

## **Abstrakt**

Bc. Barbora Svobodová

Toll-like receptory při bakteriálních infekcích

Diplomová práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Odborný pracovník v laboratorních metodách

Cíl práce: Stanovení aktivace a exprese toll-like receptorů 2, 4, 5 a 9 pomocí polymerázové řetězové reakce v reálném čase a western blottingem (WB). Zavedení metody WB na pracovišti Mikrobiologického ústavu AV ČR, v.v.i. v Novém Hrádku.

Metody: 1) Optimalizace metody WB – extrakce proteinů, měření koncentrace proteinů, elektroforéza, western blotting, imunodetekce proteinů. 2) 4 skupiny gnotobiotických selat: kontrolní bezmikrobní skupina (GF), skupina infikovaná bakterií *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium kmen LT2 (LT2), skupina infikovaná kmenem *Escherichia coli* O55 (O55) a skupina kolonizovaná *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN). 3) Real-time PCR - izolace celkové RNA, spektrofotometrické stanovení koncentrace a odhad čistoty RNA, syntéza cDNA, real-time PCR, normalizace a relativizace dat z real-time PCR.

Výsledky: Optimalizovali jsme WB detekci TLR5 v tkáňových homogenátech ilea a mezenterálních lymfatických uzlin. Otestovali jsme protilátky proti prasečím TLR2, 4 a 9. V ileu skupiny EcN byla zvýšena exprese mRNA TLR5 a TLR9. U skupiny O55 nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v expresi sledovaných TLRs oproti GF skupině. U skupiny LT2 byla zvýšena hodnota exprese TLR2, 4 a 5 v mezenterálních lymfatických uzlinách.

Závěr: Zhodnotili jsme různé přípravy tkáňových homogenátů pro přípravu supernatantů vhodných pro WB. Stanovením exprese TLR2, 4, 5 a 9 na úrovni mRNA jsme dokumentovali změny exprese vybraných TLRs v imunologicky exponovaném ileu a mezenterálních lymfatických uzlinách po kolonizaci/infekci bezmikrobních selat probiotickou bakterií nebo střevními patogeny. Stanovení TLRs na úrovni genového přepisu a na úrovni proteinu nám mohou umožnit získat dobrou představu o regulaci a funkci TLRs.