

## ABSTRAKT

**Cíl práce:** Cílem diplomové práce bylo zavedení metodiky *in vitro* infekce lidským cytomegalovirem (HCMV) kmene VR-1590, studium průběhu *in vitro* HCMV infekce xCelligence RTCA metodikou a použití ionizujícího záření k zajištění imunosuprese u hostitelských fibroblastů. Detekce a analýza vybraných signálních drah imunosuprimovaných hostitelských buněk za použití 1D elektroforézy, Western blotu, imunodetekce a protilátkové PathScan technologie.

**Metody:** V rámci této práce bylo pracováno s infekcí HCMV kmene VR-1590 a lidskými embryonálními fibroblasty linie MRC-5. Byly využity základní laboratorní techniky, dále ionizujícího gama záření produkovaného uzavřeným zářičem <sup>60</sup>Co jako faktoru imunosuprese. Změny signálních drah v hostitelských fibroblastech byly sledovány pomocí PathScan protilátkové technologie a dále ověřovány pomocí jednorozměrné elektroforézy s využitím western blot techniky.

**Výsledky:** Buněčná proliferace hostitelských buněk byla ověřena v reálném čase. K přípravě vzorků byly vytvořeny modelové situace využívající infekci optimalizovanou dávkou infekce HCMV a následným navozením imunosuprese či modelu s navozenou imunosupresí. Expres detekovaných signálních molekul (p53, Bad, Kaspáza 3, Stat1, Stat3, ERK1/2 a dalších) ukazuje, že buňky ovlivněné ionizujícím zářením patrně zanikají cestou apoptózy, protože proapoptotické markery vykazovali zvýšenou expresi s rostoucí dávkou záření. Z našich výsledků vyplývá, že linie fibroblastů bez vlivu infekce je značně radiorezistentní, tomu odpovídají změny v expresi pro a anti-apoptotických markerů.

**Závěr:** CMV moduluje v časných fázích infekce signální dráhy v rámci přirozené i adaptivní imunity. Vlivem ionizujícího záření byla u infikovaných buněk prokázána exprese proapoptotických proteinů vedoucí k aktivaci NF-κB signální dráhy, která řídí genevou expresi protizánětlivých cytokinů nutných k funkční synchronizaci buněk imunitního systému, ale také k redukci interferonové produkce, která je ovšem potřebná k redukci virové replikace uvnitř infikovaných buněk a k inhibici replikace DNA.

**Klíčová slova:** lidský cytomegalovirus; ionizující záření; apoptóza; imunosuprese.