

Abstrakt

Hem je jedním z nejdůležitějších a nejlépe prostudovaných kofaktorů potřebných pro správné fungování mnoha proteinů. Proteiny obsahující hem tvoří obrovskou skupinu biologicky významných molekul, které se účastní mnoha fyziologických procesů. Předkládaná disertační práce se věnuje dvěma skupinám hemových sensorových proteinů, a to prokaryotickým hemovým sensorům plyných molekul a eukaryotickým sensorům detekujícím hem. Hemové senzory, které detekují plynné molekuly, hrají důležitou roli v regulaci mnoha bakteriálních procesů a jsou obvykle tvořeny dvěma doménami, doménou sensorovou a doménou funkční. Disertační práce se zaměřuje na studium dvou zástupců ze skupiny bakteriálních sensorů detekujících plyny, histidinkinasy *AfGcHK* a diguanylátcyklasy *YddV*. Hlavním cílem práce bylo objasnit mechanismus mezidoménového přenosu signálu u těchto dvou modelových hemových sensorů. Za pomoci rentgenové krystalografie a metody vodík-deuteriové výměny v kombinaci s hmotnostní spektrometrií byly odhaleny významné rozdíly ve struktuře proteinu *AfGcHK* při přechodu z jeho aktivní na neaktivní formu. Příjem určitého signálu sensorovou doménou *AfGcHK* ovlivní strukturní vlastnosti proteinu, a tyto konformační změny mají pak nepřímo vliv na enzymovou aktivitu domény funkční. Disertační práce se dále detailněji věnuje vlivu uspořádání dimerizačního rozhraní na přenos signálu mezi sensorovou a funkční doménou. V případě, že je dimerizace sensorové domény narušena, je ovlivněna schopnost proteinu signál dál přenést, a protein tak ztrácí svou enzymovou aktivitu. Jak změny v sensorové doméně proteinu ovlivňují jeho katalytickou aktivitu v případě druhého studovaného senzoru, diguanylátcyklasy *YddV*, nám pomohla objasnit detailní kinetická analýza. Tato studie odhalila, že katalytická aktivita výrazně závisí na redoxním a ligandovém stavu iontu železa hemu. Analýza oligomerních stavů pak ukázala, že *YddV* tvoří v roztoku převážně dimery a jeho neaktivní mutantní forma *H98A* má tendenci vytvářet oktamery. Tyto výsledky naznačují, že správný oligomerní stav je, podobně jako v případě *AfGcHK*, pro optimální funkci proteinu klíčový. Součástí disertační práce je také souhrnná publikace, která se zabývá eukaryotickými hemovými senzory a přehledně shrnuje nově objevenou roli hemu jako signální molekuly.