

Abstrakt

Amastigoti jsou formy leishmanií přirozeně se vyskytující v obratlovčím hostiteli uvnitř fagocytujících buněk – zejména makrofágů. Cílem tohoto projektu bylo porovnat mezi sebou tři typy amastigotů leishmanií, které je v současnosti možné v laboratorních podmínkách využívat k experimentům. Těmito typy jsou axeničtí amastigoti, kultivovaní extracelulárně (bez fagocytických buněk obratlovce), amastigoti izolovaní z *ex vivo* infikovaných makrofágů a „praví“ amastigoti, izolovaní z léze infikované BALB/c myši.

Amastigoti byli porovnáváni na úrovni vývoje v přirozeném přenašeči a na úrovni proteomu. K tomuto srovnání byl zvolen druh *L. mexicana*, původce kožní leishmaniózy v Novém světě. V experimentech porovnávajících vývoj leishmanií v přirozeném přenašeči *Lu. longipalpis* jsme prokázali signifikantně slabší infekce u flebotomů infikovaných axenickými amastigoty ve srovnání s ostatními typy amastigotů. Mimo intenzity infekce jsme porovnávali i lokalizaci promastigotů v trávicím traktu flebotoma. Sledována byla lokalizace v abdomenu, thoraxu, kardii a stomodeální valvě, jejíž kolonizace je klíčová pro infekčnost flebotoma. U žádné ze skupin amastigotů nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v lokalizaci.

Pro porovnání proteomů jednotlivých typů amastigotů jsme využili kvantitativní proteomickou analýzu LC/MS s kvantifikací pomocí TMT¹⁰-plexového izobarického značení a se sběrem kvantifikačních spekter v MS³ módu. Výsledkem proteomické analýzy byl námi vybraný soubor signifikantně se lišících proteinů s významem pro virulenci amastigotů. Dále byly vybrány signifikantně se lišící metabolické enzymy, které nám umožnily porovnat rozdíly v metabolismu jednotlivých typů amastigotů. U amastigotů z léze byla zvýšená exprese některých virulenčních faktorů a enzymů metabolismu. U axenických amastigotů byla vyšší exprese některých glykolytických enzymů v porovnání s ostatními typy amastigotů. Amastigoti izolovaní z makrofágů představovali ve většině případů prostřední článek.

Klíčová slova: amastigot, *L. mexicana*, *Lu. longipalpis*, proteom, TMT¹⁰-plex