

Abstrakt

Cílem této diplomové práce bylo připravit dva proteinové antigeny a dvě monoklonální protilátky, založené na minoritním proteinu VP2 lidských polyomavirů BK viru a Polyomaviru karcinomu Merkelových buněk. Proběhla příprava monoklonální protilátky proti unikátní části proteinu VP2 BK viru (N-koncový epitop, který se nenachází u proteinu VP3). Buněčná linie produkující protilátku s touto specificitou nebyla zatím nikdy ustavena kvůli nízké imunogenicitě tohoto epitopu. Náš přístup byl z hlediska imunizace myší úspěšný, ale později v průběhu přípravy nastaly vážné problémy se stabilitou hybridomové linie. Dalším cílem této práce byla příprava monoklonální protilátky cílené na sekvenci proteinu VP2 Polyomaviru karcinomu Merkelových buněk. Imunizace myší a hybridomová fúze byly provedeny úspěšně. Po čtyřech kolech klonování za účelem přípravy ustaveného klonu bylo devět klonů vybráno k rozpěstování. Rozpěstování pravděpodobně vedlo ke snížení specificity protilátky a ke ztrátě produkce u většiny hybridomů. Jednou zopakované klonování by mělo vyústit v získání ustaveného klonu s dostatečnou produkcí. Příprava dvou proteinových antigenů byla provedena ve dvou expresních systémech. DNA kódující VP2 protein BK viru zkrácený na C-konci a fúzovaný s His-tagem byla klonována do vektoru vhodného pro expresi v *E.coli*. Tento přístup byl dříve v naší laboratoři úspěšný i neúspěšný v závislosti na délce zkrácení. Zkrácení provedené v této práci spojené s fúzí s His-tagem se ukázalo jako nevhodné pro purifikaci proteinu z bakteriálního expresního systému. Druhý antigen, protein VP2 Polyomaviru karcinomu Merkelových buněk, byl exprimován společně s hlavním strukturním proteinem VP1 v bakulovirovém expresním systému. Byl připraven rekombinantní bakulovirus produkující proteiny VP1 a VP2. Oba proteiny byly v systému exprimovány a skládaly se do viru podobných částic. V této diplomové práci byl systém použit jako zdroj rekombinantního proteinu, ale v laboratorním výzkumu najde i další uplatnění.