

Interakce polyomavirů s proteazomálním systémem hostitelských buněk

Abstrakt:

Virová čeleď *Polyomaviridae* obsahuje mimo modelových virů - myšího polyomaviru a viru SV40 také lidské patogeny, mezi něž patří i virus BK. Polyomaviry jsou malé viry, jejichž kapsida není obalená a jako genom nesou dvouřetězcovou molekulu DNA. Porozumění jejich životnímu cyklu je nezbytné pro jejich využití v genové terapii nebo imunoterapii stejně jako pro prevenci či léčbu jimi způsobených komplikací. Tato diplomová práce je zaměřena na studium časně fáze infekce MPyV a viru SV40, tedy hlavně na dopravu virového genomu do jádra a roli proteazomálního systému hostitelských buněk v této fázi. Bylo zjištěno, že blokáce proteazómů specifickým inhibitorem vede ke zvýšení exprese časného nestrukturního proteinu LT, který byl zvolen jako marker vstupu viru do jádra a úspěšné virové exprese. Sledování vzájemné lokalizace proteazómů a proteinu VP1 MPyV a viru SV40 ukázalo 10% kolokalizaci zmíněných struktur. Dále bylo zjištěno, že proteazomální inhibitor MG-132 zásadním způsobem negativně ovlivňuje replikaci DNA, a to jak virové tak buněčné. Dalším cílem této práce bylo připravit antigen – unikátní část proteinu VP2 BK viru – na výrobu protilátky. Nejprve byl vytvořen expresní vektor s vloženým DNA fragmentem unikátní části VP2 BKV, za který byla připojena kotva HisTag. Tento protein byl následně úspěšně produkován a izolován na principu afinitní chromatografie z bakterií BL-21. Byl tedy připraven antigen vhodný pro přípravu protilátky.

Klíčová slova: myší polyomavirus (MPyV), virus SV40, BKV, VP2, proteazóm,
MG-132, epoxomicin, DNA, HisTag