

## ABSTRAKT

NK buňky vykazují unikátní schopnost rozeznávat a způsobit smrt nádorových, či virem infikovaných buněk bez předchozí senzitivace antigenem. Jejich funkce je regulována vyváženými signály indukovanými aktivačními a inhibičními povrchovými receptory při interakci s ligandy cílové buňky. To může být ilustrováno na potkaním receptoru NKR-P1B a jeho ligandu Clrb, které hrají mimo jiné zásadní roli v odpovědi NK buněk na infekci potkaním cytomegalovirem (RCMV).

Během infekce RCMV cílová buňka snižuje expresi ligandu Clrb a tím snižuje inhibiční signál přenášený skrze NKR-P1B do NK buňky, to v ideálním případě vede k aktivaci NK buňky a lyzi infikované buňky. Nicméně, RCMV obsahuje gen pro falešný povrchový receptor – RCTL, který napodobuje Clrb, a tak napomáhá úniku před imunitní odpovědí NK buněk. Zatímco tato úniková strategie byla zaznamenána v kmeni potkanů WAG, ukázalo se, že NKR-P1B homolog z potkaního kmene SD váže pouze Clrb a nerozeznává RCTL. Díky tomu je SD kmen méně citlivý k infekci RCMV.

Tato práce si klade za cíl poodhalit molekulární základ NKR-P1B:Clrb receptor-ligandového rozeznávání, přičemž vychází z našich dřívějších úspěšných výsledků získaných pro lidský NKR-P1:LLT1 receptor-ligandový pár.

Ukázalo se, že pro následnou krystalizaci NK buněčných receptorů a jejich ligandů je nejvýhodnějším rekombinantním expresním systémem produkce rozpustných extracelulárních domén těchto proteinů v transientně či stabilně transfekované HEK293S GnTI lidské buněčné linii, jež poskytuje homogenní N-glykosylaci. Pro zvýšení výtěžku exprese rekombinantních proteinů byl optimalizován transposonový doxycyklinem indukovatelný savčí expresní systém piggyBac v HEK293S GnTI buněčné linii, a to za použití konstruktů pro rozpustný Clrb jako cílového proteinu.

## KLÍČOVÁ SLOVA

NK buňky, Clrb, NKR-P1B, RCTL, HEK293S GnTI, piggyBac