

Proteiny 14-3-3 jsou regulační proteiny, které se vyskytují v mnoha isoformách ve všech eukaryotických organismech a účastní se řady buněčných dějů. V této práci jsem se zabývala vlivem struktury ohybu H8-H9 u ječmenných isoform hv 14-3-3A a lidských isoform 14-3-3 ζ na afinitu k vazebnému partnerovi. Z dříve publikovaných výsledků vyplývá, že isoforma hv 14-3-3A se váže s nejmenší afinitou, což může být způsobeno přítomností glycinu v H8-H9 ohybu, na rozdíl od ostatních isoform, které mají na stejné pozici serin. Vazebnou afinitu jsem zjišťovala jak pro původní protein hv 14-3-3A WT, tak i pro jeho mutant, u kterého byl glycin v H8-H9 ohybu nahrazen serinem. Pro srovnání jsem také provedla měření s lidskou isoformou 14-3-3 ζ WT, která v H8-H9 ohybu na studované pozici obsahuje serin, a jejího mutantu, u kterého byl tento serin nahrazen glycinem. Proteiny jsem exprimovala v bakteriích *E. coli* kmen BL21(DE3) a poté jsem je purifikovala. Disociační konstanty pro vazbu peptidů pRaf značenými sondami FITC a ATTO jsem získala pomocí metod fluorescenční korelační spektroskopie a stacionárního měření intenzity fluorescence. Z naměřených hodnot vyplývá, že v případě lidských i ječmenných isoform došlo po mutaci ke zhoršení afinity k vazebnému partnerovi.