

Nabídka služeb Centra molekulární struktury BTÚ pro externí subjekty

Naše laboratoře nabízejí řadu technik produkce, charakterizace a měření vzorků biologických makromolekul formou služby pro externí subjekty. Jakékoli dotazy směřujte na kontakty uvedené níže.

Ceny jsou uvedeny v Kč bez DPH. Detailní cenová nabídka na vyžádání.

Čisté proteiny nebo meziprodukty jejich přípravy na zakázku

Příprava plasmidových DNA konstruktů pro jejich prokaryotickou expresi

- Vstup:** Cílový plasmid, DNA kódující cílový protein, případně zakoupený gen od běžných dodavatelů.
- Výstup:** Hotová plasmidová DNA, sekvenační výsledky potvrzující úspěšnost klonování.
- Termín dodání:** cca 2 týdny
- Orientační cena:** od 21 000,- (zaklonování 1 konstrukt) do 40 000 (všechny kroky klonování 1 konstrukt)

Expres proteinových konstruktů v prokaryotických expresních systémech

- Popis:** Různé kmeny *E.coli*, optimalizace exprese, velkoobjemová exprese.
- Vstup:** Expresní plasmid.
- Výstup:** Bakteriální pelety obsahující požadovaný protein. Optimalizované podmínky exprese.
- Termín dodání:** Několik dní až týden
- Orientační cena:** od 10 000,- (1 litr kultury)

Purifikace exprimovaných proteinů pro další použití

- Popis:** Afinitní chromatografie, ionexová chromatografie, gelová permeační chromatografie aj.
- Vstup:** Protein, ve formě rozpustného vzorku, buněčného lyzátu, či pelety buněk.
- Výstup:** Purifikovaný proteinový vzorek.
- Termín dodání:** Několik dní až několik týdnů (v případě optimalizací)
- Orientační cena:** od 8 000,- (afinitní chromatografie), dále v závislosti na metodě

Vlastnosti biologických makromolekul podle specifických požadavků, od velikosti po distribuci a chování v závislosti na podmínkách

Dynamický rozptyl světla

- Popis:** Poskytuje distribuci velikostí částic v roztoku, oligomerizace, agregace, v závislosti na podmínkách (i v “high throughput” režimu), velikost částic 1-1000 nm.
- Vstup:** Min. 1 µl roztok makromolekuly o koncentraci alespoň 0,5 mg/ml.
- Výstup:** Graf distribuce velikostí částic, interpretace – oligomerizace, agregace apod.
- Termín dodání:** Do druhého dne
- Orientační cena:** 1 000,- (1 hodina, ~ 6 vzorků za hodinu)

Maloúhlový rozptyl rentgenového záření (SAXS)

- Popis:** V roztoku lze změřit velikost částic, molekulovou hmotnost, případně základní strukturní informaci na úrovni tvaru částic (prostorová struktura na nízkém rozlišení), kvalitu vzorku, míru agregace. Analýza směsí komponent se známou strukturou. Měření lze propojit s kapalinovou chromatografií (SEC). Možný screening různých podmínek.
- Vstup:** Protein/DNA/RNA v monodisperzním roztoku, koncentrační řada 1-10 mg/ml, min. 3x 20 µl.
- Výstup:** Kvalita vzorku (například informace o agregaci), odhad velikosti částice v roztoku, odhad molekulové hmotnosti, poměr komponent v případě směsí.
- Termín dodání:** základní měření a analýza – do druhého dne, pokročilá analýza – několik dní
- Orientační cena:** od 2 000,- do 5 000,- za vzorek (podle typu analýzy)

Diferenční skenovací fluorimetrie

- Popis:** Charakterizuje stabilitu proteinů a proteinových komplexů pomocí měření změn fluorescence vzorku při jeho kontrolovaném zahřívání. Zdrojem fluorescenčního signálu jsou tryptofany a tyrosiny vlastního proteinu, případně speciální navázaná fluorescenční značka.
- Vstup:** Min. 10 µl každého srovnávaného roztoku makromolekuly, koncentrace již od 0.1 mg/ml.
- Výstup:** Grafy charakterizující větší či menší teplotní stabilitu vzorku za různých podmínek.
- Termín dodání:** Do druhého dne
- Orientační cena:** od 300,- za vzorek

Diferenční skenovací kalorimetrie

- Popis:** Charakterizace tepelné stability biologických molekul nebo polymerů v závislosti na podmínkách.
- Vstup:** Min. 500 µl roztoku makromolekuly, koncentrace od 1 mg/ml.
- Výstup:** Graf charakterizující tepelný přechod systému – teplota přechodu.
- Termín dodání:** Do druhého dne
- Orientační cena:** od 5 000,- za vzorek

Stanovení interakce biologických makromolekul s malými ligandy a makromolekulami

Termoforéza (v mikroměřítku)

- Popis:** Charakterizuje v prostředí roztoku afinitu interakcí biomolekul s jejich vazebnými partnery.
- Vstup:** Min. 400 μ l roztoku makromolekuly o koncentraci alespoň o dva řády větší, než je očekávaná hodnota K_d . Koncentrovaný roztok molekuly vazebného partnera.
- Výstup:** Vazebné křivky charakterizující interakce a umožňující stanovení K_d .
- Termín dodání:** Do druhého dne
- Orientační cena:** od 4 000,- do 20 000,- za vzorek (podle typu přístroje a metody měření)

Rezonance povrchového plasmonu (SPR)

- Popis:** Charakterizuje afinitu interakcí biomolekul (imobilizovaných na zlatý senzorový čip) s vazebnými partnery přítomnými v roztoku. Analyzuje vazebnou kinetiku v reálném čase.
- Vstup:** Min. 200 μ l roztoku biomolekuly o koncentraci cca 0.2 mg/ml. Koncentrovaný roztok ligandu.
- Výstup:** Grafy charakterizující vazbu ligandu. Vypočtené hodnoty K_d , případně k_{on} a k_{off} .
- Termín dodání:** 7 dní
- Orientační cena:** od 17 000,- (1 kompletní chip, měření interakce pro jeden interakční pár)

Dvouvrstvá interferometrie (Bio-layer interferometry)

- Popis:** Charakterizuje afinitu interakcí biomolekul (imobilizovaných na skleněný senzor) s vazebnými partnery přítomnými v roztoku. Měří vazebnou kinetiku v reálném čase.
- Vstup:** Min. 200 μ l roztoku biomolekuly o koncentraci cca 0.1 mg/ml. Koncentrovaný roztok ligandu.
- Výstup:** Grafy charakterizující vazbu ligandu. Vypočtené hodnoty K_d , případně k_{on} a k_{off} .
- Termín dodání:** Do druhého dne
- Orientační cena:** od 2 000,- za měření

Izotermální titrační kalorimetrie (ITC)

- Popis:** Pomocí velmi detailního měření teplotních změn dokáže charakterizovat biomolekulární interakce či enzymovou kinetiku. Jedná se o nejpřesnější dostupnou metodu schopnou charakterizovat termodynamické parametry interakcí.
- Vstup:** Nejméně stovky μ l zkoumaných roztoků, μ M koncentrace.
- Výstup:** Termodynamická charakteristika studovaného procesu. K_d , stechiometrie, entalpie a entropie interakce.
- Termín dodání:** 3-5 dní
- Orientační cena:** od 5 000,- za 1 interakční měření

Spektrofotometrické a luminiscenční studie biomolekul

Spektrofotometrie a luminiscence

- Popis:** Charakterizuje vzorek měřením absorpance či luminescence (fluorescence či fosforescence). V případě proteinů to umožňuje např. studovat aktivitu enzymů, charakterizovat interakci s ligandy (měření polarizace fluorescence), provádět fluorescenční FRET experimenty, různá ELISA stanovení, stanovovat množství a čistotu DNA či proteinových vzorků, včetně experimentů s časovým rozlišením. Lze provádět v kyvetě, či v mikrotitračních destičkách.
- Vstup:** Min. 100 µl roztoku biomolekuly.
- Výstup:** Měřené spektrum a jeho analýza.
- Termín dodání:** Do týdne
- Orientační cena:** od 1 500,- (pouhé změření v 96 jamkách bez pipetování)

Časově rozlišená infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

- Popis:** Charakterizuje měřený vzorek v infračervené oblasti spektra. V případě proteinů to umožňuje studovat sekundární strukturu, interakce s ligandy a další změny v proteinech spojené se změnou vibračních stavů. Časové rozlišení na úrovni ps umožňuje studovat dynamiku interakcí s vazebnými partnery, reakční mechanismy enzymatických reakcí atd.
- Vstup:** Min. 30 µl roztoku biomolekuly o koncentraci 3-5 mg/ml.
- Výstup:** FTIR spektrum a jeho analýza. Informace o sekundární struktuře, o interakci biomolekuly s ligandy.
- Termín dodání:** Do týdne
- Orientační cena:** od 1 500,- (1 hodina měření bez analýzy)

Stav sekundární struktury biologických makromolekul v závislosti na podmínkách

Cirkulární dichroismus

- Popis:** Charakterizuje podíly jednotlivých druhů sekundární struktury proteinů (např. α helix, β skládaný list, neuspořádaná struktura). Největší význam má při diferenčním měření (např. srovnávání, zda mutantní proteiny mají stejnou sekundární strukturu jako WT, zda dané aditivum nemění sekundární strukturu proteinu apod.)
- Vstup:** Min. 100 µl roztoku makromolekuly, koncentrace kolem 0,2 mg/ml.
- Výstup:** Grafy charakterizující závislost molární elipticity vzorku na vlnové délce záření a výsledek jejich analýzy (dekonvoluce) ve formě tabulky udávající podíly jednotlivých složek sekundární struktury.
- Termín dodání:** Do druhého dne
- Orientační cena:** od 1 500,- za vzorek

Identita biologických makromolekul, charakterizace proteinů včetně modifikací, sledování interakcí (hmotnostní spektrometrie)

Stanovení proteinů ve směsích

Popis:	Nalezení proteinů v komplexních směsích a určení jejich relativního zastoupení. Analýzy z SDS PAGE gelu nebo přímo z roztoku.
Vstup:	SDS PAGE gel nebo roztok, min. množství proteinů: několik µg.
Výstup:	Seznam nalezených proteinů a jejich relativní zastoupení.
Termín dodání:	2-3 dny
Orientační cena:	od 5 000,- za vzorek

Charakterizace proteinů

Popis:	Ověření molekulové hmotnosti exprimovaných/izolovaných proteinů. Charakterizace proteinových modifikací.
Vstup:	Roztok proteinu, min. množství: několik µg.
Výstup:	Přesná molekulová hmotnost proteinu a jeho forem.
Termín dodání:	1-2 dny
Orientační cena:	od 5 000,- za vzorek

Charakterizace protein-proteinových interakcí

Popis:	Určení místa protein-proteinových interakcí a strukturních změn proteinů pomocí vodík-deuteriové výměny a chemického síťování v kombinaci s hmotnostní spektrometrií.
Vstup:	Protein v roztoku, min. množství: jednotky mg.
Výstup:	Popis interakční plochy a změny struktury proteinu.
Termín dodání:	3-7 dnů
Orientační cena:	od 10 000,- za 1 komplexní analýzu

Prostorová struktura (bio)molekul s vysokým rozlišením

Krystalizace proteinů, nukleových kyselin a komplexů

Popis:	Pro následné experimentální určení prostorové struktury na atomární úrovni pomocí difrakční analýzy, (na domácím zdroji, případně na synchrotronu).
Vstup:	Nejméně 200 µl vzorku o koncentraci makromolekuly alespoň 5 mg/ml, optimálně 10–20 mg/ml. Čistota alespoň 95 %.
Výstup:	Krystaly vhodné k difrakční analýze.
Termín dodání:	Týdny až měsíce (podle náročnosti projektu a zvolených metod)
Orientační cena:	od 2 000,- za 1 screening (1-3 proteiny), běžná kampaň (1 protein) vyžaduje např. 5 screeningů + manuální práce

Určení prostorové struktury biologických (makro)molekul na vysokém rozlišení

- Popis:** Monokrystalová difrakční analýza. Měření difrakčního záznamu na krystalech molekul, v kryopodmínkách nebo při pokojové teplotě. Možnost měření přímo v krystalizačních destičkách. Po domluvě je možné i měření krystalů malých molekul.
- Vstup:** Monokrystal molekuly (v krystalizační destičce nebo vitrifikovaný v kapalném dusíku) o velikosti alespoň 50 μm .
- Výstup:** Krystalová struktura molekuly nebo komplexu na vysokém rozlišení, typicky 1,5 - 3,5 Å, na atomární úrovni. Difrakční data, prostorové mapy elektronové hustoty, atomární souřadnice molekuly (PDB nebo mmCIF formát).
- Termín dodání:** Týdny až měsíce, podle náročnosti projektu
- Orientační cena:** od 25 000,- za nejméně náročný typ projektu

Centrum molekulární struktury
Ing. Jan Dohnálek, Ph.D.
Mgr. Magdalena Schneiderová
Biotechnologický ústav AV ČR, v. v. i.
Průmyslová 595
252 50 Vestec

Tel. 325 873 758, 325 873 703

E-mail: dohnalek@ibt.cas.cz, magdalena.schneiderova@ibt.cas.cz

<https://www.ibt.cas.cz/cs/servisni-pracoviste/centrum-molekularni-struktury/#news>