

# ABSTRAKT

Diplomová práce

## **Proteomová charakterizace hostitelské buňky po interakci s intracelulárním patogenem *Francisella tularensis*.**

Pavla Římalová

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

2009

*Francisella tularensis* (*F. tularensis*) je intracelulární gram-negativní bakterie navozující u člověka závažné onemocnění tularémií. Je příkladem bakterie, jejíž mechanismy patogeneze nebyly doposud zcela popsány. K jejich objasnění by mohla významně přispět proteomová charakterizace interakce mezi hostitelem a patogenem. Cílem diplomové práce bylo odhalit změny proteinové výbavy u buněk myší makrofágové linie J774.2, vystavených působení bakterie *F. tularensis* za použití kvantitativní „shotgun“ proteomové technologie. Proteom buněk infikovaných *F. tularensis* ve třech různých časových intervalech (6, 12 a 24 hodin) byl porovnán s proteomem buněk neinfikovaných. Pomocí komerčního kitu ProteoExtract Subcellular Extraction Kit (S-PEK, Calbiochem) byly připraveny čtyři subcelulární frakce. Frakce obohacená o cytosolové proteiny byla dále analyzována a kvantifikována prostřednictvím iTRAQ-HPLC-MS/MS techniky. Tímto přístupem se podařilo identifikovat celkem 248 proteinů, z toho u 37 z nich byly pozorovány změny v produkci proteinů v infikovaných buňkách oproti buňkám neinfikovaným. Po šestihodinovém intervalu infekce bylo odhalena změněná produkce u 12 proteinů, ve dvanáctihodinovém intervalu u 18 proteinů a ve dvaceti čtyřhodinovém intervalu u 19 proteinů. Použitá technologie byla tak prokázána jako vhodný metodický přístup pro proteomovou analýzu studia interakce hostitel-patogen a bude využita i v následujících studiích pro potvrzení a upřesnění pozorovaných změn v proteomu hostitelské buňky infikované *F. tularensis*.