

## Abstrakt

Leucine-rich repeat containing G-protein-coupled receptor 4 a příbuzné LGR5 a LGR6 proteiny představují B podskupinu transmembránových proteinů patřícím k rodině G-protein spřaženým receptorům (GPCRs). LGR4 je exprimován v širokém spektru embryonálních a dospělých tkání. Na určitém genetickém pozadí bývá absence LGR4 spojována s embryonální/perinatální letalitou. Funkce LGR4 je nejvíce svázána se stimulací Wnt dráhy po interakci LGR4 se svými ligandy, R-spondiny. Pro získání nástroje pro klasifikaci LGR4 specifických populací a pro charakterizaci LGR4 interakčních partnerů, jsme vytvořili epitopově značenou LGR4 myš s tripleinfluenza hemagglutininovou značkou (3HA) vloženou do N koncové části proteinu LGR4 ( $Lgr4^{3HA/3HA}$ ).  $Lgr4^{3HA/3HA}$  myš je životaschopná a plodná. Imunohistochemie založená na použití anti-HA protilátky odhalila podobný expresní vzor v tenkém a tlustém střevě, jaký byl již dříve detekován pomocí anti-LGR4 protilátek. V tenkém střevě byl zpozorován silný signál v Panethových buňkách, v rychle se dělících buňkách označovaných jako transit amplifying cells a v buňkách kmenových. Naopak, v tlustém střevě byl zaznamenán nejsilnější signál na vrchní části krypt, který slábnul směrem k bázi krypt. Kromě toho jsme sledovali expresi *Lgr4* i na úrovni mRNA. Zatímco v tenkém střevě byla *Lgr4* mRNA přítomna převážně na dně krypt, v tlustém střevě byl signál více rozptýlený ve střední části krypt. Použitím průtokové cytometrie jsme mohli charakterizovat genovou expresi LGR4 pozitivních buněk tenkého střeva. Dále jsme pomocí anti-HA magnetických kuliček byli schopni imunoprecipitovat LGR4 protein pro hmotnostní spektrometrii, která může být využita pro identifikaci jeho vazebných partnerů.

### Klíčová slova:

Leucine-rich repeat containing G-protein-coupled receptor 4/5 (*Lgr4/5*), tenké střevo, tlusté střevo, imunohistochemie (IHC), western blot (WB), imunoprecipitace (IP), Fluorescenčně aktivovaná průtoková cytometrie (FACS), kvantitativní real-time polymerázová řetězová reakce (qRT-PCR), geneticky modifikovaný myší model, hemagglutininová (HA) značka, TALEN