

IV107 Bioinformatika I

Přednáška 9

Katedra informačních technologií
Masarykova Univerzita Brno

Jaro 2008

Rozdíly mezi genomickými a
proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů
pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení
v bioinformatice

Předchozí týden

- ▶ Získávání expresních dat
- ▶ Analýza expresních dat
 - ▶ porovnání dvou vzorků
 - ▶ zhlukování, klasifikace, strojové učení
 - ▶ mapování na GO, DIP, KEGG a TRANSFAC
- ▶ Použití v lékařské diagnostice

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Outline

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS
2-D SDS-PAGE
Štěpení proteinů petidázami

Hmotnostní spektrometrie
Základní principy a techniky
Analýza proteomických dat
Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů petidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Genom, transkriptom, proteom, metabolom

	objekt	charakter	metody
G	DNA	statická data	sekvenace
T	populace mRNA	dynamická data	microarray
P	populace proteinů	dynamická data	2-D gely, MS
M	populace látek	vysoce dynamická data	?

Různé úrovně hromadných dat o buňkách a tkáních

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

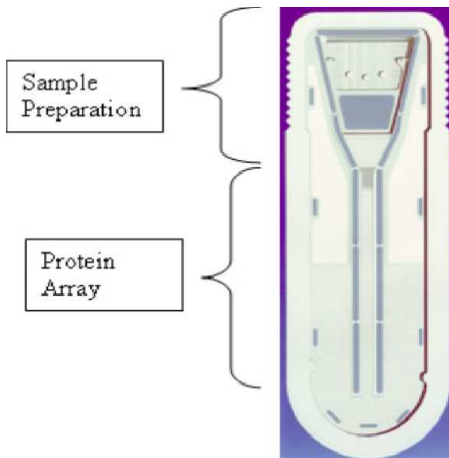
Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Detekce proteinů



Komerční model analyzátoru krve postavený na principu "protein array".

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Outline

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů petidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů petidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Identifikace proteinů

- ▶ aminokyselinové složení
- ▶ molekulová hmotnost
- ▶ izoelektrický bod (pI)

Běžné charakteristiky nedokážou jednoznačně popsat protein

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Průměrné zastoupení aminokyselin v proteinech

237795	L	Leu	9.4
199138	A	Ala	7.8
192381	G	Gly	7.6
191458	S	Ser	7.5
175970	V	Val	6.9
154267	E	Glu	6.1
146184	T	Thr	5.7
137735	I	Ile	5.4
135069	K	Lys	5.3
133582	R	Arg	5.2
124916	D	Asp	4.9
115228	P	Pro	4.5
105957	F	Phe	4.1
102780	N	Asn	4.0
95080	Y	Tyr	3.7
93296	Q	Gln	3.6
56348	M	Met	2.2
50486	H	His	1.9
37544	C	Cys	1.4
36530	W	Trp	1.4
3202	X	-	0.1

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Rozdíly mezi genomickými a
proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů
pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky
Analýza proteomických dat

Příště

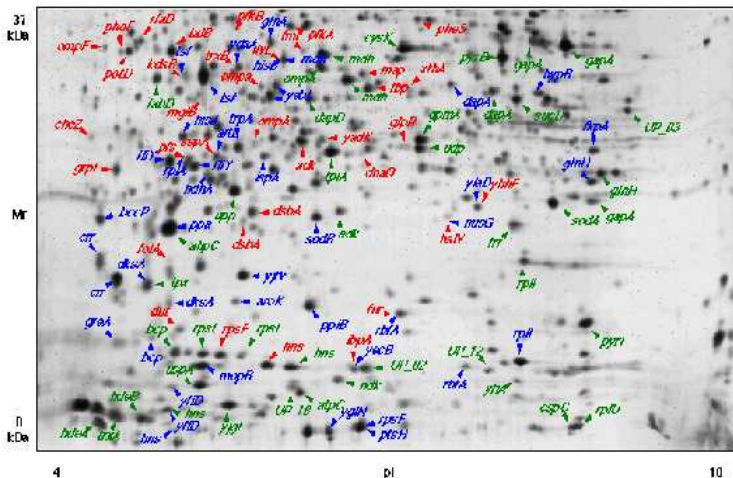
Vybrané algoritmy a jejich nasazení
v bioinformatice

Princip 2-D gelu

- ▶ Separace podle izoelektrického bodu, resp. náboje při daném pH
- ▶ Separace podle molekulové hmotnosti

I přes dvojitou separaci zůstává na gelu množství skvrn obsahujících více proteinů

2-D SDS PAGE se skvrnami proteinů E.coli menších než 38 kDa



Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Isolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Přístě

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Hledání pomocí složení, pI a molekulové hmotnosti

Rank	Protein	pI	Mw	Description
1	GRIA4_RAT	7.59	98421	Glutamate receptor 4
2	GRIA4_MOUSE	7.59	98295	Glutamate receptor 4
3	GRIA4_HUMAN	8.21	98489	Glutamate receptor 4
4	POL1_ARMVN	6.44	71899	NTP-binding protein
5	TYDC4_PETCR	6.24	56771	Tyrosine decarboxylase 4
7	ACOX5_CANTR	6.09	74106	Acyl-coenzyme A oxidase 5
8	TYDC2_PETCR	6.29	57450	Tyrosine decarboxylase 2
9	LOX1_LENCU	6.01	96639	Lipoxygenase EC 1.13.11.12
10	VIRD4_AGRTU	7.12	75950	Protein virD4
11	TYDC3_PETCR	6.80	57633	Tyrosine decarboxylase 3
12	ACOX3_ARATH	7.70	71909	Acyl-coenzyme A oxidase 3

TagIdent - <http://www.expasy.ch/tools/tagident.html>

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Outline

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů petidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů petidázami

Hmotnostní spektrometrie

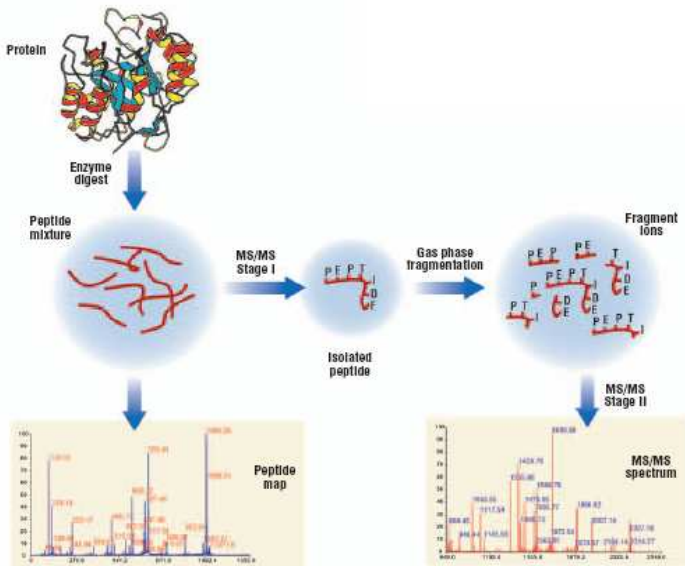
Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Identifikace proteinů hmotnostní spektrometrií



Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Isolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

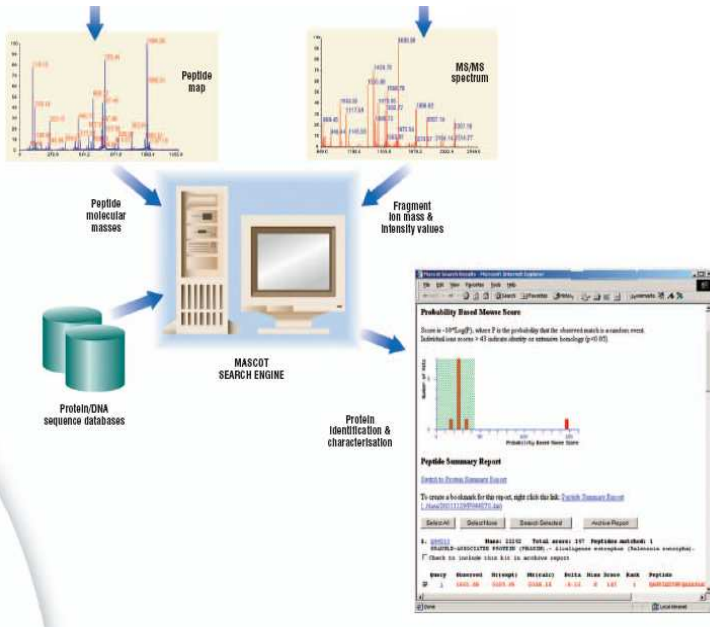
Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Identifikace proteinů hmotnostní spektrometrií



Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Isolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Přístě

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

- ▶ MS Peptide Mass Fingerprinting (MALDI-TOF)
- ▶ MS/MS (tandem MS)

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

MALDI-TOF

Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization - Time Of Flight

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

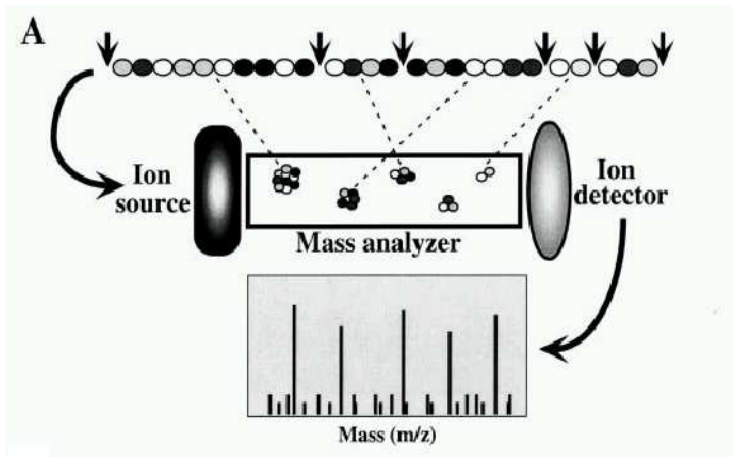
Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

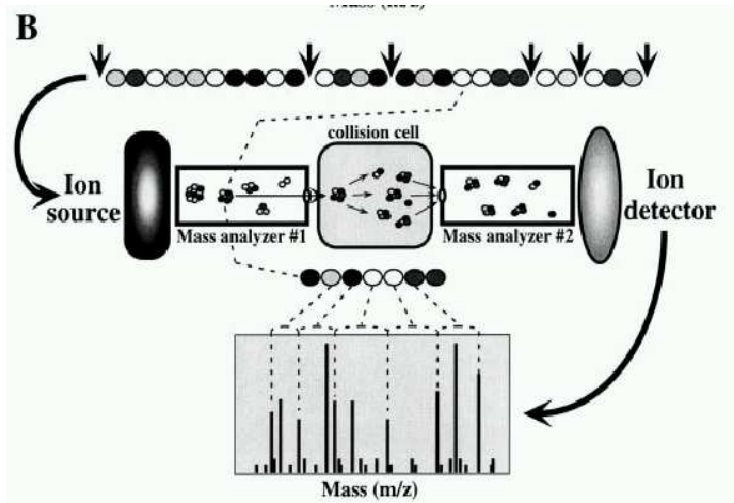
Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice



Tandemová hmotnostní spektrometrie



Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

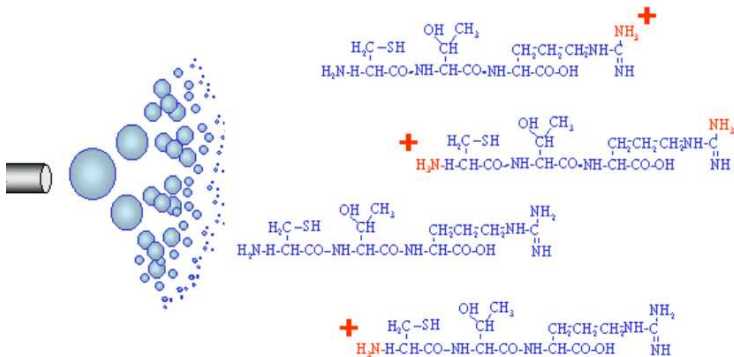
Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Electron Spray Ionization (ESI)



Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Isolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

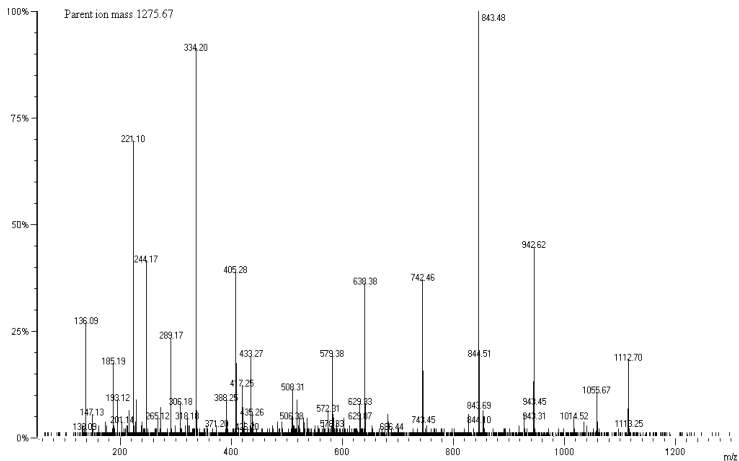
Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Spektrum z tandemové hmotnostní spektrometrie



Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

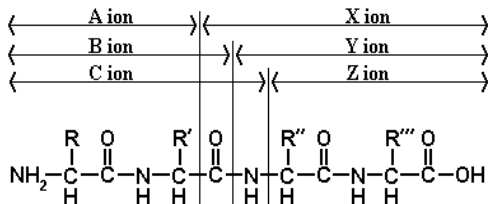
Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Peptidové iony, které mohou vznikat v tandemové MS



Proteomická databáze GPM



<http://prospector.ucsf.edu>

Rozdíly mezi genomickými a proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Rozdíly mezi genomickými a
proteomickými daty

Izolace a příprava proteinů
pro MS

2-D SDS-PAGE

Štěpení proteinů peptidázami

Hmotnostní spektrometrie

Základní principy a techniky

Analýza proteomických dat

Příště

Vybrané algoritmy a jejich nasazení
v bioinformatice

Příště Vybrané algoritmy a jejich nasazení v bioinformatice

Outline

Dodatek

Dodatek

For Further Reading

Dodatek

For Further Reading

For Further Reading
X