

Abstrakt

Viry svým působením zasáhly vývoj všech organizmů. Mají jednoduchou vnitřní organizaci a obsahují menší množství, většinou dobře popsanych RNA. V případě (+)ssRNA virů slouží genomová RNA rovněž jako mRNA. Díky tomu se viry jeví jako ideální modelový systém pro získání informací o nových RNA modifikacích a zároveň k pochopení funkce modifikací již popsanych.

V této práci byl jako modelový systém použit zástupce retrovirů, virus lidské imunitní nedostatečnosti typ 1 (HIV-1). V další studii byli testováni čtyři zástupci pikornavirů pro popis methylačního spektra. Pro získání informace o RNA methylacích byla použita kombinace dvou technik, kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS) a sekvenačních technik. Výsledky LC-MS analýzy odhalily velké množství 1-methyladenosinu (m^1A) v RNA izolované z HIV-1. Mapovací technika vytvořená pro m^1A pak potvrdila přítomnost methylace pouze v přibalených tRNA. Tento výsledek následně vedl k přepočítání RNA složení virové partikule HIV-1.

V případě pikornavirů odhalila LC-MS m^1A pouze u dvou hmyzích virů (virus pytlíčkovitého plodu, SBV a virus deformovaných křídel, DWV). Stejně tak byla potvrzena i přítomnost 5-methylcytidinu (m^5C). Následné sekvenační techniky (m^1A mapování a bisulfítové sekvenování) potvrdily přítomnost m^1A a m^5C pouze v tRNA. Tento objev ukazuje, že si i další viry, nejen HIV, přibalují hostitelskou tRNA. Navíc, tRNA není balena náhodně, ale typy tRNA balené lidským HIV-1 virem a včelími pikornaviry jsou velmi podobné, což by mohlo znamenat, že viry partikulární tRNA využívají při infekci.

Klíčová slova: RNA modifikace, LC-MS, RNA-seq, 1-methyladenosin, HIV-1, pikornaviry, tRNA, tRNA fragmenty