

## Abstrakt

Jednou ze složek nespecifického imunitního dohledu organismu jsou NK buňky (z angl. natural killer cells, přirozeně zabíječské buňky). Úkolem NK buněk je vyvolat apoptosu u cílových buněk (například buněk rakovinných či virově infikovaných). Cílové buňky jsou rozpoznávány pomocí povrchových receptorů. NK buňky mají na svém povrchu aktivační a inhibiční receptory.

Mezi aktivační receptory patří receptor přirozené cytotoxicity NKp46. Jedním z několika dosud popsaných ligandů tohoto receptoru je adhesin Epa1 (z angl. epithelial adhesin 1) kvasinky *Candida glabrata*. Neschopnost těla spustit imunitní odpověď a bránit se kvasinkové infekci způsobuje vážné komplikace u pacientů s hematologickým onemocněním, tzv. invazivní kandidózy. NK buňky se začínají využívat také v rámci imunoterapie nádorů, konkrétně bispecifické fúzní proteiny, které se jednou částí váží na receptor NK buňky a druhou částí na nádorový antigen.

Tato práce se zaměřuje na přípravu rekombinantního proteinu NKp46. Pro studium vlivu O-glykosylace na vazbu ligandu byl připraven mutant glykosylačního místa NKp46 T225A. Proteiny byly produkovány stabilně transfekovanými liniemi HEK293S GnTI<sup>-</sup> a HEK293T.

Protein Epa1 byl produkován v expresním systému *E. coli* a poté purifikován. Schopnost vazby proteinu Epa1 a laktosy byla ověřena pomocí dvou měření v roztoku (termoforézy a izotermální kalorimetrie). Pro studium interakce proteinu NKp46 s proteinem Epa1 byly navrženy bispecifické fúzní varianty ligandu Epa1 obsahující nanoprotlátka cílící na receptor HER2.

Vazba Epa1 a fúzních proteinů Epa1 na povrch buněk byla ověřována pomocí průtokové cytometrie. Pro studium vazby byly využity transfekované linie HEK293T produkující receptor NKp46 a NKp46 T225A, buněčná linie NK92MI a buněčná linie SK-BR3 produkující receptor HER2 na svém povrchu. Specifickou vazbu variant proteinu Epa1 na povrch buněk se nepodařilo naměřit.

**Klíčová slova:** NK buňka, NKp46, Epa1, fúzní protein, nanoprotlátka, HER2, HEK293