

Streszczenie

W podjętych badaniach prześlędzono komórkową i humoralną odpowiedź immunologiczną barciaka większego *Galleria mellonella* na egzotoksynę A *Pseudomonas aeruginosa*. W hemolimfie owadów immunizowanych *exoA* wykazano spadek całkowitej liczby hemocytów, przede wszystkim granulocytów i plazmatocytów. Po barwieniu fluorescencyjnym zaobserwowano, że komórki wykazywały cechy charakterystyczne dla apoptotycznej i autofagalnej śmierci komórek, m.in. wakuolizację cytoplazmy i kondensację chromatyny. Metodą cytometrii przepływowej wykazano znaczny wzrost liczby hemocytów fosfatydyloseryno-dodatnich i z aktywną kaspazą 3, co świadczy o indukcji apoptozy przez *exoA*. Badania parametrów odpowiedzi humoralnej w hemolimfie owadów immunizowanych dowiodły, że *exoA* powodowała inhibicję aktywności oksydazy fenolowej (8-15 godz. od iniekcji) oraz znaczący spadek aktywności typu lizozymu. Ponadto w hemolimfie nie wykazano aktywności przeciwko bakterii *E. coli* a na żelach SDS-PAGE nie zaobserwowano prążków peptydowych o masie cząsteczkowej poniżej 6,5 kDa, co wskazuje na nieobecność peptydów przeciwdrobnoustrojowych. W hemolimfie obserwowano spadek poziomu apoLp-III, szczególnie od 4 do 15 godz. od podania owadom *exoA*, następnie ilość białka stopniowo rosła osiągając po 24 godz. poziom obserwowany w grupie kontrolnej. Wykazano korelację w czasie pomiędzy zmianami ilości apoLp-III w ciele tłuszczowym oraz hemocytach badanych gąsienic. W obu tkankach wykryto początkowy wzrost ilości apoLp-III (1-8 godz.) oraz spadek po 15-18 godz. od iniekcji *exoA*. Z kolei po 24 godz. poziom apoLp-III w hemocytach wzrósł około 2-krotnie, podczas gdy w ciele tłuszczowym utrzymywał się na obniżonym poziomie. Elektroforeza dwukierunkowa oraz immunoblotting z przeciwciałami przeciwko apoLp-III ujawniły zmiany w profilu izoform apoLp-III w badanych tkankach. Zaobserwowano dwie izoformy apoLp-III o *pI* ~6,5 i ~6,1 w hemolimfie, o *pI* ~6,5 i ~5,9 w hemocytach oraz jedną izoformę o *pI* ~6,5 w ciele tłuszczowym z dodatkowym polipeptydem o *pI* ~6,9. Podanie owadom *exoA* spowodowało w hemolimfie spadek poziomu obu izoform apoLp-III o około 30%. W hemocytach wykryto jedynie 65% spadek ilości izoformy o *pI* ~5,9, natomiast pojawił się dodatkowy polipeptyd o *pI* ~5,2. Nie zaobserwowano istotnych różnic w ilości głównej izoformy w ciele tłuszczowym, natomiast polipeptyd o *pI* ~6,9 zanikł całkowicie.

Słowa kluczowe: *Galleria mellonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, egzotoksyna A, interakcje patogen-gospodarz, odpowiedź odpornościowa

Bartłomiej Kuczyński