

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra biochemických věd

Kandidát: Kateřina Musilová

Školitel: Prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Tutor: Prof. Paul Nguewa, Ph.D.

Název diplomové práce: Molekulární klonování genu *YinP* z *Leishmania major* za použití dvou červených fluorescenčních pXG-mCherry plasmidů. Cenné nástroje pro lokalizaci genové exprese.

Ve 21. století zůstává leishmanióza závažným zdravotním problémem v mnoha rozvojových zemích. Každoročně je hlášeno více než 2 miliony případů a odhadovaná mortalita je více než 20 000 úmrtí každý rok. Léky, které se proti leishmanióze v současnosti používají, vykazují závažné nežádoucí účinky a nakažení lidé si je často nemohou dovolit. Účinné humánní vakcíny zatím nejsou dostupné. Z těchto důvodů, spolu s narůstající rezistencí, jsou nové účinné, bezpečné a dostupné léky proti leishmanióze velice potřeba.

Původcem leishmaniózy jsou zástupci rodu *Leishmania*. Tito parazité jsou přenášeni pouštní muškou rodu *Phlebotomine*, které zároveň leishmaniím poskytují prostředí nezbytné pro jejich vyžívání do infekčních forem. Proces přeměny do stádia infekčního pro savčí hostitele je nazýván metacyklogeneze. V současné době jsou intenzivně zkoumány geny, enzymy a proteiny, které by mohly hrát podstatnou roli během metacyklogeneze. Jedním z genů, který je pravděpodobně významný během vývoje infekčního stádia leishmanií je *YinP*.

Hlavním cílem této studie bylo odhalit, kde v buňce leishmanií je *YinP* exprimován. Za tímto účelem byly připraveny dva plasmidy: pXG-mCherry12-*YinP* a pXG-mCherry34-*YinP*. V těchto vektorech byl gen pro *YinP* vložen bezprostředně vedle genu pro fluorescenční protein (mCherry), aby po expresi v parazitární buňce vznikl fúzní fluorescenční protein. Vytvořené plasmidy byly do *Leishmania major* transfekovány pomocí elektroporace.

Následně fluorescenční mikroskopie odhalila, že červená fluorescence mCherry spojeného s *YinP* proteinem byla lokalizována pouze v části jádra, zatímco parazité transformovaní pXG-mCherry plasmidy bez vloženého genu *YinP* vykazovaly červenou fluorescenci v celé buňce. Naše výsledky tedy ukazují, že *YinP* protein je exprimován jako protein jaderný.