

Abstrakt:

Replikační cyklus polyomavirů je stejně jako u ostatních virů zcela závislý na hostitelských buňkách. Pro viry je důležitý nejen buněčný replikační a translační aparát, ale virovou infekci ovlivňují také další buněčné proteiny. Tato práce se zabývá rolí hlavní cytoplazmatické deacetylázy histon deacetylázy 6 (HDAC6) v replikačním cyklu myšího polyomaviru (MPyV). Podařilo se nám prokázat, že přítomnost plně funkční HDAC6 je nezbytná pro úspěšnou a produktivní infekci. Zjistili jsme, že HDAC6 ovlivňuje jak časnou, tak i pozdní fáze infekce. Při inhibici, či úplné absenci tohoto proteinu v buňkách je MPyV infikuje s menší efektivitou a zároveň při infekci vzniká méně infekčního virového potomstva. Naopak při využití buněk s částečně funkční HDAC6 schopnou buď deacetylace či vazby ubiquitinu se schopnost MPyV infikovat tyto buňky zvyšuje. Analýzou hladin časného LT antigenu a pozdního strukturního proteinu VP1 jsme prokázali, že HDAC6 ovlivňuje jejich hladiny v infikovaných buňkách. Naše data také naznačují, že v replikačním cyklu MPyV je vyžadována přítomnost především ubiquitin-vazebné domény HDAC6 a s ní spojená funkce v metabolismu a degradaci virových a buněčných proteinů.

V druhé části diplomového projektu jsme se zaměřili na přípravu expresních plazmidů nesoucích časnou genovou oblast kódující tumorogenní antigeny myšího polyomaviru a lidského BK polyomaviru. Také se nám podařilo připravit linii lidských ledvinných buněk RPTEC/hTERT1 s delecí HDAC6 pomocí systému CRISPR/Cas9. Po detailnější charakterizaci pak tato linie může společně s expresními plazmidy sloužit ke studiu role HDAC6 v nádorové transformaci indukované polyomaviry.

Klíčová slova: histon deacetyláza 6, HDAC6, polyomavirus, replikační cyklus, virové proteiny, deacetylace