

Аннотация учебной дисциплины «Методы протеомики. Практикум»

Протеомика, как совокупность методологических подходов, направленных на изучение протеома клеток, тканей и организмов, является одной из наиболее быстро развивающихся областей инструментальной биохимии. Так, современное электрофоретическое, хроматографическое и масс-спектрометрическое оборудование позволяет проводить разделение сложных белковых смесей и идентифицировать до нескольких тысяч индивидуальных белков в одном эксперименте. Осуществляемый параллельно количественный анализ позволяет оценить изменения в экспрессии генов на уровне синтеза и/или деградации белковых молекул. Более того, методический аппарат современной протеомики позволяет проводить качественный и количественный анализ пост-трансляционных модификаций белков. Необходимо, однако, учитывать, что в силу особенностей клеточной и тканевой организации растений, а также наличия богатых паттернов вторичных метаболитов, протеомный анализ этих организмов представляет собой довольно сложную задачу.

Учебная дисциплина состоит из небольшого теоретического введения и собственно практической части. Теоретическая часть необходима для напоминания и актуализации знаний, полученных студентами в рамках курсов «Биоаналитическая химия с основами хроматографии и масс-спектрометрии» и «Химия белка», необходимых для освоения программы данной дисциплины. В ведении особое внимание будет уделено рассмотрению следующих вопросов:

- методике выделения и количественного определения белка;
- технике выполнения и принципы методов изоэлектрофокусирования, электрофореза в полиакриламидном геле, интерпретации полученных данных;
- проведению Вестерн-блоттинга и интерпретации полученных данных;
- процедуре шотган-протеомике, основанной на хромато-масс-спектрометрии.

Программа лабораторных занятий включает четыре блока:

1. Выделение белка из тканей экспериментальных и контрольных растений методом фенольной экстракции и определение концентрации белка в полученных экстрактах по методу Брэдфорд. Этот блок будет включать также нормализацию эксперимента по содержанию белка с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

2. Разделение полученных белковых экстрактов с помощью дифференциального двумерного электрофореза с последующей флуоресцентной детекцией электрофоретических зон и количественного анализа экспрессии белка. Идентификация отдельных зон с помощью трипсинолиза в геле с последующим ВЭЖХ-МС/МС анализом.

3. Анализ выбранного растительного белка с помощью электрофореза в ПААГ и Вестерн-блоттинга.

4. Триптический гидролиз выделенного белка (с проверкой полноты гидролиза с помощью электрофореза в ПААГ). Хромато-масс-спектрометрический анализ гидролизатов с последующим количественным анализом без использования изотопной метки.

Для выполнения программы учебной дисциплины используется лабораторное оборудование кафедры биохимии и оборудование Ресурсных центров СПбГУ.

Наполняемость группы: 2-15 человек

Разработчики программы учебной дисциплины – доцент, к.х.н., Фролов Андрей Александрович, доцент, к.б.н., Гришина Татьяна Васильевна