

# KURZ ZÁKLADŮ PROTEOMIKY

## ČASOVÝ ROZVRH:

<b><u>PONDĚLÍ</u></b>	7:50- 7:55	Zahájení praktika (UKB, A2, 2.NP, místnost č. 2.11, Dr. Hejátko)
	8:00 – 9:00	2-D elektroforéza – rehydratace proužků
	9:00 – 9:30	Expresse rekombinantních proteinů – zaočkování expresní kultury
	9:30 – 10:00	Úvod do experimentální části (místnost 2.11, přednáška)
	9:30-9:40	2D elektroforéza (Dr. Konečná)
	9:40-9:50	MS analýza (Dr. Zdráhal)
	9:50-10:00	Rekombinantní proteiny (Dr. Pekárová, MSc. Szmitkowska)
	10:00 – 13:00	Struktura proteinů, proteomické databáze (A2, 1.NP, místnost č. 1.21, Dr. Klumpler, Dr.Dopitová)
	13:00 – 13:45	OBĚD
		Budova <b>A2</b>
	13:45 – 14:30	Expresse rekombinantních proteinů – indukce
		Přesun do budovy <b>A26</b>
	14:30 – 15:00	In-solution proteolytické štěpení směsi proteinů pro LC-MSMS analýzu
	15:00 – 15:30	Příprava gelů pro 2-D
	15:30 – 16:00	1. rozměr 2-D elektroforézy: izoelektrická fokusace (IEF)
<b><u>ÚTERÝ</u></b>		Budova <b>A2</b>
	8:30 – 10:00	Příprava 1-D gelu (SDS i nativní PAGE)
		Přesun do budovy <b>A26</b>
	10:00 – 11:00	2. rozměr 2-D elektroforézy: SDS-PAGE
	11:00 – 12:00	OBĚD
		Budova <b>A26</b>
	12:00 – 14:00	Barvení 2-D gelů, densitometrie
	14:00 – 14:30	Ukončení in-solution proteolytického štěpení proteinů pro LC-MS/MS analýzu
		Nasazení vzorků do autosampleru a začátek LC-MS/MS analýzy
		Přesun do budovy <b>A2</b>
	14:35 – 16:00	Software pro vyhodnocování 2-D gelů (místnost č. 1.21)

## STŘEDA

7:30 – 8:30	Budova <b>A26</b> In-gel proteolytické štěpení proteinů separovaných 2-D Elektroforézou
8:30-13:00	Přesun do budovy <b>A2</b> Purifikace rekombinantních proteinů pomocí metalochelatační afinitní chromatografie Demonstrační chromatografie – FPLC PAGE analýza rekombinantních proteinů – příprava vzorků - SDS-PAGE analýza Stanovení koncentrace proteinů metodou dle Bradfordové

## ČTVRTEK

8:30 – 9:00	Budova <b>A2</b> Nativní PAGE analýza – nanesení vzorků na gel
9:00 – 11:00	Přesun do budovy <b>A26</b> Analýza proteomu – identifikace proteinů metodou MALDI-TOF MS (ukončení in-gel proteolytického štěpení proteinů separovaných 2-D elektroforézou a analýza vzorků MALDI-TOF hmotnostní spektrometrií)
11:00 – 12:30	Přesun do budovy <b>A2</b> Ukončení nativní PAGE – aktivitní barvení (MUG) - Western blotting
12:30 – 13:30	OBĚD
13:30 – 16:30	Budova <b>A2</b> Western blotting Analýza obrazu – densitometrie. software pro vyhodnocování 1D gelů (vyhodnocení čistoty purifikovaných proteinů)

## PÁTEK

8:00 – 10:00	Budova <b>A2</b> Vyhodnocení výsledků LC-MSMS a MALDI-TOF MS analýz
10:00 – 11:00	“dodělavky“, konzultace, vypracování a odevzdání protokolů
11:00	Kolokvium (místnost č. 2.11)

Cvičící (legenda):

2-DE a příprava pro MS

Analýza obrazu

MS analýza

Struktura proteinů

Expres a purifikace rekombinantních proteinů

Dohled nad laboratoří a přípravou materiálu

RNDr. Hana Konečná, Danuše Fridrichová

Mgr. Gábina Lochmanová, Ph.D.

doc. RNDr. Zbyněk Zdráhal, Dr.

Mgr. Tomáš Klumpler, Ph.D., Mgr. Radka Dopitová,  
Ph.D.

Ing. Blanka Pekárová, Ph.D., MSc. Agnieszka  
Szmikowska

ing. Šárka Michlíčková