

BioRe-18-22

1. Radni sastanak, 3. 2. 2020.

Sudionici na projektu

| | | | |
|--|--|---|------|
| Mihaela Matovina | IRB | S | 30% |
| Zrinka Karačić | IRB | S | 50% |
| Ana Tomašić Paić | IRB | S | 60% |
| Dejan Agić | Faculty of Agriculture in University of Osijek | S | 30% |
| Sara Matić | IRB | S | 70% |
| Antonija Tomić | IRB | S | 60% |
| Filip Šupljika | Faculty of Food Technology and Biotechnology, Zagreb | S | 30% |
| | | S | 20% |
| Postdoctoral researcher (Mirsada Ćehić) | IRB | P | 100% |
| PhD student Antonia Matić | IRB | D | 80% |
| Karl Gruber | Institute of Molecular Biosciences, University of Graz | S | 5% |
| Marija Abramić | Retired | S | 20% |
| Peter Macheroux | Graz University of Technology, Graz | K | |
| Ivana Kekez | | S | 10% |
| Hrvoje Brkić | Faculty of medicine in Osijek, University of Osijek | S | 30% |
| Saša Kazazić | IRB | K | |
| Ivo Piantanida | IRB | K | |

Završeno 1. izvještajno razdoblje (1.10.18 - 30.9.20.)

| Recenzent 1 | Recenzent 2 |
|--|---|
| A | A |
| No smatra da projekt nije medijski zanimljiv, da nije značajan i inovativan u području istraživanja i razvoja (R&D), te da sudjelovanje međunarodnih istraživača i ustanova nije značajno | također smatra da projekt nije medijski zanimljiv, ali sudjelovanje međunarodnih istraživača i ustanova smatra značajnim. (R&D nije komentirao) |
| <p>Istraživanja se nadovezuju se na prethodni projekt voditeljice i dobiveni rezultati u skladu su s predloženim i usvojenim radnim planom. Jedino odstupanje odnosi se na kristalizaciju kompleksa Kelch domene s ljudskim DPP-III kojom nisu dobiveni kristali dovoljne kvalitete i što će se pokušati riješiti u narednom projektnom razdoblju. Svi segmenti istraživanja dokumentirani su s odgovarajućim, pažljivo pripremljenim, izvješćima. U istraživanjima sudjeluje znatan broj suradnika a zamjetna je i suradnja s drugim istraživačkim grupama. Objavljena su dva znanstvena rada (u Q1 i Q2 časopisima). Na problematici projekta obranjena je i jedna doktorska radnja, no iz priloženih podataka nije jasno kada, da li sadrži podatak o povezanosti s projektom i financijskoj potpori Zaklade, kao ni podatak o tome da li su istraživanja provedena u okviru tekućeg ili prethodnog projekta voditelja (mentori S. Tomić i I. Pianatnida). Mrežna stranica projekta je postavljena i sadrži sve relevantne podatke. Radni i financijski planovi nisu u potpunosti usklađeni. Primjerice, u radnom planu predviđeno je objavljivanje znanstvenih radova tek u trećem projektnom razdoblju, dok su u financijskom planu sredstva za slanje rukopisa u tisk predviđena u narednom projektnom razdoblju. Većina predviđenih rezultata odnosi se na izvješća o pojedinim segmentima istraživanja i eventualno izlaganje rezultata na zn. skupovima. Bilo bi poželjno dio rezultata objaviti i u drugom projektnom razdoblju koje je predviđeno od 13. do 30. mjeseca rada na projektu.</p> | |

Tomić A., Horvat G., Ramek M., Agić D., Brkić H., Tomić S. New zinc ion parameters suitable for classical MD simulations of zinc metallo-peptidases. *Journal of Chemical Information and Modeling* (2019) DOI: 10.1021/acs.jcim.9b00235.

Ćehić M., Suć Sajko J. Karačić Z., Piotrowski P., Šmidlehner T., Jerić I., Schmuck C., Piantanida I., Tomić S. The guanidiniocarbonylpyrrole - fluorophore conjugates as theragnostic tools for DPP III monitoring and inhibition. *Journal of biomolecular structure & dynamics* (2019) DOI: [10.1080/07391102.2019.1664936](https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1664936)

RP – 2. godina (1.10-2019-31.3.2021.)

AŽURIRANJE MREŽNE STRANICE

1. RADNI SASTANAK

1. DPP III MINISIMPOZIJ

IZVJEŠĆE NAKON 18 mjeseci

| | |
|--|---|
| Antonija Tomić | Usavršavanje novih parametara za Zn ²⁺ i testiranje u enzimima sa sličnim veznim mjestom |
| Antonija Tomić/Hrvoje Brkić/Sanja Tomić/Dejan Agić | Ispitivanje novih parametara za Zn ²⁺ u metalopeptidazama sa koordinacijom sličnom DPP III (termolizin, antraks letalni faktor (4PKQ, 5D1S), neprilizin) |
| Ivana Kekez | Snimanje dobivenih kristala Kelch domene s ETGEDPP III peptidom na sinkrotronu, kristalizacije kompleksa Kelch -hDPP III |
| Sara Matić/ Sanja Tomić | <i>In silico</i> konstrukcija 1. skupine odabranih mutantnih KelchC-hDPP III kompleksa |
| Sara Matić/ Mihaela Matovina | Kloniranje, ekspresija, pročišćavane druge skupine mutanata (DPP III, Kelch) |
| Mihaela Matovina/ Ana Tomašić Paić | Priređeni pFLAG-CMV2 eukariotski ekspresijski vektori s mut. genom za hDPP III |
| Sara Matić/ Filip Šupljika | ITC i MST mjerenja Kelch-DPP III interakcija (WT i mutanti) |
| Antonia Matić/ Zrinka Karačić/Ana Tomašić Paić/Sanja Tomić/Hrvoje Brkić | Razumijevanje važnosti metalnih dikationa Zn, Mn, Cu i Co za hDPP III (priprema apo i holo enzima s metalima u različitim koncentracijama, HR-ICP-MS – broj vezanih metala). Simulacije hDPP III s Zn ²⁺ (1 i 2 iona – identifikacija inhibitorskog veznog mjesta metala). Pretpostavka mehanizma izmjene metala u hDPP III. Utjecaj metala na aktivnost (hidroliza Arg ₂ -2NA) hDPP III. |
| Zrinka Karačić/Ana Tomašić Paić | Kloniranje, ekspresija, pročišćavanje hDPP III (His tag) WT i E451A Mjerenje kinetike hidrolize (neuro)peptidne katalizirane hDPP III pomoću HPLC-MS i fluorimetrije, kao i inhibicijske kinetike inhibitornih neuropeptida |
| Sara Matić/ Sanja Tomić/Marko Tomin | Jačina interkcija ETGE petlje s površinom gornje domene hDPP III, odmicanja ETGE petlje od površine hDPP III, Kelch-DPP III kompleks – MD simulacije |
| Mirsada Čehić/Zrinka Karačić/Ana Tomašić Paić/Dejan Agić/sanja Tomić | Spektro-fluorimetrijska analiza aktivnosti hDPP III (mjerena kao relativna hidroliza Arg-Arg-2NA) u prisutnosti novih potencijalnih inhibitora hDPP III Određivanje afiniteta vezanja na aktivnu i inaktivnu hDPP III pomoću ITC-a <i>In silico</i> konstrukcija kompleksa hDPP III s potentnim inhibitorima, simulacije. |

Radni sastanak na BioRe projektu, IRB, Zagreb, 3.02.2020.
Working Meeting of the BioRe project, IRB, Zagreb, 3.02.2020.

IRB, Seminar room in the first wing (Seminarska soba u prizemlju 1. krila)

- 10:00-10:30 Gathering and coffee
- 10:30-10:40 **Sanja Tomić** INTRODUCTION
- 10:40-11:00 **Sara Matić** and **Sanja Tomić** DPP III – Kelch interactions mechanism and mutants in cancer
- 11:00-11:10 **Ivana Kekez** Crystal structures of Kelch – DPP III-loop-peptide and of DPP III – Kelch
- 11:10-11:20 **Zrinka Karačić** and **Antonia Matić** Preparing metallo-substituted hDPP III
- 11:20-11:30 **Zrinka Karačić** and **Ana Tomašić Paić** Testing neuropeptides as hDPP III substrates using HPLC-MS)
- 11:30-11:40 Discussion
- 11:40-12:00 **Mihaela Matovina** and **Ana Tomašić Paić** (Investigation of DPP III protein interactors)
- 12:00-12:15 **Antonija Tomić** Mechanism of the human DPP III catalysed tyrosin hydrolysis
- 12:15-12:25 **Dejan Agić** Evaluation of human DPP III inhibition by Cornelian cherry (*Cornus mas*) extracts
- 12:30-14:30 Lunch break
- 14:30-16:00 General discussion of the project, coordination of research efforts, etc. (coffee will be available)
- 16:00 Closing of the meeting