

Abstrakt

Virus tabákové mozaiky je jedním z vůbec nejprozkoumanějších virů, jeho vlastnosti a struktura jsou plně známy. Z tohoto důvodu byl v této práci vybrán jako biotemplát pro tvorbu nanočástice nastavitelné délky. Pokud je za fyziologických podmínek přítomna jak virová RNA, tak obalový protein, částice jsou schopny se samouspořádat a jejich délka je závislá na délce balené RNA. Podmínkou přednostního balení virové RNA je přítomnost enkapsidačního signálu, který byl identifikován již v 80. letech.

V této práci jsme vytvořili dvoukomponentový systém, kdy byly rostliny *Nicotiana bentamiana* infikovány defektní RNA (dRNA) určenou k zabalení a RNA pomocného viru poskytující všechny komponenty nutné pro replikaci a balení dRNA. V RNA pomocného viru byl navíc vyřazen enkapsidační signál, aby nedocházelo k balení nesprávně dlouhých částic. Některé námi vytvořené pomocné viry navíc obsahovaly obalový protein modifikovaný v oblasti vnitřního kanálu částice. Tato modifikace by měla v budoucnu umožnit specifické vyplnění částic kovem. V rámci práce bylo připraveno několik variant jak dRNA, tak i pomocných virů, aby bylo možné identifikovat jednotlivé oblasti důležité pro replikaci, stabilitu a enkapsidaci vznikajících nanočástic. U rostlin infikovaných jednotlivými systémy jsme poté zjišťovali hlavně to, zda došlo k tvorbě částic, jakou RNA částice obsahovaly a jaké bylo rozložení délek v populaci částic.

Zajímavým a neočekávaným zjištěním během vytváření pomocných virů bylo to, že odstraněním enkapsidačního signálu z genomu viru se prakticky nijak nezměnila schopnost tvorby částic, zvýšila se jen citlivost viru k vyšším teplotám. Tento fakt měl dopad na námi navrhovaný systém, kdy v celkové populaci vzniklých částic výrazně převažovaly úplné virové částice obsahující pomocnou RNA. Podařilo se nám vytvořit virus s kov-vázajícím peptidem exponovaným ve vnitřním kanálu částic, který si zachoval infektivitu i schopnost tvorby částic. Distribuce délky částic tohoto viru nám však napověděla, že specifita takto modifikovaného obalového proteinu k virové RNA byla narušena. Jednotlivé komponenty navrhovaného systému se jeví jako velmi slibné a s širokým potenciálem využití ve vědeckém výzkumu a v biotechnologiích. V další práci bychom se rádi věnovali využití dRNA vektorů a úpravě komponent systému tak, aby vnikaly převážně částice jedné délky. K tomu bude zapotřebí objasnit i mechanismus enkapsidace virové RNA v rostlinách.

Klíčová slova: Virus tabákové mozaiky, TMV, nanočástice, enkapsidační signál