

## Abstrakt

Adenylátcyklázový toxin (CyaA) je klíčovým faktorem virulence bakterie *Bordetella pertusis*, která je původcem černého kašle. CyaA se váže na fagocyty, které exprimují na svém povrchu komplementový receptor 3 a poté katalyzuje rychlou přeměnu ATP na cAMP, které rozvrací buněčnou signalizaci. Zároveň CyaA tvoří uvnitř buněčné membrány kation-selektivní póry, které zapříčiňují únik draslíku z buněčného cytosolu. Enzymaticky neaktivní forma CyaA toxinu, adenylátcyklázový toxoid (CyaA-AC<sup>-</sup>), se používá jako nástroj pro dopravu antigenů již 20 let.

Tato práce se zaměřila především na studium mechanismu působení CyaA toxoidu a toxinu. Zkoumali jsme adjuvantní účinky CyaA toxoidu, jeho kapacitu nořit se do buněčné membrány a možnost jeho využití pro dopravu epitopů z chřipkového viru. Ukázali jsme, že pórotvorná aktivita toxoidu a následná aktivace MAP kináz JNK a p38 jsou klíčové pro adjuvantní účinek toxoidu CyaA-AC<sup>-</sup> a způsobují maturaci dendritických buněk (DC - z angl. dendritic cells), nezávislou na signalizaci TLR (z angl. Toll-like receptor) drah a inflamazómu. K stimulaci dendritických buněk dochází dokonce i *in vivo* a toxoidem aktivované DC jsou pak schopné navodit CD8<sup>+</sup> a CD4<sup>+</sup> T buněčné odpovědi *in vitro* a *in vivo*. Dále jsme ukázali, že prvních 371 aminokyselin je postradatelných pro schopnost CyaA dopravovat vložené epitopy do buněčného cytosolu, a že tudíž role AC domény při procesu penetrace toxinu do buňky je spíše pasivní. Konstrukt CyaA toxoidu s vloženým antigenem HA2 podjednotky hemaglutininu chřipkového viru A navodil látkovou i buněčnou imunitní odpověď v myších bez použití dalšího adjuvans a ochránil je proti infekci homologním i heterologním chřipkovým virem.

Také jsme zkoumali roli CyaA toxinu při infekci. CyaA manipuluje lidské a myší DC stimulované TLR tak, že dochází ke zvýšenému zániku buněčných adhezivních kontaktů, následnému zvýšení chemotaktické migrace a snížení schopnosti dendritických buněk předkládat bílkovinné antigeny a navodit tak proliferaci antigen-specifických CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T buněk. Ukázali jsme, že CyaA manipulace myších DC *in vitro* je závislá výhradně na cAMP signalizaci, nikoli na pórotvorné aktivitě CyaA. Na myším modelu jsme dále prokázali, že pórotvorná aktivita CyaA není nutná pro bakteriální kolonizaci, avšak zvyšuje infiltraci neutrofilů a významně přispívá k plicní patologii během pertusové infekce.