

## SOUHRN

Žírné buňky tvoří důležitou součást imunitního systému. Při patologických situacích jsou aktivovány a jsou zodpovědné za alergické reakce. Detailní poznání molekulárních mechanismů vedoucích k jejich aktivaci je proto důležité zejména pro vývoj nových postupů v léčbě alergických reakcí. Nejdůležitějším transmembránovým receptorem žírných buněk je vysokoafinitní Fc receptor pro IgE (FcεRI). FcεRI váže IgE na plasmatické membráně. Po prokřížení polyvalentním antigenem, imunoreceptorové tyrosinové aktivační motivy (ITAM) v intracelulární části receptoru jsou fosforylovány a spouští se signální dráha vedoucí k buněčné aktivaci. Signalizace přes FcεRI po vazbě antigenu je kriticky závislá na interakci s intracelulárními protein-tyrosinovými kinasami, které zprostředkovávají fosforylaci ITAM motivů, a zároveň na mnoha dalších komponentách signální dráhy. Tato práce byla soustředěna na studium signalizačních procesů vedoucích k aktivaci žírných buněk na několika různých úrovních s důrazem na rané fáze signalizace přes FcεRI. Nejprve jsme se zaměřili na roli protein-tyrosinových fosfatů (PTP) při inicializaci fosforylace FcεRI. Podařilo se nám ukázat, že aktivace FcεRI antigenem vede k oxidaci tyrosinu v aktivním místě PTP a tudíž k jejich inhibici. Topografie inaktivních PTP na plasmatické membráně ukázala jejich bezprostřední blízkost k FcεRI a aktinovému cytoskeletu. Získaná data nám umožnila formulovat nový model inicializace signalizace přes FcεRI. Rovněž jsme se věnovali studiu dalších vybraných proteinů (tetraspaninu CD9, transmembránového adaptorového proteinu PAG a regulátoru serinových palmitoyl transferas ORMDL3) nebo působení vybraných chemikálií jako etanol a metyl-β-cyklodextrin na funkci FcεRI signalosomu během aktivace žírných buněk.

Hlavní náplní této práce bylo nalézt nové regulátory FcεRI signalizace. Za tímto účelem byl proveden "screen" s využitím RNA interference, kde jsme identifikovali 15 regulátorů aktivace žírných buněk. Pro detailní funkční analýzu byl vybrán galectin-3 (Gal3). Žírné buňky se sníženou expresí Gal3 vykazovaly zvýšenou degranulaci, vápníkovou odpověď a fosforylaci některých signálních proteinů po aktivaci antigenem. Přestože Gal3 neovlivňoval fosforylaci FcεRI jako takového, buňky se sníženou expresí vykazovaly defektní internalizaci IgE, doprovázenou sníženou ubikvitinylací receptoru. Gal3 byl tedy identifikován jako stěžejní regulátor řídící stabilitu aktivovaného FcεRI komplexu na plasmatické membráně a následného intracelulárního transportu.

Fyziologická funkce žírných buněk záleží také na jejich migraci. Dílčím cílem této práce bylo přispět k poznání signálních drah řídících pohyb žírných buněk. Ukázali jsme, že Gal3 pozitivně reguluje adhezi a motilitu na fibronektinu, zároveň však negativně ovlivňuje chemotaxi za antigenem. Získaná data rovněž napomohla objasnit funkci dalších proteinů (CD9, PAG a ORMDL3) v migraci žírných buněk.