

Abstrakt

Koronavirové methyltransferasy se účastní modifikace 5'-konce virové RNA. Svou enzymatickou aktivitou zajišťují nejen účinnou translaci virových proteinů, ale také maskují vlastní RNA před imunitním systémem hostitele. Tato práce se zaměřuje na methyltransferasy SARS-CoV-2 (methyltransferasová doména nestrukturního proteinu 14, MT14 a nestrukturní protein 16 spolu s jeho kofaktorem – nestrukturní protein 10, nsp16/10), které představují atraktivní cíle pro terapeutický zásah. Cílem této práce byla strukturní charakterizace koronavirových methyltransferas v komplexu s různými malými molekulami. Rekombinantně připravené proteiny byly purifikovány a následně podrobeny krystalizačním experimentům. Získané krystaly heterodimeru nsp16/10 v komplexu se sinefunginem byly namáčeny do roztoku obsahujícího nukleotidový analog S-adenosyl-L-homocysteinu. Optimalizací identifikovaných primárních krystalizačních podmínek MT14 s dvěma různými inhibitory byly získány krystaly vhodné pro měření jejich difrakce a následnou strukturní analýzu. Získaná strukturní data budou sloužit jako podklad pro návrh nových inhibitorů cílících na S-adenosyl-L-methionin vazebné místo nsp14.

Klíčová slova: methyltransferasa, nsp14, nsp16, koronavirus, SARS-CoV-2, rekombinantní exprese, krystalizace proteinů