

## Souhrn

CEACAM1 je lidský membránový glykoprotein. První částí této práce se zabývá izolací CEACAM1 ze žluče, následným stanovením jeho čistoty a výtěžností použité metody. Je zde popsána imunoafinitní chromatografie CEACAM1 na hydrazidové celulóse s orientovaně vázanou monoklonální protilátkou anti-CEA F34-187. Principem této metody je orientovaná vazba oxidované protilátky na aktivovaný hydrazidový matrix. Hrubý proteinový extrakt ze žluči byl aplikován na afinitní kolonu a CEACAM1 byl eluován 6 M guanidinem-HCl. Imunopozitivní zóna CEACAM1 (85 kDa) byla detekována western blotem s anti-CEA protilátkou. Pravděpodobně z důvodu značné glykosylace molekuly nebylo možné použít obvyklé metody detekce proteinů, kromě detekce s konkanavalinem A-HRP.

Výsledky byly publikovány v: Muchová, L., Jirsa, M., Kuroki, M., Dudková, L., Beneš, M. J., Mareček, Z. and Šmíd, F.: Immunoaffinity isolation of CEACAM1 on hydrazide-derivated cellulose with immobilized monoclonal anti-CEA antibody. *Biomed. Chromatogr.* (2001), **15**: 418-422.

V další části této práce je popsán vliv exogenně přidaných gangliosidů na signalizaci žírných buněk. Gangliosidy uvolňované nádorovými buňkami, podobně jako gangliosidy přidané do růstového media, ovlivňují neznámým mechanismem imunitní odpověď buněk. Inkubace buněk linie leukemických krysích basofilů (RBL-2H3) se směsí mozkových gangliosidů inhibuje degranulaci sekrečních mediátorů z buněk aktivovaných přes FcεRI receptor ale neovlivňuje aktivaci přes Thy-1 glykoprotein. Exogenně přidané gangliosidy také ovlivňují buněčnou adhesi k substrátu a množství F-aktinu v antigenem aktivovaných buňkách. Přestože tvorba fosfatidylinositidů byla také snížena, enzymatická aktivita fosfatidylinositol 3-kinasy nebyla inhibována. Gangliosidy nemají žádný nebo jen malý vliv na asociaci agregovaného FcεRI s GEM a na tyrosinovou fosforylaci FcεRI a LAT. Ačkoliv inkubace buněk s gangliosidy neovlivňuje asociaci LAT s fosfolipasou C (PLCγ1 a PLCγ2), tyrosinová fosforylace těchto enzymů, stejně jako jejich enzymatická aktivita a míra asociace se signálním komplexem na membránách nerozpustných v detergentu byly sníženy. Toto vyústilo ve snížení produkce inositol 1,4,5-trifosfátu a inhibici uvolnění Ca<sup>2+</sup> z endoplazmatického retikula. Tyto výsledky lze shrnout do závěru, že exogenně přidané gangliosidy ovlivňují především ty části GEM, které souvisí s pozdější fází signalizace přes FcεRI a vazbou PLCγ, ale ne s tyrosinovou fosforylací podjednotek FcεRI v počáteční fázi.

Výsledky byly publikovány v: Dráberová, L., Dudková, L., Boubelík, M., Tolarová, H., Šmíd, F. and Dráber, P.: Exogenous administration of gangliosides inhibits FcεRI-mediated mast cell degranulation by decreasing the activity of phospholipase Cγ. *J. Immunol.* (2003), **171**: 3585-3593.