

## Abstrakt a klíčová slova

Ubikvitin-proteazomální systém (UPS) je specificky regulovaná dráha degradace proteinů. Inhibice komponentů UPS může představovat budoucnost léčení lidských nemocí, zejména rakoviny. Modulace UPS však může být i užitečným nástrojem základního výzkumu. Práce se zabývá dvěma nezávislými, avšak metodologicky propojenými, výzkumnými cíli – prvním cílem je hledání substrátu UPS inhibitoru CBU79 a druhým cílem je vývoj buněčného reportérového systému pro sledování aktivity proteáz založený na proteinové degradaci. V první části práce jsme potvrdili dřívější poznatky mechanismu inhibice UPS. Dále jsme pomocí metabolického značení proteinů založeného na click chemii zkoumali, jak UPS inhibitor CBU79 ovlivňuje syntézu proteinů. Analyzovali jsme též cytotoxicitu inhibitoru CBU79 na různých buněčných liniích. Nakonec jsme provedli celogenomové testování pomocí technologie CRISPR/Cas9 s cílem nalezení substrátu tohoto inhibitoru. Zjistili jsme, že inhibitor CBU79 negativně ovlivňuje syntézu proteinů pravděpodobně přes signalizaci buněčné odpovědi na špatně sbalené proteiny. Pomocí tohoto testování jsme našli 22 možných cílů inhibitoru, které budou ověřeny v dalších pracích. Ve druhé části práce jsme využili znalosti UPS k navržení neinfekční reportérové buněčné eseje, která měří aktivitu proteázy. Esej využívá žlutý fluorescenční protein (YFP) s krátkou životností, který je cílem UPS díky degradačnímu signálu na jeho N-konci. Reportér obsahuje štěpné místo pro Zika proteázu mezi YFP a degradačním signálem. Pokud je proteáza aktivní, degradační signál je odštěpen a YFP stabilizován. Celkem jsme vytvořili, otestovali a optimalizovali 21 reportérových variant a našli vhodné nastavení eseje pro budoucí testování inhibitorů. V souhrnu, jak nový inhibitor UPS, tak buněčné eseje pro nalezení inhibitorů Zika proteázy mohou být využity jako slibné strategie k léčbě lidských onemocnění.

**Klíčová slova:** Ubikvitin-proteazomální systém, flavivirové proteázy, Zika virus, inhibice, fluorescenční proteiny