

Abstrakt

Průběh polyomavírové infekce může být v jádře regulován řadou buněčných proteinů. K replikaci myšího polyomaviru (MPyV) v buněčném jádře dochází v těsné blízkosti jaderných tělísek PML, jejichž součástí je i protein DAXX. DAXX je restričním faktorem mnoha virů, byl však popsán také jeho pozitivní vliv na replikaci některých herpesvirů a papilomavirů. První část této práce se soustředila na vliv proteinu DAXX na replikační cyklus MPyV. V buňkách s potlačenou expresí DAXX byl pozorován pokles replikace virové DNA a nižší hladiny časných i pozdních virových transkriptů. Výsledky naznačují pozitivní vliv proteinu DAXX na replikaci MPyV. Dalším cílem bylo připravit buněčnou linii *DAXX*KO pro studium vlivu DAXX na infekci BK polyomavirem. Modifikace byla provedena systémem CRISPR/Cas9, byly izolovány potenciální *DAXX* KO buněčné klony, u kterých bude dále ověřena delece genu *DAXX*.

Druhá část diplomové práce byla zaměřena na interakce velkého T antigenu (LT) MPyV s buněčnými proteiny. V návaznosti na data získaná studiem interaktomu LT antigenu MPyV (experimenty provedené Mgr. Karolínou Štaflovou, Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, skupina Ing. Ivy Pichové, CSc.) byla sledována vzájemná lokalizace LT a vybraných buněčných proteinů. Byla pozorována kolokalizace LT s proteiny BAF57, BAG2, PRC1, WDR48 a MKK3. V případě proteinů NONO a SMC4 ke kolokalizaci nedocházelo. Z uvedených interakčních partnerů LT jsme se dále zaměřili na kinázu MKK3, která je součástí MAP kinázové dráhy p38. MKK3 kolokalizovala s LT v infikovaných buňkách i v neinfikovaných buňkách exprimujících LT. V infikovaných buňkách bylo detekováno snížené množství proteinu MKK3, a naopak zvýšení aktivace kinázy p38. Snížení exprese MKK3 pomocí siRNA nemělo vliv na počet buněk infikovaných MPyV ani na množství produkovaných infekčních virionů. Výsledky naznačují, že kináza MKK3 nemá významný vliv na infekci MPyV.

Klíčová slova: myší polyomavirus, DAXX, velký T antigen, MKK3, MAP kináza, p38