

Abstrakt

NK buňky (z angl. natural killer cells – „přirozené zabijácké“ buňky) jsou buňky nespecifické imunity a hrají důležitou roli v imunitní odpovědi organismu. Tyto buňky jsou schopny spouštět cytotoxické mechanismy při kontaktu s infikovanými, stresovanými či nádorovými buňkami. Spuštění mechanismů závisí na přítomnosti aktivačních a inhibičních ligandů na povrchu buněk. Na povrchu NK buněk jsou aktivační a inhibiční receptory, které po vazbě na příslušné ligandy vysílají signál NK buňce.

Jeden z aktivačních receptorů NK buněk je NKp46. Jedná se o receptor ze skupiny NCR (z angl. natural cytotoxicity receptor – receptory přirozené cytotoxicity). Tento receptor má mnoho ligandů a jedním z nich je adhesin Epa1 z kvasinky *Candida glabrata*. Tato práce se zaměřuje na přípravu plasmidů a produkci extracelulární části receptoru NK buněk NKp46 a jeho ligandu adhesinu Epa1. Interakce receptoru a jeho ligandu bude zkoumána později.

Plasmidy obsahující geny NKp46 a Epa1 byly úspěšně připraveny a ověřeny DNA sekvenací. Protein NKp46 byl produkován v eukaryotickém expresním systému buněčné linie HEK293S GnTI. Byla připravena stabilně transfekovaná linie HEK293S GnTI buněk a protein NKp46 byl následně extracelulárně sekretován a izolován z kultivačního média pomocí chelatační afinitní chromatografie a následně purifikován pomocí gelové permeační chromatografie. Protein Epa1 byl produkován v bakteriálním expresním systému *Escherichia coli* a následně izolován z buněčného lyzátu rovněž pomocí kombinace chelatační afinitní a gelové permeační chromatografie.

Klíčová slova

NKp46, Epa1, NK buňka, rekombinantní exprese, HEK293