

Strukturní biologie proteinů

aneb

Kam mikroskop nedohlédne

RNDr. Jiří Pavlíček, Ph.D.

Laboratoř strukturní biologie,
Biotechnologický ústav AV ČR, v. v. i.

Jiri.Pavlicek@img.cas.cz

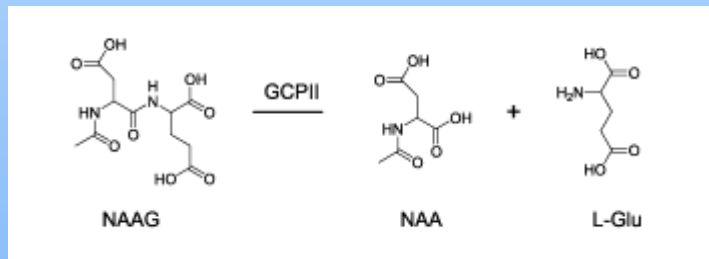
Co zkoumáme:

- **Lidská glutamátkarboxypeptidáza II (GCPII) a její homology/orthology**
- **Histondeacetylázy (HDACs) – HDAC6, HDAC10 a HDAC11**

GCP II – enzym dvou tváří

NEUROPEPTIDÁZA

- Nervový systém
- Hydroláza



- komunikace mezi astrocyty a neurony
- regulace porušena v případě řady chorob
- infarkt, ALS, neuropatická bolest, schizofrenie, atd.

Inhibice GCP II v případě zvířecích modelů působí neuroprotektivně

NÁDOROVÝ MARKER

Zvýšená exprese v **karcinomu prostaty** and **neovaskulatuře** pevných nádorů

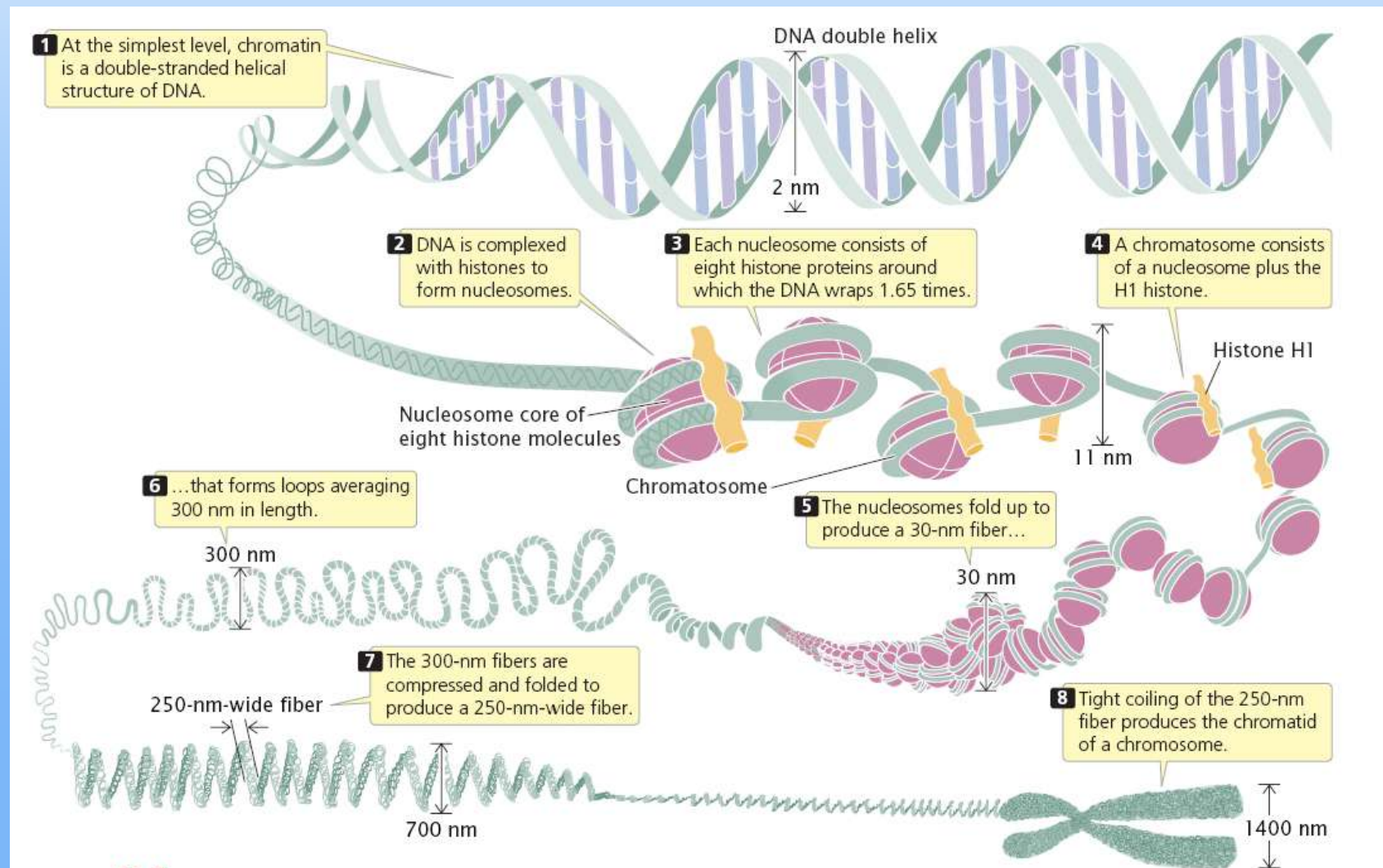
Odhad množství případů v USA v roce 2009:

Prostata	25%
Plíce	15%
Tlusté střevo	10%
Močový měchýř	7%
Kůže (melanom)	5%
Non-Hodgkinský lymfom	5%
Ledviny	5%
Leukemie	3%
Ústní dutina	3%
Slinivka	3%
Ostatní	19%



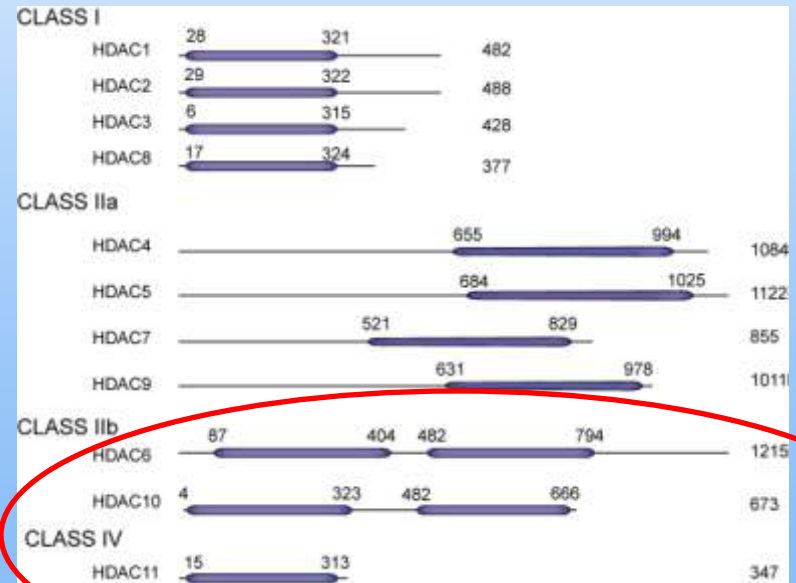
Cíl pro nádorovou diagnostiku a terapii

Chromatin – nově objeovaný svět

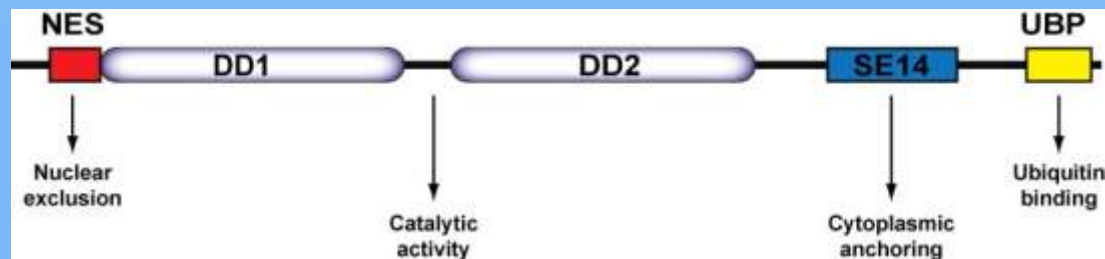


HDACs:

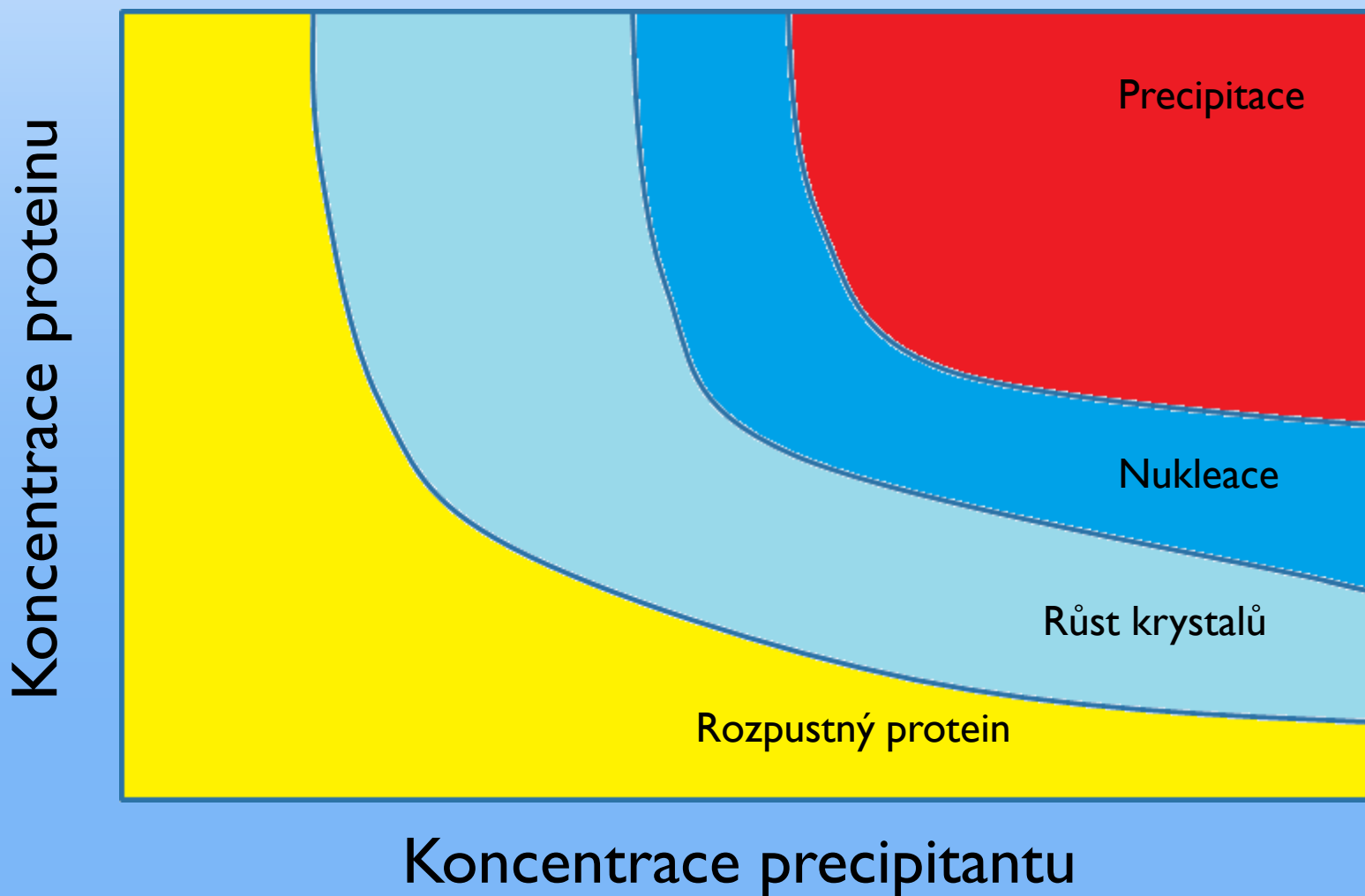
- Deacetylase lysinu
- Histony – epigenetická kontrola
- Tubulin – pohyb buněk, aggresomy
- HSP90 – chaperony
- **Terapeutický cíl** – nádory (leukemie), neurodegenerativní choroby



HDAC6



Jak proteiny krystalizují

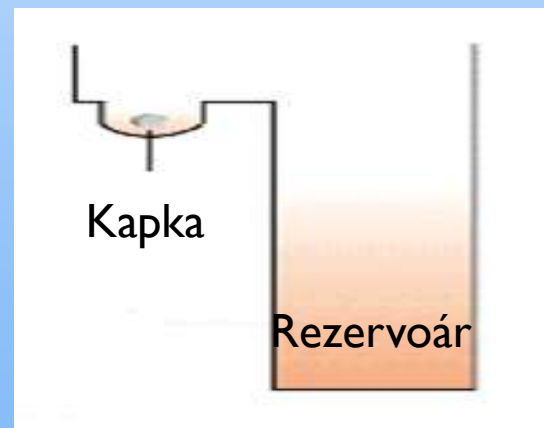


Jak tedy získat krystal proteinu?

Metoda visící kapky



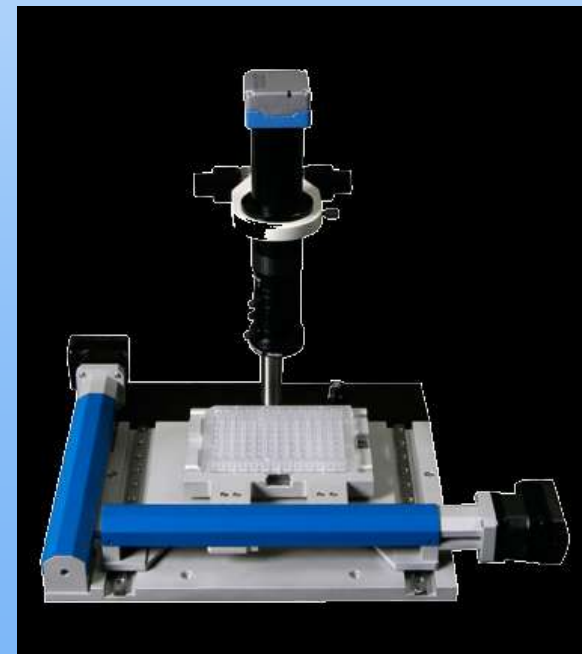
Metoda sedící kapky



Krystalizační robot

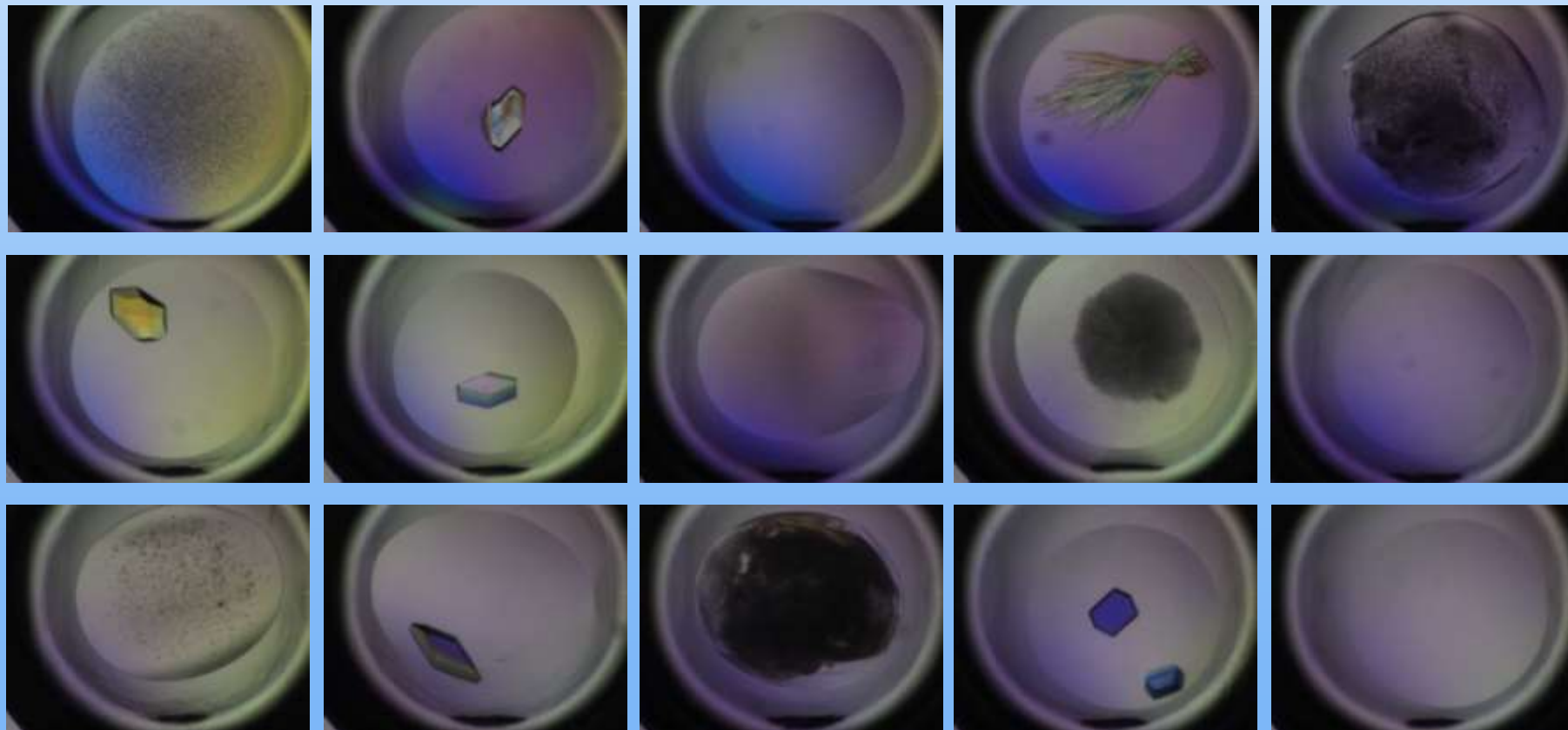


Nasazování kapek krystalizačních experimentů
za mnoha různých podmínek

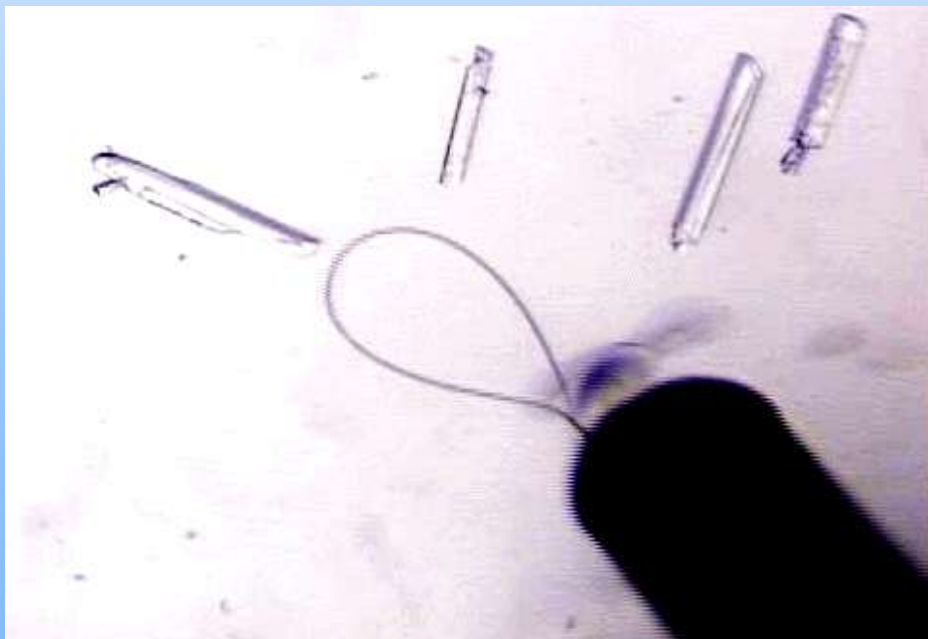


Focení vzniklých kapek
a dokumentace jejich stavu

Výsledky screeningu krystalizačních podmínek

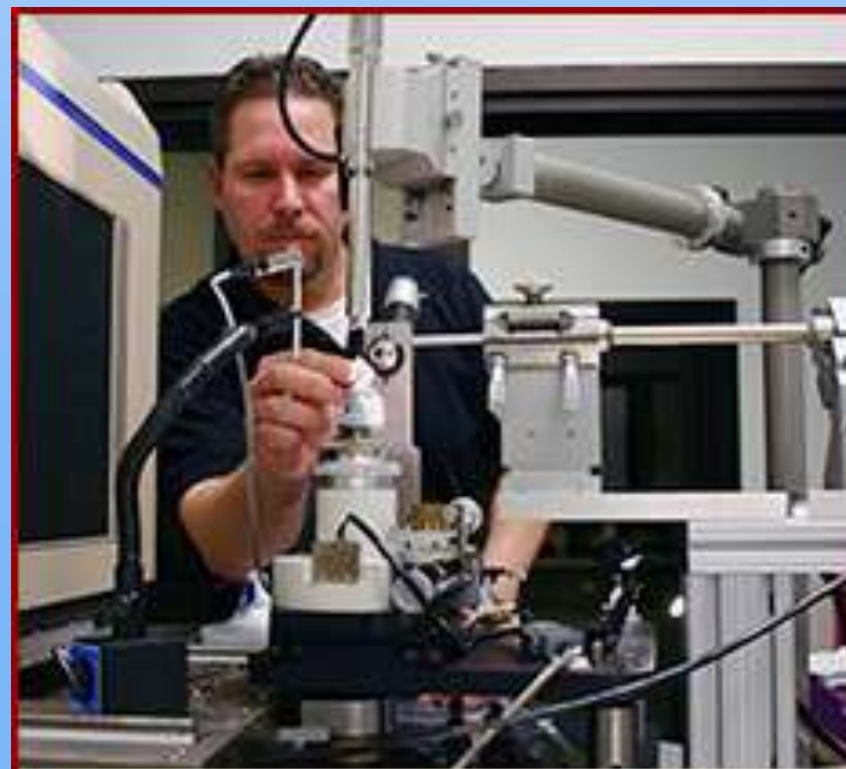


Jak manipulovat s krystalem?

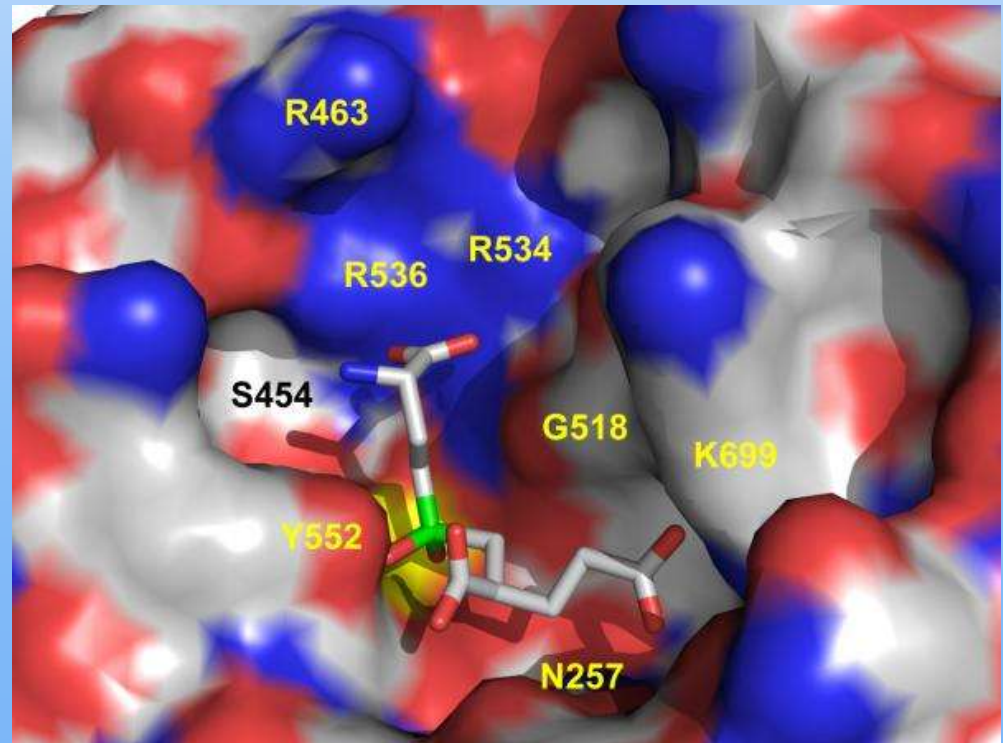
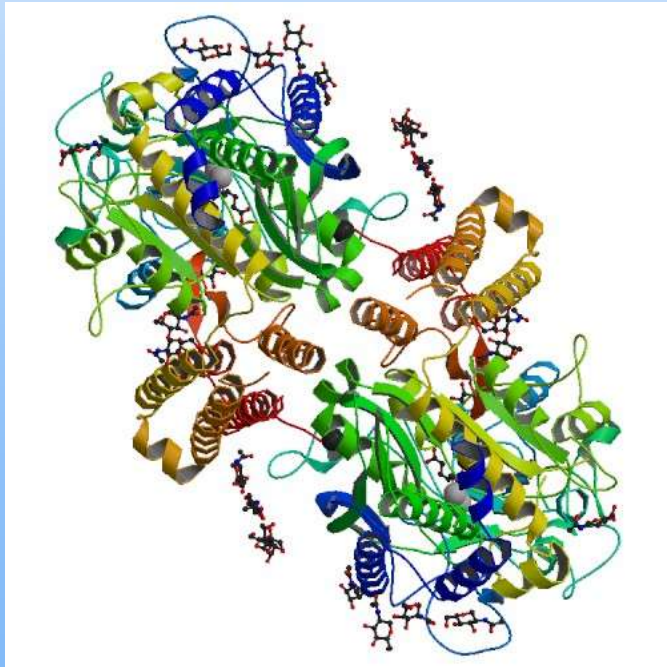


Krystal je potřeba vyjmout z kapky a zamrazit do tekutého dusíku. Velmi často je před tím nutno ho ponořit do kryoprotektantu, aby ho následné zamražení neroztrhalo.

Pak je krystal umístěn do difraktometru.



Typický výsledek: detailní struktura proteinu



<http://www.rcsb.org/pdb/explore/images.do?structureId=2C6C>

Barinka C, Hlouchova K, Rovenska M, Majer P, 7 al. , J Mol Biol. 2008 ,376:1438-50

Členové laboratoře strukturní biologie



Cyril Bařinka



Glenda Alquicer



Jakub Ptáček



Ľubica Škultétyová



Jiří Pavlíček



**Děkuji Vám za pozornost
a zvu Vás na prohlídku naší laboratoře**

