Abstrakt

NK buňky mají důležitou roli v nespecifické imunitě organismů. Jejich schopností je rozpoznat a zabít nádorové a virově infikované buňky bez předchozí senzitizace antigenem. Jejich funkce je usměrňována množstvím stimulačních a inhibičních receptorů interagujících s ligandy na cílové - nádorové či infikované buňce. Tato práce se zabývá přípravou a studiem komplexu potkaního NK buněčného inhibičního receptoru NKR-P1B („natural killer cell receptor - protein 1B“) a jeho ligandu Clrb („C-type lectin-related ligand b“). Clrb spouští inhibici NKR-P1B, což znamená, že pokud buňka exprimuje Clrb, nebude zničena. Při infekci potkaním cytomegalovirem ztrácí buňka ze svého povrchu Clrb a není tedy zabráněno jejímu zničení. Buňky infikované tímto virem se brání zničení pomocí exprese virového genu C-lektinového typu RCTL, jenž je homologem Clrb.

Pro rekombinantní přípravu rozpustné formy těchto dvou receptorů potkaních NK buněk byla použita tranzientní transfekce linie lidských embryonálních ledvinných buněk 293 s jednoduchou glykosylací (HEK293S GnTI^{-}). Nativní formy receptorů - disulfidicky vázané homodimery - byly připraveny jako fúzní konstrukty s IgG Fc (s pomocí vektoru pYD5), které po odštěpení TEV proteasou poskytují čistě dimerní formu extracelulární části receptorů bez jakékoliv afinitní kotvy. Komplex NKR-P1B s Clrb byl charakterizován pomocí anizotropie fluorescence a rezonance povrchového plazmonu. Samotný ligand Clrb byl použit ke krystalizaci za účelem rozluštění jeho struktury.

Klíčová slova

NK buňka, receptor, NKR-P1, Clrb, HEK293, SPR, proteinová krystalografie