

## Povzetek

Rastlinski (+)ssRNA virusi predstavljajo zbirko evolucijsko optimiziranih proteinskih nanodelcev različnih oblik in velikosti, ki pri sesalcih ne morejo razviti virusne okužbe in so zato zelo zanimivi za uporabo. V nasprotju z ikozaedričnimi in paličastimi virusi pa potencial široko zastopanih gibljivih nitastih virusov ni dobro raziskan. Krompirjev virus Y (PVY) je predstavnik največje skupine gibljivih nitastih virusov (rod potivirusov), in predstavlja svetovno najpomembnejši virusni patogen krompirja. Njegov plaščni protein (angl. coat protein, CP) poseduje visoko stopnjo intrinzične neurejenosti ter s tem strukturne plastičnosti, kar mu omogoča sodelovanje v praktično vseh stopnjah virusne okužbe. Kot edini strukturni protein, se v virusnih delcih združuje okoli virusne (+)ssRNA v obliki leve vijačnice in tako tvori gibljivo nitasto kapsido. Čeprav še ni znano, v kakšni strukturni obliki je CP udeležen v različnih virusnih procesih v naravi, lahko informacije o strukturni pokrajini, dostopni potivirusnemu CP, pridobimo s študijo njegovih virusom podobnih delcev (VLP), pridobljenih z rekombinantno proizvodnjo v bakterijah.

S pomočjo strukturnih in biofizikalnih pristopov smo pokazali vlogo intrinzično neurejenih regij (IDR) v samosestavljanju rekombinantnega CP PVY, pri čemer smo v vzorcu očiščenih VLP sočasno zaznali prisotnost treh različnih arhitektur nitk (strukturni polimorfizem). Na podlagi njihovih strukturnih modelov visoke ločljivosti, pridobljenih s krio-elektronsko mikroskopijo, smo z dodatnim inženiringom pripravili nove različice proteinskih nanodelcev z izboljšanimi lastnostmi, ki bi pomagale premostiti vrzel do njihove uporabe v bionanotehnologiji. S širokim naborom pripravljenih različic CP ter biokemijsko, biofizikalno ter strukturno analizo sestavljenih delcev smo pokazali, da lahko nadzorujemo obliko, velikost, sposobnost pakiranja RNA, simetrijo, stabilnost in površinsko funkcionalizacijo nanodelcev. Pri visoki ločljivosti smo določili tudi tridimenzionalno strukturo teh nanodelcev, ki obsegajo polimorfne ali monomorfne nitke ter manjše obročaste, kubične ali sferične delce s točno definirano arhitekturo. Poleg tega smo pokazali, da lahko preprečimo samosestavljanje CP v bakterijah s fuzijo globularnega proteina na C-koncu CP, kar omogoča nadzorovano tvorbo nanodelcev v pogojih *in vitro*.

Skupno smo pokazali, da je plaščnemu proteinu PVY dostopna zelo obsežna strukturna pokrajina in da lahko lastnosti nastalih nanodelcev dodatno prilagajamo za namene specifičnih uporab. Poleg novih možnosti za proizvodnjo biološko razgradljivih biomaterialov pa naši rezultati podajajo tudi iztočnice za prihodnje raziskave o polimorfizmu CP PVY v biološkem kontekstu.

**Ključne besede:** krompirjev virus Y, plaščni protein, virusom podobni delci, samosestavljanje, polimorfizem, krio-elektronska mikroskopija, inženiring.