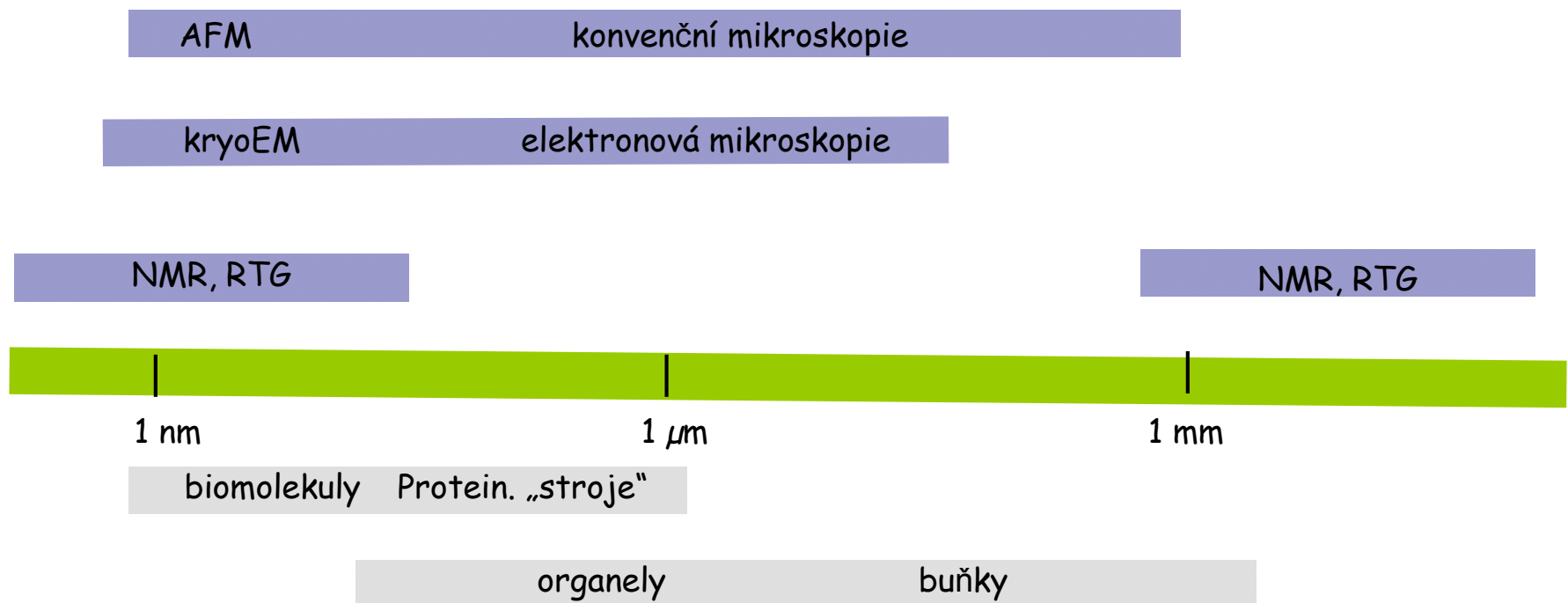


(Strukturní) biologie – exp. techniky

Oblasti rozlišení metod a velikostní škály objektů



Studium 3D struktur: sonda + vzorek

Sonda:

- (viditelné světlo ?)
- RTG záření
- vlny/částice: elektrony
- radiofrekvenční vlny

Vzorek:

- (bio)molekuly v roztoku - NMR
- (bio)molekuly zmražené v ledu -kryoEM
- (bio)molekuly uspořádané v krystalu - RTG

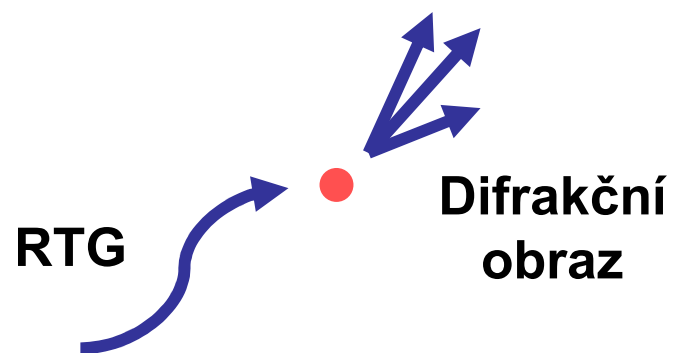
Studium 3D struktur proteinů

PDB	<u>Z roztoků</u> NMR	<u>Krystaly</u> RTG difrakční techniky
2001	: 2 a ¼ tisíce	Přes 12 tisíc
2008	: 7 a ½ tisíce	44 a ½ tisíce
2013	: 8 a ½ tisíce	Přes 72 tisíc

Odhad: většina struktur přinejmenším globulárních proteinů (proteinů s dobře určenou terciární strukturou = výsledky CD) bude určována difrakcí RTG záření i v budoucnu.

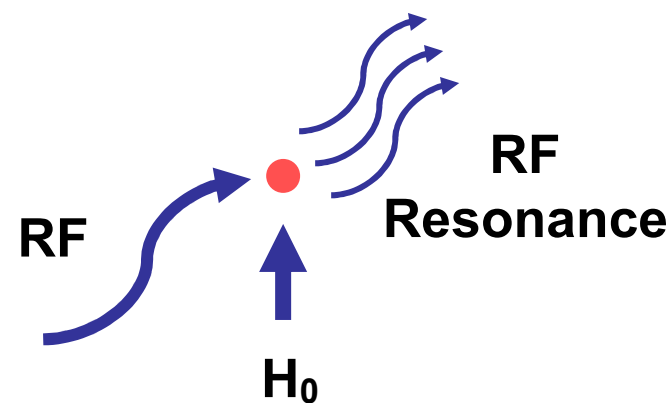
Studium 3D struktur: RTG+NMR

RTG



Krystal: shodně orientované molekuly

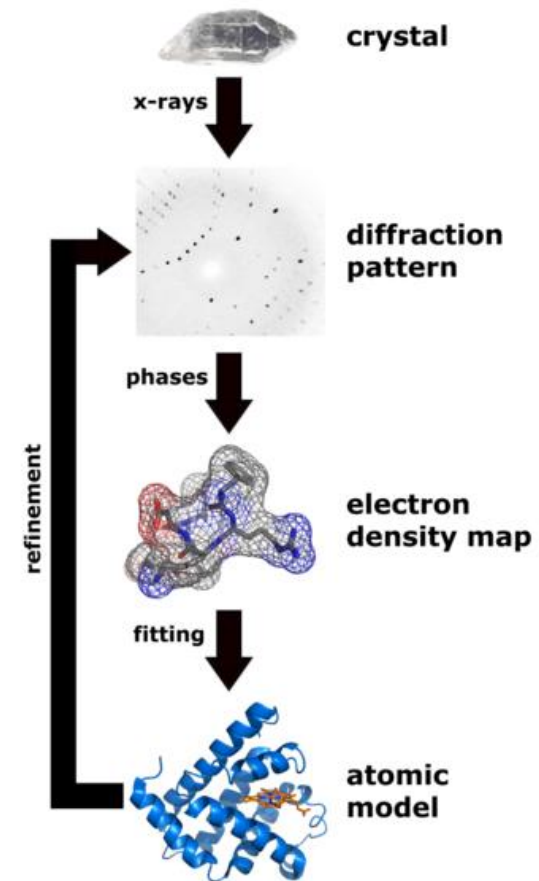
NMR



V roztoku

RTG krystalografie - postup

- (0.) Příprava rekombinantního proteinu, čištění, zahušťování...
1. Krystalizace
2. Difrakční experiment
3. Fázový problém, příprava modelu
4. Zpřesňování modelu

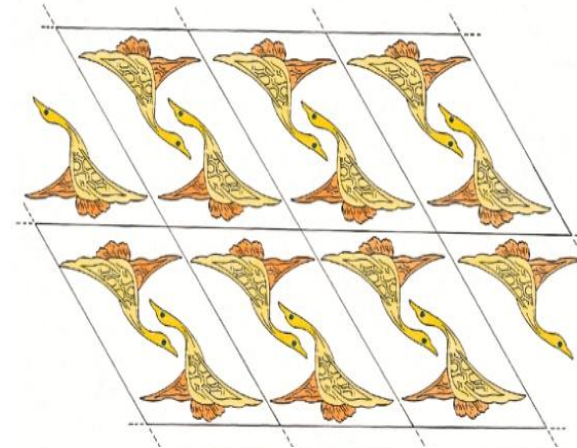


Krystaly

Krystal – periodicky uspořádaná látka

Opakování motivu:

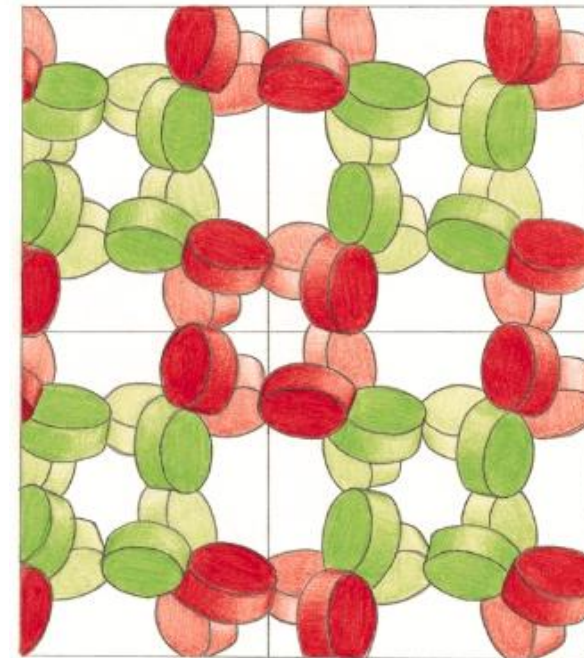
- posun
- rotace



Krystal (bio)polymeru

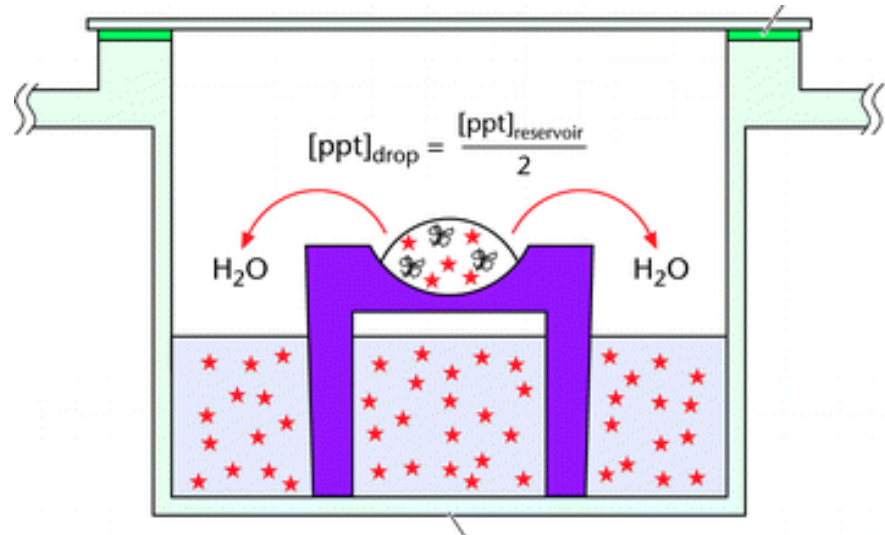
- oblast polymeru
- oblast rozpouštědla

Čistota + stabilita vzorku

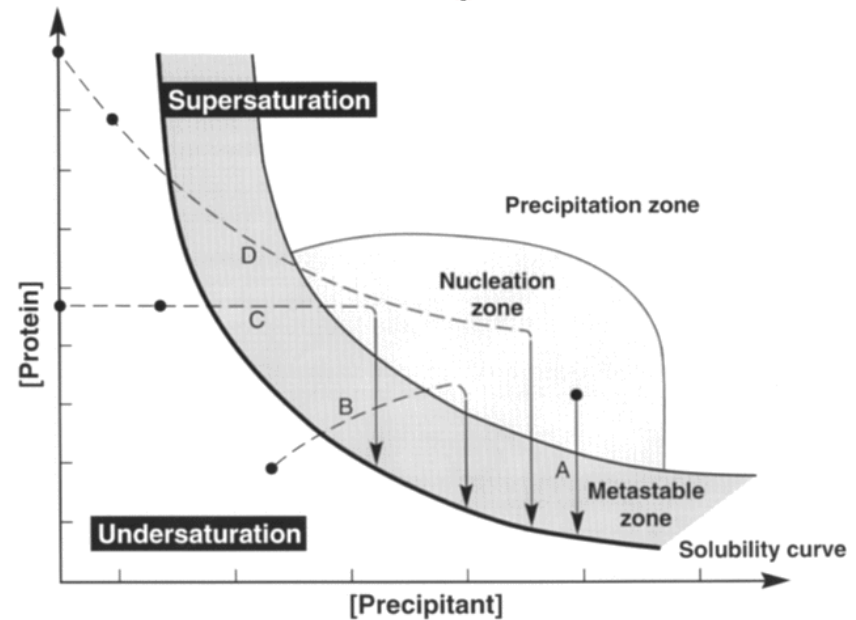


Krystalizace proteinů

- Difúzní techniky



- Fázový graf



Krystalizace proteinů

Problém:

Jak „rychle“ vypěstovat
„použitelný“ krystal?

- Empirie – sady roztoků
- Souběžné experimenty
- Malé (nanolitrové) objemy

=> nasazení robotiky

