

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/21



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z3-4295
Naslov projekta	MOLEKULARNI MEHANIZMI REGENERACIJE ČLOVEŠKE SKELETNE MIŠICE IN VITRO V NORMALNIH IN HIPOKSIČNIH RAZMERAH.
Vodja projekta	31530 Urška Matkovič
Tip projekta	Z Podoktorski projekt
Obseg raziskovalnih ur	2692
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	09.2011 - 03.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.03 Nevrobiologija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Skeletna mišica se je v primeru različnih poškodb sposobna učinkovito regenerirati. Poškodbe mišic pogosto spremljajo hipoksični pogoji, do katerih lahko pride zaradi različnih vzrokov kot so npr. nezadostna prekrvavitev zaradi aterosklerotičnih zožitev arterij, težki fizični napor ali huda šokovna stanja. Pri procesu regeneracije so ključne t.i. satelitske celice pod bazalno membrano odraslega skeletnega mišičnega vlakna, ki se po poškodbi sprostijo in se začnejo deliti. Novonastale enojedrne celice – mioblasti po

večkratnih delitvah fuzirajo in tvorijo večjedrne cevčice, ki se nato oživčijo in dozoriijo v končno funkcionalno obliko mišičnega vlakna. Končni obseg nove mišične mase je v veliki meri odvisen od števila novonastalih mioblastov v fazi proliferacije, ki je bila osrednji predmet raziskovanja v podoktorskem projektu. Za preučevanje molekularnih mehanizmov regeneracije človeške mišice sem uporabljala model človeške mišice *in vitro*, katere vir satelitskih celic so koščki odrasle človeške skeletne mišice, ki se po doktrini odstranijo pri ortopedskih operacijah. Rezultati poskusov, v katerih sem človeške mioblaste tretirala s sintetičnim IL-6 v nižjem koncentracijskem razponu, so za razliko od IL-6 v koncentracijah nad 100 ng/ml, potrdili njegov proliferativni učinek. Pozitiven učinek sintetičnega IL-6 v enakem koncentracijske razponu sem potrdila tudi na mišji celični liniji C2C12 in podgani liniji L6. Topna oblika receptorja sIL-6R α ni bistveno pripomogla k proliferativnemu učinku samega IL-6, saj kompleks IL-6 in sIL-6R α ni pokazal signifikantnega spodbujevalnega učinka na proliferacijo mioblastov. Signifikantno pa je na proliferacijo mioblastov vplival endogeni IL-6 v mediju mišičnih celic, ki smo jih inkubirali z LPS. Dokazali smo, da IL-6 v mioblastih sproži fosforilacijo STAT3, medtem ko od ERK1/2 odvisna signalna pot v našem primeru ni bila aktivirana. Pokazali smo tudi, da človeški mioblasi in cevčice izražajo obe receptorski podenoti, gp80 in gp130. V skladu s tem, IL-6 v mioblastih, ki smo jih utišali na gp80, ni imel učinka na njihovo proliferacijo. Poleg tega so poskusi mioblastov, ki smo jih utišali na gen za HIF1 α in β podenoto in jih nato tretirali z IL-6 in inhibitorjem njegovega topnega receptorja tocilizumabom, do sedaj prvič nakazali, da je nedavno odkrita avtokrina zanka med IL-6/STAT3/HIF-1 α v rakastih zarodnih celicah verjetno prisotna tudi v mioblastih človeške skeletne mišice. Nenazadnje, odkritje proliferativnega učinka agrina in njegova sklopljenost z mehanizmi IL-6 je edinstvenega pomena, saj kaže na njegovo še ne raziskano širšo funkcijo, ki ni omejena le na tvorbo živčnomišičnega stika. Naši rezultati pomembno prispevajo k razumevanju molekularnih mehanizmov, udeleženih pri zgodnji fazi regeneracije. Zato pripomorejo k iskanju potencialnih tarč za izboljšanje regeneracije skeletne mišice in s tem odpirajo nove možnosti za zdravljenje mišičnih poškodb.

ANG

Skeletal muscle is able to regenerate after various muscle injuries. Muscle damage often occurs in hypoxic conditions as a result of different causes like impaired blood perfusion due to atherosclerosis, strenuous muscular exercise or severe shock conditions. Muscle regeneration starts with the activation of the satellite cells that reside beneath the basal lamina of the adult muscle fiber and are released in response to muscle damage. They start to proliferate, generating a large number of mononuclear myoblasts that then fuse and form polynuclear myotubes. The final amount of regenerated muscle mass critically depends on the extent of myoblast proliferation. In this regard, my postdoc project was entirely focused on this early event of regeneration process. For my research work I used an *in vitro* experimental model of human skeletal muscle which is routinely used in the laboratory of the research group I have joint to. Experiments of human myoblasts, which I treated with sintetic IL-6 at low concentrations, have confirmed the proliferative effect of IL-6, whereas higher concentration of IL-6 upon 100 ng/ml, have not shown any effect on myoblast proliferation. Consistent results of IL-6 stimulatory effect on cell proliferation were obtained on C2C12 and L6 cell lines as well. Soluble form of IL-6 receptor subunit, sIL-6R α , has not enhanced the efficiency of proliferative effect of IL-6, since treating of human myoblasts with IL-6-sIL-6R α complex has not shown significant stimulatory effect on their proliferation. On the other hand, myoblast proliferation has been prominently increased by endogenous IL-6, which was secreted in the medium of myoblasts previously stimulated with LPS. Furthermore, we have demonstrated that IL-6

triggers the activation of STAT3 phosphorylation and seems not to act via ERK1/2 pathway. Importantly, we have confirmed the expression of both IL-6 receptor subunits, gp80 and gp130, in myoblasts and myotubes. Consistently, the stimulatory effect of IL-6 on proliferation has been depleted in myoblasts, which I silenced in gp80 gene using siRNA. Moreover, results obtained in HIF1 α and β -silenced myoblasts and then treated with the combination of IL-6 and antibody directed against IL-6-receptor, tocilizumab, indicate for the first time, that novel autocrine loop between IL-6/STAT3/ HIF-1 α recently observed in multiple tumor types, can be present in myoblasts of human skeletal muscle as well. In addition, findings of emerging role for neural agrin in human myoblasts proliferation and its indicated coupling with IL-6 actions represent unique importance for identification of its novel functions, not limited only to the formation of the neuromuscular junction. Our results, therefore, importantly contribute to the understanding of human skeletal muscle regeneration which is essential for the development of new therapies for muscle diseases and muscle injuries.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Raziskovalne hipoteze in opis raziskovanja

Raziskave v zadnjem času kažejo, da skeletna mišica ni le pasivni organ za izvajanje gibov, temveč tudi pomembno sodeluje pri signaliziranju, ki uravnava vrsto procesov v sami mišici in drugih organih. Pri tem se še posebej poudarja vloga signaliziranja prek interleukina 6 (IL-6). V naši skupini smo pokazali, da človeške celice skeletne mišice robustno konstitutivno izločajo IL-6 iz mioblastov in mišičnih cevčic. Izločanje IL-6 pospešujejo provnetni dejavniki kot so TNF in LPS, zavirajo pa glukokortikoidi (Prelovšek in sod., 2006). V svojem podoktorskem projektu je bilo moje zanimanje usmirjeno na ne še povsem opredeljeno vlogo mišičnega IL-6 v razvoju skeletne mišice. Preverila sem naslednje 3 hipoteze:

1. Tretiranje človeških mioblastov s kombinacijo sintetičnega IL-6 in topne oblike receptorja sIL6R α bo bolj pospešilo njihovo proliferacijo kot tretiranje s samim sintetičnim IL-6.
2. Tretiranje mioblastov z LPS v kombinaciji z dejavniki, ki jih izločajo makrofagi, bo učinkoviteje pospešilo proliferacijo mioblastov, kot tretiranje s samim LPS.
3. Utišanje gena za HIF1 α bo vplivalo na proliferacijo človeških mioblastov v hipoksiji.

S pomočjo metode, ki temelji na vgradnji bromodioksiuridina v DNA delečih celic, sem najprej ugotovila, da eksogeni IL-6 v visokih koncentracijah nad 100ng/ml nima praktično nobenega učinka, pozitivno pa na proliferacijo mioblastov vpliva endogeni IL-6, katerega izločanje sproži tretiranje z bakterijskim lipopolisaharidom (LPS). V skladu z literaturo je za negativen učinek testiranega IL-6 kriva previsoka koncentracija le-tega in prekratek čas inkubacije s kulturami mioblastov (24h). IL-6 je razmeroma pozen proliferacijski stimulator, saj spodbudi proliferacijo mioblastov šele po 3. dnevu tretiranja in doseže maksimalen učinek okrog 5. dne po tretiranju. Zato sem naslednje poskuse tretiranja mioblastov izvedla v nižjem koncentracijskem razponu IL-6 (0.1, 1, 10, 50 ng/ml) in v daljšem času inkubacije (5 do 6 dni). Zaradi konstitutivnega izločanja IL-6 v mioblastni kulturi, ki bi lahko zanemarilo učinek sintetičnega IL6, sem medij vsak drugi dan odstranila in ponovila tretiranje s sintetičnim IL-6. V tem primeru so rezultati pokazali signifikantno povišanje proliferacije človeških mioblastov tudi po tretiranju s sintetičnim

IL-6. Pozitiven učinek sintetičnega IL-6 v enakem koncentracijskem razponu sem potrdila tudi na mišji celični liniji C2C12 in podganji liniji L6. Zaradi neprimerno hitre rasti celičnih linij v primerjavi s človeško primarno kulturo je IL-6 signifikantno spodbudil proliferacijo v precej krajšem inkubacijskem času (24 h). V naslednjem setu poskusov sem nato v skladu s prvo hipotezo preverila, ali topna oblika receptorja sIL-6R α pripomore k učinku samega IL-6 po mehanizmu transsignalizacije. Učinek kompleksa IL-6 in sIL-6R α na proliferacijo mioblastov je bil v nekaterih meritvah nekoliko višji od učinka samega IL-6, vendar ne signifikantno. Sama topna oblika receptorja v testiranem razmerju z IL-6 se namreč ni pokazala kot močan aktivator njegove membranske podenote gp130. Kot pokazano v raziskavi Marino in sod., 2007 je za aktivacijo membranskega receptorja v *in vitro* poskusih veliko bolj učinkovit Hyper-IL-6 fuzijski protein IL-6 in IL-6R α , katerega afiniteta do gp130 je 100 do 1000krat večja v primerjavi s topno obliko receptorja v kompleksu z IL-6. Ker je za vezavo kompleksa IL-6 in sIL-6R α ključna prisotnost receptorske podenote gp130, smo preverili, ali človeški mioblasti izražajo receptorski podenoti gp80 in gp130. S pomočjo verižne reakcije s polimerazo v realnem času smo potrdili izražanje obeh receptorskih podenot tako v mioblastih kot v mišičnih cevčicah. Izmerili smo, da je podenota gp130 občutno več kot podenota IL-6R α . Ker je za sprožitev od IL-6 odvisnih signalnih poti, ki vodijo v aktivacijo proliferacije, poleg vezave IL-6 na obe receptorski enoti v prvi stopnji, v drugi stopnji ključna aktivacija od STAT3 odvisne signalne poti, smo z metodo prenos Western dokazali, da tretiranje z IL-6 sproži fosforilacijo STAT3. V nadaljnjem poskusu sem raziskala učinek IL-6 na proliferacijo mioblastov, v katerih sem s pomočjo siRNA utišala gen za gp80 receptorsko podenoto. Ugotovila sem, da je za učinek IL-6 na spodbujeno celično proliferacijo mioblastov nujno izražanje gp80, saj v gp80 utišanih mioblastih, tretiranih z IL-6, nisem izmerila povečane proliferacije. Poleg od STAT3 odvisne signalne poti sem želela raziskati, ali morda IL-6 na povečano proliferacijo deluje še preko katere druge splošno znane signalne poti celične proliferacije. Osrednjo vlogo pri uravnavanju signalnih poti celične proliferacije igra kinaza ERK1/2, ki sodi v skupino MAP kinaz. Zato sem se odločila raziskati ali IL-6 sproži tudi od ERK1/2 odvisno signalno pot. V našem primeru tretiranje z IL-6 ni sprožilo fosforilacije kinaze ERK1/2.

Mišična regeneracija se pogosto odvija v hipoksičnih pogojih. Zato je velik del raziskav naše raziskovalne skupine usmirjenih v raziskovanje molekularno-bioloških mehanizmov v takšnih pogojih. Tako je raziskava Pirkmajer in sod., 2010 pokazala, da se celični odziv na hipoksijo, ki jo uravnava HIF-1 α organizira neodvisno od systemskega stresnega odziva, ki ga organizirajo glukokortikoidi. Poleg tega smo tudi pokazali, da HIF-1 α sodeluje pri uravnavanju apoptoze v mioblastih in da jih ob hipoksičnih pogojih ščiti pred s staurosporinom izzvano apoptozo (Pegan, 2011). V svojem projektu sem z utišanjem gena za HIF-1 α s pomočjo siRNA poskušala ugotoviti njegovo vlogo pri IL-6 spodbujeni proliferaciji. Mioblasti utišani na gen HIF-1 α po tretiranju z IL-6 niso pokazali dviga proliferacije v primerjavi z netretirano kontrolo, čeprav smo pokazali aktivacijo fosforilacije STAT3. Zanimiv rezultat signifikantno znižane proliferacije pa sem dobila v primeru tretiranja HIF-1 α utišanih mioblastov z IL-6 in tocilizumabom, ki se veže na topne in membransko vezane receptorje za IL-6 in tako prepreči njegovo signalizacijo v celici. Ti rezultati kažejo, da je v učinek IL-6 vpleten HIF1, vendar bi za potrditev njegove še precej neraziskane vloge v povezavi s proliferativnim učinkom IL-6 potrebovali dodatne raziskave. Vsekakor pa je naša ugotovitev, ki kaže na morebitno interakcijo med mehanizmi prilagoditve mišice na hipoksijo in mehanizmi, ki pospešujejo proliferacijo mioblastov, v skladu z nedavno odkrito avtokrino zanko (IL-6/STAT3/HIF-1 α) v nekaterih

vrstah tumorjev. V tumorskih celicah je bila v primerjavi z normalnimi celicami pokazana povečana produkcija IL-6 in konstitutivna aktivacija STAT3 (Nilsson in sod., 2009). Njegovo aktivacijo z IL-6 preko IL-6 receptorja in JAK2 poti so dokazali na primeru rakastih zarodnih celic trebušne slinavke (Lang in sod., 2007). Aktiviran STAT3 tako poveča od hipoksije inducirano izražanje HIF-1 α kot tudi izločanje vnetnih citokonov kot npr. IL-6, VEGF in IL-10 (Yu in sod., 2007). Ti nato preko primarne JAK2 poti zopet aktivirajo STAT3. Rakaste zarodne celice se večinoma nahajajo v hipoksičnem okolju, zato je vloga HIF1 na njihovo prilagoditev v takšnih pogojih bistvenega pomena. Na vpletenost IL-6 kaže raziskava na ledvičnih rakastih celicah, kjer je utišanje HIF-1 α s pomočjo siRNA dejansko povzročila znižano sekrecijo IL-6 v celicah (Jung in sod., 2005). Naše ugotovitve, da sam IL-6 v HIF1 utišanih mioblastih ni spodbudil njihove proliferacije in da je uporaba tocilizumaba v prisotnosti IL-6 znatno znižala njihovo proliferacijo, so prve, ki potrjujejo indirektno interakcijo med IL-6/STAT3/HIF1 v mioblastih človeške skeletne mišice.

Poleg raziskovanja vloge IL-6 kot stimulatorja mišične regeneracije smo v sodelovanju raziskovalne skupine prof. Paole Lorenzon iz Univerze v Trstu, naše raziskave v skladu z naslovom projekta, razširili tudi na raziskovanje vloge mišičnega agrina pri proliferaciji mioblastov in prišli do edinstvenih ugotovitev. Pokazala sem, da ima agrin spodbujevalni učinek na proliferacijo mioblastov in da je ta učinek signifikantno večji v mišičnih kulturah starejših donorjev. Še več, prišli smo tudi do ugotovitve, da mioblasti, ki smo jih tretirali z agrinom, izločajo signifikantno več IL-6 kot njihova negativna kontrola. To kaže, da je delovanje agrina na povečanje celične proliferacije sklopljeno s proliferativnim delovanjem IL-6. Odkritje nas je spodbudilo k nadaljnem raziskovanju signalne poti, ki jo v tem primeru sproži agrin in ali ta poteka preko mišično specifične kinaze MuSK ali neodvisno od nje. Zato smo se odločili preveriti izražanje proteina MuSK v primarnih kulturah človeških mioblastov in cevčic tako na stopnji prepisne RNK kot na stopnji proteina. Poleg tega smo poskušali raziskati tudi ali je njegovo izražanje različno v mišicah mladih kot v mišicah starejših ljudi. Vezava agrina na MuSK preko Abl kinaze sproži aktivacijo različnih celičnih procesov, ki vodijo v nastanek cevčic pri razvoju mišičnega vlakna. Zato sem preverila, ali morda agrin spodbudi celično proliferacijo preko Abl kinaze. Poleg tega sem tako kot v primeru IL-6 tudi tu preverila ali agrin sproži fosforilacijo kinaze ERK1/2.

Ugotovljeni rezultati

Rezultati poskusov, v katerih sem človeške mioblaste tretirala s sintetičnim IL-6 v nižjem koncentracijskem razponu, so za razliko od IL-6 v koncentracijah nad 100 ng/ml, potrdili njegov proliferativni učinek. Pozitiven učinek sintetičnega IL-6 v enakem koncentracijskem razponu sem potrdila tudi na mišji celični liniji C2C12 in podganji liniji L6. Topna oblika receptorja sIL-6R α ni bistveno pripomogla k proliferativnemu učinku samega IL-6, saj kompleks IL-6 in sIL-6R α ni pokazal signifikantnega spodbujevalnega učinka na proliferacijo mioblastov. Signifikantno pa je na proliferacijo mioblastov vplival endogeni IL-6 v mediju mišičnih celic, ki smo jih inkubirali z LPS. Dokazali smo, da IL-6 v mioblastih sproži fosforilacijo STAT3 in v našem primeru ne deluje po od ERK1/2 odvisni signalni poti. Pokazali smo tudi, da človeški mioblasti in cevčice izražajo obe receptorski podenoti, gp80 in gp130. IL-6 v mioblastih, ki smo jih utišali na gp80, ni imel učinka na njihovo proliferacijo. Poskusi mioblastov, ki smo jih utišali na gen za HIF1 α in β podenoto in jih nato tretirali z IL-6 in inhibitorjem njegovega topnega receptorja tocilizumabom, so do sedaj prvič nakazali, da je nedavno odkrita zanka med IL-6/STAT3/HIF-1 α v rakastih zarodnih celicah verjetno prisotna tudi v mioblastih človeške skeletne mišice. Odkritje

proliferativnega učinka agrina in njegova sklopljenost z mehanizmi IL-6 je edinstvenega pomena, saj kaže na njegovo še ne raziskano širšo funkcijo, ki ni omejena le na tvorbo živčnomišičnega stika.

Učinki raziskovalnega projekta in njihova uporaba

Razumevanje mehanizmov signaliziranja stimulatorjev proliferacije mioblastov, med katerimi sem se posebej osredotočila na IL-6 in agrin, bo pripomoglo k iskanju možnosti za izboljšanje regeneracije skeletne mišice in s tem povezanim zdravljenjem mišičnih distrofij ali poškodb mišice. Pri tem je še posebej pomembno raziskovanje vloge hipoksičnih pogojev, ki v klinični praksi pogosto spremljajo potek regeneracije in katerih vpliv na mišično regeneracijo je še precej neraziskan. Opredelitev dejavnikov, ki spodbujajo zgodnje stopnje v regenerativnem procesu mišice je osrednjega pomena, saj bo pripomoglo k pospeševanju rasti donorskih mioblastov v pogojih *in vitro* in tako pomembno prispevalo tako k samemu razumevanju regeneracije človeške mišice kot tudi k razvijanju potencialnih celičnih terapij za mišične bolezni oz. mišične poškodbe.

Sodelovanje s tujimi partnerji

Z raziskovalno skupino prof. Paole Lorenzon iz Katedre za fiziologijo in patologijo Univerze v Trstu preko italijansko-slovenskega bilateralnega projekta aktivno sodelujemo pri raziskovanju signalnih poti, ki jih v mišičnih celicah sproži agrin. Pri nas je bila na trimesečnem in večih krajših obiskih njihova mlada raziskovalka.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev²

V prvem delu izvajanja projekta sem se najprej posvetila pripravi in karakterizaciji primarnih kultur človeške skeletne mišice, ki so mi služile kot glavni eksperimentalni model za izvedbo zastavljenih poskusov. Pripravila sem si celično banko osmih donorjev, kar predstavlja številčno dovolj obsežen repertoar vzorcev za ustrezno interpretacijo rezultatov, tako z biološkega kot s statističnega vidika. Eksperimentalno delo sem nato pričela s preverjanjem prve hipoteze. Uspela sem potrditi proliferativni učinek IL-6 na človeških mioblastih, kot tudi na mišji C2C12 in podganji L6 celični liniji. Vendar pa v nasprotju z zastavljeno hipotezo nisem potrdila ojačevalnega učinka topne oblike receptorja sIL-6R α , saj ta v kompleksu z IL-6 ni bistveno pripomogla k proliferativnemu učinku samega IL-6. Signifikantno pa je na proliferacijo mioblastov vplival endogeni IL-6 v mediju mišičnih celic, ki smo jih inkubirali z LPS. V skladu z IL-6-posredovano aktivacijo mioblastov smo pokazali, da človeški mioblasti izražajo obe membransko vezani IL-6 receptorskih podenoti, gp80 in gp130, in da njihov odziv na IL-6 sproži aktivacijo STAT3 signalne poti, ki nadzira izražanje regulatornih proteinov, odgovornih za uravnavanje celične proliferacije. Poleg tega sem v prid prvi in drugi hipotezi s pomočjo utišanja gena za gp80 receptorsko podenoto ugotovila, da je le-ta nujno potrebna za sprožitev IL-6-odzivnih genov. V zadnjem delu projekta sem se osredotočila na preučevanje morebitnih interakcij med mehanizmi prilagoditve mišice na hipoksijo in mehanizmi, ki pospešujejo proliferacijo. Potrdila sem tretjo hipotezo, saj sam IL-6 v HIF1 α utišanih mioblastih ni spodbudil njihove proliferacije, medtem ko je uporaba tocilizumaba v prisotnosti IL-6 znatno znižala njihovo proliferacijo. Poleg opisanih raziskav, smo v sodelovanju z raziskovalno skupino prof. Paole Lorenzon iz Univerze v Trstu, eksperimentalno delo razširili v skladu z vsebino projekta. V zvezi s tem sem preučila vpliv agrina na proliferacijo mioblastov in raziskala, ali je morda povezan s signaliziranjem IL-6.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta ni bilo.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

		Znanstveni dosežek	
1.	COBISS ID	30270681	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Acetilholinesteraza in agrin: različne funkcije, podobni vzorci izražanja, več vlog
		<i>ANG</i>	Acetylcholinesterase and agrin: Different functions, similar expression patterns, multiple roles
	Opis	<i>SLO</i>	<p>Acetilholinesteraza (AChE) in agrin opravljata vsak svojo posebno nalogo v živčnomišičnem stiku (ŽMS). AChE uvrščamo k holinergičnim, agrin pa k sinaptogenetičnim komponentam ŽMS. Kljub različnim nalogam pa imata obe molekuli vrsto skupnih lastnosti: njuno usmerjanje na mesto delovanja uravnava alternativno pripajanje primarne mRNA; za razliko od večine drugih komponent ŽMS se ti dve izražata tako v mišici kot tudi v motoričnem nevronu, obe pa sta tudi nameščeni na sinaptični bazalni lamini v ŽMS. Tako za AChE kot za agrin je tudi znano, da opravljata v organizmu različne vloge, ki niso povezane z ŽMS. A če je izvor sinaptičnega agrina nedvomno motorični nevron, je živčni izvor AChE, ki je z svojim kolagenskim repom ColQ prav tako vezana na sinaptično bazalno lamino ŽMS, vprašljiv. V tem delu smo preizkušali hipotezo, da imajo v motoričnem nevronu sintetizirane beljakovine, ki so namenjene za vezavo na bazalno lamino ŽMS, enak časovni vzorec ekspresije, ki je usklajen z tvorbo bazalne lamine v ŽMS. V razvijajoči se podganji hrbtenjači smo primerjali ekspresijo izooblik agrina z ekspresijo katalitske oblike AChE (AChET), in z ekspresijo ColQ in to pred in po času, ko se razvije bazalna lamina v ŽMS. Celični izvor AChE in agrina smo določili z hibridizacijo in situ, njihove ravni pa z kvantitativno metodo RTPCR. Ugotovili smo sočasno ekspresijo sinaptogenetične izooblike agrina (agrin 8) in ColQ in to po tvorbi bazalne lamine, ar govori v prid razlagi, da sta na ColQ vezana AChE in agrin 8 namenjena za vezavo na bazalno lamino. Katalitski del AChET in ostale, nesinaptogenetične oblike grina (agrin 19 in agrin 0) so se izražali po drugačnem časovnem vzorcu. V skladu z ugotovitvami drugih avtorjev, smo ugotovili tudi razne alternativne vloge za AChE in agrin. Že prej smo pokazali vlogo AChE v apoptozi človeških mioblastov. V tem članku smo pokazali, da agrin pospešuje dozorevanje težkih miozinskih verig in sklopitev ekscitacije s kontrakcijo. Ti rezultati kažejo, da se zmožnosti agrina in AChE, da igrata različne vloge v posameznih delih organizma, kažejo tudi na ravni razvoja skeletne mišice.</p>
		<i>ANG</i>	<p>Acetylcholinesterase (AChE) and agrin play unique functional roles in the neuromuscular junction (NMJ). AChE is a cholinergic and agrin a synaptogenetic component. In spite of their different functions, they share several common features: their targeting is determined by alternative splicing; unlike most other NMJ components they are expressed in both, muscle and motor neuron and both reside on the synaptic basal lamina of the NMJ. Also, both were reported to play various nonjunctional roles. However, while the origin of basal lamina bound agrin is undoubtedly neural, the neural origin of AChE, which is anchored to the basal lamina with collagenic tail ColQ, is elusive. Hypothesizing that motor neuron proteins targeted to the NMJ basal lamina share common temporal pattern of expression, which is coordinated with the formation of basal lamina, we compared expression of agrin isoforms with the expression of AChE-T and</p>

	ANG	ColQ in the developing rat spinal cord at the stages before and after the formation of NMJ basal lamina. Cellular origin of AChE-T and agrin was determined by in situ hybridization and their quantitative levels by RT PCR. We found parallel increase in expression of the synaptogenetic (agrin 8) isoform of agrin and ColQ after the formation of basal lamina supporting the view that ColQ bound AChE and agrin 8 isoform are destined to the basal lamina. Catalytic AChE-T subunit and agrin isoforms 19 and 0 followed different expression patterns. In accordance with the reports of other authors, our investigations also revealed various alternative functions for AChE and agrin. We have already demonstrated participation of AChE in myoblast apoptosis; here we present the evidence that agrin promotes the maturation of heavy myosin chains and the excitation-contraction coupling. These results show that common features of AChE and agrin extend to their capacity to play multiple roles in muscle development.
Objavljeno v		Elsevier; 11th International meeting on cholinesterases [4-9 June 2012 in Kazan, Russia]; Chemo-biological interactions; 2013; Str. 297-301; Impact Factor: 2.967; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.768; WoS: CQ, TU, YO; Avtorji / Authors: Miš Katarina, Matkovič Urška, Pirkmajer Sergej, Sciancalepore Marina, Lorenzon Paola, Marš Tomaž, Grubič Zoran
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	30044633 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Nova vloga agrina v proliferaciji človeških mioblastov ANG Emerging role for neural agrin in human myoblasts proliferation
	Opis	SLO Čprav je osrednja vloga proteoglikana agrina v postsinaptični diferenciaciji živčnomišičnega stika (ŽMS) dobro raziskana, novejša raziskava kaže njegovo vpletenost v precej širši spekter aktivnosti, ki niso omejene le na ŽMS. Med slednje sodijo vloga agrina v reorganizaciji citoskeleta pri nastajanju ŽMS, vpletenost pri tvorbi t.i. imunološke sinapse med aktiviranim T limfocitom in antigen predstavitevno celico in celo njegova vloga kot mediatorja za izboljšanje funkcije okvarjenih mišic. V objavljenem znanstvenem prispevku smo ugotovili, da ima agrin spodbujevalni učinek na proliferacijo mioblastov. Povečanje proliferacije pod vplivom agrina smo pokazali s pomočjo karakterizacije rastnih krivulj in potrdili s pomočjo metode, ki temelji na vgradnji bromodioksiuridina v DNA delečih celic. Dolčanje prisotnosti dezmina v populaciji z agrinom tretiranih mioblastov in posledično v diferenciranih cevčicah je izključilo možnost negativnega učinka agrina na miogenost in fuzijo mioblastov. To novo, originalno odkritje nas je spodbudilo k nadaljnjem raziskovanju signalne poti, ki jo v tem primeru sproži agrin in ali ta poteka preko mišično specifične kinaze MuSK ali neodvisno od nje. Razumevanje mehanizmov signaliziranja in še posebej vloge agrina kot stimulatorja proliferacije mioblastov bi pripomoglo k iskanju možnosti za izboljšanje regeneracije skeletne mišice in s tem povezanim zdravljenjem mišičnih distrofij ali poškodb mišice. The principal role of the heparan sulphate proteoglycan agrin in the formation of synapses at the neuromuscular junction (NMJ) has been clearly documented. Till now neural agrin has mainly been studied to be a synaptic organizer which induces acetylcholine receptor clustering. However, agrin function is not limited only to the NMJ, but is involved in a broader spectrum of signalling pathways in various tissues. Indeed, the

	ANG	latest studies revealed that agrin is directly implicated in the organization of the cytoskeleton in skeletal muscle. Furthermore, it has also been identified that agrin functions as a costimulatory molecule in Tcell activation and formation of an immunological synapse. Only recently it has come to the fore its possible involvement in satellite cells regeneration. Interestingly, in our work we have found out that agrin positively affects proliferation of human myoblasts. Growth curves data demonstrated that agrin enhances satellite cells proliferation. These results were confirmed by Bromodeoxyuridine assay. Desmin detection shows that agrin does not impaire neither myogenicity nor myoblasts fusion. This is the first evidence for a function of agrin in myoblast proliferation. We will further attempt to identify the signalling pathway triggered by agrin and to investigate the possible involvement of musclespecific kinase (MuSK) in the proliferation process. The present observations indicate the important role of agrin in the regeneration of skeletal muscle and support its recently discovered therapeutic potential in muscle dystrophy. Therefore, the identification of the mechanisms underlying its proliferative activity are believed to contribute to therapeutic efficiency of muscle diseases.
Šifra	B.06	Drugo
Objavljeno v	Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta = Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine; Molekularna medicina in biotehnologija; 2012; Str. 103; Avtorji / Authors: Parato Giulia, Pirkmajer Sergej, Marš Tomaž, Lorenzon Paola, Matkovič Urška	
Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Razjasnitev mehanizmov, ki so odgovorni za aktivacijo mišičnih zarodnih celic, t.i. satelitskih celic, in posledično za spodbuditev proliferacije in migracije enojedrnih mioblastov, predstavlja pomembno področje intenzivnih raziskav. Mišično maso, ki se razvije v procesu regeneracije, v največji meri določa proliferacija mioblastov. Pridobitev zadostnega števila donorskih mioblastov, potrebnih za učinkovito zdravljenje prizadete mišice, je namreč ena glavnih omejitev obetavne terapije prenosa mioblastov. Zato je opredelitev dejavnikov, ki uravnavajo zgodnje stopnje mišične regeneracije, in njihovih učinkov velikega pomena, saj bo pripomoglo k pospeševanju rasti donorskih mioblastov v pogojih in vitro. Ker so ob poškodbah skeletnih mišic pogosto prisotni hipoksični pogoji, predstavlja raziskovanje proliferativnih učinkov v takšnih pogojih nove možnosti pozitivnega vplivanja na ta proces, kar bo izboljšalo terapevtske možnosti v takih primerih.

ANG

Investigation of the mechanisms that are responsible for the activation of muscle stem cells (so-called satellite cells), which consequently trigger the proliferation and migration of mononuclear myoblasts, is scientific field of emerging research. The muscle mass formed anew in the regeneration process critically depends on the extent of myoblast proliferation. The ability to produce sufficient number of myoblasts from primary muscle cultures, necessary for the effective treatment of damaged muscles of individual patients, is one of the major limitations of potential myoblast transfer therapy. Hence, the identification of factors promoting the early stages of muscle regeneration is of great importance, since they could be employed to increase the myoblast yield from the donor muscle under in vitro conditions. Muscle injuries often occur under hypoxic conditions. Therefore, understanding the stimulatory effects on muscle

regeneration in these conditions is an important contribution to the identification of new potential targets for improvement of muscle regeneration and therapeutic approaches to muscle diseases.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Preko projekta sem se intenzivneje vključila v mednarodno dogajanje iz področja nevrobiologije in tako prispevala k odpiranju novih možnosti za sodelovanje in izmenjavo znanja med sorodnimi raziskovalnimi skupinami. Na ta način sem pripomogla k uvajanju novih pristopov in metod v naš prostor ter preko objavljanja znanstvenih prispevkov na mednarodnih kongresih k vključevanju Slovenije v skupino znanstveno razvitih držav. Rezultati raziskav so ojačali že obstoječe sodelovanje z raziskovalno skupino prof. Paole Lorenzon iz Univerze v Trstu. Poleg neposrednega raziskovalnega dela smo v projekt vključevali tudi študente in diplomante različnih smeri in tako pomembno prispevali k vzgoji in izobraževanju kadrov.

ANG

Through the postdoc project I become more involved in the field of neurobiology at the international level. Attending national and international scientific meetings I contributed to the creation of new opportunities for collaboration and knowledge sharing among related research groups. In this way, I introduced new approaches and techniques to our laboratory. Moreover, publishing scientific papers helped to integrate Slovenia into a group of scientifically developed countries. In addition, our latest results obtained in collaboration with prof. Paola Lorenzon from University of Trieste have strengthened the existing bilateral bonds. Beside research work, I got some experience with tutoring graduate and postgraduate students that were also included in the project, which represents an important contribution at the education level as well.

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

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

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23 Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24 Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25 Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26 Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27 Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28 Priprava/organizacija razstave		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29 Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30 Strokovna ocena stanja		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer
--	------------

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

13. Izjemni dosežek v letu 2013¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Medicinska
fakulteta

Urška Matkovič

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/21

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11)

[Nazaj](#)

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

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

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

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

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

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ 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](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

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

¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03

34-B2-A7-CA-7B-A2-DC-03-A7-58-0B-F8-78-B1-12-EE-FE-BE-4D-26