tokyo, Bristol, Trondheim, Cambridge...
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
	Objavljeno v	Wiss institute; 2013; Avtorji / Authors: Jerala Roman	
	Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi	
4.	COBISS ID	35592197	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Patentirani izumi s področja biotehnologije
		ANG	Patented inventions from the field of biotechnology

	Opis	SLO	Člani programske skupine so rezultate znanstvenih izumov zaščitili v obliki 10 patentnih prijav od nacionalnih do ameriških patentov (2 podeljena patenta). Med zaščitnimi dosežki programa so priprava novega tipa bionanomaterialov, inhibitornih proteinskih domen za vnetne procese, peptidnih inhibitorjev vnetja, modifikacije biosintetske poti za uporabo v biotehnologiji.	
		ANG	Members of the research program protected results of their research in form of 10 patents and patent applications from national to US patents (2 awarded US patents). Among the protected achievements we can list preparation of new type of bionanomaterials, inhibitory protein domains for inflammatory processes, peptide inhibitors of inflammation, modifications of the biosynthetic pathways for the application in biotechnology.	
	Šifra		F.32	Mednarodni patent
	Objavljeno v		Urad RS za intelektualno lastnino; 2011; 56 str.; Avtorji / Authors: Jerala Roman, Gradišar Helena, Božič Abram Sabina, Doles Tibor	
	Tipologija		2.23	Patentna prijava
5.	COBISS ID		4187930	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Promocija znanosti v družbi	
		ANG	Promotion of science in the society	
	Opis	SLO	Člani programske skupine so imeli več deset intervjujev in prispevkov za TV, radio, časopise in revije, tako domače kot mednarodne (npr. New York Times, Corriere della Serra, Deutsche welle) v katerih so promovirali dosežke programa in slovensko znanost. Vodja programa je bil član uredniškega odbora revije ACS Synthetic biology ter član več mednarodnih strokovnih odborov in združenj IEIIS, ERANET Synthetic Biology in član sodniškega odbora iGEM.	
		ANG	Members of the progra group had tend of interviews and contributions for media including TV, radio, daily journals and web pages, including domestic and international (e.g. New York Times, Corriere della Serra, Deutsche welle), where they promoted scientific achievements of the program group and slovenian science. Program leader was member of several international scientific boards, such as the Advisory editorial board of ACS Synthetic biology, IEIIS and Scientific advisory board of ERANET Synthetic biology, judging committee of the iGEM.	
	Šifra		C.06	Članstvo v uredniškem odboru
	Objavljeno v		Radio Slovenija, III. program, program Ars; 2009; 30 min.; Avtorji / Authors: Jerala Roman	
	Tipologija		3.11	Radijski ali TV dogodek

8. Drugi pomembni rezultati programske skupine²

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov programske skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti²

SLO

Člani programske skupine so pomembno sooblikovali razvoj sintezne biologije v svetu v zadnjem času. Koncept, ki so ga vpeljali je načrtovana modularnost, kar pomeni uporabo domen, ki se lahko pripravijo v številnih variantah, s pomočjo katerih lahko pripravimo nove

modularne strukture ali uvedemo celično logiko. Tovrstni modularni gradbeni elementi so dimerne obвите vijčnice za pripravo novih tipov proteinskega zvitja katerega definira topologija, kar je najbrž najbolj izvirni prispevek te skupine k znanosti v zadnjem obdobju. Priprava proteinskega tetraedra je doživela izjemen odmev v znanstveni skupnosti. Druga skupina modularnih gradnikov so DNA vezalni proteini na osnovi TALE domen, s pomočjo katerih smo pripravili ortogonalna NOR vrata ter bistabilno gensko stikalo. Dodatno lahko izpostavimo prispevke k dizajnu biosintetskega ogrodka na osnovi DNA in DNA vezalnih domen, ki je izboljšala produkcijo treh reakcij in bila deležna posnemanja.

ANG

Achievements of the program Molecular Biotechnology represent an important contribution of science in understanding the molecular mechanism of innate immunity signaling, which advanced significantly in the last decade. In addition to understanding the basic mechanisms of recognition and signaling the results are relevant for a wide range of pathological phenomena from infections, chronic inflammation to cancer and for understanding and improving the treatment of these diseases.

Members of the program group significantly shaped the development of synthetic biology in the world in recent times. The group introduced a concept of designable modularity, which means the use of protein domains that can be prepared in a number of variants, with the help of which one can make a new modular structures or introduce the cell logic. Such modular building components are coiled-coil dimers for the preparation of new types of protein folding process which defines the topology, which is probably the most original contribution of this group to science in the last period. Preparation of protein tetrahedron experienced a remarkable recognition in the scientific community. The second group of modular building blocks are DNA binding proteins based on TALE domains, which enabled preparation of orthogonal NOR gates and bistable gene switch. Additionally, we can highlight the design of biosynthesis frame on the substance of DNA and DNA binding domain which improved the production of three reactions and has been followed by other scientists.

9.2.Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Program Molekularna biotehnologija je pomemben za Slovenijo ker se uvršča med vodilne skupine na področju raziskav naravne imunosti in sintezne biologije. Program omogoča stik s svetovnim vrhom na teh dveh področjih, ki sta pomembni tudi za zdravje ter kot vedno bolj pomembno tehnološko področje. Pomembna je vloga programske skupine za šolanje usposobljenih raziskovalcev, ki so sposobni reševati zahtevne znanstvene ter razvojne probleme. Uspehi skupine na področju znanost ter visokošolskega izobraževanja ter intenzivna mednarodna vpetost pomenijo promocijo Slovenije kot razvite države ter pomembnega partnerja. Sodelovanje s podjetji na področju visoke tehnologije omogoča prenos znanstvenih dosežkov v industrijsko uporabo s partnerji v Sloveniji ali po svetu. Skupina je pomembna tudi za promocijo znanosti kot ključnega dejavnika uspešnega razvoja ter del intelektualne identitete v Sloveniji na nivojih od srednješolcev, njihovih mentorjev, študentov, raziskovalcev, politike ter širše javnosti.

ANG

Research program Molecular Biotechnology is important for Slovenia because it is among the leading groups in research of innate immunity and synthetic biology. The program allows contact with the cutting edge science on these two areas, which are important for health as well as the increasingly important for the technology. The program group has the important role in training qualified researchers who are able to solve complex scientific and developmental problems. The success of the group in the field of science and higher education and intensive international involvement are important for the promotion of Slovenia as a developed country and an important partner. Cooperation with companies in the field of high technology allows the transfer of scientific advances in industrial applications with partners in Slovenia and around the world. The group is also important for the promotion of science as a key factor in the successful development and part of the intellectual identity in Slovenia at the level of secondary school students, their mentors, students, researchers, politicians and the general public.

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	12
bolonjski program - II. stopnja	4
univerzitetni (stari) program	31

10.2. Magisterij znanosti in doktorat znanosti¹³

Šifra raziskovalca	Ime in priimek	Mag.	Dr.	MR	
25973	Simon Koren	☐	☒	☒	
25730	Anja Colja Venturini	☐	☒	☒	
28420	Miha Kosmač	☐	☒	☒	
29085	Sendi Montanič	☐	☒	☒	
26500	Nina Pirher	☐	☒	☒	
32114	Jerneja Mori	☐	☒	☒	
25485	Mireille Treeby	☐	☒	☒	
30848	Ota Fekonja	☐	☒	☒	
32113	Jelka Pohar	☐	☒	☒	
28881	Karolina Ivičak Kocjan	☐	☒	☒	
28558	Jernej Gašperšič	☐	☒	☒	
29495	Monika Avbelj	☐	☒	☒	
26501	Nuša Resman	☐	☒	☒	
29494	Alenka Kužnik Krajnik	☐	☒	☒	
26163	Gabriela Panter	☐	☒	☒	
25835	Tanja Bagar	☐	☒	☐	
26515	Aleksandra Usenik	☐	☒	☐	
29490	Andreja Šmerc	☒	☐	☐	
29065	Matevž Avbelj	☐	☒	☐	
28563	Mojca Zelnikar	☒	☐	☒	
36426	Anja Golob	☒	☐	☐	
28273	Jana Rozman	☒	☐	☐	
20182	Katja Trontelj	☐	☒	☐	

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	

26500	Nina Pirher	☐	☒	C - Gospodarstvo	
32114	Jerneja Mori	☐	☒	C - Gospodarstvo	
25485	Mireille Treeby	☐	☒	C - Gospodarstvo	
30848	Ota Fekonja	☐	☒	C - Gospodarstvo	
32113	Jelka Pohar	☐	☒	A - raziskovalni zavodi	
28881	Karolina Ivičak Kocjan	☐	☒	A - raziskovalni zavodi	
28558	Jernej Gašperšič	☐	☒	C - Gospodarstvo	
29495	Monika Avbelj	☐	☒	A - raziskovalni zavodi	
26501	Nuša Resman	☐	☒	C - Gospodarstvo	
29494	Alenka Kužnik Krajnik	☐	☒	C - Gospodarstvo	
26163	Gabriela Panter	☐	☒	A - raziskovalni zavodi	
25835	Tanja Bagar	☐	☒	C - Gospodarstvo	
26515	Aleksandra Usenik	☐	☒	A - raziskovalni zavodi	
29490	Andreja Šmerc	☒	☐	B - Družbene dejavnosti	
29085	Sendi Montanič	☐	☒	C - Gospodarstvo	
25973	Simon Koren	☐	☒	C - Gospodarstvo	
28420	Miha Kosmač	☐	☒	E - Tujina	
25730	Anja Colja Venturini	☐	☒	C - Gospodarstvo	

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	Mari Valkonen	D - podoktorand	2	
0	Flaviana Di Lorenzo	C - študent – doktorand	2	
0	Stefania Sestito	C - študent – doktorand	2	
0	Michela Terdoslavich	D - podoktorand	2	
0	Olga Janouskova	D - podoktorand	2	
0	Eva Dvorakova	D - podoktorand	2	

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

V okviru programa se je izvajal Marie Curie reintegration grant projekt 249285 , ki sta ga vodila dr. Tomaž Koprivnjak in dr. Roman Jerala.

Odobren je bil Marie Sklodowska Curie ITN projekt Tollerant, v okviru katerega bomo usposabljali 2 doktoranta.

ERANET SynBio (2014-2016) koordinator prof. Jerala, partnerji Dek Woolfson (Bristol), Turberfield (Oxford), Dietz(TU Muenchen), Pisanski (FMF UL), Kosuri (UCLA), Baker (U.Wash., Seattle).

Bilateralni projekti:

ZDA, University of Iowa, prof. Jerrold Weiss

ZDA, Harvard University, prof. Jonathan Kagan

Japonska, prof. Shizuo Akira

Japonska, prof. Kensuke Miyake, Univ. Tokyo

Norveška, prof. Terje Espevik, NTNU, Trondheim

Bilateralni projekt med Republiko Slovenijo in Češko Republiko BI-CZ/10-11-010: Razvoj in uporaba monoklonskih protiteles za detekcijo patološke in celične oblike prionskega proteina v celičnih kulturah in krvi; nosilka projekta v Sloveniji: Vladka Čurin Šerbec

Interregijski projekt Trans2Care: Transregionalno omrežje za inovacijo in prenos tehnološkega znanja za izboljšanje zdravstva; koordinatorka na Zavodu RS za transfuzijsko medicino: Vladka Čurin Šerbec

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

SLO

The program implemented Marie Curie reintegration 249,285 grant project, led by Dr. Thomas Koprivnjak and dr. Roman Jerala.

Marie Sklodowska Curie ITN project Tollerant has been approved, which will enable

training of 2 PhD students.

ERANET SynBio (2014-2016) coordinator prof. Jerala, partners Woolfson (Bristol), Turberfield (Oxford), Dietz (TU Muenchen), Pisanski (FMF UL), Kosuri (UCLA), Baker (U.Wash., Seattle).

Interregional project Trans2Care: Transregional Network for Innovation and Technology Transfer to Improve Health Care; coordinator on Blood Transfusion Centre of Slovenia: Vladka Čurin Šerbec

Bilateral projects:

ZDA, University of Iowa, prof. Jerrold Weiss

ZDA, Harvard University, prof. Jonathan Kagan

Japan, prof. Shizuo Akira

Japan, prof. Kensuke Miyake, Univ. Tokyo

Norway, prof. Terje Espevik, NTNU, Trondheim

Bilateral project between Slovenia and Czech Republic BI-CZ/10-11-010: Development and utilization of anti-prion monoclonal antibodies for detection of PrP^{Sc}/PrP^C in cell cultures and blood; principal investigator in Slovenia: Vladka Čurin Šerbec

15. Ocena tehnološke zrelosti rezultatov raziskovalnega programa in možnosti za njihovo implementacijo v praksi (točka ni namenjena raziskovalnim programom s področij humanističnih ved)¹²

SLO

Večina dosežkov sega od stopnje tehnološke zrelosti 1 do 4, to je od demonstracije principa delovanja do validacije delovanja na laboratorijskem merilu. Protitelesa in klinične teste smo razvili skladno s kakovostnimi standardi in se že uporabljajo v praksi, kar pomeni stopnjo tehnološke zrelosti 9.

Terapevtsko uporabo inhibitorjev signalne poti ter cepiv smo testirali na živalskih modelih. Delovanje izboljšanja izkoristka biosinteze smo testirali na fermentaciji v laboratorijskem merilu (TRL4).

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	☒ DA ☐ NE
potrebni finančni vložek	1.500.000 EUR

ocena potrebne infrastrukture in opreme¹⁸

Oprema za laboratorij za molekularno biologijo ter celično biologijo

17. Izjemni dosežek v letu 2014¹⁹**17.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Celice so kompleksni sistemi, ki sprejemajo signale iz okolja ter znotrajceličnih procesov ter jih obdelujejo na osnovi programa katerega samo deloma razumemo. Po drugi strani pa želimo uporabiti biološke sisteme za različne namene od medicine do produkcije različnih spojin in materialov. V tem primeru želimo, da se biološki sistemi odzivajo predvidljivo in zanesljivo v skladu z našimi zahtevami, podobno kot elektronski računalniki. Za ta namen smo pripravili zasnovo digitalne logike za sesalske celice na osnovi proteinov TALE, ki se vežejo na izbrano zaporedje DNA. Tovrstne proteine lahko pripravimo v milijardah različic, kar nam omogoča pripravo neodvisnih transkripcijskih faktorjev. Na tej osnovi smo pripravili logična NOR vrata, katerih kombinacija omogoča izvedbo katerekoli logične operacije. Ta princip smo demonstrirali na pripravi vseh 16 dvo-vhodnih logičnih operacij v človeških HEK293 celicah, kar pomeni osnovo za kompleksno uravnavanje celičnega delovanja.

17.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Dosežki raziskovalnega programa Molekularna biotehnologija so bili zelo odmevni v svetu in na njihovi osnovi so imeli sodelavci okrog 20 predavanj po svetu. V to sta vključeni tudi vabljeni predavanja na dveh prestižnih Gordonskih konferencah v ZDA, na konferenci FNANO, EMBO PhD simpoziju, na konferenci Japonskega združenja za molekularno biologijo v Yokohami z več kot 10,000 udeleženci, ter na več univerzah od ZDA (UCLA), Nemčije (MPI) do Japonske (Tokyo university Medical school ter Tokyo Tech).

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):*

in

vodja raziskovalnega programa:

Kemijski inštitut

Roman Jerala

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

16.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROG-ZP-2015/112

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](#)

Obrazec: ARRS-RPROG-ZP/2015 v1.00b

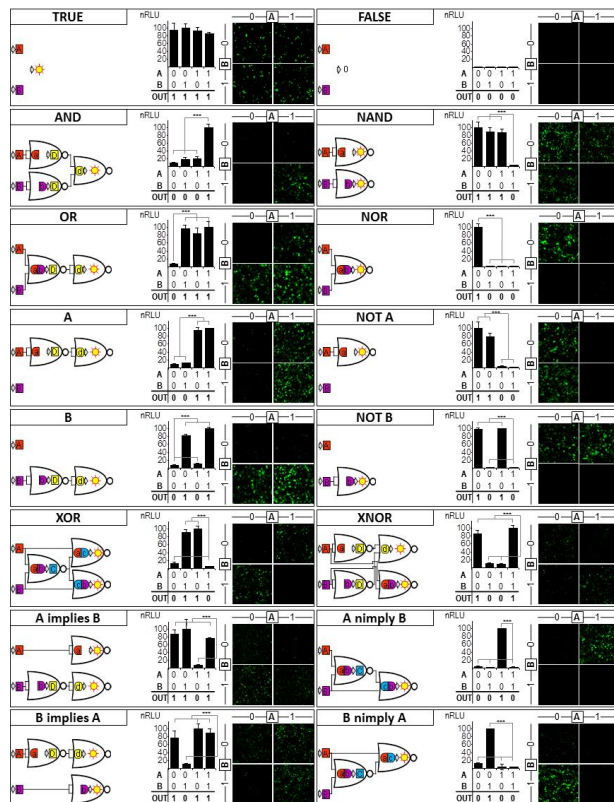
9F-31-8A-FF-5B-8E-EB-FC-42-BF-BB-62-F7-5C-3D-39-17-5C-00-02

Priloga 1

VEDA

Področje: 4.06 Biotehnologija

Dosežek 1: Logične operacije v sesalskih celicah Vir: Nature Chemical Biology, 2014 Gaber in sod.



Celice so najbolj kompleksni sistemi kar jih poznamo. Celice sprejemajo številne signale iz okolja ter znotrajceličnih procesov ter jih procesirajo na osnovi programa katerega načrt samo deloma razumemo. Po drugi strani pa želimo uporabiti biološke sisteme za različne namene na področjih od medicine do produkcije različnih spojin in materialov. V tem primeru želimo, da se biološki sistemi odzivajo predvidljivo in zanesljivo, tako kot elektronski računalniki v skladu z našimi zahtevami. Za ta namen smo pripravili zasnovano digitalne logike za sesalske celice na osnovi proteinov TALE, ki se vežejo na izbrano zaporedje DNA. Tovrstne proteine lahko pripravimo v milijardah različic, kar nam omogoča pripravo transkripcijskih faktorjev, ki delujejo neodvisno od eden od drugega. Na tej osnovi smo pripravili logična NOR vrata, katerih kombinacija omogoča izvedbo katerekoli logične operacije. Ta princip smo demonstrirali na pripravi vseh 16 dvo-vhodnih logičnih operacij v človeških HEK293 celicah, kar pomeni osnovo za kompleksno uravnavanje celičnega delovanja.