

KURZ ZÁKLADŮ PROTEOMIKY

ČASOVÝ ROZVRH:

<u>PONDĚLÍ</u>		
	7:50- 7:55	A2/2.11 Zahájení praktika (Dr. Hejátko)
	8:00 – 9:00	A2/3.42 2-D elektroforéza – rehydratace proužků
	9:00 – 9:30	A2/3.39 Expresse rekombinantních proteinů – zaočkování expresní kultury
	9:30 – 10:00	A2/2.11 Úvod do experimentální části (přednášky)
	9:30-9:40	- 2D elektroforéza (Dr. Konečná)
	9:40-9:50	- MS analýza (Dr.Šedo)
	9:50-10:00	- Rekombinantní proteiny (Dr. Pekárová, MSc. Szmitkowska)
	10:00 – 13:00	A2/1.21 Struktura proteinů, proteomické databáze (Dr. Klumpler, Dr.Dopitová)
	13:00 – 13:45	OBĚD
	13:45 – 14:30	A2/3.39 Expresse rekombinantních proteinů – indukce
	14:30 – 15:00	A2/3.42 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)
<u>ÚTERÝ</u>		
	8:30 – 10:00	A2/3.39 Příprava 1-D gelu (SDS i nativní PAGE)
	10:00 – 11:00	A2/3.42 2. rozměr 2-D elektroforézy: SDS-PAGE
	11:00 – 12:00	OBĚD
	12:00 – 14:00	A2/3.42 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

14:35 – 16:00 A2/1.21
Software pro vyhodnocování 2-D gelů

STŘEDA

7:30 – 8:30 A2/3.42
In-gel proteolytické štěpení proteinů separovaných 2-D
Elektroforézou

8:30-13:00 A2/3.39
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 A2/3.39
Nativní PAGE analýza – nanesení vzorků na gel

9:00 – 11:00 A2/3.42
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 A2/3.39
Ukončení nativní PAGE – aktivitní barvení (MUG)
- Western blotting

12:30 – 13:30 OBĚD

13:30 – 16:30 A2/3.39
Western blotting
Analýza obrazu – densitometrie. software pro vyhodnocování 1D gelů
(vyhodnocení čistoty purifikovaných proteinů)

PÁTEK

8:00 – 10:00 A2/3.42
Vyhodnocení výsledků LC-MSMS a MALDI-TOF MS analýz
10:00 – 11:00 “dodělavky“, konzultace, vypracování a odevzdání protokolů

11:00 A2/2.11
Kolokvium

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.

Mgr. Ondřej Šedo, Ph.D.

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

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

ing. Šárka Michlíčková