

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/88



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J1-2271
Naslov projekta	Znotrajcelični Tollu podobni receptorji in vpliv inhibicije receptorjev TLR pri avtoimunih boleznih
Vodja projekta	14360 Mojca Benčina
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4173
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.05 Biokemija in molekularna biologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	1.06
- Veda	1 Naravoslovne vede
- Področje	1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Prirojeni imunski odgovor preko Tollu-podobnih receptorjev, TLR, predstavlja pomemben mehanizem obrambe gostitelja pred mikrobnimi infekcijami. Receptorje TLR pa aktivirajo tudi ligandi gostitelja, ki se sprostitjo pri sterilnem vnetju in poškodbi tkiv, kar lahko privede do nastanka imunske pogojenih vnetnih bolezni, kot so revmatoidni artritis in sistemski lupus eritematozus (SLE), pa tudi psoriaza ter avtoimuni

diabetes.

Pri zdravljenju revmatoidnega artritisa in SLE se uporablja tudi antimalarike, ki zmanjšujejo vnetni odgovor z inhibicijo sinteze vnetnih posrednikov. Z rezultati raziskave smo ovrgli prepričanje, da mehanizem inhibicije znotrajceličnih receptorjev TLR z antimalariki temelji na padcu pH v endosomih, kar inhibira aktivacijo endosomalnih receptorjev TLR. Pokazali smo, da kvinakrin in njemu podobne spojine inhibirajo endosomalne receptorje TLR z neposredno vezavo na njihove ligande, nukleinske kisline, kar spremeni konformacijo ligandov in s tem prepreči nastanek aktivnih dimerov receptorja TLR. Omenjeno hipotezo smo podprli s spremljanjem endosomalnega pH med aktivacijo znotrajceličnih receptorjev TLR kot tudi učinek kvinakrina na endosomalni pH. Pokazali smo tudi, da v živih celicah interakcija med kvinakrinom in ligandom TLR poteka v istih veziklih, kjer se nahajajo TLR.

Poznano je medsebojno delovanje TLR receptorjev, ki jih aktivirajo nukleinske kisline. V literaturi so inhibicijo receptorja TLR9 s TLR7 agonisti pripisali znižanju nivoja izražanja receptorja. Pokazali smo, da znotrajcelični TLR receptorji, ki se izražajo v endoplazemskem retikulumu, preidejo v endosome po stimulaciji z nukleinskimi kisljinami in da pomožen protein UNC93B1 uravnava translokacijo endosomalnih receptorjev TLR iz endoplazemskega retikuluma v endosome. Aktivacija receptorja TLR3 poveča izražanje UNC93B1 in znotrajceličnih receptorjev TLR, kar se odraža v boljšem odzivu receptorjev na agoniste. Pokazali smo tudi, da UNC93B1 usmerja receptor TLR3 na plazemsko membrano celic, kar omogoči hitrejši odgovor celice na patogene.

Pridobljeno znanje nam bo zagotovilo osnovo za natančnejše načrtovanje antagonistov znotrajceličnih receptorjev TLR, razvoj proti-vnetnih zdravil za zdravljenje imunsko pogojenih vnetnih obolenj kot so: revmatoidni artritis, sistemski lupus eritematozus ali ateroskleroza.

ANG

Innate immune response with Toll-like receptors, TLR, represents an important host defense mechanism against microbial infections. Host endogenous nucleic acids released during sterile inflammation and tissue damage activate TLR receptors and may cause immune-mediated inflammatory disorders such as systemic lupus erythematosus, psoriasis, autoimmune diabetes and rheumatoid arthritis.

Antimalarial drugs such as quinacrine, chloroquine and related compounds inhibit the synthesis of inflammatory mediators, which are elicited by the activation of TLRs. It was generally presumed that those antimalarial drugs increase endosomal pH, which blocks activation of endosomal receptors. However, we showed that quinacrine and related compounds inhibit endosomal TLR signalling by modifying the conformation of nucleic acids, which prevents formation of productive TLR dimers. In order to support our hypothesis, we determined the endosomal pH during activation of intracellular TLRs as well as the effect of quinacrine on endosomal pH. Additionally we showed that quinacrine-TLR ligand interaction occurs in living cells in the same vesicles as TLRs.

Crosstalk between nucleic-acid-responsive TLRs has been described and inhibition of TLR9 by TLR7 agonist attributed to the transcriptional down-regulation of the receptor. Intracellular TLRs are expressed in endoplasmic reticulum and are recruited to endosomes after the stimulation by nucleic acids. The accessory protein UNC93B1 is indispensable for activation of endosomal TLRs since it regulates their response through trafficking to endosomes. 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. We showed that activation of TLR by its nucleic acid ligand also promotes translocation of other nucleic-acid sensing TLRs to the endosomes, enabling faster response of cells to pathogens.

Outcome of this project will additionally provide the possibility to engineer better antagonists of intracellular TLRs, which could be used as anti-inflammatory agents for treatment of immune-mediated inflammatory disorders such as rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus or atherosclerosis.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Obramba našega telesa pred okužbami s patogeni temelji na hitri in učinkoviti aktivaciji prirojenega in pridobljenega imunskega odgovora. Prepoznavanje molekulskih vzorcev patogenov poteka z družino Tollu podobnih receptorjev (TLR), ki sodelujejo v zgodnji fazi imunskega odgovora. Aktivacija prirojenega imunskega odgovora sproži sintezo vnetnih posrednikov, ki posledično aktivirajo pridobljeni imunski odziv. Nekateri receptorji TLR (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7/10), ki prepoznavajo membranske komponente bakterij, gliv in virusov, se nahajajo na plazemski membrani. Na drugi strani so receptorji TLR3, TLR7, TLR8 in TLR9 omejeni na znotrajcelične organele, predvsem endoplazemski retikulum, in se ob aktivaciji prestavijo v endosome. Ti receptorji so nepogrešljivi pri zaznavanju virusnih okužb. Znotrajcelični receptorji TLR vežejo nukleinske kisline, kot so: dsRNA(TLR3), ssRNA(TLR7/8) ter CpG ssDNA(TLR9). Ob ustreznem genetskem ozadju ali nepopolni razgradnji endogenih nukleinskih kislin lahko prisotnost gostitelju lastnih antigenov aktivira tako prirojen kot tudi pridobljen imunski odgovor, kar lahko pripelje do razvoja avtoimunskih bolezni kot sta revmatoidni artritis in sistemski lupus eritematozus. Poznano je, da imunsko pogojene vnetne motnje spremlja visoka vsebnost vnetnih posrednikov, predvsem interferona-alfa, katerih sintezo sproži aktivacija receptorjev TLR.

Predstavitev problema in hipoteze in ključne ugotovitve

Za zdravljenje sistemkega lupus eritematozusa se že dolgo uporablja antimalarike, t.i. kvinakrin, klorokvin in sorodne spojine. Znano je, da antimalariki tega tipa znižujejo nivo vnetnih posrednikov in s tem blažijo vnetja. Mehanizem delovanja antimalarikov na sintezo vnetnih posrednikov ni zadovoljivo

pojasnjen. Prevladovalo je mnenje, da antimalariki zvišujejo pH endosomov, kar posledično inhibira od pH odvisno vezavo nukleinskih kislin na znotrajcelične receptorje TLR. Menili smo, da koncentracija kvinakrina, ki učinkovito inhibira znotrajcelične receptorje TLR, ni dovolj visoka, da bi povzročila pomembnejši dvig vrednosti pH v endosomih.

Postavili smo hipotezo, da antimalariki inhibirajo aktivacijo endosomalnih receptorjev TLR s spremembo konformacije nukleinske kisline, na katero se neposredno vežejo, kar prepreči interakcijo liganda s TLR ektodomeno in posledično nastanek aktivnih dimerov TLR.

Z meritvami endosomalnega pH smo pokazali, da se pH ob dodatku učinkovite koncentracije antimalarikov ne spreminja. Za merjenje endosomalnega pH smo pripravili več različnih senzorjev pH. Genetsko kodirano pH sondo na osnovi pH občutljivega zelenega fluorescirajočega proteina, ki je bil povezan s proteinom sinaptobrevin, katerega vloga je usmerjanje pH-sonde v endosome. Uporabili smo tudi nanodelce z vezanimi pH občutljivimi barvili in dekstran konjugiran s pH občutljivimi barvili. Z merjenjem sprememb fluorescence ali cirkularnega dihroizma smo spremljali vezavo antimalarikov na nukleinske kisline. Pokazali smo, da tudi sintetični agonisti receptorja TLR7/8 kot so imidazokinolini, ki imajo podobno strukturo kot antimalariki, na druge TLR delujejo kot antagonisti preko vezave z nukleinskimi kislinami.

Za aktivacijo znotrajceličnih receptorjev TLR3,7,8 in 9 z nukleinskimi kislinami se morajo le-ti prestaviti iz endoplazemskega retikuluma v endosome. Mehanizem premika znotrajceličnih receptorjev TLR še ni pojasnjen, vendar je poznano, da njihov premik sproži prisotnost njihovih ligandov. Prav tako ni jasno ali je premik receptorjev v endosome omejen samo na aktivirane, ali aktivacija enega receptorja sproži premik vseh receptorjev.

Predvidevali smo, da aktivacija enega tipa receptorja z vezavo njegovega liganda, nukleinske kisline, vpliva na translokacijo ostalih endosomalnih TLR.

Hipotezo smo testirali tako, da smo spremljali translokacijo receptorjev z uporabo himernih proteinov TLR z različnimi izpeljankami zelenega fluorescirajočega proteina ali z barvanjem s protitelesi (mikroskopija in pretočna citometrija). Pokazali smo, da pomožni protein UNC93B1 uravnava translokacijo znotrajceličnih TLR v endosome. Opazili smo, da poli (I:C) preko aktivacije TLR3 poveča transkripcijo UNC93B1 in povzroči translokacijo TLR3 na plazemsko membrano pri človeških epitelih celicah. Povečanje izražanja pomožnega proteina UNC93B1 in TLR3 ob dodatku IFN- β v celicah HUVEC smo pokazali s qPCR in translokacijo na površino s pretočnim citometrom. Translokacijo TLR3 na plazemsko membrano v prisotnosti pomožnega proteina UNC93B1 smo potrdili tudi na HEK celicah preko zasledovanja lokalizacije fluorescence himernega proteina TLR3 z zelenim fluorescirajočim proteinom. Prisotnost UNC93B1 izboljša odgovor znotrajceličnih receptorjev na agoniste. Iz naših spoznanj izhaja, da je TLR3 pomemben regulator UNC93B1, ki uravnava odzivnost vseh NAS TLRjev.

Vezava agonista na ektodomeno receptorja TLR sproži dimerizacijo znotrajcelične domene TIR. Dimerizacija domen TIR omogoči prenos signala od receptorja TLR na znotrajcelične signalne posrednike. Poznano je, da mikrobnji proteini, ki vsebujejo domene TIR, inhibirajo omenjeno signalizacijo.

Predpostavili smo, da bodo dimeri sestavljeni iz himernih proteinov med domeno TIR in peptidi, ki tvorijo ovite vijačnice in dimerizirajo, učinkovito zavrli signalizacijo receptorjev TLR.

Pokazali smo, da sintetični dimer domen TIR inhibira aktivacijo receptorjev TLR3, 4, 5 in 9, vendar inhibicija ni zadosti učinkovita. Izboljšano inhibicijo smo dosegli s himernimi proteini, ki so sestavljeni iz domene TIR in peptida GCN. Peptidi GCN med seboj tvorijo ovite vijačnice in tako povezujejo tudi domene TIR v inhibitorne dimere. Iz dobljenih rezultatov smo pripravili model signalizacije preko MyD88, ki pojasnjuje, da je dimerizacija TIR domen limitirajoči korak v signalni poti. Inovacijo, himerne proteine domene TIR in peptidov, ki tvorijo ovite vijačnice in s tem dimerizirajo domeno TIR in njihovo uporabo za inhibicijo aktivacije receptorjev TLR pri sepsi ali avtoimunih obolenjih smo zaščitili s patentom.

Sodelovanje s tujino in industrijskimi partnerji: z Japonsko (prof. S.Akira); Finsko (dr. M. Valkonen); ZDA (prof. J.Weiss); Norveško (prof. T.Espevik); Sandoz/Lek; Krka.

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

Potrdili smo hipotezo, da antimalariki inhibirajo aktivacijo endosomalnih receptorjev TLR **s spremembo konformacije nukleinske kisline**, na katero se neposredno vežejo, kar prepreči interakcijo liganda s TLR ektodomeno in posledično nastanek **aktivnih dimerov TLR**. Dodatno smo pokazali, da sintetični agonisti receptorja TLR7/8 imidazokinolini, ki imajo podobno strukturo kot antimalariki, delujejo kot antagonisti preko vezave z nukleinskimi kislinami. Rezultat je pomemben za izboljšanje terapije avtoimunskih bolezni, za katere je značilna aktivacija TLR9,7,8 in 3. (Kužnik et al. J Immunol, 2011, 186, 4794).

Pokazali smo, da aktivacija receptorja TLR3 z vezavo dvoverižne RNA, vpliva na translokacijo ostalih endosomalnih TLR in s tem potrdili hipotezo, da je translokacija in izražanje znotrajceličnih receptorjev TLR kooperativno dejanje in posledica aktivacije enega receptorja. Pokazali smo, da poli(I:C) preko aktivacije TLR3 poveča transkripcijo UNC93B1 in povzroči translokacijo TLR3 na plazemsko membrano pri človeških epitelih celicah. Iz naših spoznanj izhaja, da je TLR3 pomemben regulator UNC93B1, ki uravnava odzivnost vseh znotrajceličnih receptorjev TLR (Pohar et al. J Biol Chem, 2013, 288, 442).

Na podlagi rezultatov, ki obravnavajo pomen dimerizacije receptorjev TLR in znotrajcelične domene

TIR, smo pripravili model signalizacije preko MyD88, ki pojasnjuje, da je dimerizacija TIR domen limitirajoči korak v signalni poti. Pokazali smo, da himerni protein domene TIR s peptidom GCN, ki dimerizira, učinkovito inhibira aktivnost receptorjev TLR in potrdili njihovo uporabo za inhibicijo nenadzorovane aktivacije receptorjev TLR pri sepsi ali avtoimunih obolenjih (Fekonja et al. J Biol Chem, 2012, 287, 30993).

Pokazali smo, da v nasprotju z receptorjem TLR4, znotrajcelični receptorji ne vključujejo proteina MARCKS v lastno signalizacijo (Manček Keber et al. J Immunol, 2012, 188, 3893). V projekt smo vključili tudi dodiplomske študente, ki so ob pomoči raziskovalcev projektne skupina na področju sintezne biologije potrdili hipotezo, da specifična prostorska in časovna ureditev encimov metabolnih poti na ogrodju DNA v živih celicah izboljša sintezo metabolitov. Rezultati ponazarjajo uporabnost DNA ogrodja za združevanje biosintetskih encimov v funkcionalne metabolne strukture (Conrado et al. Nucleic Acid Research, 2012, 40, 1879).

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

Tekom projekta ni bilo sprememb programa raziskovalnega projekta.

Projektne skupini smo priključili tri nove mlajše člane Duška Lainščka, Tino Lebar in Jerneja Turnška. Delo s primarnimi celičnimi linijami in uporaba metod sintezne biologije so botrovali k razširitvi projektne skupine.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

	Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	5026586	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Dimer domene Toll/interlevkin-1 kot osnova za aktivacijo in izboljšano inhibicijo signalizacije Tollu podobnih receptorjev
		ANG	Toll/interleukin-1 receptor domain dimers as the platform for activation and enhanced inhibition of Toll-like receptor signaling
Opis		SLO	TIR (Toll/IL-1 receptor) domena uravnava povezavo med TLR (Tollu podobnimi) receptorji ali IL-1 družino receptotjev in znotrajceličnimi signalnimi posredniki. Nastanek homotipičnega dimera TIR domen aktivira signalizacijo, medtem ko jo mikrobnii proteini, ki vsebujejo TIR domene, inhibirajo. V publikaciji je predstavljena vloga dimerizacijske platforme TIR domen za uravnavanje od MyD88 odvisne signalne poti. Dimerizacijska domena na podlagi ovitih vijačnic, prisotna pri bakterijskih TCPjih, učinkovito zavira TLR/IL-1 signalizacijo. Tvorba TIR dimerov preko močno povezanih ovitih vijačnic inhibira TLR signalizacijo in prepreči konstitutivno aktivacijo TLR receptorjev. V predstavljenem molekularnem modelu signalizacije preko MyD88 predvidevamo, da je dimerizacija TIR domen limitirajoči korak.
		ANG	TIR (Toll/IL-1 receptor) domains mediate interactions between TLR (Toll-like) or IL-1 family receptors and signaling adapters. While homotypic TIR domain interactions mediate receptor activation they are also usurped by microbial TIR-domain containing proteins for immunosuppression. Here we show the role of a dimerized TIR domain platform for the suppression as well as for the activation of MyD88 signaling pathway. Coiled-coil dimerization domain, present in many bacterial TCPs, potentially augments suppression of TLR/IL-1R signaling. 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.
	Objavljeno v	American Society of Biological Chemists.; The Journal of biological chemistry; 2012; Vol. 287, no. 37; str. 30993-31002; Impact Factor: 4.773;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.739; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Fekonja Ota, Benčina Mojca, Jerala Roman	

	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	5143066	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Vloga proteina UNC93B1 pri lokalizaciji TLR3 receptorja na površini celic in pri predpripravi celica na agoniste nukleinskih kislin
		<i>ANG</i>	The role of UNC93B1 protein in surface localization of TLR3 receptor and in cell priming to nucleic acid agonists
	Opis	<i>SLO</i>	Translokacija Tollu podobnih receptorjev, ki prepoznavajo nukleinske kisline (NAS TLR), v endosome je ključna za odziv na mikrobne nukleinske kisline in preprečevanje avtoimunskega odziva. Pomožni protein UNC93B1 regulira translokacijo NAS TLR v endosome. Opazili smo, da poli (I:C) preko aktivacije TLR3 poveča transkripcijo UNC93B1 in povzroči translokacijo TLR3 na plazemsko membrano pri človeških epitelnih celicah. Pokazali smo, da povečano izražanje UNC93B1 povzroči transport različno glikoziliranih TLR3 na plazmesko membrano, kar pa ne drži za preostale NAS TLRs. Iz naših spoznanj izhaja, da je TLR3 pomemben regulator UNC93B1, ki uravnava odzivnost vseh NAS TLRjev.
		<i>ANG</i>	Translocation of nucleic acid sensing Toll-like receptors (NAS TLRs) to endosomes is essential for response to microbial nucleic acids as well as for prevention of the autoimmune response. The accessory protein UNC93B1 is indispensable for activation of NAS TLRs since it regulates their response through trafficking to endosomes. We observed that poly(I:C) upregulates transcription of UNC93B1 and promotes trafficking of TLR3 to the plasma membrane in human epithelial cell line. Upregulation of UNC93B1 is triggered through TLR3 activation by poly(I:C). Further studies revealed that expression of UNC93B1 promotes trafficking of differentially glycosylated TLR3, but not other NAS TLRs, to the plasma membrane. Our findings identified TLR3 as the important regulator of UNC93B1 that in turn governs the responsiveness of all NAS TLRs.
	Objavljeno v	American Society of Biological Chemists.; The Journal of biological chemistry; 2013; Vol. 288, issue 1; str. 442-454; Impact Factor: 4.773; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.739; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Pohar Jelka, Pirher Nina, Benčina Mojca, Manček Keber Mateja, Jerala Roman	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	4930586	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	MARCKS kot negativni regulator polisaharidne signalizacije
		<i>ANG</i>	MARCKS as a negative regulator of lipopolysaccharide signaling
	Opis	<i>SLO</i>	MARCKS je intrinzično nezvit protein z ohranjeno kationsko efektorsko domeno, ki uravnava medsebojno komunikacijo med različnimi signalnimi potmi. Izražanje MARCKSa se poveča v prisotnosti bakterijskega LPS. Pokazali smo, da se LPS veže na efektorski heptapeptid MARCKSa in inhibira LPS inducirano sintezo TNFa v enojedrnih celicah. Po stimulaciji z LPS se MARCKS prestavi iz plazma membrane na endosome, ki so FYVE pozitivni. Mišji embrionalni fibroblasti (MEF), ki ne izražajo MARCKSa se odzivajo na LPS s povečano sintezo IL6 glede na MEF celice divjega tipa. V prisotnosti MARCKSa je bila signalizacija TLR4 zmanjšana, medtem ko MARCKS ni imel učinka na stimulacijo TLR2, TLR3 in TLR5.
		<i>ANG</i>	Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) is an intrinsically unfolded protein with a conserved cationic effector domain, which mediates the cross-talk between several signal transduction pathways. Transcription of MARCKS is increased by stimulation with bacterial LPS. We determined that MARCKS and MARCKS-related protein specifically bind to LPS and that the addition of the MARCKS effector heptapeptide inhibited LPS-induced production of TNF-α in mononuclear cells. After LPS stimulation, MARCKS moved from the plasma membrane to FYVE-positive endosomes, where it

		colocalized with LPS. MARCKS-deficient mouse embryonic fibroblasts (MEFs) responded to LPS with increased IL-6 production compared with the matched wild-type MEFs. TLR4 signalling was enhanced by the ablation of MARCKS, which had no effect on stimulation by TLR2, TLR3, and TLR5 agonists.
	Objavljeno v	Williams & Wilkins; The journal of immunology; 2012; Vol. 188, no. 8; str. 3893-3902; Impact Factor: 5.788; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.167; A': 1; WoS: NI; Avtorji / Authors: Manček Keber Mateja, Benčina Mojca, Japelj Boštjan, Panter Gabriela, Andrä Jörg, Brandenburg Klaus, Triantafilou Martha, Triantafilou Kathy, Jerala Roman
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	2971761
		Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Mehanizem inhibicije endosomalnih TLR z antimalariki in imidazokinolini
		ANG Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines
	Opis	SLO V članku v ugledni reviji s področja imunologije smo objavili odkritje mehanizma delovanja antimalarikov, podobnih kvinakrinu. V nasprotju s prevladujočim mnenjem v literature smo odkrili, da ti inhibitorji v terapevtskih koncentracijah ne preprečijo zakisanja endosomov, temveč se direktno vežejo na nukleinske kisline. Na ta način preprečijo, da nukleinske kisline aktivirajo endosomalne TLR kot so TLR3, TLR9 in TLR7. Rezultat je pomemben za izboljšanje terapije avtoimunskih bolezni, za katere je značilna aktivacija TLR9, 7 in 3. Delo smo predstavili na predavanju JERALA, Roman. Molecular mechanism of activation of Toll-like receptors in infection and chronic inflammation. Annual meeting of the Austrian society for allergology and immunology (ÖGAI), 2010. Vienna, 2010. [4577562]. Dopolnilne publikacije: (1) PANTER, Gabriela, et al. Therapeutic applications of nucleic acids as ligands for toll-like receptors. Curr. opin. mol. ther. (Print), 2009, vol. 11, 133-145. [4121114]. (2) KUŽNIK, Alenka, et al. Recognition of nucleic acids by toll-like receptors and development of immunomodulatory drugs. Curr. med. chem., 2010, vol. 17, 16 [4351258]. ANG In this article in the respected journal in the field of immunology, we reported the discovery of the mechanism of action antimalarials that are similar to quinacrin. In contrast to the prevailing opinion in literature we discovered that these inhibitors at therapeutic concentrations do not prevent endosomal acidification but directly bind to the nucleic acid. In this way they prevent the nucleic acid to activate endosomal TLRs such as TLR3, TLR7 and TLR9. The result is a significant particularly for the improvement of treatment of diseases characterized by activation of TLR9, 7, 8 and 3. The work was also presented as lecture: JERALA, Roman. Molecular mechanism of activation of Toll-like receptors in infection and chronic inflammation. Annual meeting of the Austrian society for allergology and immunology (ÖGAI), 2010. Vienna, 2010. [4577562]. Complementary publications: (1) PANTER, Gabriela, et al. Therapeutic applications of nucleic acids as ligands for toll-like receptors. Curr. opin. mol. ther. (Print), 2009, vol. 11, 133-145. [4121114]. (2) KUŽNIK, Alenka, et al. Recognition of nucleic acids by toll-like receptors and development of immunomodulatory drugs. Curr. med. chem., 2010, vol. 17, 16 [4351258].
	Objavljeno v	Williams & Wilkins; The journal of immunology; 2011; Vol. 186, no. 8; str. 4794-8408; Impact Factor: 5.788; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.167; A': 1; WoS: NI; Avtorji / Authors: Kužnik Alenka, Benčina Mojca, Švajger Urban, Jeras Matjaž, Rozman Blaž, Jerala Roman
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek

5.	COBISS ID	4824602	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Povezovanje biosintetskih poti preko DNA ogrodja poveča katalitsko učinkovitost
		ANG	DNA-guided assembly of biosynthetic pathways promotes improved catalytic efficiency
	Opis	SLO	Sintetično ogrodje, ki omogoča prostorsko in časovno postavitve encimov v živih celicah, je obetavna post-translacijska strategija za nadzorovanje pretoka informacij metabolnih in signalnih poti. Opisujemo uporabo plazmidne DNA kot stabilnega, robustnega ogrodja za postavitve biosintetskih encimov v citoplazmi bakterije <i>Escherichia coli</i> . To vključuje pretvorbo posameznih encimov v himerne encime, ki imajo sposobnost vezave na DNA, kar smo dosegli z gensko fuzijo cinkovih prstov, ki se vežejo na specifična zaporedja DNA. Himerni proteini izraženi v celicah v prisotnosti DNA ogrodja, ki vsebuje specifično DNA zaporedje, ki ga cinkovi prsti prepoznavajo, povečajo titer metabolnih produktov, kot so resveratrol, 1,2-propanediol in mevalonat. Rezultati ponazarjajo uporabnost DNA ogrodja za združevanje biosintetskih encimov v funkcionalne metabolne strukture.
		ANG	Synthetic scaffolds that permit spatial and temporal organization of enzymes in living cells are a promising post-translational strategy for controlling the flow of information in both metabolic and signaling pathways. Here, we describe the use of plasmid DNA as a stable, robust and configurable scaffold for arranging biosynthetic enzymes in the cytoplasm of <i>Escherichia coli</i> . This involved conversion of individual enzymes into custom DNA-binding proteins by genetic fusion to zinc-finger domains that specifically bind unique DNA sequences. When expressed in cells that carried a rationally designed DNA scaffold comprising corresponding zinc finger binding sites, the titers of diverse metabolic products, including resveratrol, 1,2-propanediol and mevalonate were increased as a function of the scaffold architecture. These results highlight the utility of DNA scaffolds for assembling biosynthetic enzymes into functional metabolic structures.
	Objavljeno v	Oxford University Press; Nucleic acids research; 2012; Vol. 40, no. 4; str. 1879-1889; Impact Factor: 8.026; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.739; A': 1; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Conrado Robert J., Lebar Tina, Turnšek Jernej, Tomšič Nejc, Avbelj Monika, Gaber Rok, Koprivnjak Tomaž, Mori Jerneja, Glavnik Vesna, Vovk Irena, Benčina Mojca, Hodnik Vesna, Anderluh Gregor, Jerala Roman	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine²

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	258116096	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Organizacija znanstvenega srečanje z mednarodno udeležbo
		ANG	Organisation of scientific conference with international participation
	Opis	SLO	Kot članica organizacijskega odbora in znanstvenega odbora sem sodelovala pri organizaciji 9. Srečanja slovenskih biokemikov z mednarodno udeležbo.
		ANG	As a member of the organizing committee and a head of scientific committee Mojca Benčina helped to organize the 9th Congress of the Slovenian Biochemical Society.
		B.01	

	Šifra		Organizator znanstvenega srečanja	
	Objavljeno v		Zavod za zdravstveno varstvo; 2011; 298 str.; Avtorji / Authors: Janežič Sandra, Benčina Mojca, Rupnik Maja, Gradišar Helena	
	Tipologija		2.25 Druge monografije in druga zaključena dela	
	2. COBISS ID		4180762	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Popularizacija znanosti. Preko javnih medijev smo predstavili laični javnosti znanstvene dosežke projektne skupine.	
		ANG	Popularization of science. Through public presentations the achievements of project group were presented..	
	Opis	SLO	Že tretje leto zapored je našim študentom in njihovim mentorjem uspelo doseči izjemno uvrstitev na uglednem tekmovanju na znameniti univerzi Massachusetts Institute of Technology (MIT), za katero se je potegovalo kar 84 ekip z vsega sveta z raziskovalnimi projekti s področja sintezne biologije Radijski in TV dogodki AVBELJ, Monika, MORI, Jerneja, BENČINA, Mojca. Odlični uspehi mladih raziskovalcev Kemijskega inštituta : [sodelovanje v oddaji Univerza na RTV Slovenija 2]. Ljubljana: RTV Slovenija 2, 28. jan. 2011. [4672282]; HORVAT, Simon. Potrjeno dedno ozadje debelosti : gen DEPTOR : boljše razumevanje metabolnih motenj in morda pot do njihovega zdravljenja : [intervju s prof. dr. Simonom Horvatom]. Delo (Ljubl.), 20. sep. 2012, letn. 54, št. 218, str. 14. [COBISS.SI-ID 3105672]	
		ANG	JERALA, Roman. S timskim delom in z močno motivacijo do izjemnih odkritij : [tekmovanje študentov na MIT v sintezni biologiji]. Dnevnik, 20. jan. 2009, letn. 59, št. 15. [4180762]; AVBELJ, Monika, MORI, Jerneja, BENČINA, Mojca. Odlični uspehi mladih raziskovalcev Kemijskega inštituta : [sodelovanje v oddaji Univerza na RTV Slovenija 2]. Ljubljana: RTV Slovenija 2, 28. jan. 2011. [4672282]; HORVAT, Simon. Potrjeno dedno ozadje debelosti : gen DEPTOR : boljše razumevanje metabolnih motenj in morda pot do njihovega zdravljenja : [intervju s prof. dr. Simonom Horvatom]. Delo (Ljubl.), 20. sep. 2012, letn. 54, št. 218, str. 14. [COBISS.SI-ID 3105672]	
	Šifra		F.35 Drugo	
	Objavljeno v		Dnevnik; Dnevnik; 2009; Letn. 59, št. 15; Avtorji / Authors: Jerala Roman	
	Tipologija		1.22 Intervju	
	3. COBISS ID		4187418	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Predavanja Sinteza imunologija	
		ANG	Lectures Synthetic immunology	
	Opis	SLO	V predavanju, ki je predstavilo naše dosežke je član projekta predstavil uporabo sintezne biologije na področju imunologije. Srečanje je zbralo skupaj največje svetovne strokovnjake za sintezo biologijo, ki so pod okriljem ameriške in angleške akademije znanosti ter OECD ocenili potenciale razvija sintezne biologije.	
			Podobna tematika: JERALA, Roman. Protein fusion for health : structural and industrial applications in synthetic biology : [lecter presented at] International conference on synthetic biology, Bottom-up, top-down and cell-free approaches, intellectual property issues, December 15th and 16th, 2010. Evry, 2010. [COBISS.SI-ID 4580122]. BENČINA, Mojca. DNA based protein scaffolding : [lecture at the] VTT, Synthetic biology for industrial biotechnology, 9th of June, 2011, Otaniemi, Finland. Ljubljana: Kemijski inštitut, 2011. [COBISS.SI-ID 4685594]; JERALA, Roman. Medical applications of synthetic biology : lecture at the LLP Erasmus intensive programme, Modelling in systems biology and synthetic biology, 12 July	

			2012, Jelgava, Latvija. Jelgava: [s. n.], 2012. [COBISS.SI-ID 5175322]
	ANG		Achievements of our group on the use of synthetic biology for immunology were presented . Meeting that assembled world leaders in synthetic immunology under the auspices of the american and British academy of sciences and OECD evaluated the directions and potentials of synthetic biology. Similar themes: JERALA, Roman. Protein fusion for health : structural and industrial applications in synthetic biology. International conference on synthetic biology, Bottom-up, top-down and cell-free approaches, intellectual property issues, December 15th and 16th, 2010. Evry, 2010. [4580122]. BENČINA, Mojca. DNA based protein scaffolding : [lecture at the] VTT, Synthetic biology for industrial biotechnology, 9th of June, 2011, Otaniemi, Finland. Ljubljana: Kemijski inštitut, 2011. [COBISS.SI-ID 4685594]; JERALA, Roman. Medical applications of synthetic biology : lecture at the LLP Erasmus intensive programme, Modelling in systems biology and synthetic biology, 12 July 2012, Jelgava, Latvija. Jelgava: [s. n.], 2012. [COBISS.SI-ID 5175322]
	Šifra	B.04 Vabljeno predavanje	
	Objavljeno v	OECD - Organization for Economic Cooperation and Development;National Academy of Sciences;Royal Society; 2009; Avtorji / Authors: Jerala Roman	
	Tipologija	3.15 Prispevek na konferenci brez natisa	
4.	COBISS ID	4757018	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Nagrada Grand Prize na tekmovanju iGEM 2010 za projekt iz sintezne biologija DNA coding beyond triplets : na Massachussets Institute of Technolog, November 2010
		ANG	DNA coding beyond triplets : [grand prize winners at the International Genetically Engineered Machine competition-iGEM project 2010, Cambridge, Massachussets Institute of Technolog, November 2010
	Opis	SLO	Prvo mesto na tekmovanju raziskovalnih projektov iz sintezne biologije na univerzi MIT v letu 2010. Raziskovalci programske skupine smo vsako leto organizirali ekipo študentov Univerze v Ljubljani, ki je na novem raziskovalnem področju "sintezne biologije" izvedla vsako leto nov raziskovalni projekt na temo zdravlja in medicine ali nanomateriali. Leta 2010 smo osvojili najvišje priznanje na mednarodnem tekmovanju v Sintezni Biologiji na znameniti univerzi MIT, ZDA. Leta 2009 in 2012 pa sta se projekta uvrstila med šest finalistov. Poleg znanstvenega rezultata je uspeh na tekmovanju zelo pomemben za promocijo kvalitete slovenske znanosti [COBISS.SI-ID Objave: 3854362; 3855130; 3855642; 3856154; 4067354; Radijski in TV dogodki: 3643418; 3856922; 4068378; Intervju: 4068122] in izobraževanja v svetu in za promocijo študija naravoslovja v Sloveniji ter za razvoj sintezne biologije kot pomembne mlade discipline.
		ANG	DNA coding beyond triplets : [grand prize winners at the International Genetically Engineered Machine competition-iGEM project 2010, Cambridge, Massachussets Institute of Technolog, November 2010 First place at the competition of research projects in synthetic biology at the University MIT in the year 2010. Researchers of the programme group initiated research using the approach of synthetic biology and organized a student team from the University of Ljubljana, which in the year -2010 successfully completed research projects in the field of Medicine and health, and nanomaterials. In 2009 and 2012 our team won the "Grand Prize" award at the international competition in Synthetic biology held at the elite university MIT, USA. In 2007 and 2009, our project was again among the six finalists. 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 [COBISS.SI-ID publications: 3854362; 3855130; 3855642; 3856154; 4067354; Radio and TV reports: 3643418; 3856922; 4068378; Interview: 4068122] 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	2010; Avtorji / Authors: Ilc Tina, Lebar Tina, Stošicki Tjaša, Tomšič Nejc, Turnšek Jernej, Žnidarič Matej, Bordon Jure, Češnovar Rok, Petroni Mattia, Pustoslemšek Rok		
Tipologija	3.25 Druga izvedena dela		
5.	COBISS ID	4381722	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Vakcine, ki združujejo antigen in Tollu-podobne receptorje	
	ANG	Vaccines combining antigen and Toll-like receptors	
Opis	SLO	Sodelovanje z industrijo je privedlo do vrste iniovacij, ki smo jih zaščitili preko patentov. Prirojena imunost: (1) JERALA, Roman, et al. Vakcine, ki združujejo antigen in Tollu-podobne receptorje : SI 22883 (A), 2010-04-30. [4381722]; (2) BLONDELLE, Sylvie E., JERALA, Roman, et al.. Antimicrobial peptides : patent : US 7960339 (B2), 2011-06-14. [3857946]; (3) JERALA, Roman, et al. Zaviralni peptidi MyD88 odvisne dignalne poti: SI 23181 (A), 2011-04-29. [4380954]; (4) JERALA, Roman, et al. Fusion polypeptides comprising TIR and dimerization domain for modulation of TLR/innate immunity signaling : patent : SI 23508 (A), 2012-04-30. [COBISS.SI-ID 4619290]; (5) JERALA, Roman, et al. Improved synthesis of biosynthetic product by ordered assembly of biosynthetic enzymes guided by the nucleotide sequence motif template : patent : SI 23510 (A), 2012-04-30. [4959514];	
	ANG	Innovations originating from industrial collaborations and research were protected with patents. Innate immunity: (1) JERALA, Roman, et al. Vakcine, ki združujejo antigen in Tollu-podobne receptorje : SI 22883 (A), 2010-04-30. [4381722]; (2) BLONDELLE, Sylvie E., JERALA, Roman, et al.. Antimicrobial peptides : patent : US 7960339 (B2), 2011-06-14. [3857946]; (3) JERALA, Roman, et al. Zaviralni peptidi MyD88 odvisne dignalne poti: SI 23181 (A), 2011-04-29. [4380954]; (4) JERALA, Roman, et al. Fusion polypeptides comprising TIR and dimerization domain for modulation of TLR/innate immunity signaling : patent : SI 23508 (A), 2012-04-30. [COBISS.SI-ID 4619290]; (5) JERALA, Roman, et al. Improved synthesis of biosynthetic product by ordered assembly of biosynthetic enzymes guided by the nucleotide sequence motif template : patent : SI 23510 (A), 2012-04-30. [4959514];	
Šifra	F.33 Patent v Sloveniji		
Objavljeno v	Urad Republike Slovenije za intelektualno lastnino; 2010; 37, 6 str.; Avtorji / Authors: Jerala Roman, Pirher Nina, Ivičak Karolina, Avbelj Monika, Benčina Mojca, Horvat Simon, Čeh Eva, Kočar Vid, Kolar Katja, Lonzarić Jan, Lasič Ana, Mori Jerneja, Smole Anže		
Tipologija	2.24 Patent		

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

--

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1.Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Aktivacija prirojenega imunskega odziva preko Tollu-podobnih receptorjev je pomembna za zaščito gostitelja pred patogeni hkrati pa lahko prekomerna reakcija sproži nastanek avtoimunih obolenj, kot sta revmatoidni artritis in sistemski lupus eritematozus. Zdravljenje enega problema tako lahko pripelje do drugega. Razumevanje aktivacije TLR in mehanizem znotrajceličnega prenosa signalov je temeljni problem imunologije. Naši rezultati, razumevanje procesa sistemskega vnetnega odgovora ob virusni okužbi ali avtoimunih obolenjih in povezave le tega s signalizacijo preko znotrajceličnih TLR receptorjev, so medicinskega, farmacevtskega in biotehnološkega pomena, saj predstavljajo podlago za razvoj zdravil.

Razložili smo delovanje imidazokvinolinov, ki se jih uporablja pri zdravljenju avtoimunih bolezni. To omogoča boljše načrtovanje agonistov in antagonistov, ki bi lahko bili uporabni kot proti-vnetne učinkovine za zdravljenje artritisa, sistemskega lupus eritematosusa (SLE), ateroskleroze, avtoimunskega encefalitisa.

Izobraževanje. Projekt ima neposredni pomen za družbo preko doseganja visokega mednarodnega nivoja znanosti in izobraževanja visoko usposobljenih kadrov, ki so najboljša naložba za razvoj gospodarstva.

ANG

Activation of innate immunity response via Toll-like receptors is required for the defence against pathogens; in contrast excessive immune response could initiate the autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis. A treatment of one problem could set in motion another. Understanding the TLR activation as well as the mechanism of intracellular signal transduction is one of the basic problems of immunology.

Objectives of proposed research are the possibility to engineer better agonists and antagonists of TLRs, which can be used as anti-inflammatory agents for treatment of diseases such as arthritis, systemic lupus erythematosus, atherosclerosis, autoimmune encephalitis etc.

Education. 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.

10.2.Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Promocija države v tujini. Rezultate projekta smo predstavili na konferencah pri nas in v tujini in jih objavili v obliki mednarodnih publikacij.

Dostopanje do tujih znanj in vključevanje v mednarodno delitev dela. V okviru projekta smo sodelovali s partnerskimi raziskovalnimi oddelki doma in iz tujine. Vzpostavili smo formalne kot neformalne mednarodne navezave in to na način izmenjave znanja in z delovnimi obiski raziskovalcev.

Vzgoja kadrov. V projekt smo vključili mlajše raziskovalce in dodiplomske študente in s tem prispevali k povečanju števila visoko izobraženega kadra s celovitim znanjem na področju naravoslovja. Projekt vpeljuje nekaj inovativnih metod in uporabo nove tehnologije.

Prenos znanja v industrijo. Razvoj inventivnih metod predstavlja z ekonomskega stališča odlično izhodišče za poslovne pobude. V obdobju projekta smo s področja projekta vložili več patentnih prijav.

ANG

Promotion of the state abroad. Results were disclosed on conference in Slovenia and abroad and published in international journals.

Mobility in science. We collaborate with international collaborations by promoting short exchange visits of researchers and a knowledge transfer that increase the mobility in science.

Education. Young researchers and diploma students are included into the research which increased number of highly educated researchers. The proposed research also centers innovative methods and technology which will be available for scientific community and industry.

Transfer of knowledge into industry. The development of inventive methods presents an excellent starting point for a business initiative. This year we have filed a patent application based on preliminary results of proposed project.

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

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☐ 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

--

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

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
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					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska 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

--

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

	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	

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

V članku v ugledni reviji s področja imunologije smo objavili odkritje mehanizma delovanja antimalarikov, podobnih kvinakrinu. V nasprotju s prevladujočim mnenjem v literature smo odkrili, da ti inhibitorji v terapevtskih koncentracijah ne preprečijo zakisanja endosomov, temveč se neposredno vežejo na nukleinske kisline. Na ta način preprečijo, da nukleinske kisline aktivirajo endosomalne TLR kot so TLR3, TLR9 in TLR7. Rezultat je pomemben za izboljšanje terapije avtoimunskih bolezni, za katere je značilna aktivacija TLR9, 7 in 3. Delo smo predstavili na predavanjih.

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Vključevanje študentov v raziskovalno delo.

Nagrada Grand Prize na tekmovanju iGEM 2010 za projekt iz sintezne biologije DNA coding beyond triplets : na Massachusetts Institute of Technology, November 2010

Prvo mesto na tekmovanju raziskovalnih projektov iz sintezne biologije na univerzi MIT v letu 2010. Raziskovalci projektne skupine smo organizirali ekipo univerzitetnih študentov, ki je na novem raziskovalnem področju "sintezne biologije" izvedla raziskovalni projekt. Leta 2010 smo osvojili najvišje priznanje na mednarodnem tekmovanju v Sintezni Biologiji. Leta 2009 in 2012 pa sta se projekta uvrstila med šest finalistov.

Poleg znanstvenega rezultata je uspeh na tekmovanju zelo pomemben za promocijo kvalitete slovenske znanosti in izobraževanja in za promocijo študija naravoslovja v Sloveniji ter za razvoj sintezne biologije kot pomembne mlade discipline.

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 1.3.2013

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/88

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00

00-9C-F2-3B-BF-0C-5E-03-E0-96-37-70-48-E6-0C-8E-61-15-74-12

3 MEDICINSKE VEDE

Področje: 3.04 Medicinska biotehnologija

Dosežek 1. Mehanizem inhibicije endosomalnih TLR z antimalariki in imidazokinolini, Vir: Kužnik A. et al. (2011) Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines. *J Immunol.* 186, 4794.

Mechanism of Endosomal TLR Inhibition by Antimalarial Drugs and Imidazoquinolines

Alenka Kužnik,^{*} Mojca Benčina,^{*,†} Urban Švajger,[‡] Matjaž Jeras,^{‡,§} Blaž Rozman,[¶] and Roman Jerala^{*,‡,||}

Endosomal TLRs play an important role in innate immune response as well as in autoimmune processes. In the therapy of systemic lupus erythematosus, antimalarial drugs chloroquine, hydroxychloroquine, and quinacrine have been used for a long time. Their suppression of endosomal TLR activation has been attributed to the inhibition of endosomal acidification, which is a prerequisite for the activation of these receptors. We discovered that chloroquine inhibits only activation of endosomal TLRs by nucleic acids, whereas it augments activation of TLR8 by a small synthetic compound, R848. We detected direct binding of antimalarials to nucleic acids by spectroscopic experiments and determined their cellular colocalization. Further analysis revealed that other nucleic acid-binding compounds, such as propidium iodide, also inhibited activation of endosomal TLRs and colocalized with nucleic acids to endosomes. We found that imidazoquinolines, which are TLR7/8 agonists, inhibit TLR9 and TLR3 even in the absence of TLR7 or TLR8, and their mechanism of inhibition is similar to the antimalarials. In contrast to bafilomycin, none of the tested antimalarials and imidazoquinolines inhibited endosomal proteolysis or increased the endosomal pH, confirming that inhibition of pH acidification is not the underlying cause of inhibition. We conclude that the direct binding of inhibitors to nucleic acids mask their TLR-binding epitope and may explain the efficiency of those compounds in the treatment of autoimmune diseases. *The Journal of Immunology*, 2011, 186: 000–000.

V članku v ugledni reviji s področja imunologije smo objavili odkritje mehanizma delovanja antimalarikov, podobnih kvinakrinu. V nasprotju s prevladujočim mnenjem v literature smo odkrili, da ti inhibitorji v terapevtskih koncentracijah ne preprečijo zakisanja endosomov temveč se vežejo na nukleinske kisline. Na ta način preprečijo, da nukleinske kisline aktivirajo endosomalne TLR, ki so TLR3, TLR9 in TLR7.

Rezultat je pomemben za izboljšanje terapije avtoimunskih bolezni, za katere je značilna aktivacija TLR9,7,8 in 3. Delo smo predstavili na predavanju "**JERALA, Roman**". Molecular mechanism of activation of Toll-like receptors in infection and chronic inflammation. Annual meeting of the Austrian society for allergology and immunology (ÖGAI), 2010. Vienna, 2010. [4577562].

Dopolnilne publikacije: (1) **PANTER, Gabriela, et al.** Therapeutic applications of nucleic acids as ligands for toll-like receptors. *Curr. opin. mol. ther.* (Print), 2009, vol. 11, 133-145. [4121114]. (2) **KUŽNIK, Alenka, et al.** Recognition of nucleic acids by toll-like receptors and development of immunomodulatory drugs. *Curr. med. chem.*, 2010, vol. 17, 16 [4351258].

team SLOVENIA

DNA coding beyond triplets

project
 methods & parts
 the team

summary
scheme
achievements

Team Slovenia project in plain english - IGEN 2010

**Team Slovenia - iGEM 2010 project
DNA coding beyond triplets**

biosynthesis

- Yield improvement (0.5-fold)
- Guide the biosynthesis flow towards alternative products

oscillator

- New features of genetic oscillators based on ZNF's
- Experimental demonstration of functional basic building blocks

DNA program

proof of principle

- Surface plasmon resonance
- Repression of beta galactosidase
- Mobility shift analysis
- Reconstitution of SPLIT fluorescent proteins

summary

Information encoded by triplet nucleotides of DNA determines the order of incorporation of amino acids into proteins. We envisioned an alternative use of DNA as the scaffold for encoding information. We used DNA sequence as a program consisting of series of blocks of nine or