

Bi8313: Praktikum z genového inženýrství (jaro 2017)

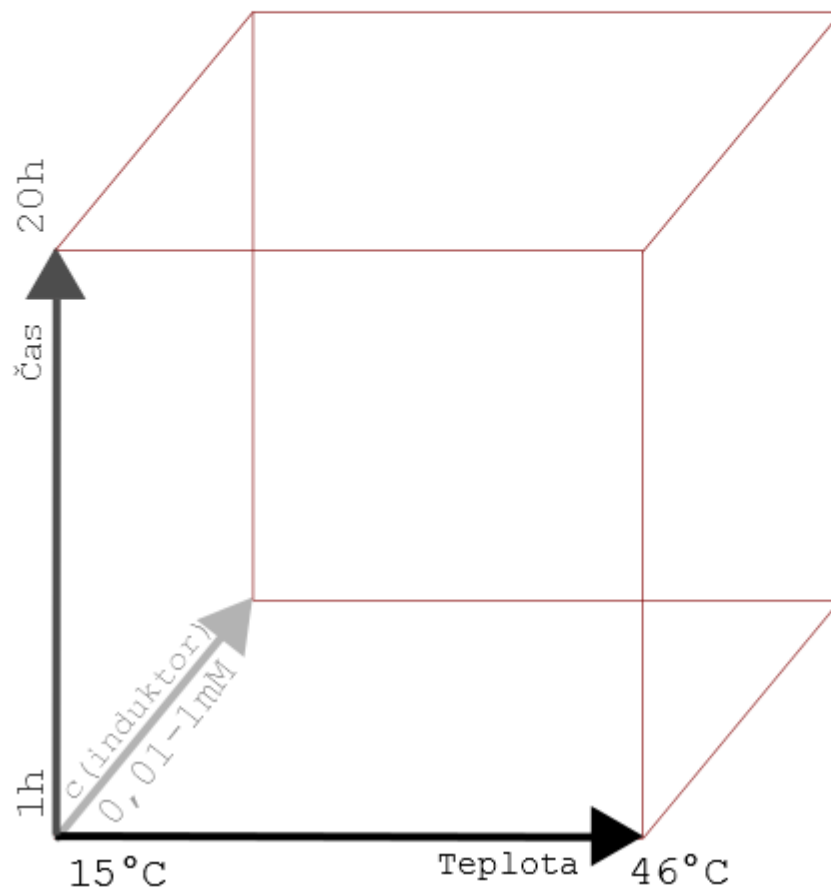
Expresia a stanovenie funkcie proteínov



MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE
LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKY MIKROORGANISMŮ

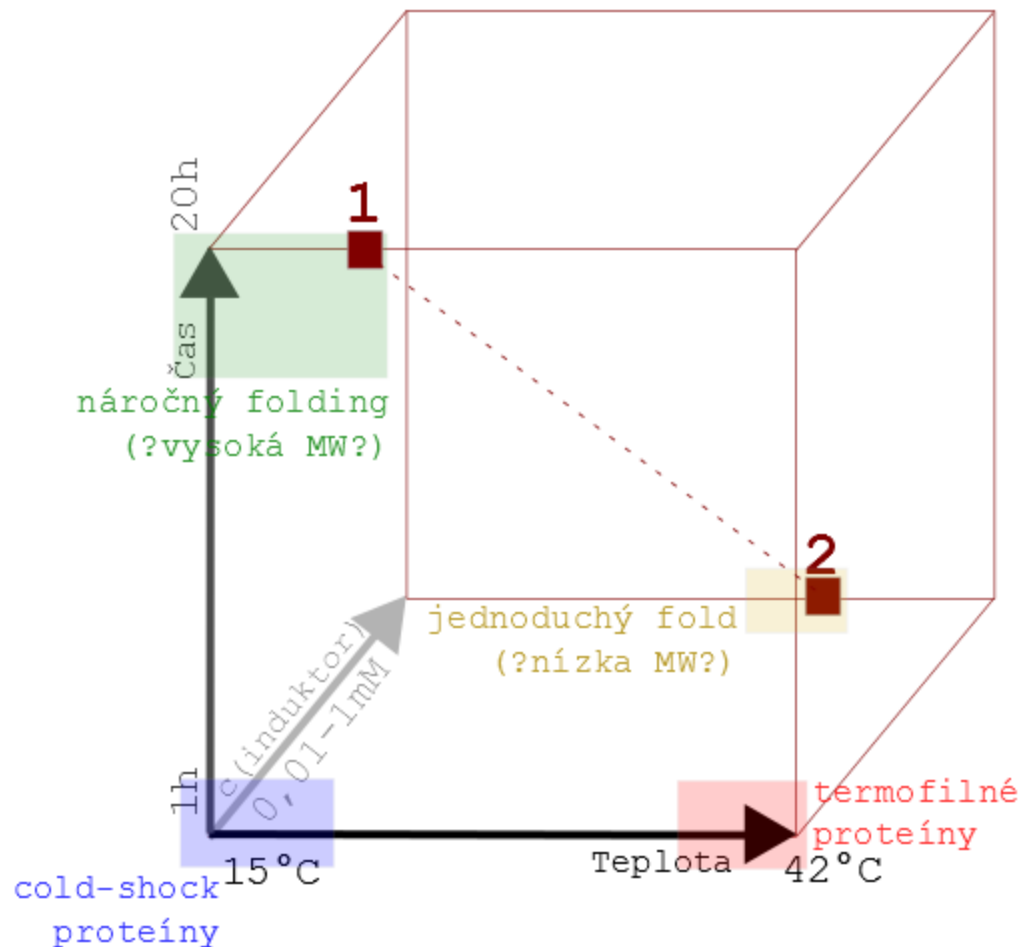
EXPRESIA PROTEÍNOV

Testujeme variabilné podmienky:



EXPRESIA PROTEÍNOV

Testujeme variabilné podmienky:



1 pomalá dlhodobá expresia

2 rýchla nárazová expresia

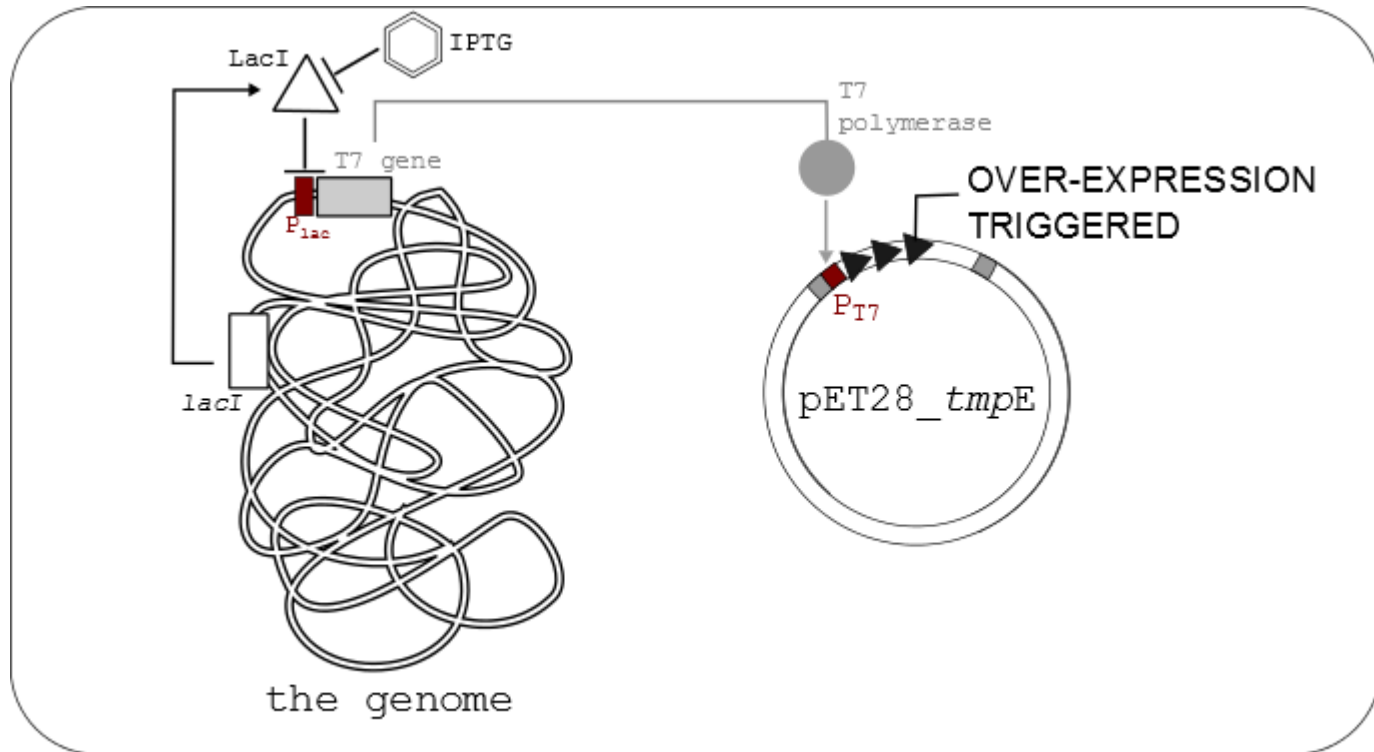
EXPRESIA PROTEÍNOV

- Ďalšie vplyvy
- ▶ expresný organizmus
 - ▶ expresný vektor
(low vs high copy)
 - ▶ médium
 - ▶ OD kultúry pri indukci
-

Ak vás zaujíam viac:

C8980 - Protein expression and purification

EXPRESIA PROTEÍNOV V BL21 (DE3)



E. coli BL21 (DE3)

ENDOLYZÍN FÁGA 812F1

MAKTQAEINKRLDAYAKGTVDS PYRVKKATSYDPSFGVMEAGAIDADGYYHAQCQDLITDYVLWLTDNKV
RTWGNAKDQIKQSYGTGFKIHENKPSTVPKKGWIAVFTSGSYEQWGHIGIVYDGGNTSTFTILEQNWNGY
ANKKPTKRVDNYYGLTHFIEIPVKAGTTVKKETAKKSASTPATRPVTGSWKKNQYGTWYKPENATFVNGN
QPIVTRIGSPFLNAPVGGNLPAGATIVYDEVCIQAGHIWIGYNAYNGNRVYCPVRTCQGVPPNQIPGVAW
GVFK

AA: 284	CHAP domain: lytická aktivita
MW: 31.38 kDa	SH3b domain: väzbová aktivita
pI: 9.32	organizmus: S. aureus (10-42°C)

1 pomalá dlhodobá expresia

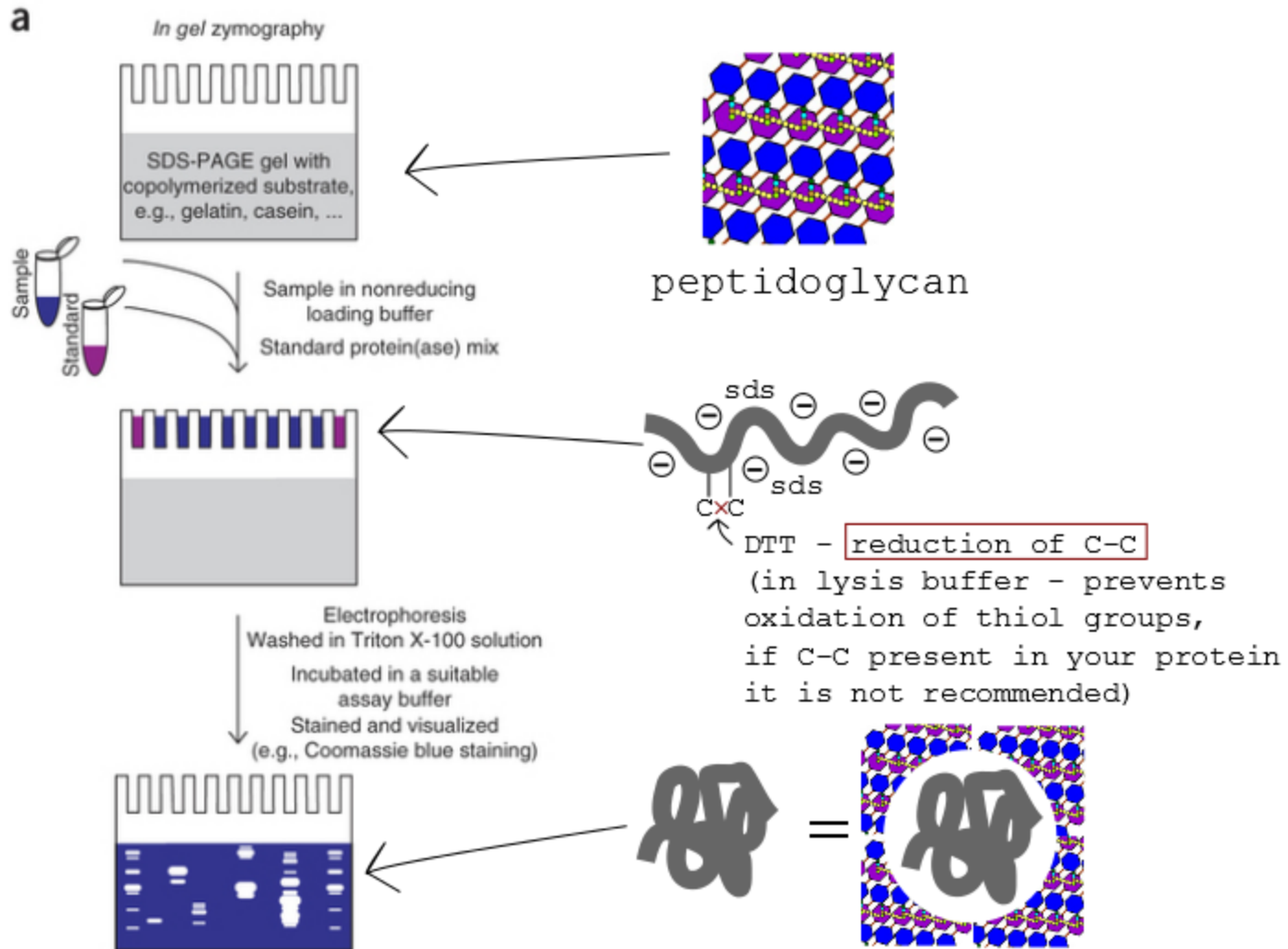
2 rýchla nárazová expresia

OD = 0.5
30°C/5 hod
0.4mM IPTG

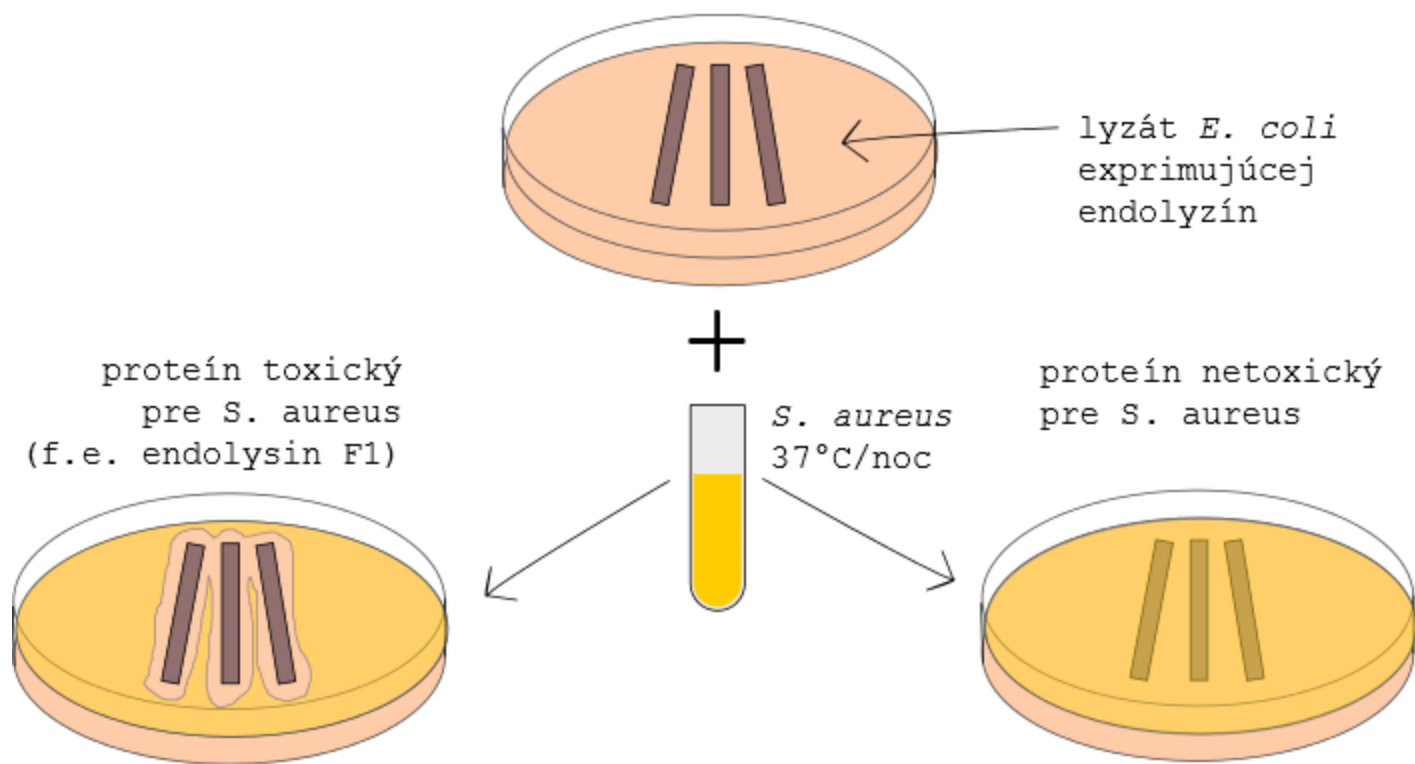
OD = 0.5
22°C/16 hod
0,04mM IPTG

ZYMOGRAM (IN GEL) - PRINCÍP

Zymography is a technique for studying hydrolytic enzymes on the basis of substrate degradation.



OVERLAY ASSAY - PRINCÍP



OVERLAY ASSAY IS PRIMARLY USED FOR SCREENING
EXPRESSION LIBRARIES