

Abstrakt

Virus SARS-CoV-2 (z angl. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), původce onemocnění COVID-19 (z angl. coronavirus disease 2019), je obalený virus s pozitivním RNA genomem. Po vazbě viru na receptor buňky a po uvolnění genomu do cytoplazmy dochází k okamžité translaci virového genomu. Překládá se do polyproteinu skládajícího se z nestruturních proteinů nezbytných pro replikaci viru. Součástí tohoto polyproteinu je také proteáza 3-CL, která se z tohoto polyproteinu autokatalyticky vyštěpuje a dále uvolňuje (a tím aktivuje) jednotlivé proteiny. Vzhledem k této klíčové funkci v replikaci viru se stala proteáza 3-CL významným cílem pro návrh specifických antivirotik. V rámci předložené diplomové práce jsme se zaměřili na studium prekurzorové formy této proteázy, tedy proteázy, která je stále součástí polyproteinu. Prekurzorová forma proteázy 3-CL byla napodobena připojením extramembránového C-koncového fragmentu sousedního proteinu nsp4 o velikosti sto aminokyselin na N-konec maturované formy proteázy. Cílem bylo zjistit, jakým způsobem sekvence přidaná na N-konec maturované proteázy ovlivňuje její enzymové charakteristiky. V rámci práce byly identifikovány mutace N-koncového štěpného místa, které zabrání rozštěpení prekurzoru na maturovanou formu, což umožňuje získání purifikované prekurzorové formy 3-CL proteázy a její další studium. Byla studována enzymová aktivita prekurzoru, substrátová specifita a termostabilita. Tato diplomová práce obsahuje informace, které mohou být uplatněny ve vývoji antivirotik, která by cílila na prekurzorovou formu proteázy 3-CL.

Klíčová slova

virus, SARS-CoV-2, proteáza 3-CL, Mpro, prekurzor, inhibice