

ABSTRAKT**Univerzita Karlova v Praze****Farmaceutická fakulta v Hradci Králové****Katedra biochemických věd****Kandidát:**

Mgr. Věra Daňková

Školitel:

Doc. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Název disertační práce:IDENTIFIKACE NOVÝCH FAKTORŮ VIRULENCE INTRACELULÁRNÍHO PATOGENA *FRANCISELLA TULARENSIS*

Předložená disertační práce je zaměřena na studium úlohy bakteriálních tetratricopeptide repeat-like (TPR-like) proteinů v patogenesi infekce. Modelovým organismem byla zvolena vysoce virulentní intracelulární bakterie *Francisella tularensis*, jejíž mechanismus patogenese není doposud plně objasněn.

V první části disertační práce byly na základě bioinformatických studií identifikovány tři geny (*FTS_0201*, *FTS_1680*, a *FTS_0778*) s predikovanou TPR-like doménou. Pro přípravu mutantních kmenů vybraných genů byla využita mutagenese TargeTron. Připravené mutantní kmeny byly použity pro studium role vybraných proteinů v patogenitě a imunogenitě *F. tularensis* s využitím *in vitro* a *in vivo* modelů a dále pro studium zapojení těchto proteinů v adaptačních mechanismech na stres. Z výsledků disertační práce bylo zjištěno, že protein *FTS_1680* je významný pro intracelulární replikaci a plnou virulenci bakterie. Dále byla zaznamenána snížená schopnost proliferace mutantních bakterií *inFTS_1680/200* v *in vivo* systému s následnou eliminací těchto bakterií z orgánů myši kmene BALB/c. S využitím proteomického přístupu byl *FTS_1680* identifikován jako membránově asociovaný protein. V neposlední řadě byla testována schopnost adaptace mutantních bakterií na stresové podmínky, kdy byla prokázána významná role *FTS_1680* proteinu v adaptaci na teplotní stres. Dále byla prokázána schopnost *inFTS_1680/200* vyvolat plnohodnotnou protekci proti virulentnímu kmeni *FSC200* a to díky schopnosti vyvolávat brzkou imunitní zánětlivou odpověď. Zapojením imunoproteomického

přístupu jsme určili profil bakteriálních povrchových proteinů rozpoznávaných myšími séry po imunizaci a infekci virulentním kmenem a jejich srovnáním jsme identifikovali nové FSC200 imunoreaktivní antigeny.

Výsledky disertační práce rozšířily znalost faktorů virulence *F. tularensis* a přispěly tak k možnému objasnění mechanismů virulence. Dále byly identifikovány nové imunoreaktivní antigeny, které by mohly být využity pro tvorbu podjednotkové vakcíny.