

# Abstrakt

Po nedávné globální pandemii způsobené koronavirem SARS-CoV-2 se začátkem května 2022 znovu objevil patogenní virus opičích neštovic (MPXV), který vzbudil značné obavy. Od vyhubení smrtelných pravých neštovic v 90. letech minulého století je to další vir z rodiny *Poxviridae* ohrožující lidstvo. První případy infekce tímto virem byly zaznamenány v Africe, kde se čas od času objeví malá epidemie. Postupně však byly hlášeny i případy nákazy v Evropě a Americe, včetně osob, které nenavštívily postižené země v Africe. Do dnešního dne bylo zaznamenáno více než 99 000 případů ve 116 zemích. Tento virus napadá nejen lidi ale také psy, hlodavce, primáty a další. Naštěstí smrtnost tohoto viru není tak vysoká jako u pravých neštovic a symptomy jsou podobné chřipce, doprovázené charakteristickou vyrážkou. MPXV je obalený virus o velikosti 200–250 nm s typickým „cihlovým“ tvarem a řadíme ho k větším virům. Jeho genom se skládá z dvouvláknové DNA (dsDNA) o velikosti 200 kb a kóduje zhruba 200 proteinů. Mezi tyto proteiny patří také čepičkující enzym, který je zodpovědný za syntézu 5' mRNA čepičky 0 (cap-0). Tento enzym se skládá ze dvou podjednotek, E1 a E12. Podjednotka E1 je katalycky aktivní a obsahuje všechny katalytické moduly potřebné pro tvorbu čepičky, RNA trifosfatasu, guanylyltransferasu a methyltransferasu. Podjednotka E12 sama o sobě katalyticky aktivní není, avšak váže se na C-koncovou methyltransferasovou doménu a stimuluje její aktivitu.

V praktické části této práce jsme se zaměřili na charakterizaci aktivity čepičkujícího enzymu z viru opičích neštovic. Hlavní pozornost jsme věnovali methyltransferasové doméně. Heterodimerní komplex E1-E12 byl exprimován v bakteriálním systému *E. coli* a v hmyzích buňkách linie Sf9. Tvorba mRNA čepičky byla sledována *in vitro* pomocí aktivitních esejí se substráty RNA, GTP a SAM (S-adenosyl-methionin). Dále byla zkoumaná inhibice methyltransferasové domény nespecifickým inhibitorem sinefunginem. Výsledky této práce poukazují na aktivitu podjednotky E1 a na roli E12 v procesu N-7 methylace mRNA čepičky. Tyto poznatky přispívají k lepšímu pochopení tvorby cap-0 a můžou podpořit budoucí výzkum a hledání nových inhibitorů.

**Klíčová slova:** virus opičích neštovic, čepičkující enzym, mRNA čepička, E1, E12, inhibice