

## Abstrakt (CZ)

Protein-proteinové interakce (PPI) mají zásadní roli v životních procesech a jejich abnormality jsou často spojené s vznikem nemocí. Vzhledem ke své důležitosti dostávají PPI čím dál tím více pozornosti a staly se cíli zásahu různých léčiv. Návrh konkrétních PPI a jejich modulace je však náročný. Interakce cytokinů s jejich receptory jsou zvláště důležité při regulaci imunitního systému. Nadměrná produkce interleukinu-10 (IL-10) má za následek nadměrné imunosupresivní účinky, růst nádoru a infekci. Interakce mezi receptorem interferonu gama 2 (IFN- $\gamma$ R2) a interferonem gama (IFN- $\gamma$ ) vede k aktivaci signálních drah, ale mechanismus takové interakce je stále nepopsaný. Interleukin-24 (IL-24) je další cytokin, který signalizuje prostřednictvím receptorů sdílejících receptorovou podjednotku 2 interleukinu-20 (IL-20R2) a má důležitou roli v autoimunitě a rakovině.

Cílem této Ph.D. práce je studium PPI z několika hledisek s důrazem na jejich specifičnost. Prvním cílem je vyvinout nové proteinové lešení, které bude následně použito pro vývoj vysokoafinitního pojiva specifického pro lidský IL-10. Druhým cílem je pochopení strukturního základu receptorové specifity lidského IFN- $\gamma$ . Třetím cílem je modulace vazebné afinity mezi lidským IL-24 a jeho receptorem IL-20R2 za použití foto-responzivních nekanonických aminokyselin a světla.

N-terminální doména monomerního lidského proteinu nazvaného PIH1, s odlišnou strukturou od dříve známých neprotilátkových proteinových lešení, byla navržena jako naše nové proteinové lešení nazvané 57aBi. Funkčnost této molekuly byla demonstrována jejím vývojem jako vazebného proteinu cíleného proti IL-10 s nanomolární vazebnou afinitou pomocí metod řízené evoluce. Struktury dvou vazebných látek řešené rentgenovou krystalografií ukázaly, že námi vyvinuté proteiny sdílejí podobné složení s původní molekulou. Krystalová struktura IFN- $\gamma$ R2 navíc odhalila důležitost určitých aminokyselin, glykosylace a tvorby disulfidových vazeb pro specifické interakce jak s interferonovým gama receptorem 1 (IFN- $\gamma$ R1), tak s IFN- $\gamma$ . Pokud jde o kontrolu vazby mezi IL-24 a IL-20R2 za použití světla a expanze genetického kódu za účelem vložení nekanonické na světlo citivé aminokyseliny, bylo zjištěno, že aminokyselina nesoucí fotoklec, nitrobenzyl-tyrosin (NBY), na IL-20R2 je dostatečně účinná k potlačení vzniku PPI. Po opětovném UV ozáření došlo k obnově vazby. Pomocí další implementace NBY do IL-24 a po vystavení záření o vlnové délce 365 nm se navíc podařilo i spustit signální kaskádu JAK/STAT.

Kombinací řízené evoluce, strukturní biologie a fotoxenoproteinového inženýrství byla osvětlena problematika specifičnosti a modulace PPI zahrnující cytokiny a jejich receptory.