

KURZ ZÁKLADŮ PROTEOMIKY

ČASOVÝ ROZVRH:

PONDĚLÍ

8:30 - 8:35	C02/2.11 Zahájení praktika (Dr. Hejátko)
8:35 – 8:45	C02/2.11 <u>Úvod do experimentální části (přednášky)</u>
8.35 – 8:40	Příprava vzorku pro MS: SP3, obohacení fosfopeptidů MS analýza (Dr. Šedo)
8:40 – 8:45	Rekombinantní proteiny (Dr. Pekárová)
8:45 – 9:15	C02/3.39 Expresse 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 Expresse 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

9:00 – 9:30	E26/117 Ukončení přípravy vzorku pro LC-MS/MS analýzu (SP3, in-gel digesce, obohacení fosfopeptidů), nasazení vzorků do autosampleru a začátek LC-MS/MS analýzy.
9:30 – 10:30	Obohacení fosfopeptidů.
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

8:00 – 9:30 C02/3.39
Skupina 1-3
Nativní PAGE analýza – nanesení vzorků na gel

8:00 – 9:30 Skupina 4-7
E26/116
Analýza proteomu – identifikace proteinů metodou MALDI-TOF
MS

9:30 – 11:00 Skupina 4-7
Nativní PAGE analýza – nanesení vzorků na gel

9:30 – 11:00 Skupina 1-3
E26/116
Analýza proteomu – identifikace proteinů metodou MALDI-TOF
MS

11:10 – 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-MS/MS a MALDI-TOF MS analýz

10:00 – 10:30 C02/2.11
“dodělavky“, konzultace, vypracování a odevzdání protokolů
10:30 Kolokvium

Cvičení (legenda):

Příprava pro MS

MS analýza

Struktura proteinů

Expres a purifikace rekombinantních proteinů

Dohled nad laboratoří 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.

Ing. Eliška Kadlecová