

ABSTRAKT – CZ

Flebotomové (Diptera, Psychodidae) z rodů *Phlebotomus* a *Lutzomyia* jsou přenašeči parazitů *Leishmania* (Kinetoplastea, Trypanosomatida), původců leishmaniózy. Ve snaze přispět k vytvoření nových strategií kontroly přenosu tohoto onemocnění, jsme se zaměřili na molekulární aspekty interakce mezi imunitou vektoru a patogenem.

Imunita flebotomů se skládá z buněčné a humorální složky, které fungují synergicky, aby zajistily účinnou ochranu proti patogenům. Náš výzkum byl zaměřený na humorální složku imunity flebotomů, konkrétně na její hlavní dráhy (Toll, Imd a Jak-STAT), jejich geny a fungování za různých podmínek, zejména během parazitární infekce.

U *Phlebotomus papatasi* jsme popsali profily exprese genů Toll a Imd drah během různé bakteriální zátěže u larev a během infekce *Leishmania major* u dospělých samic. Dále jsme identifikovali geny pro tři antimikrobiální peptidy (AMP) a sledovali jejich expresi při parazitární infekci. To umožnilo identifikaci defensinu, který byl specifický pro střevo a jehož exprese byla zvýšena během leishmaniové infekce. Prokázali jsme, že umlčení defensinových genů u *P. papatasi* vede k silnější infekci leishmaniemi a negativně ovlivňuje přežití flebotomů. Popsali jsme korelaci mezi Imd dráhou a expresí AMP pomocí umlčení transkripčního faktoru, relish. Zjistili jsme, že lipofosfoglykan leishmanií a bakteriální liposacharidy, mohou vyvolat zvýšenou expresi efektorových molekul, přičemž *attacin* vykazoval nejčasnější a nejdramatičtější změny u obou studovaných druhů, *P. papatasi* a *Lutzomyia longipalpis*. Také jsme zkoumali roli Jak-STAT humorální dráhy během infekce *Leishmania infantum* u *L. longipalpis*. Zatímco u buněčné linie LL5 vedla společná kultivace s *L. infantum* k nadměrné expresi negativních regulátorů dráhy, infekce dospělých samic nevedla k významné změně testovaných genů. Přesto, při použití genového umlčení transkripčního faktoru STAT, jsme zaznamenali sníženou genovou expresi inducibilní oxid syntázy a duální oxidázy, což vedlo k nárůstu parazitů.

Dále jsme se v našich laboratorních podmínkách pokusili zavést protokol pro editaci genomu pomocí CRISPR-Cas9 systému. Se dvěma různými přístupy využívajícími plasmidové konstrukty a přímou injekci sgRNA + Cas9 jsme injikovali více než 14 000 embryí flebotomů. Přesto, že se nám nepodařilo úspěšně detekovat vyřazení genu (knockout), učinili jsme důležité kroky pro budoucí experimenty.