

ABSTRAKT

Metoda usměrněné evoluce je novým přístupem pro přípravu proteinů s novými či pozměněnými vlastnostmi. Principem usměrněné evoluce je náhodná mutagenese kódující sekvence pro protein našeho zájmu následovaná selekcí vytvořených mutant na požadovanou vlastnost. Cílem této pilotní studie bylo prozkoumat možnost využití usměrněné evoluce pro změnu původního tropismu myšího polyomaviru a jeho přesměrování na buňky modelové linie nádoru prostaty. Pro přípravu náhodně mutovaného genu kódujícího hlavní kapsidový protein myšího polyomaviru, jenž je zodpovědný za interakci viru s buněčným receptorem pro vstup viru do buňky, byly využity metody „error-prone PCR“ a „DNA-shuffling“. Produkce virů nesoucích mutovaný hlavní kapsidový protein byla zajištěna místně-specifickou rekombinací Cre/loxP. Práce se zabývala i návrhem a charakterizací systému selekce virových mutant. Bylo zjištěno, že prostatické nádorové linie se významně liší ve schopnosti vázat a internalizovat částice odvozené od myšího polyomaviru. Tohoto poznatku může být v budoucnu využito pro přípravu viru podobných částic určených pro diagnostiku nádoru prostaty. Práce prokázala, že metodu usměrněné evoluce lze použít pro přípravu mutantních polyomavirů a identifikovala několik problematických částí postupu.