

Abstrakt

Virus chřipky způsobuje běžné onemocnění, které ročně prodělá několik milionů lidí na celém světě. Ačkoli sezónní chřipka většinou neohrožuje na životě, je nebezpečná především pro velmi mladé jedince a seniory. Velkou hrozbou jsou však nové kmeny chřipky, které vznikají kombinací chřipkových kmenů napadajících různé živočišné druhy. Takto vzniklé chřipkové viry již v minulosti způsobily několik pandemií s devastujícími účinky, a proto je nutné hledat nové možnosti léčby, které by v budoucnosti zabránily podobným případům.

Neuraminidasa chřipkového viru je protein nacházející se na povrchu virových částic, kde zajišťuje uvolnění nově vytvořených virionů z cytoplazmatické membrány napadených buněk a hraje tak klíčovou roli v životním cyklu chřipkového viru. Jakožto enzym s definovaným substrátem je neuraminidasa velmi dobrým cílem pro vývoj léčiv, které by inhibovaly její funkci a znemožnily tak další šíření viru.

Do roku 2015 byla celosvětově schválena pouze čtyři léčiva proti chřipce, z čehož dvě, oseltamivir a zanamivir, cílí právě neuraminidasu. Z důvodu značné rezistence chřipkových virů na zbylá dvě léčiva (amantadin a rimantadin) jsou inhibitory neuraminidasy v podstatě jedinými užívanými léky. Vývoj nových inhibitorů se proto stává jedním z hlavních cílů výzkumu chřipkového viru, i kvůli častému výskytu rezistence vůči již používaným lékům.

Jedním z nových inhibitorů je tamifosfor, derivát oseltamiviru, který byl navržen tak, aby vytvářel silné interakce ve vazebném místě neuraminidasy. V rámci této diplomové práce byla provedena charakterizace vazby inhibitorů oseltamivir karboxylátu a tamifosforu na neuraminidasu z chřipkového viru subtypu H7N9, který se objevil v roce 2013 v Číně. Přestože tento kmen chřipky nakazil pouze několik stovek lidí, mortalita onemocnění byla téměř 40 %. Analýza interakcí biomolekul s inhibitory pomocí isothermální titrační kalorimetrie přináší cenné informace o vzniku komplexů a může tak pomoci při vývoji nových léčiv.

Klíčová slova: neuraminidasa; isothermální kalorimetrie; enzymová kinetika; rekombinantní proteiny