

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/42



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J3-4051
Naslov projekta	Vloga monomernih GTPaz pri uravnavanju mobilnosti endosomov/lizosomov v astrocitih
Vodja projekta	3702 Robert Zorec
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7560
Cenovni razred	
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	1683 CELICA, biomedicinski center, d.o.o.
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	106 Institut "Jožef Stefan" 381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.03 Nevrobiologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.03 Medicinske vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.05 Druge medicinske vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Astroцити uravnavajo številne procese, vključno s komunikacijo med nevroni s privzemom in sproščanjem signalnih molekul. Naš namen je bil preučevati endocitozo, mehanizem s katerim molekule iz zunajceličnega prostora in molekule, ki so del plazemske vstopajo v celico in se razporedijo v endosome/lizosome. Raziskovali smo uravnavanje mobilnosti

endosomov/lizosomov z GTP-azami Rab, ki imajo, skupaj z regulatornimi in efektorskimi proteini, pomembno vlogo pri endocitotskem ciklu in recikliranju mešičkov. Poznavanje mehanizmov mobilnosti endosomov/lizosomov je pomembno tudi za razumevanje kognitivnih procesov. Okvara beljakovine GDI, ki uravnava delovanje GTPaz Rab, je bila odkrita pri bolnikih s pogosto obliko intelektualne nezmožnosti, ki se deduje po kromosomu X (XLID). Potrebno je raziskati, kako okvara GDI vpliva na endolizosomalni transport in s tem na komunikacijo med celicami. Raziskovali smo tudi vlogo endocitoze pri infekciji astrocitov z virusom klopnega meningoencefalitisa (TBE). V prvem delu raziskave smo pokazali, da sta GTPazi Rab4 in Rab5 pomembni za usmerjeno mobilnost endosomov v astrocitih. To smo potrdili s poskusi, kjer smo uporabili njune mutante GDP/GTP in pokazali, da je funkcionalen preklon med oblikama GTP/GDP nujen za usmerjeno mobilnost endosomov. Rezultati so skladni s hipotezo, da so Rabi vpleteni v pripenjanje mešičkov na efektorske molekule in na citoskelet. V možganih je gostota Rab4 in Rab5 visoka. Pri nekaterih nevroloških sindromih je celična razporeditev GTP-az Rab spremenjena, verjetno zaradi nepravilnega delovanja regulatornih proteinov. Njihova nepravilna celična razporeditev bi lahko vplivala na prenos signalov med nevroni in s tem tudi na kongnicijo. Pri bolnikih z XLID so identificirali več mutiranih genov. Med njim je *GDI1*, ki kodira alfaGDI. GDI so beljakovine, ki vračajo beljakovine Rab z vezanim GDP iz tarčnih membran v citosol in tako sodelujejo pri vzdrževanju zaloge Rab z vezanim GDP za naslednje cikle delovanja. Pokazali smo, da astrociti izražajo dve obliki beljakovin GDIs, alfaGDI in betaGDI in, da njuno specifično utišanje vpliva na usmerjeno mobilnost endolizosomalnih mešičkov. Nekoliko večji učinek je imelo utišanje alfa GDI, kar kaže na njegovo dominantno vlogo pri endolizosomalnem transportu. Okvarjena beljakovina alfaGDI je zelo resen kandidat pri razvoju nevroloških sindromov, saj lahko okvarjen transport mešičkov v astrocitih vpliva tudi na nevrone. Preučevali smo tudi učinke infekcije TBE na astrocitate. Pokazali smo, da TBE vpliva na lastnosti premikanja endolizosomalnih mešičkov v astrocitih, in sicer s podaljševanjem časa infekcije začnejo potovati hitreje. Na preživetje podganjih astrocitov infekcija s TBE ni vplivala. Ta ugotovitev je v skladu s hipotezo, da so tudi možgani glodalcev lahko pomemben rezervoar TBE. Naša raziskava doprinese pomembne nove poglede za razumevanje vloge astrocitov v fizioloških in patoloških razmerah, kot sta intelektualna nezmožnost in virusna infekcija.

ANG

Astrocytes are implicated in a myriad of processes including integrating and tuning inter-neuronal signalling through the uptake and release of chemical messengers. The aim of this proposal was to study endocytosis in astrocytes, a mechanism, by which molecules from the extracellular medium and those associated with the plasma membrane enter cells and are distributed in endosomes/lysosomes. We studied how the mobility of endosomes/lysosomes in astrocytes is regulated by Rab GTPases, which together with their regulatory and effector proteins control the endocytic pathway and vesicle recycling. The understanding of this traffic is relevant for the understanding of cognition, since a gene regulating Rab GTPases were found associated with the prevalent syndrome of intellectual disability. Moreover, we studied how the tick-borne encephalitis virus (TBE) utilizes the endocytic pathway for the infection of astrocytes. The research was divided into three sections. Firstly, we have shown how Rab4 and Rab5 GTPases are required for the directional mobility of endosomal vesicles in astrocytes. With the use of GDP/GTP mutants of either Rab, we have shown that the functional GDP/GTP switching is required for the occurrence of directional endolysosomal movements. These data are in line with the hypothesis that Rabs are involved in the attachment of vesicles to effector proteins and the cytoskeleton. Rab4 and Rab5 are enriched in the brain. Their cellular distribution can be affected in certain neurological syndromes, probably because of the improper functioning of their regulatory proteins. Their improper distribution may directly or indirectly affect neuronal signaling. In human X-linked intellectual disability (XLID) the mutation of several genes have been reported. One of them is *GDI1* encoding alphaGDI. GDIs are proteins that retrieve GDP-Rabs from their target membranes back to the cytosol and help maintain the pool of GDP-Rabs for the next cycle. We have shown that in astrocytes express two forms of GDIs, alphaGDI and betaGDI and that the specific silencing of both GDI proteins affected the directional mobility of endolysosomal vesicles. Slightly higher effect was induced with the silenced alpha GDI, implying to its predominant role in the endolysosomal trafficking. The defective alphaGDI is strong candidate in the development of neurological syndromes,

since the defective trafficking in astrocytes also affects neurons. Lastly, we studied the properties of TBE infection of astrocytes. We have shown that TBE travels in endolysosomal vesicles, which gain their speed with the time of infection. The viability of rat astrocytes was not affected by TBE infection which is in line with the hypothesis that rodents, including their brain regions, represent TBE reservoir. This research provides important new insights into the understanding of astrocyte role in physiological and pathological conditions, such as intellectual disability and virus infection.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Preučevali smo tri raziskovalne hipoteze.

Hipoteza 1: GTPazi Rab4 in Rab5 vplivata na mobilnost mešičkov v endocitotski poti, njihovo velikost in razporeditev v celici. V sesalskih celicah se z membranskimi mešički v endocitotski poti na različne destinacije znotraj celice dostavljajo sestavni deli membran, ligandi, internalizirani z receptorji in topne molekule. Vse internalizirane molekule se dostavijo do zgodnjih endosomov oz. do sortirnih endosomov. Pri regulaciji endocitotskega transporta imajo pomembno vlogo GTPaze Rab, ki sodelujejo pri brstenju membran, sidranju mešičkov in pri interakcijah s citoskeletom. Na začetku endocitotske poti, in sicer pri vračanju endosomalnih mešičkov na plazmalemo in usmerjanju mešičkov do endosomalnih/lizosomalnih predelkov, sta pomembni beljakovini Rab4 in Rab5. Beljakovine Rab se pojavljajo v dveh oblikah, aktivni GTP vezani in neaktivni GDP vezani. Motnje GTPaznega cikla lahko sprožijo drastične morfološke in funkcionalne spremembe tarčnih organelov. Naša raziskava vloge beljakovin Rab4 in Rab5 je potekala na astrocitih, ki zelo pomembno uravnavajo delovanje nevronov tudi prek sproščanja in privzema signalnih molekul; tako je možno, da bi se spremembe v mobilnosti endocitotskih mešičkov odražale tudi v simptomih duševne zaostalosti. Spremembe v lokalizaciji beljakovin Rab ali v sestavi endocitotskih mešičkov bi lahko vplivale na vračanje mešičkov na plazmalemo in znotrajcelični transport. Mi smo ugotavljali vpliv zaklenjenih oblik GDP (angl. GDPlocked) in GTPazno okvarjenih oblik (angl. GTPase deficient) Rab4 in Rab5 na hitrost, usmerjenost, prepotovano pot in lokalizacijo endosomalnih mešičkov v astrocitih. Spremembe v lokalizaciji beljakovin Rab ali v sestavi endocitotskih mešičkov bi lahko vplivale na vračanje mešičkov na plazemsko membrano in na znotrajcelični transport naprej do razgradnih predelkov. Znanih je le nekaj izsledkov raziskav, ki opisujejo vlogo beljakovin Rab v znotrajceličnem transportu. To področje še slabo raziskano, podobno kot regulacija transporta mešičkov z Rab4 in Rab5. Raziskava je potekala tako, da smo iz 2-3 dni starih podgan pripravljali primarne kulture astrocitov. Karakterizacijo endocitotskih predelkov/mešičkov smo naredili z imunocitokemičnim označevanjem. V astrocite smo z lipofekcijo vnašali rekombinantne plazmidne DNA za GDP ali GTP oblike Rab4 in Rab5. Vpliv različnih rekombinantnih beljakovin na transport in velikost endocitotskih mešičkov smo spremljali tako, da smo mešičke označili z barvilom za označevanje endolizosomalnih mešičkov (Lysotracker) ter spremljali njihovo mobilnost v času. Mobilnost mešičkov smo snemali s fluorescenčnim mikroskopom, slike imunocitokemično označenih celic pa smo zajemali s konfokalnim mikroskopom. Ugotovili smo, da v astrocitih omenjene mutante rekombinantnih oblik Rab4 in Rab5 inducirajo dejanski porast v velikosti mešičkov oz. se mešički pojavijo v skupkih nekoliko bolj centralno v celici. Mobilnost mešičkov pa mutante značilno znižajo in prav tako delež usmerjenih premikov mešičkov. Naši rezultati so v skladu s hipotezo, da spremembe v delovanju GDP/GTP stikala vplivajo tudi na molekulske interakcije, ki določajo usmerjeno premikanje mešičkov, zelo verjetno prek delovanja na molekulske motorje in citoskelet.

Hipoteza 2: Podganji astrociti izražajo več oblik beljakovine GDI, ki specifično regulirajo mobilnost endocitotskih mešičkov. V astrocitih miši z izbitim genom za α GDI je spremenjena mobilnost endocitotskih mešičkov. Za nemoteno delovanje cikla GTPaz Rab imajo ključni pomen inhibitorji disociacije (angl. Rab GDP dissociation inhibitors – GDI). Beljakovine GDI z membran v citosol vračajo GDP-vezano obliko beljakovin Rab in tako ohranjajo zalogo Rab-GDP v citoplazmi. Pri sesalcih se izražata obliki α GDI in β GDI. $GDI\alpha$, ki jo kodira gen *GDI1*, se izraža pretežno v možganovini. Recentne hipoteze predvidevajo pomembno vlogo $GDI\alpha$ pri razvoju miselnih in učnih sposobnosti človeka, npr. pri bolnikih z obliko intelektualne nezmožnosti (angl. X-linked non-specific

intellectual disability; XLID). Prav tako so ugotovili, da miši brez funkcionalnega GDI α kažejo izgubo asociativnega spomina in slabše socialno vedenje, vendar procesi, ki vplivajo na te spremembe, niso pojasnjeni. Pri teh miših so v možganovini opazili nepravilno razporejanje beljakovin Rab4 in Rab5, katerih razporejanje regulirajo tudi GDI beljakovine. Na nivoju astrocitov smo preučevali, kako utišanje ali popolna odsotnost beljakovin GDI vpliva na endosomalni transport mešičkov, na katerih se nahajata tudi Rab4 in Rab5. V literaturi so nejasni podatki o prisotnosti beljakovin GDI v astrocitih, zato smo najprej z imunocitokemičnim označevanjem in s prenosom po westernu preverili izražanje beljakovin GDI v astrocitih v kulturi. Ugotovili smo, da astrociti izražajo obe izoobliki. Z interferenčnimi RNA (siRNA) in v povezavi z analizo po westernu smo določili časovno okno utišanja genov. Najprej smo izvajali poskuse na podganjih astrocitih. Utišanje genov je bilo optimalno po treh dneh. Nato smo preučevali vpliv utišanja genov GDI na premikanje mešičkov v endolizosomalni poti. Mešičke smo označili z barvilom za označevanje kislih mešičkov (LysoTracker) ter spremljali njihovo mobilnost v času (fluorescenčni mikroskop s CCD kamero). Akutno utišanje gena GDI1, ki kodira beljakovino GDI alpha, ali pa gena GDI2, ki kodira beljakovino GDI beta, se je odražalo v zmanjšani mobilnosti mešičkov na endocitotski poti. Nekoliko večji učinek je imelo utišanje gena GDI1. Nadaljevali smo z delom na preparatu primarne kulture mišjih astrocitov, smo preučevali vpliv popolne odsotnosti izražanja gena GDI1 (na modelu živali za XLID) na transport endolizosomalnih mešičkov. Te astrocite so nam dostavili sodelavci raziskovalne skupine Div.of Neurosci., Dulbecco Telethon Institute at DIBIT, San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy, pod vodstvom dr. Patrizie D'Adamo, specialiste na področju razumevanja delovanja GTPaz Rab in efektorskih ter adaptorskih beljakovin. In sicer smo ugotovili, da je v astrocitih miši z izbitim genom za alphaGDI statistično značilno zmanjšana mobilnost endolizosomalnih mešičkov v primerjavi z astrociti divjega tipa. Merili smo prepotovano pot mešičkov, neto odmik mešičkov in usmerjenost. Vsi parametri so bili značilno nižji v celicah brez alpha GDI. V astrocite divjega tipa smo vnašali tudi plazmidni DNA (pDNA), ki kodirata mutirani beljakovini alpha GDI, ki sta bili izolirani iz bolnikov z XLID. In sicer smo v celice vnašali pDNA GDI1 L92P, ki kodira mutirano beljakovino, za katero so pokazali, da zmanjša vezavo in recikliranje mešičkov, ki nosijo Rab3A. Ali pa smo v celice vnesli pDNA GDI1, ki nosi zapis za mutacijo R423P. Pri obeh mutantah smo opazili, da je izražanje mutirane beljakovine alphaGDI zmanjšalo mobilnost endolizosomalnih mešičkov. Rezultati tega sklopa torej kažejo, da je v celicah z zmanjšanim izražanjem oz. z odsotnim alphaGDI oz. v celicah z vnešeno mutirano XLID mutirano beljakovino alpha GDI, spremenjena mobilnost endolizosomalnih mešičkov, kar verjetno prek motenega recikliranja in vnosa signalnih molekul vpliva na spremenjeno komunikacijo med astrociti in sosednjimi celicami, tudi nevroni. Naša raziskava je pomembno doprinesla tudi k razumevanju vloge oblik beljakovin GDI pri mobilnosti in lokalizaciji mešičkov v endocitotski poti astrocitov.

Hipoteza 3: TBEV vstopa v astrocite z endocitozo. Pri tej hipotezi smo preučevali vstop virusa klopnega meningoencefalitisa (angl. tick-borne encephalitis virus, TBE) v astrocite, parametrov mobilnosti mešičkov s TBE in s TBE infekcijo povezane spremembe citoskeleta in preživetje astrocitov. Virus TBE, tako kot mnogi živalski virusi, vstopa v gostiteljske celice z endocitozo. TBE je medicinsko gledano pomemben človeški patogen, ki povzroča eno izmed najnevarnejših nevroinfekcij v Evropi in Aziji. Pri nekaterih vrstah vretenčarjev, tudi pri človeku, je nevrovirulenten in prehaja skozi krvno-možgansko pregrado, ki izolira in ščiti možgane in hrbtenjačo pred nihanji hranil, hormonov, metabolitov in neposrednim delovanjem endo- ter eksogenih snovi v krvi. Po vstopu v osrednji živčni sistem (OŽS) so nevroni primarna tarča virusa, verjetno pa se predvideva, da pride do okužbe tudi drugih celic v možganih. Prav tako se malo ve, kako se različni tipi celic v OŽS odzovejo na infekcijo s. Zelo verjetno je, da se okužijo tudi astrociti, saj so najštevilčnejše celice v OŽS, prav tako pa so na eni strani njihovi izrastki v tesnem stiku z endotelijskimi celicami – ključnem delu krvno-možganske pregrade. Naša raziskava prva opisuje neposreden vstop TBE v posamezne astrocite ter kvantitativen vpliv TBE na preživetje astrocitov. Poskusi so potekali na Inštitutu za patološko fiziologijo in na Inštitutu za mikrobiologijo Univerze v Ljubljani. Preverjali smo časovno dinamiko vstopa, značilnosti mobilnosti mešičkov, ki vsebujejo TBE, ter vpliv TBE na citoskelet in preživetje

astrocitov. Razvili in optimizirali smo metodo za fluorescenčno označevanje TBE v astrocitih. Za označevanje TBE smo uspešno uporabili lipidno barvilo DiD, ki označi ovojnico virusa. Nato smo z imunocitokemičnim označevanjem fiksiiranih celic preverili način vstopa označenih virusnih delcev TBE v astrocite. Potrdili smo vstop v endosomalne predelke in ugotovili, da daljši čas infekcije vpliva na pojavnost različnih velikosti znotrajceličnih struktur s TBE in na njihovo mobilnost. Mobilnost mešičkov smo snemali s konfokalnim mikroskopom. Polega tega smo ugotovili, da infekcija s TBE specifično spremeni citoskelet, ne vpliva pa na preživetje podganjih astrocitov. Rezultati odpirajo nov pogled na razumevanje infektivnosti TBEV in ohranjanje virusa v naravi.

Učinki raziskovalnega projekta so razvidni na več ravneh, in sicer v obliki raziskovalnih člankov ter v obliki neposredne izmenjave znanja na mednarodnih srečanjih in posredovanja znanja študentom v obliki predavanj. Rezultati hipotez 1 in 3 so že objavljeni v mednarodnih revijah s faktorjem vpliva, rezultati hipoteze 2 pa so pripravljene v obliki članka in v recenziji avtorjev članka.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

V sklopu raziskave smo si zastavili tri specifične cilje: i) Preučevati vlogo beljakovin Rab4 in Rab5 pri transportu endocitotskih mešičkov in njihovo lokalizacijo v celici, ii) Ugotoviti, katere izooblike GDI izražajo astrociti (alphaGDI, betaGDI) in njihovo vlogo pri mobilnosti mešičkov, iii) Raziskovati značilnosti endocitoze virusa klopnega meningitisa (TBE) v astrocitih. V času trajanja projekta smo vse tri specifične cilje realizirali. Izvedli smo vse napovedane poskuse, pridobljene podatke analizirali in rezultate dela pripravili v obliki raziskovalnih člankov, tako kot smo napovedali v projektni prijavi. Vse tri raziskovalne hipoteze smo potrdili: i) GTPazi Rab4 in Rab5 vplivata na mobilnost mešičkov v endocitotski poti, njihovo velikost in razporeditev v celici, ii) Podganji astrociti izražajo več oblik beljakovine GDI, ki specifično regulirajo mobilnost endocitotskih mešičkov. V astrocitih miši z izbitim genom za alphaGDI je spremenjena mobilnost endocitotskih mešičkov, iii) TBEV vstopa v astrocite z endocitozo. Poleg potrjenih hipotez so se pri delu odprla dodatna vprašanja, na katera smo odgovorili in jih vključili v objavljene članke. Prav tako smo naša spoznanja vključili v pregledne znanstvene članke. Nekatero rezultate smo že predstavili na mednarodnih konferencah (predavanja in posterji). Poseben poudarek smo dali tudi na izobraževanju mladih kadrov (mladi raziskovalci in diplomanti), ki smo jih uspešno pritegnili k raziskavam na raziskovalnem projektu. Ocenjujemo, da smo vse zastavljene cilje dosegli in projektno raziskavo uspešno zaključili.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Pri raziskovalnem projektu ni prišlo do odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta. Sestava projektne skupine je ostala nespremenjena

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	29424345	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	GTPazi Rab4 in Rab5 sta pomembni za usmerjeno mobilnost endocitotskih m
		<i>ANG</i>	Rab4 and Rab5 GTPase are required for directional mobility of endocytic vesicles in astrocytes
			GTPazi Rab4 in Rab5 sta ključni za regulacijo endocitoze. Pomen njunih vlog in GTP dominantnimi mutantami beljakovin Rab4 in Rab5. Poleg lokalizacije

	Opis	SLO	Rab4 in Rab5 na zgodnjih in poznih endocitotskih predelkih, smo merili še nekatere negativni and dominantopositivni mutanti, Rab4 S22N, Rab5 S34N in Rab4 Q67L, Rab5 Q79L, so indikatori, da GTP stikala ne vplivajo samo na fuzijo med endocitozo in "recyclingom", kot
		ANG	Rab4 and Rab5 GTPases are key players in the regulation of endocytosis. Although their role has been studied intensively in the past, it is still unclear how they regulate vesicle mobility. In particular, in astrocytes, the most abundant glial cells in the brain, vesicles have been shown to exhibit nondirectional and directional mobility, which can be intermittent, but the underlying switching mechanisms are not known. By using quantitative imaging, we studied the dynamics of single vesicle movements in astrocytes in real time, by transfecting them with different GDP- and GTP-locked mutants of Rab4 and Rab5. Along with the localization of Rab4 and Rab5 on early and late endocytic compartments, we measured the apparent vesicle size by monitoring the area of fluorescent puncta and determined the patterns of vesicle mobility in the presence of wild-type and Rab mutants. Dominant-negative and dominant-positive mutants, Rab4 S22N, Rab5 S34N and Rab4 Q67L, Rab5 Q79L, induced an increase in the apparent vesicle size, especially Rab5 mutants. These mutants also significantly reduced vesicle mobility in terms of vesicle track length, maximal displacement, and speed. In addition, significant reductions in the fraction of vesicles exhibiting directional mobility were observed in cells expressing Rab4 S22N, Rab4 Q67L, Rab5 S34N, and Rab5 Q79L. Our data indicate that changes in the GDP-GTP switch apparently not only affect fusion events in endocytosis and recycling, as already proposed, but also affect the molecular interactions determining directional vesicle mobility, likely involving motor proteins and the cytoskeleton. (c) 2012 Wiley Periodicals, Inc.
	Objavljeno v	A.R. Liss; Glia; 2012; Vol. 60, issue 4; str. 594-604; Impact Factor: 5.066; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.574; A': 1; WoS: RU; Avtorji / Authors: Potokar Maja, Lacovich Valentina, Chowdhury Haque Helena, Kreft Marko, Zorec Robert	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	30488537	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Ekscitabilnost astroglia in prenos gliotransmiterjev: ocena signalne poti prek Ca ^[sup] 2+
		ANG	Astroglial excitability and gliotransmission: an appraisal of Ca ^[sup] 2+ as a signalling route
	Opis	SLO	Celice astroglije imajo pasivne električne lastnosti, zato se je dolgo časa domnevalo, da v dinamiko esocitoze v astrocitih so vključene različne komponente na membrani. Vpliva tudi na motnje v delovanju nevronov, kot je npr. epilepsija. Namen tega preglednega članka je osvetliti novejšo ugotovitve o signaliziranju gliotransmisije.
		ANG	Astroglial cells, due to their passive electrical properties, were long considered subservient to neurons and to merely provide the framework and metabolic support of the brain. Although astrocytes do play such structural and housekeeping roles in the brain, these glial cells also contribute to the brain's computational power and behavioural output. These more active functions are endowed by the Ca ²⁺ -based excitability displayed by astrocytes. An increase in cytosolic Ca ²⁺ levels in astrocytes can lead to the release of signalling molecules, a process termed gliotransmission, via the process of regulated exocytosis. Dynamic components of astrocytic exocytosis include the vesicular-plasma membrane secretory machinery, as well as the vesicular traffic, which is governed not only by general cytoskeletal elements but also by astrocyte-specific IFs (intermediate filaments). Gliotransmitters released into the ECS

			(extracellular space) can exert their actions on neighbouring neurons, to modulate synaptic transmission and plasticity, and to affect behaviour by modulating the sleep homeostat. Besides these novel physiological roles, astrocytic Ca ²⁺ dynamics, Ca ²⁺ -dependent gliotransmission and astrocyt-neuron signalling have been also implicated in brain disorders, such as epilepsy. The aim of this review is to highlight the newer findings concerning Ca ²⁺ signalling in astrocytes and exocytotic gliotransmission. For this we report on Ca ²⁺ sources and sinks that are necessary and sufficient for regulating the exocytotic release of gliotransmitters and discuss secretory machinery, secretory vesicles and vesicle mobility regulation. Finally, we consider the exocytotic gliotransmission in the modulation of synaptic transmission and plasticity, as well as the astrocytic contribution to sleep behaviour and epilepsy.
	Objavljeno v	Portland Press; ASN neuro; 2012; Vol. 4, iss. 2; str. 103-119; Impact Factor: 3.638; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.574; WoS: RU; Avtorji / Authors: Zorec Robert, Araque Alfonso, Carmignoto Giorgio, Haydon Philip G., Verkhratsky Alexei, Parpura Vladimir	
	Tipologija	1.02 Pregledni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	30620377	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Mobilnost astrocitnih mešičkov v normalnih in patoloških razmerah
		ANG	Astrocytic vesicle mobility in health and disease
	Opis	SLO	Astroцити so celice glije, ki imajo aktivno vlogo pri delovanju nevronov in pri trifosfat, atrijski natriuretični peptid), (ii) izmenjavo transporterev in recept II) na plazmalemi in (iii) vpletenost v mobilnost mešičkov, ki nosijo vodne k
		ANG	Astrocytes are no longer considered subservient to neurons, and are, instead, now understood to play an active role in brain signaling. The intercellular communication of astrocytes with neurons and other non-neuronal cells involves the exchange of molecules by exocytotic and endocytotic processes through the trafficking of intracellular vesicles. Recent studies of single vesicle mobility in astrocytes have prompted new views of how astrocytes contribute to information processing in nervous tissue. Here, we review the trafficking of several types of membrane-bound vesicles that are specifically involved in the processes of (i) intercellular communication by gliotransmitters (glutamate, adenosine 5'-triphosphate, atrial natriuretic peptide), (ii) plasma membrane exchange of transporters and receptors (EAAT2, MHC-II), and (iii) the involvement of vesicle mobility carrying aquaporins (AQP4) in water homeostasis. The properties of vesicle traffic in astrocytes are discussed in respect to networking with neighboring cells in physiologic and pathologic conditions, such as amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, and states in which astrocytes contribute to neuroinflammatory conditions.
	Objavljeno v	Molecular Diversity Preservation International MDPI; International journal of molecular sciences; 2013; Vol. 14, iss. 6; str. 11238-11258; Impact Factor: 2.339; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.395; Avtorji / Authors: Potokar Maja, Vardjan Nina, Stenovec Matjaž, Gabrijel Mateja, Trkov Saša, Jorgačevski Jernej, Kreft Marko, Zorec Robert	
	Tipologija	1.02 Pregledni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	31163353	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Infekcija astrocitov z virusom klopnega meningitisa ne vpliva na viabilnost astrocitov
		ANG	Tick-borne encephalitis virus infects rat astrocytes but does not affect their viability
			Ljudem v Evropi in Aziji predstavlja virus klopnega encefalitisa (TBEV) eno

Opis	SLO	od najbolj nevarnih možganskih vnetij. Za infekcijo nevronov mora virus prečkati krvno-možgansko pregrado (KMP) in celice, ki ležijo med KMP in nevroni. Ene od najpomembnejših celic, ki ločujejo nevrone od KMP so astrociti, najštevilčnejše celice glije. O virusnih infekcijah astrocitov še ni veliko znanega, zato smo raziskali, če TBEV inficira podganje astrocite. Podgane predstavljajo naravni rezervoar in enega od gostiteljev TBEV. Vstop virusa TBEV v astrocite, mobilnost TBEV v citoplazmi, vlogo citoskeleta in viabilnost astrocitov po infekciji smo spremljali z visokoločljivostno fluorescenčno mikroskopijo. Število TBEV v citoplazmi in njihova mobilnost sta se povečevali s časom izpostavljenosti astrocitov virusu TBEV. Večdnevna infekcija astrocitov s TBEV je vplivala na aktinski citoskelet, ni pa vplivala na viabilnost teh celic. Ti rezultati so skladni z objavljenimi raziskavami na ostalih sesalskih celicah. Zaključili smo, da lahko podganji astrociti predstavljajo pomemben naravni rezervoar virusa TBEV.	
	ANG	Tick-borne encephalitis virus (TBEV) causes one of the most dangerous human neuroinfections in Europe and Asia. To infect neurons it must cross the blood-brain-barrier (BBB), and presumably also cells adjacent to the BBB, such as astrocytes, the most abundant glial cell type. However, the knowledge about the viral infection of glial cells is fragmental. Here we studied whether TBEV infects rat astrocytes. Rats belong to an animal group serving as a TBEV amplifying host. We employed high resolution quantitative fluorescence microscopy to investigate cell entry and cytoplasmic mobility of TBEV particles along with the effect on the cell cytoskeleton and cell survival. We report that infection of astrocytes with TBEV increases with time of exposure to TBEV and that with post-infection time TBEV particles gained higher mobility. After several days of infection actin cytoskeleton was affected, but cell survival was unchanged, indicating that rat astrocytes resist TBEV-mediated cell death, as reported for other mammalian cells. Therefore, astrocytes may present an important pool of dormant TBEV infections and a new target for therapeutic intervention.	
	Objavljeno v	Public Library of Science; PloS one; 2014; Vol. 9, iss. 1; Impact Factor: 3.534; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.663; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Potokar Maja, Korva Miša, Jorgačevski Jernej, Avšič-Županc Tatjana, Zorec Robert	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
5.	COBISS ID	31509209	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	RabGTPaze in Rab vezavni proteini in njihova vloga pri uravnavanju kognitivnih funkcij	
	ANG	RAB GTPases and RAB-interacting proteins and their role in the control of cognitive functions	
Opis	SLO	Vloga RabGTPaz, majhnih monomernih G proteinov, se nakazuje kot ključna pri uravnavanju nastajanja, usmerjanju transporta in fuzije mešičkov s plazemsko membrano. Raziskave človeškega genoma so privedla do usmerjenih biokemijskih raziskav v katerih so bili narejeni ključni koraki za razumevanje delovanja Rab GTPaz in njihovih efektorskih proteinov na razvoj nevronov in kognitivne funkcije. V tem preglednem članku so predstavljene osnovni pojmi za razumevanje kognitivnih motenj in možna umestitev Rab GTPaz pri membranskem transportu v nevronih in astrociti.	
	ANG	A RAS-related class of small monomeric G proteins, the RAB GTPases, is emerging as of key biological importance in compartment specific directional control of vesicles formation, transport and fusion. Thanks to human genetic observation and to the consequent dedicated biochemical work, substantial progress has been made on the understanding of the role played by RAB GTPases and their effector proteins on neuronal	

		development and the shaping of cognitive functions. This review is highlighting these initial elements to broaden the current scope of research on developmental cognitive deficits and take the point of view of RAB GTPases control on membrane transport in neurons and astrocytes.
Objavljeno v		Pergamon; Neuroscience and Biobehavioral Reviews; 2014; Vol. 46, par. 2; str. 302-314; Impact Factor: 10.284; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.35; A'': 1; A': 1; WoS: CN, RU; Avtorji / Authors: D'Adamo Patrizia, Masetti Michela, Bianchi Veronica, More Lorenzo, Mignogna Maria Lidia, Giannandrea Maila, Gatti Silvia, Tancredi Raffaella
Tipologija	1.02	Pregledni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	28760793
		Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Uravnavana eksocitoza in mobilnost mešičkov v astrocitih
		ANG Regulated exocytosis and vesicle traffic in astrocytes
	Opis	SLO Astrociti, celice glije, ki jih je po številu več kot nevronov, kumunicirajo z nevroni in pomembno integrirajo delovanje nevronov. Sekretorna aktivnost astrocitov smo proučevali z elektrofiziološkimi in optičnimi metodami, mobilnost različnih tipov mešičkov pa s konfokalno mikroskopijo. Ugotovitve so bile predstavljene raziskovalcem, ki se ukvarjajo s podobno tematiko, z namenom posredovanja recentnih znanj in prispevka k napredku znanosti na tem področju.
		ANG Astrocytes, glial cells which outnumber neurons, communicate with neurons and represent integrators in the brain function. We studied the secretory activity of astrocytes by electrophysiological and optical methods and vesicle mobility with confocal microscopy. Our findings were communicated to the researchers who work in familiar fields with the purpose to advance science in the field of research.
	Šifra	F.18 Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)
	Objavljeno v	University, The Biophysical Society of China; Program and abstracts; 2011; Str. 24; Avtorji / Authors: Potokar Maja, Stenovec Matjaž, Chowdhury Haque Helena, Vardjan Nina, Gabrijel Mateja, Erdani-Kreft Mateja, Trkov Saša, Zorec Robert, Kreft Marko
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
2.	COBISS ID	29542617
		Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Nova metoda (platforma) za iskanje biološko aktivnih molekul, za ocenjevanje kakovosti celic za celične terapije in za nadzor kakovosti pridelave rekombinantnih proteinov na podlagi analize mobilnosti znotrajceličnih organelov v povezavi z bolezenskimi stanji
		ANG The new platform for survey of biologically active molecules suitable for ass proteins on the basis intracelullar organelles mobility analysis in relation to disease states
		Predloženi izum predstavlja platformo, ki vključuje in vitro celične sisteme, metode in standard za manipulacijo in/ali analizo znotrajcelične mobilnosti celičnih organelov, pomembne za razumevanje temeljnih celičnih procesov kot tudi za uporabo celic v medicinske in biotehnoške namene. Novost predloženega izuma je kombinacija pristopov, ki obsegajo: i) metodo spremljanja dinamike znotrajceličnih organelov za

Opis	SLO	iskanje biološko aktivnih substanc (npr. sestavine serumov, cerebrospinalne tekočine ter druge biološko aktivne anorganske ali organske molekule in njihove mešanice), ii) metodo za določanje kakovosti celic za napredne celične terapije in iii) metodo za ocenjevanje in nadzor kakovosti pridelave rekombinantnih proteinov znotraj evkariontskih celic v povezavi z mobilnostjo znotrajceličnih organelov. Ta izum predstavlja tudi podlago za proučevanje učinkov različnih farmacevtskih učinkovin za zdravljenje/modulacijo nekaterih patoloških stanj, ki zadevajo medcelično komunikacijo ter s tem povezano mobilnost in dinamiko znotrajceličnih organelov.	
	ANG	The present innovation represents a platform comprising in vitro cell systems, methods and the standard compound for manipulation and/or monitoring of subcellular organelle traffic, important for the understanding of the fundamental cellular processes as well as for the applications in advanced approaches in medicine, biotechnology, pharmaceutical industry and other related fields. The innovation and novelty of the proposed patent application is the combination (platform) of approaches, consisting of the i) method for monitoring subcellular organelle dynamics to screen for biologically active substances (i.e. constituents of sera, cerebrospinal fluid and other biologically relevant small inorganic and organic substances and mixtures of these), ii) method for the determination of the quality of cells destined to be used in advanced medical therapies and iii) method for assaying and controlling the production of recombinant proteins within eukaryotic cells, in relation to organelle traffic. The invention offers the basis for the development and optimization of different pharmacologically relevant compounds for the treatment/modulation of pathological states, associated with the intercellular communication and hence with subcellular organelle traffic.	
Šifra	F.33 Patent v Sloveniji		
Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2011; 14 str.; Avtorji / Authors: Zorec Robert, Stenovec Matjaž, Trkov Saša, Vardjan Nina, Potokar Maja, Kreft Marko, Gabrijel Mateja, Jorgačevski Jernej		
Tipologija	2.23 Patentna prijava		
3.	COBISS ID	29708249	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Usmerjena mobilnost endocitotskih mešičkov v astrocitih je regulirana z molekulskim stikalom GTPaz Rab4 in RAab5	
	ANG	Rab4 and Rab5 GTPase switch is required for directional mobility of endocytic vesicles in astrocytes	
Opis	SLO	GTPazi Rab4 in Rab5 sta ključni molekuli pri regulaciji endocitoze. Njuna neposredna vloga pri mobilnosti potovanja mešičkov po celici ni podrobno raziskana. Npr. v astrocitih, najštevilčnejših celicah glije v možganih, je bilo pokazano, da se mešički po clici premikajo izmenjujoče usmerjeno in neusmerjeno, vendar natančni mehanizmi takega premikanja niso bili raziskani. Z uporabo naprednih tehnik mikroskopije smo študirali dinamiko premikov posameznih mešičkov v astrocitih v realni Rab4 in Rab5. Poleg preverjanja lokalizacije Rab4 in Rab5 na zgodnjih in poznih endocitotskih predelkih, smo posredno izmerili velikost mešičkov in izračunali vzorce mobilnosti v prisotnosti vnešenih rekombinantnih beljakovin Rab (WT in mutant). Dominantno negativne in dominantno pozitivne mutante b4 S22N, Rab5 S34N ter Rab4 Q67L in Rab5 Q79L, so inducirale povečanje v navidezni velikosti mešičkov, predvsem mutante Rab5. Te mutante so tudi značilno znižale mobilnost mešičkov (prepotovana pot mešičkov, prepotovana razdalja, odmiki in hitrost). V celicah, ki so izražale mutante, je bil značilno nižji delež usmerjenih premikov mešičkov. Tako naši rezultati kažejo, da spremembe, ki vplivajo	

		na delovanje molekulskega stikala GDPGTP ne vplivajo samo na fuzijo mešičkov pri endocitozi in recyclingu, kot je že bilo ugotovljeno, ampak tudi na molekulske interakcije, ki določajo usmerjeno premikanje mešičkov. Delujejo pa verjetno prek motornih beljakovin in citoskeleta.
	ANG	Rab4 and Rab5 GTPases are key players in the regulation of endocytosis. Although their role has been studied intensively in the past, it is still unclear how they regulate vesicle mobility. In particular, in astrocytes, the most abundant glial cells in the brain, vesicles have been shown to exhibit nondirectional and directional mobility, which can be intermittent, but the underlying switching mechanisms are not known. By using quantitative imaging, we studied the dynamics of single vesicle movements in astrocytes in realtime, by transfecting them with different GDP and GTPlocked mutants of Rab4 and Rab5. Along with the localization of Rab4 and Rab5 on early and late endocytic compartments, we measured the apparent vesicle size by monitoring the area of fluorescent puncta and determined the patterns of vesicle mobility in the presence of wild type and Rab mutants. Dominantnegative and dominantpositive mutants, Rab4 S22N, Rab5 S34N and Rab4 Q67L and Rab5 Q79L, induced an increase in the apparent vesicle size, especially Rab5 mutants. These mutants also significantly reduced vesicle mobility in terms of vesicle track length, maximal displacement and speed. In addition, significant reductions in the fraction of vesicles exhibiting directional mobility were observed in cells expressing Rab4 S22N, Rab4 Q67L, Rab5 S34N and Rab5 Q79L. Our data indicate that changes in the GDPGTP switch apparently not only affect fusion events in endocytosis and recycling, as already proposed, but also affect the molecular interactions determining directional vesicle mobility, likely involving motor proteins and the cytoskeleton.
Šifra	F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)
Objavljeno v	American Society for Neurochemistry; 43rd Annual Meeting Transactions of the American Society for Neurochemistry, Baltimore, 03-07, 2012; 2012; Str. 85; Avtorji / Authors: Potokar Maja, Lacovich Valentina, Chowdhury Haque Helena, Kreft Marko, Zorec Robert	
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
4.	COBISS ID	30886617 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Transport mešičkov v zdravju in bolezni: vloga intermediarnih filamentov v astrocitih
		ANG Vesicle traffic in health and disease
	Opis	SLO V astrocitih, kot tudi v drugih evkariontskih celicah, imajo mešički pomembne celične vloge, kot so ohranjanje strukture plazmaleme in medcelična komunikacija. Transport mešičkov je povezan tudi z morfologijo površine celice prek ustvarjanja mikrodomen. Te določajo potencial signaliziranja in metabolno podporo sosednjih celic. Iz mešičkov pa se iz astrocitov sproščajo tudi kemični prenašalci. V predavanju so povzete lastnosti z membrano obdanih mešičkov, ki shranjujejo gliotransmitterje (glutamat, adozin 5'trifosfat, peptide), endocitotskih mešičkov, ki transportirajo receptorje plazmaleme (npr. glavni histokompatibilni kompleks II), mešičkov, ki transportirajo vodni kanalček akvaporin 4 in mešičkov, ki nosijo ekscitatorni animokislinski transporter EAAT2. Dinamika mešičkov je odvisna tudi od intermediarnih filamentov in spremenjena dinamika mešičkov je lahko povezana tudi z boleznimi, kot so amiotrofna lateralna skleroza, multipla skleroza, avtizem, Alzheimerjeva bolezen, travma, edemi in stanja, ki prispevajo k vnetju v živčnem sistemu. Npr. fingolimod, novo zdravilo za multiplo skleroza, zelo verjetno vpliva na transport mešičkov in sproščanje

		gliotransmiterjev iz astrocitov, kar indicira, da bi lahko bil transport mešičkov nova tarča za razvoj novih terapij.
	ANG	In astrocytes, as in other eukaryotic cells, vesicles have key cellular functions including constitutive housekeeping of the plasma membrane structure and cell-to-cell communication. On the one hand, vesicle traffic is associated with cell surface morphology exhibiting distinct glial microdomains. These determine the signaling potential and metabolic support for neighboring cells. On the other hand, vesicles are used in astrocytes for the release of vesicle-laden chemical messengers. This lecture will address the properties of membrane-bound vesicles that store gliotransmitters (glutamate, adenosine 5'-triphosphate (ATP), peptides), other recycling vesicles, and endocytotic vesicles that are involved in the traffic of plasma membrane receptors such as the class II major histocompatibility molecules (MHCII) and membrane transporters (aquaporin 4 (AQP4) and excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2)). Vesicle dynamics greatly depends on intermediate filaments therefore one has to consider that altered vesicle dynamics may be associated with the diseases such as amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, autistic disorders, Alzheimer's disease, trauma, edema, and states in which astrocytes contribute to neuroinflammation. In multiple sclerosis, for example, fingolimod, a recently introduced drug, apparently also affects vesicle traffic and gliotransmitter release from astrocytes, indicating that this process may well be used as a new physiologic target for the development of new therapies.
	Šifra	B.04 Vabljeno predavanje
	Objavljeno v	[s. n.]; Program - ESIFB 2013 - Nanonet; 2013; Str. 22; Avtorji / Authors: Vardjan Nina, Potokar Maja, Stenovec Matjaž, Jorgačevski Jernej, Trkov Saša, Kreft Marko, Zorec Robert
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
5.	COBISS ID	30887129 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Mobilnost MHC II predelkov v IFN[gamma] aktiviranih astrocitih je odvisen od intermediarnih filamentov
		ANG The mobility of MHC class II compartments in IFN-[gamma] activated astrocytes depends on intermediate filaments
	Opis	SLO Pri imunoloških boleznih osrednjega živčnega sistema se v astrocitih, ki so izpostavljeni interferonu gama (IFN γ), na površini izražajo molekule glavnega histokompatibilnega kompleksa II (MHC II) in antigeni. Molekule MHC II prispejo do površine celice z mešički. Lastnosti in dinamika tega transporta so slabo poznani, še posebej v reaktivnih astrocitih, v katerih pride do povečane ekspresije beljakovin intermediarnih filamentov (IF), kar lahko vpliva na transport mešičkov. Namen raziskave je bil opisati mobilnost mešičkov z MHC II molekulami v astrocitih divjega tipa in v astrocitih, ki ne izražajo IF. Identiteta predelkov z MHC II molekulami v astrocitih divjega tipa in v astrocitih brez IF je bila raziskana 48 ur po aktivaciji celic z IFN γ , in sicer z imunocitokemijo in konfokalno mikroskopijo. Rezultati so pokazali, da je aktivacija celic z IFN γ inducirala izražanje MHC II v poznih endosomih/lisosomih (označeni z Alexa Fluor546konjugiranimi dekstrani). Mešički, označeni z dekstrani, so bili hitrejši v celicah aktiviranih z IFN γ . V astrocitih brez IF so bili mešički počasnejši kot v astrocitih divjega tipa. Reaktivnost astrocitov je znak številnih patologij osrednjega živčnega sistema, zato lahko povečano izražanje IF v takih razmerah omogoči hitrejšo dostavo molekul MHC II na površino celice.
		In immunemediated diseases of the central nervous system (CNS), astrocytes exposed to interferony (IFN γ) express major

	ANG	<p>histocompatibility complex (MHC) class II molecules and antigens on their surface. MHC class II molecules are thought to be delivered to the cell surface by membranebound vesicles. However, the characteristics and dynamics of this vesicular traffic are unclear, particularly in reactive astrocytes, which overexpress intermediate filament (IF) proteins that may affect trafficking. The aim of this study was to determine the mobility of MHC class II vesicles in wildtype (WT) astrocytes and in astrocytes devoid of IFs. The identity of MHC class II compartments in WT and IFdeficient astrocytes 48 h after IFNγ activation was determined immunocytochemically by using confocal microscopy. Timelapse confocal imaging and Alexa Fluor546dextran labeling of late endosomes/lysosomes in IFNγ treated cells was used to characterize the motion of MHC class II vesicles. Confocal imaging of primary cultures of WT and IFdeficient astrocytes revealed IFNγ induced MHC class II expression in late endosomes/lysosomes, which were specifically labeled with Alexa Fluor546conjugated dextran. Live imaging revealed faster mobility of dextranpositive vesicles in IFNγtreated versus the untreated astrocytes. Vesicle mobility was reduced in IFNγ-treated IFdeficient astrocytes in comparison with WT astrocytes. Thus, the IFNγ induced increase in the mobility of MHC class II compartments is IFdepende Since reactivity of astrocytes is a hallmark of many CNS pathologies, it is likely that the upregulation of IFs under such conditions allows a faster and therefore a more efficient delivery of MHC class II molecules to the cell surface.</p>
Šifra	B.06	Drugo
Objavljeno v	[s. n.]; Program - ESIFB 2013 - Nanonet; 2013; Str. 74; Avtorji / Authors: Vardjan Nina, Gabrijel Mateja, Potokar Maja, Kreft Marko, Pekny Milos, Zorec Robert	
Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^z

--

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine^s

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Naša raziskava je bila osredotočena na preučevanje astrocitov, najpogostejših celic gljive v možganih sesalcev in zelo pomembnih za delovanje nevronov. Vlogo astrocitov smo preučevali s stališča regulacije endocitoze in vračanja z membrano obdanih mešičkov na plazmalemo. Vedno več raziskav ugotavlja vpletenost okvare transporta mešičkov pri številnih boleznih, predvsem nevrodegenerativnih boleznih osrednjega živčnega sistema in tudi kognitivnih motnjah. Večina raziskav do sedaj je bila osredotočena na nevrone. Astroцити pomembno oskrbujejo nevrone, vplivajo pa tudi na njihovo diferenciacijo in sinaptični prenos. S tega stališča je pomembno preučiti, v kakšnih razmerah je transport mešičkov v njih spremenjen in kako se to odraža na delovanju nevronov. Naša raziskava je pokazala, da je endolizosomski transport zmanjšan v prisotnosti okvarjenih endosomskih GTPaz Rab4 in Rab5 ter njihove regulacijske beljakovine GDI, mutacije katere so odkrili pri eni izmed oblik sindroma intelektualne nezmožnosti, ki je kar pogosta. Raziskava predstavlja pomemben korak pri ugotavljanju povezav med okvarami endolizosomskega transporta v astrocitih in nepravilnosti pri delovanju in preživetju nevronov. Poleg tega lahko nevrotrpni virusi, ki vstopajo v celice prek endosomskih predelkov, tudi vplivajo na njihove celične procese. Poleg nevronov, lahko

okužijo tudi druge celice v osrednjem živčnem sistemu, tudi astrocite. Naša raziskava o dinamičnem spremljanju okužbe s TBE na živih astrociti je prva te vrste. Pokazali smo, da virusi vplivajo na dinamiko endolizosomanih mešičkov, in da ne vplivajo na preživetje podganjih astrocitov, kar je v skladu z novo paradigmo o rezervoarju TBE v možganih glodalcev.

ANG

In the focus of our research were astrocytes, the most abundant glial cells in the mammalian brain which have the crucial role for the functioning of neurons. The role of astrocytes was studied from the perspective of the regulation of endocytosis and recycling of membrane bound vesicles. From a growing number of studies in recent years emerged hypotheses about the connection between the impaired vesicle transport in several diseases, especially in the neurodegenerative diseases of the central nervous system (CNS) and cognitive disabilities. Until now the studies were focused to neurons, the key players in the CNS. On the other hand, astrocytes represent neuronal supportive cells and affect their differentiation and synaptic transmission. From this point of view it is of utmost importance to study which circumstances affect vesicle trafficking in astrocytes and how is this related to the functioning of neurons. Our research have revealed that endolysosomal transport is impaired in the presence of defective endosomal Rab4 and Rab5 GTPases and their regulatory protein GDI, which mutations were identified in a form of intellectual disability syndrome, a quite common disability. The research represents an important step in the identification of the connections between impairments of endolysosomal transport in astrocytes and irregularities in neuronal functioning and survival. Additionally, the neurotropic viruses that enter cells via endocytotic compartments, can affect cellular processes. Beside neurons they can infect other CNS cells, including astrocytes. In our research, the first of this kind, we monitored the dynamics vesicular changes in TBE infected live astrocytes. We have shown that virus affected the dynamics of endolysosomal movements and at the same time did not affect the survival of rat astrocytes, which places the results in the support of the new paradigm about the rodent brain representing the possible TBE reservoir.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

- Ugotovitve bazičnih znanstvenih raziskav na področju celične fiziologije predstavljajo pomembne temelje za pridobivanje bolj celostne slike o delovanju tkiv in organov v normalnih fizioloških razmerah in bolezenskih stanjih. Poleg tega so odlična platforma za izdelavo o izboljšanih načinih diagnostike in izdelavi bolj tarčnih zdravil. Novi patenti in zdravila so pomembne stopnje razvoja vsake države.

- Objave rezultatov v znanstvenih revijah z visokim faktorjem vpliva in udeležba na mednarodnih srečanjih povečujejo prepoznavnost Univerze v Ljubljani in Slovenije.

- Projekt vsebuje pomembno temo raziskovanja in raziskovalci projektne skupine so pridobili tudi na izobraževalnem področju. Prav tako so se v raziskovanju te problematike ustrezno izobraževali tudi mlajši raziskovalci, študenti. Raziskovalni projekt je poleg večje prepoznavnosti članov programske skupine v znanstvenih krogih, pripomogel tudi pri navezovanju stikov z mednarodno mrežo raziskovalcev, kar je pomembno za nadaljni razvoj, tako posameznikov kot skupine in države.

ANG

- Basic scientific research in field of cell physiology helps to highlight the grand picture in the functioning of tissues and organs in the normal physiologic conditions and in human diseases and disabilities. In also represents the platform for the evolving the improved diagnostics and the development of more specific target drugs. Innovations and drugs are important development steps of every country.

- The publishing of the research findings in the outstanding scientific journals with high impact factors and the attendance of international symposia increase the recognition of the University of Ljubljana and in Slovenia.

- The research in the hot-topic field importantly adds to the educational level of the researchers in the project group and secondary, also of younger researchers and students. The research project increased the recognisability of the research group members in scientific circles and contributed to the development of further research plans with the recognised international researcher worldwide. This is of utmost importance for increasing the prestige of the research group, their members and the country.

10.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	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

11.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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
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	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.07.04.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	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			

13.Izjemni dosežek v letu 2014¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Izjemen dosežek v zvezi z raziskavami na projektu je odkritje , da se ob infekciji možganov virus TBEV kopiči v astrocitih tako, da te celice preživijo. Astrociti tako predstavljajo rezervar za ta virus, ki pomembno vpliva na obolevnost v Evropi.
--

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

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:

CELICA, biomedicinski center, d.o.o.

Robert Zorec

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	4.3.2015
-----------	----------

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/42

- ¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)
- ² 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](#)
- ³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)
- ⁴ 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](#)
- ⁵ 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](#)
- ⁶ 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](#)
- ⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)
- ⁸ 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](#)
- ⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹¹ Rubrike izpolnite / prepišite 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](#)
- ¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (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/2015 v1.00a
40-A6-DB-1B-9F-1A-78-DF-30-2C-12-83-70-0B-4D-D5-A6-68-C3-A9

Priloga 1



celica biomedical

Transforming key medical challenges into opportunities

Projekt J3 4051: Izjemni dosežek

[PLOS One](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086219). 2014 Jan 20;9(1):e86219.

doi: [10.1371/journal.pone.0086219](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086219). eCollection 2014.



Tick-Borne Encephalitis Virus Infects Rat Astrocytes but Does Not Affect Their Viability

Maja Potokar^{1,2}, Miša Korva³, Jernej Jorgačevski^{1,2}, Tatjana Avšič-Županc^{3,*}, Robert Zorec^{1,2,*}

1 Celica Biomedical Center, Ljubljana, Slovenia, **2** Laboratory of Neuroendocrinology – Molecular Cell Physiology, Institute of Pathophysiology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia, **3** Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Abstract

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) causes one of the most dangerous human neuroinfections in Europe and Asia. To infect neurons it must cross the blood-brain-barrier (BBB), and presumably also cells adjacent to the BBB, such as astrocytes, the most abundant glial cell type. However, the knowledge about the viral infection of glial cells is fragmental. Here we studied whether TBEV infects rat astrocytes. Rats belong to an animal group serving as a TBEV amplifying host. We employed high resolution quantitative fluorescence microscopy to investigate cell entry and cytoplasmic mobility of TBEV particles along with the effect on the cell cytoskeleton and cell survival. We report that infection of astrocytes with TBEV increases with time of exposure to TBEV and that with post-infection time TBEV particles gained higher mobility. After several days of infection actin cytoskeleton was affected, but cell survival was unchanged, indicating that rat astrocytes resist TBEV-mediated cell death, as reported for other mammalian cells. Therefore, astrocytes may present an important pool of dormant TBEV infections and a new target for therapeutic intervention.

Citation: Potokar M, Korva M, Jorgačevski J, Avšič-Županc T, Zorec R (2014) Tick-Borne Encephalitis Virus Infects Rat Astrocytes but Does Not Affect Their Viability. *PLoS ONE* 9(1): e86219. doi:[10.1371/journal.pone.0086219](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086219)