

Abstrakt

Součástí imunitního systému nejen člověka jsou tzv. NK buňky (z anglického natural killer cells). Úkolem těchto buněk, které jsou složkou nespecifické imunity, je vyvolat apoptózu u buněk těla vlastních, které jsou hrozbou pro organismus (například buňky napadené viry či rakovinné buňky).

K rozpoznání cílových buněk slouží NK buňkám povrchové receptory. Receptorů je dnes známa celá řada a jejich dělení vyplývá například z podobnosti jejich struktur, nebo povahy signálu, který zprostředkovávají NK buňkám. Podle toho rozlišujeme receptory aktivační a inhibiční. Inhibiční receptory potlačují NK buněčnou odpověď, zatímco receptory aktivační tuto odpověď vyvolávají. Během kontaktu NK buňky s jinou buňkou je výsledné chování NK buňky vždy výsledkem určité rovnováhy odpovědí receptorů aktivačních i inhibičních.

Receptor NKp44 je imunoglobulinový receptor. Tento receptor je mezi ostatními receptory velmi ojedinělý z mnoha hledisek, například i proto, že je spojen jak s aktivačním, tak inhibičním motivem. Ligandem tohoto receptoru je jaderný antigen proliferujících buněk (PCNA). PCNA je svorkový protein důležitý mimo jiné během replikace DNA, při které ukotvuje ostatní proteiny replizómu.

Tato práce je zaměřena na rekombinantní přípravu receptoru NKp44 (protein PCNA byl již připraven dříve) a studium vzájemné interakce obou vazebných partnerů. Protein NKp44 byl připraven rekombinantně v expresním systému HEK293S GnTI. Protein byl připraven v různých variantách fúzních konstruktů (některé nesly mutaci a lišily se orientací Fc fragmentu IgG).

Z připravených konstruktů byl poté vybrán nejvhodnější kandidát, který byl použit pro analýzu vazby mezi oběma vazebnými partnery. K tomu byly využity biofyzikální metody analytická ultracentrifugace a mikrotermoforéza. Pomocí mikrotermoforézy byla pozorována určitá interakce mezi proteiny, ač přesnost určení disociační konstanty komplexu NKp44:PCNA byla v tomto případě velmi malá. Analytická ultracentrifugace na druhou stranu neprokázala interakci žádnou.

Klíčová slova

NK buňka, NKp44, PCNA, HEK293, MST