

Abstrakt

Bakterie *Kingella kingae* byla poprvé izolována v roce 1960 mikrobioložkou Elizabeth O. King a donedávna byla považována za vzácnou příčinu lidských onemocnění. Avšak, za posledních 30 let vzrůstá počet odborných prací ukazujících, že je tato bakterie významným pediatrickým patogenem, který napadá především děti ve věku od 6 měsíců do 3 let a způsobuje u nich hlavně septickou artritidu, osteomyelitidu, infekční endokarditidu a bakteriémii.

K. kingae vykazuje silný cytotoxický účinek vůči nejrůznějším typům hostitelských buněk, který je způsoben sekretovaným cytolyzinem RtxA patřícím do rodiny RTX (Repeats in ToXin) toxinů. RtxA se váže na glykosylované struktury hostitelské buňky, následně se vloží do její cytoplazmatické membrány a vytvoří v ní kation-selektivní póry, což vede k narušení iontové homeostázy a lýze napadené buňky. RtxA je produkován jako neaktivní protoxin proRtxA, jehož aktivace je zprostředkována acyltransferasou RtxC, která přenáší acylové řetězce na dva konzervované lysinové zbytky K558 a K689 v protoxinu. Jako donor acylů využívá acyl přenášející protein acyl-ACP.

V současnosti není jasné, jakým způsobem mezi sebou proteiny RtxC, acyl-ACP a proRtxA vzájemně interagují a které aminokyselinové zbytky jsou za tyto interakce zodpovědné. Cílem diplomové práce bylo na základě testování interakcí RtxC s acyl-ACP a proRtxA, pomocí bakteriálního dvouhybridního systému, identifikovat zbytky, které jsou za tyto interakce zodpovědné. Byly připraveny mutantní varianty ACP a proRtxA se substitucemi zbytků, které by na základě *in silico* predikcí mohly být zodpovědné za interakci těchto proteinů s RtxC. Následně byl testován vliv mutantních variant ACP a proRtxA na interakci s RtxC, přičemž jako zbytky důležité pro interakci s RtxC byly v proteinu ACP nalezeny zbytky D36, D39 a D57 a v proteinu proRtxA zbytek R697. Navíc bylo ukázáno, že se na interakci s RtxC také částečně podílí konzervovaný lysinový zbytek K558 protoxinu, zatímco konzervovaný lysinový zbytek K689 neměl na interakci s RtxC žádný vliv.

Klíčová slova: *Kingella kingae*, RtxA, acyltransferasa, posttranslační modifikace