

## **Abstrakt**

Proteiny intermediálních filament vytvářejí dynamickou síť cytoskeletálních vláken, která díky svým elastickým vlastnostem výrazně přispívá k odolnosti buněk a tkání vůči mechanickému namáhání. Významným proteinem z rodiny intermediálních filament je vimentin, exprimovaný především v buňkách mezenchymálního původu. Vimentin je spojován s velkým množstvím patofyziologických stavů a současné studie jej považují za klinicky perspektivní cíl pro diagnostiku, prognózu a léčbu širokého spektra chorob od rakoviny po infekční a zánětlivá onemocnění. Přestože z pohledu strukturní charakterizace patří vimentin mezi jeden z nejvíce prozkoumaných proteinů rodiny intermediálních filament, naše znalost je v současné době omezena na strukturu vimentinového tetrameru. V buňkách se vimentin samovolně sestavuje do vláken tvořených homo-oligomerními podjednotkami ULF v procesu, který zahrnuje několik kroků organizace podjednotek. Detailní strukturní charakterizace oligomerních podjednotek vznikajících v průběhu skládání vimentinových vláken je předpokladem k objasnění architektury zralých filament, která může výrazně přispět k pochopení a propojení mechanismů mnoha onemocnění souvisejících se změnami v expresi vimentinu.

Tato práce se zaměřuje na strukturní analýzu ULF podjednotek vimentinu vznikajících asociací vimentinových tetramerů. S využitím techniky MIX CXMS založené na chemickém sítění směsi izotopově značeného a neznačeného proteinu, která umožňuje identifikaci a rozlišení intermolekulárních a intramolekulárních interakcí, byla identifikována unikátní peptidová spojení poskytující informace o původu spojených peptidů v rámci ULF. Následnou kvantifikací zastoupení intertetramerního a intratetramerního sítění bylo zjištěno 27 unikátních peptidových spojení pocházejících z rozhraní tetramer-tetramer, poskytujících informace o vzdálenostních omezeních tetramerů v ULF pro strukturní charakterizaci ULF podjednotky vimentinu.

**Klíčová slova:** intermediální filamenta, chemické zesítění, izotopově značené proteiny, hmotnostní spektrometrie