

ABSTRAKT

Předmětem této práce je receptor NKp80, také známý jako KLRF1 (z angl. *killer cell lectin-like subfamily F, member 1*). Je to aktivační receptor tvořící homodimery na povrchu NK buněk. Váže se na ligand AICL, který se přirozeně nachází na myeloidních buňkách. Pokud dojde k výraznému navýšení exprese ligandu AICL, např. na nádorových buňkách, stává se buňka terčem pro NK buňky, které exprimují receptor NKp80. Komplex NKp80:AICL je potenciálním cílem imunoterapeutické léčby myeloidní leukémie.

Cílem práce byla produkce a purifikace extracelulární domény receptoru NKp80 a jejích variant, kde v její části tzv. „stalk“ oblasti byly jednotlivé cysteiny nahrazeny seriny. Pomocí zavedených mutací zde byl sledován vliv na tvorbu homodimerů. Proteiny byly produkovány za použití stabilně transfekovaných linií buněk HEK293S GnTI⁻. Celkem bylo produkováno sedm mutantů se všemi možnými kombinacemi mutací tří cysteinů „stalk“ oblasti. Proteiny pak byly analyzovány pomocí analytické gelové permeační chromatografie, diferenční skenovací fluorimetrie, a nakonec byla pomocí deglykosylace ověřena přítomnost více glykosylačních forem receptoru NKp80.

Z výsledků je zřejmé, že u žádné varianty receptoru NKp80 nedochází ke tvorbě kovalentních homodimerů, ale z hodnoty elučního objemu proteinu můžeme předpokládat, že v roztoku dochází k tvorbě dimerů nekovalentních. Dále u NKp80 nebyla zjištěna nijak výrazná korelace mezi pozicí mutace či kombinací mutací a úrovní exprese či termální stability. U všech proteinů byla potvrzena přítomnost více glykosylačních forem.

KLÍČOVÁ SLOVA

NK buňka, NKp80, AICL, imunoterapie, HEK293S GnTI⁻