KEMIJSKI INŠTITUT

SI-1001 Ljubljana
Hajdrihova 19, p.p. 660
Tel.: 01/476 02 00
Faks: 01/476 03 00
http://www.ki.si

Ljubljana, 18. julij 2019

# Pogosta vprašanja in odgovori

## 1. Kakšen je naslov objave članka in v kateri reviji? Kdaj je bil članek objavljen?

Članek z naslovom »**Structural basis for the multitasking nature of the potato virus Y coat protein**« (Struktura plaščnega proteina virusa Y krompirja pojasnjuje njegovo večplastno delovanje), je bil objavljen v sredo, 17.7.2019, v priznani ameriški znanstveni reviji *Science Advances* zlatega odprtega dostopa. Revijo Science Advances od leta 2015 izdaja Ameriško združenje za napredek v znanosti (American Association for the Advancement of Science, AAAS). Science Advances je bila ustanovljena z namenom širjenja kapacitete prestižne revije *Science*, da bi v njej promovirali najpomembnejše in visoko kakovostne razultate z vseh področij znanosti in inženirstva. Izjemen pomen te mlade revije Science Advances se izraža tudi v hitro rastočem faktorju vpliva, ki je 12.804 za leto 2018. V prihodnje pa bo verjetno še rasel, saj je revija med znanstveniki zelo priljubljena.

Besedilo članka je bilo v uredništvo revije Science Advances poslano 14.12.2018, sprejeto je bilo 10.6.2019, objavljeno pa 17.7.2019. Članek je dostopen na povezavi:
https://advances.sciencemag.org/content/5/7/eaaw3808

## 2. Zakaj to odkritje premika meje in kateri družbeni izziv to odkritje naslavlja?

Krompir je ena najpomembnejših kulturnih rastlin na svetu, takoj za koruzo, pšenico, in rižem. Virus Y krompirja (angl. potato virus Y, na kratko virus PVY) je najpomembnejši virus krompirja. Uvrščamo ga med pet ekonomsko najpomembnejših in najbolj razširjenih rastlinski virusov, saj lahko povzroči hudo škodo na pridelkih okuženih gojenih in divjih rastlin (njegova glavna tarča je krompir, poleg tega pa tudi tobak, paprika, paradižnik, dalije, petunije, volčje jabolko in druge). Sorta krompirja igor, ki smo jo v Sloveniji gojili na 75 % vseh polj krompirja, se je pred približno 30 leti izrodila ravno zaradi občutljivosti na virus PVY. Ko virus napade rastlino, lahko povzroči huda bolezenska znamenja ali celo popolno uničenje pridelka. Bolezenska znamenja se lahko pojavijo na listih, pridelovalce pa najbolj prizadenejo bolezenska znamenja na gomoljih, saj ti zato niso primerni za prodajo. Virus prenašajo listne uši, uspešno pa se širi tudi z uporabo okuženih krompirjevih gomoljev za sajenje.

**Ključni prispevki naše raziskave:**

**1. Z uporabo krio-elektronske mikroskopije smo prvi določili tridimenzionalno zgradbo oz. strukturo virusa PVY** pri visoki ločljivosti, blizu atomski. Pokazali smo, da ima virus PVY obliko kompaktne podolgovate niti, katere osnovni gradniki so molekule plaščnega proteina, ki se v obliki vijačnice ovijajo okoli virusnega genskega materiala in ga tako ščitijo pred zunanjimi vplivi. Ugotovili smo tudi, kateri predeli na tem plaščnem proteinu so ključni za tvorbo teh arhitekturno izredno dovršenih virusnih niti in za razvoj bolezni. To odkritje je nujna podlaga za nadaljnje raziskave poteka okužbe krompirja, kar bo pripomoglo k iskanju preventivnih strategij za varstvo rastlin pred okužbami z virusom PVY.

2. V tej raziskavi smo, poleg tridimenzionalne strukture virusa PVY, **tudi prvi določili tridimenzionalno strukturo delcev, ki so podobni virusom (virusom podobni delci).** Za razliko od virusov, le-ti ne vsebujejo virusnega genskega materiala, in zato niso sposobni okužbe organizmov. Ugotovili smo, da je

struktura teh virusom podobnih delcev precej drugačna od strukture virusa PVY. V primeru virusu podobnih delcev se molekule plaščnega proteina namreč v obliki zloženih prstanov nalagajo v dolgo nit. Površina in tudi notranjost teh dolgih proteinskih niti imata zelo posebne lastnosti. V naši raziskavi smo pokazali, da lahko te lastnosti spreminjamo praktično na poljuben način in pri tem **pripravimo delce, ki bi jih lahko v prihodnosti koristno uporabili na različnih področjih, denimo za razvoj novih dostavnih sistemov za zdravila, razvoj cepiv, razvoj senzorjev za določene signale ali molekule (diagnostika), za razvoj hibridnih materialov, nanocevk ipd**.

**3.** Zelo pomembna je tudi primerjava tridimenzionalnih struktur virusa PVY in virusom podobnih delcev. Na osnovi razlik med njima smo prišli do spoznanja, da je osnovna gradbena molekula obeh tipov niti (tj. plaščni protein) tudi sama po sebi zelo plastična in lahko svojo strukturo prilagaja v odvisnosti od pogojev v okolici. Znano je namreč, da plaščni protein med procesom okužbe krompirja z virusom sodeluje pri več različnih procesih. **Predvidevamo, da prav ta plastičnost plaščnega proteina virusa PVY omogoča raznolikost funkcij virusnega plaščnega proteina med okužbo.**

**4.** Poleg premikanja znanstvenih in inženirskih mej, omenjenih zgoraj, pa je opisana raziskava lep primer združevanja znanja znanstvenikov z različnih področij, **saj je raziskava interdisciplinarna**. Vsebuje pristope: molekularne biologije, genetike, virologije, biokemije, biofizike, analizne (bio)kemije, masne spektrmetrije, teoretične kemije (molekularna dinamika) in seveda najbolj pomembno pri tej razsikavi, strukturne biologije (v tem primeru uporaba pristopov klasične transmisijske- in krio-elektronske mikroskopije).

### 3. Kateri partnerji so pri raziskavi sodelovali?

Objavljeno delo je plod sodelovanja 15 znanstvenikov s treh inštitucij iz Slovenije in Češke. Raziskava je potekala pod vodstvom dr. Marjetke Podobnik z Odseka za molekularno biologijo in nanobiotehnologijo na Kemijskem inštitutu, kjer je bila opravljena večina dela. S tega odseka so sodelovali še Andreja Kežar, ki je prva avtorica članka in je opravila največji delež raziskav, doktorski študent Luka Kavčič in dr. Gregor Anderluh. S Kemijskega inštituta so sodelovali še dr. David Pahovnik in dr. Ema Žagar z Odseka za polimerno kemijo in tehnologijo ter dr. Franci Merzel s Teoretičnega odseka. Z Nacionalnega inštituta za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, so sodelovali dr. Ion Gutiérrez-Aguirre, dr. Magda Tušek Žnidarič, dr. Anna Coll, Katja Stare, dr. Kristina Gruden in dr. Maja Ravnikar. V študiji sta sodelovala tudi raziskovalca z inštituta Ceitec (Central European institute of technology) v Brnu na Češkem, dr. Jiří Nováček in doktorski študent Martin Polák, saj smo takrat še uporabljali njihov mikroskop.

### 4. Zakaj je projekt pomemben za Kemijski inštitut, Nacionalni inštitut za biologijo in za celoten slovenski znanstveni prostor?

Rezultati raziskave so bili pridobljeni s pomočjo najnovejše tehnologije v strukturni biologiji - krio-elektronske mikroskopije, za katero je bila v letu 2017 podeljena Nobelova nagrada za kemijo. Ta metoda omogoča določanje struktur velikih bioloških molekul in kompleksov, fleksibilnih molekul v naravnem okolju, celic ali tkiv pri visokih ločljivostih. Raziskovalci smo v okviru projekta pridobili znanje, ki nam bo omogočalo uporabo ter vodenje lastnega centra za krio-elektronsko mikroskopijo. Na Kemijskem inštitutu namreč trenutno poteka nameščanje in zagon novega, več milijonov evrov vrednega krio-elektronskega mikroskopa, ki bo v naši regiji tudi prvi mikroskop za snemanje bioloških vzorcev v kriogenih pogojih. Mikroskop, ki bo na voljo tudi ostalim slovenskim in mednarodnim raziskovalcem, bo strukturno biologijo v slovenskem prostoru ponesel na še višjo raven ter bo omogočil nova pomembna odkritja in mednarodna sodelovanja. Z uvedbo najsodobnejših tehnologij se tako Kemijski inštitut postavlja ob bok ostalim mednarodno uveljavljenim raziskovalnim inštitucijam.

Na Nacionalnem inštitutu za biologijo si od uporabe krio-elektronske mikroskopije obetajo nenadomestljivo dopolnitev klasične transmisijske elektronske mikroskopije (nov klasični elektronski mikroskop so pravkar namestili v Biološkem središču). Poznavanje strukture in funkcije posameznih gradnikov virusov jim omogoča razumevanje razvoja bolezni v rastlini, kar je potrebno za pripravo učinkovitih strategij za obrambo krompirja pred virusnimi boleznimi. Krio-elektronska mikroskopija jim bo omogočila tudi dodatno metodo pri karakterizaciji različnih terapevtskih virusov za gensko zdravljenje, ki jo izvajajo pri razvoju terapevtikov različnih visokotehnoloških podjetij, kot je na primer podjetje Avexsis Novartis. Z Avexsisom so sodelovali pri razvoju virusne genske terapije Zolgesma®, ki jo je letos maja odobrila FDA.

**5. Koliko časa je trajala raziskava in katera oprema je bila pri tem uporabljena?**

Na Kemijskem inštitutu smo se s proučevanjem virusom podobnih delcev začeli ukvarjati leta 2014 in se kasneje osredotočili na virus PVY. Že dolgo sodelujemo tudi z Nacionalnim inštitutom za biologijo, kjer imajo dolgoletne izkušnje s proučevanjem virusa PVY. Dosežki, opisani v tem članku, so torej rezulat skoraj pet let dela na tem področju.

Študija je bila s slovenske strani podprta s sredstvi Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije v okviru več programov in projektov (P1-0391, J7-7248, P4-0165, P2-0145, P1-0010, ter štipendija za mlado raziskovalko), ter čeških projektov CIISB infrastrukturni projekt LM2015043 (MEYS CR) in National Grid Infrastructure MetaCentrum (CESNET LM2015042).

Virusom podobne delce smo proučevali z najsodobnejšo opremo na Kemijskem inštitutu z uporabo interdiscipilinarnega nabora metod. Testiranja na rastlinah, priprava virusa, kvantifikacija in sledenje virosom v rastlinah ter klasična transmisijska elektronska mikroskopija, so bili izvedeni na Nacionalnem inštitutu za biologijo. Podatke za analizo strukture smo pridobili na krio-elektronskem mikroskopu na Ceitec inštitutu v Brnu. Računalniška obdelava podatkov je delno potekala na računalniški gruči MetaCentrum, ki je del Masarykove univerze v Brnu, delno pa na novih računalniških kapacitetah Kemijskega inštituta in smo jo opravili slovenski raziskovalci. Določitev obeh struktur je v večini potekala na Kemijskem inštitutu. Analiza in intepretacija vseh rezultatov je potekala na Kemijskem inštitutu.

**6. Kaj je naslednji korak?**

V prihodnje bomo, v sodelovanju z raziskovalci Nacionalnega inštituta za biologijo, nadaljevali proučevanje mehanizma okužb z virusom PVY na rastlinah. Virus PVY je še vedno precej neraziskan, vendar bo pridobljeno znanje o njegovi zgradbi pripomoglo k lažjemu proučevanju interakcij med virusnim plaščem ter virusnim genskim materialom oz. drugimi rastlinskimi in virusnimi komponentami ter komponentami listnih uši, ki sodelujejo pri okužbi.

Na Kemijskem inštitutu se bomo v prihodnje posvetili tudi možnostim uporabe virusom podobnih delcev v različnih aplikacijah na področju bionanotehnologije in sintezne biologije ter načrtovanju novih naprednih materialov na podlagi bioloških molekul. Rekombinantno pridobljene virusom podobne delce je namreč možno dokaj enostavno spremeniti na genetskem in proteinskem nivoju, kar dopušča številne možnosti za nadaljnjo uporabo. Pridobljeno znanje o strukturi virusu podobnega delca bo v tem primeru pripomoglo k bolj natančnim in učinkovitim spremembam na zunanji ali notranji površini delca za namene nadaljnjih aplikacij. Prav tako bomo še naprej izpopolnjevali svoje znanje iz metodoloških pristopov krio-elektronske mikroskopije, ki jo že uspešno uporabljamo tudi na drugih naših projektih. 17. julija 2019 bomo na Kemijskem inštitutu prejeli tudi nov krio-elektronski mikroskop, tako da bomo lahko v prihodnje večino meritev izvajali sami. To bo poenostavilo in pospešilo naše raziskave in raziskave drugih raziskovalcev v regiji. Hkrati pa bo tudi znantno dvignilo raven kakovosti naših raziskav, da bomo lahko še naprej konkurenčni s tujino.