

## Abstrakt CZ

Mezi všemi způsoby regulace signalizace mají protein-proteinové interakce přednostní postavení. Jejich studium v různých podmínkách je logickým a důležitým krokem v pochopení molekulárního mechanismu funkcí jednotlivých regulačních procesů.

Tato práce je zaměřena na studium tří takových procesů: ASK1 proteinkinasa, důležitý iniciátor proapoptotických dějů, je za fyziologických podmínek udržována v neaktivním stavu v komplexu s proteinem 14-3-3 a TRX1. Za podmínek oxidačního stresu však tyto proteiny disociují a proteinkinasa se stává aktivní. Dalším procesem je interakce proteinu 14-3-3 s fosducinem a studium jeho úlohy v negativní regulaci G proteinové signalizace v rámci biochemie zraku. Třetí proces je aktivace Nth1 prostřednictvím interakce s Bmh1 a vápníkových kationů. Práce si klade za cíl pomocí různých biochemických a biofyzikálních metod, zejména bodové mutagenese, analytické ultracentrifugace, malouhlového rozptylu rentgenového záření a fluorescenční spektroskopie přispět k objasnění strukturní podstaty výše popsaných dějů a vysvětlit úlohu protein-proteinových interakcí v jejich regulaci.

Na základě výsledků získaných těmito metodami byly zjištěny strukturní informace o tvaru a stechiometrii komplexů TRX1 i proteinu 14-3-3 s odpovídajícími vazebnými doménami ASK1 včetně jejich zdánlivých disociačních konstant. V případě komplexu ASK1 s TRX1 bylo možno též identifikovat pravděpodobné interakční rozhraní společně s kriticky důležitými aminokyselinami, na nichž jsou interakce závislé. V rámci studia komplexu 14-3-3:fosducin byly zjištěny vazebné afinity separovaných domén fosducinu k proteinu 14-3-3, přičemž tímto způsobem byly objeveny konkrétní oblasti zodpovědné za stabilitu komplexu. U Nth1 a Bmh1 byla posuzována vazebná afinita těchto dvou proteinů v podmínkách s a bez vápenatých kationů. V souladu s těmito daty byla diskutována úloha studovaných interakcí a zhodnocen jejich význam v regulačních procesech, jež byly předmětem zájmu.