

Abstrakt

Bakteriální protein WrbA z *E. coli* je zakládajícím členem nové rodiny FMN dependentních NAD(P)H oxidoreduktas, tvořící funkční i strukturní vývojový stupeň mezi bakteriálními flavodoxiny a některými savčími NAD(P)H:chinon oxidoreduktasami. Z těchto důvodů je protein WrbA v poslední době intenzivně studován pomocí různých analytických metod i počítačových simulací. Protein WrbA participuje na ochraně buněk před oxidativním stresem, přesná funkce proteinu WrbA *in vivo* je však stále neznámá. Protein WrbA tvoří v roztocích multimery, v μM koncentracích se při nízkých teplotách ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) nachází ve formě dimeru, s rostoucí teplotou tetramerizuje. Dostupné trojrozměrné krystalové struktury obsahují informace pouze o tetramerní formě proteinu, dimerní forma dosud nebyla strukturně charakterizována.

Tato práce byla zaměřena na studium dynamického chování proteinu v roztoku metodami vodík-deuteriové výměny a chemického síťování s následnou analýzou hmotnostním spektrometrem s vysokým rozlišením (FT-ICR). Sledováno bylo chování proteinu v závislosti na vazbě kofaktoru FMN nebo změnách teploty a koncentrace. Analýzou dat z vodík-deuteriové výměny byly získány informace o přístupnosti rozpouštědla a dynamice pro kompletní sekvenci proteinu. Popsán byl stabilizační vliv kofaktoru na tetramerní strukturu proteinu, nalezeny byly ovšem i velice flexibilní oblasti aminokyselinové sekvence napříč všemi experimentálními podmínkami. Flexibilita částí sekvence byla potvrzena chemickým síťováním. Kombinací dat získaných vodík-deuteriovou výměnou a chemickým síťováním bylo navíc určeno rozhraní vzniku dimeru v roztocích apoproteinu.

Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, konformace proteinu, chemické zesíťení, vodík-deuteriová výměna, protein vázající tryptofanový represor