

KURZ ZÁKLADŮ PROTEOMIKY

ČASOVÝ ROZVRH:

PONDĚLÍ

7:50- 7:55	C02/2.11 Zahájení praktika (Dr. Hejátko)
8:00 – 9:00	C02/3.39 2-D elektroforéza – rehydratace proužků
9:00 – 9:30	C02/3.39 Expresse rekombinantních proteinů – zaočkování expresní kultury
9:30 – 10:00	C02/2.11 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)
10:00 – 13:00	C02/1.21 Struktura proteinů, proteomické databáze (Dr. Klumpler, Dr. Dopitová)
13:00 – 13:45	OBĚD
13:45 – 14:30	C02/3.39 Expresse rekombinantních proteinů – indukce
14:30 – 15:00	E26/115 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)

ÚTERÝ

8:30 – 10:00	C02/3.39 Příprava 1-D gelu (SDS i nativní PAGE)
10:00 – 11:00	E26/115 2. rozměr 2-D elektroforézy: SDS-PAGE
11:00 – 12:00	OBĚD
12:00 – 14:00	E26/115 Barvení 2-D gelů, densitometrie, vyřezání skvrny z gelu.

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 In-gel proteolytické štěpení proteinů separovaných 2-D Elektroforézou
14:35 – 16:30	C02/1.21 Software pro vyhodnocování 2-D gelů

STŘEDA

8:30-13:00	C02/3.39 Purifikace rekombinantních proteinů pomocí metalochelatační afinitní chromatografie Demonstrační chromatografie – FPLC PAGE analýza rekombinantních proteinů – příprava vzorků - SDS-PAGE analýza Stanovení koncentrace proteinů metodou dle Bradforda
------------	--

ČTVRTEK

8:30 – 9:00	C02/3.39 Nativní PAGE analýza – nanesení vzorků na gel
9:00 – 11:00	E26/116 Analýza proteomu – identifikace proteinů metodou MALDI-TOF MS
11:00 – 12:30	C02/3.39 Ukončení nativní PAGE – aktivní barvení (MUG) - Western blotting
12:30 – 13:30	OBĚD
13:30 – 16:30	C02/3.39 Western blotting Analýza obrazu – densitometrie. software pro vyhodnocování 1D gelů (vyhodnocení čistoty purifikovaných proteinů)

PÁTEK

8:00 – 10:00	C02/1.21 Vyhodnocení výsledků LC-MSMS a MALDI-TOF MS analýz
10:00 – 11:00	“dodělavky“, konzultace, vypracování a odevzdání protokolů
11:00	C02/2.11 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., Mgr. Lucia Baďurová

Ing. Eliška Kadlecová