

Abstrakt

Francisella tularensis označovaná aj ako „tajnostkarsky“ patogén spôsobuje zoonotické ochorenie tularémiu. Unikátnosť tejto intracelulárnej baktérie spočíva v tom, že dokáže infikovať, prežiť a množiť sa vo fagocytujúcich bunkách a uniknúť pritom dohľadu imunitnému systému hostiteľa. Zároveň je vďaka svojej extrémnej infekčnosti, schopnosti spôsobiť ochorenie inhalačnou cestou a absenciou vakcíny zaradená medzi potenciálne biologické zbrane. Vo virulencii zohráva kľúčovú úlohu únik baktérie z fagozómu. Je známe, že sa na ňom podieľa sekrečný systém typu VI a proteíny z ostrova patogenity *F. tularensis*. Avšak presné molekulárne mechanizmy, ktoré baktéria používa, neboli doposiaľ charakterizované. Cieľom práce bolo identifikovať proteíny hostiteľskej bunky, ktoré prostredníctvom interakcie s proteínmi baktérie *F. tularensis* riadia priebeh infekcie vo svoj prospech.

Pre identifikáciu proteín-proteínových interakcií hotiteľ-patogén bol navrhnutý minimálny experimentálny model, ktorý pozostával z produkcie vybraných sekretovaných proteínov *F. tularensis* v hostiteľskej bunke. Bakteriálne proteíny z oblasti ostrova patogenity baktérie *F. tularensis* poddruh *novicida* (VgrG a IglJ) boli sfúzované s epitopovou kotvou FLAG tag a produkované v bunkovej línii HEK 293T. Interakčné partnery boli následne identifikované prostredníctvom afinitnej purifikácie v kombinácii s nanoLC-MS/MS analýzou.

Experimentálne dáta preukázali, že bakteriálny proteín IglJ interaguje s proteínom BAG family molecular chaperone regulator 2 a mitochondriálnym proteínom apoptosis-inducing factor 1. Z výsledkov vyplýva, že IglJ proteín môže ovplyvniť vnútornú cestu apoptózy hostiteľskej bunky. Interakčnými partnermi pre VgrG proteín sú CLIP-associating protein 1, ATP-citrate synthase, Ran GTPase-activating protein 1 a exocyst complex component 2. VgrG proteín môže prostredníctvom interakcie s ATP-citrate synthase ovplyvňovať acetyláciu proteínov alebo redukovať množstvo NO a ROS v bunke. Proteíny exocystového komplexu sa podieľajú na autofágii alebo na maturácii fagozómu. *F. tularensis* prostredníctvom interakcie proteínu VgrG s proteínmi exocystového komplexu môže ovplyvniť schopnosť baktérie prežiť vo fagozóme alebo následne v cytosóle hostiteľskej bunke.

Kľúčové slová: *F. tularensis*, efektor, VgrG proteín, IglJ proteín, protein-proteínové interakcie, interakcie hotiteľ-patogén, AP-MS, SILAC