

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/37



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J1-4020
Naslov projekta	Študije 3D struktur promotorskih zaporedij in njihovih interakcij z ligandi
Vodja projekta	10082 Janez Plavec
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7560
Cenovni razred	
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	103 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo 2992 EN-FIST CENTER ODLIČNOSTI
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.04 Kemija 1.04.02 Strukturna kemija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.04 Kemija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Raziskovalno delo v okviru projekta smo usmerili v preučevanje DNA zaporedij bogatih z gvanini, ki imajo možnost tvorbe štiri verižnih DNA struktur - G-kvadrupleksov. G-kvadrupleksi igrajo pomembne biološke vloge v organizmu in hkrati predstavljajo obetavne tarče za biomedicinske aplikacije. Bioinformacijske analize so pokazale, da se v človeškem genomu

nahaja preko 376.000 ločenih zaporedij, ki bi lahko tvorili G-kvadruplekse. V številnih promotorskih regijah človeškega genoma, vključno s pomembnimi proto-onkogeni kot so c-myc, KRAS, bcl-2, c-kit, idr. so našli z gvanini bogata območja, ki lahko tvorijo G-kvadrupleksne strukture. Osnovni gradnik G-kvadrupleksov je gvaninski kvartet, v katerem so štiri gvaninske baze med seboj povezane z osmimi Hoogsteenovimi vodikovimi vezmi v planarno strukturo. NMR spektroskopija omogoča določanje struktur in karakterizacijo ravnotežij med njimi v odvisnosti od pogojev v raztopini. G-kvadrupleksi se lahko tvorijo iz ene, dveh ali celo iz štirih oligonukleotidnih verig. G-kvadrupleksi so strukturno zelo polimorfni, kar povezujemo s specifikami različnih oligonukleotidnih zaporedij, kakor tudi s pogoji v raztopini. Pri stabilizaciji kvadrupleksnih struktur igrajo zelo pomembno vlogo tudi povezovalne zanke, ki lahko potekajo diagonalno, po robu G-kvartetne ravnine ali pa zasedejo orientacijo z dvojnimi obratom verige, ki poteka preko stranske ploskve G-kvadrupleksnega jedra. Slednjo zanko zaradi njenega izgleda imenujemo tudi propelerska zanka. Sama narava in sestava povezovalnih zank je zelo pomembna tudi z vidika interakcij med DNA molekulo in ligandi (potencialnimi zdravili). Sintetizirali smo vodotopne amonijeve soli z vezanimi formilfenilno, acetilfenilno in betadiketonfenilno skupino.

ANG

Studies were focused on guanine-rich nucleic acids that can form G-quadruplex structures. G-quadruplexes exhibit important biological roles in organisms and therefore represent promising targets for biomedical applications. Bioinformatic studies have revealed more than 376.000 distinct sites in the human genome with potential to form G-quadruplex structures. In many promoter regions of the human genome including the important proto-oncogenes such as c-myc, KRAS, bcl-2, c-kit and others guanine-rich regions were observed which may form G-quadruplex structure. The basic building block of G-quadruplex is G-quartet in which four guanine bases are held together by eight Hoogsteen hydrogen bonds in a co-planar arrangement. NMR spectroscopy has enabled studies of high-resolution structures and characterization of their equilibria in response to changes in solution. G-quadruplexes can be formed from a single, two or even four oligonucleotides. G-quadruplexes are highly polymorphic, which has been associated with specifics of oligonucleotide sequences, as well as with conditions in solution. Connecting loops, which can span diagonal or edge of the outer G-quartet or can adopt a double chain reversal orientation along the side of G-quadruplex core, play very important role in stabilization of G-quadruplex structures. Orientation and sequence requirements of loops are very important in terms of interaction between DNA molecule and ligands (potential drugs). The primary research tool will be high resolution NMR spectroscopy. We will complement the results by UV, CD and other (spectroscopic) methods. In addition to characterizing 3D structures with atomic resolution we will also study dynamics of individual parts of the structure, especially loop regions. Structural information will be used in the design of new small molecule ligands with potential to regulate expression of a gene through (de)stabilization of G-quadruplex structure. We have synthesized water soluble ammonium salts with formyl-phenyl, acetyl-phenyl and betadiketo-phenyl groups.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Tvorba G-kvadrupleksov je v tesni povezavi s človeškimi boleznimi. Zaporedja bogata z gvanini so nadpovprečno zastopana v promotorskih regijah številnih genov, vključno z onkogeni, kot tudi v telomernih DNA regijah. Eno izmed slabše raziskanih področij nastanka G-kvadrupleksov so virusni genomi. Za tvorbo G-kvadrupleksnih struktur, njihovo strukturno integriteto in stabilizacijo je nujno potrebna prisotnost kationov. Razvoj majhnih molekul, ki se lahko vežejo in s tem pomagajo pri oblikovanju in stabilizaciji G-kvadrupleksnih struktur je v središču pozornosti iskanja zdravil proti raku in protivirusnim obolenjem.

Na projektu smo pričeli z določevanjem 3D struktur dveh zaporedij bogatih z gvanini. Modelne oligonukleotide smo sintetizirali na DNA sintetizatorju, jih očistili s pomočjo gelske filtracije oziroma s pomočjo tekočinske kromatografije (HPLC) z reverzno fazo. V začetni fazi strukturnih študij smo s pomočjo ¹H ¹D NMR spektrov oligonukleotidnih vzorcev raztopljenih v 95% H₂O ter ob primerni koncentraciji in naravi kationov ter pH vrednosti ugotovili, da je pri obeh izbranih zaporedjih prišlo do zvitja v G-kvadrupleksne strukture. Za nedvoumno asignacijo

imino in aromatskih protonov smo sintetizirali oligonukleotide, ki so vključevali delno ^{15}N izotopsko označene gvaninske preostanke na izbranem mestu v zaporedju. Glede na to, da lahko DNA oligonukleotidna zaporedja bogata z gvanini tvorijo strukture sestavljene iz ene, dveh ali celo iz štirih verig, smo s pomočjo meritev difuzijskega koeficienta z NMR spektroskopijo določili velikost oz. ocenili stehiometrijo v raztopini prisotnih zvitih konstruktov. Resolucija na skali NMR kemijskega premika nam je omogočila določitev translacijskih difuzijskih koeficientov za različne zvrsti (npr. dimer, monomer ali pa nezvita molekula) v preiskovanih vzorcih v odvisnosti od pogojev v raztopini kot so npr. sprememba koncentracije soli, pH ali pa temperature.

Z NMR spektroskopijo v raztopini smo preučevali G-kvadrupleks, ki ga tvori z gvanini bogat DNA oligonukleotid z zaporedjem $d(\text{G}_3\text{ATG}_3\text{ACACAG}_4\text{ACG}_3)$. Na to temo smo objavili članek z naslovom "Solution-state structure of an intramolecular G-quadruplex with propeller, diagonal and edgewise loops" v reviji *Nucleic Acids Res.* (2012, vol. 40, št. 14, str. 6946-6956). Opisali smo prostorsko strukturo G-kvadrupleksa, ki ga tvori z gvanini bogat DNA oligonukleotid z zaporedjem $d(\text{G}_3\text{ATG}_3\text{ACACAG}_4\text{ACG}_3)$. Zanimivost tega zaporedja je prisotnost štirih gvaninskih traktov neenakih dolžin, kar povečuje možnost za nastanek več topološko različnih G-kvadrupleksov. Kljub temu smo v prisotnosti K^+ ionov opazili nastanek le ene strukture, ki je sestavljena iz treh G-kvartetov, povezanih s propelersko, diagonalno in robno zanko različnih dolžin. Naša struktura predstavlja prvi primer določitve strukture G-kvadrupleksa z vsemi tremi glavnimi tipi zank.

V sodelovanju s kolegi iz Severne Irske smo preučevali zaporedje, ki izvira iz introna N-myc. Naši rezultati interakcij kationov s tem DNA oligonukleotidom so pokazali, da lahko tvori G-kvadruplekse v prisotnosti amonijevih, natrijevih in kalijevih ionov. V prisotnosti kalijevih ionov se vzpostavi ravnotežje med mono- in bimolekularnim G-kvadrupleksom. Ugotovili smo, da lahko ravnotežje pomikamo v eno ali drugo smer s spreminjanjem koncentracije kationov in/ali koncentracije DNA oligonukleotida. Pri višji koncentraciji kalijevih ionov in/ali oligonukleotida je favoriziran nastanek bimolekularnega G-kvadrupleksa. S pomočjo NMR spektroskopije smo določili topologiji zvitja, ki ju tvori preučevani oligonukleotid v prisotnosti kalijevih ionov. Monomolekularni G-kvadrupleks vsebuje tri G-kvartete in tri propelerske zanke, ki jih tvorijo posamezni nukleotidni preostanki. Posebnost bimolekularnega G-kvadrupleksa sta dva nukleotidna preostanka, ki vsak zase predstavljata vez med osrednjima G-kvartetoma in skupaj s propelerskimi zankami omogočata, da je šest G-kvartetov naloženih zaporedno eden na drugega. V naslednji fazi bomo eksperimentalno pridobljene podatke tako za zaporedje $d(\text{G}_3\text{ATG}_3\text{ACACAG}_4\text{ACG}_3)$ kot tudi za zaporedje, ki izvira iz introna N-myc gena, uporabili kot omejitve v simulaciji počasnega ohlajanja s pomočjo empiričnega polja sil z namenom določitve 3D struktur molekul v raztopini z atomsko resolucijo. Nadaljnje bomo omenjene G-kvadruplekse (de)stabilizirali z različnimi ligandi. Zaradi njihovih unikatnih strukturnih značilnosti ter opaženega ravnotežja med mono- in bimolekularnim G-kvadrupleksom bo izredno zanimivo, kam se bo določen ligand v primeru specifične vezave raje vezal in ali bo vplival na omenjeno ravnotežje.

Izvedli smo študijo oligonukleotida $d[\text{TAGGGCGGGAGGGAGGGAA}]$, ki izvira iz introna N-myc onkogenega. Ugotovili smo, da v prisotnosti K^+ ionov preučevan oligonukleotid tvori poleg pričakovanega enomolekularnega tudi dimeren G-kvadrupleks. Monomeren G-kvadrupleks, ki se tvori v prisotnosti K^+ ionov ima tri G-kvartete in tri fleksibilne propelerske zanke. V strukturi dimernega G-kvadrupleksa je šest G-kvartetov naloženih eden na drugega, vse verige pa so orientirane v isto smer. Ta struktura je edinstvena in do sedaj ni bila opažena. Rezultate študije smo objavili v članku z naslovom "Unique structural features of interconverting monomeric and dimeric G-quadruplexes adopted by a sequence from the intron of the N-myc gene" v reviji *J. Am. Chem. Soc.* (2012, vol. 134, št. 9, str. 4132-4141).

Preučevali smo tudi interakcije kationov s tetramernimi G-kvadrupleksi, ki jih tvori DNA oligonukleotid $d[\text{TG}_8\text{T}]$. Ob tem smo uporabil NMR metode, ki so omogočile tako študij prostorskih struktur tvorjenih G-kvadrupleksov kot tudi karakterizacijo vezave in gibanja ^{15}N izotopsko označenih amonijevih ionov. Ugotovili smo, da se pri sobni temperaturi tvorita dve zvrsti štirimolekularnega G-kvadrupleksa z osmimi G-kvarteti. Na podlagi rezultatov smo objavili članek z naslovom "Assessing roles of cations in G-quadruplex-based nanowires by

NMR" v reviji J. Phys. Chem. C, (2012, vol. 116, št. 44, str. 23821-23825).

Kinetika gibanja kationov je povezana s strukturnimi lastnosti posamezne G-kvadrupleksne topologije. Primerjava hitrosti izmenjave 15NH_4^+ ionov iz $d(\text{TG}_3\text{T})_4$ in njihovih analogih, ki vsebujejo 5'-5' oziroma 3'-3' inverzije polarnosti verige je pokazala počasnejše gibanje kationov na 5'-koncu kvadrupleksa. Rezultate študije smo objavili v članku z naslovom "Strand directionality affects cation binding and movement within tetramolecular G-quadruplexes" v reviji Nucleic Acids Res. (2012, vol. 40, str. 11047-11057).

V primeru $d(\text{G}_3\text{T}_4\text{G}_4)_2$ G-kvadrupleksa smo ugotovili, da se amonijevi ioni ne izmenjujejo skozi osrednjo G-kvartetno ravnino. S pomočjo uporabe HzExHSQC eksperimenta smo pokazali, da manjši protoni lahko prehajajo skozi osrednjo G-kvartetno ravnino. Rezultate smo objavili v članku z naslovom "Is there any proton exchange between ammonium ions localized within the $d(\text{G}_3\text{T}_4\text{G}_4)_2$ quadruplex?" v reviji Acta Chim. Slov. (2012, vol. 59, št. 3, str. 473-477).

V letu 2013 smo objavili članek z naslovom "G-rich VEGF aptamer with locked and unlocked nucleic acid modifications exhibits a unique G-quadruplex fold" v reviji Nucleic Acids Res. (2013, vol. 41, št. 20, str. 9524-9536). Opisali smo prostorsko strukturo G-kvadrupleksa, ki ga tvori 25 nukleotidov dolg z gvanini bogat aptamer, ki se veže na žilni endotelijski rastni faktor. Omenjeno zaporedje vsebuje pet gvaninskih preostankov zaporedoma v enem izmed gvaninskih traktov. 3D struktura na osnovi NMR podatkov je pokazala, da je vseh pet zaporednih gvaninskih ostankov udeleženih pri tvorbi G-kvartetov. Le-ti tvorijo sosednji stranici v jedru G-kvadrupleksa s pomočjo brez nukleotidne propelerske zanke. Posebnost strukture je tudi nov tip zanke v obliki črke D, ki omogoča vstavitve izoliranega gvaninskega preostanka v G-kvartet. 5' in 3' konec opisane strukture sta dobro strukturirana in pomembno prispevata k nastanku preorganiziranih intermediatov in njeni stabilizaciji.

Preučevali smo možnost tvorbe G-kvadrupleksnih struktur znotraj različnih regij genoma človeškega papiloma virusa. Okužba s človeškimi papiloma virusi (HPV) je ena izmed najpogostejših spolno prenosljivih bolezni in lahko vodi do razvoja različnih rakavih obolenj, vključno z rakom materničnega vratu, ki predstavlja enega izmed najbolj pomembnih zdravstvenih problemov v svetu. S pomočjo NMR spektroskopije in ostalih eksperimentalnih metod smo za določena z gvanini bogata zaporedja ugotovili, da imajo le-ta zmožnost tvorbe G-kvadrupleksnih struktur. Naši rezultati predstavljajo izhodišče za načrtovanje specifičnih ligandov, ki bi predstavljali nove metode za nadzor replikacije in transkripcije virusnih genomov. Rezultate študije smo objavili v članku z naslovom "Human papillomavirus G-quadruplexes" v reviji Biochemistry (2013, vol. 52, št. 41, str. 7207-7216).

Predhodno je bilo že pokazano, da nekateri z gvanini bogati oligonukleotidi z GC-konci s povezovanjem preko GCGC-kvartetov tvorijo dolge G-kvadrupleksne strukture, ki jih imenujemo tudi G-žice. S pomočjo NMR spektroskopije in ostalih metod kot so UV, CD, DLS smo primerjali štiri analogne oligonukleotide, ki se med seboj razlikujejo po številu in položaju GC-koncev. Vsi preučevani oligonukleotidi so se zvrili v G-kvadrupleksne strukture s paralelno usmerjenostjo verig. Ugotovili smo, da je povezovanje G-kvadrupleksov preko GCGC-kvartetov mogoče le na 5'-koncu oligonukleotidov, medtem ko tvorba GCGC-kvartetov na 3'-GC-koncih ni mogoča. Če končni G-kvartet v kvadrupleksu ni oviran z GC-konci, je omogočeno nalaganje kvadrupleksov. Če sta prosta oba končna G-kvarteta, z nalaganjem baz nastanejo dolgi G-kvadrupleksi, katerih dolžino smo ocenili na približno 20 nm. Omenjene rezultate smo objavili v članku z naslovom "Formation of G-wires : the role of G:C-base pairing and G-quartet stacking" v reviji The journal of physical chemistry C (2013, vol. 117, št. 44, str. 23208-23215).

V članku z naslovom "Ammonium ion binding to DNA G-quadruplexes: do electrospray mass spectra faithfully reflect the solution-phase species?", ki smo ga objavili v reviji Journal of the American Society for Mass Spectrometry (2013, vol. 24, št. 1, str. 1-8) smo preučevali vezavo amonijevih ionov znotraj različnih G-kvadrupleksnih struktur s pomočjo elektronske masne spektroskopije. Dobljeni rezultati kažejo, da so vsi ioni, ki so vezani med G-kvarteti znotraj posamezne G-kvadrupleksne strukture pomembni pri ohranitvi le-te v plinski fazi.

Sintetizirali smo vodotopne amonijeve soli z vezanimi formilfenilno, acetilfenilno in beta-diketonfenilno skupino (N,N-dimetil-N-(4-formilfenil)amonijev klorid, N,N-dimetil-N-(4-acetilfenil)amonijev klorid in N,N-dimetil-N-(4-but-1,3-dionilfenil)amonijev klorid). Omenjene skupine bi lahko delovale kot možna akceptorska mesta za interakcijo s kvadrupleksi. V okviru projekta smo objavili tudi članek z naslovom "Structures in solid state and solution of dimethoxy curcuminoids : regioselective bromination and chlorination", ki smo ga objavili v reviji Chemistry Central Journal (2013, vol. 7, št. 107, str. 1-20). Članek opisuje pripravo dimetoksi kurkuminoidov ter kloriranih in bromiranih derivatov. Uvedba halogenskega atoma vpliva na spremenjeno strukturo in posledično lahko omogoča drugačne interakcije z bioaktivnimi molekulami kot so proteini kakor tudi kvadrupleksi.

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

Zastavljeni cilji raziskovalne skupine so na projektu v celoti doseženi.

G-kvadrupleksi igrajo pomembne biološke vloge v organizmu in hkrati predstavljajo obetavne tarče za biomedicinske aplikacije. Bioinformacijske analize so pokazale, da se v človeškem genomu nahaja preko pol milijona zaporedij, ki bi lahko tvorila G-kvadruplekse. Z gvanini bogata zaporedja se nahajajo tako v telomernih koncih kot tudi v številnih promotorskih regijah človeškega genoma, vključno s pomembnimi proto-onkogeni kot so c-myc, VEGF, HIF-1 α , ret, KRAS, bcl-2, c-kit, PDGF-A in c-myb. V sodelovanju s prof. V. Vighlyskyjem iz Safarik Univerze v Košicah, Slovaška pa smo pokazali, da lahko nekatera z gvanini bogata zaporedja v določenih regijah človeškega papiloma virusa (HPV) v prisotnosti kalijevih ionov prav tako tvorijo G-kvadrupleksne strukture. V določenih primerih smo opazili tvorbo le ene zvrsti, medtem ko je v nekaterih primerih prišlo tudi do nastanka agregatov sestavljenih iz G-kvartetov. Takšno znanje je ključnega pomena pri načrtovanju specifičnih ligandov, ki bi predstavljali nove metode za nadzor replikacije in transkripcije virusnih genomov.

G-kvadrupleksi so strukturno zelo polimorfni. Lahko se tvorijo iz ene, dveh ali celo iz štirih oligonukleotidnih verig bogatih z gvanini. Pri sami topologiji zvitja igrajo pomembno vlogo tudi povezovalne zanke, ki lahko potekajo po robu ali diagonalni zunanje G-kvartetne ravnine ali pa tudi ob strani G-kvadrupleksnega jedra. Slednja je tako imenovana propellerska zanka. Poznavanje pravil, ki določajo topologijo zvitja v G-kvadrupleksno strukturo je tako ključnega pomena pri načrtovanju novih ligandov, ki bi sodelovali pri njihovi stabilizaciji. V sodelovanju s prof. R. N. Veedu iz Univerze v Queenslandu, Avstralija smo pokazali, da 25 nukleotidov dolg z gvanini bogat aptamer, ki se veže na žilni endotelijski rastni faktor, tvori v prisotnosti kalijevih ionov G-kvadrupleksno strukturo. Posebnost nastale G-kvadrupleksne strukture je, da je pet zaporednih gvaninskih preostankov znotraj enega G-trakta udeleženih pri tvorbi treh G-kvartetnih ravnin. Ti gvaninski preostanki tvorijo sosednji stranici v jedru G-kvadrupleksa s pomočjo brez nukleotidne propellerske zanke. Posebnost strukture je tudi nov tip zanke v obliki črke D, ki omogoča vstavitve izoliranega gvaninskega preostanka v G-kvartet. Takšen tip povezovalne zanke v literaturi do sedaj še ni bil opisan. Vse na novo opažene strukturne lastnosti omenjene G-kvadrupleksne strukture, bi lahko v prihodnje imele pomembno vlogo pri specifični vezavi ligandov.

V okviru iskanja novih ligandov za stabilizacijo G-kvadrupleksnih struktur smo pripravili vodotopne amonijeve soli z vezanimi formilfenilno, acetilfenilno in beta-diketonfenilno skupino.

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

Sprememb programa raziskovalnega dela in sestave projektne skupine ni bilo.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek

1.	COBISS ID	4920602	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Določitev edinstvenih prostorskih struktur monomernih in dimernih G-kvadrupleksov iz introna gena N-myc	
		<i>ANG</i> Unique structural features of interconverting monomeric and dimeric G-quadruplexes adopted by a sequence from the intron of the N-myc gene	
	Opis	<i>SLO</i> Z uporabo več-dimenzionalne NMR spektroskopije smo pokazali, da z gvanini bogat DNK oligonukleotid, ki izvira iz N-myc gena, tvori G-kvadruplekse v prisotnosti kalijevih, amonijevih in natrijevih ionov. Enomolekularni G-kvadrupleks, ki se tvori v prisotnosti kalijevih ionov ima tri G-kvartete in tri fleksibilne propelerske zanke. Prostorska struktura s tremi zankami, pri čemer je vsaka zanka sestavljena le iz enega nukleotida, predstavlja manjkajoč strukturni motiv med do sedaj znanimi paralelnimi G-kvadrupleksi. Strukturne lastnosti G-kvadrupleksa in njegova obstojnost tudi pri visokih temperaturah kažejo, da bi tvorba G-kvadrupleksa znotraj prvega introna v N-myc genu lahko imela specifično biološko vlogo. Pri povišanih koncentracijah kalijevih ionov in/ali DNK oligonukleotida se v raztopini spremeni razmerje zvrsti, in sicer se zmanjša delež monomernega in poveča delež dimernega G-kvadrupleksa. V slednjem je šest G-kvartetov naloženih drug na drugega, vse verige pa so orientirane v isto smer. Vsaka izmed štirih propelerskih zank je sestavljena iz le enega nukleotida. Posebnost dimernega G-kvadrupleksa je njen osrednji del, kjer sta tretji in četrti G-kvartet povezana z dvema adeninskima preostankoma obrnjenima stran od strukture na način, ki omogoča zaporedno nalaganje šestih G-kvartetov.	
		<i>ANG</i> A multidimensional heteronuclear NMR study has demonstrated that a guanine-rich DNA oligonucleotide originating from the N-myc gene folds into G-quadruplex structures in the presence of K ⁺ , NH ₄ ⁺ , and Na ⁺ ions. A monomeric G-quadruplex formed in K ⁺ ion containing solution exhibits three G-quartets and flexible propeller-type loops. The 3D structure with three single nucleotide loops represents a missing element in structures of parallel G-quadruplexes. The structural features together with the high temperature stability suggest specific biological role of G-quadruplex formation within the intron of the N-myc gene. An increase in K ⁺ ion and oligonucleotide concentrations resulted in transformation of the monomeric G-quadruplex into a dimeric form. The dimeric G-quadruplex exhibits six stacked G-quartets, parallel strand orientations and propeller-type loops. A link between the third and the fourth G-quartets consists of two adenine residues that are flipped out to facilitate consecutive stacking of six G-quartets.	
	Objavljeno v	American Chemical Society; Journal of the American Chemical Society; 2012; Vol. 134, iss. 9; str. 4132-4141; Impact Factor: 10.677; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.175; A ^{''} : 1; A ['] : 1; WoS: DY; Avtorji / Authors: Trajkovski Marko, Webba da Silva Mateus, Plavec Janez	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	5032474	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Struktura intramolekularnega G-kvadrupleksa s propelersko, diagonalno in robno zanko v raztopini	
		<i>ANG</i> Solution-state structure of an intramolecular G-quadruplex with propeller, diagonal and edgewise loops	
		Pokazali smo, da z gvanini bogat oligonukleotid d[G3ATG3ACACAG4ACG3] tvori G-kvadrupleks v prisotnosti K ⁺ ionov. S pomočjo NMR spektroskopije smo določili njegovo 3D strukturo z atomsko resolucijo. Oligonukleotid je sestavljen iz štirih G-traktov, od katerih tretji obsega štiri zaporedne gvanine. G-trakte prekinjajo različno dolga zaporedja negvaninskih	

	Opis	SLO	nukleotidov. Nastali intramolekularni antiparalelni (3+1) G-kvadrupleks je sestavljen iz treh G-kvartetov, ki so med seboj povezani s propelersko, diagonalno in robno zanko različnih dolžin. Diagonalna zanka je najbolj fleksibilen del strukture, medtem ko sta propelerska in robna zanka bolj strukturirani. G-kvadrupleks d[G3ATG3ACACAG4ACG3] predstavlja prvo strukturo štirivijačne DNA, ki vsebuje vse tri glavne tipe zank. 1H-NMR spektri so pokazali, da oligonukleotid tvori več struktur v prisotnosti Na ⁺ ali amonijevih ionov.
		ANG	DNA oligonucleotide d[G3ATG3ACACAG4ACG3] has been folded into a G-quadruplex in the presence of K ⁺ ions and its high-resolution NMR solution-state structure was determined. Oligonucleotide comprises of four G-tracts with the third one consisting of four guanines. G-tracts are intervened with non-G stretches of different lengths. A single intramolecular antiparallel (3+1) G-quadruplex exhibits three stacked G-quartets connected with propeller, diagonal and edgewise loops of different lengths. The propeller and edgewise loops are well structured, whereas the longer diagonal loop is more flexible. The determined 3D structure represents the first high resolution G-quadruplex structure where all of the three main loop types are present. 1D 1H-NMR spectra in sodium and ammonium ion containing solutions suggested the formation of several structures.
	Objavljeno v	Oxford University Press; Nucleic acids research; 2012; Vol. 40, no. 14; str. 6946-6956; Impact Factor: 8.278; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; A ^{''} : 1; A ['] : 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Marušič Maja, Šket Primož, Bauer Lubos, Viglasky Viktor, Plavec Janez	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	5132570	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	SLO	Usmerjenost verig vpliva na vezavo in gibanje kationov znotraj tetramolekularnih G-kvadrupleksov
		ANG	Strand directionality affects cation binding and movement within tetramolecular G-quadruplexes
		SLO	Zaporedja nukleinskih kislin, ki vsebujejo kratke dele bogate z gvaninskimi preostanki lahko tvorijo G-kvadrupleksne strukture, ki so sestavljene iz naloženih G-kvartetov. Zaradi prisotnosti štirih kisikovih atomov karbonylnih skupin, ki se nahajajo v središču vsakega G-kvarteta, je znano, da je nastanek kvadrupleksnih struktur odvisen od prisotnosti kationov. Kinetika gibanja kationov je povezana s strukturnimi lastnosti posamezne G-kvadrupleksne topologije. Primerjava hitrosti premikanja 15NH ₄ ⁺ ionov iz G-kvadrupleksnih struktur v raztopino v preiskovanih tetramernih kvadrupleksih je pokazala počasnejše gibanje kationov na 5'-koncu kvadrupleksa. Poleg tega je gibanje kationov skozi G-kvartet sestavljen iz vseh gvaninskih preostankov v sin konformaciji počasnejše v primerjavi z gibanjem skozi G-kvartet, ki ima vse preostanke v anti konformaciji. Nadalje je študija struktur G-kvadrupleksov, ki jih tvori oligonukleotid d (TG3T) in njegovi analogi, ki vsebujejo 5'-5' oziroma 3'-3' inverzije polarnosti verige pokazala, da medkvartetne ravnine ob inverziji polarnosti verige vežejo amonijeve ione z nižjo vezavno konstanto.
	ANG	Nucleic acid sequences containing short tracts of guanine residues are prone to fold into G-quadruplex structures composed of stacking G-quartets. It is well known that quadruplex structures exhibit a remarkable dependency on cations due to the presence of four carbonyl oxygen atoms in the middle of each G-quartet plane. Kinetics of cation movement is intrinsically correlated with structural details and local plasticity of specific G-quadruplex topology. The comparison of the rate constants for 15NH ₄ ⁺ ion movements from G-quadruplex into bulk solution for the studied tetrameric quadruplex structures revealed slower cation movements at the 5'-end of the quadruplexes. Furthermore, the cation movement through an	

		all-syn G-quartet is slower in comparison to the movement through an all-anti G-quartet. Additionally, study of G-quadruplex structures formed by d (TG3T) and its modified analogs containing a 5'-5' or 3'-3' inversion of polarity sites revealed that the inter-quartet cavities at the inversion of polarity sites bind ammonium ions less tightly than a naturally occurring 5'-3' backbone.
	Objavljeno v	Oxford University Press; Nucleic acids research; 2012; Vol. 40, no. 21; str. 11047-11057; Impact Factor: 8.278; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; A'': 1; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Šket Primož, Virgilio Antonella, Esposito Veronica, Galeone Aldo, Plavec Janez
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	5373466 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Nenavadna struktura z gvanini bogatega VEGF aptamera z zaklenjenimi in nezaklenjenimi modifikacijami nukleinskih kislin
		<i>ANG</i> G-rich VEGF aptamer with locked and unlocked nucleic acid modifications exhibits a unique G-quadruplex fold
	Opis	<i>SLO</i> S CD, UV in NMR spektroskopijo v raztopini smo preučevali 25 nukleotidov dolg z gvanini bogat aptamer, ki se veže na žilni endoteljski rastni faktor. Medtem ko se nemodificiran aptamer v prisotnosti kalijevih ionov zviže v več kvadrupleksnih struktur, vstavljanje zaklenjenih in odklenjenih nukleotidov na izbrana mesta v oligonukleotidu vodi v stabilizacijo le ene paralelne strukture s tremi G-kvarteti. Posebnost opisane strukture je pet zaporednih gvaninskih preostankov, ki tvorijo sosednji stranici v jedru G-kvadrupleksa s pomočjo brez nukleotidne propelerske zanke, ter nov tip zanke v obliki črke D, ki omogoča vstavitve izoliranega gvaninskega ostanka v G-kvartet. Sledita robna in propelerska zanka, ki povezujeta preostali vzporedni DNA verigi v jedru G-kvadrupleksa. 5' in 3' konec sta dobro strukturirana in pomembno prispevata k nastanku preorganiziranih intermediatov in stabilizaciji opisane strukture.
		<i>ANG</i> 25 nt guanine rich vascular endothelial growth factor aptamer was studied with CD; UV and NMR spectroscopy. While unmodified aptamer folds into several G-quadruplex structures in the presence of potassium ions, modifications with locked and unlocked nucleotides lead to the stabilization of a single parallel structure with three G-quartets. Unusual features of the structure include five consecutive guanine residues that are all included in the G-quadruplex core, and a new type of D-shaped loop that brings isolated guanine residue in the G-quartet. The edgewise and propeller loops connect the remaining two G-rich tracts. 5' and 3' overhangs are well structured and were shown to importantly contribute to the formation of structurally pre-organized intermediates and stabilizations of the single G-quadruplex structure.
	Objavljeno v	Oxford University Press; Nucleic acids research; 2013; Vol. 41, no. 20; str. 9524-9536; Impact Factor: 8.808; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A'': 1; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Marušič Maja, Veedu Rakesh N., Wengel Jesper, Plavec Janez
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	2606436 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Tvorba G-žic: vloga G:C baznega parjenja in nalaganja G-kvartetov
		<i>ANG</i> Formation of G-wires: the role of G:C-base pairing and G-quartet stacking
		G-žičke sestavljene iz neprekinjenih G-kvadrupleksnih struktur predstavljajo obetaven element za uporabo v nanotehnologiji, še zlasti v molekularni elektroniki. Predhodna raziskava je pokazala, da nekateri z

Opis	SLO	gvaninom bogati oligonukleotidi z GC-konci s povezovanjem preko G:C:G:C-kvartetov tvorijo dolge G-kvadruplekse. Z namenom ovrednotenja vpliva GC-koncev na tvorbo G-žic v raztopini, smo z UV, CD, NMR in DLS primerjali štiri analogne oligonukleotide, ki se med seboj razlikujejo po številu in položaju GC-koncev, vsi pa se zvijejo v G-kvadruplekse s paralelno topologijo. Jedro zaporedij je bilo v vseh štirih primerih enako d (GGTG4TGG). Ugotovili smo, da je povezovanje G-kvadrupleksov preko G:C:G:C-kvartetov mogoče le na 5'-koncu oligonukleotidov, medtem ko tvorba G:C:G:C-kvartetov na 3'-GC-koncih ni mogoča. Če končni G-kvartet v kvadrupleksu ni oviran z GC-konci, je omogočeno nalaganje kvadrupleksov. Če sta prosta oba končna G-kvarteta, z nalaganjem baz nastanejo dolgi G-kvadrupleksi, katerih dolžino smo ocenili na približno 20 nm.
	ANG	G-wires, continuous G-quadruplexes are a promising element for use in nanotechnology, particularly in molecular electronics. Previous investigation showed that some guanine-rich oligonucleotides with GC-termini can form long G-quadruplexes (G-wires), that are linked via G:C:G:C-quartets. To assess the role of GC-ends in G-wire formation in solution, we designed four analogous G-quadruple forming oligonucleotides, which differed in the number and position of GC-termini in the sequence. The core of oligonucleotide sequences was in all four cases the same d(GGTG4TGG) To compare their properties four different techniques were used: UV-spectroscopy, circular dichroism, NMR and dynamic light scattering. We concluded that formation of G:C:G:C-quartets is only possible at the 5'-terminus, while 3'-GC-termini cannot participate in G:C:G:C-quartets and therefore hinder the formation of longer structures. In the case when one of the G-quartets at the end of the quadruplex was not obstructed by a GC-terminus, stacking of G-quadruplexes was enabled. The longest G-quadruplex stacks were observed in the solution of oligonucleotide without GC-termini. Their estimated length was nearly 20 nm.
Objavljeno v	American Chemical Society; The journal of physical chemistry. C, Nanomaterials and interfaces; 2013; Vol. 117, iss. 44; str. 23208-23215; Impact Factor: 4.835; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.554; A': 1; WoS: EI, NS, PM; Avtorji / Authors: Ilc Tina, Šket Primož, Plavec Janez, Webba da Silva Mateus, Drevenšek Olenik Irena, Spindler Lea	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	4882714	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Vabljen predavanje na mednarodnem dogodku
		ANG	Invited lecture at an international meeting
	Opis	SLO	V predavanju na najpomembnejši konferenci s področja G-kvadrupleksov na svetu z izjemno mednarodno zasedbo smo predstavili naša najnovejša dognanja in rezultate o interakcijah in vplivu anorganskih soli na strukturo in dinamične lastnosti G-kvadrupleksov.
		ANG	In a lecture at the most important conference in the world focused on G-quadruplexes with exceptional international attendance, we presented our latest findings and results of interactions and the effects of inorganic salts on the structure and dynamic properties of G-quadruplexes.

	Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
	Objavljeno v	Praise Worth Prize; Special section on "3rd International Meeting on G-Quadruplexes and G-assembly", Sorrento (Italy), June 28th-July 1st, 2011; International Review of Biophysical Chemistry; 2011; Vol. 2, no. 3; str. 68-73; Avtorji / Authors: Šket Primož, Pirh Rok, Plavec Janez	
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	
2.	COBISS ID	263871488	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	3. letno srečanje East-NMR uporabnikov
		ANG	3rd Annual East-NMR User Meeting
	Opis	SLO	V Laškem smo med 13. in 16. novembrom 2012 organizirali simpozij z elitno mednarodno udeležbo z naslovom "3. letno srečanje East-NMR uporabnikov". V okviru mednarodnega simpozija smo predstavili in kritično ocenili nedavna odkritja na področju študij strukture in dinamike bioloških makromolekul z uporabo NMR. Udeleženci simpozija so predstavili rezultate svojih najnovejših raziskav s področij proteinov, oligonukleotidov in malih molekul, kakor tudi njihove strukturne študije in uporabnost. Simpozij je na enem mestu zbral vodilne znanstvenike, ki v svoje raziskovalno delo vključujejo študije z NMR spektroskopijo. Del programa simpozija s 100 udeleženci je potekal v okviru projekta EAST-NMR, ki je bil financiran v okviru 7. okvirnega programa Evropske komisije. Domača stran simpozija je dosegljiva na http://www.nmr.ki.si/eastNMR2012 .
		ANG	Symposium with renowned international participation entitled "3rd Annual East-NMR User Meeting" has been organized between November 13 and 16, 2012 in Lasko, Slovenia. The program of this international symposium included presentations and critical assessment of recent discoveries in the study of structure and dynamics of biological macromolecules using NMR. Symposium participants presented the results of their latest research in the fields of proteins, oligonucleotides and small molecules, as well as their structural studies and application. The symposium gathered in one place the leading scientists who use NMR spectroscopy in their research. The part of the symposium program with 100 participants was related to the EAST-NMR project, which was funded under the 7th Framework Programme of the European Commission. The symposium website is available at http://www.nmr.ki.si/eastNMR2012 .
	Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja	
	Objavljeno v	Slovenian NMR Centre, National Institute of Chemistry; 2012; 92 str.; Avtorji / Authors: Vodiškar Mateja, Podbevšek Peter, Plavec Janez, Lenarčič Živković Martina	
	Tipologija	2.25 Druge monografije in druga zaključena dela	
3.	COBISS ID	5049882	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Edinstvene strukturne značilnosti G-kvadrupleksov iz introna gena N-myc
		ANG	Unique structural features of G-quadruplexes from the intron of the N-myc gene
	Opis	SLO	V vabljenem predavanju na najpomembnejši konferenci s področja NMR spektroskopije na bioloških sistemih na svetu (International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, ICMRBS2012), ki je potekala med 19. in 24. avgustom 2012 v Lyonu v Franciji smo izjemni mednarodni zasedbi s preko 800 udeleženci predstavili naša najnovejša dognanja in rezultate o strukturah in dinamične lastnosti G-kvadrupleksov iz intronske regije onkogenega N-myc. Predavanje je doživelo izreden odziv.
			In an invited lecture at the most prominent conference in the field of NMR spectroscopy in biological system in the field of world (International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, ICMRBS2012),

		ANG	which took place between 19th and 24th of August 2012 in Lyon, France with exceptional international attendance, we presented our latest findings and results on structural and dynamic features of novel G-quadruplexes from intonic regions of N-myc oncogene. The lecture received a remarkable response.
	Šifra	B.04	Vabljen predavanje
	Objavljeno v	[s. n.]; 25th ICMRBS 2012; 2012; Str. 114; Avtorji / Authors: Plavec Janez	
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)	
4.	COBISS ID	266538752	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Zvijanje in prostorske strukture DNA G-kvadrupleksov
		ANG	Folding and 3D DNA G-quadruplex structures
	Opis	SLO	V svojem doktorskem delu je M. Trajkovski preučeval zvižanje, strukturne lastnosti in interakcije s kationi z gvanini bogatih oligonukleotidov DNA. Oligonukleotid DNA d[G2T2G2TGTG2T2G2], imenovan tudi "DNA aptamer trombina" oziroma ang. "thrombin binding aptamer" (TBA), se v prisotnosti K ⁺ in Na ⁺ ionov zviže v G-kvadrupleks. Z uporabo NMR, UV in CD spektroskopskih metod je preučeval strukturne lastnosti TBA in njegove interakcije s kationi v prisotnosti 15NH ₄ ⁺ , K ⁺ in Na ⁺ ionov. Študiral je tudi soodvisnost interakcij 15NH ₄ ⁺ ionov in strukturnih lastnosti v d[TG8T] ₄ , ki je doslej najdaljši štirimolekularen G-kvadrupleks, preučevan z metodami NMR v raztopini, ki omogočajo atomsko ločljivost. V študiji je uporabil d[TG8T] ₄ kot model za ovrednotenje vloge kationov v sistemih z večjim številom zaporedno naloženih G-kvartetov. Z uporabo heteronuklearnih NMR eksperimentov je ugotovil, da v prisotnosti 15NH ₄ ⁺ ionov nastaneta dve zvrsti štirimolekularnega G-kvadrupleksa, v katerih je sedem vezavnih mest za katione, ki se nahajajo med osmimi G-kvarteti, popolnoma zasedenih. Pravila, ki določajo samoorganizacijo G-kvadrupleksov so v veliki meri še neznana. Le-to omejuje razvoj sistemov, za katere je ključna kontrola topologije zvitja G-kvadrupleksov. Z namenom načrtno ustvariti enomolekularen G-kvadrupleks, s še nikoli prej opaženo topologijo zvitja, je konstruiral oligonukleotid DNA d[G3 TG3T4G3T3G3]. S pomočjo NMR spektroskopije je dokazal njegovo topologijo zvitja. Z uporabo NMR spektroskopije in drugih komplementarnih biofizikalnih metod je ugotovil, da se oligonukleotid, katerega zaporedje izvira iz z gvanini bogatega predela prvega introna N-myc onkogene, v prisotnosti K ⁺ , 15NH ₄ ⁺ in Na ⁺ ionov zviže v G-kvadruplekse. V primeru prisotnosti K ⁺ ionov v raztopini se vzpostavi ravnotežje med enomolekularnim in dvomolekularnim G-kvadrupleksom.
		ANG	In PhD thesis M. Trajkovski studied folding of guanine rich DNA oligonucleotides into G-quadruplexes and investigated their structural characteristics and cation interactions. DNA oligonucleotide d[G2T2G2TGTG2T2G2] also known as "thrombin binding aptamer" (TBA) adopts G-quadruplex structures in the presence of K ⁺ and Na ⁺ ions. With the use of NMR, UV and CD spectroscopy he studied structural features of TBA and its cation interactions in the presence of 15NH ₄ ⁺ , K ⁺ and Na ⁺ ions. He also studied interdependence of cation interactions and structural characteristics in d(TG8T) ₄ , which is the longest tetramolecular G-quadruplex studied with high-resolution NMR spectroscopy and is herein used as a model to provide insights into the role of cations in the systems comprised of a number of consecutively stacked G-quartets. With the use of solution state NMR he showed that in the presence of 15NH ₄ ⁺ ions d(TG8T) adopts two G-quadruplex species in which all seven cation binding sites between the eight G-quartets are completely occupied. Potential applications requiring feasibility to control the G-quadruplex fold are hindered due to the fact that the principles that govern the assembly of

		these tetrahelical structures are mostly unknown. He constructed the DNA oligonucleotide d[G3TG3T4G3T3G3] in order to design a unimolecular G-quadruplex with unprecedented folding topology. By the use of NMR spectroscopy he confirmed its folding topology. With the use of NMR spectroscopy and complementary biophysical methods he showed that the oligonucleotide originating from the guanine rich region from the first intron of the N-myc oncogene in the presence of K ⁺ , 15NH ₄ ⁺ and Na ⁺ ions adopts G-quadruplex structures. In the presence of K ⁺ ions he observed an equilibrium between monomolecular and dimeric N-myc G-quadruplexes.
Šifra	D.09	Mentorstvo doktorandom
Objavljeno v	[M. Trajkovski]; 2013; XI, 116, [XXXI] f. pril.; Avtorji / Authors: Trajkovski Marko	
Tipologija	2.08	Doktorska disertacija

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

/

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Pričakovani rezultati naših raziskav bodo pripomogli k razširitvi in poglobitvi znanja o zvijanju promotorskih zaporedij v kvadrupleksne strukture in njihovi dinamiki. Do sedaj je zelo malo znanega o samih strukturnih motivih takšnih G-kvadrupleksnih struktur. Takšno znanje pa je pomembno za razumevanje regulacije izražanja genov in pri načrtovanju novih organskih molekul, ki bi lahko specifično stabilizirale določeno G-kvadrupleksno strukturo. To bo pripomoglo v boju proti raznim oblikam raka in mnogim virusnim obolenjem. Prispevali bomo tudi k razvoju eksperimentalnih metod za določitev DNA struktur.

ANG

The results expected from our research work should contribute to expansion of knowledge on folding of promoter sequences into G-quadruplex structures and on their dynamic properties. Up till now, very little is known about G-quadruplex structures adopted by G-rich regions found in promoters. Such knowledge is important for understanding the regulation of gene expression and can be of help in design of novel organic molecules that could specifically stabilize certain G-quadruplex structure. This will help against various forms of cancer and many viral diseases. Alternatively, organic molecules with fluorescent properties can be used as in vivo probes. High resolution 3D structures will provide much needed insight into the nature of ligand binding interactions with G-quadruplexes. Currently it is difficult to rationalize ligand affinities due to the absence of appropriate data on geometry of interaction. In order to gain insights into the ligand-quadruplex interaction of individual parts of the structure special attention will be devoted to loop regions. We will also contribute to the development of experimental methods for DNA structure elucidation. Novel 'in cell' NMR methods will be developed to facilitate DNA structure elucidation within confines of cell environment.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Naše študije bodo potencialno pripomogle pri razvoju novih področij znanstvenih raziskav znotraj Slovenije, v glavnem na področju raziskav kvadrupleksnih struktur, ki se lahko tvorijo v promotorskih delih genov. Iskanje povezav med strukturo in funkcijo je pomembno za farmacevtsko industrijo. Pričakujemo, da bo naše delo pripomoglo k razumevanju novih strukturnih elementov kvadrupleksnih struktur, ki jih bo možno uporabljati kot tarče za razvoj novih zdravil. Nova zdravila bi lahko spodbudila farmacevtska podjetja k še večjemu zanimanju za to področje in posledično k odpiranju novih delovnih mest v Republiki Sloveniji.

ANG

Our studies may contribute to development of new areas of research and science in Slovenia, in particular to the studies of G-quadruplex structures that are expected to form in the promoter regions of genes. We expect that our work will allow identification of new structural elements within G-quadruplex structures that may be used as targets to develop new drugs. New small molecule drugs may in turn generate interest within pharmaceutical industry and may ultimately lead to the creation of new jobs in Republic of Slovenia. Novel NMR methodologies that are being developed at the Slovenian NMR centre, which serves a role of regional infrastructural facility, are used in several studies that range from preservation of literature at the national library to identification of objects in museums. NMR centre has been Centre of Excellence since it was awarded this title under FP5 project and has contributed importantly to promotion of Slovenian research and its integration into international exchange and projects. A very important activity envisaged in the proposal is rising awareness of potentials of NMR spectroscopy and in education of younger colleagues at both under- and graduate level.

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" value=""/>
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" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
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" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljaljskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>

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="text"/>	<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="text"/>	<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		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
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		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

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 2014¹²**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:

Kemijski inštitut

Janez Plavec

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	12.3.2015
-----------	-----------

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/37

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 2014 (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/2015 v1.00a
40-57-D8-1C-4C-92-17-56-06-B0-7A-8B-3F-91-54-19-62-27-3E-22