Abstrakt

Téměř ve všech dějích živých buněk hraje interakce mezi proteiny důležitou roli a funkce mnohých proteinů je závislá na jejich specifické interakci s ostatními biomolekulami. Pro vývoj molekul vhodných pro diagnostiku, medicínu a biotechnologie by bylo velmi přínosné, kdybychom měli k dispozici nástroje k ovlivňování interakcí mezi proteiny. Tato práce se zabývala specificitou interakcí mezi proteiny na modelovém příkladu receptoru 1 pro interferon gama (IFNgR1) a jeho přirozeném vazebném ligandu interferonu gama (IFNg), jehož funkce je důležitá pro přirozenou imunitu.

Při hledání mutací proteinu IFNgR1, které by měly měnit jeho vazbu (zvýšit nebo snížit) k IFNg, byla použita počítačová *in silico* analýza dostupných krystalových struktur komplexu mezi IFNgR1 a IFNg. Záměny aminokyselin byly počítačově modelovány a jejich vliv na interakci byl počítán programem FoldX. Všechny varianty receptoru 1, které vyhovovaly kritériím výběru, byly produkovány v bakterii *Escherichia coli,* dále purifikovány, charakterizovány a jejich interakce byla změřena na přístroji SPR, jenž měří povrchovou rezonanci plazmonů (Surface Plasmon Resonance).

První skupina variant IFNgR1 obsahovala mutace na interakčním rozhraní s IFNg. Z SPR měření vyplývá, že většina těchto variant vykazovala stejnou vazbu k IFNg jako nezměněný „wild-type“ receptor, několik variant mělo vazbu lehce zvýšenou, nicméně další varianty měly vazbu silnější. Druhá skupina variant obsahovala mutace, které se nacházely buď přímo, nebo v blízkém okolí kavit uvnitř molekuly IFNgR1. Tento přístup je méně obvyklý. Ačkoliv výsledky ukazovaly, že tyto mutace samy o sobě ovlivňují vazbu mezi receptorem a IFNg velmi málo, dvě varianty kombinující mutaci na rozhraní s mutací v kavitě měly výrazně zvýšenou vazbu.

Naše výsledky ukázaly, že lze získat varianty IFNgR1 s vyšší vazbou k IFNg pomocí kombinace experimentálních přístupů spolu s počítačovými návrhy, které využívají poměrně jednoduché a přístupné protokoly. Vývoj nových molekul s vysokou afinitou pomáhá k lepšímu pochopení sil, které se uplatňují při interakcích mezi proteiny. Tyto nově vyvinuté mutanty přirozených proteinů by se rovněž mohly stát základem pro nové diagnostické nástroje.