

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0232****Využitie sekvenovania novej generácie pre analýzu virómu medicínsky a hospodársky významných organizmov.**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Boris Klempa, PhD.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Virologický ústav****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**Biomedicínske centrum SAV - Virologický ústav,
Parazitologický ústav SAV,
Univerzita Komenského v Bratislave, Vedecký park**Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení**

-

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

-

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Csanády A, Mošanský L, Stanko M. Craniometric comparison and discrimination of two sibling species of the genus *Mus* (Mammalia, Rodentia) from Slovakia. *Folia Zool.* 2018; 67 (3-4): 158-164. doi: 10.25225/fozo.v67.i3-4.a2.2018.
2. Glasa M, Predajňa L, Sihelská N, Šoltys K, Ruiz-García AB, Olmos A, Wetzel T, Sabanadzovic S. Grapevine virus T is relatively widespread in Slovakia and Czech Republic and genetically diverse. *Virus Genes.* 2018; 54:737-741. doi: 10.1007/s11262-018-1587-7.
3. Glasa M, Predajňa L, Šoltys K, Sihelská N, Nagyová A, Wetzel T, Sabanadzovic S. Analysis of Grapevine rupestris stem pitting-associated virus in Slovakia reveals differences in intra-host population diversity and naturally occurring recombination events. *Plant Pathol J.* 2017 33:34-42. doi: 10.5423/PPJ.OA.07.2016.0158.
4. Glasa M, Predajňa L, Wetzel T, Šoltys K, Sabanadzovic S (2019): First report of grapevine rupestris vein feathering virus in grapevine in Slovakia. *Plant Disease* 103: 170, doi: 10.1094/PDIS-06-18-1112-PDN.
5. Klempa B. Reassortment events in the evolution of hantaviruses. *Virus Genes.* 2018; 54:638-646. doi: 10.1007/s11262-018-1590-z.
6. Laenen L, Vergote V, Kafetzopoulou LE, Wawina TB, Vassou D, Cook JA, Hugot JP, Deboutte W, Kang HJ, Witkowski PT, Köppen-Rung P, Krüger DH, Licková M, Stang A, Striešková L, Szemeš T, Markowski J, Hejduk J, Kafetzopoulos D, Van Ranst M, Yanagihara R, Klempa B, Maes P. A novel hantavirus of the European Mole, Bruges virus, is involved in frequent Nova virus coinfections. *Genome Biol Evol.* 2018;10(1):45-55. doi:

10.1093/gbe/evx268.

7. Maliogka VI, Minafra A, Saldarelli P, Ruiz-García AB, Glasa M, Katis N, Olmos A. Recent advances on detection and characterization of fruit tree viruses using high-throughput sequencing technologies. *Viruses*. 2018 Aug 17;10(8). pii: E436. doi: 10.3390/v10080436.

8. Nourinejad Zarghani S, Hily JM, Glasa M, Marais A, Wetzel T, Faure C, Vigne E, Velt A, Lemaire O, Boursiquot JM, Okic A, Ruiz-Garcia AB, Olmos A, Lacombe T, Candresse T. Grapevine virus T diversity as revealed by full-length genome sequences assembled from high-throughput sequence data. *PLoS One*. 2018 Oct 30;13:e0206010. doi: 10.1371/journal.pone.0206010.

9. Predajna L, Soltys K, Kraic J, Mihalik D, Glasa M. First Report of Potato virus S Infecting Tomato in Slovakia. *J Plant Pathol* 2017, 99:811. doi: 10.4454/jpp.v99i3.3948.

10. Sihelská N, Vozárová Z, Predajňa L, Šoltys K, Hudcovicová M, Mihálik D, Kraic J, Mrkvová M, Kúdela O, Glasa M. Experimental infection of different tomato genotypes with tomato mosaic virus led to a low viral population heterogeneity in the capsid protein encoding region. *Plant Pathol J*. 2017;33:508-513. doi: 10.5423/PPJ.NT.04.2017.0082. 1.

11. Strieskova L, Gazdaricova I, Kajsik M, Soltys K, Budis J, Pos O, Lickova M, Klempa B, Szemes T. Ultracentrifugation enrichment protocol followed by total RNA sequencing allows assembly of the complete mitochondrial genome. *J Biotechnol*. 2019; 299:8-12. doi: 10.1016/j.jbiotec.2019.04.019.

12. Vozárová Z, Sihelská N, Predajňa L, Šoltys K, Glasa M. First report of Grapevine yellow speckle viroid-1 infecting grapevines in Slovakia. *Journal of Plant Pathology* 2016; 98, 697, doi. 10.4454/jpp.v98i3.3770.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu NEXTVIR boli už počas riešenia projektu a budú aj ďalej využité v širokej škále vedeckých aj iných aktivít. Výsledky projektu boli primárne využité pre tvorbu dvanástich odborných článkov v zahraničných karentovaných časopisoch. Aktivity projektu boli tiež využité pri vedeckej výchove štyroch diplomových a piatich doktorandských študentov. Boli vytvorené softvérové produkty zamerané na bioinformatické vyhľadávanie vírusových sekvencií v dátach generovaných metódami „next-generation-sequencing“ technológií, ktoré budú partneri projektu využívať aj ich ďalšej vedeckej práci.

Veľmi významným uplatnením výsledkov projektu, predovšetkým získaných metodických skúseností a poznatkov s detekciou a analýzou nízko zastúpených RNA molekúl v hostiteľských vzorkách, je podanie štyroch domácich a dvoch zahraničných projektov, ktoré pokrývajú široký okruh tém, korešpondujúci s rôznym zameraním jednotlivých partnerov projektu. Najvýznamnejšie výsledky boli dosiahnuté v oblasti identifikácie a genetickej charakterizácie nových alebo novo sa objavujúcich rastlinných aj živočíšnych vírusov. Tieto výsledky, popri ich elementárnej vedeckej hodnote, však majú aj ďalšie využitie v poľnohospodárstve či vo verejnom zdravotníctve. Získané genetické dáta sú kritické pre vývoj diagnostických testov pre identifikáciu týchto nových vírusov, čo môže mať v prípade vírusov poľnohospodárskych plodín významné hospodárske dôsledky. V prípade identifikácie zoonotických vírusov majú získané genomické dáta zase uplatnenie v oblastiach verejného zdravia ľudí a zvierat.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Projektu NEXTVIR bol zameraný na vývoj metodológie sekvenovania vírusov a analýzy virómu pomocou metód „next-generation sequencing“ (NGS) a využitie týchto metód pre analýzu medicínsky a hospodársky významných vírusov drobných cicavcov a hospodársky dôležitých rastlín. Ciele projektu boli splnené nad rámec očakávaní. Získané výsledky boli prezentované v 12 publikáciách v zahraničných karentovaných časopisoch.

Očakávané výstupy projektu boli naplnené aj v ostatných dôležitých aspektoch projektu, akými bola vedecká výchova študentov, popularizačné aktivity, či tvorba vyvolaných projektov. Získané metodické skúsenosti viedli k podaniu štyroch domácich a dvoch zahraničných projektov, ktoré využívajú detekciu a analýzu nízko zastúpených RNA molekúl v hostiteľských vzorkách. Významným prínosom projektu je aj posilnenie medzinárodnej spolupráce, kedy viacero významných výsledkov geograficky aj významovo presiahlo hranice Slovenska.

Najvýznamnejšie výsledky boli dosiahnuté v oblasti identifikácie a genetickej charakterizácie

nových alebo novo sa objavujúcich rastlinných aj živočíšnych vírusov. Vyvinuté a uplatnené NGS postupy aplikované priamo na vzorky z terénu bez predchádzajúcej izolácie vírusu sa ukázali ako veľmi prínosné najmä v oblasti detekcie rastlinných vírusov a viedli k identifikácii viacerých vírusov hospodársky významných rastlín. Podobne aj v oblasti zoonotických vírusov prenášaných drobnými cicavcami viedla práve aplikácia NGS metód k zásadnému zlomu v predchádzajúcom snažení o genetickú charakterizáciu novo identifikovaného hantavírusu Bruges.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The NEXTVIR project has been focused on the development of methods for virus sequencing and virome analyses by using the next-generation sequencing (NGS) technologies and application of these techniques for virome characterization of medically and economically important hosts such as small mammals and crops. Project outcomes exceeded the declared goals. Obtained results were presented within 12 publications in international journals. Expected outcomes were exceeded also in other important aspects of the project such as research training of students, popularization activities and preparation of derived projects. Obtained methodical experience led to the submission of four national and two international projects which include detection and analysis of low-copy RNA molecules in complex host samples. Important benefit of the project is also strengthening of international collaboration when several findings geographically and by their importance outreached the borders of Slovakia.

Most important findings were obtained in the field of identification and genetic characterization of emerging plant and as well as animal viruses. Application of the established NGS protocols on biological samples obtained directly from the natural host organisms without prior virus isolation and cultivation proved to be very beneficial especially in the field of plant viruses and led to discoveries of several viruses of the crops. Also in the field of small-mammals-transmitted zoonotic viruses, application of the NGS techniques led to a breakthrough in numerous previous attempts of genetic characterization of the newly identified Bruges hantavirus.