

Abstrakt

Receptor CD69 je považován za marker aktivovaných lymfocytů a je exprimován na všech místech aktivní imunologické odpovědi. Fyziologicky se vyskytuje jako disulfidicky vázaný homodimer, ovšem z modelu je patrné, že k dimerizaci kromě disulfidického můstku značnou mírou přispívá také kontakt Q93 jedné a D88 spolu s E87 na druhé podjednotce a ještě výrazněji R134 jedné a A136 a Y135 druhé. Na základě tohoto pozorování byly Q93, R134 nebo oboje mutovány na alaniny a následně ukázáno, že jako monomer se chovala jen dvojnásobně zmutovaná forma. Tato skutečnost měla také významný vliv na vazbu sacharidových ligandů, neboť monomerní forma vykazovala výrazně nižší afinitu ke GlcNAcu (K_d řádově 10^{-5} M), než forma dimerní (K_d řádově 10^{-6} M) nebo dokonce delší kovalentně dimerní konstrukty (K_d řádově 10^{-7} M). Oproti pozorovanému kratšímu času eluce z gelově filtrační kolony po vysycení receptoru ligandem (GlcNAc), který by mohl naznačovat změnu struktury, však experimenty v analytické ultracentrifuze neukázaly žádnou změnu sedimentačního koeficientu, podobně ani porovnání naměřených HSQC NMR spekter před a po vysycení ligandem neodhalily žádné výrazné změny.

Vodíko-deuteriová výměna je chemický děj, při kterém je kovalentně vázaný atom vodíku vyměněn za deuterium, nebo naopak. Automatické vyhledávání peptidů v hmotnostních spektrech a určování jejich monoisotopických hmot je založeno na přirozených výskytech jednotlivých isotopů, průměrném prvkovém složení peptidů a z toho vypočítaného tvaru isotopové obálky, a proto nejsou nástroje pro automatické hledání peptidů obsažené v běžných softwarových aplikacích schopny rozpoznat obálky deformované a posunuté nepřirozeným nadbykem deuteria po H/D výměně. Pro vyhodnocení takových dat bylo tedy vyvinuto makro pro aplikaci DataAnalysis (Bruker Daltonics) napsané v jazyce Visual Basic for Application (VBScript) a dále sada nástrojů pro vizualizaci naměřených dat.

Klíčová slova

CD69, struktura CD69, vzba ligandů, H/D výměna, automatické vyhodnocení MS dat, vizualizace dat H/D výměny