

Abstrakt

Iniciace translace u viru hepatitidy C (HCV) probíhá mechanismem nezávislým na čepičce, který využívá vnitřního vazebného místo pro ribozom (IRES), které interaguje s eukaryotním translačním aparátem a je schopné jej využívat. V našem výzkumu jsme se zaměřili na strukturní konformaci jednotlivých domén HCV-IRES a na dopad primární sekvence IRES na konzervovanost a funkci této sekundární struktury. Za tímto účelem byl proveden *screening* pacientů infikovaných virem hepatitidy C pro zjištění míry heterogenity a celkové variability HCV-IRES vzniklé u pacientů v průběhu jejich nemoci pomocí optimalizování metod, jako jsou gelové elektroforézy s denaturačním nebo teplotním gradientem. Účinnost translace mutovaných HCV-IRES sekvencí byla měřena pomocí průtokové cytometrie. V některých případech jsme zjistili, že několikanásobné mutace, včetně těch, které jsou rozesety mezi různé domény HCV-IRES, vedly k obnově translační aktivity, ačkoli tyto mutace účinnost translace snižovaly, pokud byly analyzovány jednotlivě. Navrhujeme, že tato pozorování by mohla být vysvětlena potenciálními mezi- a/nebo vnitro-doménovými funkčními interakcemi působícími na velkou vzdálenost. Také jsme našli nové mutace, jejichž vliv na účinnost translace HCV-IRES byl experimentálně ověřen. Vytvoření rozsáhlé databáze variací HCV-IRES (*HCV-IRES variation database*, HCVIVdb) dále přispívá k pochopení dopadu mutací na syntézu virových proteinů, a to na úrovni domén, subdomén nebo jednotlivých nukleotidů. Návrh vyhledávacích nástrojů a webového rozhraní k přístupu k databázi byl vytvořen s cílem umožnit a vizualizovat mnohonásobné analýzy. Námi získaná data byla srovnána s HCV sekvencemi pocházejících z jiných zdrojů. Toto srovnání vykazuje pozitivní korelaci a signifikantní konzervovanost určitých nukleotidů a hypervariabilitu nukleotidů jiných. Pro přesné fungování vyžaduje HCV-IRES specifickou interakci svých domén s podjednotkami ribozomu a s částí eukaryotických translačních iniciačních faktorů (eIF). Strukturní konformace, konzervovanost či variabilita sekvence a propojení translační mašinerie s oblastmi HCV-IRES jsou také podrobně probírány, spolu s dalšími faktory, které mohou ovlivňovat sestavování translačních iniciačních komplexů a působit na ně.

Klíčová slova: Virus hepatitidy C, HCV, vnitřní vazebné místo pro ribozom, IRES, databáze, účinnost translace, struktura, kvazidruhy, eukaryotické iniciační faktory.