

KURZ ZÁKLADŮ PROTEOMIKY

ČASOVÝ ROZVRH:

PONDĚLÍ

7:50 - 7:55	C02/2.11 Zahájení praktika (Dr. Hejátko)
8:00 – 8:30	C02/2.11 <u>Úvod do experimentální části (přednášky)</u>
8.00 – 8:10	Příprava vzorku pro MS: SP3, obohacení fosfopeptidů
8:10 – 8:20	MS analýza (Dr. Šedo)
8:20 – 8:30	Rekombinantní proteiny (Dr. Pekárová)
8:30 – 9:00	C02/3.39 Expres rekombinantních proteinů – zaočkování expresní kultury
9:15 – 11:00	E26/116 <u>Příprava vzorku: SP3</u>
11:00 – 11:30	Vyřezání gelu pro in-gel digesci
11:30 – 12:30	OBĚD
12:30 – 13:15	C02/3.39 Expres rekombinantních proteinů – indukce
13:30 -14:45	E26/117 <u>Příprava vzorku: in-gel digesce</u>
15:00 -15:30	Ukončení digesce proteinů na SP3.

ÚTERÝ

8:30 – 9:30	E26/117 Obohacení fosfopeptidů.
9:30 – 10:30	Ukončení přípravy vzorku pro LC-MS/MS analýzu (SP3, in-gel digesce, obohacení fosfopeptidů), nasazení vzorků do autosampleru a začátek LC-MS/MS analýzy.
10:45 – 12:15	C02/3.39 Příprava 1-D gelu (SDS i nativní PAGE)
12:15 – 13:15	OBĚD
13:15 – 16:00	C02/1.21 Struktura proteinů, proteomické databáze (Dr. Klumpler, Dr. Dopitová)

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
9:15 – 11:00	E26/116 Analýza proteomu – identifikace proteinů metodou MALDI-TOF MS
11:15 – 12:30	C02/3.39 Ukončení nativní PAGE – aktivitní 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 – 10:30 10:30	C02/2.11 “dodělavky“, konzultace, vypracování a odevzdání protokolů Kolokvium

Cvičící (legenda):

Příprava pro MS

MS analýza

Struktura proteinů

Expres a purifikace rekombinantních proteinů

Dohled nad laboratorii a přípravou materiálu

Mgr. Gabriela Lochmanová, Ph.D.

Ing. Renata Holánková

Mgr. Ondřej Šedo, Ph.D.

Mgr. Tomáš Klumpler, Ph.D.

Ing. Blanka Pekárová, Ph.D., Mgr. Eliška Špačková

Ing. Eliška Kadlecová Mgr. Lucia Baďurová,