

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN



КАФЕДРА
БІОХІМІЇ ТА
БІОТЕХНОЛОГІЇ

Supported by:



Як обрати метод аналізу

Володимир ШВАДЧАК

ПНУ

31-07-2024

Онлайн-курс “Мікроскопія та інструментальні методи в біології”

Що треба розуміти про метод

- **Що він може**
- **Чого він НЕ може**
- **Яке потрібно обладнання**
- **Наскільки це довго й важко робити (треба взаємодіяти з спеціалістами чи вчитись самому)**
- **Наскільки це дорого**
- **Хто й як його успішно застосовує зараз**

Що треба розуміти про метод

NMR

- 3D структура протеїнів до атома
- Дорого. Довго. Дороге обладнання
- Потрібні спеціалісти (тобто вчимось не робити самим а взаємодіяти з ними)
- Не може: структури дуже великих протеїнів

CD

- Усереднена конформація протеїну
- Дешево. ~15хв. Обладнання ~ 60k\$
- Легко освоїти
- Не може: дає інформацію про зразок вцілому

Інструментальні методи за призначенням

Координати атомів (X-ray, NMR, ...)

Конформація (CD, IR, ...)

Розмір молекули (DLS, електрофорез, MS, хроматографія)

Зображення клітин (флуоресцентна мікроскопія)

Зображення організму (фотоапарат, лінійка, мікроскоп)

Вибір методу

Запитання



Бюджет (гроші, час)



Вибір методу

Оберіть найбільш адекватний метод для ...

Ви виділяли протеїн з бактерій, здійснили фракційне висолювання і хочете дізнатися яку з фракцій потрібно запускати в подальшу очистку.

Запитання : **яка чистота кожної з фракцій**



Бюджет гроші: **€**

Бюджет час: **години**

Бюджет обладнання -



Вибір методу **SDS-PAGE**

Оберіть найбільш адекватний метод для ...

Ви очищали протеїн використовуючи His-таг, потім пробували відрізати його протеазою, але щось пішло не так і з колонки протеїн не вийшов зовсім. Тепер ви хочете дізнатися чи активна ваша протеаза і як оптимізувати порізку протеїну.

Protein-HisTag → Protein + Histag

Оберіть найбільш адекватний метод для ...

Шляхом скринінгу ви встановили що сполука XY02541 добре інгібує HIV-2 протеазу. Ви хочете дізнатся які амінокислоти задіяні у взаємодії.

1. Механізм інгібування (оборотне чи ні)
2. Вирощування кристалів комплексу → X-ray
3. Або NMR ^1H - ^{15}N

Оберіть найбільш адекватний метод для ...

1. Ви виділяли протеїн з бактерій, здійснили фракційне висолювання і хочете дізнатися яку з фракцій потрібно запускати в подальшу очистку.
2. Ви очищали протеїн використовуючи His-таг, потім пробували відрізати його протеазою, але щось пішло не так і з колонки протеїн не вийшов зовсім. Тепер ви хочете дізнатися чи активна ваша протеаза і як оптимізувати порізку протеїну.
3. Вам потрібно приготувати 17мг 150-амінокислотного протеїну (водорозчинний протеїн з капсиди вірусу HIV-2)
4. Шляхом скринінгу ви встановили що сполука XY02541 добре інгібує HIV-2 протеазу. Ви хочете дізнатися які амінокислоти задіяні у взаємодії.
5. Вам потрібно встановити який з двох пептидів краще проникає крізь мембрану клітини.
6. Вам потрібно встановити чи пептид SWARYCHIV взаємодіє з мембраною
7. Вам потрібно встановити чи мембранний протеїн PR1 взаємодіє з цитозольним протеїном PR2 (у вас немає самих протеїнів, але є можливість працювати з HeLa і доступ до сучасних мікроскопів)
8. Потрібно встановити чи малий цитозольний протеїн X взаємодіє з ДНК. (у вас є близько 100 мкл 100 мкМ розчину цього протеїну)

Оберіть найбільш адекватний метод для ...

1. Потрібно визначити концентрацію олігонуклеотиду TGTGTGTG в розчині.
2. Потрібно визначити концентрацію міченого олігонуклеотиду Fluorescein-TGTGTGTG в розчині.
3. Потрібно встановити чи дана послідовність РНК утворює шпильку.
4. Ви інкубували протеїн Nad-Virna з протеазою й хочете оцінити яка його частина була відрізана
5. Потрібно встановити чи малий водорозчинний протеїн містить значну кількість α -спіралей
6. Потрібно встановити переважну конформацію протеїну в волосині бика
7. Потрібно встановити переважну конформацію капсидного протеїну HIV-2 (у вас є близько 100 мкл 100 мкМ розчину цього протеїну)
8. Потрібно оцінити швидкість руху кінезину по мікротрубочці
9. Потрібно встановити товщину амілоїдної фібрири пріонового протеїну
10. Потрібно встановити середню довжину амілоїдних фібрил пріонового протеїну в мозку бика що помер від сказу
11. Потрібно встановити чи мають протеїни що входять до складу паталогічних утворень в мозку бика що помер від сказу посттрансляційні модифікації
12. Потрібно встановити амінокислотну послідовність протеїну з волосини бика