

Wirusy grypy (FLUV) są jedną z głównych przyczyn globalnej zachorowalności i śmiertelności. Zdolność wirusów grypy do ciągłego dostosowywania się do odporności na infekcje powoduje corocznie powtarzające się epidemie grypy, które stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia, w szczególności dla niemowląt i osób starszych: 250 000 do 500 000 rocznych zgonów przypisuje się epidemiom grypy i wiąże się z kosztami rządu 87,1 mld USD rocznie w samych Stanach Zjednoczonych. Jednym z krytycznych etapów infekcji wirusem grypy jest wejście wirusa, w którym pośredniczy hemaglutynina (HA), wykorzystująca komórkowe proteazy do własnej aktywacji. Wykazano, że TMPRSS2, członek transbłonowych proteaz serynowych typu II (TTSP) może proteolitycznie ciąć HA i aktywować wirus grypy, a aktywność TMPRSS2 jest niezbędna do rozprzestrzeniania się i patogenezы kilku subtypów FLUV w modelach mysich. Ponadto, polimorfizmy w ludzkim genie TMPRSS2, które zwiększają ekspresję TMPRSS2, wiążą się ze zwiększonym ryzykiem ciężkiej grypy. Dlatego TMPRSS2 jest czynnikiem krytycznym dla infekcji FLUV i staje się interesującym kandydatem do leczenia przeciwwirusowego. Jednak wciąż nie wiadomo, dlaczego tylko niektórzy członkowie TTSP (tj. TMPRSS2) mogą ciąć HA i aktywować FLUV, podczas gdy inni (tj. TMPRSS3) tej zdolności nie posiadają. Ponadto nie jest jasne, w jaki sposób FLUV zmienia maszynę komórkową dla własnych celów.

W związku z tym proponowany projekt:

- i) Określi rolę proteaz pokrewnych TMPRSS2 w rozprzestrzenianiu się FLUV i ich patogenezы
- ii) Zbada, w jaki sposób analizowane domeny strukturalne TMPRSS2 kontrolują aktywację HA
- iii) Przeanalizuje strukturę drugorzędową mRNA TMPRSS2, jego zmiany po infekcji FLUV oraz określi wspólne motywy strukturalne spośród wszystkich członków TTSP
- iv) Sprawdzi, czy antysensowne oligonukleotydy zaprojektowane na podstawie struktury drugorzędowej mRNA hamują rozprzestrzenianie się FLUV i ich patogenezę w doświadczeniach *ex vivo*, wykorzystując precyzyjnie wycięte fragmenty płuc naczelnych innych niż ludzie i określi mechanizmy leżące u podłoża zahamowania.

W proponowanych badaniach wykorzystamy techniki klasycznej wirusologii, biologii molekularnej, biochemii, biologii komórki i biologii strukturalnej, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *ex vivo*. Stosując transfekcję komórek i infekcję, analizę białka (tj. Western blot), cytometrię przepływową i mikroskopię konfokalną, będziemy badać innych członków TTSP pod kątem ich zdolności do trawienia HA i aktywacji FLUV, jak również określić domeny strukturalne odpowiedzialne za interakcję TTSPs-HA. Dodatkowo, przez izolację RNA z komórek endogennie syntetyzujących TTSP i współinfekowanych FLUV oraz mapowanie chemiczne RNA, sprawdzimy strukturę drugorzędową mRNA TMPRSS2 i sposób, w jaki jego zmiany zachodzą po zamknięciu komórki za pośrednictwem grypy.

Uzyskane wyniki pozwalają na głębsze zrozumienie wejścia wirusa grypy do komórek gospodarza.