

## Abstrakt

Virus chřipky způsobuje sezónní epidemie v lidské populaci. Nemoc většinou není doprovázena vážnějšími příznaky a jako léčba ve většině případů stačí odpočinek. Může však mít vážnější průběh u mladistvých a starších lidí nebo u jedinců s oslabenou imunitou. Různé typy viru jsou schopny přenosu mezi odlišnými živočišnými druhy, což může mít za následek vznik nových typů viru s pandemickým potenciálem. Hledání nových možností léčby je důležitým faktorem ve snaze zabránit vzniku nové pandemie.

Neuraminidasa viru chřipky je protein, který se nachází na povrchu virových částic. Tento protein vykazuje enzymovou aktivitu, která je nezbytná pro uvolnění nově vznikajících virových částic z cytoplazmatické membrány infikovaných hostitelských buněk. To jí činí důležitým faktorem v životním cyklu viru. Aktivní místo tohoto enzymu se stalo důležitým cílem terapeutického zásahu pro vývoj inhibitorů zpomalujících replikaci viru.

Nejběžněji používanými léky ve světě proti chřipce jsou Tamiflu (oseltamivir) a Relenza (zanamivir) cílené proti neuraminidase. V posledních letech se stále více objevují resistantní kmeny viru chřipky. Bodové mutace v aktivním místě neuraminidasy způsobují sníženou citlivost vůči inhibitorům. Dříve se předpokládalo, že by takovéto mutace měly významně oslabit virus i jeho schopnost se efektivně šířit. Tyto primární mutace jsou však často doprovázeny sekundárními mutacemi, které kompenzují negativní vliv primárních mutací na virovou životaschopnost („fitness“).

V této práci byla provedena charakterizace vazby inhibitorů oseltamivir karboxylátu a tamifosforu s rekombinantní neuraminidasou nedávného pandemického viru nesoucí mutaci serinu za arginin v pozici 247. Tato mutace hraje důležitou roli při vzniku nových variant viru chřipky resistantních vůči běžně užívaným inhibitorům. Analýza pomocí enzymové kinetiky, isothermální kalorimetrie a rentgenové krystalografie neuraminidasy s inhibitory poskytla užitečné informace o vlivu mutace na vazbu těchto inhibitorů

Klíčová slova: neuraminidasa, enzymová kinetika, krystalografie, isothermální titrační kalorimetrie, rekombinantní proteiny