

## Abstract (In Czech)

Hmotnostní spektrometrie (MS) se stala častou technikou pro sledování struktury a dynamiky proteinů a proteinových komplexů. I když techniky založené na MS detekci nemohou poskytovat informace s vysokým rozlišením, jako je např. rentgenová difrakce, nukleární magnetická rezonance (NMR), nebo kryo-elektronová mikroskopie (cryo-EM), jsou dobrým nástrojem z hlediska poskytování informací ohledně dynamiky, struktury a interakcí analytů s dalšími molekulami, např. ligandy.

Tato doktorská práce představuje přínos do oblasti strukturní biologie při využití kovalentního značení, tzv. rychlé fotochemické oxidace proteinů (FPOP) a oxidace singletním kyslíkem ( $^1\text{O}_2$ ) pro studium struktury, dynamiky a interakcí proteinů a proteinových komplexů s dvoušroubovici DNA. V první části práce byla metoda FPOP využita k studiu struktury komplexu FOXO4-DAF16, která poukázala na možnosti analýzy takového komplexu pomocí přístupů "bottom-up" a "top-down". Dále je zde představena strategie izotopové deplece pro strategii „top-down“, kde je demonstrována její výhoda ve spojení s multiCASI-ECD za účelem získání nejvyšší možné strukturní informace ohledně interakce FOXO4 s IRE. Studie ukazuje, jak mohou informace získané ze strukturní proteomiky vést k vytvoření *in-silico* modelů protein-DNA komplexů, jejichž struktury o vysokém rozlišení jsou náročné na přípravu. Dále, práce představuje použití hydroxylových radikálů pro mapování poškození DNA, které je poprvé kvantifikováno MS analýzou o vysokém rozlišení. Studium poškození dvouvláknového oligonukleotidu IRE bez a v přítomnosti proteinu FOXO4 objasňuje analytické principy analýzy poškození DNA pomocí hmotnostní spektrometrie a naznačuje její další využití pro studium vyšších nadmolekulových struktur nukleových kyselin a pro určení interakčního rozhraní. Studium ternárního komplexu TEAD1-FOXO4-DNA ukazuje, jak snadno chemické sondy v podobě hydroxylových radikálů mohou zachytit i malé konformační změny na DNA po vazbě transkripčního faktoru. MS analýza LOV2 proteinu pomocí MS dále ukazuje, že je top-down efektivním nástrojem pro kvantitativní analýzu oxidativního poškození proteinu. V tomto případě je to demonstrováno na kovalentně označeném modelovém proteinu pomocí singletového kyslíku,  $^1\text{O}_2$ .

**Klíčová slova:** Strukturní hmotnostní spektrometrie, rychlá fotochemická oxidace proteinů, protein-DNA komplexy, FOXO4, TEAD1, poškození DNA, fotosensitizer, protein AsLOV2.