

## Abstrakt

*Trichomonas vaginalis* je s přibližně 275 miliony případů ročně původcem nejčastějšího nevirového sexuálně přenosného onemocnění. Virulence tohoto parazita závisí nejméně na čtyřech faktorech: transformaci tvaru buněk, cytoadherenci, sekreci cysteinových proteáz a přítomnosti endosymbiontů. V posledních desetiletích se při interakci parazita s hostitelem ukázaly jako důležité také extracelulární vezikuly. Bylo zjištěno, že *T. vaginalis* je jedním z protistů, který má schopnost tyto extracelulární vezikuly v podobě exosomů a ektozomů tvořit. Tyto vezikuly jsou pravděpodobně zapojeny do komunikace mezi hostitelem a parazity, o jejich funkci je však k dispozici jen omezené množství informací. Pro zkoumání možné role exosomů ve virulenci *T. vaginalis* jsme nejprve vybrali vhodný kmen, který je bez endosymbiontů (TV 17-2MI). Dále jsme připravili šestklonů kmene TV 17-2MI, abychom otestovali, zda je kmen, co se týče virulence homogenní nebo zda existují mezi jednotlivými buňkami rozdíly. Myší intraperitoneální virulenční testy odhalily, že klony vykazovaly významné rozdíly v úrovni virulence. Zejména ve tvorbě abscesu a úmrtnosti infikovaných zvířat. Prokázali jsme virulentní heterogenitu buněk získaných z jediného kmene *T. vaginalis*. Pozorovaná heterogenita není založena na přítomnosti nebo nepřítomnosti endosymbiontů.

Dále jsme zavedli protokol pro izolaci exosomů. Prvním krokem bylo vybrat vhodný exozomální proteinový marker. Vybrali jsme tři kandidáty (tetraspanin 1, SNARE protein a multivesicular body protein - MBP). Tyto proteiny byly exprimovány s hemaglutininovou značkou v *T. vaginalis*. Imunofluorescenční mikroskopie ukázala lokalizaci všech tří proteinů uvnitř buňky, avšak na membráně vezikulů uvnitř buňky byl detekován pouze tetraspanin 1 (TSP1), což by mohla být multivesikulární tělíska. V předběžné izolaci exosomů jsme pomocí imunoblottingu ověřili přítomnost exosomů v mikrovezikulární frakci. Abychom určili proteinové složení exosomů, izolovali jsme exosomy ze dvou kmenů *T. vaginalis* (TV T1, který exprimoval značený TSP1 a TV 17-2MI) a analyzovali je pomocí hmotnostní spektrometrie. Naše proteomické analýzy ukázaly výrazně vyšší počet identifikovaných proteinů (pro TV T1 exosomy 2305 a pro TV 17-2MI 1335 proteiny) než v předchozí studii (215 protein, Twu et al., 2013). Většina proteinů ze všech studií se významně překrývala a byly detekovány všechny tři markerové proteiny (TSP1, SNARE a MBP). V diskuzi jsou pak shrnuty možné důvody pro vyšší počet identifikovaných proteinů v našich experimentech.