

## Abstrakt

Polyomavirus karcinomu Merkelových buněk (MCPyV) je relativně nedávno objevený lidský virus, jehož genom je často klonálně integrován v genomu karcinomových Merkelových buněk. Tento typ karcinomu se sice nevyskytuje zcela běžně, ale je velice agresivní a jeho incidence v posledních letech vzrůstá. Proto je tento virus středem vědeckého zájmu, ostatně tak jako většina patogenů či mechanismů, které působí na zdraví člověka. Virus byl objeven nedávno, proto je jeho výzkum na počátku. Tato diplomová práce se pokusila alespoň částečně přispět ke studiu tohoto patogenu z pohledu molekulární virologie. V této práci byla připravena neutralizační monoklonální protilátka typu IgG2a namířená proti hlavnímu kapsidovému proteinu VP1 MCPyV, která rozeznává konformační epitop VP1. Protilátka byla použita k pilotní studii pohybu VP1 VLPs MCPyV v savčích buňkách. Tato studie ukázala zřetelně, že virus využívá, alespoň částečně, ke svému pohybu buňkou váčků nesoucích caveolin-1 (byla pozorována kolokalizace VP1 VLPs s caveolinem-1). Sporadicky byla zaznamenána kolokalizace VP1 VLPs s markerem časného endozómu EEA1, markerem pozdního endozómu Lamp2 a s markerem endoplazmatického retikula BiP. Tyto předběžné výsledky pozorování naznačují, že MCPyV virus by mohl využívat endocytickou dráhu vedoucí přes časný a pozdní endozóm, podobně jako myší polyomavirus (MPyV) či opičí virus SV40. VP1 VLPs MCPyV vstupovaly do buněk s velmi malou účinností a výrazně pomaleji než VLPs MPyV. V této práci byly dále vytvořeny konstrukty pro produkci minoritních proteinů fúzovaných s komerčně dostupným epitopem FLAG a také konstrukt pro produkci nefúzovaného VP3 MCPyV. Konstrukty produkující VP2-FLAG a VP3-FLAG byly užity pro studium lokalizací minoritních proteinů v buňce. Studie ukázala, že se minoritní proteiny MCPyV chovají odlišně od minoritních proteinů myšího polyomaviru (MPyV). VP2 protein byl detekován v malém množství v jádře, většina pak v cytoplazmě poblíž jádra. VP3 byl detekován v cytoplazmě. Nebyla pozorována kolokalizace s jaderným obalem a kolokalizace s markerem endoplazmatického retikula byla podstatně méně signifikantní než jak je tomu u MPyV. Nebyl také prokázán výrazný cytotoxický efekt obou minoritních proteinů MCPyV. Na rozdíl od buněk produkujících VP2 nebo VP3MPyV, při produkci minoritních proteinů MCPyV nebyl ani 21 hod po transfekci pozorován únik histonu H1 do cytoplazmy a jeho rychlá degradace, což se děje, pokud dojde k poškození jaderné membrány