

# Abstrakt

Některé bílkoviny k plnění své funkce vyžadují přítomnost specifického ligandu, kofaktoru nebo prostetické skupiny. Vazba této specifické molekuly může v molekulách bílkovin způsobit konformační změny. V některých případech může charakterizace takovýchto konformačních změn představovat velmi náročný úkol. V předkládané práci je popsán nový přístup sloužící ke sledování těchto změn pomocí kombinace chemického zesílení a hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením. Na modelovém systému, kterým byl zvolen protein kalmodulin, je ukázáno, že analýza pomocí izotopově značených síťovacích činidel umožňuje získat přehled o změnách struktury způsobených přítomností nebo nepřítomností ligandu. Byly rovněž popsány potenciální nedostatky metody, které tkví především v nedostatečné proteolýze proteinu.

Tato nová metoda, která zároveň umožňuje kvantifikaci strukturních změn proteinů, byla použita spolu s dalšími technikami k charakterizaci neutrální trehalasy Nth1 v komplexu s proteinem Bmh1 (kvasinková forma proteinu 14-3-3). Výsledky odhalily, že vazba proteinu Bmh1 vyvolává přeskupení molekuly Nth1 se změnami především v tzv. "EF-hand" podobném motivu, který je nezbytný pro aktivační proces.