

Abstrakt

I když jsou polyomaviry intenzivně zkoumány více než 60 let, stále není dostatečně objasněna role minoritních strukturních proteinů VP2 a VP3 v některých důležitých krocích životního cyklu viru, a to zejména jejich úloha při dopravení virového genomu do jádra a také jejich zapojení v pozdní fázi životního cyklu viru. Tato diplomová práce je zaměřena na studium minoritních proteinů Myšího polyomaviru (MPyV) a lidského polyomaviru BK (BKV). V rámci této práce byly připraveny čtyři králičí polyklonální protilátky proti minoritním proteinům virů MPyV nebo BKV. Dvě připravené protilátky jsou namířeny proti minoritním proteinům MPyV (α -MPyV VP2/3) nebo BKV viru (α -BKV VP2/3) a další dvě připravené protilátky rozeznávají společnou C-koncovou sekvenci minoritních proteinů VP2 a VP3 MPyV (α -MPyV C-termVP2/3) nebo BKV viru (α -BKV C-termVP2/3). V druhé části práce jsme se zaměřili na studium toxicity minoritních proteinů polyomaviru BKV při jejich samostatné produkci v savčích buňkách. Získaná data naznačují, že v porovnání s minoritními proteiny VP2 a VP3 viru MPyV, nevykazují minoritní proteiny BKV viru tak vysokou míru cytotoxicity. Třetí část práce je věnována studiu interakcí minoritních proteinů polyomavirů BKV a MPyV s buněčnými proteiny a mezi sebou navzájem. Pomocí připravených protilátek byly detekovány makromolekulární komplexy minoritních proteinů v lyzátech buněk transientně produkujících minoritní proteiny viru BKV nebo MPyV. Tyto komplexy jsme se pokusili charakterizovat za využití metody modré nativní proteinové elektroforézy. Výsledky naznačují, že jeden z identifikovaných proteinových komplexů by mohl obsahovat jak minoritní proteiny BKV viru, tak buněčný chaperon Hsp 70. Detailnější analýza těchto komplexů však nebyla možná z důvodu jejich malého zastoupení ve vzorku. Proto byly připraveny vektory umožňující expresi minoritních proteinů MPyV nebo BKV viru fúzovaných na jejich C-konci s capTEV značkou. Značka capTEV je při produkci těchto fúzních proteinů v savčích buňkách *in vivo* biotinylovaná a umožňuje následnou izolaci fúzního proteinu tandemovou afinitní chromatografií. Přestože připravené expresní vektory obsahují i sekvence pro stabilizaci mRNA vloženého genu, nedocházelo v savčích buňkách k detekovatelné expresi fúzních minoritních proteinů MPyV ani BKV viru. Pro další využití budou muset být tyto vektory ještě upraveny. Do budoucna plánujeme charakterizovat interakce minoritních proteinů obou polyomavirů také v komplexech vznikajících při ko-expresi minoritního proteinu a hlavního kapsidového proteinu VP1 fúzovaného s capTEV značkou. Tímto způsobem by mohly být odhaleny buněčné proteiny interagující s celým komplexem pentameru, základní stavební jednotkou virové kapsidy.

Klíčová slova: polyomavirus, Myší polyomavirus, BK virus, minoritní strukturní proteiny, VP2, VP3