

PŘÍLOHA 1 – Sekvence analyzovaných proteinů

TEAD1-DBD

MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMSADKPIDNDAEGVWSPDIEQSFQEALAIYPP
CGRRKIILSDEGKMYGRNELIARYIKLRTGKTRTRKQVSSHIQVLARRKSRD

FOXO4-DBD

MGSSHHHHHSSGENLYFQGS~~AVT~~GPRKGGSRRNAWGNQSYAELISQAIES
APEKRLTLAQIYEWV~~RT~~VPYFKDKGDSNSSAGWKNSIRHNLSLH~~SK~~FIKVH
NEATGKSSWWMLNPEGGKSGK

Oranžově byly zvýrazněny histidiny tvořící kotvu interagující s kolonou při afinitní chromatografii. Šedou barvou byly vyznačeny části sekvence odštěpené od purifikované sekvence proteasou, thrombinem u TEAD1-DBD a TEV („Tobacco Etch Virus“) u FOXO4-DBD. Štěpná místa pro obě proteasy byla podtržena.

PŘÍLOHA 2 – Vybrané parametry nastavení solariX 15T FT-ICR (pozitivní mód ionizace)

Sprejovací napětí na kapiláře (externí)	0,4-0,9 kV (v závislosti na vzorku)
Polarita „Polarity“	Positive
Počet skenů „Acquired Scans“	64
Mód akvizice „Acquisition mode“	Single MS
„Analyser entrance“	10,0V
Apodizace „Apodization“	Gaussian
„Broadband High Mass“	4000,0 <i>m/z</i>
„Broadband Low Mass“	207,3 <i>m/z</i>
Průtok kolizního plynu „Collision Gas Flow Rate“	30 %
Kolizní napětí „Collision Voltage“	-10,0 V
„DC extract bias“	0,5 V
Mód detekce „Detection Mode“	Broadband
Průtok sušícího plynu „Drying Gas Flow Rate“	1,5 L/min
Teplota sušícího plynu „Drying Gas Temperature“	70,0 °C
Mód Excitace „Excitation Mode“	Sweep
Čas akumulace iontů „Ion accumulation time“	0,05 s
„Processing mode“	Magnitude
„Transfer time of flight“	1,500 ms
„Transfer optics frequency“	4 MHz

PŘÍLOHA 3 – Vybrané parametry nastavení solariX 15T FT-ICR (negativní mód ionizace)

Sprejovací napětí na kapiláře (externí)	0,4-0,9 kV (v závislosti na vzorku)
Polarita „Polarity“	Negative
Počet skenů „Acquired scans“	64
Mód akvizice „Acquisition mode“	Single MS
„Analyser entrance“	10,0V
Apodizace „Apodization“	Gaussian
„Broadband High Mass“	4000,0 m/z
„Broadband Low Mass“	207,3 m/z
Průtok kolizního plynu „Collision Gas Flow Rate“	30 %
Kolizní napětí „Collision Voltage“	10,0 V
„DC extract bias“	0,5 V
Mód detekce „Detection Mode“	Broadband
Průtok sušícího plynu „Drying Gas Flow Rate“	1,5 L/min
Teplota sušícího plynu „Drying Gas Temperature“	70,0 °C
Mód Excitace „Excitation Mode“	Sweep
Čas akumulace iontů „Ion accumulation time“	0,05 s
„Processing mode“	Magnitude
„Transfer time of flight“	1,500 ms
„Transfer optics frequency“	4 MHz

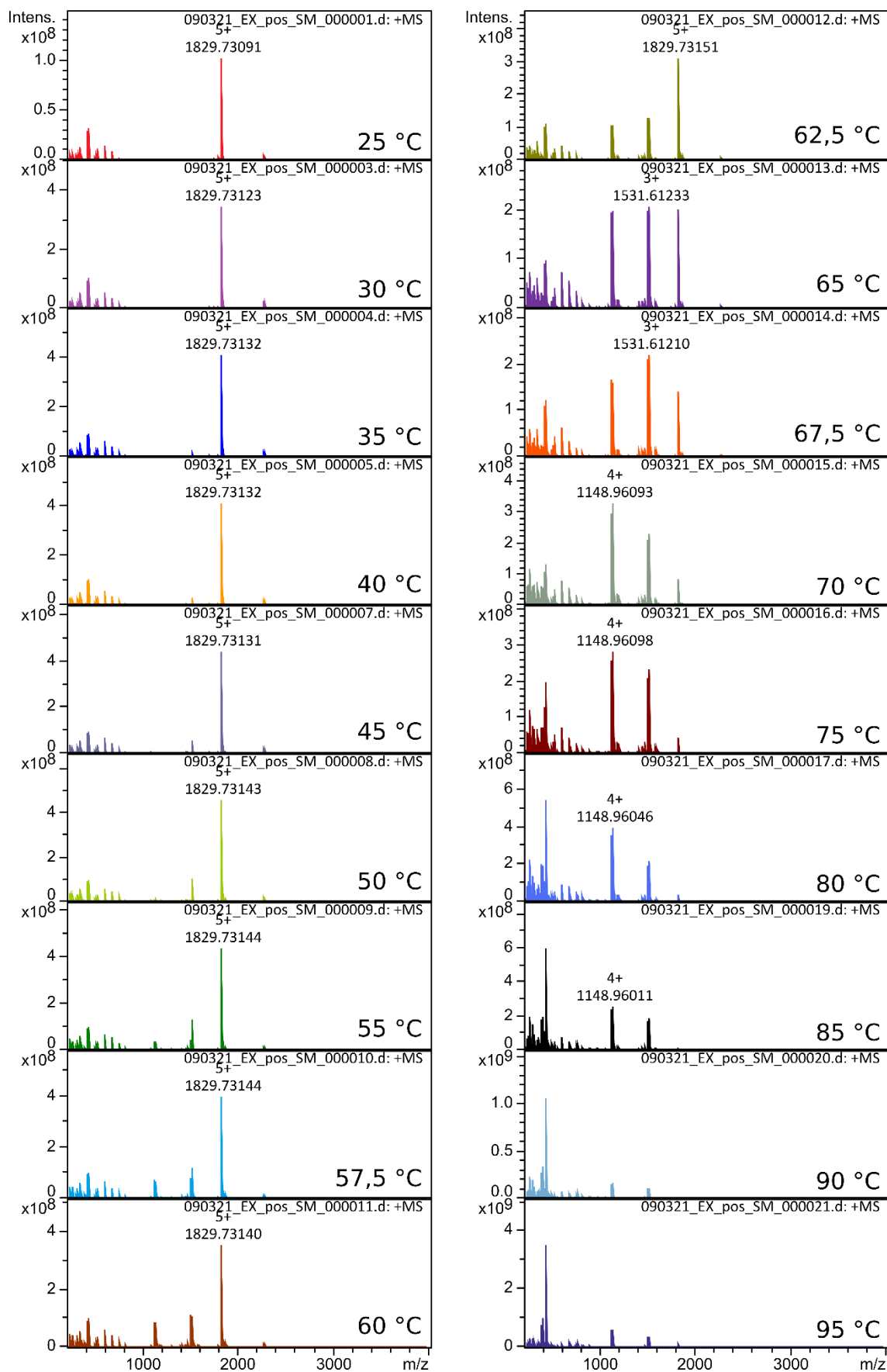
PŘÍLOHA 4 – Vybrané parametry nastavení Synapt G2-Si (pozitivní mód ionizace)

Hmotnostní rozsah „Mass range“	500-5000 m/z
„EDC Delay Coefficient“	1,41
Polarita „Polarity“	ES+
Sprejovací napětí na kapiláře „Capillary“	0,4-0,9 kV (v závislosti na vzorku)
Teplota iontového zdroje „Source Temperature“	70 °C
Vzorkovací kužel „Sampling Cone“	10 V
„Source Offset“	10 V
„Source Gas Flow“	0 mL/min
Kolizní energie v pasti „Trap CE“	2 eV
Kolizní energie v transferu „Transfer CE“	10 eV
Průtok plynu v pasti „Trap Gas Flow“	3 mL/min
Průtok plynu v heliové cele „Helium Cell Gas Flow“	180 mL/min
Průtok plynu IMS „IMS Gas Flow“	60 mL/min
Rychlost vlny v pasti „Trap Wave Velocity“	311 m/s
Výška vlny v pasti „Trap Wave Height“	4 V
Rychlost IMS vlny „IMS Wave Velocity“	750 m/s
Výška IMS vlny „IMS Wave Height“	25 V
Rychlost vlny v transferu „Transfer Wave Velocity“	250 m/s
Výška vlny v transferu „Transfer Wave Height“	8 V
Zpoždění IMS vlny „IMS Wave delay“	450 μs
Formát dat „Data Format“	Continuum
Analyzátor „Analyser“	Sensitivity mode

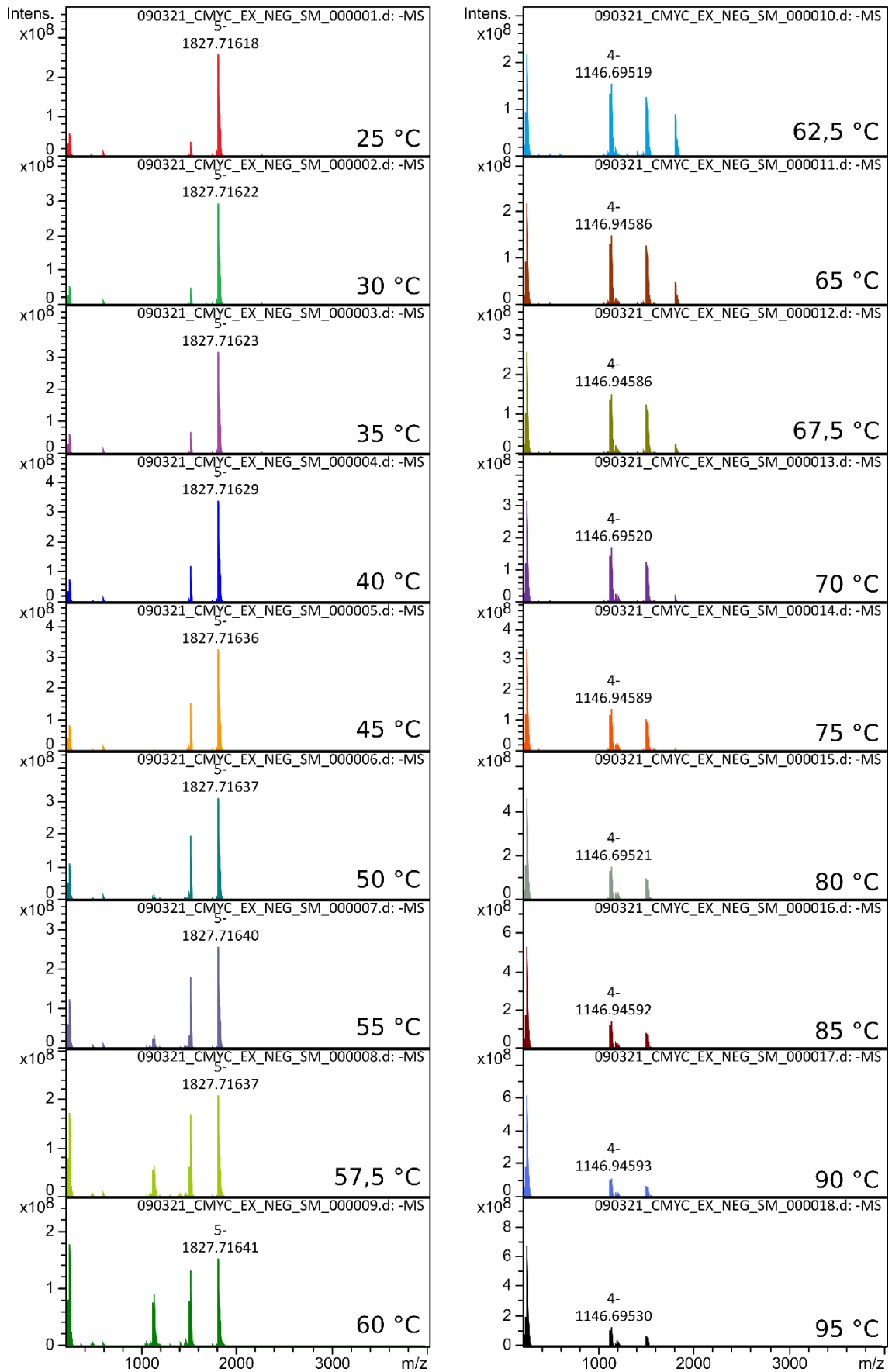
PŘÍLOHA 5 – Vybrané parametry nastavení Synapt G2-Si (negativní mód ionizace)

Hmotnostní rozsah „Mass range“	500-5000 m/z
„EDC Delay Coefficient“	1,41
Polarita „Polarity“	ES-
Sprejovací napětí na kapiláře „Capillary“	0,4-0,9 kV (v závislosti na vzorku)
Teplota iontového zdroje „Source Temperature“	70 °C
Vzorkovací kužel „Sampling Cone“	10 V
„Source Offset“	10 V
„Source Gas Flow“	0 mL/min
Kolizní energie v pasti „Trap CE“	2 eV
Kolizní energie v transferu „Transfer CE“	10 eV
Průtok plynu v pasti „Trap Gas Flow“	3 mL/min
Průtok plynu v heliové cele „Helium Cell Gas Flow“	180 mL/min
Průtok plynu IMS „IMS Gas Flow“	55 mL/min
Rychlost vlny v pasti „Trap Wave Velocity“	311 m/s
Výška vlny v pasti „Trap Wave Height“	4 V
Rychlost IMS vlny „IMS Wave Velocity“	750 m/s
Výška IMS vlny „IMS Wave Height“	30 V
Rychlost vlny v transferu „Transfer Wave Velocity“	450 m/s
Výška vlny v transferu „Transfer Wave Height“	8 V
Zpoždění IMS vlny „IMS Wave delay“	1000 μs
Formát dat „Data Format“	Continuum
Analyzátor „Analyser“	Sensitivity mode

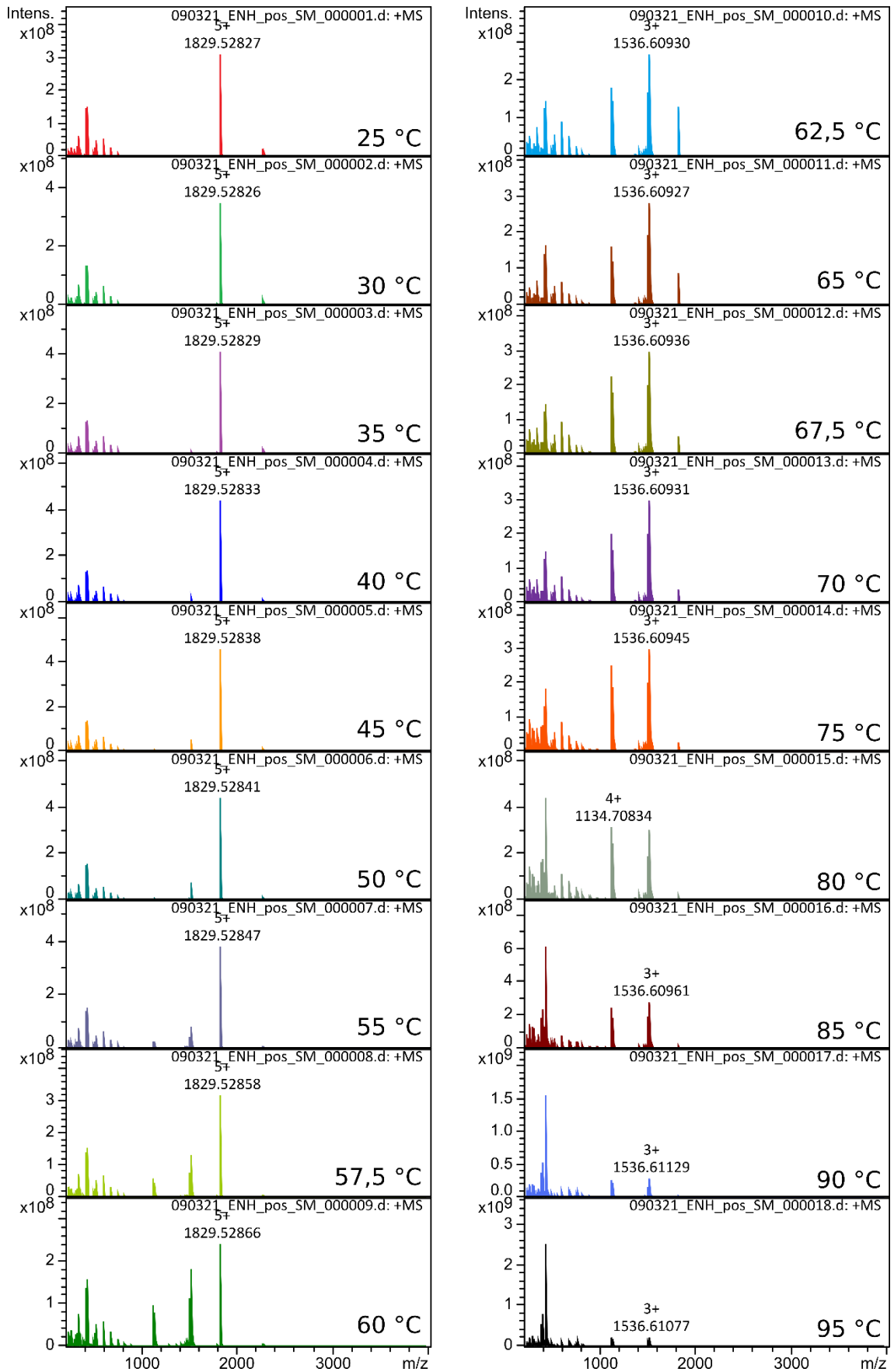
PŘÍLOHA 6 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS C-MYC EXON (pozitiv)



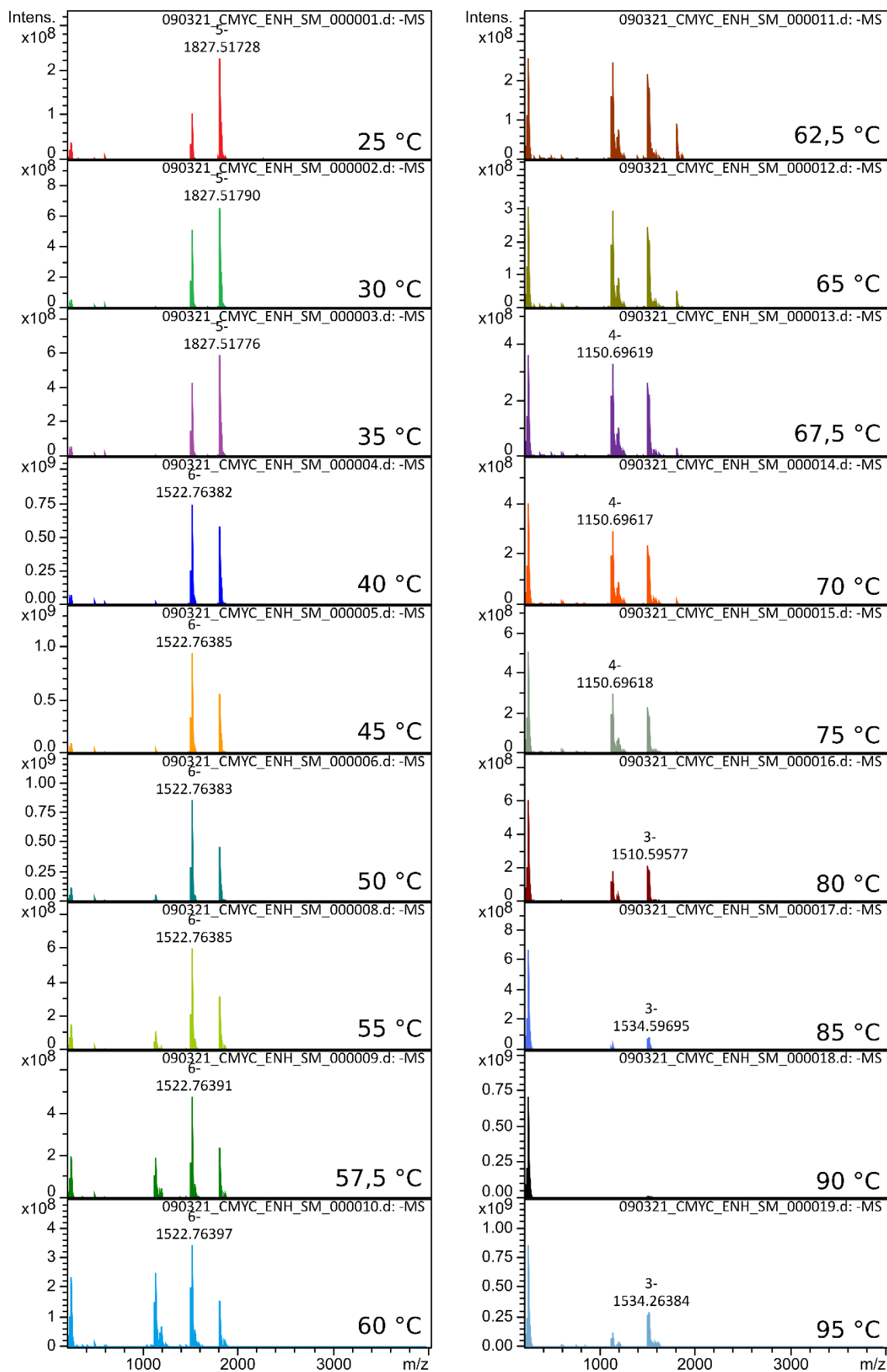
PŘÍLOHA 7 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS C-MYC EXON (negativ)



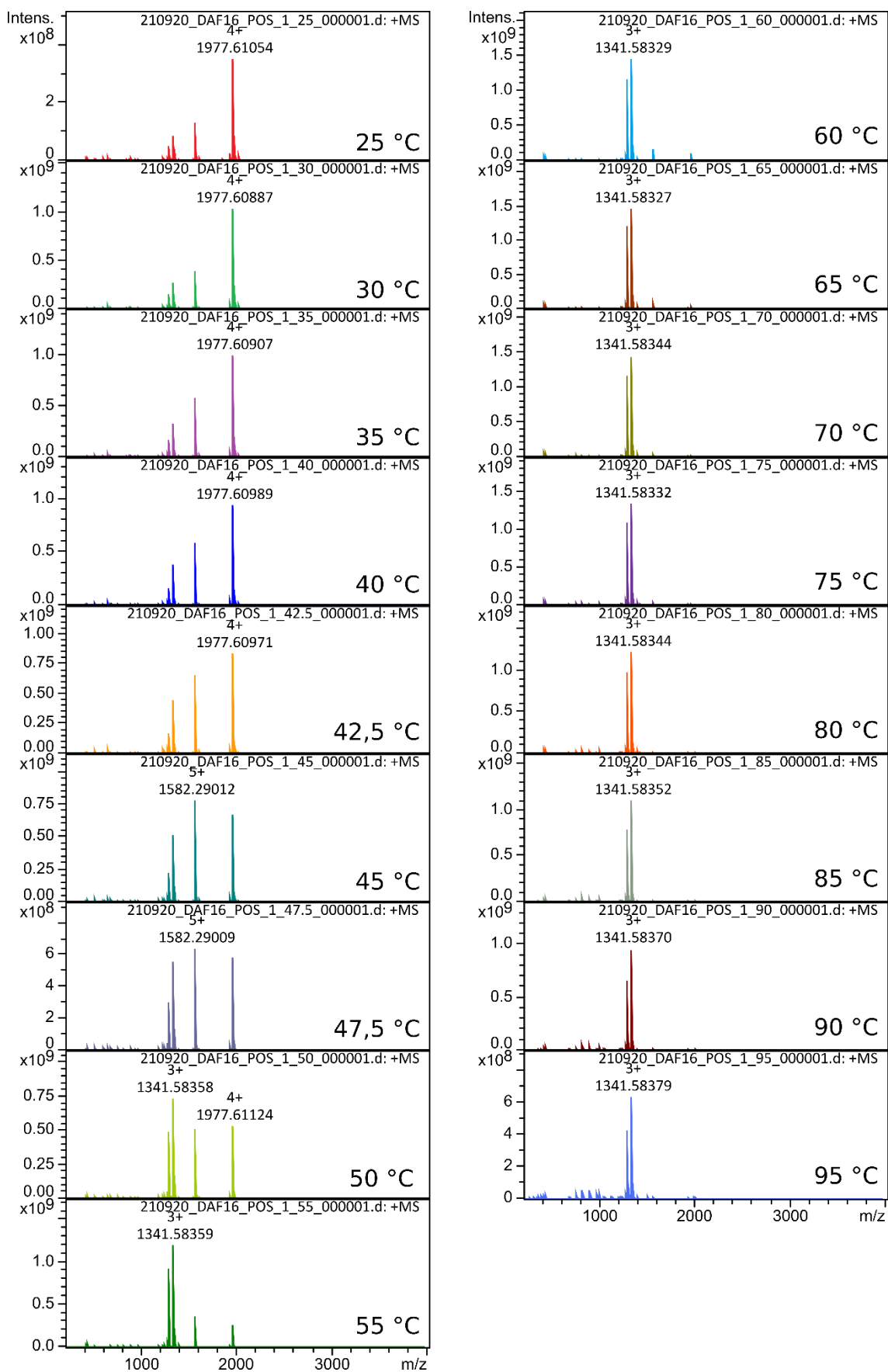
PŘÍLOHA 8 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS C-MYC ENHANCER (pozitiv)



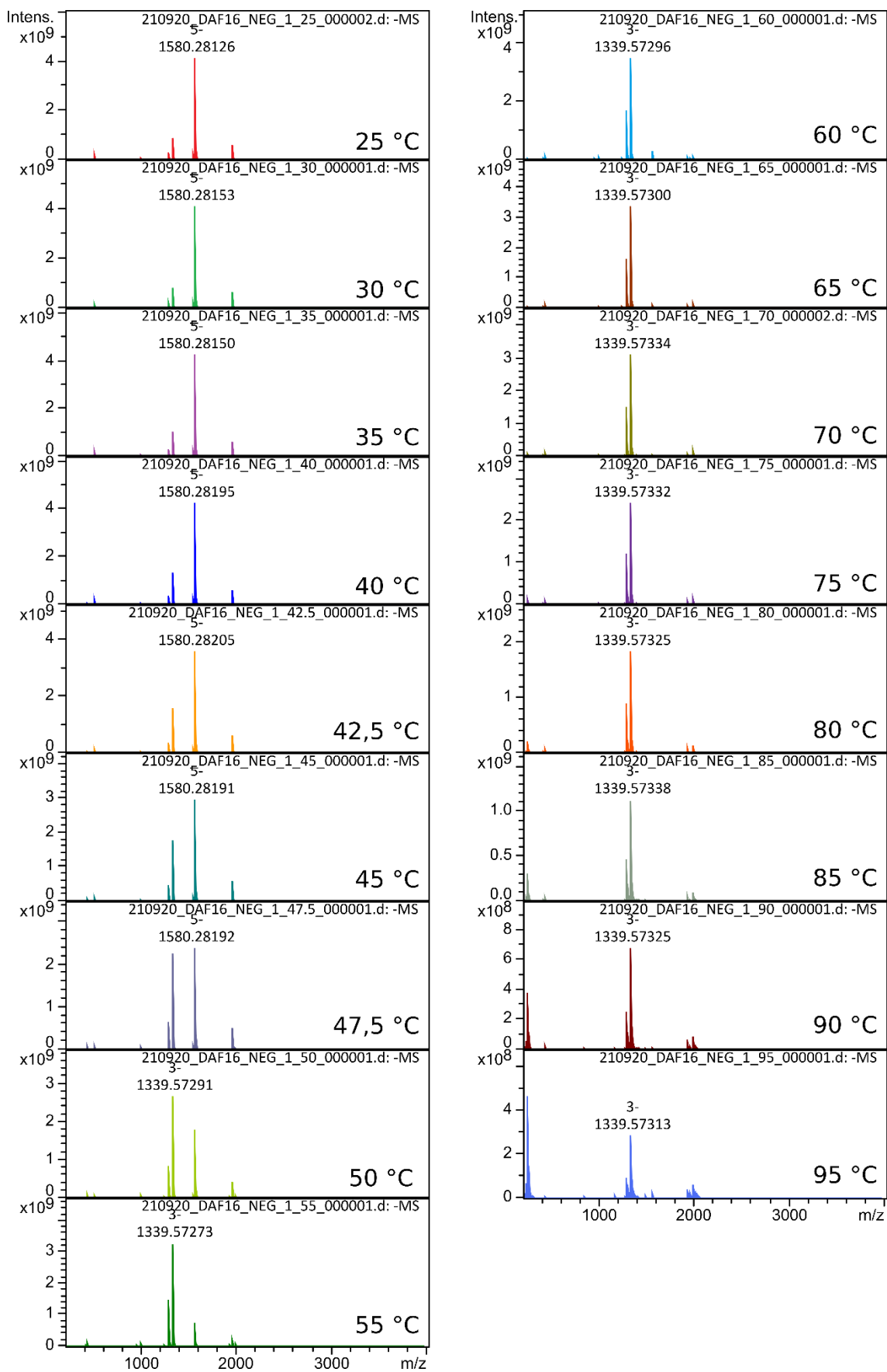
PŘÍLOHA 9 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS C-MYC ENHANCER (negativ)



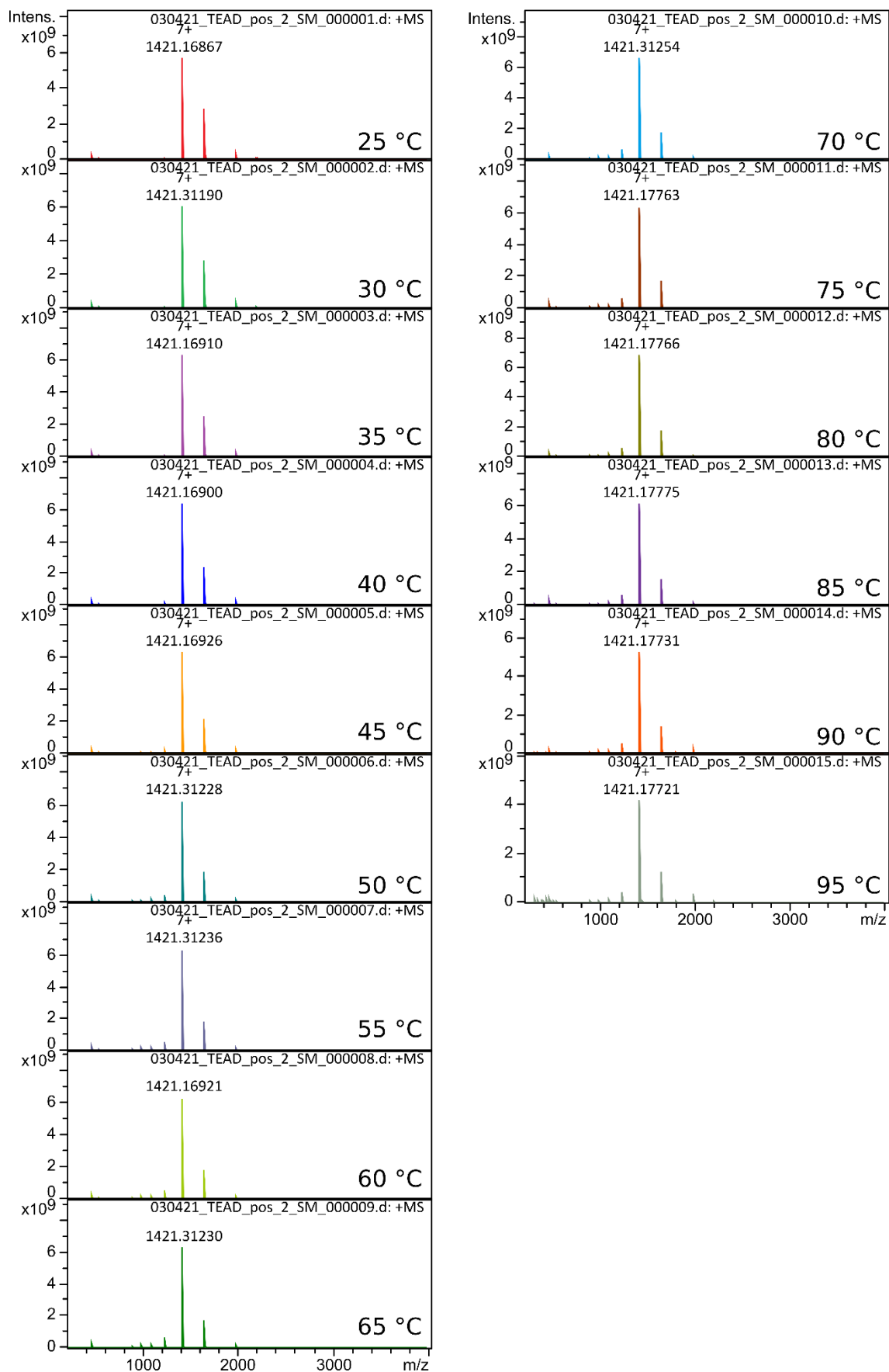
PŘÍLOHA 10 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS DAF-16 (pozitiv)



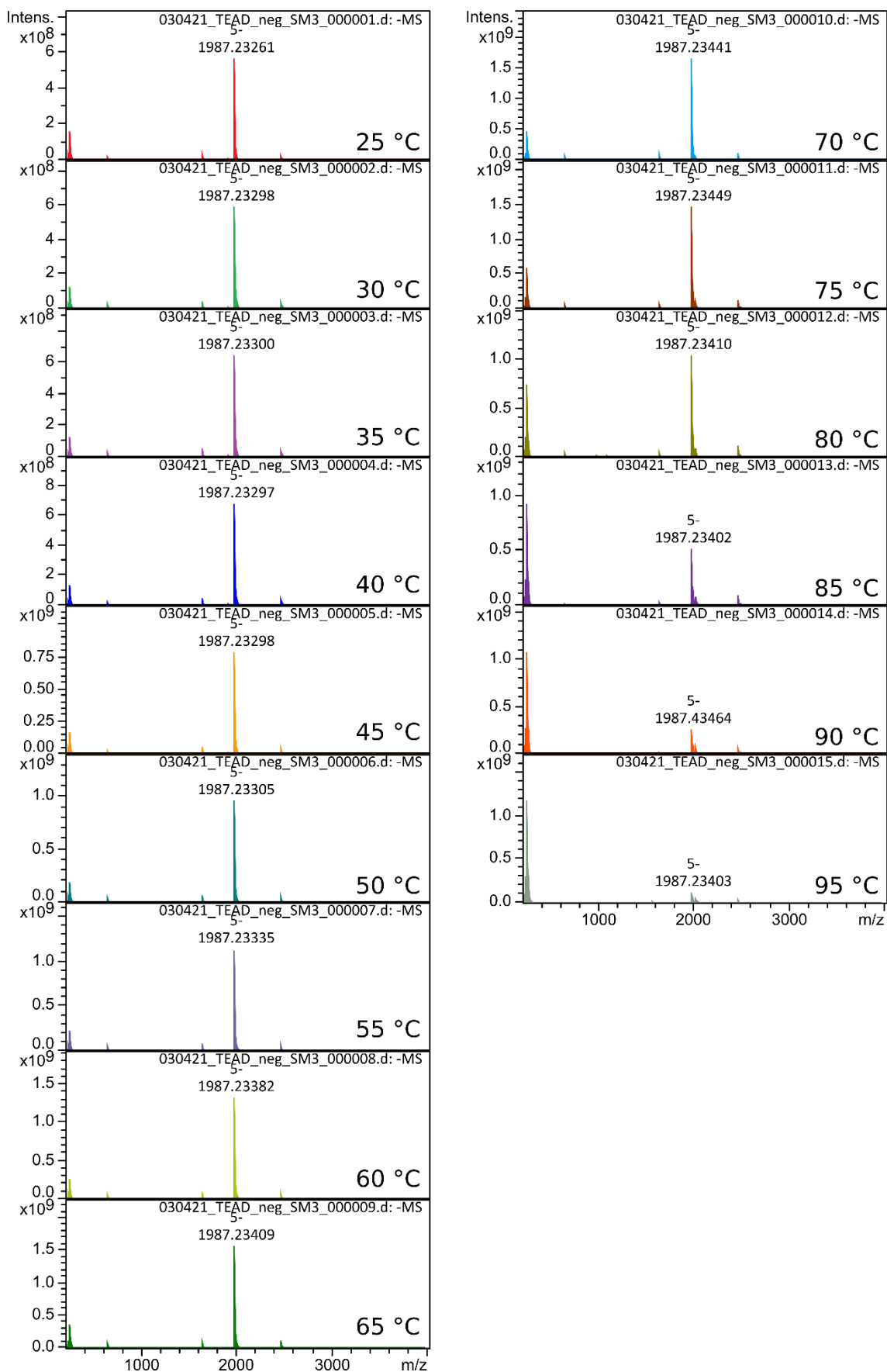
PŘÍLOHA 11 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS DAF-16 (negativ)



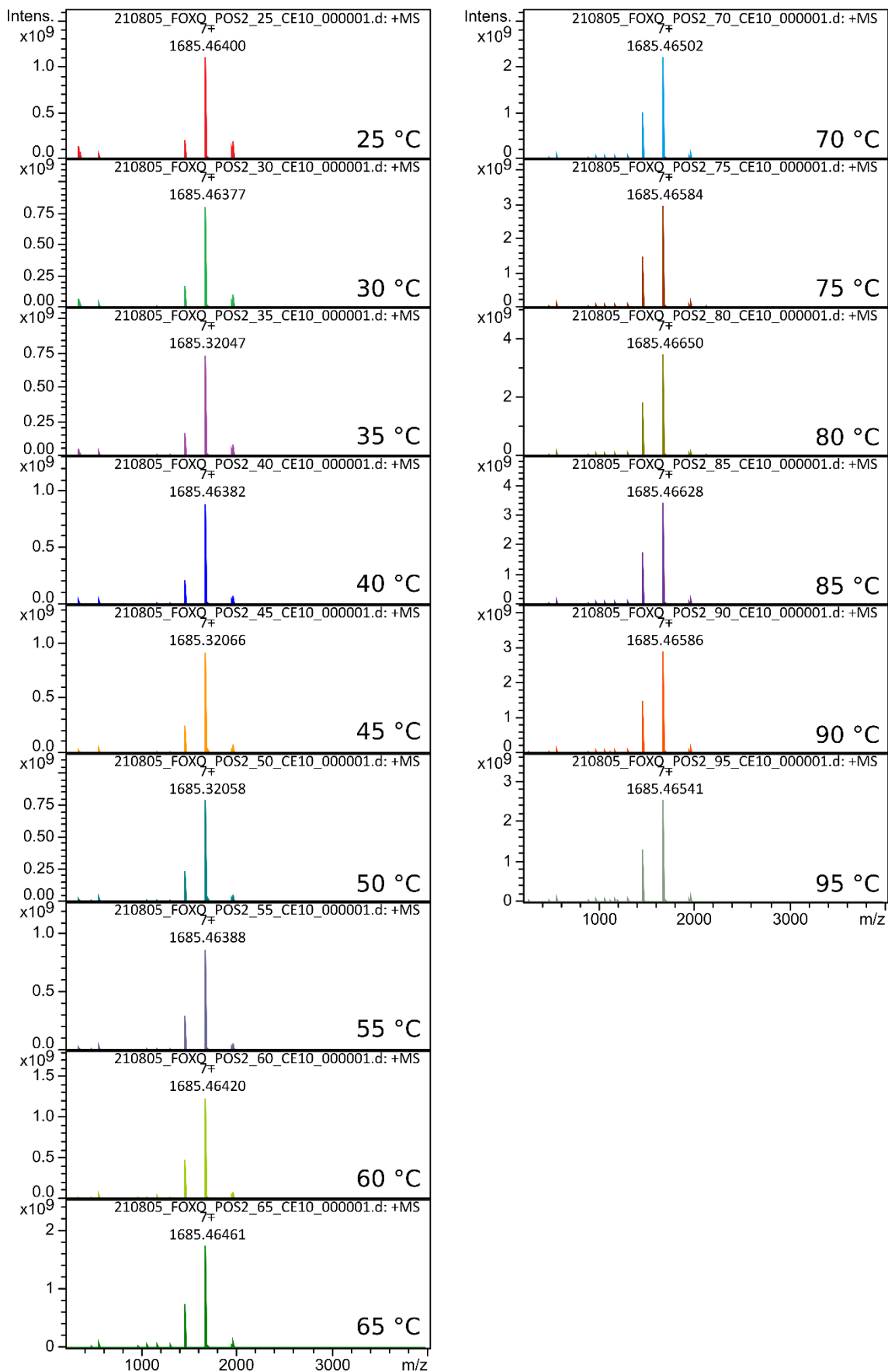
PŘÍLOHA 12 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS TEAD1-DBD (pozitiv)



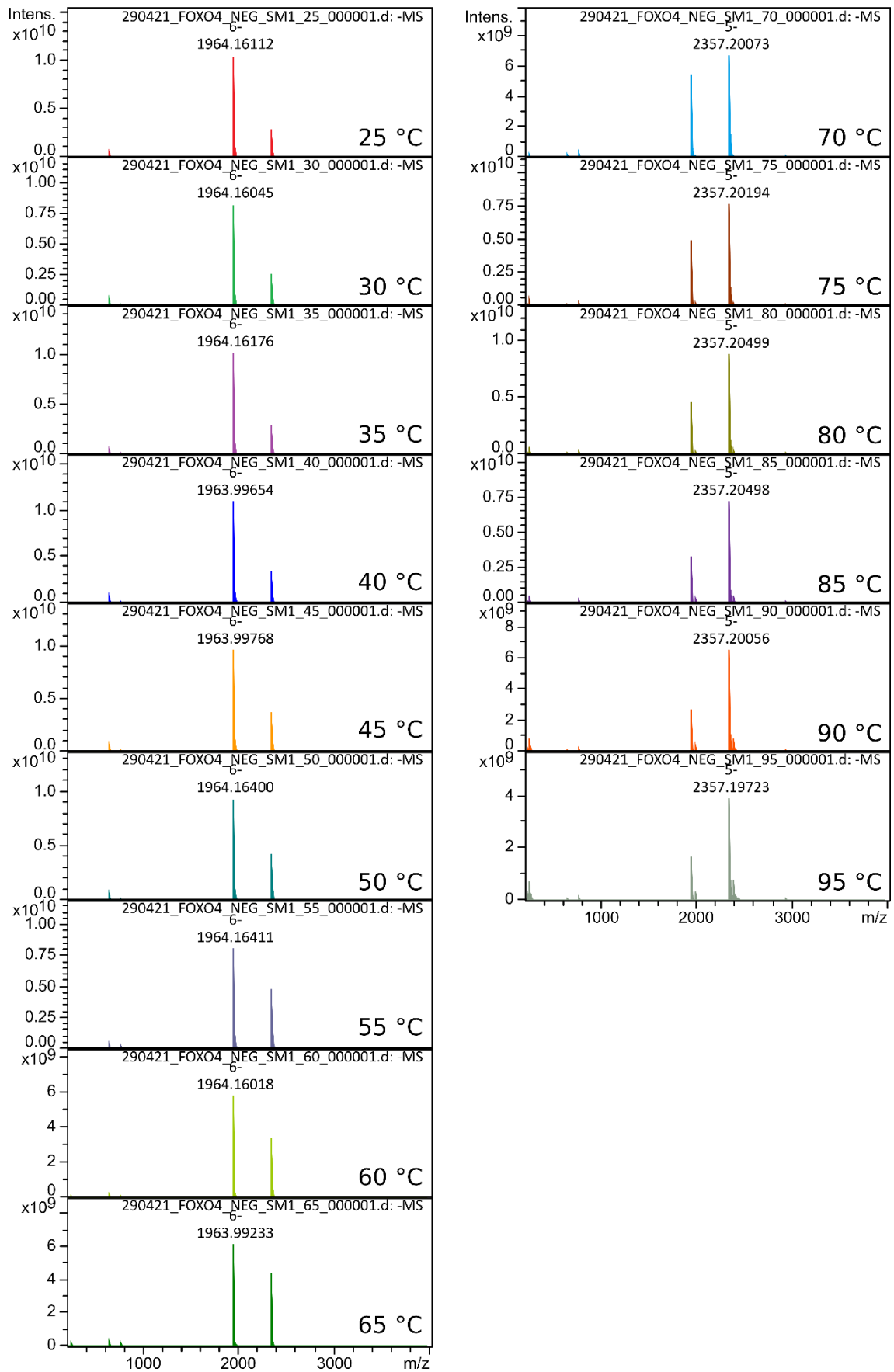
PŘÍLOHA 13 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS TEAD1-DBD (negativ)



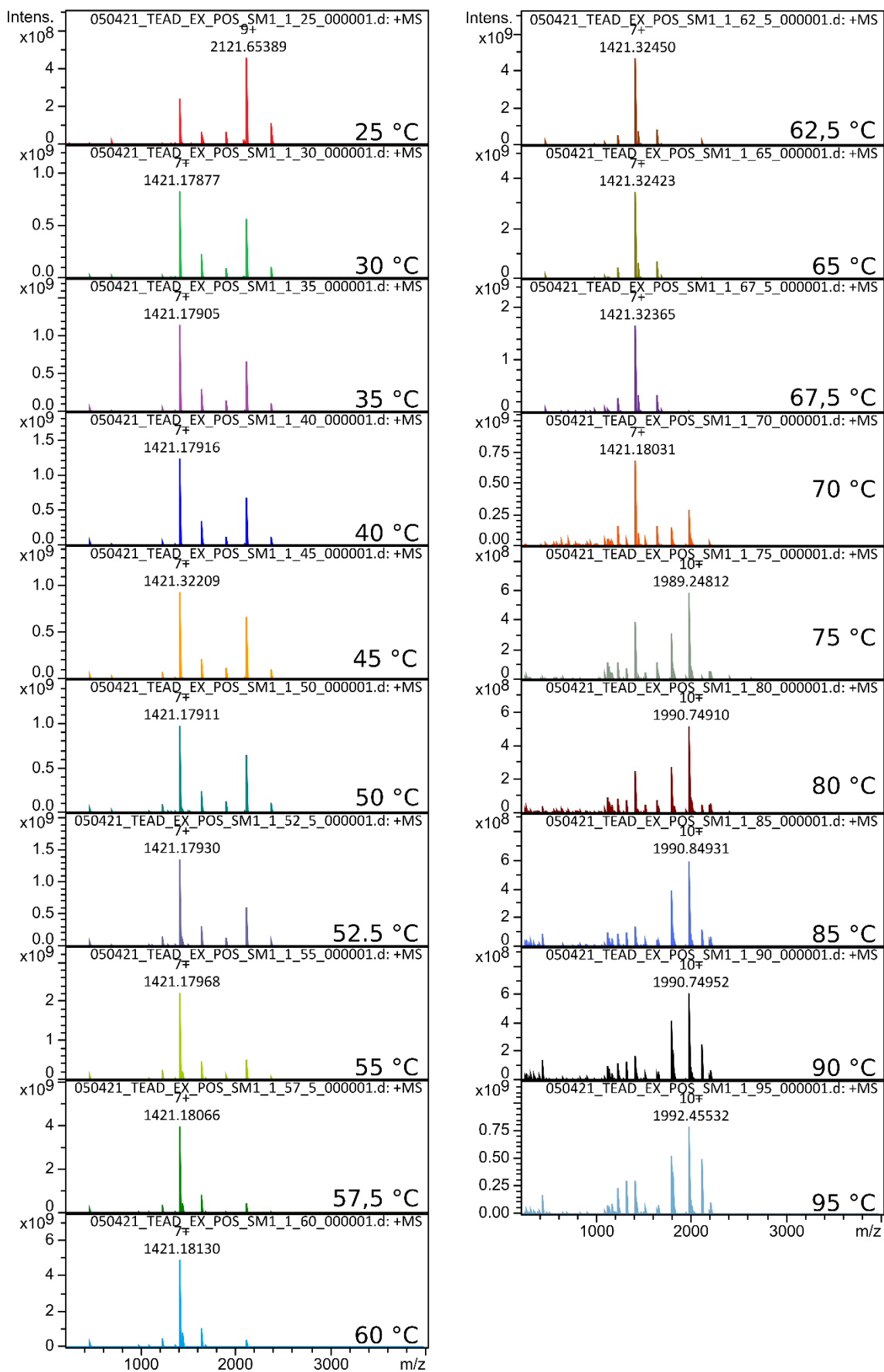
PŘÍLOHA 14 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS FOXO4-DBD (pozitiv)



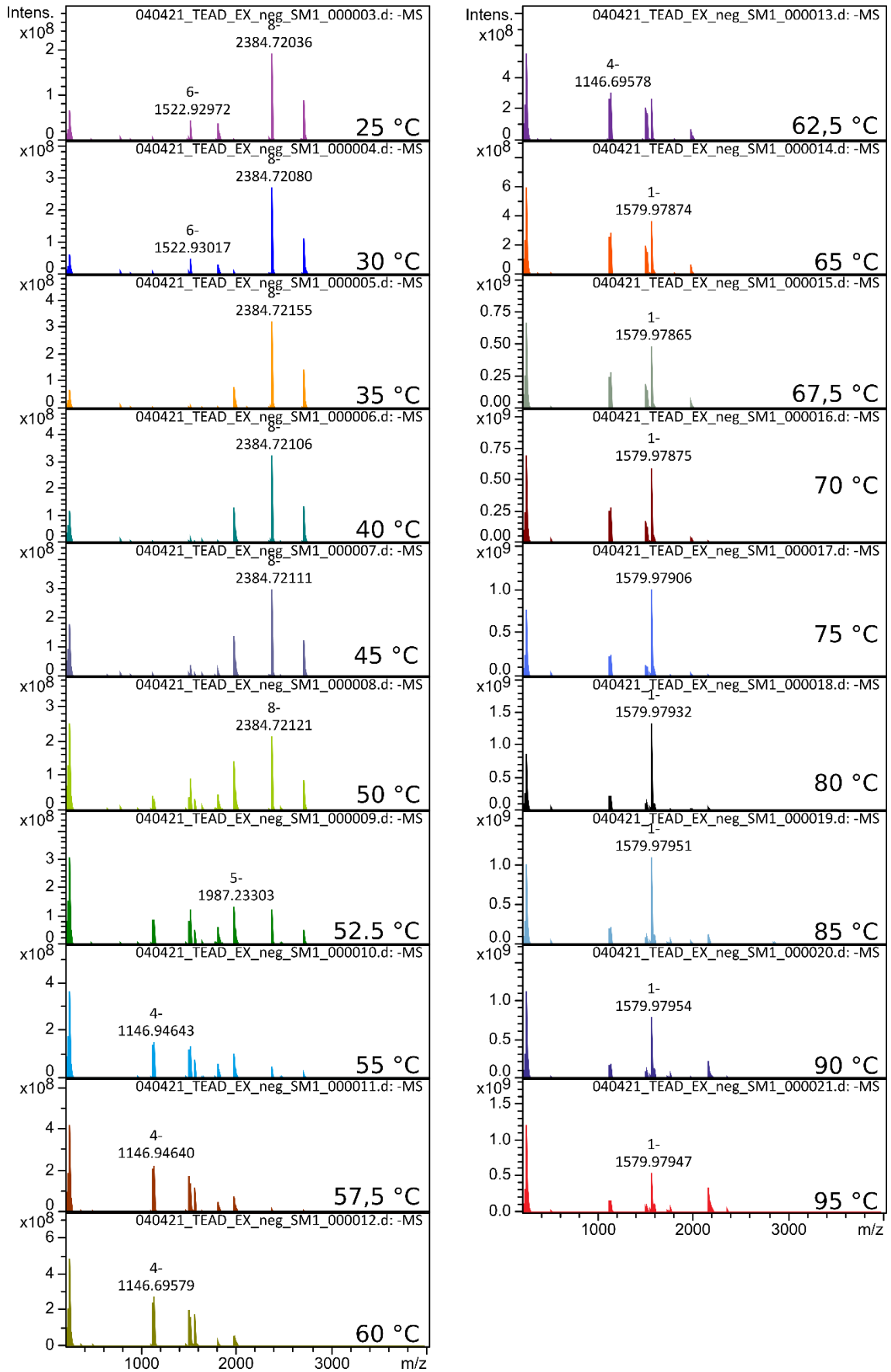
PŘÍLOHA 15 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS FOXO4-DBD (negativ)



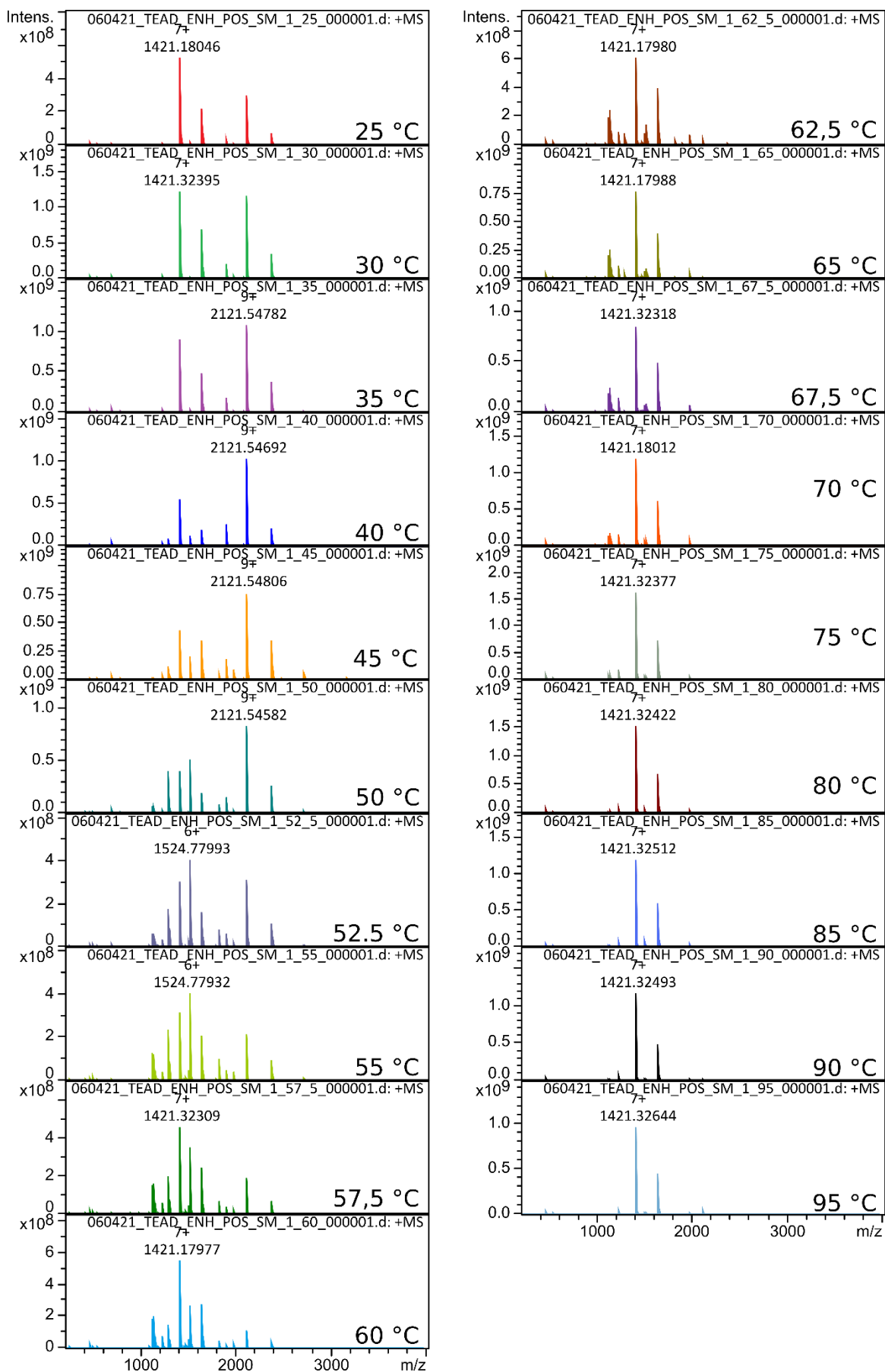
PŘÍLOHA 16 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS TEAD1 C-MYC EXON (pozitiv)



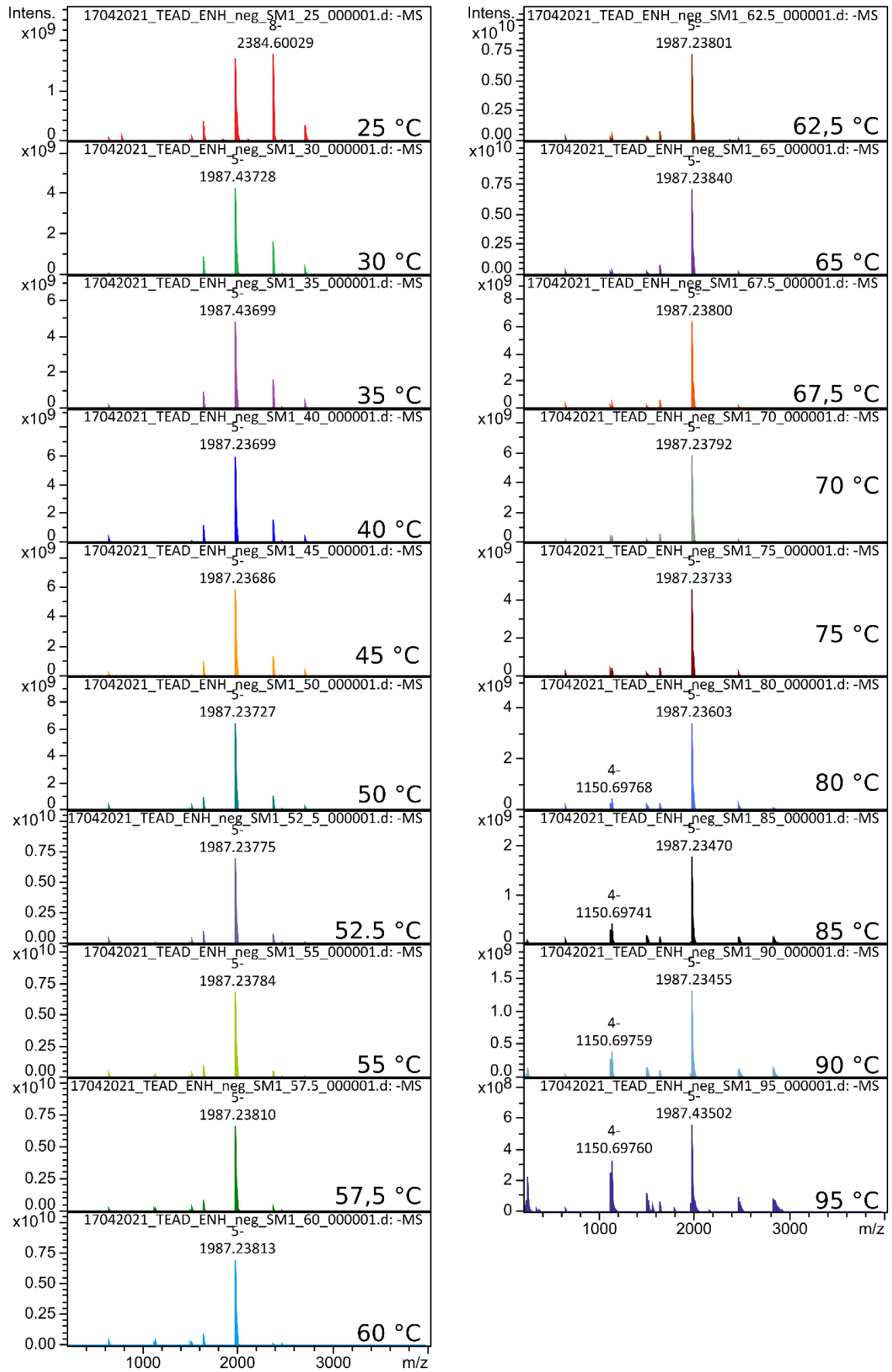
PŘÍLOHA 17 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS TEAD1 C-MYC EXON (negativ)



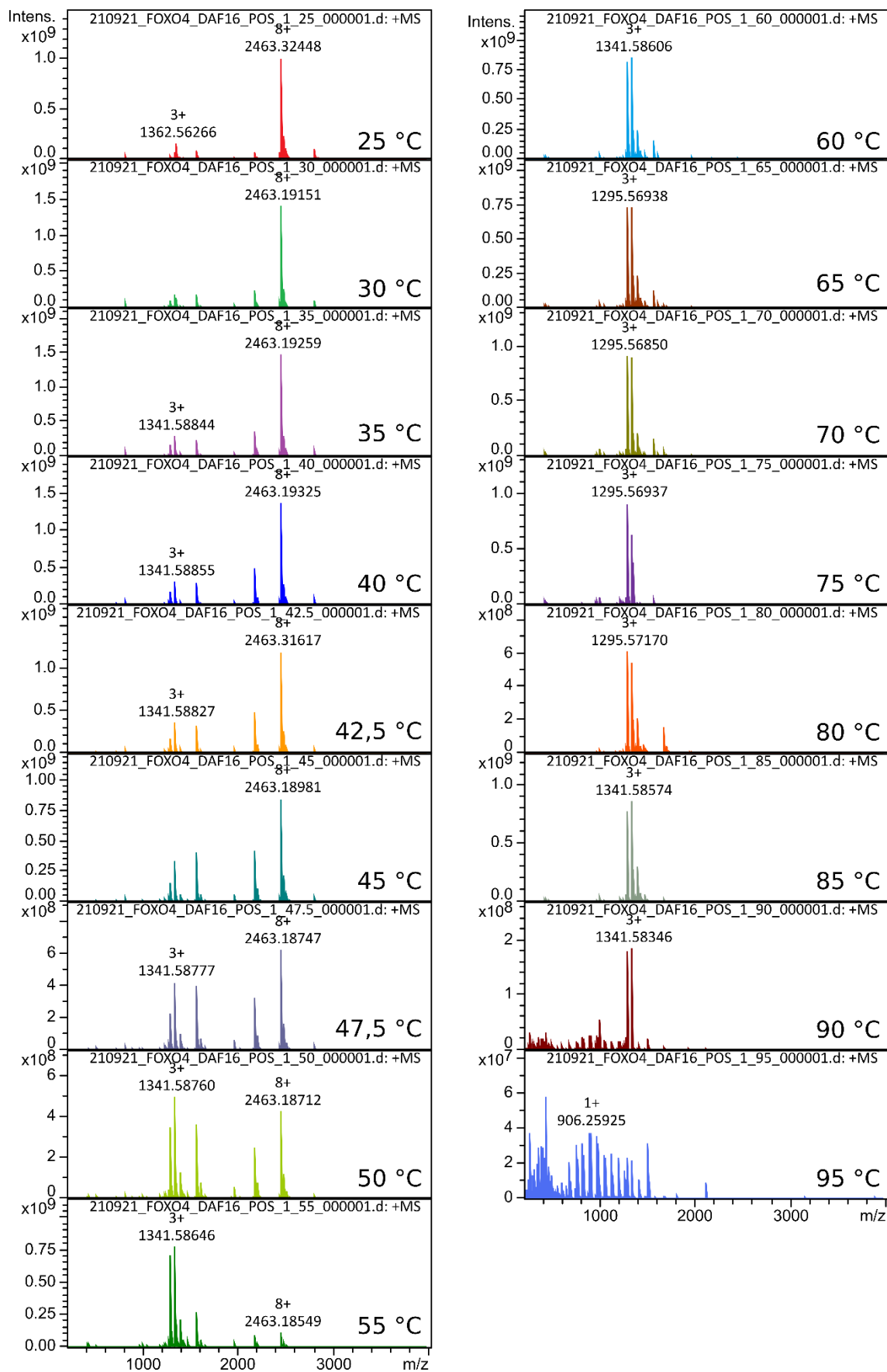
PŘÍLOHA 18 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS TEAD1 C-MYC ENH (pozitiv)



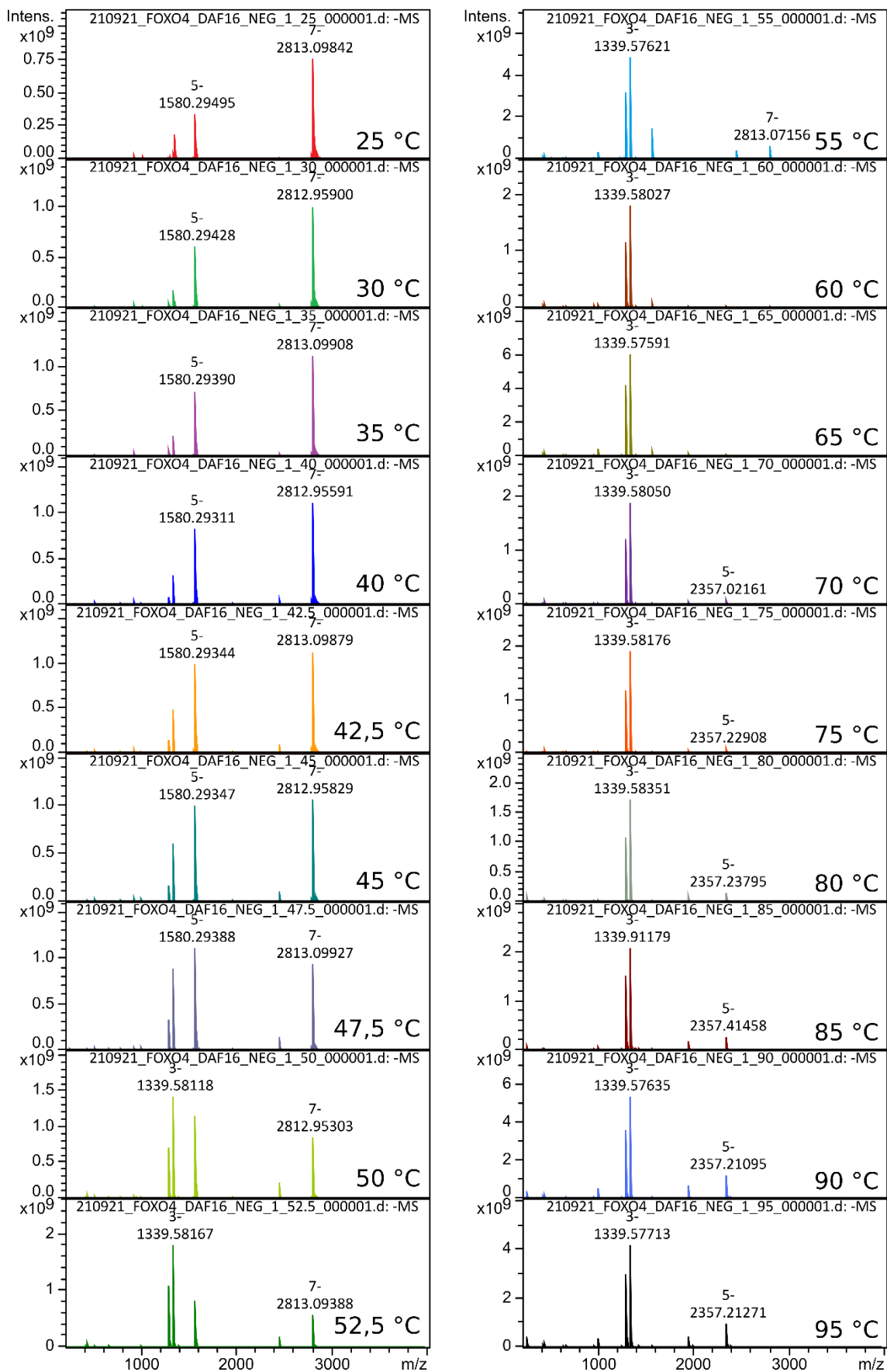
PŘÍLOHA 19 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS TEAD1 C-MYC ENH (negativ)



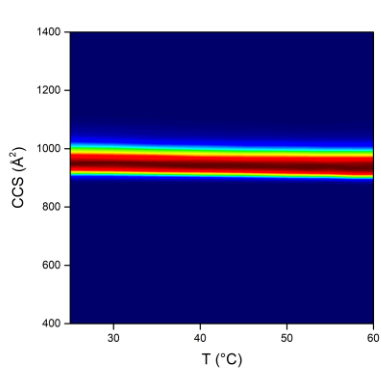
PŘÍLOHA 20 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS FOXO4 DAF-16 (pozitiv)



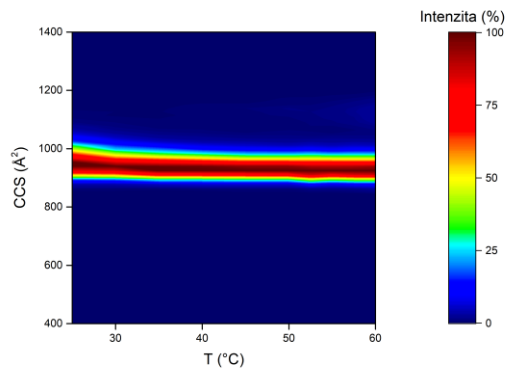
PŘÍLOHA 21 – Hmotnostní spektra z vT-nESI MS FOXO4 DAF-16 (negativ)



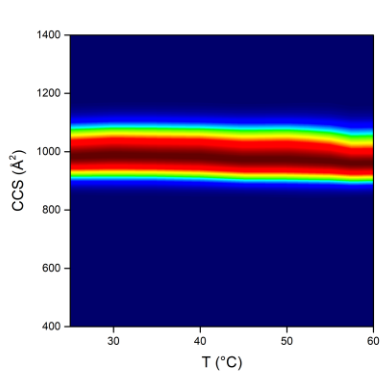
PŘÍLOHA 22 – Teplotní mapy z vT-nESI IM-MS dsDNA



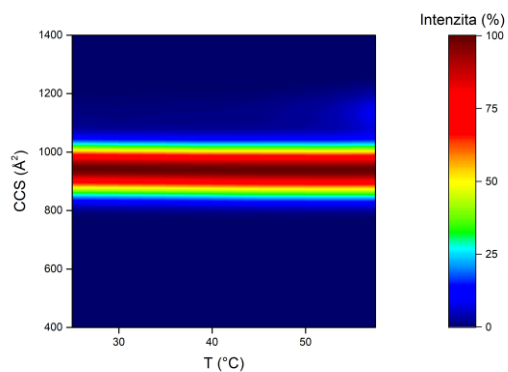
C-MYC EXON 6+



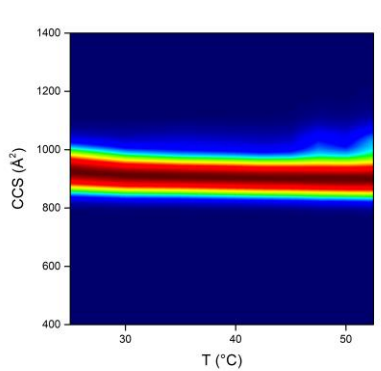
C-MYC EXON 6-



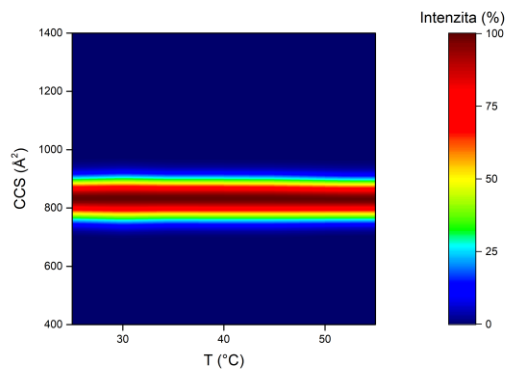
C-MYC ENHANCER 6+



C-MYC ENHANCER 6-

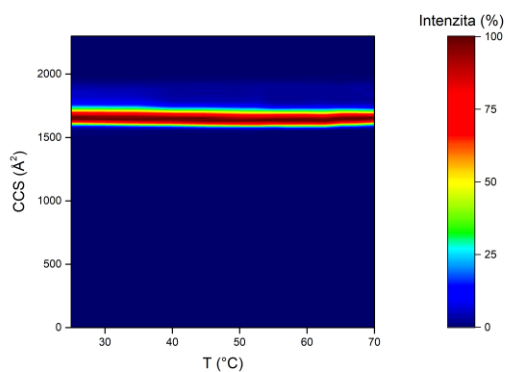


DAF-16 6+

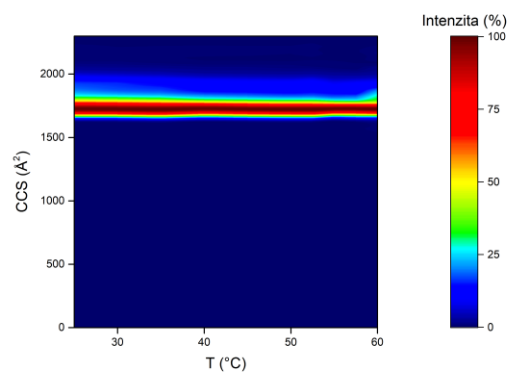


DAF-16 5-

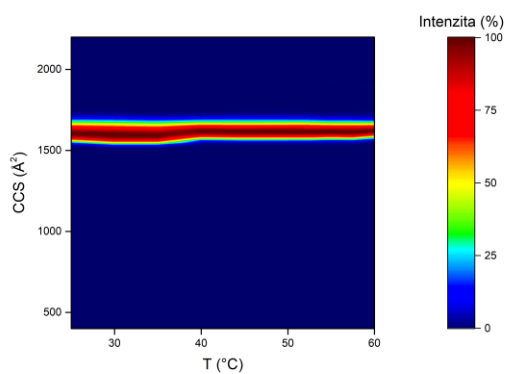
PŘÍLOHA 23 – Teplotní mapy z vT-nESI IM-MS TEAD1 protein-DNA komplexů



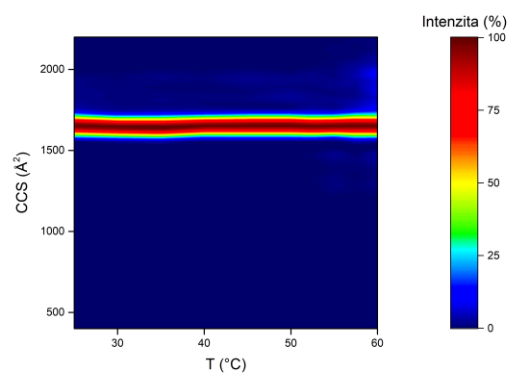
TEAD1-DBD C-MYC EXON 9+



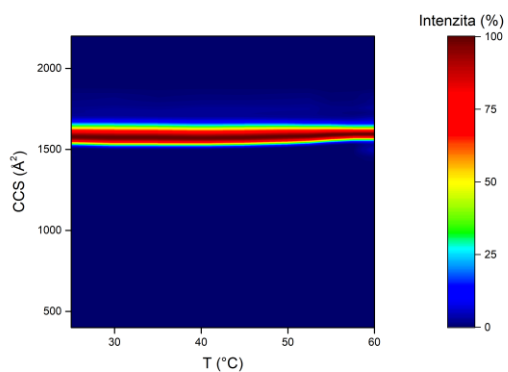
TEAD1-DBD C-MYC EXON 10+



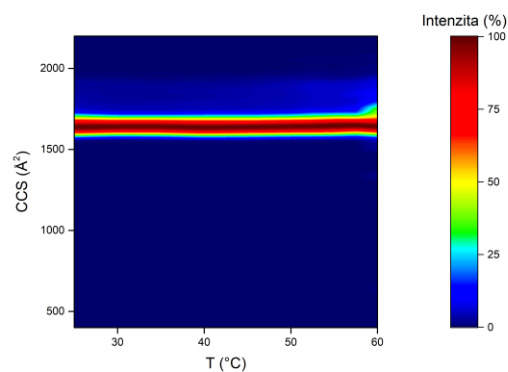
TEAD1-DBD C-MYC EXON 8-



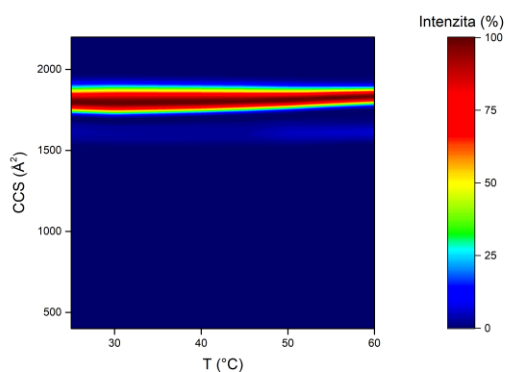
TEAD1-DBD C-MYC EXON 9-



TEAD1-DBD C-MYC ENHANCER 8+

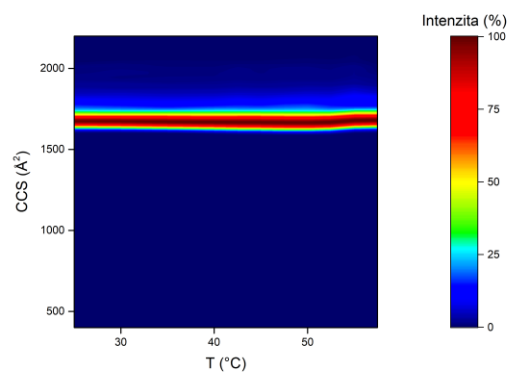
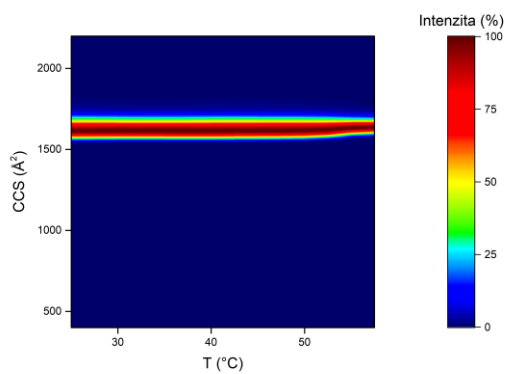


TEAD1-DBD C-MYC ENHANCER 9+



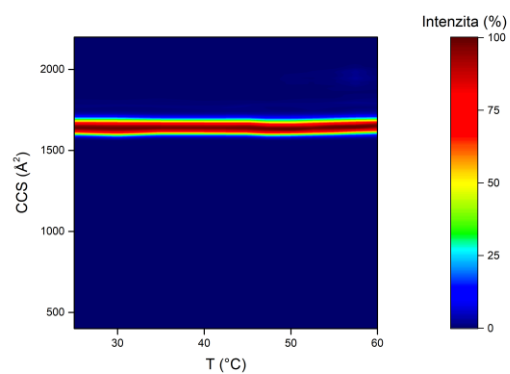
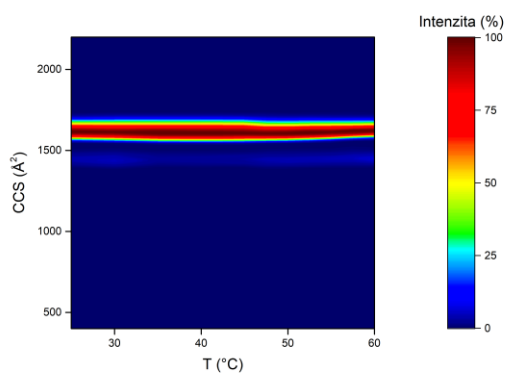
TEAD1-DBD C-MYC ENHANCER 8-

PŘÍLOHA 24 – Teplotní mapy z vT-nESI IM-MS FOXO protein-DNA komplexů



FOXO4-DBD *DAF-16* 8+

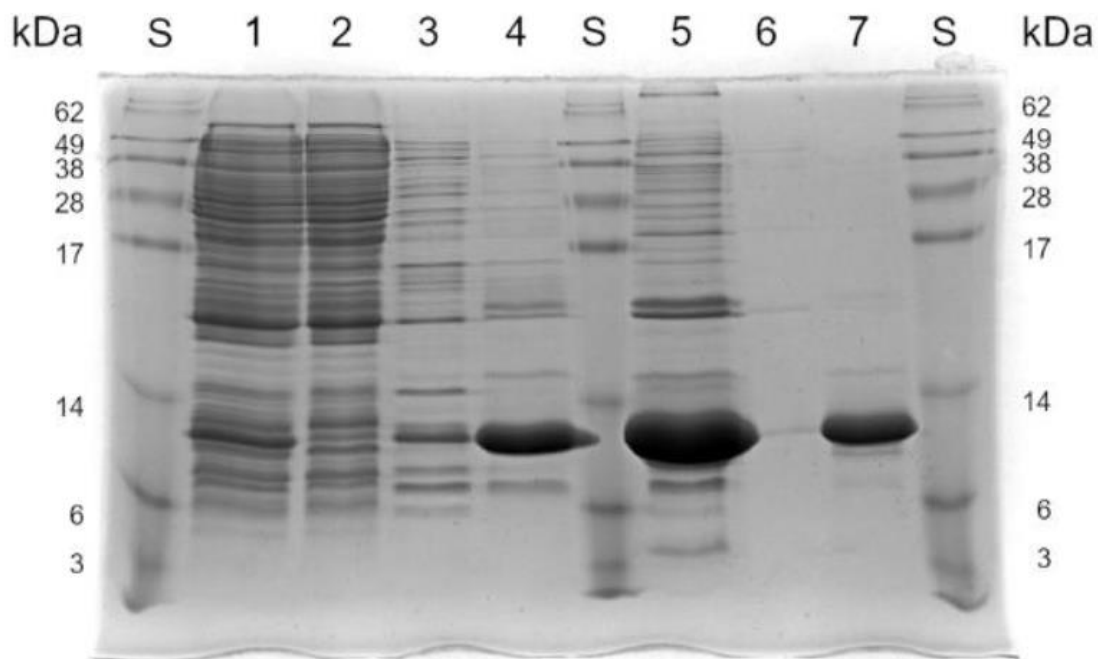
FOXO4-DBD *DAF-16* 9+



FOXO4-DBD *DAF-16* 7-

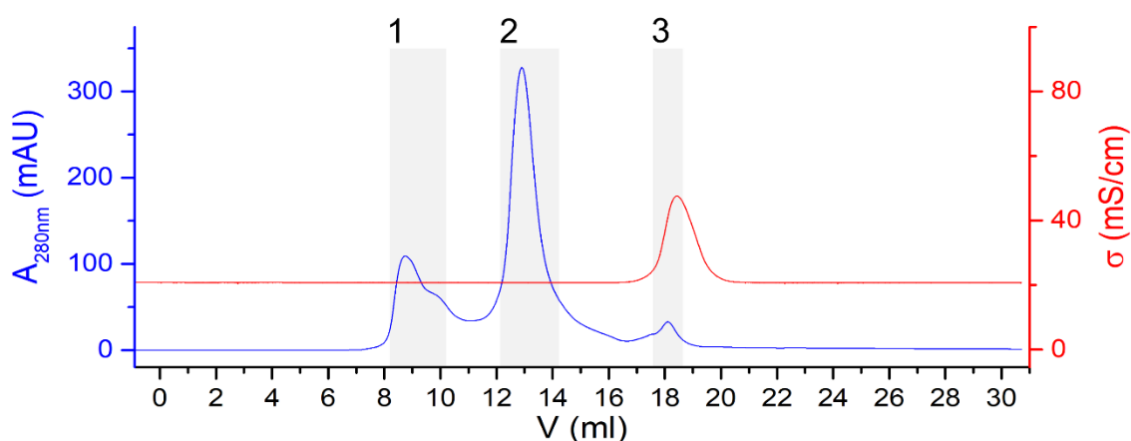
FOXO4-DBD *DAF-16* 8-

PŘÍLOHA 25 – Obr. 16 z bakalářské práce (SDS-PAGE gel zachycující průběh purifikace)



Polyakrylamidový gel z diskontinuální elektroforézy za přítomnosti SDS. (Obr. 16 na str. 45 v bakalářské práci [75]). Vzorke zleva: S – standard, 1 – bakteriální lyzát, 2 – 1. afinitní chromatografie eluce ekvilibračním pufrem, 3 – 1. afinitní chromatografie eluce promývacím pufrem, 4 – 1. afinitní chromatografie eluce elučním pufrem, 5 – vzorek injektovaný na gelovou permeační chromatografii, 6 – 1. frakce z gelové permeační chromatografie, 7 – 2. frakce z gelové permeační chromatografie.

PŘÍLOHA 26 – Obr. 15 z bakalářské práce (záznam z gelové permeační chromatografie)



Záznam gelové permeační chromatografie na koloně ENrich SEC 70 10×300 mm (Obr. 15 na str. 44 v bakalářské práci [75]). Modře znázorněna absorbance při 280 nm (mAU) na červeně pak konduktivita (mS/cm). Na ose x byl vynesena retenční objemu (ml). Graficky znázorněny jímané frakce, 1. a 2. obě o objemu 2 ml, byly použity pro přípravu vzorků na SDS-PAGE.