

## **Abstrakt**

NK buňky jsou schopné rychle rozpoznat buňky infikované virem nebo také nádorové buňky a podílí se na regulaci odpovědi adaptivní imunity, proto představují velmi důležitou součást přirozené imunity. Funkce NK buněk jsou zajišťovány souhrou mezi jejich receptory, které dohromady vytváří složitý regulační systém. Vyřešení struktury jednotlivých receptorů by mohlo přispět k porozumění NK-buněčné biologie.

Předkládaná dizertační práce je věnována řešení struktury inhibičního receptoru C-lektinového typu (CTLR) Nkrp1b, především je pak zaměřena na ty části jeho struktury (krček, smyčka a oligomerní stav), které mohou ovlivnit celkovou konformaci receptoru a také jeho interakce. Vazba receptoru Nkrp1b s jeho ligandem, proteinem Clr-b, je imunologicky významná, jelikož nezávisle reguluje aktivitu NK buněk a monitoruje změny, které nejsou detekovatelné cytotoxickými T lymfocyty.

Aby mohly být studovány jednotlivé strukturní charakteristiky proteinu Nkrp1b, byly připraveny dvě jeho varianty: celá ektodoména a ligand-vazebná doména postrádající krček. S využitím několika různých technik hmotnostní spektrometrie v kombinaci s homogním modelováním a molekulární dynamikou byla navržena struktura receptoru Nkrp1b včetně jeho monomerního a dimerního uspořádání. Dále byl zkoumán oligomerizační stav receptoru připraveného v jeho plné délce v savčích buňkách pomocí western blotu. Bylo zjištěno, že jak Nkrp1b připravené v bakteriích, tak i v savčích buňkách jsou směsí monomerů a homodimerů. Nakonec byla s využitím fluorescenční mikroskopie testována biologická aktivita forem proteinu Nkrp1b, kdy se ukázalo, že pouze monomerní varianty proteinu (ať už s krčkem, nebo bez) jsou schopny interakce s ligandem.

Na základě získaných dat je zjevné, že krček nemá vliv na konformaci proteinu Nkrp1b ani na jeho dimerizaci, jak se po desetiletí předpokládalo, a stejně tak ani neovlivňuje schopnost interakce receptoru s ligandem. Přestože se Nkrp1b vyskytuje i ve formě homodimeru, biologicky aktivní jsou pouze jeho monomerní formy. To by naznačovalo, že homodimery by mohly zastávat regulační funkci.