

DCL-1 (CD302) je transmembránový C-lektinový receptor typu I, který je exprimován na monocytech, makrofázích, granulocytech a dendritických buňkách. Jeho extracelulární doména však postrádá aminokyselinové motivy, esenciální pro vazbu sacharidových struktur v přítomnosti vápenatých kationtů, což naznačuje, že nemá klasickou vazebnou aktivitu typickou pro C-lektinové receptory jako například manosový receptor. Žádné jeho exogenní nebo endogenní ligandy ovšem nebyly dosud nalezeny. V důsledku vnitřní kolokalizace s F-aktinem lze předpokládat, že tento nekonvenční lektinový receptor hraje důležitou roli nejen v endocytóze a fagocytóze, ale také v buněčné adhezi a migraci. Receptor DCL-1 byl poprvé identifikován jako genetický fúzní partner lidského multilektinového receptoru DEC-205 v buněčné linii Hodgkinova lymfomu.

Experimentální část této práce se zabývá identifikací zapojení disulfidických vazeb a získání dat k validaci krystalové struktury DCL-1. Nejprve byla provedena optimalizace podmínek produkce a renaturace za účelem získat co největší množství proteinu DCL-1, resp. jeho extracelulární domény.

Optimální podmínky byly využity k přípravě proteinu, se kterým bylo provedeno štěpení v gelu specifickými endopeptidasami za přítomnosti cystaminu následované LC-MS analýzou. Porovnáním naměřených dat z LC-MS s databází hmot peptidových fragmentů generovaných softwarem bylo zjištěno, jakým způsobem jsou spárovány cysteiny v receptoru DCL-1.

Pro náhled na terciární strukturu receptoru DCL-1 byly provedeny experimenty chemického síťování v kombinaci s LC-MS analýzou. Za tímto účelem byla do reakcí s proteinem použita dvě homobifunkční činidla (DSS a DSG) a jedno heterobifunkční (EDC). Získaná spojení uvnitř proteinu byla ověřena na modelu krystalové struktury DCL-1.