

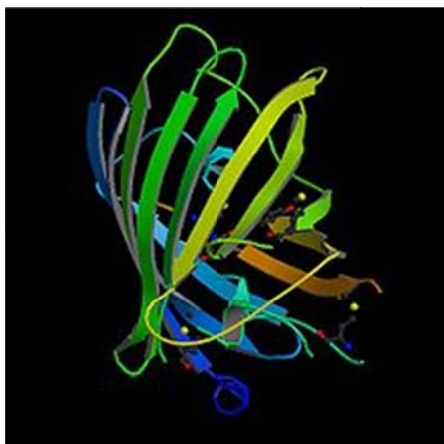
Vás zve na praktický kurz:

## PRAKTICKÝ KURZ ZAMĚŘENÝ NA MODERNÍ MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÉ NÁSTROJE PRO PŘÍPRAVU FLUORESCENČNÍCH PROTEINŮ V IN VIVO ZOBRAZOVÁNÍ

**Mgr. Ana Jimenez Jimenez, Mgr. Bc. Markéta Komínková, Ing. Iva  
Blažková, Bc. Roman Guráň, Ing. Soňa Křížková, Ph.D.**

### Abstrakt

Divoký gen GFP (wtGFP) z *A. victoria* má hlavní excitační maximum na vlnové délce 395 nm a vedlejší na 475 nm. Jeho emisní maximum je na 509 nm, což je linie v zelené části viditelného spektra. Jeho struktura je dosti jednoduchá



- je tvořena 11 beta-vláknky, které se sbalují do velmi kompaktního beta-barelu. Uvnitř tohoto soudku se nachází vlastní chromofor, který je tak chráněn před vnějším prostředím. Chromofor vzniká cyklizací a následnou oxidací postranních zbytků aminokyselin Ser65, Tyr66 a Gly67. V buněčné biologii se tento protein používá pro studium určitého genového produktu, ke kterému se naváže a později se snadno lokalizuje pomocí fluorescence. Po navázání proteinu k cílové struktuře je třeba ověřit, zda funkce struktury nebyla navázáním GFP změněna či zničena. Jde tak studovat např. dělení rakovinných buněk nebo vývoj

neuronů. Poněkud propracovanější metodou využívající GFP jsou např. FRAP nebo PA-GFP. Vedle zeleného fluorescenčního proteinu jsou dnes k dispozici také jeho žlutá (YFP) a modrozelená (CFP a BFP) varianta a nepřibuzný červený fluorescenční protein.

**Praktické úkoly kurzu 12:00 – 18:00**

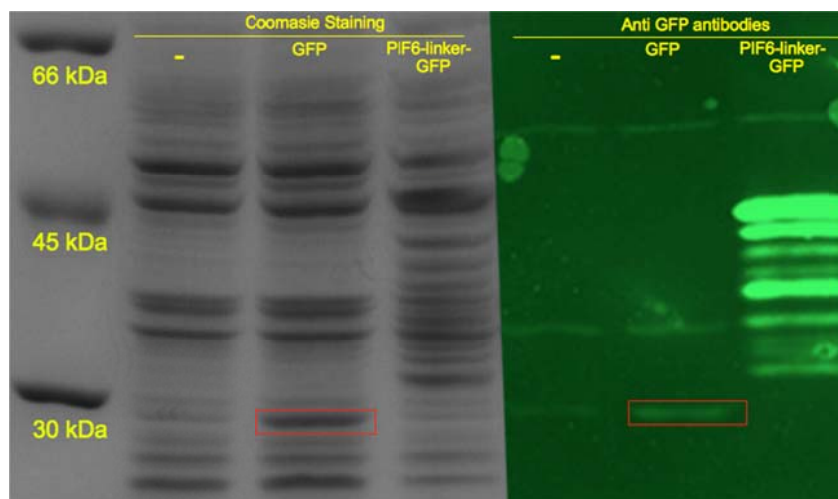
- Popis a příprava buněk E.coli
- Příprava genového konstruktů, popis a možnosti
- Genetická transformace kompetentních buněk
- Izolace GFP proteinu a jeho purifikace
- Nanesení GFP proteinu o různém množství na gel
- Provedení gelové elektroforézy

Přestávka 15:00 – 15:15

- Charakterizace a popis získaných gelů, metody vyhodnocení
- Snímání získaných gelů a fragmentů, převedení do elektronické podoby
- Aplikace GFP do buněk pomocí transportérů, využití fluorescenčního zobrazování, mikroskopicky, fluorescenční kamerou
- Vyhodnocení získaných intenzit fluorescenčních signálů
- Matematické zpracování a vyhodnocení získaných dat

Shrnutí výsledků a dat z kurzu (18:00 – 18:30)

Ukončení kurzu 18:30



**pátek 1. 11. 2013, 12:00 – 18:30 h**

Ústav chemie a biochemie, laboratoře gelových a průtokových technik

Kontakt: [kizek@sci.muni.cz](mailto:kizek@sci.muni.cz)