

ABSTRAKT

Hmotnostní spektrometrie a techniky s ní spojené jsou velice důležitým a užitečným nástrojem při studiu struktury proteinů. Jednou z těchto technik je i kovalentní značení proteinů, které je možné použít ke zkoumání přístupnosti jejich povrchu a jejich dynamiky obecně. Přestože již byla pro tuto metodu vyvinuta spousta činidel, většina z nich je limitována jejich schopností selektivně reagovat jen s omezeným počtem aminokyselin, většinou lysinem, argininem nebo tyrosinem a neselektivní metody, jako rychlá fotochemická oxidace proteinů, jsou velice náročné a nákladné. Z toho důvodu existuje stále snaha o vývoj nových metod kovalentního značení. Touto novou metodou by mohla být trifluormethylace, která je stále více používanou technikou modifikace organických molekul a jejíž možný potenciál jsme se proto rozhodli studovat. V této práci jsme použili novou skupinu formálně elektrofilních činidel, která je vytvořena na bázi cyklického hypervalentního jodidového jádra. Tato skupina tzv. Togniho činidel byla použita jako nástroj radikálového značení proteinů. Jako modelový protein byla vybrána lidská karbohydná anhydrasa, jejíž struktura je velice dobře prostudována. Modifikovaný protein byl analyzován přístupem bottom up pomocí kombinace kapalinové chromatografie a tandemové hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením. Ze získaných dat vyplývá, že reakcí s Togniho činidly dochází k modifikaci postranních řetězců aminokyselin, a to především u aminokyselin aromatických. Ukazuje se tedy, že by trifluormethylace pomocí Togniho činidel s následnou hmotnostně-spektrometrickou analýzou mohla představovat rychlou, účinnou a časově i finančně nenáročnou metodu k charakterizaci struktury proteinů a posléze i k validaci terapeutik.

Klíčová slova: lidská karbohydná anhydrasa, hmotnostní spektrometrie, kovalentní značení proteinů, trifluormethylace, Togniho činidla