

Laboratoř struktury a funkce biomolekul

Petr Kolenko,
Biotechnologický ústav AV ČR, v.v.i.
petr.kolenko@gmail.com

5.12.2014

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV

- 1 Metody
- 2 Struktury proteinů pro biotechnologie (partner: Novozymes)
- 3 Struktury proteinů imunitního systému
- 4 Nukleázy z eukaryotních organismů
- 5 RNA polymeráza z *Bacillus subtilis*
- 6 Chitinázy z bakterie *Clostridium paraputrificum* strain J4
- 7 Naše skupina, BIOCEV

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV

- rekombinantní exprese v *E. coli*, nebo v kvasinkách
- metody purifikace proteinů
- analýza enzymatických reakcí enzymů
- základní biofyzikální charakterizace
- **krystalizace**
- **Rentgenová difrakce, strukturní analýza**
- molekulární modelování

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

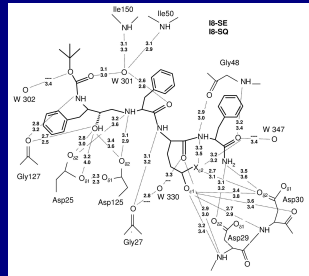
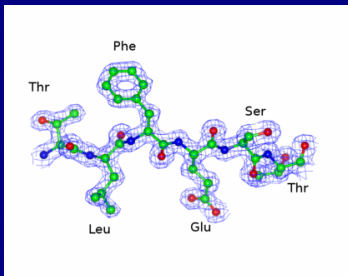
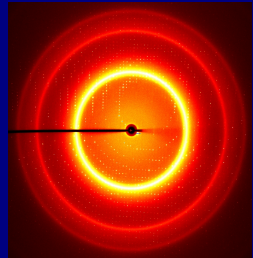
Struktury
proteinů
imunitního
systému

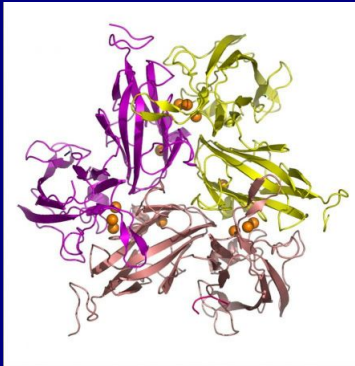
Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV





- zdroj: půdní bakterie *Streptomyces coelicolor*
- katalyzuje oxidaci difenolů a podobných látek
- obsahuje ionty mědi - využito k řešení nové struktury
- první vyřešená struktura lakázy tohoto typu

Průmyslové využití:

Odbarvování látek různých barev, detoxifikace průmyslových meziproductů, transformace materiálů na funkční látky, biosenzory pro lékařskou diagnostiku.

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

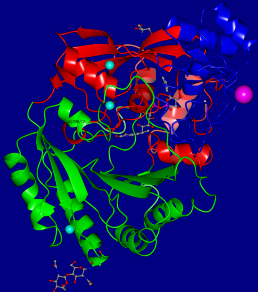
Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV



Microdochium nivale

- Katalyzuje oxidaci OH skupiny na C1 uhlíku sacharidů.
- MW 54 kDa, EC: 1.1.3.4
- Kofaktor flavin-adenin dinukleotid.
- 2 struktury v databázi PDB

Průmyslové využití:

Potravinářství, chemický průmysl, lékařské senzory detekující hladinu cukrů v krvi, apod.

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

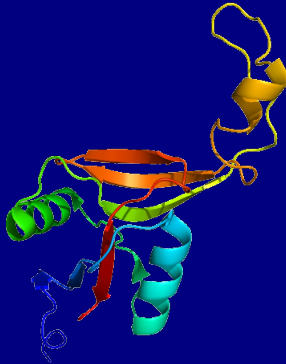
Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV



Naše struktury

- hCD69
 - mKLRB1a
 - mClr-g
 - další neuveřejněné
-
- Nejvyšší dosažené rozlišení (CD69)

Náš přínos:

Struktury nových receptorů, návrhy mechanismu molekulárního rozpoznávání, výpočty interakcí.

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

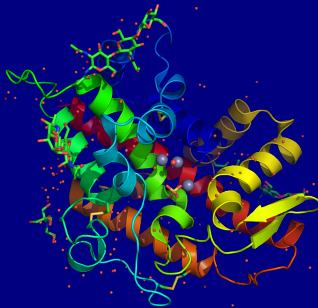
Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV



- převážně šroubovicová struktura
- mechanismus katalýzy doposud neobjasněn
- potenciální využití převážně v nádorových terapiích, ale i v biotechnologiích

TBN1 z rajčete:

První struktura apoptotického proteinu tohoto typu rostlinného původu.

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

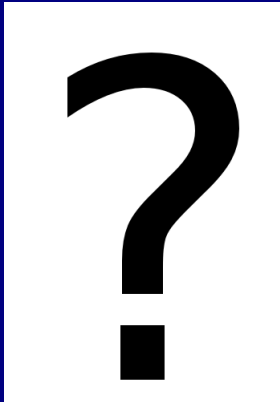
Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV



- *Bacillus subtilis* je Gram-pozitivní bakterie
- mnohopodjednotkový komplex
- esenciální pro genovou expresi
- doposud není známa struktura žádné RNA polymerázy z Gram-pozitivních bakterií

Potenciální využití

Návrh inhibitorů RNAP proti onemocněním pocházejících z Gram-pozitivních bakterií.

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

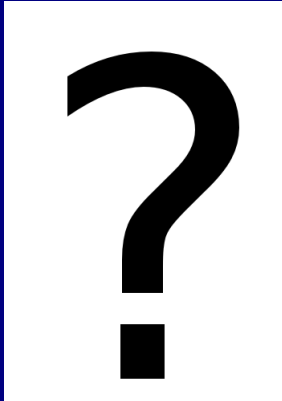
Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV



- CpJ4 izolována z gastrointestinálního traktu člověka
- široká chitinolytická aktivita
- extracelulární produkce chitináz
- nejméně 10 chitináz identifikováno v genomu bakterie CpJ4

Využití v medicíně:

Podpora imunitního systému k obraně organismu proti plísňovým onemocněním a houbám po nasazení antibiotik.

LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV

BIOCEV - Biomedicínské a biotechnologické centrum Akademie věd a Univerzity Karlovy ve Vestci



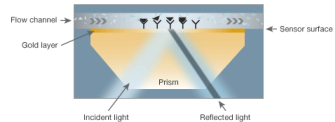
EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI

Strukturální biologie a proteinové inženýrství

Vazebné proteiny, enzymy pro biotechnologie a medicínu, strukturální proteiny

Centrální laboratoře

Strukturální analýza, biofyzikální techniky, pokročilá hmotová spektroskopie



LSFB

Petr Kolenko

Metody

Biotechnologie

Struktury
proteinů
imunitního
systému

Nukleázy

RNA
polymeráza z
*Bacillus
subtilis*

Chitinázy z
CpJ4

Naše skupina,
BIOCEV

IYCr2014

Laboratoř struktury a funkce biomolekul
BTÚ AV ČR

(Oddělení strukturní analýzy biomakromolekul ÚMCH AV ČR)



Karla
Fejfarová

Jan
Dohnálek

Jarmila
Dušková

Tereza
Skálová

Jindřich
Hašek

Tomáš
Kovař

Galina
Tiščenko

Jan
Stránský

Petr
Kolenko

Leona
Švecová

Mária
Trundová