

Myší polyomavirus (MPyV) je malý neobalený DNA virus. I když je tento virus zkoumán již více než 50 let, stále zůstává nezodpovězená otázka, jak virus dopraví svou genetickou informaci do jádra nebo jakým mechanismem jsou sestavovány viriony v infikovaných buňkách. V první části práce jsme se zaměřili na charakterizaci endocytické dráhy, kterou využívá myší polyomavirus k dopravě genetické informace do blízkosti jádra. Pomocí dominantně negativní mutanty kaveolinu 1 jsme ukázali, že internalizace a efektivní infekce MPyV není závislá na kaveolinu 1. MPyV při vstupu do buňky využívá časné endozomy. Pro produktivní infekci je nezbytné kyselé pH endozomů. Zabránění vstupu viru do časného endozomu (dominantně negativní mutanta GTPázy Rab 5) nebo zvýšení pH endozomů (chloridem amonným nebo bafilomycinem A1) vedla k drastickému snížení infektivnosti MPyV. Alkalizace endozomů měla za následek zadržování virionů v časných endozomech, což naznačuje, že virus je dále transportován do pozdního endozomu. Pomocí metody FRET jsme potvrdili, že MPyV je v perinukleárním prostoru lokalizován v recyklujících endozomech.

Dalším, dosud málo charakterizovaným dějem životního cyklu MPyV je morfogeneze virionu. Jaderné a celobuněčné lyzáty infikovaných buněk nebo buněk transientně produkujících hlavní kapsidový protein MPyV, VP1, byly separovány modrou nativní elektroforézou (BN-PAGE) pro charakterizaci buněčných proteinů přítomných v prekurzorech virionů. Pomocí BN-PAGE jsme našli několik proteinových komplexů obsahujících protein VP1. Některé tyto proteinové komplexy obsahovaly buněčný protein Hsp 70. I když interakce mezi proteinem VP1 a Hsp 70 byla popsána již dříve, toto je poprvé, kdy bylo detekováno několik odlišných forem VP1-Hsp 70 komplexu. Žádný z komplexů obsahující protein VP1 nebyl zastoupen natolik, aby mohl být analyzován hmotnostní spektrometrií. Proto byly připraveny plazmidy umožňující expresi proteinu VP1 fúzaného na N- nebo C- konci s kotvou BioEase Tag (Invitrogen), která umožňuje *in vivo* biotinylování fúzního proteinu a jeho následnou izolaci afinitní chromatografií. Fúzní proteiny s navázanými interagujícími proteiny byly izolovány afinitní chromatografií a jednotlivé složky izolovaných komplexů byly analyzovány hmotnostní spektrometrií. Identifikovali jsme buněčné proteiny Hsp 90 α , GAPDH a cytoskeletární keratin typ I. Ověření interakcí těchto buněčných proteinů s proteinem VP1 jakožto i jejich případné zapojení v morfogenezi virionu a životním cyklu viru bude předmětem dalšího zkoumání.

Klíčová slova: myší polyomavirus, časný endozom, protein VP1, modrá nativní elektroforéza, Hsp 70, protein-proteinové interakce