

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/51



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-4011
Naslov projekta	Mehanizem signalizacije flagelina preko Tollu-podobnega receptorja 5
Vodja projekta	14360 Mojca Benčina
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7159
Cenovni razred	
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	2992 EN-FIST CENTER ODLIČNOSTI
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.01 Mikrobiologija in imunologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.03 Medicinske vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.05 Druge medicinske vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Aktivacija **naravne imunosti** preko Toll-u podobnih receptorjev (TLR) ima dvojno vlogo, služi kot **obramba** telesa pred patogeni in je **ključna** za aktivacijo **pridobljene imunosti**. **Receptor TLR5 prepoznava** izvencelični **bakterijski** protein **flagelin**, ki je glavna sestavina **bakterijskih bičkov** in **virulenčni faktor** številnih Gram-pozitivnih in Gram-negativnih

bakterij. Vezava flagelina na receptor vodi do dimerizacije, kar aktivira od MyD88 odvisno signalno pot naravne imunosti in sintezo vnetnih citokinov ključnih pri obrambi pred bakterijskimi okužbami. **Prekomeren odziv** naravne imunosti lahko privede do akutnih **vnetnih bolezni**, kot so: sepsa in septični šok. Izrazito povečana aktivnost receptorja TLR5 in posledično povečano izražanje vnetnih citokinov so značilnosti **vnetja črevesnega epitelija pri Crohnovi bolezni**, povečane dovzetnosti za pljučnico, katere povzročitelj so bakterije, kot sta *Legionella pneumophila* in *Pseudomonas aeruginosa*, ki povzroča kronično **vnetje pljučnega tkiva** pri bolnikih s **cistično fibrozo**.

Na podlagi objav, molekularnega modeliranja in eksperimentalnih rezultatov smo **pripravili molekularni model vezave flagelina na receptor TLR5**. S pomočjo točkovnih mutant na človeškem receptorju TLR5 in flagelinu bakterije *S. typhimurium* smo identificirali in potrdili mesta vezave flagelina na receptor TLR5. Na podlagi mehanizma vezave smo določili **biokemijsko podlago ter fiziološki pomen razlikovanja** med flagelini različnih bakterij med različnimi organizmi, predvsem človeka in miši, ki sta različno občutljiva za aktivacijo s flagelinom *S. typhimurium* ali *Serratia marcescens*. Model mehanizma aktivacije smo podprli s konstitutivno aktivnim himernim proteinom, fuzijo med flagelinom in TLR5. Na podlagi modela vezave flagelina na dimer receptorja TLR5 smo pripravili agoniste receptorja TLR5. Pripravljene proteine smo uporabili za pripravo vakcin proti *Helicobacter pylori* in učinkovitost le-teh testirali na mišjem modelu. Pokazali smo tudi, da neposredna povezava med antigenom in aktivatorji naravne imunosti občutno izboljša sintezo protitels proti dostavljenemu antigenu.

ANG

Activation of **innate immunity** via Toll-like receptors, (TLR) serves as **protection** against **pathogens** and tissue damage and is essential for **activation** of **adaptive immunity**. A Toll-like receptor 5, **TLR5**, **recognizes** bacterial **flagellin**, which is the main component of bacterial flagella and a **virulence factor** of many Gram-positive and Gram-negative bacteria. TLR5 activation by flagellin probably leads to its dimerization, which triggers activation of the MyD88 dependent signaling pathway and synthesis of proinflammatory cytokines crucial for the defence against bacterial infections. An **excessive, uncontrolled immune response** accompanied with a specific genetic background could lead to an acute **inflammatory response**, such as in sepsis and septic shock. A significant increase of TLR5 activation and consequently synthesis of proinflammatory cytokines are characteristic for **Crohn's disease** and increased susceptibility to pneumonia caused by bacterial infections such as infection with *Legionella pneumophila* and *Pseudomonas aeruginosa* that triggers chronic inflammation of lung tissue in patients with **cystic fibrosis**.

Based on published results, molecular modeling, we **proposed** a molecular **model** of the **receptor TLR5**. With targeted point mutations on human and mouse TLR5 and on flagellin of bacteria *S. typhimurium* we determined and confirmed binding sites for flagellin on TLR5 and proposed the molecular mechanism of flagellin binding to the receptor. Based on the ligand binding mechanism we determined biochemical basis and physiological significance of the distinction among different bacterial flagellins between different organism, especially human and mice, which sensitivity to activation varies between flagellins of bacteria *S. typhimurium* and *Serratia marcescens*. Molecular model was supported by creation of constitutively active chimeric fusion between flagellin and TLR5, which allowed us to confirm the molecular mechanism of TLR5 activation and to prepare bioactive compounds for potential vaccines. On the basis of molecular mechanism of the flagellin binding on the dimer of TLR5 we designed protein based agonists of the receptor TLR5. Prepared chimeric flagellins were used for the preparation of vaccines against *Helicobacter pylori*, and the effectiveness of the test in the mouse model. We also showed that direct linkage between antigen and activator of innate immunity improves synthesis of antibodies against delivered antigen.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Raziskovalna hipoteza. Na podlagi literaturnih podatkov in strukture dela receptorja TLR5 z delom flagelina je razvidno, da se flagelin na receptor veže preko t.i. primarnega vezavnega mesta, ki se razteza v predelu od LRR1 (LRR, z leucini-bogata regija) do LRR10 receptorja in v predelu domene D1 flagelina (od aa 77 do 135 in od aa 422 do 450). Obstoječa struktura TLR5 s flagelinom je pomanjkljiva, saj ne razloži tvorbe aktivnega dimera in procesa aktivacije

receptorja. Iz 3D modela receptorja TLR5, ki smo ga pripravili na podlagi obstoječe strukture dela ektodomene receptorja TLR5 in drugih receptorjev TLR, smo predpostavili, da poleg primarnega vezavnega mesta za flagelin, obstajajo dodatna mesta vezave flagelina na TLR5, ki naj bi ustrezno razložila mehanizem aktivacije receptorja. Z identifikacijo aminokislinskih ostankov receptorja in flagelina, ki sodelujejo pri vezavi, smo potrdili model sidranja in aktivacije receptorja.

Opis raziskovanja. Raziskovanje je potekalo na več področjih: (i) določitev in potrditev modela aktivacije receptorja TLR5 s flagelinom; (ii) določitev molskega razmerja med flagelinom in receptorjem; (iii) določitev fiziološkega pomena razlikovanja med flagelini različnih bakterij med različnimi organizmi, predvsem človeka in miši; in (iv) priprava proteinskih agonistov, ki služijo kot cepiva proti *Helicobacter pylori*.

Na podlagi obstoječih struktur receptorjev TLR in rezultatov točkovnih mutacij v TLR5 in flagelinu smo pripravili model receptorja TLR5 z ligandom. Iz 3D modela je razvidno, da je poleg (i) primarnega vezavnega mesta za flagelin, (ii) prisotno tudi sekundarno vezavno mesto, ki omogoča navzkrižno povezovanje flagelina in TLR5 v receptorskem dimeru, ki se razteza na območju od LRR15 do LRR16. Poleg tega smo identificirali aminokislinske preostanke v območju od LRR16 do LRR18 receptorja, ki naj bi bili vpleteni pri interakcijah med dvema TLR5 v kompleksu flagelin/TLR5. S točkovnimi mutacijami aminokislinskih preostankov v alanine ali nasprotno nabite aminokislinske smo preverili vpliv izbranih aminokislin na vezavo in predvsem aktivacijo receptorja. Za analizo učinka mutacij na aktivnost receptorja smo uporabili humane celične linije, ki smo jim vstavili mutirane receptorje TLR5 in preko reporterskega sistema luciferaz spremljali aktivacijo signalne poti naravne imunosti. Z dodatnimi biokemijskimi metodami smo ovrednotili učinke mutacij z vidika vezave liganda.

Pripravili smo različne himerne proteine med flagelinom in receptorjem TLR5, ki so bili bodisi konstitutivno aktivni ali neaktivni. Z različnimi kombinacijami himernih proteinov, flagelina in receptorja smo določili stehiometrijo vezave med flagelinom in receptorjem TLR5, ki je 2:2 flagelin:TLR5 (BBRC 2013). Himerne proteine smo uporabili tudi za potrditev modela vezave flagelina na receptor. Skrajšani flagelin, ki ne vsebuje domene D0, je neučinkovit aktivator TLR5, kljub temu da se veže na receptor. Z neposrednim povezovanjem dveh skrajšanih flagelinov (brez domene D0) smo povrnili sposobnost aktivacije receptorja skrajšanemu flagelinu. S tem smo pokazali, da je za aktivacijo potrebna točno določena prostorska orientacija receptorjev TLR5. Postavili smo hipotezo, da je za pozicioniranje ektodomene TLR5 in aktivacijo receptorja zadolžena domena D0 flagelina. Pokazali smo, da je C-končni segment domene D0 flagelina ključen za aktivacijo receptorja. Pripravili smo himerne flageline, ki so vsebovali segmente flagelina bakterije *S. typhimurium*, ki aktivira TLR5 in flagelina bakterije *H. pylori*, ki receptorja ne aktivira. S primerjanjem aktivacije receptorja s himernimi flagelini smo potrdili, da flagelin, ki je vseboval domeno D0 *H. pylori*, ni aktiviral TLR5. Omenjeno opažanje je potrdilo hipotezo, da je za aktivacijo receptorja ključen C-končni del flagelina.

Z mutacijami aminokislin v domeni D1 flagelina bakterije *S. typhimurium* smo določili aminokislinske preostanke, ki so pomembni pri medvrstnem razlikovanju človeškega in mišjega receptorja TLR5. Identificirani aminokislinski preostanki sodelujejo pri vezavi flagelina na receptor v primarnem vezavnem mestu.

Pri pripravi peptidnih ligandov smo se osredotočili na pripravo himernega proteina med flagelinom, ki aktivira TLR5 in antigeni bakterije *H. pylori*. Izolirane himerne proteine smo injicirali v miši in iz plazme izolirali nastala protitelesa. Pridobljena protitelesa so kazala aktivnost proti antigenom *H. pylori*. Aktivacijo imunskega sistema smo tudi preverili s testom zaščite mišk pred okužbami s *H. pylori*. Miši imunizirane s himernim proteinom so imele po okužbi z bakterijami *H. pylori* manjše število bakterije v želodcu v primerjavi z ustreznimi kontrolami.

Rezultati. Naravna imunost je ključni mehanizem gostitelja pri obrambi pred patogeni. Pri tem pomembno vlogo igrajo receptorji TLR. Površinski receptor TLR5 prepozna flagelin, ki je virulenčni faktor Gram-pozitivnih in Gram-negativnih bakterij. V našem delu smo raziskali mehanizem aktivacije receptorja TLR5 s flagelinom. Osredotočili smo se na identifikacijo vezavnih mest na receptorju TLR5, kot tudi na flagelinu. Motiv je bil pridobiti informacije za racionalno pripravo proteinskih/peptidnih agonistov in antagonistov.

V času raziskav so objavili kristalno strukturo dela ektodomene TLR5 (TLR5-LRR14) s

skrajšanim flagelinom, ki se veže na TLR5, vendar receptorja ne aktivira. Pokazali smo, da poleg primarnega mesta vezave flagelina na receptor pri aktivaciji receptorja sodeluje sekundarno vezavno mesto, ki omogoča navzkrižno povezovanje ektodomen receptorja s flagelinom. Pokazali smo tudi, da je za aktivacijo ključen C-končni del flagelina, ki je iz obstoječe kristalne strukture popolnoma izvzet.

Na podlagi rezultatov mehanizma aktivacije receptorja TLR5 s flagelinom smo pripravili različne himerne flageline, ki smo jih uporabili pri pripravi cepiva proti *H. pylori*. Potrdili smo, da je za učinkovito cepivo potrebno, da je antigen prisoten v isti celici, pri kateri se aktivira naravna imunost. To smo dosegli z neposredno povezavo antigena (v našem primeru antigenov *H. pylori*) na aktivator naravne imunosti (v našem primeru flagelin). Neposredna povezava je tako omogočila sočasno aktivacijo antigen prezentirajočih celic in predstavila antigene T- in B-celicam. Preizkus cepiva na miškah je potrdil hipotezo, da neposredna povezava agonistov naravne imunosti in antigena močno izboljša sintezo protiteles.

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

Delo na projektu je potekalo po pričakovanjih. Vsi zastavljeni cilji so bili doseženi.

Na podlagi določene kristalne strukture dela ektodome TLR5 s skrajšanim flagelinom in s podporo drugih struktur receptorjev TLR (TLR3, TLR4) smo pripravili 3D model ektodome TLR5. Na osnovi pripravljenega modela in literaturnih podatkov smo določili dodatna vezavna mesta na receptorju za flagelin in interakcijsko površino med TLR5 ektodomenama v dimeru. S točkovnimi mutacijami na receptorju TLR5 in z dodatnimi biokemijskimi analizami smo potrdili vlogo izbranih aminokislinskih preostankov. Tako smo pokazali, da se flagelin veže na tri različna mesta v ektodomeni TLR5: na primarno vezavno mesto ektodome TLR5 (določeno iz 3D strukture), sekundarno mesto, ki omogoča povezovanje med ektodomenoma v dimeru in terciarno vezavno mesto, ki veže D0 domeno flagelina. Pokazali smo pomembnost domene D0 flagelina pri aktivaciji receptorja (*publikacije v pripravi*).

Na flagelinu bakterije *Salmonella typhimurium*, aktivatorju TLR5, smo določili aminokislinske ostanke v domeni D1, ki so odgovorni za vezavo na TLR5 in determinirajo vrstno-specifično prepoznavo flagelina med mišjim in človeškim receptorjem TLR5 (*publikacija v pripravi*) in aminokislinske ostanke v domeni D0, ki so ključne za aktivacijo receptorja. Potrdili smo vezavo flagelina na TLR5 v stehiometriji 2:2, kar smo objavili v *Biochem biophys res commun* 435, 2013.

Pripravili smo aktivator receptorja TLR5 na osnovi flagelina, ki je sestavljen iz domen D0 in D1 flagelina bakterije *Escherichia coli*. Na skrajšan flagelin smo vezali antigene *Helicobacter pylori*. Očiščen proteinski konstrukt, himerni protein med skrajšanim flagelinom in antigeni *H. pylori*, smo uporabili kot cepivo proti *H. pylori*. Rezultate smo objavili v *Vaccine* 30, 2012.

Pokazali smo, da določene mutacije proteina MyD88, ki je znotrajcelični adapter aktiviranega TLR5, povzročijo konstitutivno aktivacijo MyD88-odvisne signalne poti. Posledica mutacij je spontana agregacija proteina MyD88 in tvorba MyDosome. Rezultate smo objavili v *Blood* 124, 2014. Spremljali smo vpliv lokalizacije TLR receptorjev na aktivacijo in opredelili pomen proteina UNC93B1 pri aktivaciji TLR receptorjev predvsem receptorja TLR3 in TLR9, kar smo objavili v *J Biol Chem* 288, 2013 in *PloS one* 9, 2014.

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

Programa dela raziskovalnega projekta nismo spreminjali.

Projektni skupini smo od leta 2011 do 2014 priključili mlajše člane Rok Gaber (2012), Tina Lebar (2012), Jelka Pohar (2013). Iz projektne skupine so odšli Karolina Ivičak Kocjan (2013), Alja Oblak (2013), Jerneja Mori (2014), Mateja Manček Keber (2014), Jelka Pohar (2014) zaradi porodniške ali zamenjave delodajalca.

K razširitvi projektne skupine 2012 je botrovala potreba po strokovnjakih s področja sintezne biologije, katerih znanja smo potrebovali pri pripravi himernih proteinov. Ostale spremembe

projektne skupine so bile predvsem posledica odhodov raziskovalk na porodniški dopust. Na ta način smo vzdrževali kritično maso raziskovalcev potrebnih za izvedbo projekta.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

	Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	5023770	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Cepiva na osnovi flagelina
		ANG	Flagelin based vaccines
	Opis	SLO	Vaccine 30, 2012. [5023770, IF 3.492, 7 citations]; Mori J,, Benčina M, Jerala R*. Chimeric flagellin as the self-adjuvanting antigen for the activation of immune response against Helicobacter pylori. Infekcija z bakterijo H. pylori lahko povzroči gastritis in vodi do raka na želodcu. Dolgotrajna antibiotična terapija ne ščiti gostitelja pred ponovnimi infekcijami. Bakterija H. pylori se je tekom evolucije prilagodila tako, da se uspešno izogiba imunskemu odzivu. TLR5, član družine Tollu podobnih receptorjev, prepoznava flageline večine bakterij, vendar ne flagelina FlaA bakterije H. pylori. Z genskim inženiringom smo pripravili himerni flagelin, ki je bil sestavljen iz terminalnih regij E. coli in centralnega dela H. pylori. Rekombinanten flagelin je pravilno zviti in aktivira TLR5. V miših vakciniranih s himernim flagelinom smo izmerili povečano sintezo protiteles IgG in IgA. Protitelesa so se vezala na flagelin H. pylori. Vakcinacija s himernim flagelinom je zagotovila pomembno zaščito miši pred kolonizacijo s H. pylori.
		ANG	Vaccine 30, 2012. [5023770, IF 3.492, 7 citations]; Mori J,, Benčina M, Jerala R*. Chimeric flagellin as the self-adjuvanting antigen for the activation of immune response against Helicobacter pylori. Helicobacter pylori infection can cause gastritis and can lead to gastric cancer. Lengthy antibiotic therapy does not protect the host against reinfection. Bakterija H. pylori evolved to evade the recognition of the immune response. TLR5, a member of the Toll-like receptor family, recognizes flagellin of most bacteria, but does not recognize the flagellin FlaA of H. pylori. We restored the ability of FlaA for the recognition by TLR5 by engineering a chimeric flagellin, in which both terminal segments of H. pylori flagellin were replaced by the corresponding segments from TLR5-activating E. coli flagellin. Recombinant chimeric flagellin folded correctly and was able to activate TLR5. Significantly increased serum IgG and IgA antibody responses were determined in mice vaccinated with chimeric flagellin in comparison to mice vaccinated with a control protein (FlaA) or negative control. Antibodies were able to bind native flagellin from H. pylori lysate. Vaccination with chimeric flagellin provided mice with significant protection against H. pylori.
	Objavljeno v		Butterworth Scientific; Vaccine; 2012; Vol. 30, issue 40; str. 5856-5863; Impact Factor: 3.492; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.075; WoS: NI, QA; Avtorji / Authors: Mori Jerneja, Vranac Tanja, Smrekar Boštjan, Černilec Maja, Čurin-Šerbec Vladka, Horvat Simon, Ihan Alojz, Benčina Mojca, Jerala Roman
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	5222426	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Molekularni mehanizem vezave flagelina na receptor TLR5
		ANG	Molecular mechanism of flagelin recognition by TLR5 receptor
			Biochem biophys res commun 2013, 435. [5222426, IF 1.95, 1 citation];

3.	Opis	SLO	Ivičak-Kocjan, K, Panter, G, Benčina, M*, Jerala, R*. Determination of the physiological 2:2 TLR5:flagellin activation stoichiometry revealed by the activity of a fusion receptor. Vodja projekta si deli vlogo odgovornega avtorja. Pokazali smo fiziološko pomembno stehiometrijo 2:2 med TLR5 in flagelinom z uporabo himernega proteina sestavljenega iz aktivnega fragmenta flagelina povezanega na N-terminalnem koncu s TLR5 (SF-TLR5). Ta himerni protein je konstitutivno aktiven. Z dodajanjem divjega tipa hTLR5 smo znižali avtoaktivacijo SF-TLR5, v odvisnosti od koncentracije. Učinek smo inhibirali z dodatkom flagelina bakterije <i>S. typhimurium</i>, kar kaže na biološko aktivnost TLR5: flagelina kompleks z 2:2 stehiometrijo. Ti rezultati, poleg kombinacije mutacij neaktivnega P736H v BB-zanki domene TIR pri TLR5 in SF-TLR5, dodatno potrjujejo mehanizem aktivacije receptorja TLR5. KIK, GB sta izvedli eksperimente, MB je analizirala rezultate in delo vodila. MB in RJ sta napisala članek. Delo smo predstavili na predavanju: Molecular mechanism of TLR5 activation by flagellin (Meeting of the Slovenian Biochemical Society with International Participation [36980229]).	
		ANG	Biochem biophys res commun 2013, 435. [5222426, IF 1.95, 1 citation]; Ivičak-Kocjan, K, Panter, G, Benčina, M*, Jerala, R*. Determination of the physiological 2:2 TLR5:flagellin activation stoichiometry revealed by the activity of a fusion receptor. Project leader shares corresponding authorship. Authors determined the physiological stoichiometry of TLR5:flagellin activation by the use of a chimeric protein composed of an active flagellin fragment linked to the N-terminus of human TLR5 (SF-TLR5). This construct was constitutively active. Addition of wild-type hTLR5 substantially lowered autoactivation of SF-TLR5 in a concentration dependent manner, an effect which was reversible by the addition of exogenous <i>S. typhimurium</i> flagellin, indicating the biological activity of a TLR5:flagellin complex with a 2:2 stoichiometry. These results, in addition to the combinations of inactive P736H mutation within the BB-loop of the TIR domain of TLR5 and SF-TLR5, further confirm the mechanism of TLR5 activation. KIK, GB performed experiments, MB supervised work and analyzed data. MB and RJ wrote manuscript. The work was also presented as lecture: Molecular mechanism of TLR5 activation by flagellin (Meeting of the Slovenian Biochemical Society with International Participation [36980229]).	
	Objavljeno v	Academic Press.; Biochemical and biophysical research communications; 2013; Vol. 435, issue 1; str. 40-45; Impact Factor: 2.281;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.187; WoS: CQ, DA; Avtorji / Authors: Ivičak-Kocjan Karolina, Panter Gabriela, Benčina Mojca, Jerala Roman		
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek		
COBISS ID	5607194	Vir: COBISS.SI		
Naslov	SLO	Signalna pot aktivacije prirojene imunosti z LPS		
	ANG	Signalling pathway of innate immunity upon activation with LPS		
Opis	SLO	Blood 124. 2014. doi: 10.1182/blood-2014-05-573188; Avbelj M, ..., Benčina M, ..., Jerala R*.. Mutacija Leu265Pro proteina MyD88 ustvarja pogoje za preživetje limfomnih celic. Pokazali smo, da je posledica mutacije proteina MyD88 agregacija proteina		

			in konstitutivna aktivacija transkripcijskega faktorja NF- κ B. Pokazali smo, da alosterična oligomerizacija vodi do konstitutivne aktivacije, ki jo je mogoče preprečiti z ustreznimi peptidnimi inhibitorji.
		ANG	Blood 124. 2014. doi: 10.1182/blood-2014-05-573188; Avbelj M, ..., Benčina M, ..., Jerala R*. Mutacija Leu265Pro proteina MyD88 ustvarja pogoje za preživetje limfomnih celic. Recurrent lymphoma-associated mutations, particularly Leu265Pro (L265P), within the MyD88 Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain sustain lymphoma cell survival due to constitutive nuclear factor κ B signaling. We found that mutated TIR domains displayed an intrinsic propensity for augmented oligomerization and spontaneous formation of cytosolic Myddosome aggregates in lymphoma cell lines. Molecular dynamics simulations and analysis of additional mutations suggest that constitutive activity is caused by allosteric oligomerization.
	Objavljeno v		Grune and Stratton.; Blood; 2014; Vol. 124, iss. 26; str. 3896-3904; Impact Factor: 9.775; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.037; A'': 1; A': 1; WoS: MA; Avtorji / Authors: Avbelj Monika, Wolz Olaf-Oliver, Fekonja Ota, Benčina Mojca, Repič Matej, Mavri Janez, Krüger Jens, Schärfe Charlotta, Delmiro-Garcia Magno, Panter Gabriela, Kohlbacher Oliver, Weber Alexander N. R., Jerala Roman
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS ID	5143066	Vir: COBISS.SI
4.	Naslov	SLO	Znotrajcelični receptorji TLR: molekularni mehanizem aktivacije TLR3 in TLR9.
		ANG	Intracellular receptors TLR: molecular mechanism of TLR3 and TLR9 activation.
	Opis	SLO	J Biol Chem 2013, 288, [5143066] [IF4.651, 2 citations]; Pohar J, Pirher N, Benčina M, Manček Keber M, Jerala R*. The role of UNC93B1 protein in surface localization of TLR3 receptor and in cell priming to nucleic acid agonists. Pokazali smo, da povečano izražanje UNC93B1 povzroči transport različno glikoziliranih TLR3 na plazmesko membrano, kar pa ni lastno preostalim NAS TLR-jem (TLR7/8, TLR9). Iz naših spoznanj izhaja, da je receptor TLR3 pomemben za regulacijo izražanja UNC93B1, ki uravnava odzivnost vseh NAS TLRjev. JP, NP, MB, MMK smo izvedli eksperimente, MB je vodila eksperimente in izvedla mikroskopijo. RJ je podal idejo, JP in RJ sta pripravila tekst za članek. Spremljajoče publikacije: (B) PloS one 2014, 9, doi: 10.1371/journal.pone.0092391. [5462042, IF 3.534]; Pohar J, ..., Benčina M, ..., Jerala R. 2014. The ectodomain of TLR3 receptor is required for its plasma membrane translocation. Dela smo predstavili na predavanjih: Annual meeting of the Austrian society for allergology and immunology, Vienna, 2010 [4577562], IEIIS Edinburgh 2008, University of Cambridge, 2008 [4033306]; German Cancer Research Centre, 2010 [4575770]
			J Biol Chem 2013, 288, [5143066] [IF4.651, 2 citations]; Pohar J, Pirher N, Benčina M, Manček Keber M, Jerala R*. The role of UNC93B1 protein in surface localization of TLR3 receptor and in cell priming to nucleic acid agonists. We observed that poly(I:C) up-regulates transcription of UNC93B1 and promotes trafficking of TLR3 to the plasma membrane in human epithelial cell line. Further studies revealed that expression of UNC93B1 promotes trafficking of differentially glycosylated TLR3, but not other NAS TLRs

			(TLR7/8, TLR9), to the plasma membrane. Our findings identified TLR3 as the important regulator of UNC93B1 expression that in turn governs the responsiveness of all NAS TLRs. JP, NP, MB, MMK performed experiments; MB supervised the work and completed microscopy. RJ developed the ideas, JP and RJ wrote the manuscript. ANG Complementary publications: (B) PloS one 2014, 9, doi: 10.1371/journal.pone.0092391. [5462042, IF 3.534]; Pohar J, ..., Benčina M, ..., Jerala R. 2014. The ectodomain of TLR3 receptor is required for its plasma membrane translocation. Those results were also presented in several invited lectures: Annual meeting of the Austrian society for allergology and immunology, Vienna, 2010 [4577562], IEIIS Edinburgh 2008, University of Cambridge, 2008 [4033306]; German Cancer Research Centre, 2010 [4575770]
	Objavljeno v		American Society of Biological Chemists.; The Journal of biological chemistry; 2013; Vol. 288, issue 1; str. 442-454; Impact Factor: 4.600; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Pohar Jelka, Pirher Nina, Benčina Mojca, Manček Keber Mateja, Jerala Roman
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	5026586	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Signalna pot aktivacije prirojene imunosti z LPS
		ANG	Signalling pathway of innate immunity upon activation with LPS
	Opis	SLO	J Biol Chem 2012, 287, [5026586, IF 4.65, 2 citations]; Fekonja O, Benčina M, Jerala R*. Toll/interleukin-1 receptor domain dimers as the platform for activation and enhanced inhibition of Toll-like receptor signaling. Avtorji smo pokazali vlogo TIR (Toll/IL-1 receptor) dimerizacijske domene kot osnovo za inhibicijo ali aktivacijo MyD88 signalnih poti. Dodatek uvite vijačnice dimerizacijski domeni izboljša inhibicijo proti družini receptorjev TLR in prepreči konstitutivno aktivacijo preko TIR dimerizacije. Avtorji so predlagali molekularni model MyD88-odvisne signalizacije v povezavi s TIR dimerizacijskimi domenami. OF in MB sta izvedli eksperimente. MB je izvedla mikroskopsko analizo. OF in RJ sta pripravila članek. Spremljajoče publikacije: (A) J Immunol 2012, 188 [4930586, IF 5.745, 2 citations]; Manček Keber M, Benčina M, ..., Jerala R*. MARCKS as a negative regulator of lipopolysaccharide signaling.
		ANG	J Biol Chem 2012, 287, [5026586, IF 4.65, 2 citations]; Fekonja O, Benčina M, Jerala R*. Toll/interleukin-1 receptor domain dimers as the platform for activation and enhanced inhibition of Toll-like receptor signaling. Authors showed the role of a dimerized TIR (Toll/IL-1 receptor) domain platform for the suppression as well as for the activation of MyD88 signaling pathway. The addition of a strong coiled-coil dimerization domain conferred the superior inhibition against the wide spectrum of TLRs and prevented the constitutive activation by a dimeric TIR platform. We propose a molecular model of MyD88-mediated signaling based on the dimerization of TIR domains as the limiting step. OF and MB performed experiments. MB performed microscopic analysis. OF and RJ wrote manuscript. Complementary publications: (A) J Immunol 2012, 188 [4930586, IF 5.745, 2 citations]; Manček Keber

		M, Benčina M, ..., Jerala R*. MARCKS as a negative regulator of lipopolysaccharide signaling.
Objavljeno v		American Society of Biological Chemists.; The Journal of biological chemistry; 2012; Vol. 287, no. 37; str. 30993-31002; Impact Factor: 4.651; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.761; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Fekonja Ota, Benčina Mojca, Jerala Roman
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	4382234	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Sodelovanje z industrijo in pridobljeni patenti
		ANG	Relationship with businesses and acquired patents
	Opis	SLO	Patent. Sintezna biologija: (1) Polipeptidni material s prilagodljivimi lastnostmi por: SI 23182 (A), 2011-10-12. [4382234]; (2) Polipeptidni material sestavljen iz elastinu podobnih segmentov in segmentov za tvorbo ovitih vijačnic: SI 23184 (A), 2011-04-29. [4381978];
		ANG	Patent. Sintezna biologija: (1) Polipeptidni material s prilagodljivimi lastnostmi por: SI 23182 (A), 2011-10-12. [4382234]; (2) Polipeptidni material sestavljen iz elastinu podobnih segmentov in segmentov za tvorbo ovitih vijačnic: SI 23184 (A), 2011-04-29. [4381978];
	Šifra	F.33	Patent v Sloveniji
	Objavljeno v		Urad Republike Slovenije za intelektualno lastnino; 2011; 72 str.; Avtorji / Authors: Jerala Roman, Fekonja Ota, Pohar Jelka, Gradišar Helena, Benčina Mojca, Hafner Bratkovič Iva, Bremšak Robert, Miklavič Špela, Jelerčič Urška, Lukan Anja, Doles Tibor, Božič Abram Sabina, Verce Marko, Debeljak Nika
	Tipologija	2.24	Patent
2.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Mednarodne nagrade; nagrade iz projektov sintezne biologije
		ANG	International awards; awards related to synthetic biology
	Opis	SLO	Drugo mesto na tekmovanju raziskovalnih projektov iz sintezne biologije na univerzi MIT v letu 2012. Raziskovalci programske skupine smo organizirali ekipo študentov Univerze v Ljubljani, ki je na novem raziskovalnem področju "sintezne biologije" izvedla raziskovalni projekt na temo zdravja in medicine. Leta 2012 smo osvojili najvišje priznanje s področja medicine in zdravja in drugo mesto v absolutni razvrstitvi na mednarodnem tekmovanju v Sintezni Biologiji na znameniti univerzi MIT, ZDA. Poleg znanstvenega rezultata je uspeh na tekmovanju zelo pomemben za promocijo kvalitete slovenske znanosti in izobraževanja v svetu in za promocijo študija naravoslovja v Sloveniji ter za razvoj sintezne biologije kot pomembne mlade discipline.
			Second place at the competition of research projects in synthetic biology at

		ANG	the University MIT in the year 2012. Researchers of the project group initiated research using the approach of synthetic biology and organized a student team from the University of Ljubljana, which in the year -2012 successfully completed research projects in the field of Medicine and health. In 2012 our team won the first price in the field Medicine and Health and was second in absolute category at the international competition in Synthetic biology held at the elite university MIT, USA. Apart from the scientific result, the success in the elite competition is very important for the promotion of the quality of Slovenian science and education at the international level and for the promotion of the study of natural sciences in Slovenia as well as for the development of synthetic biology as an important young discipline.
	Šifra	E.02	Mednarodne nagrade
	Objavljeno v	http://www.igem.org/Results?year=2012&region=Championship&division=igem	
	Tipologija	3.25	Druga izvedena dela
3.	COBISS ID	4672282	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Popularizacija nove znanstvene vede sintezne biologije
		ANG	Popularization of new scientific field synthetic biology
	Opis	SLO	Poleg znanstvenega rezultata je uspeh na tekmovanju zelo pomemben za promocijo kvalitete slovenske znanosti [Radijski in TV dogodki: 5307162; 4672282; objava v Dnevniku 5471514]] in izobraževanja v svetu in za promocijo študija naravoslovja v Sloveniji ter za razvoj sintezne biologije kot pomembne mlade discipline.
		ANG	Apart from the scientific result, the success in the elite competition is very important for the promotion of the quality of Slovenian science and education [Radio and TV event: 5307162; 4672282; article in dayly Dnevniku 5471514] at the international level and for the promotion of the study of natural sciences in Slovenia as well as for the development of synthetic biology as an important young discipline.
	Šifra	B.06	Drugo
	Objavljeno v	RTV Slovenija 2; 2011; Avtorji / Authors: Avbelj Monika, Mori Jerneja, Benčina Mojca	
	Tipologija	3.11	Radijski ali TV dogodek
4.	COBISS ID	4628762	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Organizacija javnih dogodkov; organizacija znanstvenega srečanje z mednarodno udeležbo
		ANG	Relations with publicly provided services; organisation of scientific conference with international participation
	Opis	SLO	Kot članica organizacijskega odbora in znanstvenega odbora sem sodelovali pri organizaciji 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), (2011). Druga organizirana srečanja: Pregled postopka prevzema službenih 2011. [4628762]; Konferenca o prenosu tehnologije 2009. [4278810]
			As a member of the organizing committee and a head of scientific committee I helped to organize the 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), (2011).
		ANG	Other organised meetings: Innovations at work: legal point of view 2011. [4628762]; Technology transfer conference 2009. [4278810]
	Šifra		B.01 Organizator znanstvenega srečanja
	Objavljeno v		Institut Jožef Štefan;Kemijski inštitut; 2011; Avtorji / Authors: Benčina Mojca
	Tipologija		3.25 Druga izvedena dela
5.	COBISS ID	269644544	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Vodenje
		ANG	Leadership
	Opis	SLO	Mentorstvo: (1) Mentorstvo in komentorstvo mladim raziskovalkam [COBISS.SI-ID 267889408 Jerneja Mori, 269644544 Karolina Ivičak Kocjan]. (2) Mentorstvo in komentorstvo diplomskim študentom. (3) Mentorstvo dijakom, dobitnikom Prešernove nagrade 2014 [COBISS.SI-ID 18201909] (4) Mentorstvo podiplomski študentki iz Avstrije (ni zapisa). Iz omenjene sodelave izvira publikacija: Binder et al. 2011 BMC microbiology 11 [4801050] (5) Neuradno sodelovanje z raziskovalci iz tujine: nekaj publikacij izvira iz omenjenih sodelav: Dowdells et al. (Lett appl microbiol 2010; [COBISS.SI-ID 4452634]); Toivari et al. (Metabol engineer 2012 [COBISS.SI-ID 5024282]); Valkonen et al (Fungal genet biol 2014 [COBISS.SI-ID 5533978]); Valkonen et al (Appl environ microbial 2013 [COBISS.SI-ID 5323802]) Vpetost v mednarodni prostor: (1) Zastopanje Slovenije pri mednarodni organizaciji ICGEB (International Center for genetic engineering and biotechnology). (2) Vodenje Slovenske ekipe raziskovalcev 6. okvirnega projekta EU s sinonimom EUFUNGBASE (mreža odličnosti) s področja genetike filamentoznih gliv.
		ANG	Supervising: (1) Supervising PhD students [COBISS.SI-ID 267889408 Jerneja Mori, 269644544 Karolina Ivičak Kocjan]. (2) Supervising diploma students. (3) Supervising highschool students awardees of Prešern award 2014 [COBISS.SI-ID 18201909] (4) Supervising PhD student from Austria (no official record). A publication originated from this collaboration: Binder et al. 2011 BMC microbiology 11 [4801050]. (5) Non official collaboration with foreign researchers: several publications originate from these collaborations: Dowdells et al. (Lett appl microbiol 2010; [COBISS.SI-ID 4452634]); Toivari et al. (Metabol engineer 2012 [COBISS.SI-ID 5024282]); Valkonen et al (Fungal genet biol 2014 [COBISS.SI-ID 5533978]); Valkonen et al (Appl environ microbial 2013 [COBISS.SI-ID 5323802]) Involvement in the international arena: (1) Official Slovenian representative in the international organisation ICGEB (International Center for genetic engineering and biotechnology). (2) Coordination of Slovenian part EUFUNGBASE integrated network - EU 6. Framework. Results of named research will be published in paper BENČINA et al., Fungal Genet. Biol 2009 46 S93 [COBISS.SI-ID 4000538].

Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom
Objavljeno v	[K. Ivičak Kocjan]; 2013; XV, 94, [14] str.; Avtorji / Authors: Ivičak-Kocjan Karolina
Tipologija	2.08 Doktorska disertacija

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

Člani raziskovalne skupine so v obdobju 2011-2014 objavili 66 znanstvenih člankov s faktorjem vpliva in 7 preglednih člankov s faktorjem vpliva. Izpostavila bi sledeče publikacije:

S področja sintezne biologije:

GABER et al. Designable DNA-binding domains enable construction of logic circuits in mammalian cells. *Nature chemical biology* 2014, vol. 10, no. 3, str. 203-208 [COBISS.SI-ID 5408026]

LEBAR et al. A bistable genetic switch based on designable DNA-binding domains. *Nature communications*, 2014, vol. 5, str. 1-13 [COBISS.SI-ID 5564186]

CONRADO et al. DNA-guided assembly of biosynthetic pathways promotes improved catalytic efficiency. *Nucleic acids research* 2012, vol. 40, no. 4, str. 1879-1889 [COBISS.SI-ID 4824602]

S področja priprave in uporabe bioloških senzorjev:

VALKONEN, et al. Intracellular pH responses in the industrially important fungus *Trichoderma reesei*. *Fungal genetics and biology*, 2014, vol. 70, str. 86-93. [COBISS.SI-ID 5533978]

VALKONEN, et al. Non-invasive high-throughput single-cell analysis of the intracellular pH of yeast by ratiometric flow cytometry. *Applied and environmental microbiology* 2013, vol. 79, no. 23, str. 7179-7187 [COBISS.SI-ID 5323802].

GABER et al. Noninvasive high-throughput single-cell analysis of HIV protease activity using ratiometric flow cytometry. *Sensors*, ISSN 1424-8220, Dec. 2013, vol. 13, iss. 12, str. 16330-16346 [COBISS.SI-ID 5383706]

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Poznavanje molekularnih mehanizmov aktivacije TLR je pomembno za razumevanje delovanja naravne imunosti in aktivacije adaptivne imunosti. Aktivacija prirojenega imunskega odziva preko Tollu-podobnih receptorjev je pomembna za zaščito gostitelja pred patogeni, hkrati pa lahko prekomerna reakcija sproži nastanek avtoimunih obolenj in kroničnih in akutnih vnetij, kar oboje predstavlja velik problem za zdravje v svetovnem merilu. Zdravljenje enega problema tako lahko pripelje do drugega. Razumevanje aktivacije receptorjev TLR in mehanizem znotrajceličnega prenosa signalov je eden od temeljnih problemov imunologije. Naše raziskave, razumevanje procesa sistemskega vnetnega odgovora ob bakterijski okužbi in povezave le tega s signalizacijo preko znotrajceličnih TLR receptorjev, so relevantni za medicino, farmacijo in biotehnologijo, saj predstavljajo podlago za razvoj zdravil. Na področju poznavanja mehanizmov prirojene imunosti smo uspeli pojasniti ključne točke signalnih poti sistemskega vnetnega odgovora na bakterijske infekcije preko flagelina. To je omogočilo načrtovanje agonistov in preverjanje strategije povezovanja agonistov z antigeni za izboljšanje učinkovitosti cepiva. Z inovativnim pristopom, inovativnimi metodami smo razširili spekter znanj (raziskovalcev, mladih raziskovalcev, diplomantov), kar smo preko objav v medijih, konferenc prenesli na širšo strokovno javnost.

ANG

The objectives of the research project are directed towards the study of immediate immune response in human cell lines. Immediate immunity is the first line of defence of the human body against viruses and microorganisms. Inadequate response of cells to the infection has serious consequences for human health. In contrast excessive immune response could initiate the

autoimmune diseases and chronic and acute inflammations. A treatment of one problem could set in motion another. Therefore, the understanding the TLR activation as well as the mechanism of intracellular signal transduction is one of the basic problems of immunology and medicine. We addressed several questions in relation to medically important processes. We explained the key points of signaling pathways of systemic inflammatory response to bacterial infection through flagellin. Knowing the mechanism of activation is important for designing compounds for supervised activation of TLR5 as adjuvant for activation of adaptive immunity. The innovative technologies and methodologies were disseminated via presentations on conferences, publications and via student courses

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Izobraževanje.

V projektno skupino smo vključili mlade raziskovalce in dodiplomske študente in s tem prispevali k povečanju števila visoko izobraženega kadra s celovitim znanjem na področju naravoslovja. Projekt je vpeljal inovativne metode in nove tehnologije, kar je pripomoglo k razširitvi portfelja znanja. Prenos znanja je potekal tudi preko izmenjave izkušenj na znanstvenih konferencah ter s sodelovanjem s tujimi inštitucijami, s katerimi ima projektna skupina vzpostavljeno navezavo. Preko izmenjave raziskovalcev med tujimi in domačimi institucijami smo zagotovili, ne samo znanstveno povezanost institucij, temveč nadgradnjo pridobljenih raziskovalnih izkušenj podiplomskih študentov kot doktorjev znanosti, ki so vključeni v projekt.

Inovativen pristop pri reševanju zastavljenega problema je bil osnova za inovacijo, ki smo jo ustrezno zaščitili in kot taka je na voljo za prenos v gospodarstvo. Predvsem se zgoraj navedeno nanaša na peptidne modulatorje imunskega odziva, ki so potencialno zanimivi za farmacevtsko industrijo. Preko raziskovalcev projektne skupine, ki so se zaposlili v industriji, smo pridobljena znanja neposredno prenesli v industrijo.

Promocija naravoslovja in države.

V obdobju preteklih let smo člani projektne skupine preko izjemnih uspehov na tekmovanjih raziskovalnih projektov v najbolj eminentni akademski konkurenci pomembno pripomogli k promociji naravoslovja in znanosti v širši javnosti in promociji Slovenije kot države z dobro znanostjo in izobraževanjem. Omenjeni uspehi so odmevali po vsem svetu z objavami v časopisih, revijah, dnevnikih, na radiu, TV, spletnih straneh. Rezultate projekta smo objavili v uveljavljenih mednarodnih revijah in na konferencah preko predavanj in krajših predstavitev, kar je pomembno prispevalo k odmevnosti raziskav in prepoznavnost raziskovalne skupine in države.

ANG

Education.

The project team involved graduate and undergraduate students who gained the necessary skills and experience in molecular biology and immunology. The project has direct importance for society by achieving a high international level of science and education of highly qualified researchers that are important investment for development of economy. Through the exchange of researchers between foreign and domestic institutions, we ensured not only the scientific linkage between institutions, but the upgrade of research experience for graduate students and PhDs involved in the project.

The development of inventive methods presents an excellent starting point for a business initiative. We filed a patent application based on results of proposed project in Slovenia and Europe. Protected innovations are now available for either licensing or start-up establishment. The proposed research also centered innovative methods and technology, which is now available for scientific community and industry. Some researchers of project team were employed by the industry; therefore, the obtained knowledge and skills were directly transferred to industry.

Promotion of the science and the state.

During the last years the members of project group achieved excellent success in a competition of research projects among the most eminent academic competitors and thus contributed to the promotion of natural science to the general audience as well as promotion of Slovenia as a

country with good science and education. We published results in internationally well established scientific journals, which is important for relevance of the research and for the recognition of the research group and the country.

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	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	

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

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

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

G.07.01.	infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
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**

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Kemijski inštitut

Mojca Benčina

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

4.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/51

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

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

B4-7E-C3-D0-97-0F-36-AB-75-4B-3B-73-55-3E-4C-EE-68-D2-80-85

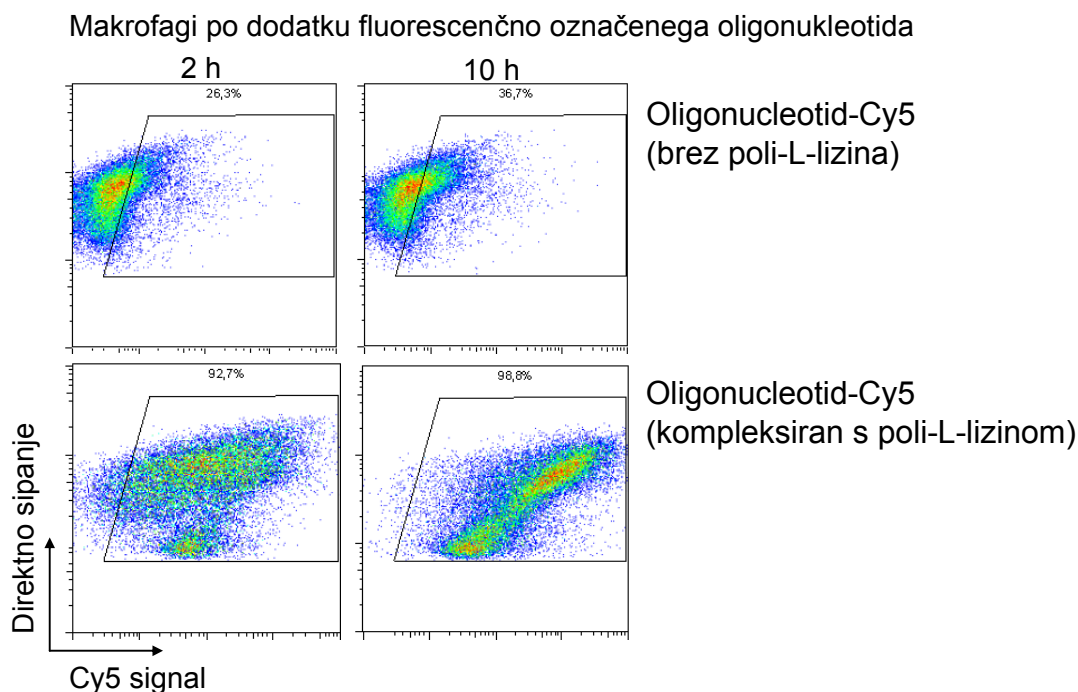
Priloga 1

MEDICINA

Področje: 3.01 Mikrobiologija in imunologija

Dosežek 1: Nova generacija raziskovalcev ved o življenju

Vir: GOJZNIKAR, Jan, KEJŽAR, Nejc. Vpliv pozitivno nabitih proteinov na internalizacijo eksogene DNK : [raziskovalna naloga]. V Celju: I. gimnazija, 2014. [COBISS.SI-ID 18201909]



V sklopu operacije Nova generacija raziskovalcev ved o življenju sta dijaka I. gimnazije v Celju pod mentorstvom dr. M. Benčina opravila raziskovalno nalogo z naslovom Vpliv pozitivno nabitih proteinov na internalizacijo eksogene DNA in zanjo prejela Prešernovo nagrado in Zlato priznanje.

Predstavili smo vpliv pozitivno nabitih proteinskih struktur na vnos oligonukleotidov v endosome. Potrdili smo, da oligonukleotidi, ki so kompleksirani s proteini, hitreje in učinkoviteje vstopajo v celico v primerjavi z golo DNA. Tako pripravljeni oligonukleotidi, ki so agonisti Toll-u podobnega receptorja (TLR9), učinkoviteje aktivirajo receptor.

Dosežek je demonstracija učinkovitega prenosa znanja na mlajše generacije in je kot tak vzorčen model spoznavanja dijakov z raziskovalnim delom.