

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Eliška Sokolová

Školitel: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Školitel – konzultant: RNDr. Petra Špidlová, Ph.D.

Název diplomové práce: Vliv Gp46 na funkci HU proteinu bakterie *Francisella tularensis*

Francisella tularensis je vysoce virulentní bakterie a DNA vazebný HU protein představuje jeden z jejích významných faktorů virulence. Nedávno bylo publikováno, že protein Gp46 inhibuje funkci HU proteinu bakterie *Bacillus subtilis* (Zhang et al., 2022). Hlavním cílem předkládané diplomové práce bylo zjistit, zda protein Gp46 bakteriofága SPO1 *B. subtilis* funguje i jako inhibitor HU proteinu *F. tularensis*. Jelikož jsou HU proteiny vysoce konzervované, mohl by Gp46 fungovat jako univerzální inhibitor všech HU proteinů.

Na pracovišti (Katedra molekulární patologie a biologie, VLF Univerzita obrany) bakteriofág SPO1, ani jeho DNA, nebyl k dispozici, proto bylo nejprve nutné metodou overlap PCR získat gen *gp46* kódující protein Gp46. Následně byl protein Gp46 pomocí afinitní chromatografie purifikován z expresního systému *E. coli*. V podmínkách *in vivo* i *in vitro* jsme studovali, zda a jak protein Gp46 ovlivňuje životaschopnost a virulenci *F. tularensis*. Pomocí EMSA metody jsme prokázali, že DNA vazebná aktivita HU proteinu *F. tularensis* je *in vitro* inhibována proteinem Gp46 bakteriofága SPO1 *B. subtilis*. Dále jsme ukázali, že růst divokého kmene *F. tularensis* FSC200 exprimujícího Gp46 *in trans* (FSC200/Gp46) odpovídal kinetice růstu delečního mutantního kmene postrádajícího HU protein (FSC200/ Δ HU) a lišil se od růstu divokého kmene FSC200. Bakteriální proliferace kmene FSC200/Gp46 uvnitř kostně-dřeňových makrofágů byla srovnatelná s replikací delečního mutantního kmene FSC200/ Δ HU, přičemž účinnost replikace obou kmenů byla statisticky významně snížena ve srovnání s účinností replikace divokého kmene FSC200. Tyto výsledky v kombinaci s poznatky z nedávno publikované studie o proteinu Gp46 nasvědčují, že protein Gp46 by mohl být univerzálním inhibitorem bakteriálních HU proteinů.

Klíčová slova:

Francisella tularensis, tularémie, virulence, HU protein, Gp46