

Abstrakt a klíčová slova

Virům podobné částice odvozené od myšího polyomaviru tvořené hlavním kapsidovým proteinem VP1 (MPyV VP1-VLPs) mohou být využity jako systém pro dopravu různých látek do buněk. Protein VP1 je schopný se samouspořádat do ikosahedrálních částic o průměru 45 nm, tedy vysoce pravidelných dutých nanočástic.

V této práci byl do MPyV VP1-VLPs zabalen modelový náklad, bimodální malá molekula založená na cyklodextrinu umožňující detekci pomocí fluorescence a zároveň kontrastní látka pro zobrazování pomocí magnetické rezonance. Tento náklad stabilně asocioval s VLPs a byl pomocí těchto částic doručen do savčích buněk.

Aby se zabránilo uvíznutí VLPs v endolysosomálních kompartmentech a zvýšilo se tak potenciální využití VLPs, MPyV VP1 protein byl modifikován vložением sekvencí bohatých na histidin (histidinový tag dlouhý 6 histidinů ohraničený glycinem a serinem) do povrchové smyčky DE. Tento přístup byl zvolen, protože modifikace umělých částic histidinem zvýšila jejich únik z endozomů a dopravu látek do buněk. Produkce His-VP1 proteinu v bakulovirovém expresním systému Bac-to-Bac® vedla ke vzniku různých struktur tvořených proteinem VP1: dlouhých tubulárních útvarů a malých 20nm VLPs při produkci VP1 se 4x vloženými histidinovým tagem ve smyčce DE, a nové nanostruktury, které jsme pojmenovali nano-jumpers, při produkci VP1 s 2x vloženým histidinovým tagem. Nicméně analýza His-VLPs a nanostruktur prokázala, že modifikace histidinem zvýšila jejich únik z endozomů.

Kromě toho byl také testován účinek peptidu bohatého na histidin (KH₂₇K) a polyethyleniminu (PEI), který umí narušit membránu endozomů a zvyšuje únik z těchto organel. KH₂₇K měl podobný efekt na narušení endozomální membrány jako PEI za použití endocytované fluorescenční protilátky pro vizualizaci úniku z endozomů. Efekt KH₂₇K a PEI na infektivitu MPyV byl také prozkoumán a poprvé bylo ukázáno, že narušení endozomální membrány zvyšuje infektivitu MPyV.

Klíčová slova:

myší polyomavirus, VLPs, únik z endozomů, náklad, doprava, histidin