

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/164

## ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J1-9793
<b>Naslov projekta</b>	Peptidi za preprečevanje odziva na bakterijski endotoksin
<b>Vodja projekta</b>	12060 Primož Pristovšek
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	2.835
<b>Cenovni razred</b>	D
<b>Trajanje projekta</b>	01.2007 - 12.2009
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	104 Kemijski inštitut
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)

#### 2. Sofinancerji<sup>1</sup>

1.	Naziv	
	Naslov	
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta<sup>2</sup>

Pri projektu smo zastavili dve vzporedni strategiji k pripravi peptidnih učinkovin, ki inhibirajo odziv na endotoksin (LPS).

Pri prvi strategiji smo nevtralizirali LPS s pomočjo peptidov, ki neposredno vežejo LPS. Izhajali smo iz primarnih aminokislinskih sekvenc fragmentov proteinov, ki vežejo LPS, oz. iz naravnih peptidov, ki vežejo LPS. Strukturo vezanih peptidov smo eksperimentalno ugotavljali s konformacijsko analizo v mešanici z LPS na

osnovi transferred NOE efekta, ki se pojavi v pogojih hitre izmenjave med vezanim in nevezanim stanjem. Za računanje molekularnih modelov kompleksov peptidov in LPS smo izpopolnili protokol z uporabo specializiranega programa za računalniško prileganje (docking) AutoDock. Interakcijsko mapo smo uporabili za načrtovanje točkovnih sprememb v primarni sekvenci peptidov, ki poveča energijo interakcije.

Pri delu smo uporabljali tudi interakcije med lipidi in proteini (n.p. MD-2 in lipid A oziroma eritoran) ter proteini in taksani (paclitaxel in docetaxel). Pokazali smo, da se taksani vežejo na MD-2, protein, ki sodeluje pri signaliziranju endotoksina preko TLR4 receptorjev, in s tem posledično zavirajo signalizacijo LPS. Pokazali smo tudi najverjetnejši način vezave različnih taksanov (paclitaxela in docetaxela) in ga primerjali z načinom vezave lipidov.

Pri razkrivanju molekularnega mehanizma aktivacije TLR4 smo pokazali bistven pomen hidrofobnih ostankov tako pri MD-2 kot pri TLR-4. Kompleks TLR4/MD2 prepozna bakterijski endotoksin – LPS in je udeležen tudi pri številnih drugih vnetnih boleznih. Stimulacija TLR4/MD-2 vpliva na regulacijo več kot 1000 drugih genov in do lanskega leta še nismo vedeli kakšen je molekularni mehanizem prepoznavanja lipida A, ki je minimalni del LPS, ki podpira aktivacijo. Na osnovi serije mutant humanega MD-2 ter TLR4 smo postavili model aktivacije, po kateri na ektodomenu TLR4 obstaja sekundarno vezalno mesto, ki prepozna MD-2 v kompleksu z LPS, pri čemer se acilna veriga agonista izpostavi topilo ter prispeva k hidrofobni interakciji. Omenjen model predstavlja novo paradigmo prepoznavanja in je pomemben za načrtovanje novih inhibitorjev ter aktivacije TLR4. Hipotezo smo potrdili s serijo mutant MD-2 ter mutant ektodomene TLR4. Z njimi smo ugotovili pomen aminokislin na »alifatski zanki« MD-2, ki neposredno vežejo acilno verigo lipida A ter pomen aminokislin F440 in F446, ki tvorita sekundarno vezalno mesto TLR4, ki prepozna kompleks MD-2 z vezanim lipidom A. Tako hidrofobna interakcija predstavlja najpomembnejši prispevek v prepoznavanju LPS in preko nje lahko razložimo razlike v aktivnosti med različnimi kemotipi LPS.

Pri drugi strategiji smo poskušali inhibirati signalizacijo receptorja TLR4 s peptidi, ki so fragmenti transmembranskega segmenta TLR4 in preprečijo njegovo dimerizacijo. Vzpostavljen je sistem detekcije interakcij med transmembranskimi segmenti TLR v bakterijah. Tako smo lahko pokazali, da TM segment TLR4 dimerizira. Z mutacijami smo ugotavljali, katere aminokisliline so odgovorne za to interakcijo.

Odkrili smo, da transmembranski segment Tollu-podobnih receptorjev interagira v celični membrane in pripomore k aktivaciji receptorja. Mehanizem aktivacije receptorskega kompleksa TLR4/MD-2 preko vezave bakterijskega endotoksina (LPS) smo modelirali in potrdili z eksperimenti. Kljub temu pa pri aktivaciji pomembno vlogo igra fleksibilnost med posameznimi kompaktnimi domenami. Ugotovili smo, da je meja med ektodomeno in transmembransko domeno precej rigidna in njeno podaljšanje oz. povečanje gibljivosti zmanjša aktivacijo, medtem ko meja med transmembransko domeno in citosolno TIR domeno ni tako pomembna in receptor ohrani aktivacijo kljub vstavitvi povezovalnega peptidnega segmenta. Transmembranski segment je zelo težko raziskovati z metodami visoke ločljivosti, vendar smo s pomočjo modeliranja ter uporabe sintetičnih peptidov ugotovili, da interakcija med transmembranskimi segmenti lahko vpliva na aktivacijo in predstavlja nov tip inhibitorjev (patentna vloga v pripravi).

Ugotovili smo, da vloga omenjena transmembranskega segmenta ni omejena samo na TLR4 ampak smo jo zaznali tudi pri drugih TLR, kjer transmembranski segment določa celično lokalizacijo proteina. Tako smo izmerili inhibicijo TLR9, ki zaznava nemetilirano enoverižno DNA s pomočjo transmembranskega

peptidnega segmenta istega receptorja, kjer pa smo dodali šest lizinskih preostankov za povečanje topnosti in možno terapevtsko uporabo.

Odkrili smo, da peptidni segment INT domene, katerega lahko vnesemo v celice učinkovito inhibira aktivacijo več TLR ter konstitutivno aktiven MyD88. INT domeno smo izbrali na osnovi modeliranja kompleksa med ITAK4 ter MyD88 na osnovi kompleksa Pelle-Tube vinske mušice. Peptid smo vnesli v celice z dodatkom penetratinskega segmenta, pa tudi z acilacijo, kar je novost za inhibicijo znotrajcelične signalizacije. Nov tip peptidnih inhibitorjev na osnovi INT domene MyD88 je učinkovito inhibiral aktivacijo primarnih celic preko TLR. Ta tip peptidov smo zaščitili z mednarodno patentno prijavo. Pokazali smo, da ti peptidi niso toksični, trenutno pa potekajo raziskave na živalskim modelik, kjer bomo testirali inhibicijo vnetja preko aktivacije TLR4 z LPS ter aktivacijo TLR7, ki je pomemben receptor pri razvoju avtoimunih obolenj, kot je n.p. revmatoidni artritis.

#### 4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>

Realizacija projekta je potekala po načrtu in se razširila v dodatne smeri raziskav. Naša skupina ostaja vodilna na svetu na področju strukturnih raziskav peptidov, ki vežejo oz. inhibirajo LPS.

#### 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta<sup>4</sup>

--

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

Znanstveni rezultat		
1.	Naslov	SLO Taksani inhibirajo signaliziranje človeškega TLR4 preko vezave na MD-2
		ANG Taxanes inhibit human TLR4 signaling by binding to MD-2
	Opis	SLO MD-2 je protein, ki sodeluje pri signaliziranju endotoksina preko TLR4 receptorjev. V tem članku smo pokazali, da se taksani vežejo na MD-2 in s tem posledično zavirajo signalizacijo LPS. Pokazali smo tudi najverjetnejši način vezave različnih taksanov (paclitaxela in docetaxela) in ga primerjali z načinom vezave lipidov.
		ANG MD-2 is a soluble protein involved in endotoxin (LPS) signalling via the TLR4 receptor. In this paper we showed that taxanes (paclitaxela and docetaxela) bind MD-2 and consequently inhibit LPS signalling. We also showed the most probable MD-2 - taxane binding modes and compared it with lipid binding.
	Objavljeno v	Nuša Resman, Helena Gradišar, Jožica Vaši, Mateja Manček Keber, Primož Pristovšek, Roman Jerala, "Taxanes inhibit human TLR4 signaling by binding to MD-2", FEBS lett., vol. 582, no. 28, str. 3929-3934, 2008.
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	4065818
2.	Naslov	SLO Ekspresija, čiščenje in strukturna študija kratkega antimikrobnega peptida
		ANG Expression, purification and structural studies of a short antimicrobial peptide
	Opis	SLO Antimikrobialni peptid PFWRIRIRR je bil proizveden v bakteriji v obliki fuzijskih proteinov. Strukturno peptida v raztopini SDS and DPC micel, določena z NMR, karakterizira kratek, dobro določen alfa-heliks; pozicija bazičnih in nepolarnih stranskih skupin nakazuje pozicioniranje peptida v membrano, ki je v skladu tudi z opaženimi lastnostmi peptida.
		ANG The antimicrobial peptide PFWRIRIRR was produced in bacteria in the form of inclusion bodies. The solution structure of the peptide in SDS and DPC micelles is characterised by a well-defined short alpha-helix. The position of basic and apolar side chains indicates its positioning in the membrane that is

		also in agreement with characteristics of the peptide.
	Objavljeno v	ZORKO, Mateja, JAPELJ, Boštjan, HAFNER BRATKOVIČ, Iva, JERALA, Roman. Expression, purification and structural studies of a short antimicrobial peptide. <i>Biochim. biophys. acta, Biomembr.</i> [Print ed.], 2009, vol. 1788, no. 2, str. 314-323
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	4071962
3.	Naslov	<i>SLO</i> Bistven pomen hidrofobnih ostankov tako pri MD-2 kot pri TLR-4 in aktivacija z endotoksini <i>ANG</i> Essential roles of hydrophobic residues in both MD-2 and toll-like receptor 4 in activation by endotoxin
	Opis	<i>SLO</i> TLR4 receptor prepoznava bakterijski toksin LPS in je eden najbolj raziskanih receptorjev, ki ima pomembno vlogo v velikem številu fizioloških procesov. Doslej molekularni mehanizem aktivacije tega receptorja še ni bil poznan. Omenjen model predstavlja novo paradigmo prepoznavanja in je pomemben za načrtovanje novih inhibitorjev ter aktivacije TLR4. <i>ANG</i> TLR4 receptor recognizes bacterial toxin LPS and is one of the most researched receptors, which plays an important role in many physiological processes. So far, the molecular mechanism of activation of this receptor has not yet been known. The above mentioned model represents new paradigm of recognition and is important for devising new inhibitors and activation of TLR4
	Objavljeno v	Nuša Resman, Jožica Vašl, Alja Oblak, Primož Pristovšek, Theresa L. Gioannini, Jerrold P. Weiss, Roman Jerala, "Essential roles of hydrophobic residues in both MD-2 and toll-like receptor 4 in activation by endotoxin", <i>J Biol Chem</i> , issue 22, vol. 284, str. 15052-15060, 2009
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	4120602
4.	Naslov	<i>SLO</i> Vloga peptidnih povezovalnih segmentov pri aktivaciji TLR4 receptorja <i>ANG</i> Role of peptide linker segments on activation of TLR4 receptor
	Opis	<i>SLO</i> TLRs so transmembranski protein tipa I. Do sedaj smo poznali samo strukturno informacijo ali modele posameznih TLRs domen in veliko manj o njihovi fleksibilnosti. Vstavev peptidov med transmembransko in ektodomeno ali v samo ektodomeno je zmanjšala aktivacijo. To kaže na zahtevo po sklopitvi ektodomen na membrano, ki bi lahko olajšala njeno interakcijo z ligandom, spodbudila dimerizacijo in preprečila interakcijo s površino celične membrane. <i>ANG</i> TLRs are type I transmembrane proteins. Up to now we only had structural information or models of separate domains of TLRs and much less on their required flexibility. Insertion of a linker between the transmembrane and ectodomain or within the ectodomain decreased activation. This suggests the requirement for tight coupling of the ectodomain to the membrane, which may facilitate its interaction with ligand, promote dimerization and prevent interaction with the cell-membrane surface.
	Objavljeno v	Mireille Treeby, Jožica Vašl, Peter Ota, Jožica Friedrich, Roman Jerala, "Different functional role of domain boundaries of Toll-like receptor 4", <i>Biochem. biophys. res. commun.</i> , vol. 381, no. 1, str. 65-69, 2009
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	4118298
5.	Naslov	<i>SLO</i> Strukturni aspekti peptidov z imunomodulatorno aktivnostjo <i>ANG</i> Structural aspects of peptides with immunomodulating activity
	Opis	<i>SLO</i> Glavna funkcija prirojenega imunskega sistema od žuželk do sesalcev je zaznavanje in uničevanje vdirajočih mikroorganizmov preko prepoznavanja njihovih edinstvenih molekularnih struktur, n.p. bakterijskih sten. Veliko število peptidov in derivatov, sintetičnih in naravnih, vpliva na prirojeni imunski sistem, tako da so privlačne tarče za razvoj zdravilnih učinkovin. <i>ANG</i> The main function of the innate immune system from insects to mammals is to detect the presence of and act against invading microorganisms by recognizing their unique molecular signatures, most importantly, components of bacterial cell walls. A large number of peptides and derivatives, both

		synthetic and of natural origin, are known to influence immune responses in mammals by interacting with the conserved microbial structures, making the former attractive targets for drug development.
Objavljeno v		László Szilágyi, Primož Pristovšek, "Structural aspects of peptides with immunomodulating activity", Mini rev. med. chem., vol. 7, no. 8, str. 861-870, 2007
Tipologija	1.02	Pregledni znanstveni članek
COBISS.SI-ID	3785754	

## 7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat		
1.	Naslov	<i>SLO</i> Programski paket nmr2st
		<i>ANG</i> nmr2st program package
Opis	<i>SLO</i>	F.15: razvoj informacijskega sistema/podatkovnih baz Programski paket nmr2st za asignacijo NOESY spektrov peptidov in proteinov nastaja vzporedno z uporabo NMR; napisan je v programskem jeziku C, teče na vseh sodobnih platformah (Windows, UNIX, linux) in ga uporabljajo tudi skupine v Nemčiji in Italiji (gl. <a href="http://www.primus.co.nr/nmr2st">http://www.primus.co.nr/nmr2st</a> ). Razvoj posameznih delov programske opreme se je nadaljeval po letu objave (J. comput. chem., 2006) ključnih algoritmov.
	<i>ANG</i>	The nmr2st program package for assignment of NOESY spectra of peptides and proteins follows the NMR spectroscopic and modelling work; written in ANSI C it can be run on many platforms (Windows, UNIX, linux) and is used in research units in Germany and Italy (see <a href="http://www.primus.co.nr/nmr2st">http://www.primus.co.nr/nmr2st</a> ). The development of some parts of the software has been continued after the release of some key algorithms in the paper in J. comput. chem. in 2006.
Šifra		F.15 Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz
Objavljeno v		Primož Pristovšek, Lorella Franzoni, "Stereospecific assignments of protein NMR resonances based on the tertiary structure and 2D/3D NOE data", J. comput. chem., vol. 27, no. 6, str. 791-797, 2006  Primož Pristovšek, Semi-automatic NOE assignment of proteins - the program nmr2st : manual, (Delovno poročilo KI, 2372), Ljubljana, National Institute of Chemistry, 3 August 2006.
Tipologija		2.21 Programska oprema
COBISS.SI-ID		3547674
2.	Naslov	<i>SLO</i> Mentorstvo doktorandom
		<i>ANG</i> Mentoring doctoral students
Opis	<i>SLO</i>	Mlada raziskovalka Mateja Zorko - udeležena na tematiki projekta Krkina nagrada za Matejo Zorko v letu 2008  Mlada raziskovalka Nuša Resman - udeležena na tematiki projekta
	<i>ANG</i>	Young researcher Mateja Zorko - involved in the project - won the Krka award in 2008  Young researcher Nuša Resman - involved in the project
Šifra		D.09 Mentorstvo doktorandom
Objavljeno v		Mateja Zorko, "Nevtralizacija endotoksin z novimi antimikrobnimi učinkovinami", V: 38. Krkine nagrade : zbornik povzetkov : 18. simpozij/ Zbornik povzetkov, Novo mesto, 17. oktober 2008, 38. Krkine nagrade = 38th Krka Prizes, 18. simpozij, Novo mesto, 17. oktober 2008, Miha Plevnik, ur., Novo mesto, Krka, 2008, str. 67.
Tipologija		3.25 Druga izvedena dela
COBISS.SI-ID		4042522
3.	Naslov	<i>SLO</i> Mednarodna patentna prijava za peptidne inhibitorje celične signalizacije:
		<i>ANG</i> International patent application for peptide inhibitors of cell signaling

Opis	SLO	Pripravili smo nov tip peptidnih inhibitorjev na snovi INT domene adapterskega proteina INT. Pripravili smo dva tipa peptidov, ki lahko prodreta v notranjost celice ter pokazali njihovo delovanje. Peptid lahko prepreči aktivacijo več TLRjev preko vezave na citosolne adapterske proteine. Potencialna uporaba omenjenih peptidov bo za inhibicijo vnetja, ki je pomembno pri številnih boleznih.
	ANG	We have prepared a new type of peptide inhibitors of substance INT INT domain adapter protein. We prepared two types of peptides that can penetrate into the cells, and showed their performance. Peptide can prevent the activation of several TLRjev through binding to the cytosolic adapter proteins. The potential use of these peptides for the inhibition of inflammation, which is important in many diseases.
Šifra	F.32 Mednarodni patent	
Objavljeno v	Peptides for inhibition of MyD88-dependent signaling pathways : številka prijave P-200900281, datum prijave 9. okt. 2009	
Tipologija	2.23 Patentna prijava	
COBISS.SI-ID	4380954	
4. Naslov	SLO	Vabljen predavanje na Georgy Speyer Haus Univerze v Frankfurtu
	ANG	Invited lecture at Georg Speyer Haus of the University of Frankfurt
Opis	SLO	V vabljenem predavanju smo predstavili rezultate raziskav na inhibiciji celične signalizacije preko peptidov. Poleg inhibicije signalizacije LPS preko neposredne interakcije med LPS in peptidom smo pripravili tudi peptidne inhibitorje, ki se vežejo na protein celične signalizacije.
	ANG	The invited lecture presented results of research in cell signalling inhibition using peptides. Besides inhibitors of LPS signalling we prepared inhibitors that act by binding to proteins involved in cell signalling.
Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
Objavljeno v	JERALA, Roman. Insights into the molecular mechanism and engineering of innate immune response : [lecture in Georg-Speyer Haus]. Frankfurt: University of Frankfurt, 28 May 2009.	
Tipologija	1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljen predavanje)	
COBISS.SI-ID	4181018	
5. Naslov	SLO	
	ANG	
Opis	SLO	
	ANG	
Šifra		
Objavljeno v		
Tipologija		
COBISS.SI-ID		

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

Diplomantka Urška Zelenko je za svoje diplomsko delo na temo transmembranskih segmentov TLR prejela Prešernovo nagrado Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo v letu 2009.

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

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

SLO

Novi pristopi k terapiji sepse ter infekcijam z resistantnimi organizmi so nujno potrebni. Možnosti peptidov ter peptoidov (peptidomimetikov) s povečanimi razpolovnimi časi, ki bi bili učinkoviti pri težkih kliničnih simptomih LPS-induciranega septičnega šoka, so obetavne. Naraščajoče strukturno znanje pa odpira poti k načrtovanju novih baktericidnih peptidov, ki se vrinejo v zunanjo membrano z vezavo na LPS in hkrati inhibirajo endotoksičnost sproščenega

LPS. Delo prispeva k razumevanju molekularnega mehanizma prenosa signala v eni najbolj pomembnih neadaptivnih imunskih reakcij. Za biofizikalno kemijo je v prvem delu projekta pomembno razumevanje interakcij proteinov in izpeljanih peptidov z LPS/lipidom A, določitev molekularnih determinant prepoznavanja peptidov ter LPS/lipid A, razvoj in uporaba metodologije za obravnavo hidrofobne vezave z modeliranjem ter protokolov za sidranje liganda in receptorja v amfifilnih sistemih. V drugem delu smo razširili znanje o interakcijah alfa-vijačnic v lipidnem okolju in o mehanizmu homodimerizacije TLR4 in interakciji s transmembranskim delom.

Naš izrazito interdisciplinaren pristop s poznavanjem tako strukturne kot celične biologije predstavlja inovativen in originalen prispevek na tem zelo kompetitivnem področju. Naša raziskovalna skupina je na področju strukturnih raziskav peptidov, ki nevtralizirajo LPS, vodilna v svetu. Pričakujemo, da bodo rezultati pomembno prispevali k razumevanju mehanizmov za inhibicijo aktivacije LPS in vitro.

V zadnjih letih smo odkrili velik pomen receptorjev naravne imunosti, ki imajo poleg aktivacije obrambe pred mikrobo infekcijo pomembno vlogo tudi pri kroničnih vnetnih boleznih, kjer ni vdora mikroorganizmov v telo. V projektu smo odkrili dva nova tipa inhibicije celične signalizacije preko Tollu-podobnih receptorjev, kjer se ti vežejo na protein v signalni kaskadi. Tovrstni inhibitorji nam pomagajo pri razjasnitvi mehanizma aktivacije, imajo pa veliko potencialno terapevtsko uporabo za zdravljenje vnetnih bolezni.

ANG

New approaches to the therapy of sepsis and infections with resistant organisms are urgently needed. The possibilities of peptoids (peptidomimetics) with increased resistance to enzymatic degradation that could be effective against severe symptoms of LPS-induced septic shock are promising. The increasing structural knowledge opens pathways to design of novel bactericidal peptides that integrate into the outer membrane and inhibit the endotoxic effect of LPS. The proposed work contributes to the understanding of the mechanism of molecular signal transmission in one of the most important non-adaptive immune reaction. In the first part of the project the main impact for biophysical chemistry is improvement in understanding of peptide-LPS interaction, the development and use of methodology for hydrophobic binding in molecular modeling, and protocols for docking of amphiphilic ligands and receptors. In the second part we widened the knowledge of interactions between alpha-helices in lipid environments and of the homodimerization mechanism of TLR4 and its interaction with its TM segment.

Our interdisciplinary approach with expertise in structural and cell biology represents an innovative and original contribution to the very competitive field of sepsis research. Our team is world leader in the field of structural studies of LPS-neutralizing peptides. We expect that the structural models significantly contribute to understanding of mechanisms of LPS inhibition in vitro.

In the last years we have shown the importance of innate immunity receptors in chronic infections that are not linked to microorganism invasion. In this project we discovered two new types of cell signalling inhibition through Toll-like receptors where the latter bind to signal cascade proteins. Such inhibitors are instrumental in the understanding of the activation mechanism and have huge potential in development of drugs against chronic infections.

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

SLO

Izrabljanje in bogatenje lastnega znanja je najboljši način trajnostnega razvoja, saj zagotavlja visoko dodano vrednost ob hkratnem ohranjanju okolja. Raziskave na medicinsko pomembnih problemih lahko vodijo k izboljšanju zdravja oz. k zmanjšanju ekonomske in družbeno-socialne škode zaradi bolezni. Projekt je interdisciplinarnega značaja in je tako odprt tudi za sodelovanje z drugimi znanstvenimi institucijami v Sloveniji in širšem evropskem in svetovnem okolju.

Pomemben del dejavnosti predlaganih raziskav je tudi izobraževanje študentov na do- in podiplomski stopnji kot tudi predstavitev rezultatov raziskav strokovni javnosti na znanstvenih srečanjih (kolegi raziskovalci, strokovni kader v zdravstvu).

Svoje delo in njegov pomen za dvig kvalitete življenja so raziskovalci, ki so sodelovali pri predlaganem raziskovalnem projektu, doslej že predstavljali tudi širši javnosti, tako preko objav v tisku, intervjujev in oddaj na televiziji.

ANG

Employment and increasing of knowledge is the best way of sustainable development ensuring high added value concomitant with environment protection. The interdisciplinary mode of the project enables collaboration with other research organizations within Slovenia as well as within Europe and worldwide. The results of research could contribute to health improvement which would lead to lowering of economical and socio damage because of diseases.

The important part of the project is also education of students and post docs as well as presentation of results at scientific meetings. Researchers of the proposed project have presented the past results also to broad public in press, through interviews and TV emissions. The proposed research project comprises the tools of modern structural and cell biology. The research is based on seeking for new basic knowledge in the field of medicine with concomitant possibility for applicative research in industry.

### 10. Samo za aplikativne projekte!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>



	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi,</b>	

<b>F.18</b>	<b>konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

**11. Samo za aplikativne projekte!****Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visoko-šolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>					
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>					
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					

G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

**Komentar**

--

**12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki<sup>11</sup>**

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

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

### 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, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> 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:

Primož Pristovšek	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

20.4.2010

#### Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/164

<sup>1</sup> Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

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

<sup>4</sup> Samo v primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

**PRIMER** (v slovenskem jeziku):

**Naslov:** Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s katepsinom X;

**Opis:** Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

**Objavljeno v:** OBERMAJER, N., PREMZL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates  $\beta 2$  - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

**Tipologija:** 1.01 - Izvirni znanstveni članek

**COBISS.SI-ID:** 1920113 [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta 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. [Nazaj](#)

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

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

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

<sup>11</sup> Rubrike izpolnite/prepišite 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](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2010 v1.00a

72-4E-84-48-41-88-A3-37-17-9D-99-5F-15-CF-35-69-29-3C-B9-B5