

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/152



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L4-2286
Naslov projekta	Razvoj novih oblik nanodelcev TNF-alfa za uporabo v terapiji
Vodja projekta	6108 Vladimira Gaberc-Porekar
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	9303
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	258 Lek farmacevtska družba d.d.
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.06 Biotehnologija 4.06.01 Tehnologija rekombinantne DNA
Družbeno-ekonomski cilj	13.02 Tehnološke vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	3.04
- Veda	3 Medicinske vede
- Področje	3.04 Medicinska biotehnologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Proteinska zdravila so zelo učinkovita in varna, vendar so zaradi same narave proteinov z njimi povezani specifični problemi, npr. priprava stabilnih farmacevtskih oblik, nujnost parenteralne administracije in zaradi kratkih razpolovnih časov pogosto doziranje. Nove generacije proteinskih zdravil skušajo te probleme zmanjšati z racionalnim načrtovanjem,

fuzijami, konjugacijami in vključevanjem proteinskih molekul v polimere v obliki hidrogelov in nanodelcev. Namen projekta je bil uporabiti primerno oblikovane proteinske analoge in iz njih pripraviti nanodelce.

Tvorbo proteinskih nanodelcev smo dosegli na dva načina, postprodukcijsko in z izražanjem v kvasovki *P. pastoris*. Za prvi pristop smo v *E. coli* pripravili s histidini bogate analoge TNF- α . Takšne proteinske molekule smo preko koordinativne vezi lahko vezali v nanodelce z uporabo kovinskih ionov (Zn) in komponent s kelatorskimi lastnostmi (majhnih polifunkcionalnih kelatorjev, primerno derivatiziranih dendrimerov in fosfatnih nanodelcev). Nastanek in velikost delcev smo lahko nadzorovali z razmerjem vstopnih molekul, prednost delcev, ki temeljijo na koordinativnih vezeh, pa je tudi spontano sproščanje posameznih proteinskih molekul ob ustrezni spremembi pogojev. Pri drugem pristopu smo ob posebnih pogojih izražanja tarčnega proteina v kvasovki *P. pastoris* (fuzija ali uporaba primernih vodilnih zaporedij) zaradi transporta v peroksisome spontano dosegli tvorbo proteinskih nanodelcev z visokim deležem tarčnega proteina.

Naši modelni proteini so bili analogi dejavnika tumorske nekroze alfa (TNF- α). TNF- α je humani protein z zelo raznovrstnim delovanjem, ki je zaslovel zaradi izrazitih protitumorskih učinkov. V telesu igra pomembno vlogo v imunskem odzivu, prekomerno lokalno izražanje pa privede do kroničnih vnetnih bolezni (revmatoidni artritis, Chronova bolezen). Zanimiv je torej v dveh različnih vlogah, kot zdravilo za zdravljenje nekaterih vrst raka in kot tarča za anti-TNF terapije. Naš namen je bil uporabiti različne analoge TNF- α in ustvariti nanodelce, ki bodo uporabni v obeh funkcijah, za protitumorsko terapijo (agonistično delovanje TNF- α) in anti-TNF terapijo (antagonistično delovanje TNF- α).

Za protitumorsko terapijo smo pripravili nanodelce z analogom, ki ima visoko citotoksično aktivnost, in jih uspešno testirali na mišjem tumorskem modelu, kjer smo pokazali izboljšane protitumorske učinke in zmanjšane sistemske toksične učinke.

Za anti-TNF terapijo pa smo na mišjem modelu pokazali uspešno tvorbo protiteles proti TNF- α , kar bi lahko pripomoglo k razvoju novih oblik terapije za zdravljenje kroničnih vnetnih stanj.

ANG

Protein pharmaceuticals are effective and safe but due to specificity of protein nature they are associated with certain problems, e.g. preparation of stable pharmaceutical formulations, necessity of parenteral administration and frequent dosing connected with short elimination half-lives. Next generation protein pharmaceuticals aim to reduce these problems using rational design, fusions, conjugations and incorporations into polymers in the form of hydrogels and nanoparticles. The aim of this project was to use specifically designed protein analogues and to trigger controlled aggregation.

Formation of protein nanoparticles was achieved in two ways, post-productively and via expression in methylotrophic yeast *P. pastoris*. For the first approach, in *E. coli* histidine rich TNF- α analogues were prepared. Upon mixing with metal ions (Zn) and entities with chelating function (small polyfunctional chelating compounds, suitably functionalized dendrimers and phosphate nanoparticles) higher protein structures based on metal coordination were formed. Nanoparticle formation and size was controlled by proportions of the components. Additional advantage of coordinatively bound particles is their ability of spontaneous release of individual protein molecules under appropriately changed conditions. In the second approach, specific expression of target proteins in *P. pastoris* (using suitable fusions or leading sequences) resulted in spontaneous formations of protein nanoparticles with a large amount of the target protein.

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in the form of various analogues served as model protein. TNF- α is a human protein with a variety of different functions that became known for its strong anti-tumor effects. In the body it plays a key role in immune response but excessive local expression leads to chronic inflammatory diseases (rheumatoid arthritis, IBD). From the medical point of view TNF- α is interesting in two ways, as a therapeutic in anti-tumor treatment, and as a target for anti-TNF- α therapies. Our intention

was to use different TNF- α analogues and create nanoparticles capable of both functions, anti-tumor activity (agonistic action of TNF- α) and anti-TNF activity (antagonistic action of TNF- α).

For anti-tumor activity nanoparticles containing a potent TNF- α analogue with high cytotoxic activity were prepared and successfully tested on mouse tumor model, where we proved improved anti-tumor effects and lower systemic toxicity.

For anti-TNF therapy we showed an effective formation of anti-TNF antibodies on mouse model, which could contribute to development of novel therapies for chronic inflammatory diseases.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Kot je razvidno iz rezultatov projekta in letnih poročil, prav tako pa tudi iz ocen le-teh, so bili cilji projekta doseženi. Prednosti pristopov terapij s proteinskimi nanodelci so bile izkazane na mišjih modelih.

Ključni rezultati so povzeti po letih projekta:

1. LETO

Največji poudarek je bil na pripravi treh različnih analogov dejavnika tumorske nekroze alfa (TNF- α). Analog LK801 je namenjen uporabi za protitumorsko terapijo, analoga H7dN6TNF in His10-TNF pa sta, zaradi znižane biološke aktivnosti, namenjena za uporabo v anti-TNF terapiji.

Omenjene analoge smo pridobili v bakteriji *E. coli*. Za nadaljnje poskuse v pogojih in vitro ter in vivo smo pripravili približno po 100 mg posameznega analoga.

Transformirane bakterijske kulture smo gojili v 5-litrskem bioreaktorju. Za čiščenje proteinov smo kot prvo kromatografsko stopnjo uporabili kovinsko kelatno afinitetno kromatografijo (IMAC). Za končno prečiščenje dela analogov, ki je namenjen poskusom na živalih, smo uporabili anionsko (AEC) izmenjevalno kromatografijo.

Za fizikalno-kemijsko karakterizacijo analogov TNF- α smo uporabili elektroforetske (SDS-PAGE), kromatografske (SE-HPLC, RP-HPLC) in spektroskopske metode (UV-VIS) in z njimi potrdili čistost in intaktnost očiščenih nalogov.

Analogom smo določili tudi količino endotoksinov, ki je bila pod mejo, določeno za uporabo na živalih. Vsem trem analogom smo določili tudi biološko aktivnost in vitro na celični liniji mišjih fibroblastov L929 in potrdili visoko aktivnost analoga LK801 in izrazito znižano aktivnost analogov H7dN6TNF in His10-TNF.

Pripravljene analoge TNF- α smo uporabili v preliminarnih poskusih agregacije ob dodatku kovinskih ionov in manjših polifunkcionalnih kelatorskih molekul. Pokazali smo, da se ob dodatku cinkovih ionov in kelatorskih molekul (TETA ali fitična kislina), da sprožiti agregacijo proteinskih molekul in da nastanejo nanodelci različnih velikosti.

Uspešno smo pripravili tudi fosfatne nanodelce, dekorirane s cinkovimi ioni. Priprava delcev je potekala z obarjalno reakcijo. Morfološke lastnosti samih fosfatnih nanodelcev in njihovo velikost smo spremljali z vrstično elektronsko mikroskopijo na poljsko emisijo (FE-SEM), s transmisijsko elektronsko mikroskopijo (TEM), z rentgensko praškovo difrakcijo (XRD) in z dinamičnim sipanjem svetlobe (DLS). Ugotovili smo, da so delci sferične oblike, velikosti med 50 in 60 nm ter da imajo strukturo hopeita. Omenjeni delci so namenjeni vezavi analogov TNF- α na površino preko koordinativne vezi.

Namesto kelatorskih molekul lahko za indukcijo samozdruževanja analogov TNF- α ob prisotnosti Zn^{2+} ionov uporabimo tudi primerno derivatizirane dendrimere, ki imajo večje število vezavnih mest za kovinske ione. V ta namen je naša partnerska skupina iz Grčije pod vodstvom prof. C. M. Paleosa pripravila tri različne tipe dendrimerov četrte generacije Boltorn H40 v obliki poliestrov, tako da so osnovno molekulo kompletno ali delno derivatizirali z jantarno kislino ali z EDTA.

Poleg priprave nanodelcev in vitro pa projekt vsebuje tudi pripravo delcev in vivo v metilotrofni kvasovki *Pichia pastoris*. Za izražanje v peroksisomih *P. pastoris* smo načrtali in optimirali tri različne genske konstrukte. Konstrukt, namenjen pridobivanju biološko aktivnega analoga TNF- α , vsebuje na C-koncu proteina sekvenco SKL, ki je potrebna za

transport v peroksisome. Druga dva konstrukta pa vsebujeta sekvenco neaktivnega TNF- α v fuziji ali z GFP na N-koncu ali z dodano sekvenco SKL na C-koncu.

2. LETO:

V drugem letu projekta je glavni del raziskav vseboval pripravo različnih tipov proteinskih nanodelcev (NP) z vezanimi TNF analogi.

Za pripravo delcev in vitro smo uporabili več principov, vsi pa temeljijo na vezavi s histidini bogatih analogov TNF- α preko koordinativne vezi. Za indukcijo samozdruževanja smo uporabili Zn²⁺ ione.

Tako smo pripravili naslednje delce:

- proteinski NP na osnovi majhnih polifunkcionalnih kelatorskih molekul
- proteinski NP na osnovi dendrimerov
- proteinski NP na osnovi fosfatnih (apatitnih) delcev, "dekorirani" z analogi TNF- α

Za pripravo NP s samozdruževanjem ter indukcijo kontrolirane agregacije smo uporabili kombinacijo majhnih polifunkcionalnih kelatorskih molekul, cinkovih ionov ter analogov TNF- α . Preizkusili smo različne multifunkcionalne kelatorske molekule: fitična kislina, TETA, kalcein, EGTA, BAPTA, TTHA, 1,2,4,5-benzentetrakarboksilna kislina, 1,4,5,8-naftalentetrakarboksilna kislina, melitična kislina, trans-1,2-diaminocikloheksan-N,N,N',N'-tetraacetna kislina in dietilentriaminpentaacetna kislina. Najboljše rezultate smo dobili ob uporabi kelatorskih molekul TETA ali fitična kislina, zelo pomembna pa je bila tudi hitrost dodajanja cinkovih ionov.

Namesto kelatorjev smo za indukcijo samozdruževanja analogov TNF- α ob prisotnosti Zn²⁺ ionov uporabili tudi primerno derivatizirane dendrimere, ki imajo večje število vezavnih mest za kovinske ione. V ta namen smo uporabili dendrimere četrte generacije Boltorn H40 (BH40).

Princip koordinativne vezave preko kovinskih ionov smo uporabili tudi za vezavo analogov TNF- α na fosfatne NP. Fosfatni NP so imeli na površini dobro dostopne Zn²⁺ ione, na katere smo v nevtralnih oz. rahlo bazičnih pogojih uspešno vezali vse tri s histidini bogate analoge TNF- α .

Vse pripravljene NP smo dobro okarakterizirali. Za spremljanje nastajanja proteinskih NP in njihovo karakterizacijo (predvsem določitev velikosti, oblike, površine in polidisperznosti) smo uporabljali gelsko kromatografijo (SEC), dinamično sipanje svetlobe (DLS) ter SEM in TEM.

Za najbolj zanimive NP smo izvedli študije sproščanja posameznih proteinskih molekul. Pogoji, pri katerih smo izvedli sproščanje so bili znižan pH (7,0, 6,5, 6,0 in 5,5) ali pa dodatek citronske kisline (0,5 mM in 5 mM). Za analizo sproščanja posameznih proteinskih molekul smo uporabili SDS-PAGE in ELISA test. Pričakovano smo najboljše sproščanje dosegli pri najnižjem pH ter ob dodatku 5 mM citrata. Sproščeni protein so imeli tudi ohranjeno biološko aktivnost. Sproščanje proteinskih molekul in s tem razpad delcev smo spremljali tudi z DLS in z SEC, kjer smo pokazali zmanjšanje velikosti delcev zaradi sproščanja proteinskih molekul.

Na in vitro modelu, ki je zasnovan na celični liniji Caco-2, smo tudi ocenili zmožnosti prehajanja delcev preko sluznice, kar bi bilo uporabno za anti-TNF terapijo na mestu vnetja v gastrointestinalnem traktu. Pokazali smo, da dendrimerni delci (dendrimer BH40) in tudi delci s kelatorjem TETA prehajajo do 10x bolje od samih proteinskih molekul. Za spremljanje lokalizacije analogov TNF- α oziroma NP v celicah Caco-2 pa smo uporabili konfokalno mikroskopijo.

Poleg tega smo pripravili tudi proteinske NP in vivo z izražanjem analogov TNF- α v peroksisomih kvasovke *Pichia pastoris* (Pp).

V peroksisomih so bili izraženi naslednji protein:

- LK805-SKL (E107K) – namenjen za protitumorsko terapijo
- LK799-SKL (K36F; A84V; S86Q) in GFP-LK798 (K36F; A84V) – namenjena za anti-TNF terapijo

Z diferencialnim centrifugiranjem smo tudi izolirali peroksisome ter jih analizirali na SEM.

3. LETO:

V zadnjem letu je glavni fokus projekta potekal na testiranju izbranih nanodelcev na

živalskih modelih in potrditvi možnosti uporabe za različne biomedicinske aplikacije. Ker so se tekom projekta kot najbolj perspektivni izkazali nanodelci pripravljene na osnovi samozdruževanja TNF- α analogov in majhnih polifunkcionalnih kelatorskih molekul ob dodatku cinkovih ionov, smo za poskuse na živalih uporabili takšne delce velikosti okoli 300 nm.

Vsa priprava nanodelcev je potekala pod aseptičnimi pogoji in končni pripravki (formulacije) namenjene za uporabo na živalskih modelih so imele stopnjo endotoksinov pod 0,5 EU/ml.

Za uporabo nanodelcev v protitumorski terapiji smo izvedli študije upočasnitve tumorske rasti na miših s podkožno vsajenimi Sa-1 tumorji po peritumoralni aplikaciji. Za poskuse smo uporabili nanodelce analoga LK801.

Z merjenjem velikosti in volumnov tumorjev smo določili hitrost rasti tumorjev v posameznih skupinah. S spremljanjem stranskih učinkov (umrljivost in zmanjšanje telesne teže živali) pa smo ocenili sistemske znake toksičnosti.

Pokazali smo, da so imele miši v skupini, ki je prejela nanodelce na osnovi LK801 podaljšane protitumorske učinke, torej naš pristop predstavlja dobro osnovo za razvoj protirakastih terapij s podaljšanim delovanjem. Še večji učinek se je pokazal pri živalih, ki so v začetku imele večje tumorje (nad 40 mm³), kjer so se nanodelci z LK801 izkazali za še bolj učinkovite v primerjavi z uporabo samega analoga LK801.

Zaradi upočasnjenega sproščanja molekul LK801 ni prišlo do višjih toksičnih koncentracij v skupini z nanodelci in so terapijo preživele vse živali. Nasprotno pa je v skupini, ki je prejela le analog LK801 20% živali poginilo zaradi stranskih toksičnih učinkov.

Določili smo tudi biodistribucijo analoga LK801, ko je bil apliciran v obliki nanodelcev ali kot sam protein. Za poskuse smo uporabili enak mišji tumorski model in peritumoralno aplicirali substance ob primerni velikosti tumorjev. Po 1, 3 in 5 dneh smo miši žrtvovali. Izbrane organe (jetra, vranica, tumor, ledvice) smo homogenizirali in v ekstraktih z visoko občutljivim TNF ELISA kitom določili količino analoga LK801 v posameznem organu. Določili smo tudi količino analoga LK801 v serumu.

Med skupinami smo v tumorskem tkivu in serumu opazili pomembne razlike v količini LK801. Pri aplikaciji nanodelcev smo opazili upočasnjeno sproščanje in največjo količino LK801 v tumorskem tkivu po 5 dneh, medtem ko je bila ta v skupini z apliciranim samim LK801 najvišja prvi dan. V serumu je bila količina najvišja prvi dan pri obeh skupinah. V drugih organih bistvenih razlik ni bilo.

Nanodelce primerne za uporabo v anti-TNF terapiji smo testirali na mišjem modelu in spremljali nastanek protiteles. Za študij imunskega odziva smo uporabili nanodelce na osnovi analoga H7dN6TNF. Nanodelce smo aplicirali podkožno, po 6 tednih pa smo mišim odvzeli serum, v katerem smo določili količino protiteles proti TNF- α . Pokazali smo, da so aplicirani nanodelci sprožili močnejši imunski odziv in z ELISA testom določili visoko količino protiteles proti TNF-alfa.

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

Za uspešen zaključek prvega leta projekta so bili doseženi naslednji cilji:

- Priprava analogov TNF- α : LK801, His10-TNF in H7dN6TNF v bakteriji *E. coli* ter njihova karakterizacija
- Priprava Zn-fosfatnih nanodelcev
- Priprava ustrezno derivatiziranih dendrimerov
- Preliminarni poskusi agregacije proteinskih analogov s kovinskimi ioni in polifunkcionalnimi kelatorskimi molekulami
- Priprava genskih konstruktov za izražanje proteinov LK801, H7dN6TNF in His10-TNF v kvasovki *P. Pastoris*

Za uspešen zaključek drugega leta projekta so bili doseženi naslednji cilji:

- Uspešno izvedeni poskusi agregacije s kovinskimi ioni in izbranimi majhnimi polifunkcionalnimi kelatorskimi molekulami
- Uspešno izvedeni poskusi agregacije s kovinskimi ioni in derivatiziranimi dendrimeri
- Priprava različnih tipov nanodelcev "dekoriranih" s proteini
- Analiza in karakterizacija vseh tipov proteinskih nanodelcev
- Poskusi sproščanja posameznih proteinskih molekul *in vitro*
- *In vitro* testiranje prehajanja nanodelcev na Caco-2 modelu črevesnega epitelija v primerjavi s prehajanjem samega proteina
- Uspešno izražanje analogov TNF-alfa v peroksisomih kvasovke *P. pastoris* ter izolacija in analiza peroksisomov

Za uspešen zaključek tretjega leta projekta so bili doseženi naslednji rezultati:

- Uspešno smo izbrali optimalne delce za poskuse na živalih, tako za anti-TNF terapijo, kot za terapijo proti raku.
- Z dodatno stopnjo čiščenja smo pripravili različne analoge TNF-alfa v kvaliteti primerni za živalske poskuse, prav tako pa razvili postopek priprave nanodelcev, kjer je kakovost končnega produkta (formulacije) ustrezala zahtevam za uporabo na živalskem modelu.
- Izvedli smo več študij za testiranje protitumorske terapije s podaljšanim delovanjem na miših z vsajenimi tumorji in pokazali da z zadržanim sproščanjem TNF-alfa analoga LK801 dosežemo boljše protitumorske učinke in manjšo sistemsko toksičnost v primerjavi z uporabo samega proteina.
- Določili smo biodistribucijo analoga TNF-alfa po organih na miših z vsajenimi tumorji in pokazali podaljšano zadrževanje v tumorjih.
- Uspešno smo pokazali tudi povečan imunski odziv in tvorbo protiteles proti TNF-alfa po podkožni aplikaciji na miših.

Ocenjujemo, da so bili doseženi vsi zastavljeni cilji, podani v projektni dokumentaciji.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Ni bilo sprememb programa projekta in delo je potekalo v okviru načrtanih planov. Tudi pri sestavi projektne skupine ni bistvenih sprememb. Vodja projekta dr. Vladimira Gaberc-Porekar se je tekom projekta upokojila, vendar je še vedno vodila projekt in sodelovala pri izpolnjevanju zastavljenih ciljev.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

		Znanstveni dosežek	
1.	COBISS ID	4607770	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Cink-fosfatni nanodelci z reverzibilno pripetimi analogi TNF-alfa: zanimiv koncept za potencialno uporabo v aktivni imunoterapiji
		ANG	Zinc-phosphate nanoparticles with reversibly attached TNF- [alfa] analogs
	Opis	SLO	Članek opisuje pripravo in potencialno uporabo cink-fosfatnih nanodelcev z vezanimi analogi TNF-alfa. TNF-alfa vezan v takšne nanodelce ima znižano biološko aktivnost, a ohranjene epitope, tako da bi bili takšni delci uporabni za aktivno imunoterapijo pri kroničnih vnetnih boleznih, kjer je nivo TNF-alfa močno povišan.
		ANG	This paper describes the preparation and potential use of zinc phosphate nanoparticles with bound TNF-alpha analogues. TNF-alpha bound in such nanoparticles has reduced biological activity, but conserved epitopes, so such particles would be useful for active immunotherapy in chronic inflammatory diseases where TNF-alpha levels are significantly increased.
			Kluwer Academic Publishers; Journal of nanoparticle research; 2011; Vol.

	Objavljeno v	13, no. 7; str. 3019-3032; Impact Factor: 3.287; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.27; A': 1; WoS: DY, NS, PM; Avtorji / Authors: Hribar Gorazd, Žnidaršič Andrej, Bele Marjan, Maver Uroš, Caserman Simon, Gaberšček Miran, Gaberc-Porekar Vladka	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	512245816	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Kalcijev fosfat kot biomaterial in njegova uporaba v biomedicinskih aplikacijah
		ANG	Calcium phosphate as a biomaterial and its use in biomedical applications
	Opis	SLO	Poglavje v mednarodni publikaciji opisuje uporabo cinkovega fosfata v različnih biomedicinskih aplikacijah, predvsem na področju implantatov in kot material za nadomestitev kostne mase, kot dostavni sistem za nukleinske kisline, kot adjuvans za vakcine in kot dostavni sistem za različna zdravila.
		ANG	The chapter in the international publication describes the use of zinc phosphate in different biomedical applications, especially as implants and bone replacement materials, nucleic acid delivery, vaccine adjuvant and as a delivery system for different drugs.
	Objavljeno v	Gorazd Hribar, Andrej Znidarsic, Uros Maver; Publication: Phosphates: Sources, Properties and Applications; Chapter title: Calcium Phosphate as a Biomaterial and its Use in Biomedical Applications; 2012: 39p; NOVA SCIENCE PUBLISHERS, INC.	
	Tipologija	1.16 Samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji	
3.	COBISS ID	4156698	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Proces za čiščenje in/ali izolacijo biološko aktivnega granulocitne kolonije stimulirajočega dejavnika
		ANG	Process for the purification and/or isolation of biologically active granulocyte colony stimulating factor
	Opis	SLO	Izum opisuje proces za izolacijo biološko aktivnega granulocitne kolonije spodbujajočega dejavnika G-CSF, ki omogoča ločbo pravilno zvitih biološko aktivnih molekul od nepravilno zvitih, neaktivnih monomernih, oligomernih, polimernih in agregiranih oblik G-CSF s pomočjo afinitetne kromatografije IMAC. Za odstranitev zadnjih sledov nečistot sta potrebni samo še dve kromatografski stopnji, kationska izmenjevalna kromatografija in gelska filtracija. Process omogoča pridobivanje G-CSF s čistoto več kot 99% z visokim izkoristkom in je primeren za industrijsko produkcijo omenjenega proteina.
		ANG	A process for isolation of biologically active G-CSF is disclosed, enabling the separation of correctly folded biologically active monomeric G-CSF from the incorrectly folded, biologically inactive monomeric, oligo- or polymeric and also from aggregated molecules of G-CSF using affinity chromatography IMAC. The process can be advantageously performed under native conditions. Only 2 additional chromatographic steps, CEX and SEC, are needed for polishing. The process results in the high-yield of G-CSF with a purity of greater than 99% and is particularly suitable for industrial production.
	Objavljeno v	GABERC-POREKAR, Vladka, MENART, Viktor. Process for the purification and/or isolation of biologically active granulocyte colony stimulating factor : European patent no. EP1458757 B1, date of publication 18 February 2009 : also published as US2005159589, SI21102, CN1606568, CA2469984, AU2002366275. [S. l.]: European Patent Office, 2009. 27 str. + 5 str. pril.	
	Tipologija	2.24 Patent	

4.	COBISS ID	4143898	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Povezave med biološko aktivnostjo (in vitro) konjugatov PEG-protein in njihovim kromatografskim obnašanjem	
	ANG	Correlations between in vitro potency of polyethylene glycol-protein conjugates and their chromatographic behaviour	
Opis	SLO	Pegilacija velja danes za najbolj učinkovito metodo za podaljšanje razpolovnega časa proteinskih zdravil. Večina pozitivnih farmakoloških učinkov se navadno pripisuje povečanemu hidrodinamskemu volumnu molekule. Za raziskave vpliva PEG na biološko aktivnost in vitro smo pripravili serijo dobro definiranih konjugatov interferona α -2b s PEGi različnih dolžin in oblik. Raziskave so razen pričakovanega vpliva velikosti molekule pokazale močno korelacijo med biološko aktivnostjo in obnašanjem pri kationski kromatografiji. Obe metodi zaznavata vpliv senčenja površine zaradi pripetega PEGa.	
	ANG	Pegylation is an efficient methodology for half-life extension of proteins. Most of the positive pharmacological effects are usually ascribed to increased molecular size. To explore the impact of PEG on in vitro potency, a series of well-defined conjugates of IFN were prepared with PEGs of different lengths and shapes attached to the N-terminus of the protein. Beside of the expected impact of increased molecular size, the studies revealed high correlation between in vitro potency and chromatographic behavior on CEC, both methods reflecting the protein masking effect by the attached PEG moiety.	
Objavljeno v	Academic Press.; Analytical biochemistry; 2009; Vol. 389, no. 1; str. 27-31; Impact Factor: 3.287; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.915; A': 1; WoS: CO, CQ, EA; Avtorji / Authors: Caserman Simon, Kusterle Mateja, Kunstelj Menči, Milunović Tatjana, Schiefermeier Mark, Jevševar Simona, Gaberc-Porekar Vladka		
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
5.	COBISS ID	1452892	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Karakterizacija in potencialna uporaba dimer G-CSF in njenih pegiliranih konjugatov	
	ANG	The characterization and potential use of G-CSF dimers and their pegylated conjugates	
Opis	SLO	Prispevek opisuje alternativni pristop k razvoju novih oblik terapevtskih molekul, ki temelji na dimerizacijo proteinov. Takšno načelo je bilo uporabljeno za pripravo različnih dimer G-CSF in njihovih pegiliranih konjugatov z namenom, da se pridobi dimer z izboljšanimi terapevtskimi lastnostmi. Podobna načela se lahko uporabijo tudi za pripravo različnih delcev s TNF.	
	ANG	This paper describes an alternative approach to develop new forms of therapeutic molecules based on protein dimerization. Such a principle was used to prepare different G-CSF dimers and their pegylated conjugates with the aim to obtain a dimer with enhanced therapeutic properties. Similar principles could be used also to prepare different TNF-based particles.	
Objavljeno v	Slovensko kemijsko društvo = Slovenian Chemical Society; Acta chimica slovenica; 2011; Vol. 58, no. 1; str. 1-8; Impact Factor: 1.328; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.001; WoS: DY; Avtorji / Authors: Fidler Katarina, Jevševar Simona, Milunović Tatjana, Škrajnar Špela, Premzl Aleš, Kunstelj Menči, Zore Irena, Podobnik Barbara, Kusterle Mateja, Caserman Simon, Kenig Maja, Smilović Vanja, Gaberc-Porekar Vladka		
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine²

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	4688922	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Proteinski nanodelci na osnovi TNF-alfa in njihova uporaba v terapiji proti raku in anti-TNF terapiji	
	ANG	Protein nanoparticles containing TNF- [alpha] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF therapy	
Opis	SLO	Na konferenci, kjer so bili zbrani glavni strokovnjaki iz področja TNF in citokinov in ki poteka vsaki dve leti, smo v okviru predavanja in postra predstavili rezultate dela na projektu, s poudarkom na pripravi nanodelcev na osnovi TNF in uporabo v biomedicinskih aplikacijah.	
	ANG	On the conference, which gathered the key researchers working in the field of TNF and other cytokines, we presented the results of the project in oral presentation and poster, with the emphasis on TNF-based nanoparticle preparation and its use in biomedical applications.	
Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci		
Objavljeno v	The 13th International TNF conference, May 15-18, 2011, Hyogo, Japan : [programme and abstracts]. [S. l.: s. n.], 2011, str. 118; Avtorji / Authors: Hribar Gorazd, Žnidaršič Andrej, Bele Marjan, Maver Uroš, Caserman Simon, Gaberc-Porekar Vladka, Novaković Srdjan, Cerkovnik Petra		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
2.	COBISS ID	4823834	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Proteinski nanodelci na osnovi TNF-alfa in njihova uporaba v terapiji proti raku in anti-TNF terapiji	
	ANG	Protein nanoparticles containing TNF-[alpha] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF therapy	
Opis	SLO	Na lokalni konferenci smo v obliki postra predstavili rezultate raziskav v okviru projekta in na ta način obvestili znanstveno skupnost v Sloveniji o njih. Predstavljeni so bili nanodelci na osnovi TNF in njihova uporaba v anti-TNF terapiji in terapiji proti raku.	
	ANG	On the local conference we presented our results in the form of poster presentation and in this way informed the Slovenian scientific community. We presented TNF-based nanoparticles and their use in anti-TNF therapy and in anti-cancer therapy.	
Šifra	B.06 Drugo		
Objavljeno v	9th Congress of the Slovenian Biochemical Society [also] 5th Congress of the Slovenian Microbiological Society with International Participation [also] 3rd CEFORM (Central European Forum for Microbiology), Maribor, 12th - 15th October 2011. Abstract book. Maribor: Zavod za zdravstveno varstvo, 2011, str. 163. Authors: Hribar Gorazd, Žnidaršič Andrej, Lenassi Zupan Ana, Cerkovnik Petra, Milunović Tatjana, Maver Uroš, Bele Marjan, Caserman Simon, Novaković Srdjan, Gaberc-Porekar Vladka		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
3.	COBISS ID	4283162	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Histidinski preostanki kot orodje za tvorbo proteinskih nanodelcev - vabljen predavanje	
	ANG	Histidine residues as a tool for protein nanoparticle formation - invited lecture	
		Vabljen predavanje na mednarodni konferenci EuroNanoMedicine -	

Opis	SLO	HRIBAR, Gorazd, ŽNIDARŠIČ, Andrej, BELE, Marjan, CASERMAN, Simon, SMILOVIČ, Vanja, VENTURINI, Peter, GABERC-POREKAR, Vladka. Histidine residues as a tool for protein nanoparticle formation. V: EuroNanoMedicine 2009, September 28-30, 2009, Bled, Slovenia. Book of abstracts incl. programme. [S. l.: s. n., 2009], str. 32.	
	ANG	Invited lecture at the international conference EuroNanoMedicine - HRIBAR, Gorazd, ŽNIDARŠIČ, Andrej, BELE, Marjan, CASERMAN, Simon, SMILOVIČ, Vanja, VENTURINI, Peter, GABERC-POREKAR, Vladka. Histidine residues as a tool for protein nanoparticle formation. V: EuroNanoMedicine 2009, September 28-30, 2009, Bled, Slovenia. Book of abstracts incl. programme. [S. l.: s. n., 2009], str. 32.	
Šifra	B.04 Vabljen predavanje		
Objavljeno v	HRIBAR, Gorazd, ŽNIDARŠIČ, Andrej, BELE, Marjan, CASERMAN, Simon, SMILOVIČ, Vanja, VENTURINI, Peter, GABERC-POREKAR, Vladka. Histidine residues as a tool for protein nanoparticle formation. V: EuroNanoMedicine 2009, September 28-30, 2009, Bled, Slovenia. Book of abstracts incl. programme. [S. l.: s. n., 2009], str. 32.		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
4. COBISS ID	248819200	Vir: COBISS.SI	
Naslov	SLO	Nadzorovana agregacija analogov dejavnika tumorske nekroze alfa v proteinske nanostrukture	
	ANG	Controlled aggregation of tumor necrosis factor alpha analogs into protein nanostructures	
Opis	SLO	Doktorska disertacija z naslovom "Nadzorovana agregacija analogov dejavnika tumorske nekroze alfa v proteinske nanostrukture" opisuje nove pristope, kako pripraviti proteinske nanodelce, ki bi v razmerah in vivo omogočali kontrolirano sproščanje aktivnih molekul.	
	ANG	Doctoral thesis entitled "Controlled aggregation of tumor necrosis factor alpha analogs into protein nanostructures" describes novel approaches how to prepare protein nanoparticles capable of controlled release of active molecules in vivo.	
Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom		
Objavljeno v	HRIBAR, Gorazd. Nadzorovana agregacija analogov dejavnika tumorske nekroze alfa v proteinske nanostrukture = Controlled aggregation of tumor necrosis factor alpha analogs into protein nanostructures : doktorska disertacija. Ljubljana: [G. Hribar], 2009. VII, 139 f., ilustr., tabele.		
Tipologija	2.08 Doktorska disertacija		
5. COBISS ID	4615962	Vir: COBISS.SI	
Naslov	SLO	Proteinski nanodelci z TNF-alfa analogi in njihova uporaba v terapiji proti raku in anti-TNF terapiji	
	ANG	Protein nanoparticles containing TNF- [alfa] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF therapy	
Opis	SLO	Na konferenci, kjer so bili zbrani ključni raziskovalci, ki delujejo na področju citokinov smo predstavili rezultate projekta in naš prispevek na področju razvoja novih terapevtikov na osnovi TNF.	
	ANG	On the conference, which gathered the key researchers working in the field of cytokines, we presented the results of the project and our contribution to the field of novel TNF-based therapeutics.	
Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci		
Objavljeno v	HRIBAR, Gorazd, ŽNIDARŠIČ, Andrej, BELE, Marjan, MAVER, Uroš, CASERMAN, Simon, GABERC-POREKAR, Vladka. Protein nanoparticles containing TNF- [alfa] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF		

	therapy. V: 9th Annual cytokines & inflammation : conference proceedings : Jan 27-28, 2011, San Diego, California. [S. l.: s. n.], 2011.
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Prehod mladih raziskovalcev na pomembna mesta v razvoju farmacevtske družbe Lek d.d. kot posledica uspešnega sodelovanja obeh partnerjev na projektu:

- dr. Ana Lenassi Zupan (Biofarmacevtika Lek)
- dr. Mateja Novak Štagoj (Razvojni Center Lek)
- Špela Jalen (Biofarmacevtika Lek)

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Nadzorovana priprava proteinskih nanodelcev za uporabo v farmaciji in medicini predstavlja znanstven in tehnološki izziv, ki šele čaka na prave rešitve. Čeprav imamo v naravi dober vzgled v virusnih delcih, oziroma bolj natančno, v zgradbi virusnega proteinskega plašča, pa pri večini znanih praktičnih izvedb teh možnosti, ki jih je za tvorbo virusov razvila evolucija, še ne znamo ali ne moremo uporabiti. Glavni prispevek našega projekta je način tvorbe proteinskih delcev, ki ne temelji na močnih kovalentnih vezeh, temveč na številnih, čeprav relativno šibkih interakcijah med kovinskimi ioni in skupinami na proteinih, ki so donorji elektronov. Zanimivost in prednost tovrstnih interakcij je, da jih je s spremembo pogojev v okolju možno enostavno prekiniti, kar lahko izkoristimo za pripravo "pametnih" nanodelcev.

V projektu smo uspeli pokazati, da se da z uporabo cinkovih ionov, majhnih polifunkcionalnih kelatorskih molekul ali dendrimerov s kelatorsko funkcijo in s histidini bogatih proteinov tvoriti nanodelce različnih velikosti, katerih osnova je reverzibilna vezava preko koordinativne vezi. Prav tako pa smo uspeli pripraviti anorganske (fosfatne) nanodelce s cinkovimi ioni na površini, ki so prav tako primerni za vezavo proteinov preko koordinativne vezi. Poleg in vitro priprave številnih nanodelcev na osnovi TNF, pa nam je uspelo pripraviti tudi delce in vivo, z izražanjem v kvasovki *Pichia pastoris*. Ti delci bi bili posebno uporabni za uporabo v anti-TNF terapiji, saj izkazujejo znižano biološko aktivnost in bi bili dovolj imunogeni za sprožitev aktivne imunizacije.

ANG

Controlled preparation of protein nanoparticles for pharmaceutical and medical purposes is a challenge for science as well as for technology and still waiting for right solutions. Although virus particles, more precisely, the structure of the virus protein coat, presents a good example from nature, a great majority of rules developed by nature for virus particle assembly still cannot be directly applied in practice. The main contribution of our project is an original way of preparation of protein nanoparticles, which is based upon numerous relatively weak interactions among metal ions and electron donor groups on the protein molecules. An interesting property of such interactions is that they can be easily interrupted by changing environmental conditions, which can be applied as an advantage to design "smart" responding nanoparticles.

In this project we were able to show that with the use of zinc ions, small polifunctional chelating agents or dendrimers with chelating function and histidine rich proteins, nanoparticles of various sizes can be formed and that the basis for the binding is coordinative bond. We were also able to prepare inorganic (phosphate) nanoparticles with zinc ions on the surface, which are also suitable for binding proteins through coordinative bond. In addition to in vitro preparation of number of nanoparticles based on TNF, we also managed to produce particles in vivo, with expression in yeast *Pichia pastoris*. These particles would be particularly useful for use in anti-TNF therapy, due to reduced biological activity and could be sufficiently immunogenic to trigger active immunization.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

V okviru projekta "Razvoj novih oblik nanodelcev TNF-alfa za uporabo v terapiji" smo razvili postopke za oblikovanje "pametnih" proteinskih nanodelcev, ki so sposobni sproščanja aktivne učinkovine na tarčnem mestu, na primer v tumorskem tkivu, pri čemer bi bilo okoliško tkivo zaradi invazivne molekule oziroma njenih toksičnih stranskih učinkov veliko manj prizadeto, kot ob uporabi iste učinkovine v običajni topni obliki. Gre torej za raziskave, ki lahko pripeljejo do učinkovitih proteinskih zdravil druge generacije, pri katerih se ohranja učinkovitost običajnih proteinskih zdravil, postajajo pa prijaznejša za bolnika. Študij pristopov za pridobivanje proteinskih biofarmaceutikov druge generacije se tudi v svetovnem merilu uvršča med najsodobnejše raziskave na področju farmaceutike. Ker so principi nastajanja proteinskih nanodelcev, ki jih proučujemo, široko uporabni za različne proteine, naše raziskave podpira industrijski partner Lek farmacevtska družba d.d., pri čemer gre za odlično sodelovanje med akademsko sfero in slovensko farmacevtsko industrijo. Le-ta se danes, deloma prav zaradi podobnih oblik sodelovanja v preteklosti, lahko zelo suvereno vključuje v sodobne razvojne trende, o čemer pričajo tudi novi obrati za proizvodnjo rekombinantnih zdravil v Sloveniji. Tovrstno sodelovanje pa ponuja tudi povratne informacije o tem, kako mora potekati raziskovalno delo na akademskih inštitucijah, da lahko služi kot dobra osnova za razvoj dejansko uporabnih industrijskih postopkov in izdelkov.

Po drugi strani pa omenjeni projekt, v okviru katerega je potekalo tudi raziskovalno udejstvovanje mladih ljudi na nivoju diplomskega in podiplomskega izobraževanja, skrbi za oblikovanje novih generacij mladih strokovnjakov, ki jih bo visoko razvita farmacevtska industrija tudi v prihodnosti gotovo potrebovala. Trije raziskovalci iz projektne skupine so tekom projekta prešli v razvojne oddelke farmacevtske družbe Lek d.d. in tam zasedli pomembne pozicije. Prav izobraženi in motivirani kadri so namreč glavni pogoj za razvoj in uspešno delovanje visoko tehnoloških podjetij.

ANG

Our project "Novel approaches to formation of TNF-alpha nanoparticles: Implications for advanced therapies" found solutions to design "smart" protein nanoparticles, capable of sustained release of active ingredient at the target, for instance tumor tissue. Using such particles the surrounding tissues would be less affected by toxic side effects of the therapeutic molecule as compared to usual therapies using active molecules themselves. These studies are leading to efficient next generation protein biopharmaceuticals, with preserved efficacy of usual protein biopharmaceuticals but with beneficial properties for the patient. Worldwide, in the field of pharmaceuticals, research on the next generation protein biopharmaceuticals is classified as the most advanced approach. The investigated principles of nanoparticle formation are widely applicable to numerous proteins, therefore our industrial partner Pharmaceutical Company Lek d.d. strongly supports the research, which leads to very good collaboration between academia and Slovenian pharmaceutical industry. Today Lek, partly due to similar forms of collaboration in the past, takes part in the modern development trends and builds new capacities for production of recombinant biopharmaceuticals. This kind of collaboration also offers the reverse information from industry to academia, how to lead the research work to obtain valuable information that could serve as a basis for development of actually useful industrial procedures and products.

On the other hand, our project employs numerous young people, at the graduate or post-graduate level, thus contributing to formation of young generation researchers that the high-tech pharmaceutical industry will need in the future. Three researchers from the project group during the project moved into the development departments of Lek d.d. and occupied significant positions there. Educated and motivated workers are the main assurance for development and operation of high-tech enterprises.

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

Cilj	
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="text" value="Dosežen"/>

	Uporaba rezultatov	V celoti
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Delno
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Delno
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value="Dosežen"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value="V celoti"/>

F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" 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 checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

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

Komentar

--

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input style="width: 150px;" 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 checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input style="width: 150px;" 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 checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input style="width: 150px;" 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 checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo: <input style="width: 150px;" type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
	Varovanje okolja in trajnostni					

G.06.	razvoj	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input checked="" 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 checked="" 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

--

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

		Sofinancer		
1.	Naziv	Lek farmacevtska družba d.d.		
	Naslov	Verovškova 57, Ljubljana		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	110.541,65	EUR	
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	25	%	
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra	
	1.	Članek o cink fosfatnih nanodelcih s površinsko vezanimi analogi TNF-alfa za uporabo v aktivni imunoterapiji objavljen v reviji J. nanoparticle research	A.01	
	2.	Poglavje v knjigi o fosfatnih nanodelcih kot biomaterialu in uporabi v biomedicinskih aplikacijah	A.03	
	3.	Predavanja in prispevki na mednarodnih konferencah	B.03	
	4.	Razvoj nove tehnologije priprave nanodelcev na osnovi koordinativne vezi s samozdruževanjem s histidini bogatih proteinskih molekul, kelatorskih molekul in cinkovih ionov	F.09	
	5.	Priprava derivatiziranih dendrimerov z večjim številom vezavnih mest za kovinske ione	F.02	
		<p>1. Članek "Cinkfosfatni nanodelci z reverzibilno pripetimi analogi TNF-alfa: zanimiv koncept za potencialno uporabo v aktivni imunoterapiji" Opis: Članek opisuje pripravo in potencialno uporabo cink-fosfatnih nanodelcev z vezanimi analogi TNF-alfa. TNF-alfa vezan v takšne nanodelce ima znižano biološko aktivnost, a ohranjene epitope, tako da bi bili takšni delci uporabni za aktivno imunoterapijo pri kroničnih vnetnih boleznih, kjer je nivo TNF-alfa močno povišan. [COBISS.SI-ID 4607770]</p> <p>2. Poglavje v mednarodni publikaciji: Kalcijev fosfat kot biomaterial in njegova uporaba v biomedicinskih aplikacijah Opis: Poglavje v mednarodni publikaciji opisuje uporabo cinkovega fosfata v različnih biomedicinskih aplikacijah, predvsem na področju</p>		

	Komentar	<p>implantatov in kot material za nadomestitev kostne mase, kot dostavni sistem za nukleinske kisline, kot adjuvans za vakcine in kot dostavni sistem za različna zdravila. [COBISS.SI-ID 512245816]</p> <p>3. Predavanja in prispevki na večih mednarodnih konferencah: - HRIBAR, Gorazd - Protein nanoparticles containing TNF- [alpha] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF therapy. [COBISS.SI-ID 4688922] - HRIBAR, Gorazd - Protein nanoparticles containing TNF- [alfa] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF therapy. [COBISS.SI-ID 4615962] - HRIBAR, Gorazd - TNF-[alfa] based protein nanoparticles and their use in biomedical applications. [COBISS.SI-ID 5099290] - HRIBAR, Gorazd - Protein nanoparticles containing TNF-[alpha] analogs and their use in anti-cancer and anti-TNF therapy. [COBISS.SI-ID 4823834] - HRIBAR, Gorazd - Different types of protein nanostructures based on coordinative bond. [COBISS.SI-ID 4215578] - HRIBAR, Gorazd - Protein nanoparticle formation using specifically designed TNF-alpha analogues. [COBISS.SI-ID 4324890] - HRIBAR, Gorazd - Histidine residues as a tool for protein nanoparticle formation.</p> <p>4. Glavna tehnologija projekta je bila priprava različnih tipov proteinskih nanodelcev z vezanimi TNF analogi: - proteinski nanodelci na osnovi agregacije analogov TNF-α ob uporabi majhnih polifunkcionalnih kelatorskih molekul, - proteinski nanodelci na osnovi dendrimerov, - proteinski nanodelci na osnovi fosfatnih (apatitnih) delcev, ki so "dekorirani" z analogi TNF-α. Delce je mogoče uporabiti tudi za vezavo vseh drugih proteinov, ki so bogati s histidini, tako da gre za splošen in široko uporaben princip. Vsi omenjeni principi priprave nanodelcev omogočajo razvoj naprednih dostavnih sistemov za proteinske molekule in s tem zaščito le-teh pred neugodnimi vplivi okolja.</p> <p>5. Namesto kelatorskih molekul lahko za indukcijo samozdruževanja analogov TNF-α ob prisotnosti Zn^{2+} ionov uporabimo tudi primerno derivatizirane dendrimere, ki imajo večje število vezavnih mest za kovinske ione. Pripravili smo tri različne tipe dendrimerov četrte generacije Boltorn H40 v obliki poliestrov, tako da smo osnovno molekulo kompletno ali delno derivatizirali z jantarno kislino ali z EDTA.</p>
	Ocena	<p>Raziskovalni skupini iz "Laboratorija za molekularno biologijo in nanobiotehnologijo" (bivši "Laboratorij za biosintezo in biotransformacijo") na Kemijskem inštitutu in z oddelka "Proteini druge generacije" v farmacevtski družbi Lek d.d. sta že v preteklosti sodelovali v raziskavah analogov TNF-α. Pričujoči projekt je pravzaprav logično nadaljevanje teh raziskav, saj so se proteinski biofarmaceutiki prve generacije na splošno zelo dobro izkazali po svoji učinkovitosti, uporabnosti in varnosti. Ker pa gre za relativno občutljive makromolekule, ki so dovzetne na vplive okolja in encimatsko razgradnjo, zaradi česar so biofarmaceutiki prve generacije primerni samo za parenteralno aplikacijo, seveda nimajo optimalnih lastnosti, ki jih danes pričakujemo od dobrih zdravil. Nove generacije bioloških zdravil naj bi to pomanjkljivost odpravile. Cilj predlaganega projekta je bilo pripraviti analoge TNF alfa v obliki nanodelcev, ki bi izboljšali biološko delovanje in razpoložljivost, izboljšali fizikalno in termično stabilnost proteinske molekule in njene farmakološke značilnosti. Ker so bili v okviru projekta "Razvoj novih oblik nanodelcev TNF-alfa za uporabo v terapiji" doseženi zelo dobri rezultati in</p>

	njegova vsebina pokriva različne principe pridobivanja biofarmaceutikov druge generacije s podaljšanim in ciljanim delovanjem, ki bi bili lahko uporabni za številne farmacevtsko pomembne proteine, in gre torej za splošen in široko uporaben princip, so rezultati interesantni tudi za farmacevtsko družbo Lek, kar omogoča nadaljnje uspešno sodelovanje s Kemijskim inštitutom.
--	---

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

Članek z naslovom: Cink-fosfatni nanodelci z reverzibilno pripetimi analogi TNF-alfa: zanimiv koncept za potencialno uporabo v aktivni imunoterapiji objavljen v reviji Journal of nanoparticle research z faktorjem vpliva 3,3 in uvrščeni v 1/4 revij na svojem področju.

Članek opisuje pripravo in potencialno uporabo cink-fosfatnih nanodelcev z vezanimi analogi TNF-alfa. TNF-alfa vezan v takšne nanodelce ima znižano biološko aktivnost, a ohranjene epitope, tako da bi bili takšni delci uporabni za aktivno imunoterapijo pri kroničnih vnetnih boleznih, kjer je nivo TNF-alfa močno povišan.

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Kemijski inštitut

Vladimira Gaberc-Porekar

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	12.3.2013
-----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/152

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11)

[Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

⁷ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

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

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

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

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

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot 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/2013 v1.00

5A-8D-8C-12-28-BD-05-AC-AB-DA-C3-4E-64-1B-5A-B6-BF-81-74-C0

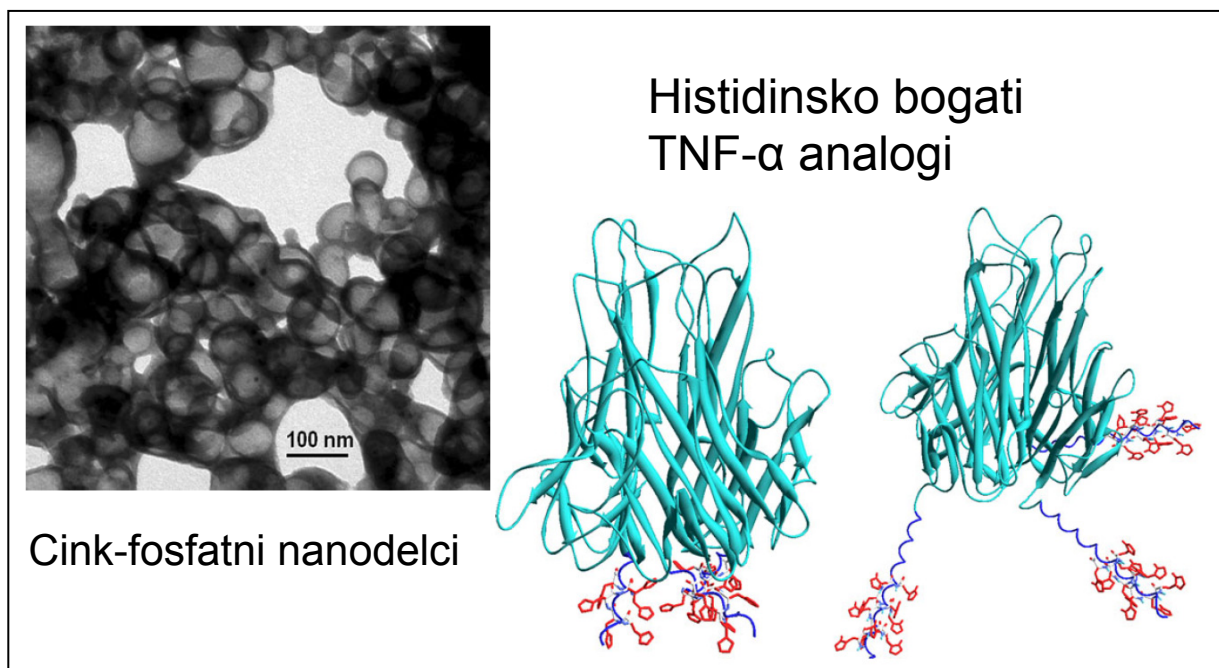
BIOTEHNIKA

Področje: 4.06 Biotehnologija

Dosežek 1: Cink-fosfatni nanodelci z reverzibilno pripetimi analogi TNF-alfa: zanimiv koncept za potencialno uporabo v aktivni imunoterapiji ,

Vir: Cobiss ID: 4607770

Journal of nanoparticle research: 2011; Vol. 13, no. 7; str. 3019-3032; Hribar et al



Članek z naslovom: Cink-fosfatni nanodelci z reverzibilno pripetimi analogi TNF-alfa: zanimiv koncept za potencialno uporabo v aktivni imunoterapiji objavljen v reviji Journal of nanoparticle research z faktorjem vpliva 3,3 in uvrščeni v 1/4 revij na svojem področju.

Članek opisuje pripravo in potencialno uporabo cink-fosfatnih nanodelcev z vezanimi analogi TNF-alfa. TNF-alfa vezan v takšne nanodelce ima znižano biološko aktivnost, a ohranjene epitope, tako da bi bili takšni delci uporabni za aktivno imunoterapijo pri kroničnih vnetnih boleznih, kjer je nivo TNF-alfa močno povišan.