

ABSTRAKT

NK buňky (z angl. natural killer cells, přirozeně zabíječské buňky) hrají klíčovou roli při rozpoznávání a ničení nádorových, infikovaných nebo jinak pozměněných buněk. Na svém povrchu nemají antigenně specifické receptory, proto je řadíme mezi složky přirozené imunity. K rozpoznání cílových buněk slouží řada jiných povrchových receptorů. Inhibiční receptory zajišťují buněčnou toleranci, naopak aktivační receptory spouští cytotoxické mechanismy vedoucí k apoptóze a tedy lýzi buňky. Díky této vlastnosti jsou NK buňky intenzivně studovány v souvislosti s imunoterapií nádorových onemocnění.

Jedním z aktivačních receptorů je NKp80 rozpoznávající svůj ligand AICL. Oba proteiny patří do rodiny receptorů podobných lektinům C-typu. Tento komplex se účastní nejenom přímé lýze maligních buněk myeloidního charakteru, ale má také důležitou roli v imunomodulaci zánětu.

Předmětem této diplomové práce je příprava receptoru NKp80 a jeho ligandu AICL. Receptor NKp80 byl připraven v linii lidských embryonálních ledvinných buněk (HEK 293S GnTI⁻). Byly připraveny stabilně transfekované linie produkující protein NKp80 konstitutivně nebo indukovatelně. Zapojení disulfidických můstků a obsazení N-glykosylačních míst proteinu NKp80 bylo ověřeno hmotnostní spektrometrií. Dále byl optimalizován postup Mgr. Jiřího Nového na přípravu ligandu AICL v expresním systému *E. coli*, čímž se zvýšila rozpustnost připraveného proteinu.

Byly nasazeny krystalizační pokusy pro NKp80, AICL a komplex NKp80:AICL. Během krystalizace byly získány krystaly proteinu NKp80.