

Abstrakt

Klíčovým požadavkem pro detailní porozumění biologických procesů, až na molekulární úroveň, je znalost struktury interagujících molekul a jejich komplexů. Jako modelový systém, pro naši studii, jsme si zvolili IFN- γ . Ačkoliv je tato molekula jedním ze zásadních modulátorů imunitní odpovědi, a je studována již více než 60 let, tak struktura přidavného receptoru (IFN- γ R2) a porozumění celému komplexu je nedostačující. V této práci jsme se nejprve zabývali binárním systémem IFN- γ s jeho receptorem, který vykazuje vysokou afinitu k IFN- γ a prostorová struktura obou dvou molekul je známa. Zaměřili jsme se tedy na modulaci afinity mezi IFN- γ a tímto receptorem. Náš přístup spočíval v inovativní metodě založené na modulaci stability protein-proteinových interakcí pomocí mutagenizace aminokyselinových zbytků umístěných uvnitř struktury proteinu. Podařilo se nám zvýšit afinitu testované interakce sedmkrát. Druhá část projektu byla zaměřena na krystalizaci, vyřešení a popis struktury druhého – přidavného receptoru pro IFN- γ . Naše analýza variabilních aminokyselinových zbytků na povrchu tohoto proteinu a strukturně příbuzných receptorů z rodiny typu II odhalila možné vazebné místo pro IFN- γ . Ve třetí části naší práce jsme se zaměřili na krystalizaci IFN- γ z platýze druhu *Paralichthys olivaceus* a tuto strukturu jsme vyřešili s rozlišením 2.3 Å (identifikační číslo proteinové databáze PDB: 6f1e). Získaná struktura se liší od ostatních známých struktur IFN- γ a indikuje divergenci rybích proteinů, i když celkové uspořádání a topologie molekuly (z angl.: fold) jsou stejné. Biofyzikální a bioinformatické pokusy navržené na základě této struktury nám umožnili vyřešit aspekty koevoluce mezi IFN- γ a jeho receptorem 1. Všechny získané poznatky, doplněné o data z mutagenizačních experimentů, SAXS techniky a analýz krystalových struktur, nám na závěr práce umožnili postulovat topologii ternárního komplexu IFN- γ .