Abstrakt

Přirozeně cytotoxické buňky hrají zásadní roli v nespecifické imunitě. I bez antigenně specifických receptorů na svém povrchu jsou schopny výkonné obranyschopnosti. Rozeznávají jak „cizí“, tak tělu vlastní molekuly, respektive absenci tělu vlastních molekul, konkrétně MHC glykoproteinů I. třídy, na površích cílových buněk. Jsou schopny rozeznat virem napadené a nádorové buňky v organismu. Pokud dojde ke kontaktu s buňkou nesoucí abnormálně málo MHC glykoproteinů I. třídy, je to pro přirozenou zabíječskou buňku („natural killer cell“, NKC) signál, že tato buňka je například napadená virem. I bez předchozí stimulace, proliferace a diferenciace NK buňka spouští apoptózu cílové buňky. Je také schopna spustit zánětlivé reakce produkcí chemokinů a cytokinů. Výsledná reakce je vždy souhrou aktivačních a inhibičních signálů, které buňka přijímá ze svého okolí. Nejnovější výzkumy ukazují, že cílená modulace NK buněk vede ke zmírnění komplikací při transplantaci kostní dřeně. Zároveň mají potenciál v imunoterapiích, např. při léčbě autoimunitních onemocnění. Z tohoto důvodu jsou NK buňky velmi studovanou skupinou buněk. Tato práce se zabývá produkcí Clrb („C-type-lectin-related protein b“). Tento protein je ligandem pro inhibiční receptor potkaních NK buněk NKR-P1B. Pokud napadená buňka na svém povrchu exprimuje Clrb, je schopna uniknout imunitní odpovědi. Vektor pro Clrb byl připraven rekombinantním způsobem. Produkce proteinu proběhla v lidských embryonálních buňkách č. 293 s jednoduchou glykosylací (HEK293S GnTI$^-$). Produkce proteinu v monomerní formě byla ověřena metodou SDS-PAGE, dále byl protein charakterizován pomocí analytické ultracentrifugace a proteinové krystalizace.

Klíčová slova

rekombinantní exprese, tranzientní transfekce, HEK293S GnTI$^-$, NK buňky, receptor, Clrb