

Abstrakt

K pochopení fyziologické funkce proteinů je nezbytná znalost jejich prostorového uspořádání, studium konformačních změn a vzájemných interakcí. Chemické zesílení v kombinaci s hmotnostní spektrometrií představuje vhodnou doplňkovou techniku k běžným metodám strukturní biologie (RTG krystalografie, NMR spektroskopie), která umožňuje charakterizovat interakce v komplexech bílkovin za nativních podmínek. Předkládaná práce je zaměřena především na novou síťovací techniku založenou na *in vivo* inkorporaci analogu methioninu s foto-reaktivní funkční skupinou (foto-Met) do sekvence studovaného proteinu (tzv. proteinová foto-nanosonda).

Interakce modelové dimerní molekuly proteinu 14-3-3zeta byla použita pro testování a optimalizaci přípravy proteinové foto-nanosondy a byla tak ověřena využitelnost této techniky k zachycení protein-proteinových interakcí. Byla řešena také interakce membránových hemoproteinů - cytochromu P450 2B4 a cytochromu b5. S využitím chemického zesílení a MS analýzy byla charakterizována vzájemná interakce katalytických domén cytochromů a byly nalezeny dvě možné prostorové orientace cytochromů. Nově zavedená technika síťování pomocí foto-Met umožnila zachytit různé oligomerní stavy katalyticky aktivního membránového komplexu a byl stanoven molární poměr cytochromů v identifikovaných komplexech.