

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/233



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J4-4306
Naslov projekta	Preučevanje vloge biosinteze holesterola med embriogenezo ter spermatogenezo s transgenimi mišjimi modeli za gen Cyp51
Vodja projekta	10412 Simon Horvat
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	3436
Cenovni razred	D
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	104 Kemijski inštitut 381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.02 Živalska produkcija in predelava 4.02.01 Genetika in selekcija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	4 Kmetijske vede 4.02 Znanosti o živalih in mlekarstvu

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Na področju živalske biotehnologije in biomedicine je pred desetimi leti s tehnologijo pogojnega izničenja genov, ki omogoča tkivno in časovno kontrolo izničenja funkcije poljubnega gena, prišlo do pomembnega napredka. Kljub dolgoletnim raziskavam na področju biologije

holesterola, *in vivo* vloga vseh genov vključenih v sintezo holesterola še vedno ni raziskana. V okviru projekta J4-4306 smo razvili mišje modele za popolno ter pogojno izničenje enega izmed ključnih genov (CYP51) v biosintezi holesterola, ki je poznan tudi kot potencialna tarča zdravil za zniževanje krvnega holesterola. Projekt je uspel doseči vse tri zastavljene cilje.

V prvem poskusu smo raziskali posledice popolnega izničenja gena *Cyp51* na *de novo* sintezo holesterola med razvojem zarodka. Natančna histo-patološka analiza med razvojem zarodkov je razkrila razvojne anomalije različnih tkiv, organov ter razvojnih procesov. Podrobna analiza strukture srca je potrdila, da je smrtnost zarodkov povzročila odpoved srca. Ta rezultat predstavlja pomembno novo znanje, saj biosinteza holesterola še ni bila do sedaj direktno povezana z razvojem srca. Poleg tega smo s primerjalno analizo ugotovili, da so patološke spremembe podobne sindromu Antley-Bixler pri ljudeh. Ta raziskava tudi opozarja, da se je med zgodnjo nosečnostjo bolje izogniti zdravil, ki ciljajo ali naključno inhibirajo sintezo holesterola posebej še zaradi dejstva, ker so mnoga zdravila s teratogenimi učinki še dostopna na tržišču.

Drugi cilj je bil osredotočen na študij posledic tkivno specifične izničenja *Cyp51* v spolnih celicah med spermatogenezo. S tehnologijo pogojne transgeneze Cre-loxP smo dosegli izrez gena *Cyp51* v spermatogonijih, prvo tovrstno pogojno-transgeno žival v Sloveniji. Ugotovili smo, da so v testisih samcev s pogojnim izrezom gena *Cyp51* v spolnih celicah vsi geni v biosintezi holesterola povišano izraženi. Menimo, da gre v tem primeru za pomemben rezultat, ki nakazuje, da na odsotnost encimske aktivnosti gena *Cyp51* odreagira celotna pot biosinteze holesterola, da bi kompenzirala oziroma nadomestila pomanjkanje končnega produkta.

Tretji cilj je bil ugotoviti učinke izničenja gena *Cyp51* na imunski sistem. Hipoteza, ki smo jo testirali v tem sklopu je predvidevala, da imajo intermediati biosinteze holesterola pomembno biološko vlogo in niso zgolj vmesni substrat v verigi biokemijskih reakcij. V sodelovanju s skupino na Howard Hughes Medical Institute, New York, ZDA smo s poskusi na naših transgenih modelih ugotovili, da so intermediati sinteze holesterola ligandi ROR γ t ki uravnavajo razvoj limfocitov in s tem imunskega odziva.

V tem projektu smo združili genetske vire in izkušnje treh skupin dveh članic Univerze v Ljubljani (BF in UL), ter skupine iz Kemijskega inštituta. Razviti novi genetski viri in poskusi znotraj te raziskave so bili odmevni ter so pripomogli k splošni promociji slovenske znanosti.

ANG

In the field of animal biotechnology and biomedicine, introduction of conditional gene deletion technology in animals allowed great progress in functional genomics. Despite many years of research into the biology of cholesterol *in vivo*, the role of genes involved in cholesterol synthesis has not yet been studied. Within the project J4-4306, we

have developed mouse models for the complete and conditional knock out of one of the the key genes (CYP51) in the biosynthesis of cholesterol. The project has managed to achieve all three goals. In the first experiment, we investigated the effects of complete knockout of CYP51 in the de novo synthesis of cholesterol during fetal development. The exact histo-pathological analysis during the development of embryos revealed malformation of different tissues, organs and developmental processes. A detailed analysis of cardiac structure confirmed that the embryo lethality was caused by heart failure. In addition, we found a correlation analysis that our pathological changes were similar to syndrome Antley-Bixler in humans. This study also points out that during early pregnancy drugs that target or random inhibit the synthesis of cholesterol pathway should be avoided especially due to the fact that many drugs with teratogenic effects are still available on the market.

The second objective was focused on studying the effects of tissue-specific deletion Cyp51 in germ cells during spermatogenesis. We have found that in the testes of males conditional knockout of CYP51 gene in germ cells all the genes in the biosynthesis of cholesterol increased in intensity. This important result suggests that the absence of the enzymatic activity of CYP51 causes that entire cholesterol biosynthesis pathway is upregulated in order to compensate for the lack of the final product.

The third objective was to determine the effects of the ablation of CYP51 in the immune system. The hypothesis that we tested in this context assumed that the intermediates of cholesterol biosynthesis play an important biological role and are not merely an intermediate substrate in the chain of biochemical reactions. In collaboration with a group of the Howard Hughes Medical Institute, New York, USA, experiments on our transgenic models found that intermediates in the synthesis of cholesterol act as active ligands of protein ROR γ t which regulates the development of lymphocytes and hence the immune response.

In this project we have combined genetic resources and experience of three groups, two members of the University of Ljubljana (UL and BF), and a group from the Institute of Chemistry. Developed new genetic resources and experiments within this study provided important new knowledge and contributed to the overall promotion of Slovenian science.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Vsebinsko poročilo je podano po sklopih eksperimentov kot so bili predlagani v raziskovalnem projektu in kronološkem potekom raziskav. Poudarjeni so poskusi, ki so pomembno pripomogli h testiranju zastavljenih hipotez in pridobitvijo ključnih rezultatov in znanstvenih spoznanj. Pri posameznem sklopu je nakazan tudi pomen in uporaba rezultatov, čeprav je to področje podrobneje opisano v točki 9

1. CILJ 1 – Popolno izničenje Cyp51 in razvoj zarodkov

Za testiranje hipoteze o pomembni vlogi inaktivacije Cyp51 ter de novo sintezo holesterola na razvoj zarodka smo razvili mišji model Cyp51^{-/-} s popolno inaktiviranim genom Cyp51 v vseh celicah organizma. Natančna histo-patološka analiza tako pripravljenih preparatov je razkrila razvojne napake pri številnih tkivih in organih posebno še pri strukturi srca. Ugotovili smo, da je prav odpoved srca bila končni vzrok za zamrtje zarodkov 14-15 dan razvoja. Ta rezultat predstavlja pomembno novo znanje, saj biosinteza holesterola še ni bila do sedaj direktno povezana z razvojem srca.

Odsotnost RNA prepisov divjega tipa pri Cyp51^{-/-} zarodkih smo potrdili v kvantitativni analizi z uporabo PCR v realnem času (qRT-PCR). Da bi se popolnoma prepričali o uspešnosti izničenja Cyp51 lokusa smo uporabili Taqman® komercialne sonde v različnih eksonih gena Cyp51. RNA vsaj štirih zarodkov treh genotipov na razvojno stopnjo smo izolirali s TRIzolom, tretirali z DNazo in sintetizirali cDNA in jo triplikatih analizirali z metodo RT-PCR. Izražanje eksona 4 je bilo popolnoma odsotno – ker je v tem eksonu pomembna domena pomeni, da je genski produkt neaktiven.

Da bi preverili biokemijske posledice okvare delovanja encima CYP51 pri zarodkih smo izmerili količino holesterola ter osmih sterolnih intermediatov s pomočjo metode GC/MS. Sterolni profil smo izmerili pri zarodkih vseh treh genotipov starosti E12.5 in E14.5. Meritve so pokazale ekstremno kopičenje substratov encima CYP51 (lanosterola in DHL) pri zarodkih s popolnim izničenjem gena Cyp51. Količina lanosterola se je v primerjavi z zarodki divjega tipa povečala za 92-krat pri E12.5 ter za 97-krat pri E14.5. Količina DHL je narasla za 2100-krat pri E12.5 ter za kar 4200-krat pri E14.5. Sterolni intermediati, ki nastanejo v nadaljnjih encimskih korakih (T-MAS, FF-MAS, cimosterol, latosterol, dezmosterol in DHL) so bili pri zarodkih s popolno okvaro CYP51 funkcije pod mejo detekcije. Količina holesterola je pri popolni odsotnosti funkcionalnega encima CYP51 pri zarodkih upadla na približno tretjino količine izmerjene pri zarodkih divjega tipa. Pri heterozigotnih zarodkih so količine vseh sterolov, ki nastanejo po encimski reakciji CYP51 ostale nespremenjene.

Histološke in imunohistološke analize so pokazale okvare v razvoju epikarda in miokarda ter posledično zmanjšanje proliferacije endotelija srčnih žil. Da bi bolje razumeli molekularne mehanizme, ki vodijo v opisane spremembe smo z metodo qPCR preverili izražanje nekaterih genov vpletenih v komunikacijo med epikardom in miokardom. Ugotovili smo, da je pri srcih izoliranih iz zarodkov genotipa Cyp51^{-/-} prišlo do statistično značilnega znižanja izražanja genov Rxra in Rara pri obeh preverjanih starostih. Pri E14.5 je prišlo tudi do znižanega izražanja gena za »homeobox« protein Nkx2-5 (angl. Homeobox protein Nkx2-5). Pri genih Foxc1, Wt1, Vegfa in Nr1h2 nismo zaznali sprememb v izražanju. Glavna ugotovitev tega sklopa poskusov je bila, da je odsotnost endogene biosinteze holesterola vplivala na spremenjeno izražanje genov poti Shh in RA, kar je vodilo v razvojne napake strukture ter funkcije delovanja srca ter zamrtje zarodkov.

2. CILJ 2 – Pogojno izničenje Cyp51 in spermatogeneza

Za testiranje hipoteze o vlogi gena Cyp51 in biosinteze holesterola v

moških spolnih celicah ter plodnosti nam je uspelo razviti mišji model s pogojno inaktiviranim genom Cyp51 v moških spolnih celicah ter potrditi uspešen izrez samo v tem tipu celic. Mišji model s specifično inaktivacijo C Cyp51 v spolnih celicah smo pridobili s križanjem Cyp51lox/lox linije s Stra8-Cre transgeno mišjo linijo, ki izraža CRE rekombinazo izključno v premejskih spolnih celicah testisa (zgodnjih spermatogonijih in preleptoten spermatocitah) od tretjega dneva starosti dalje. Nadalje smo v kvantitativni analizi qRT-PCR na testisih zaznali značilno znižanje izražanja transkripta Cyp51 pri Cyp51lox/lox;Stra8-Cre+ (knockout) testisih v primerjavi z Cyp51lox/lox;Stra8-Cre- (divji tip). Preostanek izraženega Cyp51 transkripta (38%) prispevajo somatske celice testisa. Ti pridobljeni rezultati so nakazovali, da smo uspeli pripraviti ustrezen in vivo model za nadaljnjo fenotipsko karakterizacijo.

Za kvantitativno preverjanje izreza gena v tarčnih celicah smo ločili spolne celice od somatskih v postopku centrifugalne elutriacije. Frakcije obogatene s pahiten spermatocitami, okroglimi spermatocitami ali podaljšanimi spermatidami smo uporabili za nadaljnje analize. Frakcijo z okroglimi spermatocitami smo uporabili za izolacijo genomske DNA. Odsotnost CYP51 proteina v spolnih celicah smo potrdili tudi z imunohistokemijo s pomočjo specifičnega anti-CYP51 protitelesa. Signal smo vizualizirali z DAB substratom (Sigma) ter rahlim obarvanjem v hematoksilinu. Pri Cyp51lox/lox;cre- samcih (kontrola) smo dobili močnejši CYP51 signal v vseh spolnih celicah, pri testisu Cyp51lox/lox;cre+ samcev pa šibkejši CYP51 signal v somatskih celicah (Lajdigove celice) ter odsotnost signala v spolnih celicah, ki bi potrdila uspešnost izničenja gena.

Z novo metodo razvito v skupini sodelujočega partnerja (Medicinska fakulteta, skupina prof. Rozmanove) smo kvantificirali tudi sterolne intermediate. Odkrili smo, da je pri pogojnih transgenih samcih prišlo do bistvenega zmanjšanja količine intermedijata MAS, kar potrjuje naše rezultate o visoki učinkovitosti izreza gena Cyp51 v spolnih celicah. Te rezultate dodatno potrjuje tudi kopičenje produktov genov – sterolnih intermedijotov, ki pri de novo sintezi holesterola sodelujejo v stopnjah pred CYP51. V analizi smo naenkrat lahko kvantificirali 9 strukturno podobnih prekurzorjev holesterolne sinteze (lanosterol, 24,25-dihidrolanosterol, FF-MAS, T-MAS, zimosterol, latosterol, dezmosterol, 7-dehidroholesterol and holesterol) kar v literaturi še ni bilo opisano.

Kot naslednji sklop poskusov za model zbitja gena v spermatocitih smo izvedli še analizo izražanja genov holesterolne poti v različnih stopnjah spermatogeneze. Opazili smo, da se regulacija izražanja genov holesterolne poti v gonadah bistveno razlikuje od regulacije v somatskih celicah. Ugotovili smo, da so v testisih samcev s pogojnimi izrezom gena cyp51 v spolnih celicah vsi geni v biosintezi holesterola povišano izraženi. Ti trendi so ostali enaki tudi ko smo analizirali posebej primarne spermatocite, okrogle ter podaljšane spermatide. Menimo, da gre v tem primeru za pomemben rezultat, ki nakazuje, da na odsotnost encimske aktivnosti gena Cyp51 odreagira celotna pot biosinteze holesterola, da bi kompenzirala oziroma nadomestila pomanjkanje končnega produkta, nujnega za normalno spermatogenezo in plodnost.

Glede na specifično povišano izražanje gena Cyp51 v spolnih celicah in posledične akumulacije MAS intermedijotov v testisu je bilo sklepanje predhodnih objav, da imajo intermedijati MAS pomembno vlogo pri razvoju moških spolnih celic. To hipotezo smo z našim poskusom

zavrgli, saj izničenje biosinteze holesterola v moških spolnih celicah ni imelo vpliva na potek spermatogeneze. Rezultati pridobljeni v tej študiji so pomagali razložiti redundanco biološkega sistema ob pogojih pomanjkanja holesterola, m ki ga proizvaja spolna celica sama.

Poleg zgoraj opisanega razvoj modela s pogojnim izničenjem gena Cyp51 v spermatogonijih, smo razvili tudi mišje modele s pogojnim izničenjem Cyp51 v somatskih celicah testisa, Sertolijevih celicah, Leydigovih celicah ter dvojnem izničenjem v spolnih in Sertolijevih celicah. S tem smo želeli testirati hipotezo da je biosinteza holesterola pomembna tudi v somatskih celicah testisa za normalen potek reprodukcije.

Gre za prve razvite transgeno žival s pogojnim izničenjem funkcije gena v Sloveniji ter prve s pogojnim izničenjem holesterolne biosinteze v celicah testisa v mednarodnem merilu. Clanki opisani v točki 6 so bili odmevni, revija »Journal of Lipid Research« s faktorjem vpliva 4,4, ki je v prvi četrtini revij s področja biokemije in molekularne biologije je naš model – sliko izbrala za naslovnico (priloga)

3. CILJ 3 – Vpliv delnega ali popolnega izničenja de novo sinteze holesterola na prirojeno imunost in imunski fenotip

Ker je bil projekt financiran le v polovičnem obsegu smo se originalno načrtovanemu programu morali odpovedati. Vseeno smo iskali mednarodne partnerje, ki bi bili pripravljene investirati v skupne raziskave na tem področju, seveda smo se v tem primeru morali odpovedati prvemu in vodilnemu avtorstvu. K sodelovanju in financiranju smo uspeli pridobiti eminentno skupino prof. Littmana iz Howard Hughes Medical Institute, New York University School of Medicine, New York, ZDA. Naši transgeni modeli in tudi nekateri eksperimenti so pomembno prispevali k raziskavi v tem sklopu.

Naš cilj je bil ugotoviti učinke izničenja gena Cyp51 na imunski sistem. Hipoteza, ki smo jo testirali v tem sklopu je predvidevala, da imajo intermedijati biosinteze holesterola pomembno biološko vlogo in niso zgolj vmesni substrat v verigi biokemijskih reakcij.

Glavna ugotovitev raziskav je bila, da so intermedijati sinteze holesterola ligandi gena ROR γ t, ki pomembno uravnava razvoj limfocitov. Gre za prvo raziskavo, ki je pokazala, so lahko intermedijati poti biosinteze holesterola lahko fizični ligandi za jedrne nuklearne transkripcijske dejavnike in da ima ta vezava vpliv na razvoj imunskih celic ter posledično delovanje imunskega odziva. Ta raziskava je bila objavljena v reviji z visokim faktorjem vpliva (IF=17), CELL Metabolism, ki je v vrhu revij s področja celične biologije ter na drugem mestu revij (2 od 124) na področju endokrinologije in metabolizma.

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

V sklopu izvedenih eksperimentov smo pridobili vse mišji modele, ki smo jih predlagali v predlogu raziskave in jih okarakterizirali s funkcijsko analizo. Ocenjujem, da smo se v tem projektu uspeli držati načrtanega časovnega načrta projekta in izpeljati vse povezave s sodelujočimi partnerji. Napovedane hipoteze smo potrdili.

Zaključujemo, da smo izvedli vse poskuse, ki so bili predlagani. Še več izvedli smo tudi del raziskav v prvotno predlaganem cilju 3 – "Vpliv delnega ali popolnega izničenja de novo sinteze holesterola na prirojeno imunost in imunski fenotip", ki je bil izločen iz pogodbe, ker smo dobili samo 50% odobrenih sredstev. Financiranje nekaterih raziskav v tem sklopu smo lahko izvedli zaradi sodelovanja z eminentno skupino prof. Littmana iz Howard Hughes Medical Institute, New York University School of Medicine, New York, ZDA. Naši transgeni modeli in tudi nekateri eksperimenti so pomembno prispevali k raziskavi v tem sklopu. Ta raziskava je bila objavljena v reviji z visokim faktorjem vpliva (IF=17), CELL Metabolism, ki je v vrhu revij s področja celične biologije ter na drugem mestu revij (2 od 124) na področju endokrinologije in metabolizma.

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

Sprememb glede vsebine programa in izvedbe projekta v teku celotnega obdobja ni bilo. Kot je razloženo v prejšnji točki (točka 5) smo dodali poskuse tretjega sklopa, ki smo ga kljub zmanjšanju ARRS sredstev na 50% izvedli s pomočjo financiranja sodelavcev iz tujine.

Projektna skupina je ostala v prvotno načrtovani zasedbi, večinoma smo zelo v majhnem obsegu spreminjali urne obremenitve in se s tem prilagajali optimalni izvedbi glede na potek in rezultate v posameznih letih. Edina večja kadrovska sprememba projektne skupine je bila, da je Rok Keber doktoriral maja 2012 (prej je delal na projektu kot MR) od junija 2012 naprej pa smo ga na projektu zaposlili kot raziskovalca in ga na projekt pisali z ustreznim številom ur. Od leta 2013 smo zaradi njegovega odhoda v tujino njegove ure prevzeli jaz kot vodja, povečali smo tudi ure tehniške sodelavke Vesne Mraka zaradi večjega obsega dela z živalskimi modeli zaposlili pa smo tudi dr. Ireno Oven, ki se je vrnila iz porodniškega dopusta in s svojo ekspertizo prispevala k uresničevanju zadanih ciljev projekta predvsem v letu 2013.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	28610009	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Izničenje gena za holesterogeni citokrom P450 (lanosterol 14-alfa demetilaza, CYP51) povzroča fenotip podoben človeškemu sindromu Antley-Bixler.
		ANG	Mouse knockout of the cholesterologenic cytochrome P450 lanosterol 14 [alpha]-Demethylase (CYP51) resembles Antley-Bixler syndrome
			Sindrom Antley-Bixler (ABS) predstavlja skupino heterogenih dednih bolezni pri človeku s različnimi okvarami skeletnega, srčno-žilnega in urogenitalnega sistema. Te okvare in metabolne motnje pogosto povezujejo z mutacijami receptorja za rastni dejavnik fibroblastov 2 (FGFR2) ali citokrom P450 reduktazo (CYPOR). Pri nekaterih pacientih s sindromom ABS so opazili tudi znižano aktivnost gena za holesterogeni citokrom P450 (CYP51A1), ki je ortolog mišjega gena CYP51. Poleg tega je pri teh pacientih opazno kopičenje intermediatov holesterolne biosintetske poti lanosterola in 24,25-dihidrolanosterola, vendar vloga gena CYP51A1 pri razvoju patologije ABS še ni bila pojasnjena. Z namenom testiranja

Opis	SLO	<p>hipoteze, da je gen Cyp51 lahko odgovoren za razvoj fenotipa ABS smo razvili mišji model z izničnim genom Cyp51. Ta živalski model je izkazoval različne prenatalne značilnosti sindroma ABS in povzročil letalnost v pozni srednji brejosti pri 15. dnevu 15 embrionalnega razvoja. Oba substrata za CYP51 (lanosterol in 24,25-dihidrolanosterol) sta se akumulirala v velikih količinah. Prekurzorji holesterola nižje od encimskega koraka CYP51 so bili odsotni, kar dokazuje, da je prišlo do popolne blokade de novo holesterolne biosinteze. To se je odrazilo v povišani regulaciji 10-tih drugih genov za biosintezo holesterola verjetno kot odziv na nizek holesterol. Kot vzrok za smrtnost zarodkov navajamo odpoved delovanja srca, ki je kazal hipoplazijo miokarda, okvaro razvoja septuma med prekatni ter ožilja, kar nakazuje, da je CYP51 posredno vključen v razvoj srca in koronarnega ožilja. Kot najverjetnejši molekularni mehanizem za pojasnitev teh okvar predlagamo vpliv na signalizacijo poti gena hedgehog in retinojske kisline, kjer smo odkrili diferencialno izražanje signalnih tarčnih molekul. Razviti transgeni model z izničnim genom Cyp51 tako dokazuje, da je Cyp51 in s tem biosinteza holesterola esencialna za normalen razvoj zarodka in predstavlja dober živalski model za študije sindroma ABS in drugih motenj homeostaze holesterola pri ljudeh. Poleg novih temeljnih znanja, ki jih delo prinaša, to delo tudi opozarja, da se je med zgodnjo nosečnostjo bolje izogniti zdravil, ki ciljajo ali naključno inhibirajo sintezo holesterola posebej še zaradi dejstva, ker so mnoga tovrstna zdravila učinki še dostopna na tržišču. Ta vidik stranskih učinkov na razvoj zarodka ali plodu je potrebno nujno upoštevati pri razvoju novih, s holesterolom povezanih zdravil.</p>	
	ANG	<p>Antley-Bixler syndrome (ABS) represents a group of heterogeneous disorders characterized by skeletal, cardiac and urogenital abnormalities that have frequently been associated with mutations in fibroblast growth factor receptor2 or cytochrome P450 reductase genes. In some ABS patients, reduced activity of the cholesterologenic cytochrome P450 CYP51A1, an ortholog of the mouse CYP51, and accumulation of lanosterol and 24,25-dihydro lanosterol has been reported, but the role of CYP51A1 in the ABS etiology has remained obscure. To test whether Cyp51 could be involved in generating an ABS-like phenotype, a mouse knockout model was developed that exhibited several prenatal ABS-like features leading to lethality at embryonic day 15. Cyp51(-/-) mice had no functional Cyp51 mRNA and no immunodetectable CYP51 protein. The two CYP51 enzyme substrates (lanosterol and 24,25-dihydro lanosterol) were markedly accumulated. Cholesterol precursors downstream of the CYP51 enzymatic step were not detected, indicating that the targeting in this study blocked de novo cholesterol synthesis. This was reflected in the up-regulation of 10 cholesterol synthesis genes, with the exception of 7-dehydrocholesterol reductase. Lethality was ascribed to heart failure due to hypoplasia, ventricle septum, epicardial and vasculogenesis defects, suggesting that Cyp51 deficiency was involved in heart development and coronary vessel formation. As the most likely downstream molecular mechanisms, alterations were identified in the sonic hedgehog and retinoic acid signaling pathways. Cyp51 knockout mice provide evidence that Cyp51 is essential for embryogenesis and present a potential animal model for studying ABS syndrome in humans.</p>	
	Objavljeno v	American Society of Biological Chemists.; The Journal of biological chemistry; 2011; Vol. 286, no. 33; str. 29086-29097; Impact Factor: 4.773; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.739; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Keber Rok, Motaln Helena, Wagner Kay D., Debeljak Nataša, Rassoulzadegan Minoo, Ačimovič Jure, Rozman Damjana, Horvat Simon	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
2.	COBISS ID	2789256	Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Okvare v genih za biosintezo holesterola pri miših in ljudeh
	ANG	Defects in cholesterol synthesis genes in mouse and in humans
Opis	SLO	<p>Pregledni članek opisuje modele miši z izničnimi geni, skupaj z človeškimi okvarami in zdravili, ki gene vključene v homeostazo holesterola. Geni, ki delujejo v zgodnejših korakih biosinteze holesterola povzročajo tudi fenotip v zgodnejših fazah razvoja zarodka. Primeri ljudi, ki bi imeli mutacije z izgubo funkcije zgodnjih genov sinteze holesterola, še niso bili opisani. Pri miših je izguba gena Hmgcr letalna že v razvojni fazi pred implantacijo. To nakazuje, da so statini, ki inhibirajo gen Hmgcr, kot pogosto predpisana zdravila za zniževanje ravni holesterola, potencialno teratogeni. Izničanje gena Mvk je prav tako letalno v zgodnjem embrionalnem razvoju pri miši, odsotnost Fdft1 pa nekoliko kasneje v razvoju, embrionalnem dnevu med 9.5 in 12. V naši raziskavi izničanje gena Cyp51 se je letalnost pojavila v pozni srednji brejosti, pri 15.5 dneh razvoja zarodka. Inhibitorji glivnega encima CYP51, zdravila iz skupine Azolov, so dokazano teratogeni pri človeku, kar lahko privede do sindroma Antley-Bixler. Na kromosom X-vezane mutacije Nsdhl in Ebp so embrionalno letalne pri moških miših, prizadete pa so tudi heterozigotne samice. Posledično sta lahko protitumorski zdravili tamoksifen in toremifen, ki inhibirata človeški EBP, v zgodnji nosečnosti škodljiva. Miši z izbitima genoma Dhcr7 in Dhcr24 zamrejo kmalu po rojstvu, medtem ko ljudje z okvarami teh genov preživijo, s Smith-Lemli-Opitz sindromom ali dezmosterolozo. Ker je holesterol nujen v signaliziranju proteina hedgehog, ki uravnava razvojne procese, lahko s tem razložimo nekatere stranske učinke zdravil za zniževanje holesterola in tudi antipsihotikov ter zdravil proti depresiji. Zaključimo lahko, da so popolne okvare sinteze holesterola pri miših v glavnem letalne med razvojem zarodka, medtem ko ljudje z okvarami poznih genov sinteze holesterola preživijo, vendar z obsežnimi anatomskimi in metabolnimi defekti. Pregledni članek opozarja, da se je med zgodnjo nosečnostjo bolje izogniti zdravil, ki ciljajo ali naključno inhibirajo sintezo holesterola posebej še zaradi dejstva, ker so mnoga zdravila s teratogenimi učinki še dostopna na tržišču. Ta vidik stranskih učinkov na razvoj zarodka ali plodu je potrebno nujno upoštevati pri razvoju novih, s holesterolom povezanih zdravil.</p>
	ANG	<p>This review describes the mouse knockout models of cholesterol synthesis, together with human malformations and drugs that target cholesterologenic enzymes. Generally, the sooner a gene acts in cholesterol synthesis, the earlier the phenotype occurs. Humans with loss of function of early cholesterologenic enzymes have not yet been described, and in the mouse, loss of Hmgcr is preimplantation lethal. Together, these results indicate that the widely prescribed cholesterol-lowering strains are potentially teratogenic. The Mvk knockout is early embryonic lethal in the mouse, the absence of Fdft 1 is lethal at E9.5-12.5 dpc, while the Cyp51 knockouts die at 15.5 dpc. Fungal CYP51 inhibitor azoles are teratogenic in humans, potentially leading to symptoms of Antley-Bixler syndrome. The X-linked mutations in Nsdhl and Ebp are embryonic lethal in male mice, while heterozygous females are also affected. Consequently the anticancer drugs, tamoxifen and toremifene, inhibiting human EBP, may be harmful in early pregnancy. The Dhcr7 and Dhcr24 knockout mice die shortly after birth, while humans survive with Smith-Lemli-Opitz syndrome or desmosterolosis. Since cholesterol is essential for hedgehog signaling, disturbance of this pathway by antipsychotics and -depressants explains some drug side effects. In conclusion, defects in cholesterol synthesis are generally lethal in mice, while humans with impaired later steps of the pathway can survive with severe malformations. Evidence shows that drugs targeting or, by coincidence, inhibiting human cholesterol synthesis are better avoided in early pregnancy. Since drugs with teratogenic potential are successfully on the market, this should also be kept in mind in new cholesterol-related drug</p>

		development.
	Objavljeno v	M. Dekker; Drug metabolism reviews; 2011; Vol. 43, no. 1; str. 69-90; Impact Factor: 6.400; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.705; A': 1; WoS: TU; Avtorji / Authors: Horvat Simon, McWhir Jim, Rozman Damjana
	Tipologija	1.02 Pregledni znanstveni članek
3.	COBISS ID	30524121 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Izbijte gena v biosintezi holesterola Cyp51 specifično v moških spolnih celicah
		<i>ANG</i> Male germ cell-specific knockout of cholesterologenic Cytochrome P450 lanosterol 14[alpha]-demethylase (Cyp51)
	Opis	<i>SLO</i> Gre za raziskavo, kjer smo preučevali vlogo biosinteze holesterola in intermediatov specifično samo v moških spolnih celicah. Uporabljali smo tehnologijo pogojne transgeneze Cre-loxP, s katero smo dosegli izrez gena Cyp51 v spermatogonijih. Gre za prvo tovrstno razvito transgeno žival v Sloveniji. Članek je bil objavljen v reviji Journal of Lipid Research s faktorjem vpliva 4,4, ki je v prvi četrtini revij s področja biokemije in molekularne biologije.
		<i>ANG</i> Cytochrome P450 lanosterol 14alpha-demethylase (CYP51) and its products meiosis-activating sterols (MAS) were hypothesized by previous in vitro studies to have an important role in regulating meiosis and reproduction. To test this in vivo we generated a conditional male germ cell-specific knockout of the gene Cyp51 in the mouse. High excision efficiency of Cyp51 allele in germ cells resulted in 85-89% downregulation of Cyp51 mRNA and protein levels in germ cells. Quantitative metabolic profiling revealed significantly higher levels of CYP51 substrates lanosterol and 24,25-dihydrolanosterol and substantially diminished levels of MAS, the immediate products of CYP51. However, germ cell-specific ablation of Cyp51, leading to lack of MAS, did not affect testicular morphology, daily sperm production or reproductive performance in males. It is plausible that due to the similar structures of cholesterol intermediates, previously proposed biological function of MAS in meiosis progression can be replaced by some other yet unidentified functionally redundant lipid molecule(s). Our results using the germ cell-specific knockout model provides first in vivo evidence that the de novo synthesis of MAS and cholesterol in male germ cells is most likely not essential for spermatogenesis and reproduction and that MAS, originating from germ cells do not cell-autonomously regulate spermatogenesis and fertility.
	Objavljeno v	Lipid Research, inc.; Journal of lipid research; 2013; Vol. 54, iss. 6; str. 1653-1661; Impact Factor: 4.730; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Keber Rok, Ačimovič Jure, Majdič Gregor, Motaln Helena, Rozman Damjana, Horvat Simon
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	3134600 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Steroli v procesih razvoja spolnih celic ter zorenja semenčic
		<i>ANG</i> Sterols in spermatogenesis and sperm maturation
		Naš shematski model predstavljen v članku o vplivu holesterolne biosinteze na razvoj moških spolnih celic so izbrali za naslovno stran številke (priloženo) Pregledni članek opisuje modele miši z izničnimi geni, skupaj z človeškimi okvarami in zdravili, ki gene vključene v homeostazo holesterola. Geni, ki delujejo v zgodnejših korakih biosinteze holesterola povzročajo tudi fenotip

Opis	SLO	<p>v zgodnejših fazah razvoja zarodka. Primeri ljudi, ki bi imeli mutacije z izgubo funkcije zgodnjih genov sinteze holesterol, še niso bili opisani. Pri miših je izguba gena Hmgcr letalna že v razvojni fazi pred implantacijo. To nakazuje, da so statini, ki inhibirajo gen Hmgcr, kot pogosto predpisana zdravila za zniževanje ravni holesterola, potencialno teratogeni. Izničenje gena Mvk je prav tako letalno v zgodnjem embrionalnem razvoju pri miši, odsotnost Fdft1 pa nekoliko kasneje v razvoju, embrionalnem dnevu med 9.5 in 12. V naši raziskavi izničenje gena Cyp51 se je letalnost pojavila v pozni srednji brejosti, pri 15.5 dneh razvoja zarodka. Inhibitorji glivnega encima CYP51, zdravila iz skupine Azolov, so dokazano teratogeni pri človeku, kar lahko privede do sindroma Antley-Bixler. Na kromosom X-vezane mutacije Nsdhl in Ebp so embrionalno letalne pri moških miših, prizadete pa so tudi heterozigotne samice. Posledično sta lahko protitumorski zdravili tamoksifen in toremifen, ki inhibirata človeški EBP, v zgodnji nosečnosti škodljiva. Miši z izbitima genoma Dhcr7 in Dhcr24 zamrejo kmalu po rojstvu, medtem ko ljudje z okvarami teh genov preživijo, s Smith-Lemli-Opitz sindromom ali dezmosterolozo. Ker je holesterol nujen v signaliziranju proteina hedgehog, ki uravnava razvojne procese, lahko s tem razložimo nekatere stranske učinke zdravil za zniževanje holesterola in tudi antipsihotikov ter zdravil proti depresiji. Zaključimo lahko, da so popolne okvare sinteze holesterola pri miših v glavnem letalne med razvojem zarodka, medtem ko ljudje z okvarami poznih genov sinteze holesterola preživijo, vendar z obsežnimi anatomskimi in metabolnimi defekti. Pregledni članek opozarja, da se je med zgodnjo nosečnostjo bolje izogniti zdravil, ki ciljajo ali naključno inhibirajo sintezo holesterola posebej še zaradi dejstva, ker so mnoga zdravila s teratogenimi učinki še dostopna na tržišču. Ta vidik stranskih učinkov na razvoj zarodka ali plodu je potrebno nujno upoštevati pri razvoju novih, s holesterolom povezanih zdravil.</p>
	ANG	<p>Mammalian spermatogenesis is a complex developmental program in which a diploid progenitor germ cell transforms into highly specialized spermatozoa. One intriguing aspect of sperm production is the dynamic change in membrane lipid composition that occurs throughout spermatogenesis. Cholesterol content, as well as its intermediates, differs vastly between the male reproductive system and nongonadal tissues. Accumulation of cholesterol precursors such as testis meiosis-activating sterol and desmosterol is observed in testes and spermatozoa from several mammalian species. Moreover, cholesterologenic genes, especially meiosis-activating sterol-producing enzyme cytochrome P450 lanosterol 14 alpha-demethylase, display stage-specific expression patterns during spermatogenesis. Discrepancies in gene expression patterns suggest a complex temporal and cell-type specific regulation of sterol compounds during spermatogenesis, which also involves dynamic interactions between germ and Sertoli cells. The functional importance of sterol compounds in sperm production is further supported by the modulation of sterol composition in spermatozoal membranes during epididymal transit and in the female reproductive tract, which is a prerequisite for successful fertilization. However, the exact role of sterols in male reproduction is unknown. This review discusses sterol dynamics in sperm maturation and describes recent methodological advances that will help to illuminate the complexity of sperm formation and function.</p>
Objavljeno v		Lipid Research, inc.; Journal of lipid research; 2013; Vol. 54, iss. 1; str. 20-33; Impact Factor: 4.730;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Keber Rok, Rozman Damjana, Horvat Simon
Tipologija		1.02 Pregledni znanstveni članek
5. COBISS ID	3506824	Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Identifikacija naravnih ligandov proteina ROR[gamma] ki regulira razvoj limfoidnih imunskih celic
	ANG	Identification of natural ROR[gamma] ligands that regulate the development of lymphoid cells
Opis	SLO	Miši z izbitjem gena za nuklearni hormonski receptor ROR [gamma] imajo okvarjen razvoj timocitov, limfnih organih, Th17 celic in tip 3 prirojenih limfoidnih celic. Izooblika ROR [gamma] t veže oksisterole, ki izhajajo iz katabolizma holesterola vendar pa do sedaj še ni bilo pojasnjeno, če oksisteroli dejanski naravni ligandi. V tej raziskavi smo pokazali, da so sterolni lipidi nujni za aktivacijo od ROR [gamma] t-odvisno transkripcijo. Preučili smo različne modele, s prekomernim izražanje, RNAi in genetsko delecijo encimov v poti biosinteze holesterola za analizo ROR [gamma] – odvisne transkripcije. Naši rezultati kažejo, da so naravni ligandi za ROR [gamma] t intermediati biosinteze holesterola navzdol od lanosterola, ki ga regulira gen Cyp51 in navzgor od cimosterola. Analize lipidov, vezanih na ROR [gamma] ugotovljenih molekul z molekulska maso, je skladna z maso holesterolnih intermediatov. Poleg tega smo ugotovili, da holesterolni intermediati stabilizirajo ROR [gamma]-vezavo liganda in inducirajo pritegnitev ko-aktivatorjev. Genetski modeli z izničenjem funkcije presnovnih encimov navzgor od ligandov ROR [gamma] t so negativno vplivali na razvoj bezgavk in Th17 celic. Naši podatki dokazujejo, da intermediati holesterola igrajo pomembno vlogo v razvoju limfocitov preko regulacijo ROR [gamma].
	ANG	Mice deficient in the nuclear hormone receptor ROR[gamma]t have defective development of thymocytes, lymphoid organs, Th17 cells, and type 3 innate lymphoid cells. ROR[gamma]t binds to oxysterols derived from cholesterol catabolism, but it is not clear whether these are its natural ligands. Here, we show that sterol lipids are necessary and sufficient to drive ROR[gamma]t-dependent transcription. We combined overexpression, RNAi, and genetic deletion of metabolic enzymes to study ROR[gamma]t-dependent transcription. Our results are consistent with the ROR[gamma]t ligand(s) being a cholesterol biosynthetic intermediate (CBI) downstream of lanosterol and upstream of zymosterol. Analysis of lipids bound to ROR [gamma] identified molecules with molecular weights consistent with CBIs. Furthermore, CBIs stabilized the ROR[gamma] ligand-binding domain and induced coactivator recruitment. Genetic deletion of metabolic enzymes upstream of the ROR[gamma]t-ligand(s) affected the development of lymph nodes and Th17 cells. Our data suggest that CBIs play a role in lymphocyte development potentially through regulation of ROR[gamma].
Objavljeno v	Cell Press; Cell metabolism; 2015; Vol. 21, št. 2; str. 286-297; Impact Factor: 16.747; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.331; A": 1; A': 1; WoS: DR, IA; Avtorji / Authors: Santori Fabio R., Huang Pengxiang, Pavert Serge A. van de, Douglass Eugene F., Leaver David J., Haubrich Brad A., Keber Rok, Lorbek Gregor, Konijn Tanja, Rosales Brittany N., Rozman Damjana, Horvat Simon, Rahier Alain, Mebius Reina E., Rastinejad Fraydoon, Nes W. David, Littman Dan R.	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	3201416	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Prva transgenska miška (miška z izbitim genom) narejena v Sloveniji

	ANG	sciences - First transgenic animal (knockout mouse) developed in Slovenia
Opis	SLO	Znanstveni svet za interdisciplinarne raziskave na Agenciji za raziskovalno dejavnost Slovenije (ARRS) je prepoznal naše delo kot izjemni dosežek slovenskih znanstvenikov v letu 2011. Kot vodilni avtor dosežka sem delo predstavil 17. januarja 2013 v prostorih Slovenske akademije znanosti in umetnosti. Predstavitve so namenjene tudi širšemu krogu poslušalcev, posnetek predavanja je dostopen na Videolectures http://videolectures.net/znanstveni_dosezki2011_horvat_mis/
	ANG	Scientific board of the Slovenian Research Agency (ARRS) recognized our development of the first transgenic animal (knockout mouse) model in Slovenia as an exceptional achievement of Slovenian science in 2011 in the field of biosciences. As the leader of this project I presented this achievement on 17. January 2013 at the Slovenian Academy of Sciences and Arts. Presentation was geared also towards lay audience to promote scientific achievement in public and is available at the Videolectures web site at: http://videolectures.net/znanstveni_dosezki2011_horvat_mis/
Šifra	E.01 Domače nagrade	
Objavljeno v	2013; Avtorji / Authors: Horvat Simon	
Tipologija	3.16 Vabljen predavanje na konferenci brez natisa	
2.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Zoisovo priznanje za vrhunske znanstvene dosežke
	ANG	Zois award, the highest national award for scientific achievements
Opis	SLO	Zoisova priznanje je bila vodji projekta podeljena za dosežke na področju genetike v zadnjih sedmih letih. Tri znanstvene publikacije izhajajoče iz tega projekta in uvedba nove tehnologije v Slovenijo sta veliko pripomogli k bibliografiji za to nagrado.
	ANG	Zois award was awarded to the PI for his exceptional achievements in the area of genetics in the last seven years. Three publications as a result of this ARRS grant contributed significantly towards strengthening my bibliography.
Šifra	E.01 Domače nagrade	
Objavljeno v	Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo Republike Slovenije; 2013	
Tipologija	3.25 Druga izvedena dela	
3.	COBISS ID	Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Ustanovitev laboratorija za delo z embrionalnimi matičnimi celicami in tehnologijo transgeneze pri živalih
	ANG	Establishment of the laboratory for embryonic stem cell research and animal transgenesis
Opis	SLO	V obdobju 2008-2014 sem bil glavni iniciator in koordinator za ustanovitev in razvoj laboratorija za delo z embrionalnimi matičnimi celicami in tehnologijo transgeneze pri živalih s spremljajočo infrastrukturo za gojenje laboratorijskih transgenih živalih. Odmevnost in pomembnost tega področja potrjuje tudi podelitev Nobelove nagrade za medicino leta 2009 (profesorji Evans, Cappechi, Smithies), ki so odkrili in razvili te metode, ki omogočajo analizo funkcije genov in pojasnitev kompleksnih bioloških procesov na samih živalih (ne samo na celičnih modelih). V Sloveniji do sedaj še nismo imeli centra oziroma laboratorija, kjer bi raziskovalci lahko delali in vitro poskuse na mišjih embrionalnih matičnih celicah ali razvijali svoje transgene modele. Tovrstne raziskave slovenski raziskovalci delajo v tujini in s tem puščajo »know-how« ali patentno zaščitene modele na tujih inštitucijah. Možnost razvijanja transgenskih živalskih modelov v Sloveniji

		je za slovenske raziskovalce in industrijo gotovo koristno tako za izvajanje bodočih temeljnih kot aplikativnih raziskav. Poleg ustanovitve same infrastrukture nam je v okviru podoktorskega projekta že uspelo razviti tudi prvo transgeno žival v Sloveniji. Trenutno delo nadaljuje moj mladi raziskovalec, ki že izvaja funkcijske študije na teh transgenih živalih. To dokazuje, da je skupina usposobljena za izvajanje poskusov te zahtevne veje animalne biotehnologije. Sklepamo, da je uvajanje laboratorija za delo z embrionalnimi matičnimi celicami in tehnologijo transgeneze pri živalih v Slovenijo pomemben družbeno-ekonomski dosežek.
	ANG	In the period between 2008-2014, I was the main coordinator and initiator to establish infrastructure for embryonic stem cell research and animal transgenesis. Importance of this field of research is exemplified by the 2009 year's Nobel Prize awardees for Medicine (professors Evans, Cappechi, Smithies), who invented and developed these methods to allow in vivo studies of gene function. In Slovenia, we so far have not yet had a centre or a laboratory where researchers could perform experiments on mouse embryonic stem cells or develop their own transgenic mouse models. Our laboratory now offers opportunity for Slovenian research community and interested industry to perform such experiments at home. Apart from establishing necessary infrastructure, we already managed to develop the first conditional transgenic knockout animal in Slovenia. This result confirms that we are now equipped and have all the expertise necessary to lead experiments in this rather difficult field of animal biotechnology.
	Šifra	D.02 Ustanovitev raziskovalnega centra, laboratorija, študija, društva
	Objavljeno v	http://www.bf.uni-lj.si/zootehnika/o-oddelku
	Tipologija	2.14 Projektna dokumentacija (idejni projekt, izvedbeni projekt)
4.	COBISS ID	3027848 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO doktorat 1 (COBISS 3027848) : Razvoj transgenih modelov miši za določanje funkcije gena Cyp51 med spermatogenezo in razvojem zarodka doktorat 2 (COBISS 3738132): Presnova in ravnovesje holesterola pri miših s pogojno izbitim genom CYP51 v jetrih
		ANG PhD thesis 1: Development of the transgenic mouse models to determine the role of gene Cyp51 in spermatogenesis and embryo development PhD. thesis 2: Metabolism and cholesterol homeostasis in liver-specific CYP51 knockout mice
	Opis	SLO V okviru projekta J4-4306 sta bili izvedeni dve mentorstvi za doktorsko disertacijo mladim raziskovalcem Roku Kebru (COBISS 3027848) ter Gregorju Lorbeku (COBISS 3738132)
		ANG There have been two mentoring of doctoral thesis for young researchers within the project J4-4306 - Rok Keber (COBISS 3027848) and Gregor Lorbek (COBISS 3738132)
	Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom
	Objavljeno v	[R. Keber]; 2012; XVII, 155 str., [9] str. pril.; Avtorji / Authors: Keber Rok
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija
5.	COBISS ID	3206280 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Več vabljenih predavanj in predstavitev projekta J4-4306 (glej spodaj opis)
		ANG Many invited lectures presenting reserach results of the project J4-4306 (see below)
		HORVAT, Simon. Genetika debelosti : [predavanje na: 18. slovenskem festivalu znanosti, Ljubljana, 9.-11.10.2012]. 2012. [COBISS.SI-ID

	Opis	<p>3206280] HORVAT, Simon. Debelost : genetika in bioetika : predavanje v sklopu EU projekta Nova generacija raziskovalcev ved o življenju, Škofijska klasična gimnazija, Ljubljana, 13. 12. 2012. [COBISS.SI-ID 5569050] KEBER, Rok, MOTALN, Helena, WAGNER, Kay D., DEBELJAK, Nataša, RASSOULZADEGAN, Mino, AČIMOVIČ, Jure, ROZMAN, Damjana, HORVAT, Simon. Karakterizacija mišjih zarodkov s popolnim izničenjem holesterogenega gena citokrom P450 lanosterol 14[alfa]-demetilaze (Cyp51). V: POTOČNIK, Uroš (ur.), RAMŠAK, Andreja (ur.). 2. kolokvij iz genetike, Piran, 16. september 2011. Ljubljana: Slovensko genetsko društvo, 2011, str. 22-28. [COBISS.SI-ID 2929544] HORVAT, Simon, PREVORŠEK, Zala, GORJANC, Gregor, BELTRAM, Jasmina, LAPLANTE, Mathieu, MORTON, Nicholas M. Obesity : tackling a disease by focusing on obesity resistance rather than susceptibility genes. V: Simpozij z mednarodno udelebo ob 40. obletnici Inštituta za biokemijo in 20. obletnici Medicinskega centra za molekularno biologijo = International Symposium at 40th Anniversary of Institute of Biochemistry and_ 20th Anniversary of Medical Centre for Molecular Biology, Ljubljana, 27-29 June 2012. HUDLER, Petra (ur.), VIDETIČ PASKA, Alja (ur.), JUVAN, Peter (ur.). Molekularna medicina in biotehnologija = Molecular medicine and biotechnology : book of abstracts. Ljubljana: Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta: = Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, 2012, str. 24. [COBISS.SI-ID 3077512] LORBEK, Gregor, URLEP, Žiga, PERŠE, Martina, JERUC, Jera, JUVAN, Peter, KEBER, Rok, HORVAT, Simon, ROZMAN, Damjana. Presnova in ravnovesje holesterola pri miših s pogojno izbitim genom Cyp51 v jetrih. V: BIOmolekularec.si [tudi] Dan biomolekularnih znanosti, Ljubljana, 25. september 2014. BAVEC, Aljoša (ur.), et al. Zbornik povzetkov. Ljubljana: Slovensko biokemijsko društvo, 2014, str. 33. [COBISS.SI-ID 5663002] LORBEK, Gregor, PERŠE, Martina, KEBER, Rok, HORVAT, Simon, JERUC, Jera, ROZMAN, Damjana. Conditional deletion of hepatic Cyp51 gene reveals sex-specific impact on development and plasma cholesterol homeostasis. V: Simpozij z mednarodno udelebo ob 40. obletnici Inštituta za biokemijo in 20. obletnici Medicinskega centra za molekularno biologijo = International Symposium at 40th Anniversary of Institute of Biochemistry and_ 20th Anniversary of Medical Centre for Molecular Biology, Ljubljana, 27-29 June 2012. HUDLER, Petra (ur.), VIDETIČ PASKA, Alja (ur.), JUVAN, Peter (ur.). Molekularna medicina in biotehnologija = Molecular medicine and biotechnology : book of abstracts. Ljubljana: Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta: = Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, 2012, str. 97. [COBISS.SI-ID 3078024]</p>
		<p>HORVAT, Simon. Genetics of obesity : [invited lecture at the 18th. Slovenian Festival of Science, Ljubljana, 9.-11.10.2012]. 2012. [COBISS.SI-ID 3206280] HORVAT, Simon. Obesity – genetics and bioethics : lectures within the EU project »New generation of young researchers in life sciences, 10 secondary schools in Slovenia KEBER, Rok, MOTALN, Helena, WAGNER, Kay D., DEBELJAK, Nataša, RASSOULZADEGAN, Mino, AČIMOVIČ, Jure, ROZMAN, Damjana, HORVAT, Simon. Characterization of mouse embryos with complete knockout of cholesterologenic gene cytochrome P450 lanosterol 14 [alpha] -demetilaze (Cyp51). V: POTOČNIK, Uroš (ur.), RAMŠAK, Andreja (ur.). 2. Coloquim in genetics, Piran, 16. september 2011. Ljubljana: Slovenian genetics society, 2011, str. 22-28. [COBISS.SI-ID 2929544] HORVAT, Simon, PREVORŠEK, Zala, GORJANC, Gregor, BELTRAM, Jasmina, LAPLANTE, Mathieu, MORTON, Nicholas M. Obesity : Tackling a disease by focusing on obesity resistance rather than susceptibility genes. IN: International Symposium at 40th Anniversary of Institute of Biochemistry and_ 20th Anniversary of Medical Centre for Molecular Biology, Ljubljana,</p>

	ANG	27-29 June 2012. HUDLER, Petra (ur.), VIDETIČ PASKA, Alja (ur.), JUVAN, Peter (ur.). = Molecular medicine and biotechnology : book of abstracts. Ljubljana: Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta: = Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, 2012, str. 24. [COBISS.SI-ID 3077512] LORBEK, Gregor, URLEP, Žiga, PERŠE, Martina, JERUC, Jera, JUVAN, Peter, KEBER, Rok, HORVAT, Simon, ROZMAN, Damjana. Metabolism and homeostasis of cholesterol levels in mice with a conditional knockout Cyp51 in the liver. IN: A day of biosciences , Ljubljana, 25. september 2014. BAVEC, Aljoša (ur.), et al. Zbornik povzetkov. Ljubljana: Slovenian Biochemical Society, 2014, str. 33. [COBISS.SI-ID 5663002] LORBEK, Gregor, PERŠE, Martina, KEBER, Rok, HORVAT, Simon, JERUC, Jera, ROZMAN, Damjana. Conditional deletion of hepatic Cyp51 gene reveals sex-specific impact on development and plasma cholesterol homeostasis. V International Symposium at 40th Anniversary of Institute of Biochemistry and_ 20th Anniversary of Medical Centre for Molecular Biology, Ljubljana, 27-29 June 2012. HUDLER, Petra (ur.), VIDETIČ PASKA, Alja (ur.), JUVAN, Peter (ur.). Molekularna medicina in biotehnologija = Molecular medicine and biotechnology : book of abstracts. Ljubljana: Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta: = Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, 2012, str. 97. [COBISS.SI-ID 3078024]
Šifra	B.04	Vabljeni predavanja
Objavljeno v	2012; Avtorji / Authors: Horvat Simon	
Tipologija	3.16	Vabljeni predavanja na konferenci brez natisa

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Napredek v temeljnih znanjih

Ugotavljamo, da so izsledki naših raziskav bistveno pripomogli k razumevanju biologije holesterola, predvsem na področju embriologije, reprodukcije ter molekularne imunologije. Zaradi interdisciplinarnar narave projekta bodo rezultati koristni tudi za splošna področja, kot je genetika, funkcijska genomika, živalska biotehnologija ter molekularna biologija. Rezultati posameznih delovnih sklopov so podrobno opisani v točki 3, zato jih bomo v tej točki povzeli le na kratko. Prvi eksperiment je razjasnil pomen Cyp51 in de novo sinteze holesterola pri razvoju zarodka in pokazal kateri organi, tkiva in procesi so v primeru okvare gena Cyp51 prizadeti. Drugi eksperiment je razkril kakšna je vloga Cyp51 in določenih intermediatov (MAS sterolov) na razvoj spolnih celic in posledično plodnosti. Pridobljeno znanje je lahko zelo koristno tudi pri interpretaciji ostalih biosintetskih poti, kjer se pojavlja enak fenomen. Tretji poskus je potrdil hipotezo o pomembni vlogi de novo biosinteze holesterola pri imunskem odzivu. Naša publikacija v eminentni reviji Cell metabolism je sploh prva pokazala, da so intermedii biosinteze holesterola lahko direktni ligandi endogenih genov (v našem primeru gen ROR γ) in imajo torej pomembno biološko funkcijo. Ta vezava je nujna za signaliziranje in normalen razvoj limfocitov ter posledično delovanje imunskega sistema. Ti rezultati so spremenili trenutni pogled na vpletenost biosinteze holesterola v razvojne procese (npr delovanje imunskega sistema, zorenje spolnih celic), ter izpostavili funkcijsko vlogo intermediatov (MAS) pred pomenom samega končnega produkta biosintetske poti (holesterol).

Razvoj genetskih virov.

Zelo pomemben produkt tega projekta je razvoj edinstvenih genetskih virov za bodoče študije homeostaze holesterola. Kot je opisano v točki 3 smo že vzpostavili povezave s številnimi

interesenti iz Evrope, da bi genetske vire tega projekta vključili tudi v obsežnejše bodoče projekte. Naš transgeni mišji model so medtem že uporabljeni v številnih študijah po svetu in tudi pri projektu FP7 za študij mehanizma in zdravljenje nealkoholne bolezn zamaščenih jeter. To je kompleksna motnja, ki se pojavlja pri 30 milijonih Evropejcev in lahko napreduje v usodno obliko nealkoholne steatoze. Vsi trije transgeni živalski modeli razviti tekom projekta bodo koristni tudi za prihodnje študije povezane s homeostazo holesterola, ki bodo dolgoročno pripomogle k izboljšanju kvalitete življenja ljudi in živali.

Razvoj novih tehnologij:

V preteklih štirih letih je naša raziskovalna skupina v Slovenski prostor vpeljala tehnologijo ciljnega spreminjanja genov pri miših. Vzpostavili smo tehnologijo matičnih embrionalnih celic ter laboratorij za vzrejo transgenih miši. Transgena mišja linija uporabljena v tem projektu, je prvi genetsko spremenjeni model miši, ki je bil razvit v Sloveniji brez sodelovanja tujih znanstvenikov. Osvojili smo tehnologijo razvoja transgenih živalskih modelov, v tem projektu pa še razvili funkcijsko karakterizacijo teh modelov za in vivo funkcionalne študije. Menimo, da je projekt bistveno prispeval k nadaljnjemu razvoju tehnologije transgenih živalskih modelov v slovenskem prostoru in uporabi teh modelov na področju funkcijske genomike.

ANG

17.1. For the development of science

Advances in basic scientific knowledge

We conclude that the results of this research project significantly contributed to the understanding of the biology of cholesterol, especially in the field of embryology, reproduction and molecular immunology. Due to the interdisciplinary nature of the project, our results will be also useful for general areas such as genetics, functional genomics, animal biotechnology and molecular biology.

The results of individual work packages are described in detail in section 3, so at this point we will summarize them only briefly. The first experiment was to clarify the importance of Cyp51 and de novo synthesis of cholesterol in the development of the embryo and foetus and showed which organs, tissues and processes in the event of failure of CYP51 were mostly affected. The second experiment revealed the role of Cyp51 and certain intermediates (MAS sterols) on the development of germ cells and hence fertility. This knowledge is very useful in the interpretation of other biosynthetic routes where there is the same phenomenon. The third experiment confirmed the hypothesis on the importance of de novo cholesterol biosynthesis in the immune response. Our publication in the premier journal of CELL Metabolism is the first ever demonstrating that the intermediates of cholesterol biosynthesis can be direct ligands of endogenous genes (in this case a gene ROR γ) with important biological function. This binding is essential for signalling and normal lymphocyte development and, consequently, the functioning of the immune system. These results have changed the current view of the involvement of cholesterol biosynthesis in development processes (eg, immune system function, maturation of gametes), and highlighted the functional role of cholesterol biosynthesis intermediates (MAS) in comparison with the final product of this biosynthetic pathway (cholesterol).

The development of genetic resources.

An very important product of this project was development of unique genetic resources for future studies of cholesterol homeostasis. As described in Section 3 we have already established links with a number of interested parties from Europe to use genetic resources of this project. Our transgenic mouse model have since been used in numerous studies around the world and also in a FP7 project to study the mechanism and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. This is a complex disorder that occurs when 30 million Europeans and may progress to a fatal form of non-alcoholic steatosis. All three transgenic animal models developed during the project will be useful for future studies related to cholesterol homeostasis, which will in the long term contribute to improving the quality of life of people and animals.

The development of new technologies:

In the past four years, our research group introduced targeted modification of genes in mice in Slovenia. We have established a technology of embryonic stem cells and laboratory breeding of

transgenic mice. Transgenic mouse lines used in this project is the first genetically modified mouse model, which was developed in Slovenia without the participation of foreign scientists. We believe that the project has contributed significantly to the further development of the technology of transgenic animal models in Slovenia and the use of these models in the field of functional genomics.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Korist za zdravje ter kvaliteto življenja ljudi in živali

Projekt J4-4306 je bil sicer zasnovan kot temeljni, zato ni vključeval partnerjev in sponzorjev iz industrije. Menimo pa, da številni rezultati tega nudijo dobro osnovo za načrtovanje aplikativne projektov na področju iskanja novih zdravil za zniževanje krvnega holesterola, zdravljenje neplodnosti ter zdravljenje zmanjšanja imunske odzivnosti in vnetnih bolezni. V bodoče nameravamo vzpostaviti stik z ustreznimi podjetji v Sloveniji, ki bi jih zanimal prenos znanja pridobljenega znotraj tega projekta pri razvoju novih produktov predvsem na področju biomedicine in zdravja živali.

Rezultati prvega poskusa bodo služili kot osnova za aplikativne raziskave povezane z okvarami biosinteze holesterola med razvojem ljudi in živali. Ena od možnih aplikacij je diagnostika za identifikacijo sindromov homeostaze holesterola povezanih z okvarami v Cyp51. Kljub poznavanju usodnih posledic genetskih mutacij (npr: hiperholesterolemija zaradi mutacije Ldlr pri prašičih), pogosto posvečamo premalo pozornosti pomenu raziskav za zdravje ter kvaliteto življenja živali in ljudi. Naša študija je prinesla nova orodja (biomarkerje) in znanja s katerimi bo mogoče raziskovati učinke Cyp51 in biosinteze holesterola na embrionalni razvoj živali (prenatalne smrti) ter nepravilnosti pri odraslih živalih. Drugi eksperiment je prinesel številne nove informacije o vlogi Cyp51 in MAS pri regulaciji zorenja moških spolnih celic. Te so lahko dobra podlaga za aplikativne študije, ki bodo pripomogle k razlagi nepojasnjenih vzrokov številnih primerov moške neplodnosti ter njihovemu zdravljenju. Naš pilotni tretji poskus je jasno pokazal, da imajo osebkki z okvarami v homeostazi holesterola tudi okvare v odzivnosti imunskega sistema. Nadaljnje aplikativne študije lahko raziščejo, če se takim osebkom lahko uvede terapijo z dieto ali s farmakološko terapijo.

Promocija slovenske znanosti

Glavni cilj našega projekta je bil prispevati znanje in pristope k boljšemu zdravju in kvaliteti življenja ljudi in živali, kar je pravzaprav tudi glavna prioriteta razvite družbe. Uporaba novih in vivo transgenih modelov v kombinaciji z najnovejšimi tehnologijami ("omikami") je najbolj obetaven raziskovalni pristop k funkcijski genomiki. S tem projektom smo se Slovenci pridružili svetovnim trendom na tem področju saj je bila Slovenija na področju funkcijske genomike in uporabe transgenih modelov v svetovnem merilu še nepoznana. Da je pričujoči projekt prispeval k večji prepoznavnosti Slovenije pričata tudi odmevnost naših publikacij ter izredno zanimanje za transgene modele, ki smo jih razvili znotraj tega projekta. Naše linije miši smo poslali po svetu na akademske ali industrijske inštitucije na praktično vse kontinente razen Afrike. Zaradi povečanega obsega dela pri distribuciji teh genetskih virov nam bo sedaj pomagalo največje podjetje na področju vzreje in prodaje laboratorijskih živali, The Jackson Laboratory v ZDA. To podjetje je prevzeli vse stroške transportov in tudi krioprezervacije, to je zamrzovanja zarodkov ter sperme naših linij kot varnostno rezervo v njihovi genski banki pomembnih linij.

Izobraževanje kadrov

Posredni pomen projekta za družbo je tudi v zaposlovanju in izobraževanju novih sodelavcev, ki bodo pri projektu sodelovali. V okviru projekta sta bila zaključena dva doktorata, vključeni so bili tudi številni diplomanti na prvi in drugi bolonjski stopnji. Oba doktoranda sta zaradi dobrih publikacij dobila službo – žal res v tujini predvsem zaradi trenutne krize zaposlovanja mladih raziskovalcev v Sloveniji.

ANG

The benefit to the health and quality of life for humans and animals

The project J4-4306 was conceived as a fundamental, and therefore did not include partners and sponsors from industry. We believe, however, that many of the results provide a good basis for planning application projects in the search for new medicines to lower blood cholesterol, infertility treatment and a reduction in immune response and inflammatory diseases. In the future, we intend to establish contact with the relevant companies in Slovenia should they be interested in the transfer of knowledge acquired within this project in the development of new products, especially in the field of biomedicine and health of animals.

The results of the first experiment will serve as a basis for applied research associated with the role of cholesterol biosynthesis in the development of humans and animals. One of the possible applications is diagnostics to identify syndromes of cholesterol homeostasis associated with impairments in Cyp51 function. Despite knowledge of the fatal consequences of genetic mutations (eg hypercholesterolemia due to mutations in the LDLR pigs) we often pay too little attention to the importance of research for health and quality of life of animals. Our study has brought new tools (biomarkers) and knowledge which will make it possible to investigate the effects of Cyp51 and cholesterol biosynthesis in the embryonic development of animals (prenatal death) and abnormalities in adult animals. The second experiment has produced new information on the role of Cyp51 and MAS in regulating the maturation of male germ cells. They can be a good basis for applied studies, which will contribute to the interpretation of unexplained causes of male infertility and their treatment. Our third pilot experiment clearly showed that subjects with defective cholesterol homeostasis have impaired responsiveness of the immune system. Further studies can be applied to investigate if such cases can be treated with diet or pharmacological therapy.

Promotion of Slovenian Science

The main goal of our project was to contribute knowledge and approaches to better health and quality of life of people and animals, which is actually the main priority of a developed society. The use of new in vivo transgenic models in combination with the latest technologies ("omics") is the most promising research approach to functional genomics. With this project Slovenia joined the global trends in this area since we were unknown in this field so far. That the present project will contribute to the greater visibility of Slovenia testify the impact of our publications. In addition, there is a high interest in transgenic models that have been developed within this project. Our lines of mice were sent around the world to academic and industrial institutions in virtually every continent except Africa. Due to our increased workload in the distribution of these genetic resources, we will now get help from the largest company in the field of breeding and sales of laboratory animals, The Jackson Laboratory in the USA. This company has assumed all the costs of transports and cryopreservation, that is, freezing embryos and sperm of our lines as a safety measure and deposited them in their gene bank of important lines.

Training of staff

Indirect importance of the project is also in recruiting and training new employees who participated in the project. Within this project two doctoral studies were completed and a number of graduates in the first and second stage of Bologna studies trained. Both doctoral candidates as a result of excellent publications got a job – unfortunately they are now both employed due mainly to the current crisis in employment of young researchers in Slovenia.

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	Spособnost 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" value=""/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
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" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
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" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	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"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	

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

Komentar

--

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

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

G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

--	--

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

13. Izjemni dosežek v letu 2014¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

Identifikacija naravnih ligandov proteina ROR[gamma] ki regulira razvoj limfoidnih imunskih celic

Santori FR..., Keber R, Lorbek G, Rozman D, Horvat S., Littman DR. CELL METABOLISM; 2014 in press

V tej raziskavi smo uporabljali tehnologijo pogojne transgeneze Cre-loxP. S sodelavci na Howard Hughes Institute, ZDA, smo preučevali vlogo biosinteze holesterola in intermediatov specifično samo v imunskih, limfoidnih celicah. Rezultati so razkrili pomembno vlogo de novo biosinteze holesterola pri imunskih celicah. Še več, ta publikacija je sploh kot prva pokazala, da so intermedii biosinteze holesterola lahko direktni ligandi endogenih genov (v našem primeru gen RORgamma) in imajo torej pomembno biološko funkcijo pri signaliziranju in uravnavanju razvoja limfocitov ter posledično delovanja imunskega sistema. Študija torej izpostavlja novo funkcijsko vlogo intermediatov znotraj biosintezne poti holesterola in poudarja, da pri tej poti ni funkcijsko pomemben samo končni produkt, holesterol.

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

vodja raziskovalnega projekta:

raziskovalne organizacije:

in

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Simon Horvat

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

16.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/233

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

DD-97-AC-6E-D0-6D-E5-C6-59-71-6A-3F-21-B0-A2-FD-3C-7A-6D-F8

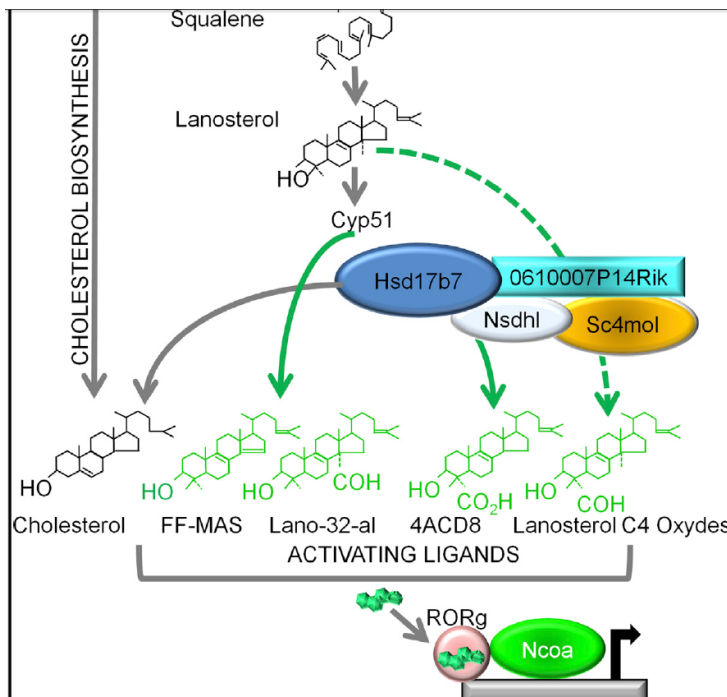
Priloga 1

BIOTEHNIKA

Področje: Genetika in selekcija

Dosežek 1: Identifikacija naravnih ligandov proteina ROR[gamma], ki uravnava razvoj limfoidnih imunskih celic.

Vir: Santori FR., Huang P. Pavert SA, Douglass EF., Leaver DJ, Haubrich BA, Keber R, Lorbek G, Konijn T, Rosales BN, Rozman D, Horvat S, Rahier A, Littman DR. CELL METABOLISM; 2014 *in press*.



V tej raziskavi smo uporabljali tehnologijo pogojne transgeneze Cre-loxP (angl. conditional knockout). Metoda je še posebej primerna za študije esencialnih genov kot je preučevani gen *Cyp51*, kjer izbitje gena v celotnem organizmu vodi v zgodnjo embrionalno zamrtje. V tej raziskavi smo s sodelavci na Howard Hughes Institute, ZDA, preučevali vlogo biosinteze holesterola in intermediatov specifično samo v imunskih, limfoidnih celicah. Rezultati so razkrili pomembno vlogo *de novo* biosinteze holesterola pri imunskih celicah. Še več, ta publikacija v reviji CELL Metabolism z visokim faktorjem vpliva (17) je sploh kot prva pokazala, da so intermediati biosinteze holesterola lahko direktni ligandi endogenih genov (v našem primeru gen ROR γ) in imajo torej pomembno biološko funkcijo pri signaliziranju in uravnavanju razvoja limfocitov ter posledično delovanja imunskega sistema. Študija torej izpostavlja novo funkcijsko vlogo intermediatov znotraj biosintezne poti holesterola in poudarja, da pri tej poti ni funkcijsko pomemben samo končni produkt, holesterol.