

# OPRAVNÝ LÍSTEK K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

## Produkce a purifikace rekombinantního receptoru Clrb

Tereza Prokopová

Praha, 2015

### 4.1.6. Ligace insertu do vektoru (str. 33)

Pro přípravu ligační směsi se obvykle volí poměr insert:vektor jako 5:1 nebo 10:1. V mém případě jsem zvolila poměr přibližně 5:1. Bylo smícháno celkem 100 ng insertu a 21,6 ng vektoru.

### 4.2.8. Vyskohustotní transfekce HEK293S buněčné linie (str. 38)

Množství přidané transfekční směsi se často volí tak, aby se výsledná koncentrace buněk v suspenzi, po přidání transfekční směsi, snížila z  $25 \cdot 10^6$  buněk. $\text{ml}^{-1}$  zhruba na  $20 \cdot 10^6$  buněk. $\text{ml}^{-1}$ . V mém případě se po přidání transfekční směsi (celkem 2,7 ml) ke kultuře buněk jejich hustota snížila z původních  $25 \cdot 10^6$  buněk. $\text{ml}^{-1}$  na  $21,4 \cdot 10^6$  buněk. $\text{ml}^{-1}$ .

### 4.10.1. Měření koncentrace proteinu (str. 40)

Z primární aminokyselinové sekvence purifikovaného proteinu byl spočítán, pomocí programu ProtParam (dostupného online na [web.expasy.org](http://web.expasy.org)), teoretický extinkční koeficient ( $\epsilon_{280} = 48150 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Pomocí tohoto koeficientu byla dle Lambert-Beerova zákona spočítána skutečná koncentrace purifikovaného proteinu ( $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ).

## 8. Seznam citované literatury (str. 55-57)

- [1] HOŘEJŠÍ V., BARTUŇKOVÁ J.: Základy imunologie. 4. vydání, Praha, Triton (2009)
- [2] GODFREY, D.I., MACDONALD, H., KRONENBERG, M., SMYTH, M., VAN KAER, L.: NKT Cells: What's in a Name?. *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 4 (2004) 231-237
- [3] BRIGL, M., BRENNER MB.: CD1: antigen presentation and T cell function. *Annu. Rev Immunol.* 22 (2004) 817-890
- [4] dostupné online 10.3.2015  
<http://humanphysiology.wikispaces.com/08-+Immune+System>
- [5] dostupné online 12.4.2015  
<http://medquarterly.com/mq88/index.php/nimmunoinfectious/article/26cellsorgans-and-tissues-of-the-immune-system>
- [6] ROZENBERG G.: Microscopical Haematology: a practical guide for the laboratory, 3<sup>th</sup> edition, Elsevier Australia (2011)
- [7] GREENBERG, A. H.: The Origins of the NK Cell, Or a Canadian in King Ivan's Court. *Clin Invest Med.* vol. 17 (1994) 626-631
- [8] BIASSONI R., COLIGAN, J., MORETTA, L.: Natural Killer Cells in Healthy and Diseased Subjects, *J Biomed Biotechnol.* vol. 2011 (2011) 1-4
- [9] KIESSLING, R., KLEIN, E., WIGZELL, H.: Natural killer cells in the mouse. *Eur J Immunol.* vol. 5 (1975) 117-121
- [10] dostupné online 24.3.2015 <http://www.conkwest.com/natural-killer-cells>
- [11] MALE, D., BROSTOFF, J., ROTH, D., ROITT, I.: Immunology, 7<sup>th</sup> edition, Elsevier (2006)
- [12] COOPER, M., FEHNIGER, T., CALIGIURI, A.: The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol.* vol. 22 (2011) 633-640
- [13] GRÉGOIRE, C., CHASSON, L., CARMELO, L., TOMASELLO, E., GEISSMANN, F., VIVIER, E., WALZER, T.: The trafficking of natural killer cells. *Immunol Rev.* 220 (2007) 169-182
- [14] MORETTA A., BOTTINO, C., MINGARI, MC., BIASSONI, R., MORETTA, L.: What is a natural killer cell? *Nat Immunol.* 3 (2002) 6-8
- [15] COOPER M, FEHNIGER T, TURNER, S.: Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56bright subset. *Blood.* vol. 97 (2010) 3146-3151
- [16] VIVIER E., SPITS H., CUPEDO T.: Interleukin-22-producing innate immune cells: new players in mucosal immunity and tissue repair? *Nat Rev Immunol.* vol 4 (2009) 229-234
- [17] ASHKAR A., DISANTO, J., CROY, B.: Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *J Exp Med.* vol. 2 (2000) 259-270
- [18] HAO L., KLEIN J., MASATOSHI N.: Heterogeneous but conserved natural killer receptor gene complexes in four major orders of mammals. *Proc Natl Acad Sci USA.*, vol. 103 (2006) 3192-3197
- [19] SMYTH, M., HAYAKAWA, Y., YAGITA, H.: New aspects of natural-killer-cell surveillance and therapy of cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2 (2002) 3192-3197
- [20] VIVIER E., UGOLINI S.: Poster on NK cells: receptors and functions. *Nat. Rev. Immunol.* vol. 10 (2012) 339-352
- [21] WALTZ, C., LONG, E.: Signal Transduction During Activation and Inhibition of Natural Killer Cells. *Curr. Protoc. Immunol.* vol. 11 (2010) 1-7
- [22] YOKOYAMA W., PLOUGASTEL B.: Immune functions encoded by the natural killer gene complex. *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 3 (2003) 304-314
- [23] BARTEL, Y., BAUER, B., STEINLE, A.: Modulation of NK cell function by genetically coupled C-type lectin-like receptor/ligand pairs encoded in the human natural killer gene complex. *Front. in Immunol.* vol. 4 (2013)1-10
- [24] KIRKHAM CH., CARLYLE J.: Complexity and diversity of the NKR-P1:Clr (Klrb1:Clec2)

- recognition systems, *Front. in Immunol.* 2 (2014) 1-16
- [25] AUST J., GAYS F., et al.: The Expression and Function of the NKRP1 Receptor Family in C57BL/6 Mice. *J Immunol.* vol. 183 (2009) 106-116
- [26] dostupné online 10.5.2015  
[www.geneaid.com/sites/default/files/DF13.pdf](http://www.geneaid.com/sites/default/files/DF13.pdf)
- [27] dostupné online 22.4.2015  
<http://www.geneaid.com/products/plasmid-dna-purification/plasmid-kit-miniprep>
- [28] dostupné online 4.5.2015  
<http://www.zymoresearch.com/downloads/dl/file/id/166/t3001i.pdf>
- [29] dostupné online 17.3.2015  
[www.mn-net.com/Portals/8/attachments/Redakteure\\_Bio/Protocols/Plasm%20DNA%20Purification/SP\\_NBXtra\\_LargeConstructs.pdf](http://www.mn-net.com/Portals/8/attachments/Redakteure_Bio/Protocols/Plasm%20DNA%20Purification/SP_NBXtra_LargeConstructs.pdf)
- [30] dostupné online 20.4.2015  
[http://www.modernibiofyzika.cz/kurzy/OU/2011/OU\\_zaklad\\_kurz\\_2011.pdf](http://www.modernibiofyzika.cz/kurzy/OU/2011/OU_zaklad_kurz_2011.pdf)
- [31] dostupné online 10.3.2015  
[www.kenkyuu.net/js/nacalc/html](http://www.kenkyuu.net/js/nacalc/html)
- [32] dostupné online 10.4.2015  
[www.gelifesciences.com/gehcls\\_images/GELS/Related%20Content/Files/1314807262343/litdoc71501796\\_20140108234952.pdf](http://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content/Files/1314807262343/litdoc71501796_20140108234952.pdf)
- [33] dostupné online 14.5.2015  
[web.expasy.org](http://web.expasy.org)
- [34] VANĚK, O., BEZOUŠKA, K.: *Chem. Listy.* 104 (2010) 1155-1162
- [35] dostupné online 10.5.2015  
[www.jphilo.mailway.com](http://www.jphilo.mailway.com)
- [36] SCHUCK, C.: *Biophys J.* 78 (2000) 1606-1619
- [37] dostupné online 10.5.2015  
[www.analyticalultracentrifugation.com](http://www.analyticalultracentrifugation.com)
- [38] POLÁCHOVÁ E.: Příprava expresních vektorů regulujících buněčný cyklus a apoptózu pro optimalizaci expresního systému HEK293 buněčné linie: Bakalářská práce PřF UK Praha, katedra biochemie (2014)
- [39] VOET D., VOETOVÁ J.: *Biochemistry*, Victoria Publishing, Praha (1995)
- [40] NETTLESHIP, J.: *Structural Biology of Glycoproteins*. InTech (2002)