GENOM -> TRANSKRIPTOM -> PROTEOM

(Alla proteiner som för RNA (mRNA) tillfället uttigeks

PROTEINRENING

Endogent - han ratt post-translationella modifikationer for sin miljo.

Rekombinant - går att modifiera proteinerna för att studera funktion.

- 1. hyseran cellerna
- 2. Centrifugerar That hastighet stegris

 Supernatant = det prov man centrifugeran
- 3. Ex histidintagning i shitet/au proteinet birjan satts en sekvens av histidin fast.

histidinet binder metalljoner. Kan användas i exv en kolonn med zink.

4. Mat absorbans för att angorn vilka protein som finns kvar I provet. Proteinornas peptidbindningar bestämmer absorbansen.

| Separation who laddwing |
|---|
| - alla proteiner har ett pH dan de an neutrala - isoelektrisk |
| punkt. |
| pH>isoelektrisk punkt -> lagre pH |
| pH < 11 Nogre pH |
| |
| Separation med ultracentrifuguing |
| - provet centrifugerad i en losning med densitetignadient. |
| -> proteiner separeran beroende på densitet, massa & form |
| = sedimentations koefficient. |
| |
| Elektrofores - fores = migrering |
| SDS - ratar ut protein |
| - tar bort laddning -> seponation måste ske mha storlek. |
| |
| Markorer med kanda storlekar for att få referenser. |
| |
| Isoelektrisk fokusering |
| - anvander get med pH-gradient |
| - anvander proteinernas isoelektriska punkt. |
| - proteinerna vandrar genom gelen tills de når sin |
| iso elektriska punkt (de ar oladdade) |
| |
| kan kombineras med en SDS-page-gel -> 2D-gel. |
| |
| pH - PH + |
| |
| |
| SDS-page |
| , , , , , , , , , , , , , , , , , , , |

Masspektrometri

- acceleration av protein i elektriskt falt av proportionell mot forhållandet mellan proteinets massa/laddning - Valdigt kanslig metod → lite protein krævs for att gorn analys.
- Enzymanvands för att klyra protein i peptidkedjor Kedjornas fingerartryck jamförs med kanda fingerarti. från databas

Immunologiska nutoder

- · Antikroppan kan identifiera vilket protein/kollmdrat som helst.
- -> Kan användas for att studena protein.

Antigener binder till antigen.

- pohyklonala binder till flera delar (epitop) ar antigen.
- monoklonala 11 en del (epitop) 11 -

ELISA - Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay

Strukturbestammning av protein

- 1. Rontgen kristallografi
 - mkt protein kristalliserns mha ammoniumsulfat. Ammoniumsulfat binder till vatten -> proteinet Kristalliseras.
 - Bra upplosking
 - Kan studera Stora molekyler.

2. NMR.

- protein i losning = bra for att proteinet on i sin "naturliga" miljo. Olika komfirmationer kan studenas.
- krāver mycket datorkraft Samre upplösning