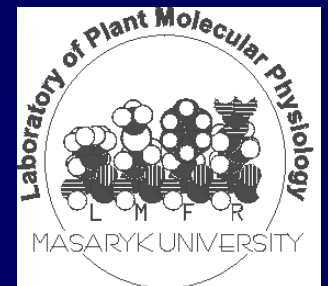


# Základy proteomiky 2012

Proč právě proteomika?

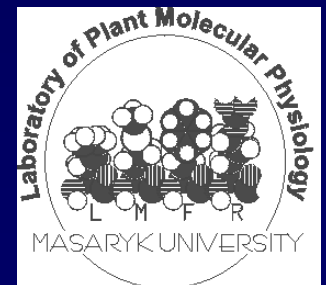
Jan Hejátko



# Základy proteomiky 2012

## ▪ Schéma přednášek ze Základů proteomiky 2012

- Proč právě proteomika? (Jan Hejátko)
- Exprese a purifikace rekombinantních proteinů (Radka Dopitová)
- Funkce proteinů (Lubomír Janda)
- Určování třírozměrných proteinových struktur metodami proteinové krystalografie (Jaromír Marek)
- Dvoudimenzionální elektroforéza (Hana Konečná/Jana Bursíková)
- Hmotnostní spektrometrie proteinů (Zbyněk Zdráhal)



# Základy proteomiky 2012

## zdrojová literatura

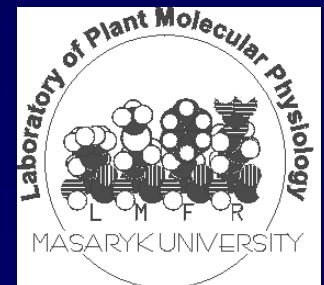
### ▪ Zdrojová literatura k první přednášce:

#### Monografie a učebnice

- Plant Functional Genomics, ed. Erich Grotewold, 2003, Humana Press, Totowa, New Jersey
- Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics, ed. Wilkins, M.R., Williams, K.L., Appel, R.D., Hochstrasser, D.F., 1997, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg
- Dubová J., Hejátko J., Friml J. (2005) Reproduction of Plants, in Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine (ed. R. A. Meyers), pp. 249 – 295. Wiley-VCH, Weinheim, Germany

#### Publikace v mezinárodních časopisech

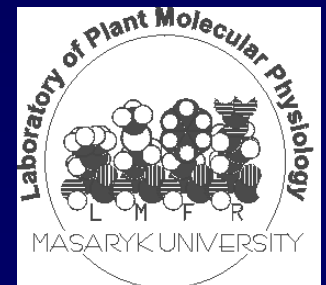
- Wang, L. and Wessler, S.R. (1998) Inefficient reinitiation is responsible for upstream open reading frame-mediated translational repression of the maize R gene. *Plant Cell*, **10**, (1733)
- Friml, J. and Palme, K. (2002) Polar auxin transport. Old questions and new concepts?. *Plant Mol. Biol.*, **49**, 273-284
- Mello, C.C. and Conte Jr., D. (2004) Revealing the world of RNA interference. *Nature*, 431, 338-342
- Surpin, M. and Raikhel, N. (2004) Traffic jams affect plant development and signal transduction. *Nature Reviews/Molecular Cell Biology* 5,100-109



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět
- Přístupy současné proteomiky
  - exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů
  - analýza vztahu mezi strukturou a funkcí proteinů
  - diferenční proteomika
  - analýza posttranslačních modifikací



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

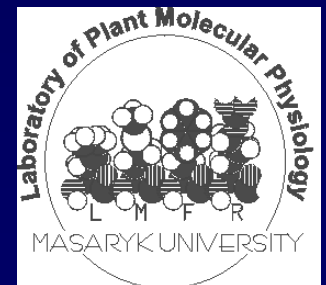
- PROTEOME = PROTEins expressed by genOME (konference 2-D ELFO, Siena, 1994)
  - DNA: GENOME, HAPLOME, EPIGENOME
  - RNA: TRANSCRIPTOME
  - **PROTEIN**: ORFEOME, PROTEOME, LOCALISOME, INTERACTOME, METABOLOME, PHENOME, ...
    - PHENOME: kombinace různých dat, zahrnujících fenotyp, expresní data různých (ideálně všech) genů daného organismu a proteinová data (interakce, jednotlivé vlastnosti proteinů, ...)
- Proč vůbec studovat proteiny, když máme tolik genetických dat? (sekvence genomů, expresní profily genů, fenotypy mutantů,...?)



V koncovém výsledku, tedy *fenotypu*, se vždy projeví regulace na všech úrovních, od genu po protein a jeho modifikaci



Na konci je vždy **BIOLOGICKÝ PROBLÉM !!!!**



# Anotace genů a odhad aminokyselinových sekvencí předpokládaných proteinů

## Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst

- dnes k dispozici v databázích více než 700 000 záznamů (nr databáze) různých organizmů
- Získané informace lze zpracovat pomocí **bioinformatiky**



```
19470700 cacacctatagtatagctcaattctagataaaaatatagaaatggatcttgagaatcattttttttgtattotttttgttat
gctccgaggaagaagataaatagaaaagagcttttttaggggttatcatctccttgactttgcaaaacgtgaaatgtaaggca
19470500 tgttgctttttatacgtatcgtctcctacaataagttaacaatgctcctcgtagaattgcaaaaacatttgggaccgtgatt
ttcagtggtctctttgcagcagctctctccttgaggactaatcaagacagaaatctgtctcttaaaaacgatcgccgtctc
19470300 ttgacgagcttgatctttagaatcaaatttataagggatcacgagatacacgtattaattattttttttttttttgtt
tcactcaaatgatgggtaaagttacaaagcttggtctcactcactcaaatgtggtctttgogtccgtgtaattctgctctct
19470100 atgattctacatttctactcatctcgttctgtttttcaaatgatataaattattgtgtgtatatacccatcattgtatattt
ttcctgggtggttgtttcgagtgcatttggatctcaaatggcgaacaacaacggagaacctagtcaagaggtcgcttcatt
19469900 caagtctagtttcggagattgaaaacatcggaaaatttacatagccaagacaaccttatctacgatcggtttagcgagagtt
caacaacgacactggtttacagagattcaaacacaggttgttaaaactaattacataaattcaattcttagttatattatc
19469700 tataaacatctaactataaatttatgttgggttgggttgggttattattgttcttcagatcgcacattgttggttgagctt
gtctcacaagtttcgtacatcagtagggacggctctcatgtttctttacattgcagaatcaaacacaagtgctgctgtttttgc
19469500 caagtcgtggagactacacttggtagactcaaacctggatcagtttaactggctgcttcaacgggaactcaacgaaatctca
tacagattggttccaagcagcacagagtaataactacactacagcctttgtaggaacgagcttggggaggaagaataacgag
19469300 gttagcttgcagcaagaagaaggtctgtttcttttagggttccgggttaagactttaacogaagtttgaaacttgaactct
acatgtggacaaaggacgggacgggtgcttctcgtgaaggttcaactgaatgatctttcttcatctccaatggctcgatttgc
19469100 ctcctctggtctcaatgcatcctcgtgaaattgcagttccagtggtcagaggtggagatcaaaaagattaagataccaagctt
gttcggggcttctctggttaaactgaaacataatttcaactttagtcagtaaaaatgcatcgactgttgtttctcagctt
19468900 tttgccagagatacacactcatgtttcccaacaaggaggacaacacgcacatcaagcacaagcggaaaaggcaaaatataca
atttcttggcttcgggttggcctgtatggtttgtgtgggttatgatgcaagcaacaaggagagagatgcatagctgtcaacgc
19468700 gcgacacaacaagctgagagaaagagatgaacaagagtcagcatttgcaaatgctagccacgatattagaggtgccccttgc
ttgatatagtcgtgatggagttaaacctggctccgacgtagacaccactctcaaccaagtgaatgtttgcccgaaggatttc
19468500 tctttagcttctctatgcgctttcttcaacttctctcaacagaaaattcttctcagttgtttaaattacagctctgct
tgagcaaaatcgaaagcgggaagatgcagttagtggaagaagatttcaacttgtcgaacttcttgaagacgtcatcgatttt
19468300 gaagaaaggggttgatgtagttttggatccgacagatggctcgggtttcaaaattctcgaatgtacagaggggatagtgccagac
aatcttgttagcaatgctgtcaagttcaccgtcgacgggacacattgcggttaagagcttgggctcagagggccaggttccaata
19468100 catatcctaaaggtgtgtccaagtttgtaagagatagttctgcaagaataaagaagagtcatacaacctacgagacagaaata
caatgcaaacacgatggagtttgtgtttgaagtggatgatactggtaaaagggaacctatggagatgcgtaagtccggtatttc
19467900 agagaaacagctcaaggacaccaaggaactggtttagggtcgggatgtgacagcttgggtaagctactaaacagacaacc
taaatctagatggtttctatttgggtctattattataggttaagataaatgggaggggagataagaatcaccgacaaggccat
19467700 gtttccaattcaatgttttatgacaacattagagctcctcctcagtgagtgacatgaaagtgagacagagatcgaagcagg
gccaacctcgggctgactataaacacttcaacttggaggtagcatgaatatacgtaacctgagctcctagattcaacaactgct
```

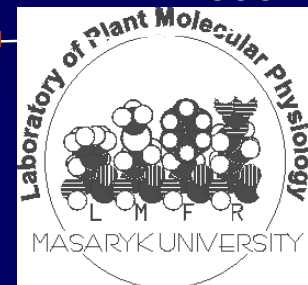
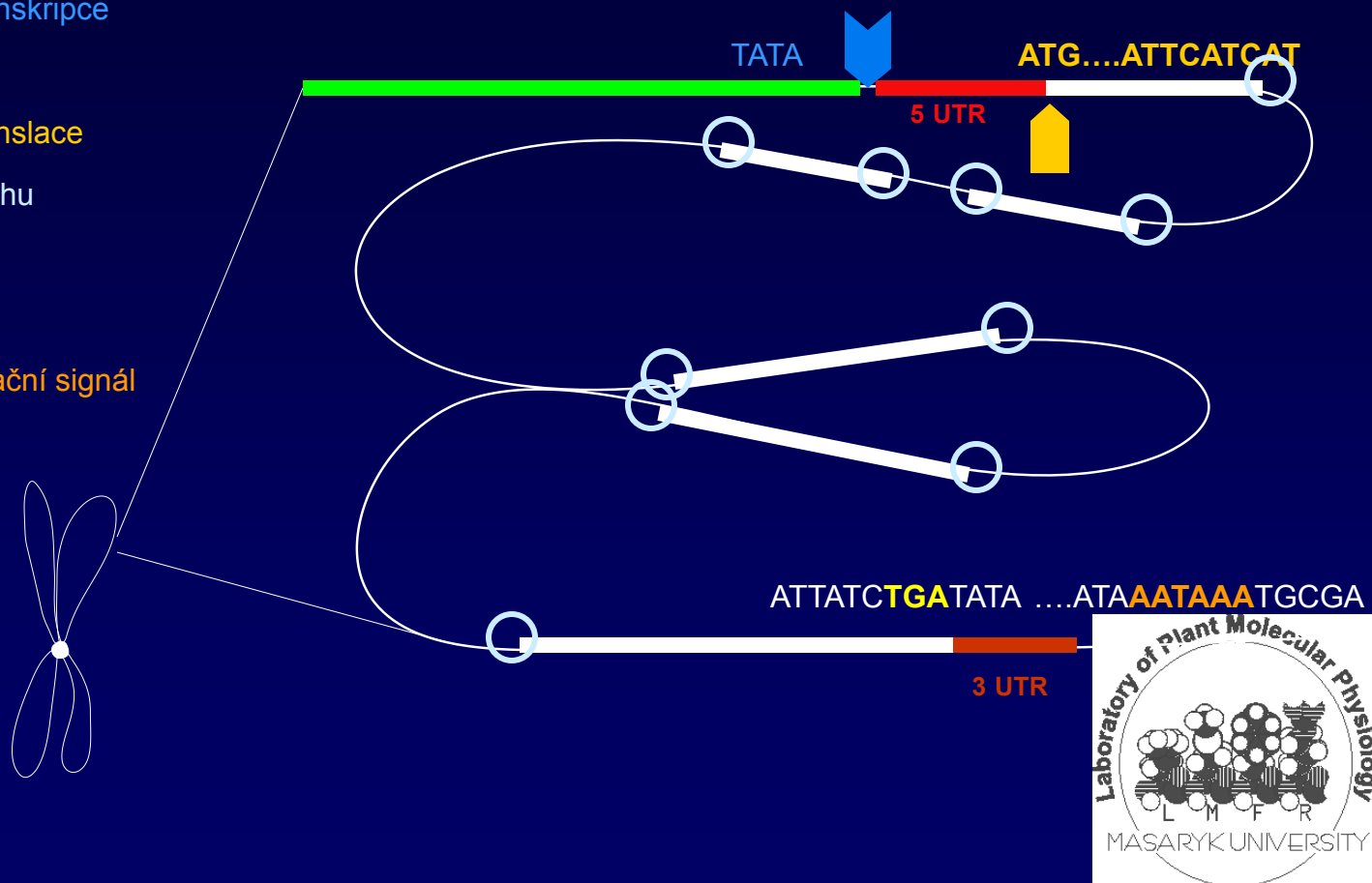


# Predikce funkce genů *in silico*

## struktura genů

- struktura genů

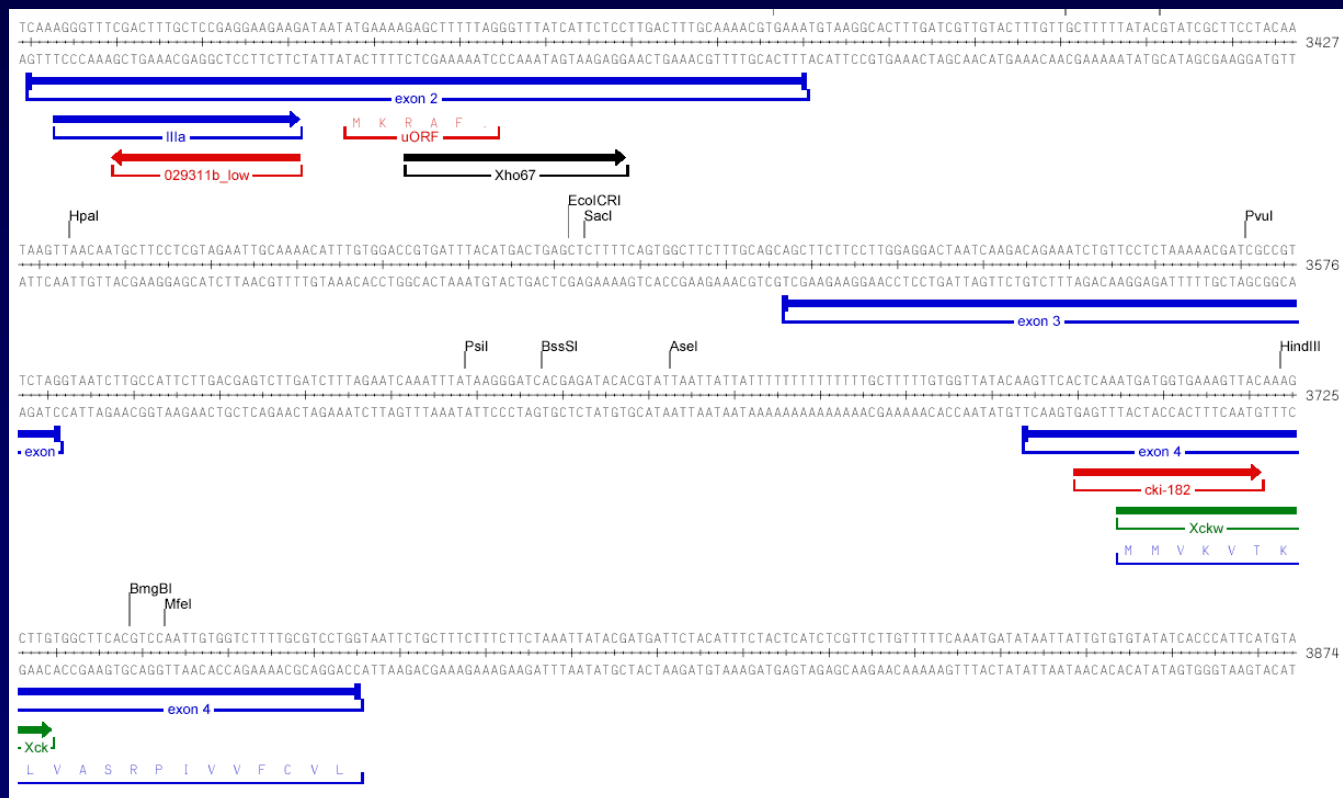
- promotor
- počátek transkripce
- 5 UTR
- počátek translace
- místa sestřihu
- stop kodon
- 3 UTR
- polyadenylační signál



# Anotace genů a odhad aminokyselinových sekvencí předpokládaných proteinů

## Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst

- dnes k dispozici v databázích více než 700 000 záznamů (nr databáze) různých organizmů
- Získané informace lze zpracovat pomocí **bioinformatiky**

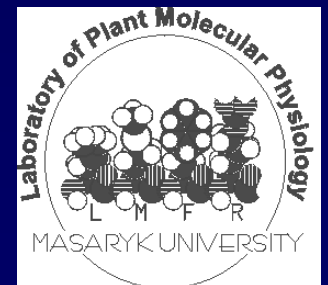




# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování

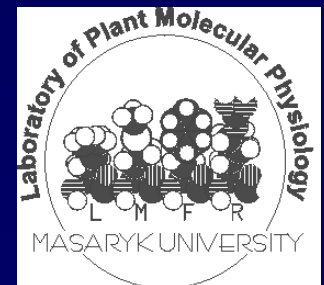


# Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování

- Genom vs. Proteom



*Danaus plexippus (monarch)*



# Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování

## Možná analogie s textem a jeho interpretací

### DNA:

Když adoperbtabijsemdffwúcsaknclůsnínjxldalnxckjcnbychcxmasizdciksrdceasnanaazxcnlsdlaň.

Když-----jsem-----snídal ní-----dal-----bych-----si-----srdce.-----na-----dlaň.

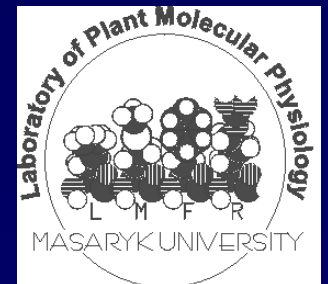
### RNA:

Když jsem s ní, dal bych si srdce na dlaň.

Když jsem s ní, dal bych si srdce na dlaň.

Když jsem snídal srdce.

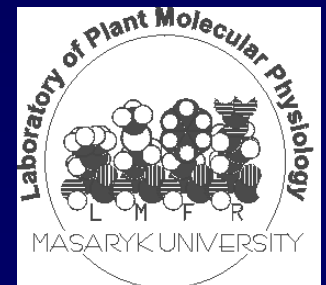
### PROTEIN:



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

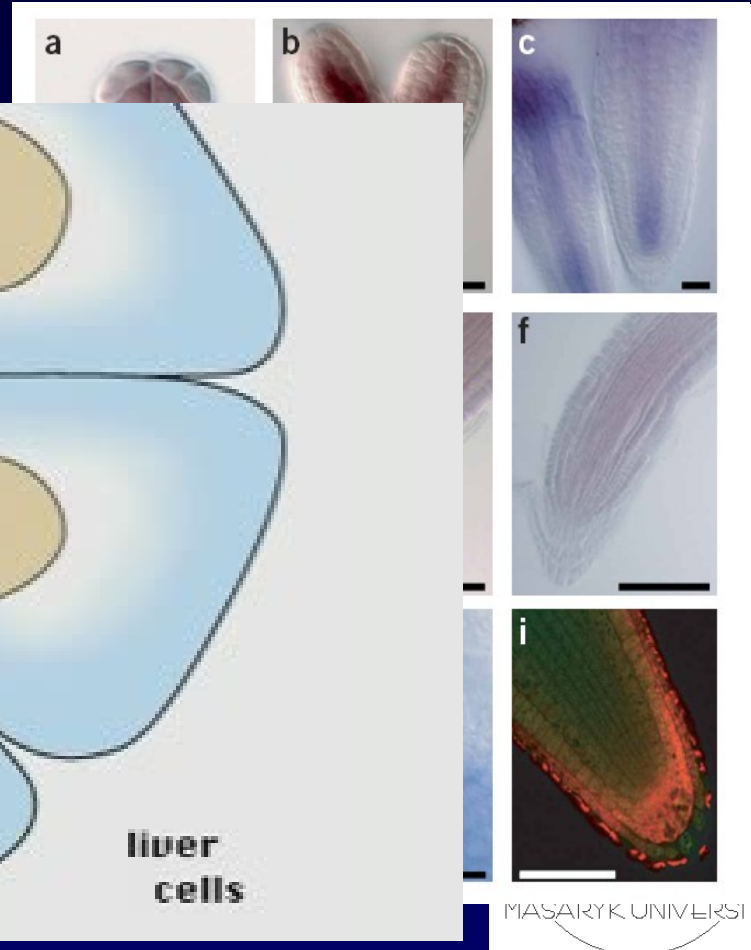
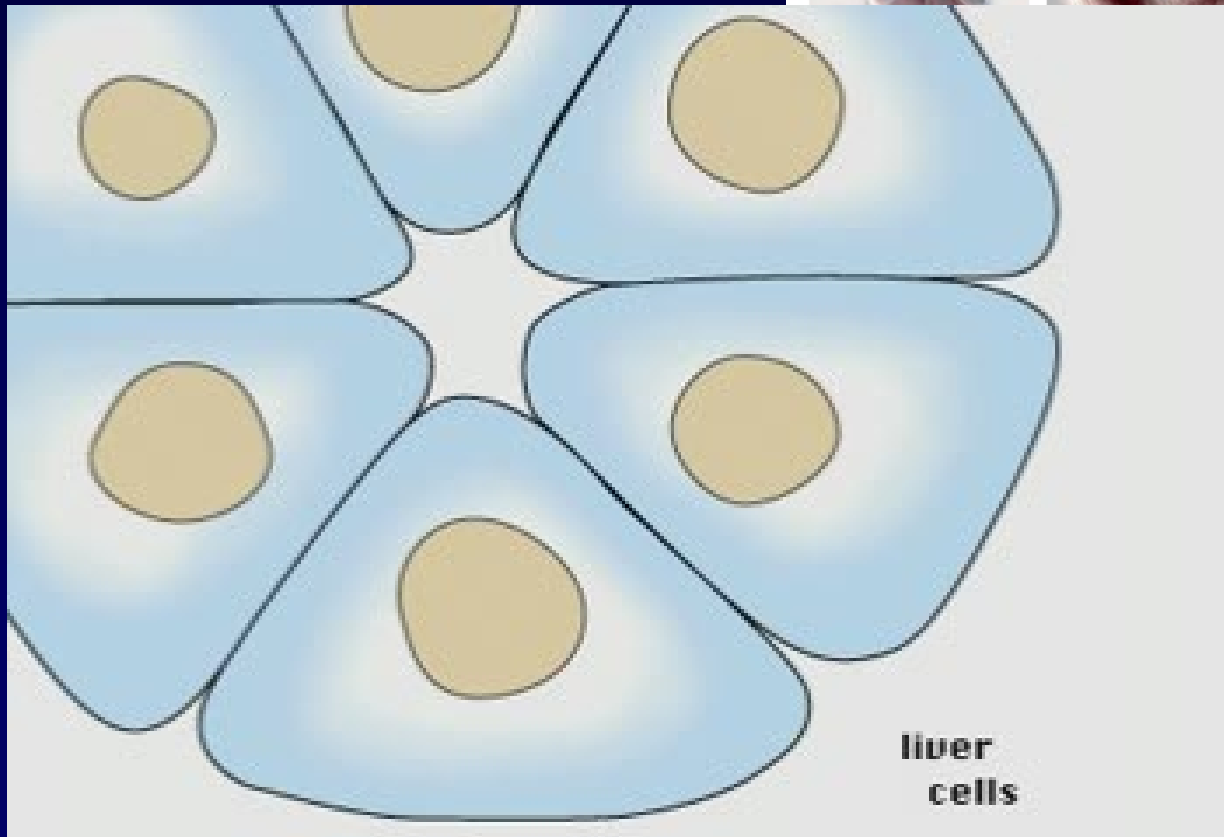
- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět



# Od genu k proteinu a zpět

## Základní mechanismy regulace genové exprese

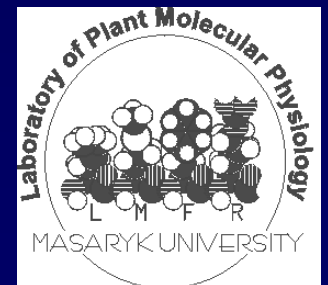
- regulace transkripce



# Od genu k proteinu a zpět

## Základní mechanismy regulace genové exprese

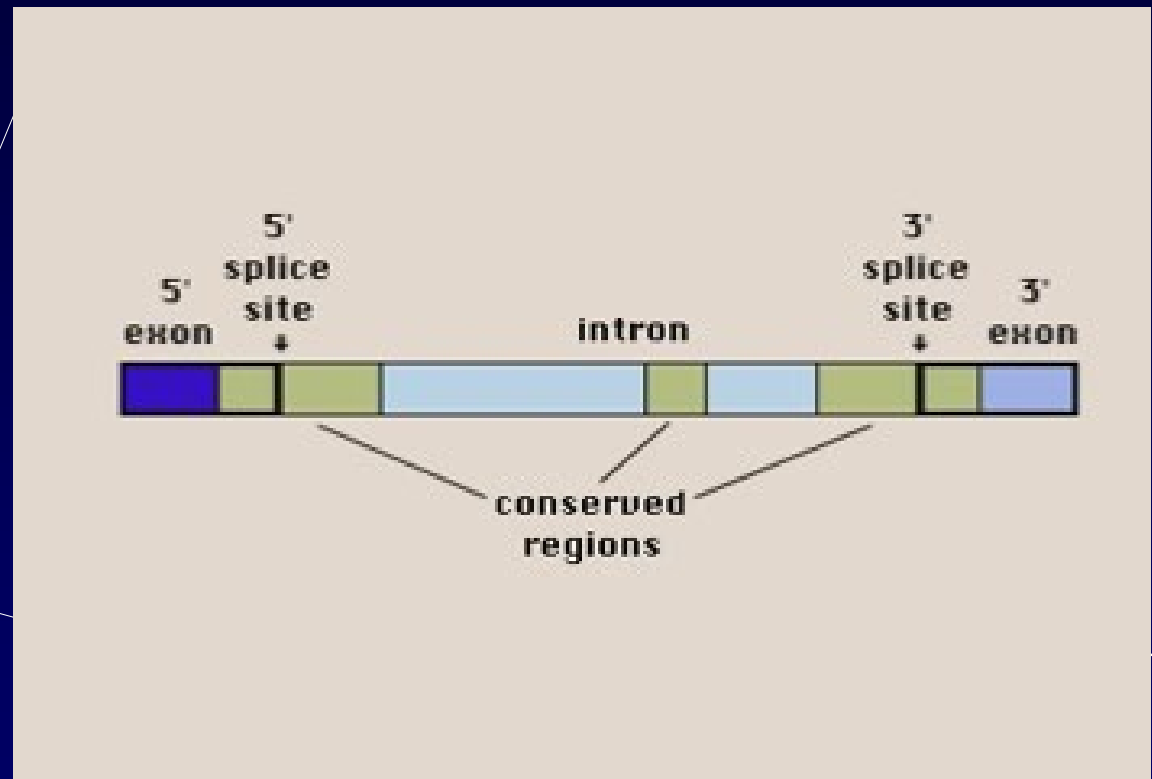
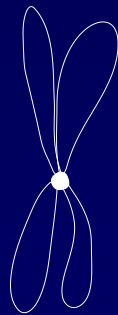
- regulace transkripce
- sestřih RNA



# Základní mechanismy regulace genové exprese

## struktura genů

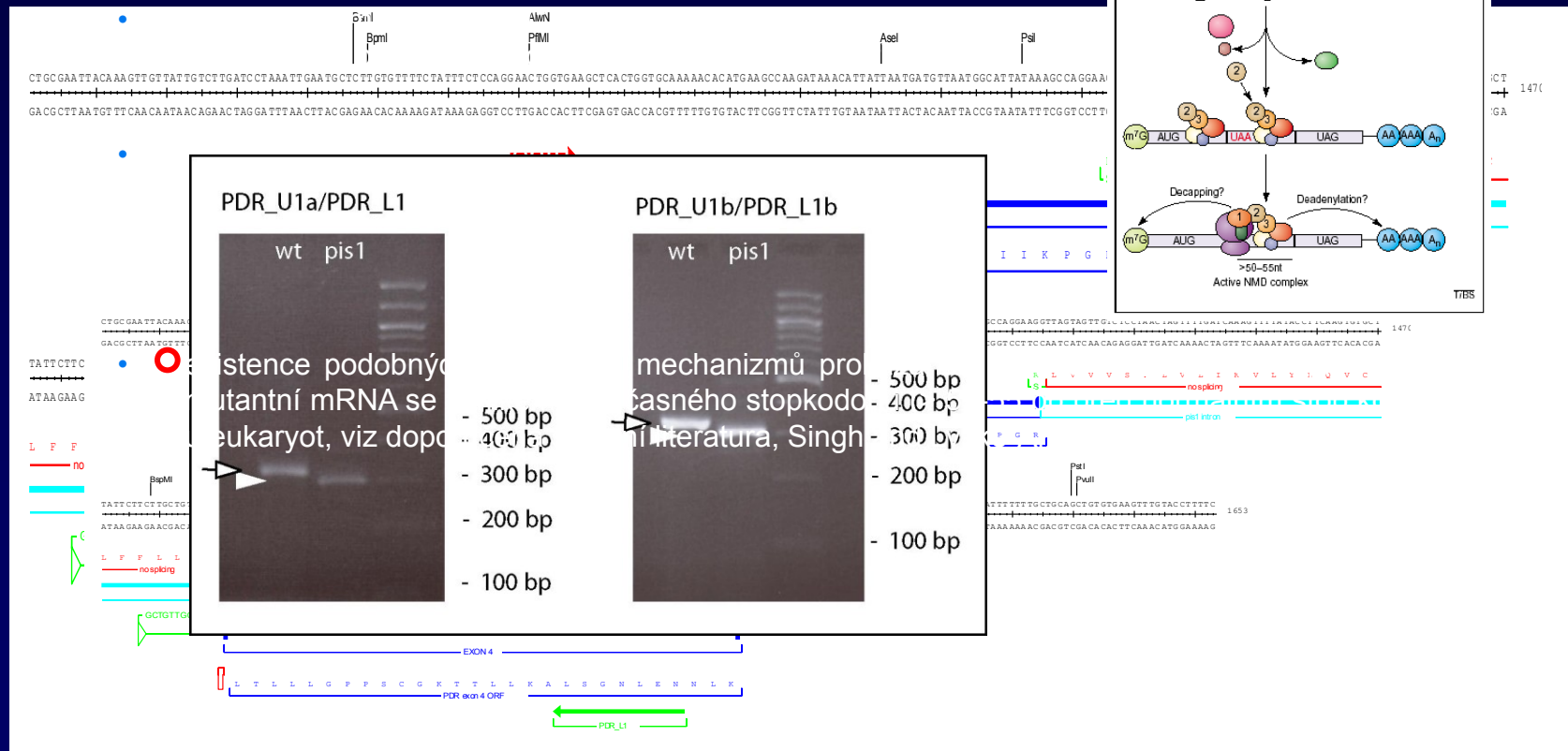
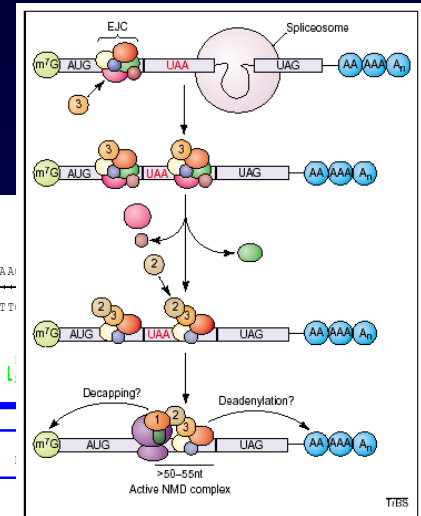
- struktura genů
  - promotor
  - počátek transkripce
  - 5' UTR
  - počátek translace
  - místa sestřihu
  - stop kodon
  - 3' UTR
  - polyadenylační signál



# Základní mechanismy regulace genové exprese regulace transkripce

- odchyly rozpoznávání míst sestřihu u rostlin v praxi - příklad vývojové plasticity (nejen) rostlin

- identifikace mutantu s bodovou mutací (tranzice G→A) přesně v místě sestřihu na 5' konci 4. exonu



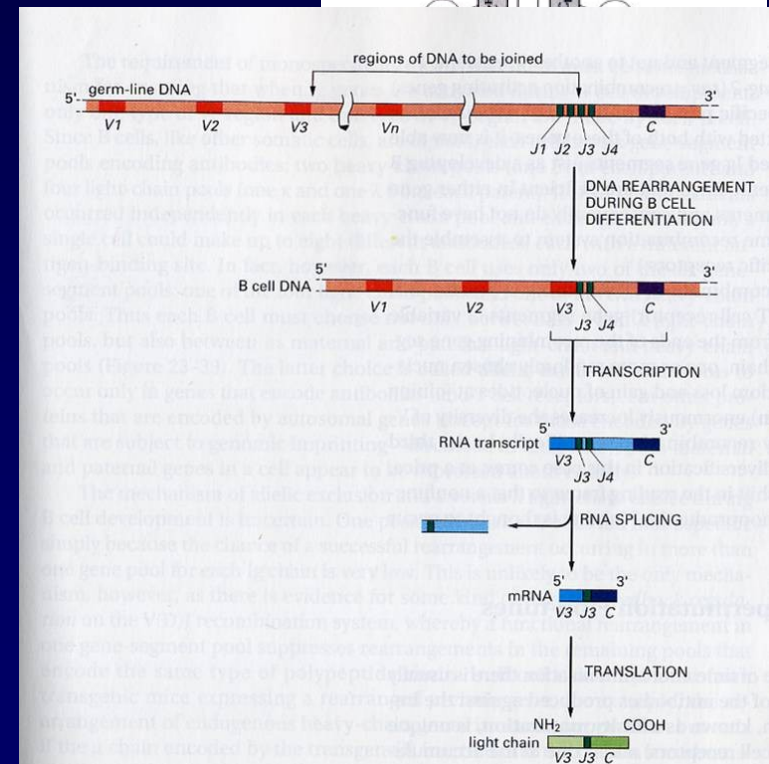
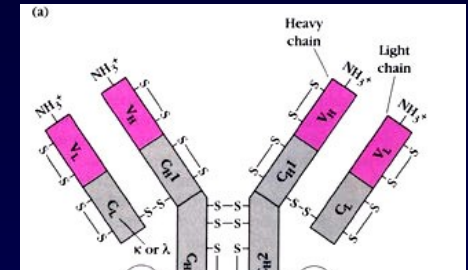


# Základní mechanismy regulace genové exprese

přeskupování subgenů při produkci protilátek

## Přeskupování subgenů jako specifický mechanismus při produkci protilátek

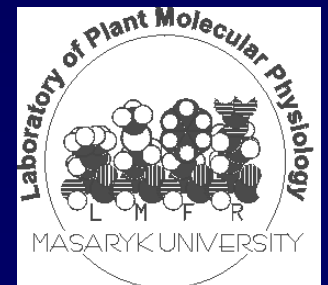
- protilátky variabilní oblast (V) a konstantní oblast (C) a lehký (L) a těžký (H) řetězec
  - každá z V oblastí L řetězce u myši je kódována 2 subgeny (V a J)
  - každá z V oblastí H řetězce u myši je kódována 3 subgeny (V, J a D)
- v zárodečných liniích myších B-lymfocytů dochází k tzv. **kombinatorické diversifikaci** (přeskupování) **subgenů** (místně-specifickou rekombinací)
  - L řetězec ( $\kappa$ ): cca 300 V sub-genů a 4 J subgeny ( $300 \times 4 = 1200$  možností)
  - H řetězec: cca 500 V sub-genů, 4 J subgeny a 12 D subgenů ( $500 \times 4 \times 12 = 24000$  možností)
- celkové množství kombinací u myši: cca  $1200 \times 24000 = 28$  mil. různých V oblastí (protilátek rozpoznávající různé antigeny)
- antigen indukuje tzv. **afinitní dozrání** mechanismem **somatické hypermutace**
  - po aktivaci B-lymf. pomocnými T-lymf. dochází ke zvýšenému výskytu mutací ve V oblastech (1 mutace/V oblast/generaci, cca 1 mil. X vyšší než je obvyklé (např. u tzv. „house-keeping“ genů) a selekci protilátek se zvýšenou afinitou k antigenu



# Od genu k proteinu a zpět

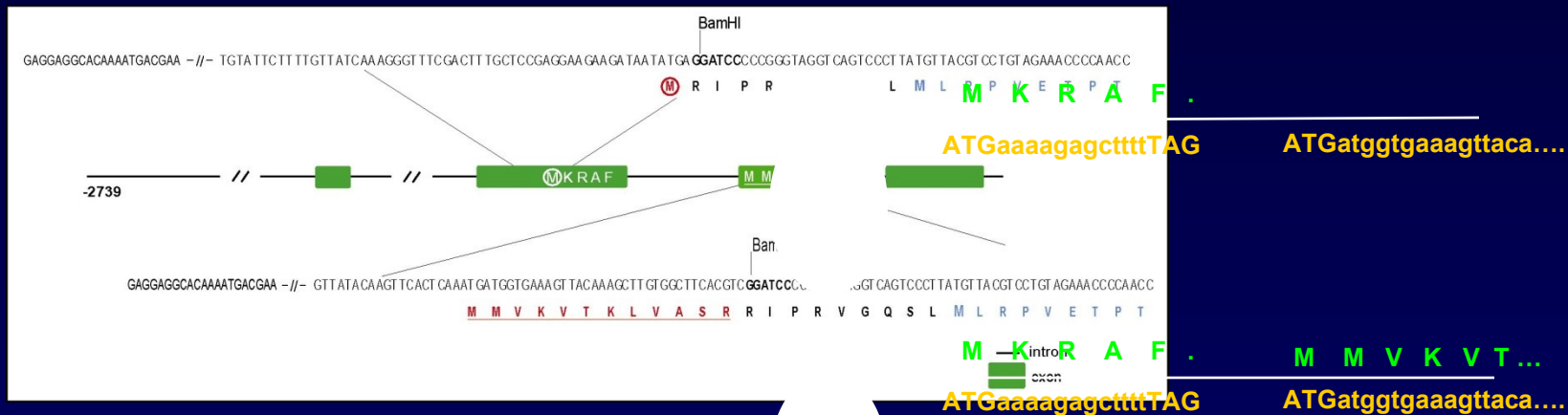
## Základní mechanismy regulace genové exprese

- regulace transkripce
- sestřih RNA
- translační represe

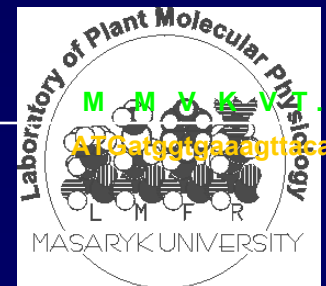


# Regulace genové exprese mechanismem translační represe

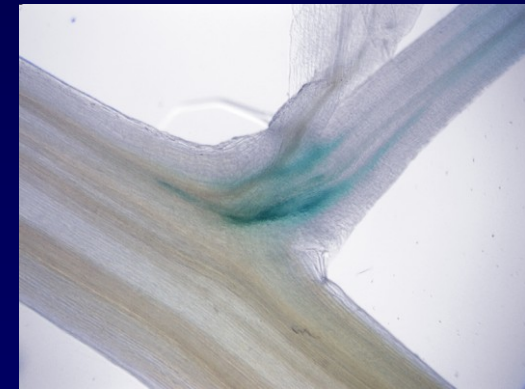
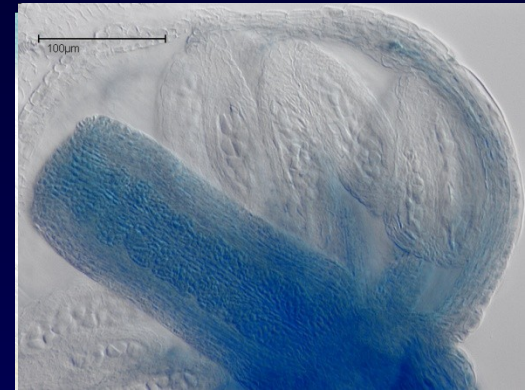
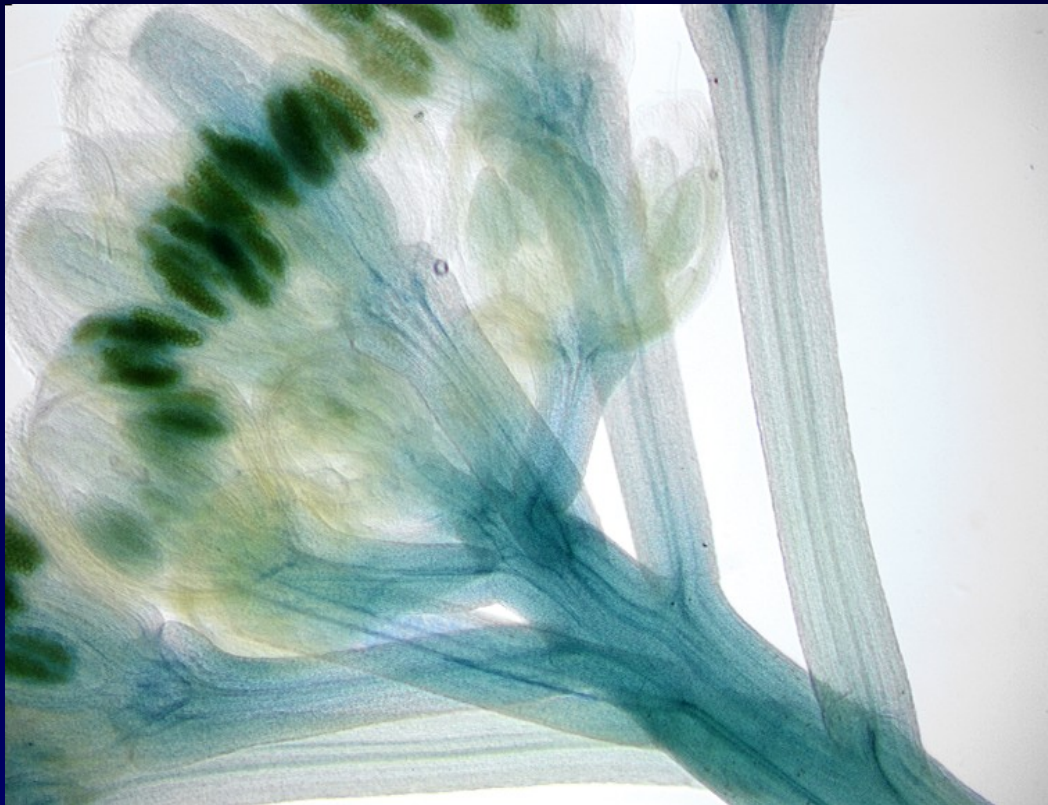
- Funkční význam sestřihu v nepřekládaných oblastech - důležitá regulační součást genů



- V případě CKI1 pokus prokázat tento způsob regulace genové exprese pomocí transgenních linií nesoucích *uidA* pod kontrolou dvou verzí promotoru, zatím nepotvrzeno



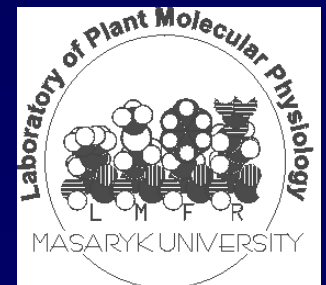
# Expression of *CK11* in Diploid Generative Tissue Inflorescence



# Od genu k proteinu a zpět

## Základní mechanismy regulace genové exprese

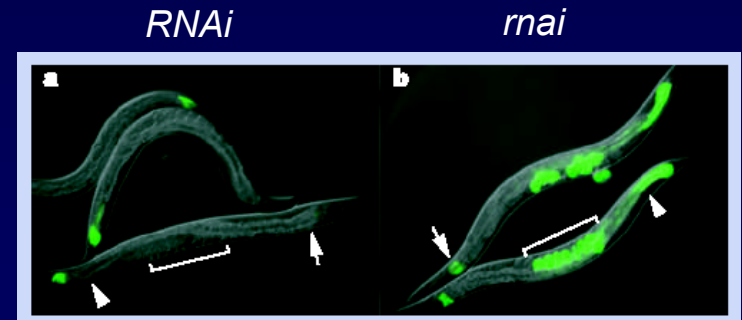
- regulace transkripce
- Sestřih RNA
- translační represe
- posttranskripční umlčování mechanismem siRNA



# Genomika III.

## mechanismus RNA interference

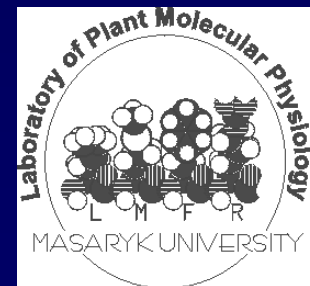
- Molekulární podstata posttranskripčního umlčování genů (PTGS)
  - RNAi objevena u *Coenorhabditis elegans*
    - umlčování bylo indukováno jak sense tak antisense RNA (pravd'. kontaminace obou při *in vitro* transkripci)
    - dsRNA indukovala umlčování cca 10-100x účinněji
    - dsRNA indukce je závislá na vlastních genech-gen. vyhledávání



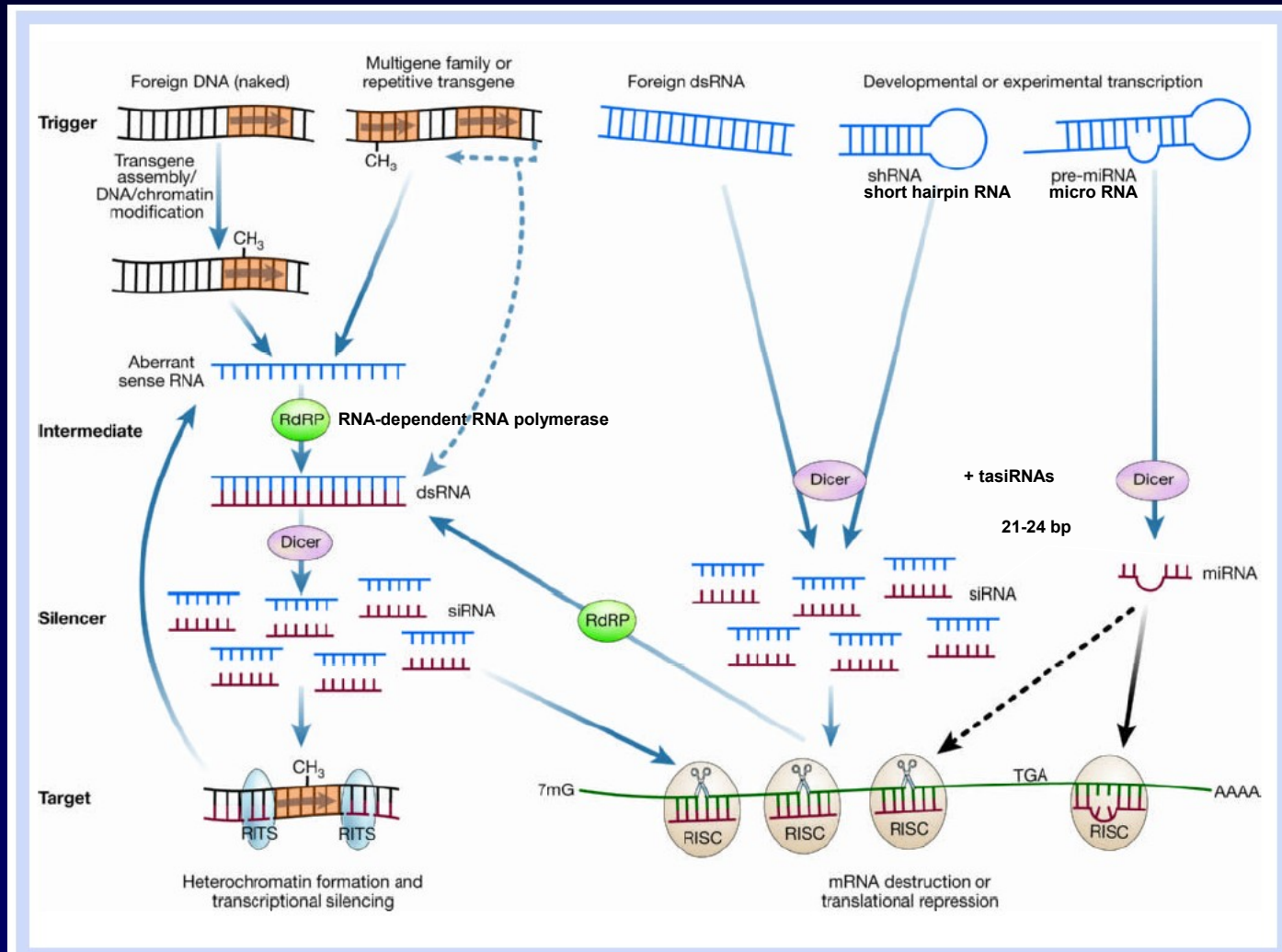
# Genomika III.

## mechanismus RNA interference

- Molekulární podstata posttranskripčního umlčování genů (PTGS)
  - RNAi objevena u *Coenorhabditis elegans*
  - je to přirozený mechanismus regulace genové exprese u všech eukaryot
  - podstatou je tvorba dsRNA, která může být spuštěna několika způsoby:
    - přítomnost cizí „aberantní“ DNA
    - specifické transgeny obsahující obrácené repetice částí cDNA
    - transkripce vlastních genů pro **shRNA** (short hairpin RNA) nebo **miRNA** (micro RNA, endogenní „vlásečková“ RNA)
  - dsRNA je procesována enzymovým komplexem (DICER), což vede k tvorbě **siRNA** (short interference RNA), která se pak váže buď na enzymový komplex **RITS** (RNA-induced transcriptional silencing complex) nebo **RISC** (RNA-induced silencing komplex)
  - **RISC** zprostředkovává buď **degradaci mRNA** (v případě úplné similarity siRNA a cílové mRNA) nebo vede pouze k **zastavení translace** (v případě neúplné homologie jako je tomu např. v případě miRNA)
  - **RITS** zprostředkovává **reorganizaci genomové DNA** (tvorba heterochromatinu a inhibice transkripce)



# Mechanism of RNA interference



Mello and Conte, *Nature* (2004)





# The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006

"for their discovery of RNA interference - gene silencing by double-stranded RNA"



**Andrew Z. Fire**

USA

Stanford University School of Medicine  
Stanford, CA, USA

b. 1959

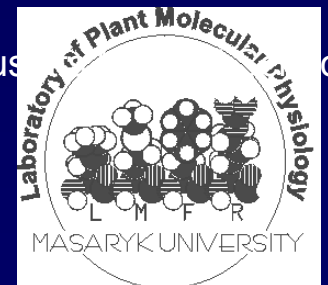


**Craig C. Mello**

USA

University of Massachusetts  
Worcester, MA, USA

b. 1960



# Od genu k proteinu a zpět

## transkripční umlčování mechanismem siRNA

### květů u *Arabidopsis* prostřednictvím miRNA

vývoje květních orgánů u rostlin

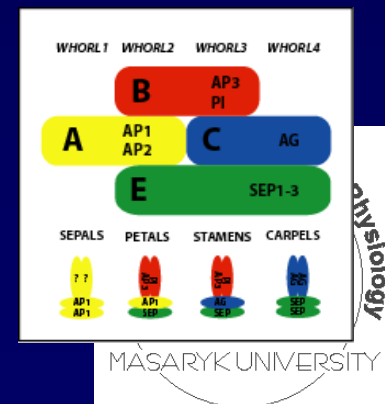
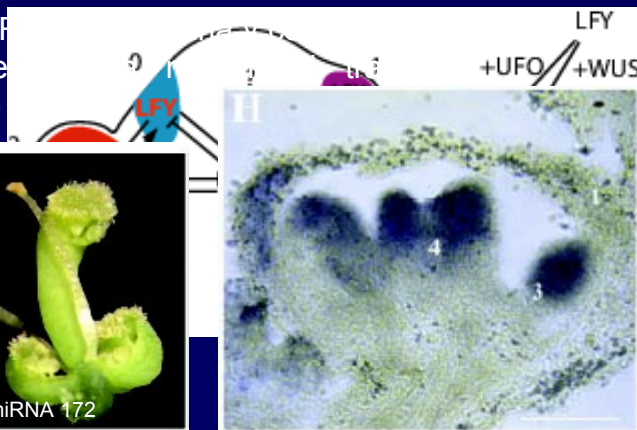
u květních orgánů dochází k určování identity jednotlivých květních orgánů u eukaryotických genů

kontrolují většinou rostlinné homology MADS-box

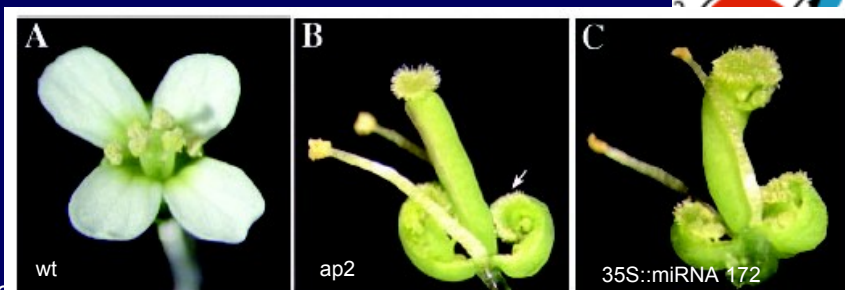
novými geny dochází k tzv. katastrálním mutacím, které jednoho genu inhibuje expresi dalšího

- např. *AP1* je nejprve aktivní v celém květním meristému, po indukcii exprese *AG* pak *AG* inhibuje expresi *AP1* ve vnitřních dvou kruzích)

- výjimkou je expresi genu *AP2*, jehož expresi v květním meristému, ale expresi *AP2* je reprimována prostřednictvím miRNA (gen miRNA 172)



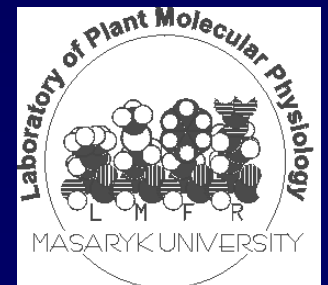
in situ lokalizace miRNA172 v 3. a 4. kruhu



# Od genu k proteinu a zpět

## Základní mechanismy regulace genové exprese

- regulace transkripce
- Sestřih RNA
- translační represe
- posttranskripční umlčování mechanismem siRNA
- směřování proteinů

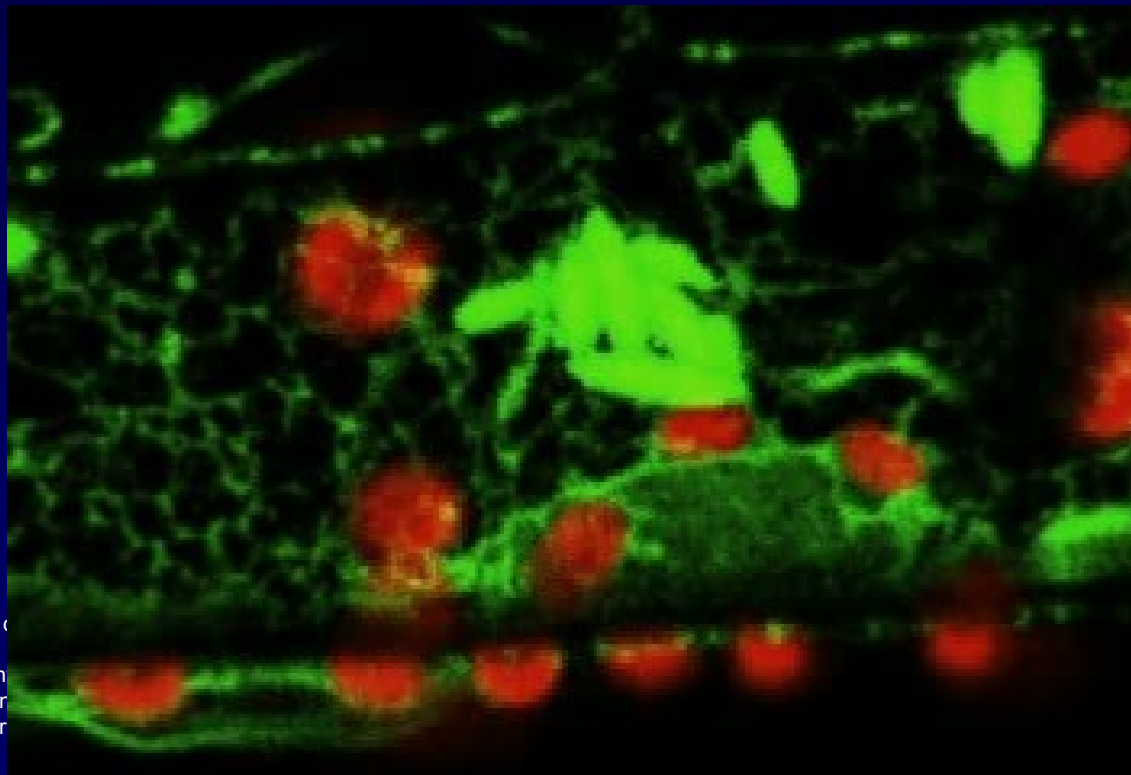


# Od genu k proteinu a zpět

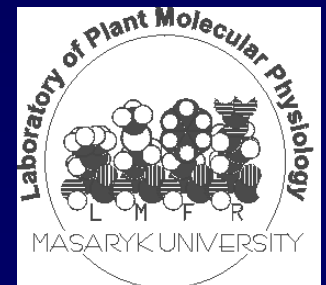
## směrování (cílování) proteinů

### ▪ Intracelulární lokalizace proteinů

- Pro funkci proteinů v buňkách je zásadní jejich správná lokalizace prostřednictvím tzv. signálních sekvencí
- v rostlinných buňkách dochází k velice dynamickým procesům, zprostředkovaným zejména tzv. endomembránovým transportem (viz film, GFP směrované do ER)

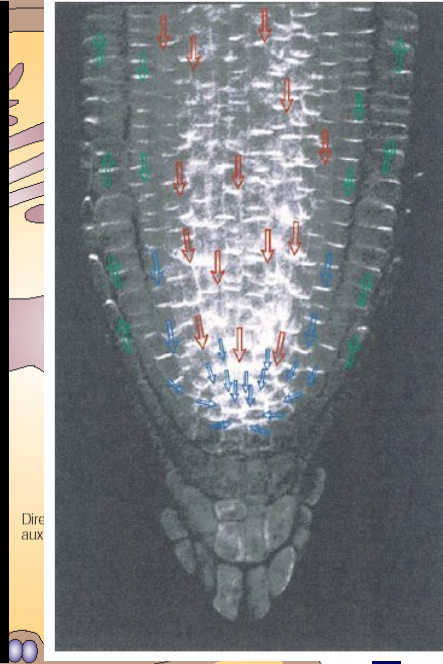
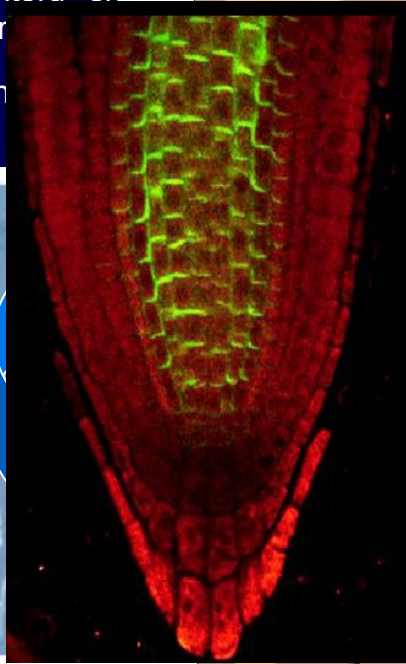


CV, central vacuole; DV, central vacuole; GA, Golgi apparatus; LV, large vacuole; PSV, protein storage vacuole; SV, secretory vacuole



# Od genu k proteinu a zpět směřování (cílování) proteinů

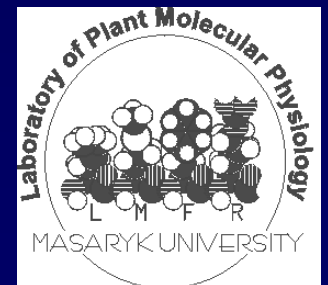
- **Cyklování auxinových přenašečů u *Arabidopsis***
  - auxin je rostlinný hormon se silným morfogenním účinkem
  - proteiny podílející se na transportu proteinů jsou tzv. PIN proteiny, polárně lokalizované v buněčkách kořene u *Arabidopsis*
  - PIN proteiny cyklují v endomembránovém systému rostlinné buňky
  - v přítomnosti inhibitorů endocytózy dochází k akumulaci těchto proteinů v intracelulárním prostoru
  - ...čímž je zároveň narušena polarita



# Od genu k proteinu a zpět

## Základní mechanismy regulace genové exprese

- regulace transkripce
- sestřih RNA
- translační represe
- posttranskripční umlčování mechanismem siRNA
- směřování proteinů
- posttranslační modifikace proteinů

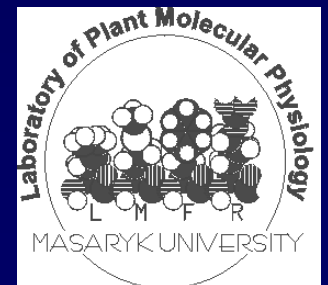


# Od genu k proteinu a zpět

## postranlační modifikace proteinů

### Význam posttranslačních modifikací proteinů

- regulace enzymové aktivity
- regulace interakcí proteinu s dalšími proteiny nebo jinými biomolekulami
- lokalizace proteinu v buňce
- změna mechanických vlastností proteinu
- přenos signálu

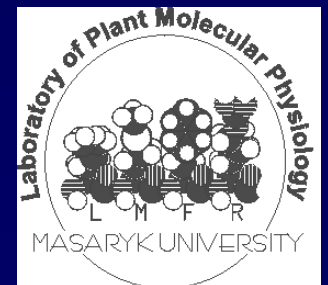


# Od genu k proteinu a zpět

## postranlační modifikace proteinů

### Typy posttranslačních modifikací proteinů

- přidání glykosylfosfatidylinositolové (GPI) kotvy
- fosforylace
- sulfonace
- glykosylace
- N-myristolyace
- N-metylace
- hydroxylace
- karboxylace
- prenylace
- ....

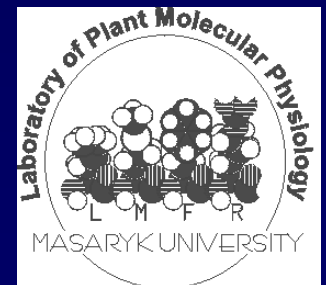
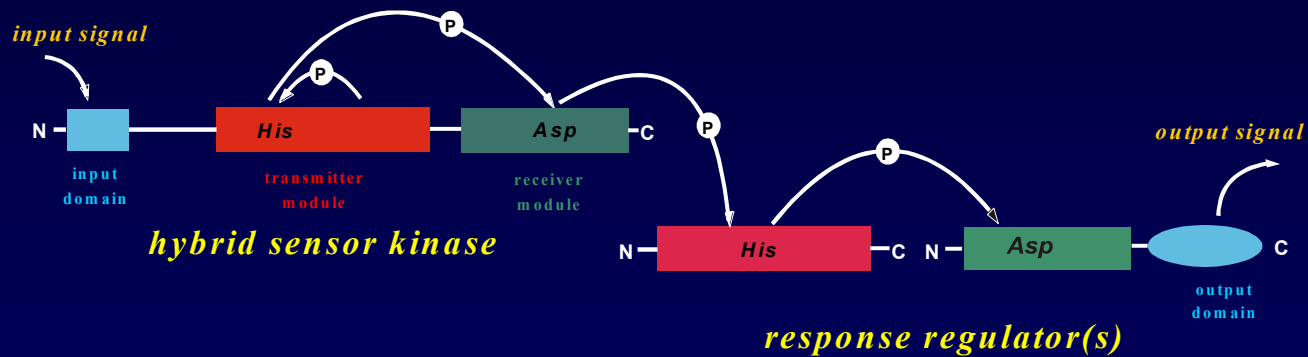




# Od genu k proteinu a zpět postranlační modifikace proteinů

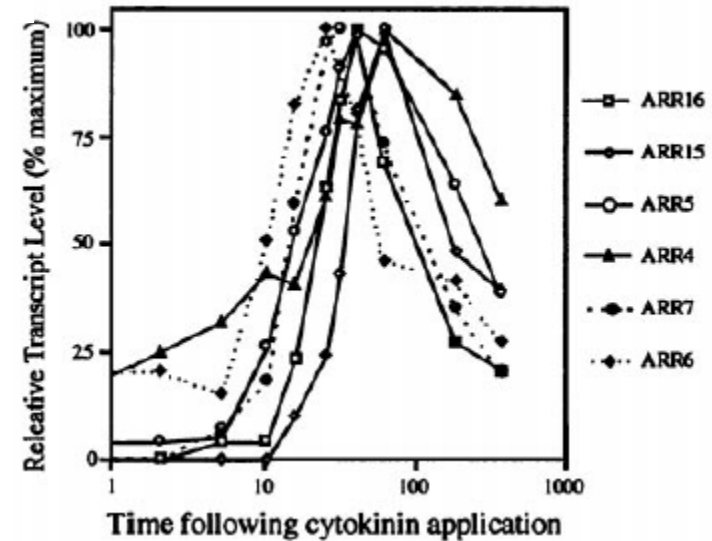
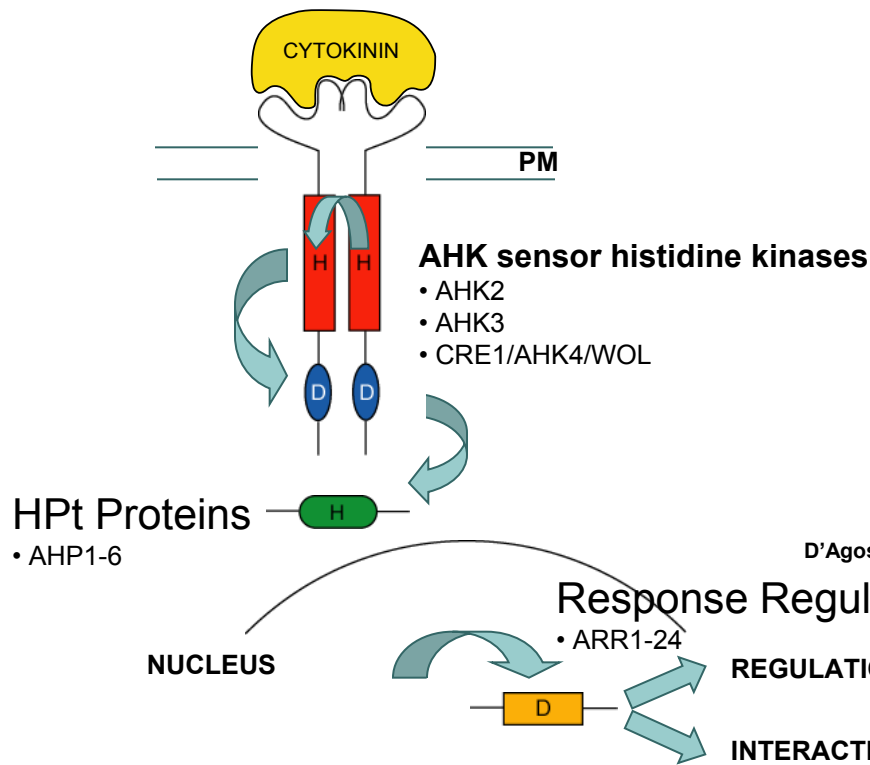
## Přenos signálu a regulace genové exprese prostřednictvím fosforylace

- přenos cytokininového signálu u rostlin



# Signal Transduction via TCS

## Recent Model of the CK Signaling via TCS Pathway



D'Agostino et al., Plant Physiol, 2000

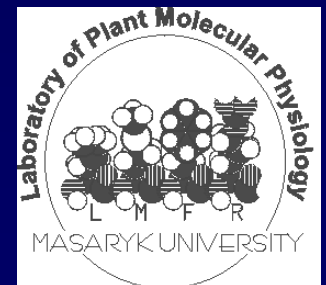
CK primary response genes  
- Type-A ARR expression

# Od genu k proteinu a zpět

## postranlační modifikace proteinů

### Přenos signálu a regulace genové exprese prostřednictvím fosforylace

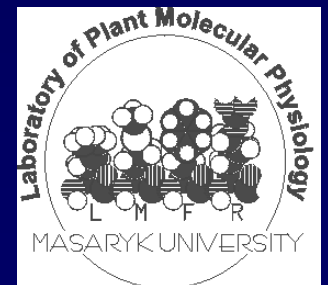
- přenos signálu prostřednictvím TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor) u živočichů



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět
- Přístupy současné proteomiky
  - exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů

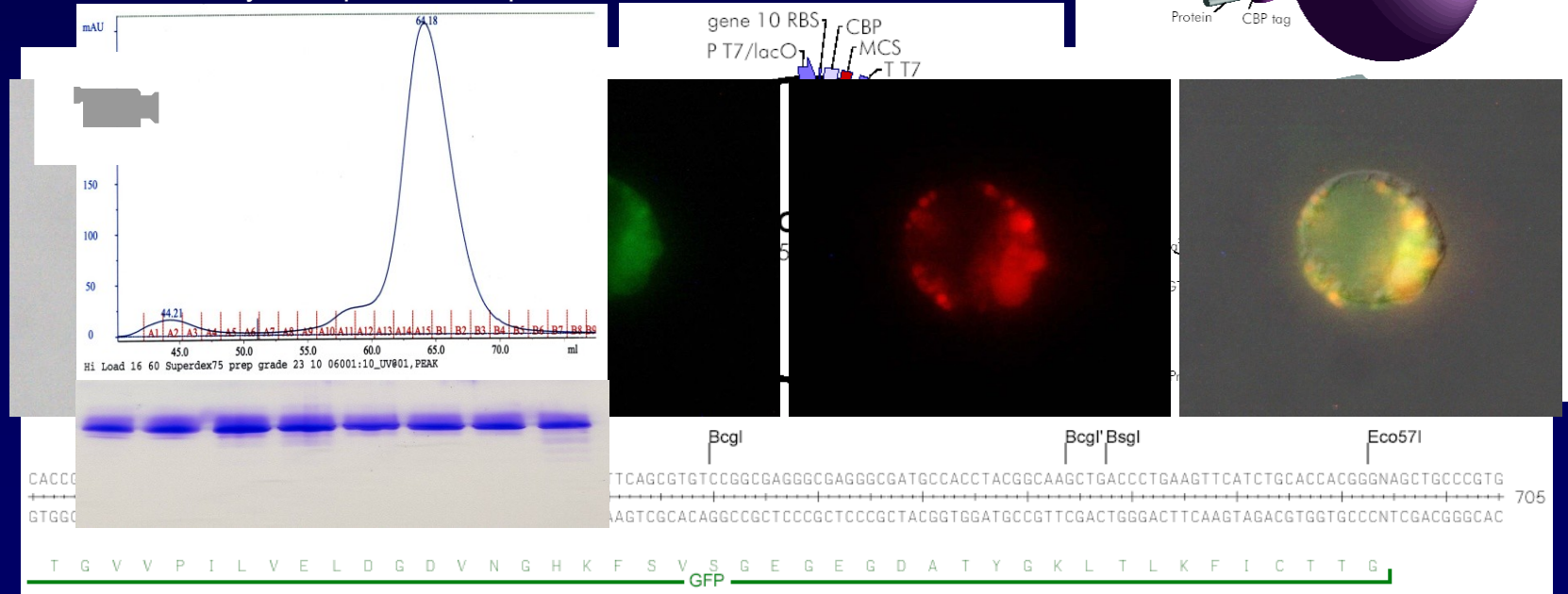
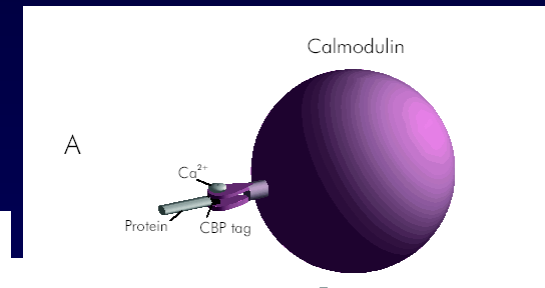


# Přístupy současné proteomiky

## exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů

### Technologie rekombinantních proteinů

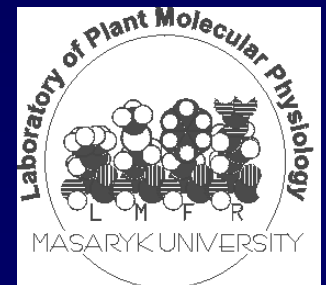
- umožňuje získat velké množství analyzovaného proteinu ve velké čistotě
- využívá technologie rekombinantní DNA
- principem je vložení „přívěsku“ prostřednictvím přípravy rekombinantní DNA, který usnadní purifikaci (afinitní purifikace)
- možnost využití „přívěsku“ i pro lokalizaci a další



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět
- Přístupy současné proteomiky
  - exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů
  - analýza vztahu mezi strukturou a funkcí proteinů

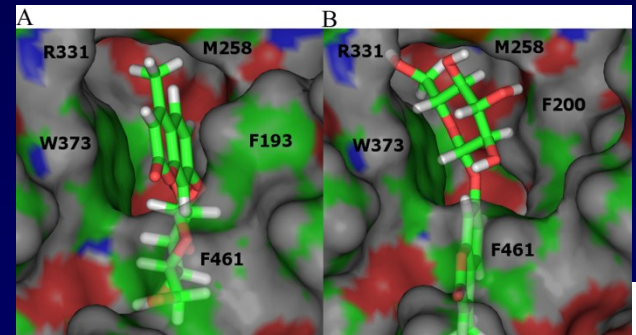
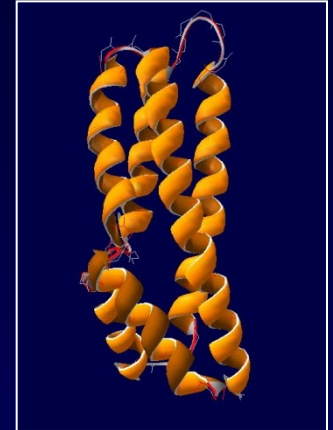


# Přístupy současné proteomiky

analýza vztahu mezi strukturou a funkcí proteinů

## Analýza vztahu mezi funkcí a strukturou proteinu

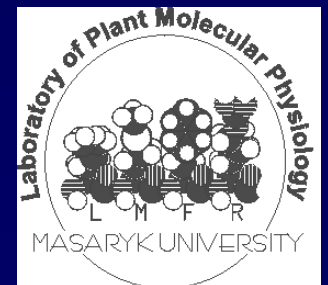
- využívá technologie produkce rekombinantních proteinů a místně řízené mutagenese
- umožňuje analyzovat strukturu rekombinantního proteinu pomocí rentgenové krystalografie nebo NMR
- komparativní analýzou lze pak analyzovat strukturu a funkci jak u standardního typu tak i mutantního proteinu



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

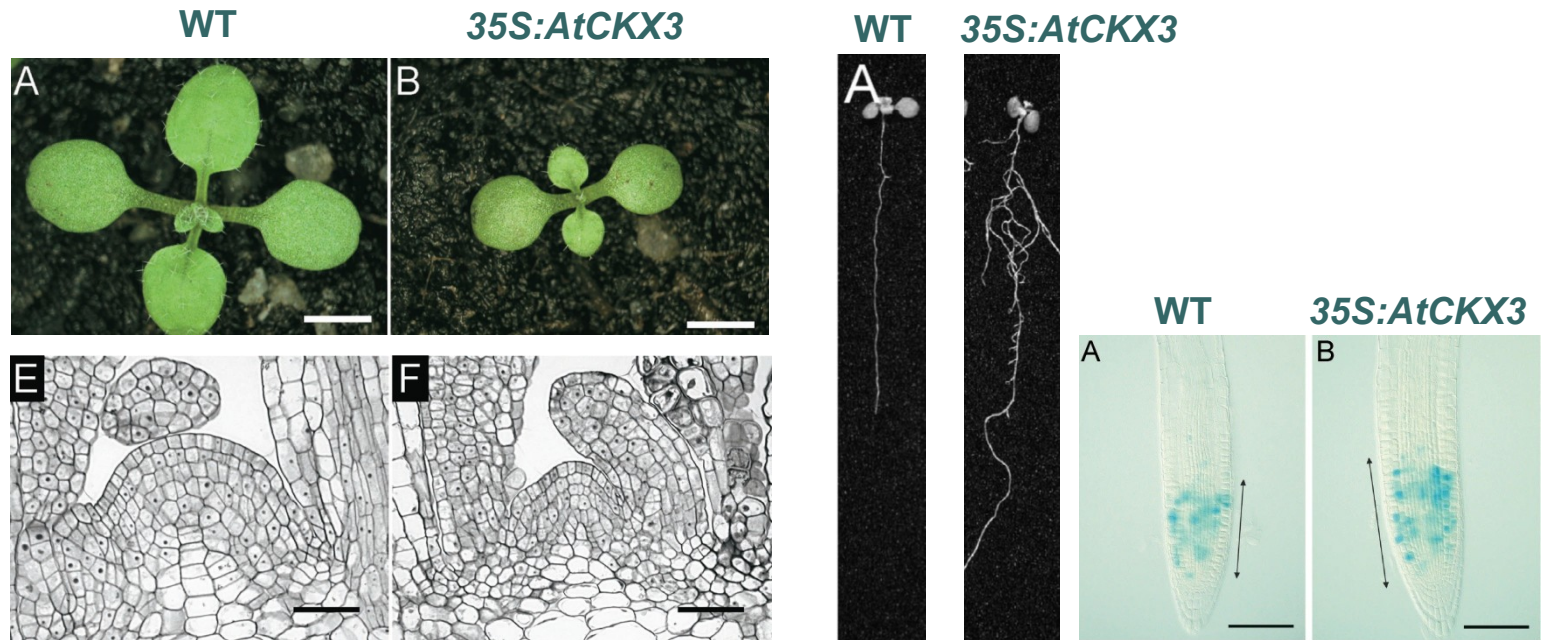
- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět
- Přístupy současné proteomiky
  - exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů
  - analýza vztahu mezi strukturou a funkcí proteinů
  - diferenční proteomika





# Tissue Specificity of CK Response

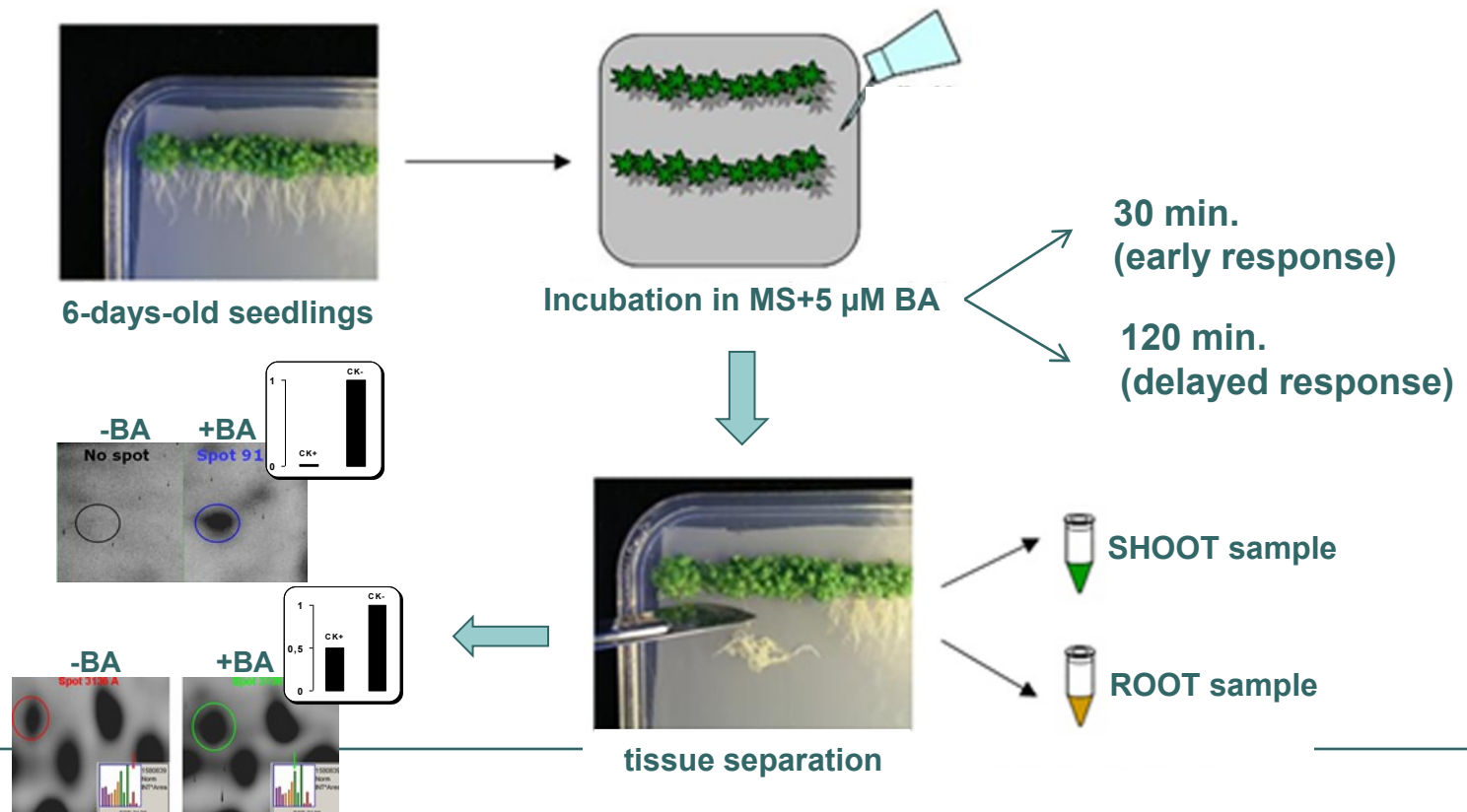
- Cytokinins are supposed to play *opposite role* in the control of *shoot and root development*



Werner et al., *Plant Cell* (2003)

# Shoot- and Root-Specificity of Proteome Response to CK

- Is there a shoot- and root-specificity in a *proteome response to CK* ?



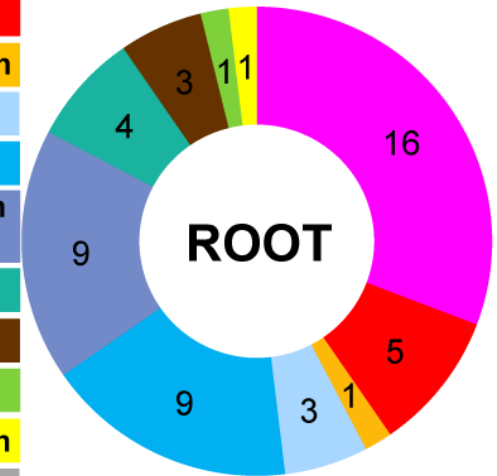
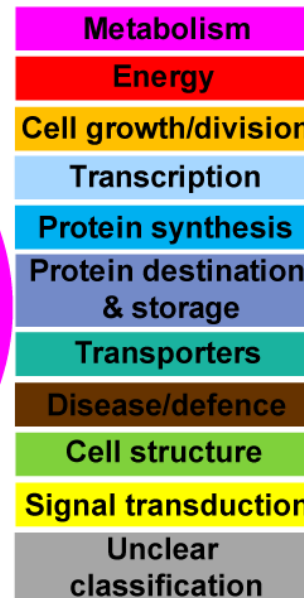
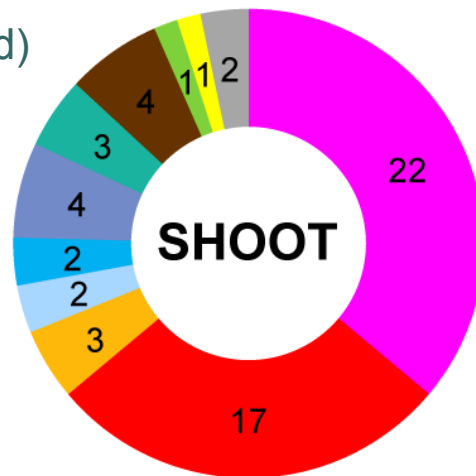
# Shoot- and Root-Specificity of Proteome Response to CK



**SHOOT: 43/18**

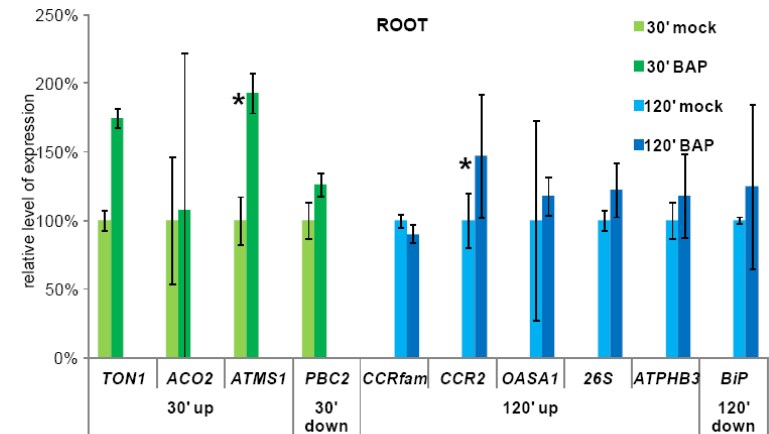
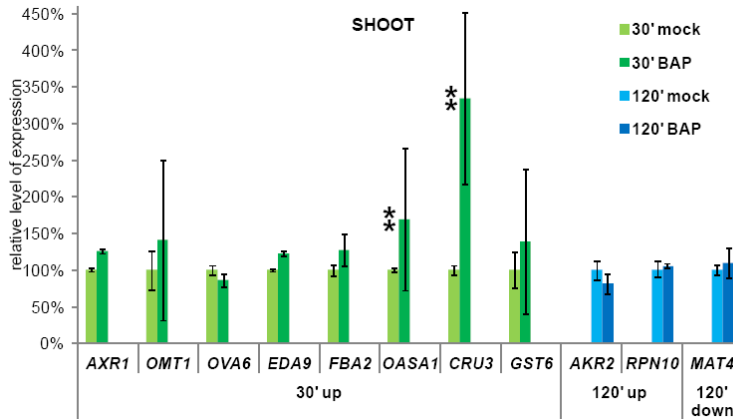
(early/delayed)

**ROOT: 31/21**



# Shoot- and Root-Specificity of Proteome Response to CK

- *Transcriptional* vs *post-transcriptional* type of regulations

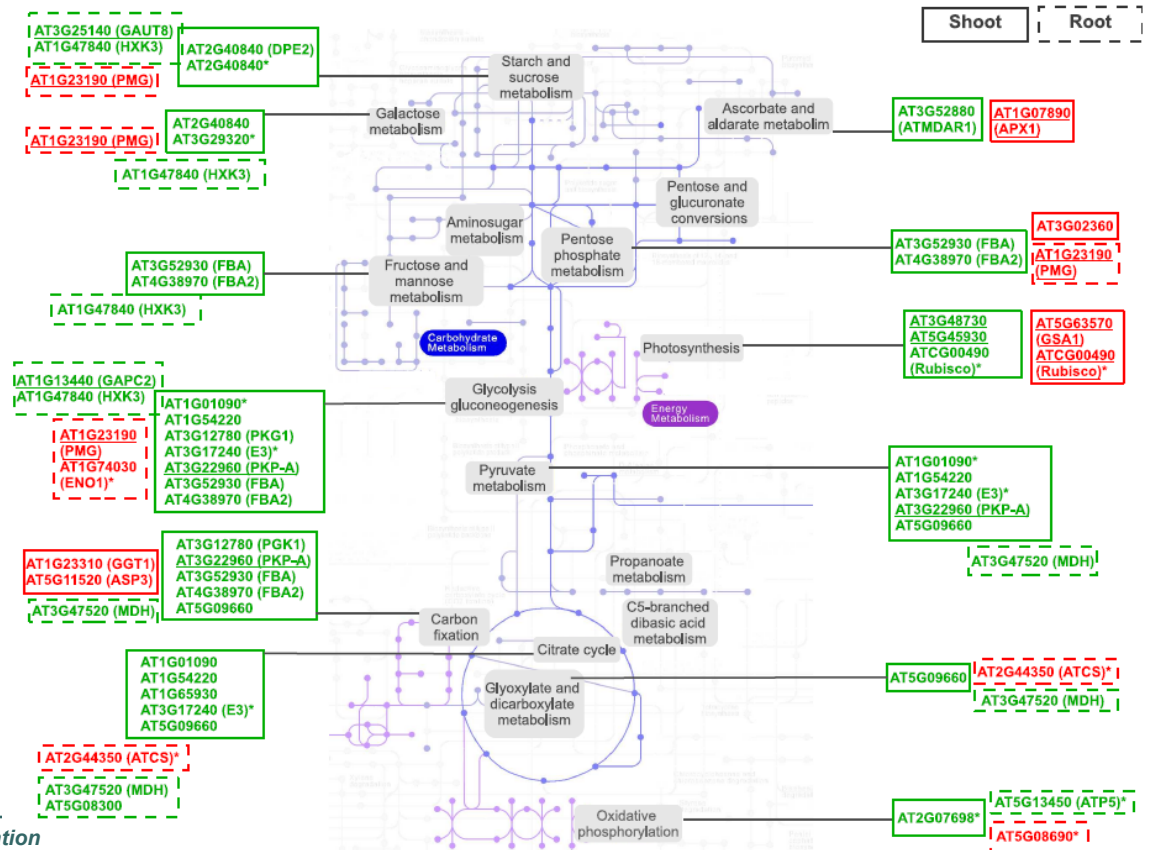


# Shoot- and Root-Specificity of Proteome Response to CK

## Carbohydrate Metabolism



SHOOT

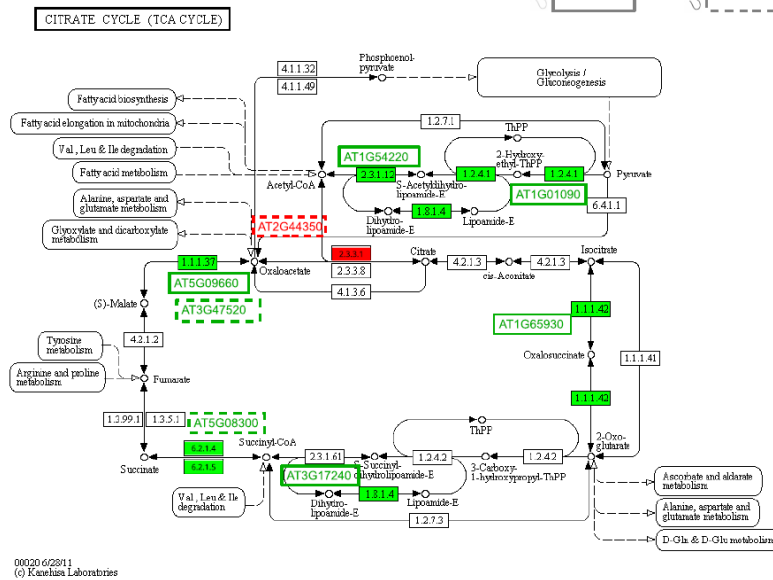


# Shoot- and Root-Specificity of Proteome Response to CK

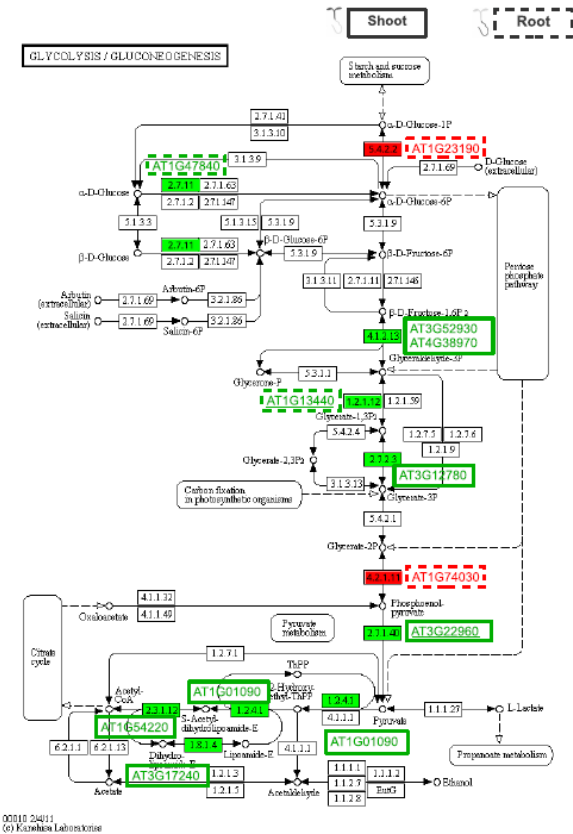
## Carbohydrate Metabolism



SHOOT



00020 6/28/11  
(c) Kewehua Laboratories

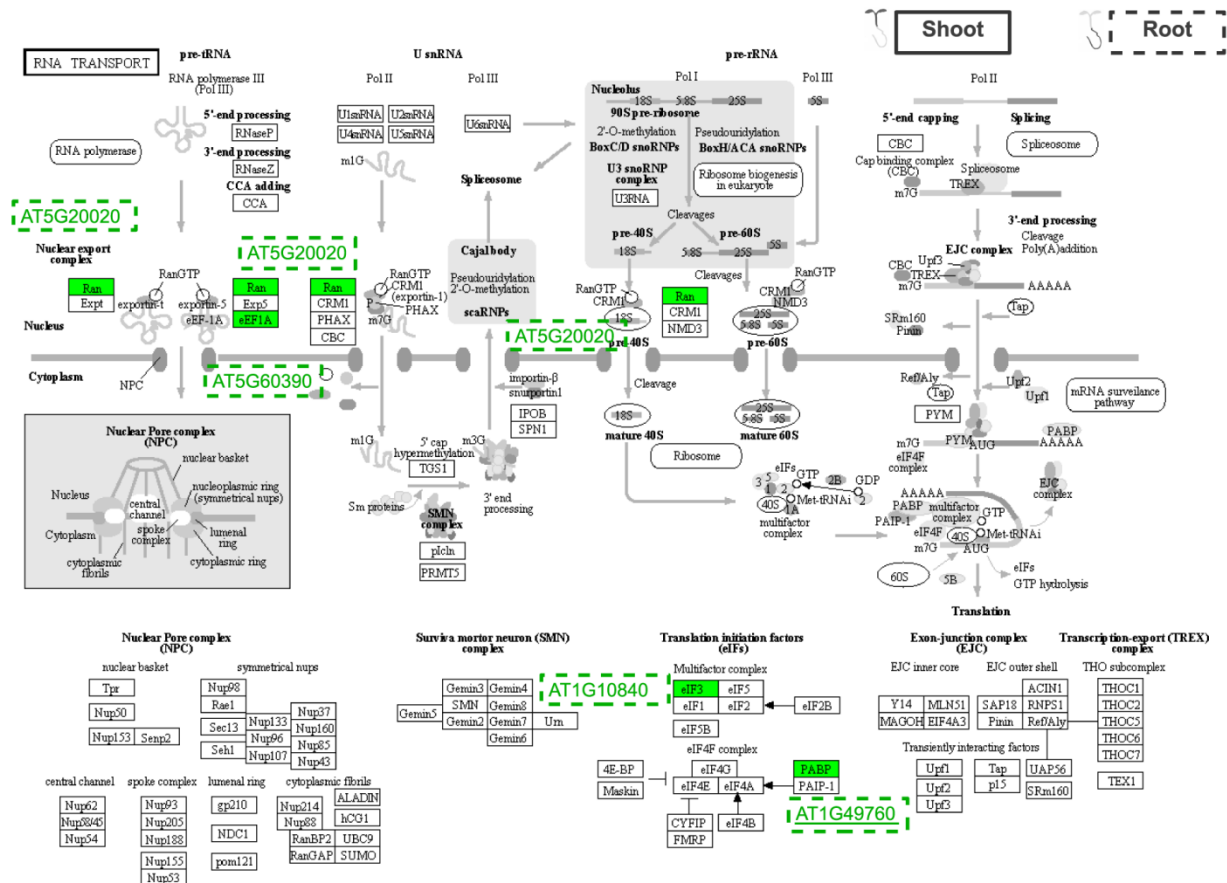


00010 24/11  
(c) Kewehua Laboratories

Žďárská et al., manuscript in preparation

# Shoot and Root Specificity of CK Response

## Protein Synthesis and Destination

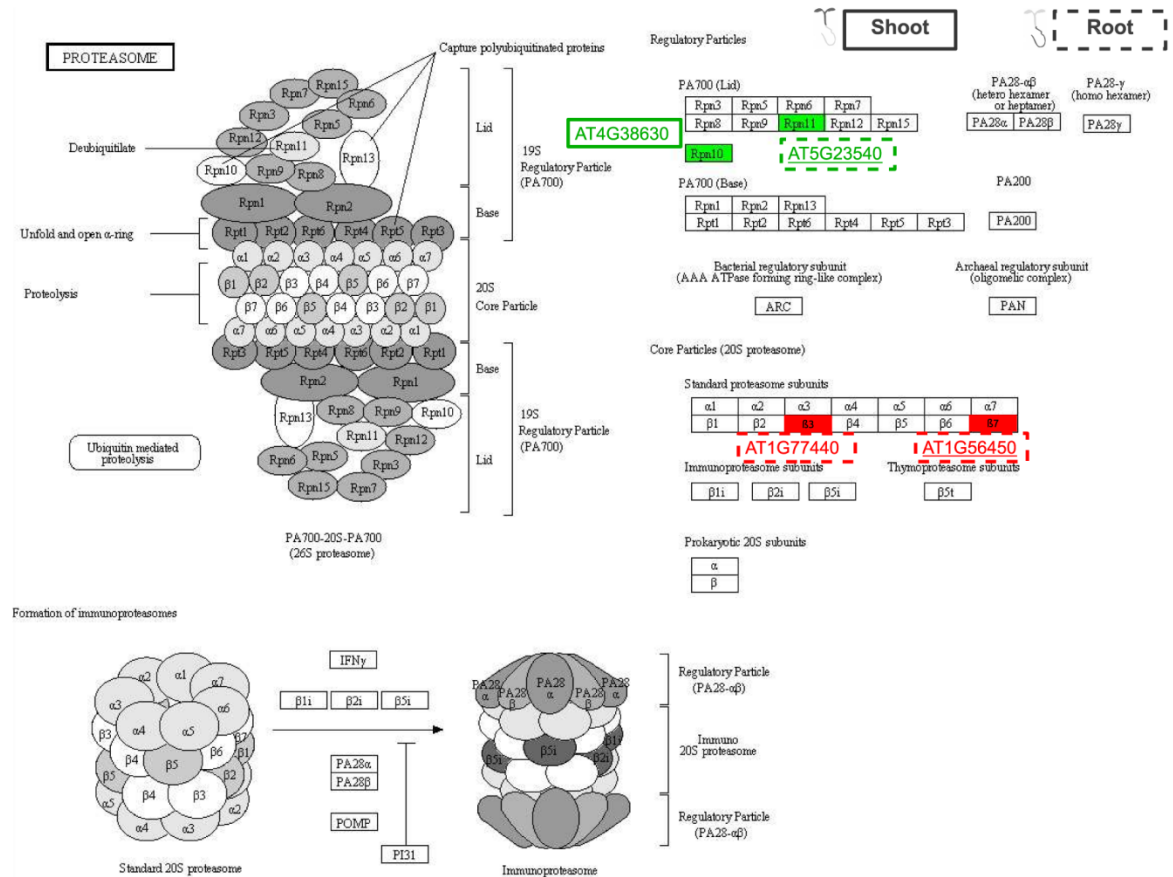


# Shoot and Root Specificity of CK Response

## Protein Synthesis and Destination



ROOT

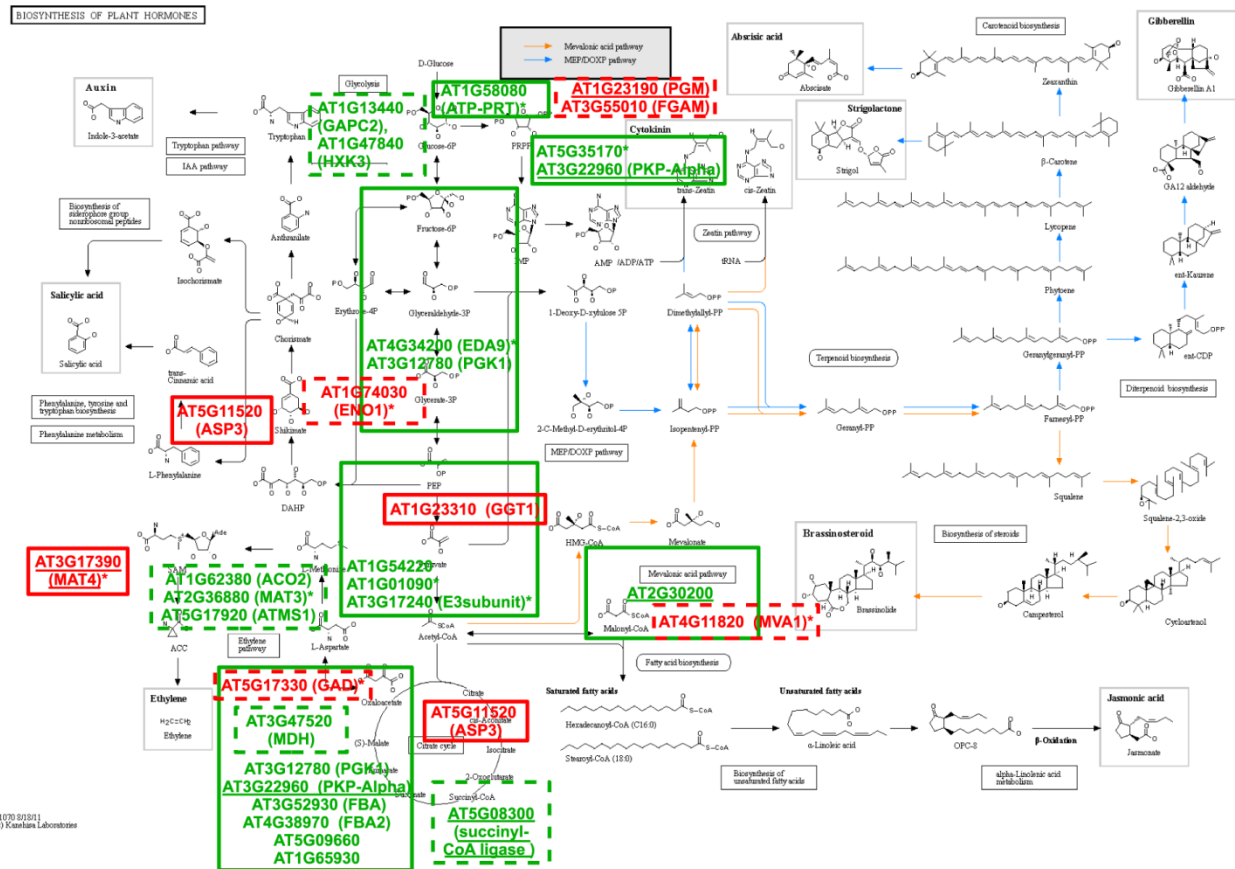


03050 12/1/10



# Shoot and Root Specificity of CK Response

## Hormonal Metabolism



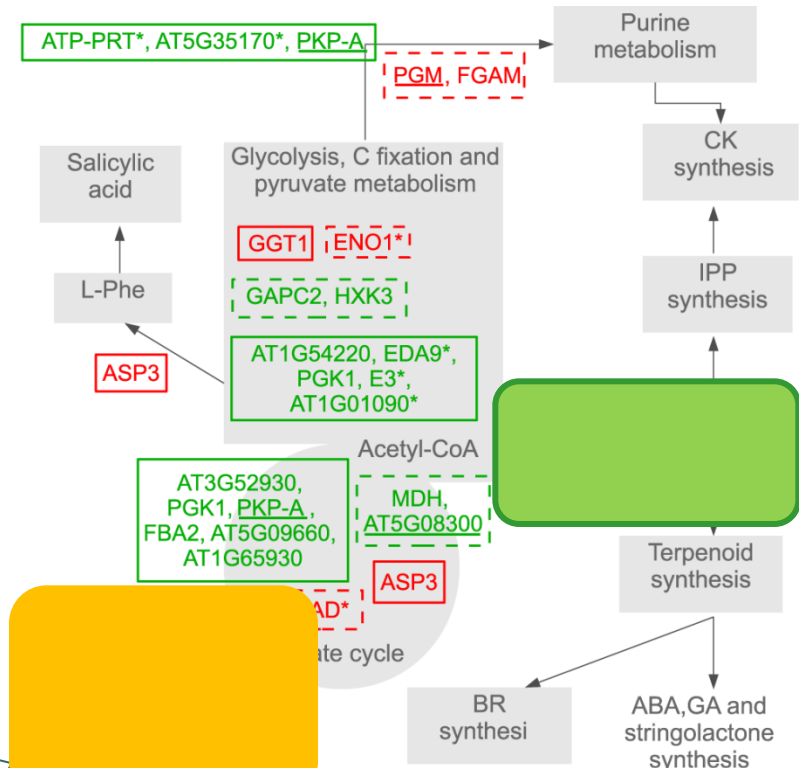
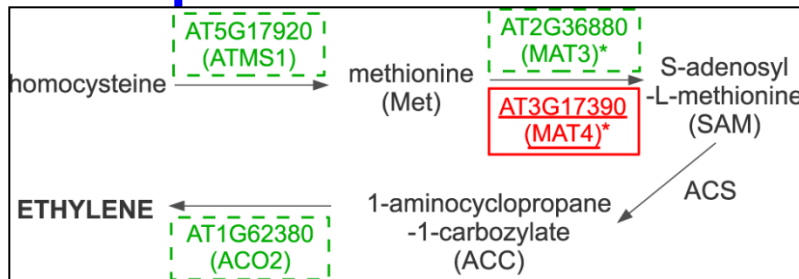
01/03/2021  
 (C) Karente Laboratory

# Shoot and Root Specificity of CK Response

Hormonal Metabolism

SHOOT: MAV pathway

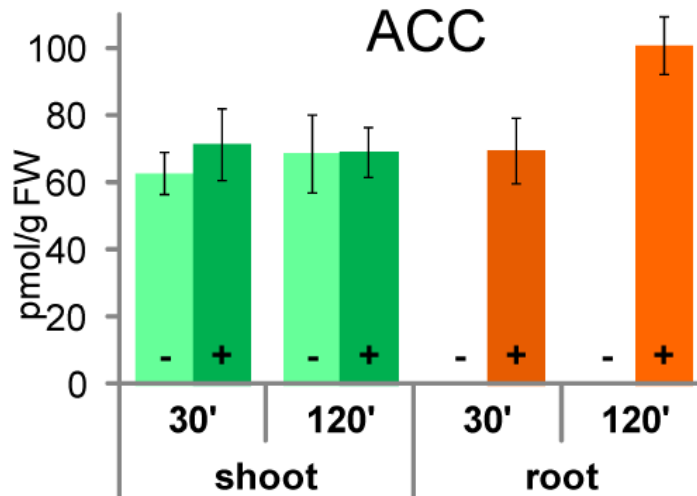
ROOT: C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>



Žďárská et al., manuscript in preparation

# Shoot and Root Specificity of CK Response

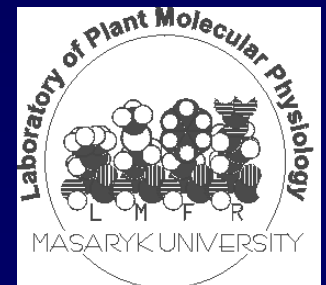
Endogenous Hormone Levels



# Základy proteomiky 2012

## Proč právě proteomika?

- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět
- Přístupy současné proteomiky
  - exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů
  - analýza vztahu mezi strukturou a funkcí proteinů
  - diferenční proteomika
  - analýza posttranslačních modifikací



# Přístupy současné proteomiky

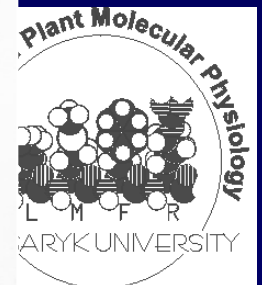
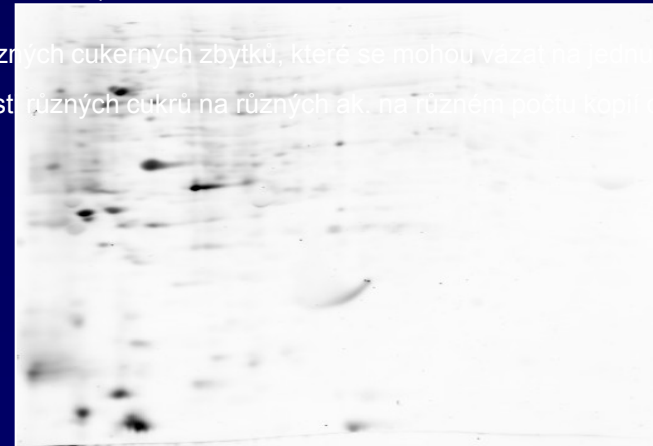
analýza posttranslačních modifikací

## Analýza posttranslačních modifikací

- pomocí specifických metod lze identifikovat kotranslační a posttranslační modifikace, buď v gelu nebo po blotování na membránu (barvení spec. barvičkami)
- identifikace modifikací pomocí MS technik (MALDI TOF, ESI-MS, ...)
- fosforylace
  - přenos signálu
- acetylace
  - regulace chromatinových struktur a transkripční aktivity prostřednictvím regulace vazby histonů
- glykosylace
  - velice heterogenní (aktivátor plasminogenu 3 místa pro glykosylaci na N-konci, až 11. 520 možností vizoforem)



- mikroheterogenita díky velkému množství různých cukerných zbytků, které se mohou vázat na jeden ak.
- makroheterogenita díky rozdílu v přítomnosti různých cukrů na různých ak. na různém počtu kopíí daného proteinu



# Základy proteomiky 2012

## shrnutí

### Proč právě proteomika?

- Postgenomová éra a co s informacemi, které neumíme číst
- Genotyp vs. fenotyp, aneb co všechno se děje při vyjadřování
- Od genu k proteinu a zpět
- Přístupy současné proteomiky
  - exprese, purifikace a analýza rekombinantních proteinů
  - analýza vztahu mezi strukturou a funkcí proteinů
  - diferenční proteomika
  - analýza posttranslačních modifikací

