

ABSTRAKT

Adenylát-cyklázový (CyaA, ACT) toxin je jedním z hlavních virulenčních faktorů bakterie *Bordetella pertussis*. Ačkoli se CyaA váže na mnoho typů membrán, předpokládá se, že jeho receptorem je integrin CD11b/CD18, který je exprimován na povrchu myeloidních buněk. CyaA patří do rodiny RTX toxinů-hemolyzinů. CyaA působí na hostitelské buňky dvěma na sobě nezávislými aktivitami. Jednou z nich je přeměna ATP na cyklické AMP, kterou zajišťuje adenylát-cyklázová (AC) doména po translokaci do cytozolu hostitelské buňky, při které dochází ke vstupu vápenatých kationtů do hostitelské buňky. Translokace je pravděpodobně iniciována interakcí monomeru CyaA s cílovou membránou. Druhá aktivita CyaA je tvorba kanálu, selektivního pro kationty, který může způsobit koloidně osmotickou lyzi cílových buněk. Kanálo-tvorná aktivita je zajišťována RTX hemolyzinovou doménou a předpokládá se u ní oligomerizace, i když bylo zjištěno, že únik draselných kationtů z hostitelské buňky způsobuje CyaA ve formě monomeru. Také není jasné, zda by k oligomerizaci CyaA docházelo v roztoku, nebo až po interakci s hostitelskou membránou.

Cílem této práce bylo zkoumat tok sodných iontů na membráně myších makrofágů J774A.1, které na svém povrchu exprimují CD11b/CD18 integrin. Pro dosažení tohoto cíle byly použity fluorescenční metody. Konkrétně se jednalo o sledování změny koncentrace sodných kationtů v cytozolu buněk J774A.1 obarvených sondou SBFI/AM pomocí emisního poměrového měření nebo sondou Sodium Green pomocí sledování změny doby dohasínání v časovém rozlišení.

Dalším cílem práce bylo zkoumání oligomerizace CyaA na různých membránových systémech, mimo jiné i na membránách makrofágů s CD11b/CD18 integrinem. Zde jsme využili fluorescenční metodu měření FRET v časovém rozlišení.