

Abstrakt

Autozomálně recesivní onemocnění cystická fibrosa (CF) způsobené mutacemi genu *CFTR* („cystic fibrosis transmembrane conductance regulator“) vede k absenci či defektům *CFTR* proteinu s funkcí chloridového kanálu. Pro toto onemocnění je typická zejména náchylnost k bakteriálním infekcím dýchacího ústrojí z důvodu hromadění zahuštěného hlenu a pozměněné glykosylace v plicích. Tyto infekce nejčastěji způsobuje bakterie *Pseudomonas aeruginosa* (PA), k jejíž patogenitě přispívá i lektin PA-III. Tento lektin má vysokou afinitu k L-fukose a patří mezi adhesiny PA. Tato práce je zaměřena na studium vlivu anti-PA-III protilátek izolovaných z vaječných žloutků a multivalentních inhibitorů PA-III na bázi fukosy na adhezenci PA k buňkám plicního epitelu.

Protilátky byly izolovány z vaječných žloutků slepice před a po imunizaci lektinem PA-III. Specifické anti-PA-III protilátky byly získány afinitní chromatografií na koloně s imobilizovaným PA-III. Metodou ELISA byla ověřena schopnost těchto protilátek rozpoznat PA-III. Přítomnost PA-III v bakteriální kultuře *Pseudomonas aeruginosa* (PAK, ST 1763) a schopnost protilátek rozpoznat tento bakteriální lektin byla ověřena pomocí metody Western blot s následnou imunodetekcí. Byly též zjištěny vhodné podmínky kultivace pro expresi tohoto lektinu.

Vliv protilátek na adhezi PAK byl studován *ex vivo* s využitím plicní epitelální buněčné linie od CF pacienta (CuFi-1) a od zdravého jedince (NuLi-1). Buněčné linie a bakterie byly fluorescenčně značeny barvivou PKH. Nejprve bylo ověřeno, že počet subkultur buněčných linií nemá vliv na jejich chování v *ex vivo* modelu bakteriální adheze. Specifické anti-PA-III protilátky nevykázaly schopnost ovlivnit adhezi PAK k buňkám plicního epitelu. Pozorovaný inhibiční efekt slepičích protilátek nebyl specifický ani reprodukovatelný a je pravděpodobně závislý na mnoha proměnných.

S využitím linie CuFi-1 byl pro srovnání studován efekt multivalentních inhibitorů PA-III na bázi fukosy. Některé tyto inhibitory vykazovaly schopnost výrazně snížit adhezenci PAK na plicní epitelální buňky (až o 70 %) a představují tak možný prostředek prevence PA infekcí u pacientů s CF.

Klíčová slova: cystická fibrosa, *Pseudomonas aeruginosa*, IgY, multivalentní inhibitory