

ABSTRAKT

Označení RTX (Repeat in ToXin) spojuje početnou a stále se rozrůstající skupinu proteinů rozličných funkcí. Pro všechny její členy, mezi něž se řadí například toxiny, metaloproteasy, lipasy, proteiny S-vrstvy, bakteriociny a proteiny s dosud neobjasněnou funkcí, jsou typické následující charakteristiky: i) přítomnost nonapeptidové a na glycin bohaté vápník-vazebné konsensus sekvence GGXGXDX[L/I/V/W/Y/F]X (kde X může být jakýkoliv aminokyselinový zbytek) v různém počtu opakování (6-50) v C-koncové části proteinu; ii) k sekreci proteinu z buňky dochází bez přítomnosti periplasmatického intermediátu mechanismem zahrnujícím rozpoznání C-koncového sekrečního signálu proteiny asociovanými s cytoplasmatickou membránou, které následně exportují protein do kanálu procházejícího skrze celou bakteriální buněčnou stěnu ven z buňky (sekreční systém typu I); iii) geny pro syntézu strukturního proteinu, jeho aktivaci a sekreci jsou většinou uskupeny v tzv. RTX operonu.

Nejrozsáhlejší skupinu rodiny RTX proteinů tvoří RTX toxiny. Většinou se jedná o proteiny o molekulové hmotnosti mezi 100-200 kDa, posttranslačně modifikované acylací mastnou kyselinou. Acylace je zprostředkována specifickým aktivačním proteinem. Tato posttranslační modifikace je naprosto nezbytná pro aktivaci molekuly toxinu a jeho funkci a umožňuje toxinu přímý kontakt s membránami hostitelských buněk. Ten může proběhnout dvěma popsányými způsoby, jež nutně nemusejí být zcela nezávislé: i) první způsob zahrnuje reverzibilní adsorpci toxinu na povrch buňky, následnou expozici hydrofobních částí a konformační změnu molekuly toxinu, vedoucí k inzerci toxinu do lipidické buněčné membrány a vzniku transmembránového póru; ii) druhý způsob zahrnuje vazbu toxinu na specifický buněčný receptor, konformační změnu a inzerci toxinu do buněčné membrány, vznik póru a následnou internalizaci molekuly toxinu spolu s receptorem procesem endocytózy.

Většina RTX toxinů vykazuje pórtvornou aktivitu. Tvorba pórů v membránách cílových buněk vede k mnohočetné signalizaci a případně následné indukci buněčné smrti (apoptózy či nekrózy), která je závislá na přítomnosti vápenatých iontů.

RTX toxiny jsou produkovány širokým spektrem gramnegativních druhů bakterií z rodů *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Bordetella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Vibrio* aj. *In vitro* vykazují RTX toxiny převážně cytotoxickou a často též hemolytickou aktivitu vůči velmi různorodému spektru cílových buněk. Z imunologického hlediska jsou RTX toxiny cenným nástrojem pro vývoj nových imunoprophylaktických preparátů, neboť jsou jedněmi z hlavních faktorů virulence těchto bakterií a v naprosté většině jsou schopné v organismu hostitele vyvolat kaskádu reakcí vedoucí k imunitní odpovědi organismu a tvorbě protilátek. RTX toxiny jsou dále děleny do dvou kategorií v závislosti na jejich specifitě k cílovým buňkám hostitele, na promiskuitní cytolytisy a specifitější leukotoxiny. Je rovněž známo, že RTX toxiny hrají důležitou roli ve specifitě jednotlivých patogenů pro různé hostitelské organismy.

Předkládaná disertační práce je věnována studiu klinicky významných RTX proteinů, a to jak z hlediska biochemického, tak z hlediska možnosti využití těchto proteinů pro imunoprophylaktické očkovací látky.

Klíčová slova: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, ApfA, Apx toxiny, FrpC, imunita, klonování, meningokokové infekce, mutageneze, *Neisseria meningitidis*, pleuropneumonie, protilátka, purifikace, rekombinantní proteiny, SPM, štěpení proteinů, TbpB, vakcína, vápník.