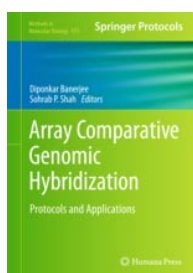


RECENZE



Hake, Sandra B; Janzen, Christian J. (ed.):
Protein acetylation: Methods and Protocols

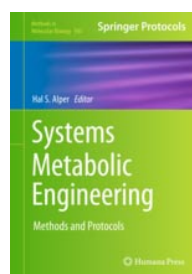
Vydal Humana Press 2013, 266 stránek, 54 obrázků, cena 101,60 Euro
ISBN 978-1-62703-304-6

Posttranslační modifikace představují značné rozšíření funkční kapacity proteinů. Jednou z nich je acetylace. Kniha „Protein acetylation: Methods and Protocols“ shrnuje některé metody analýzy acetylovaných proteinů od základní charakterizace stupně acetylce, až po predikci a funkční studie biologického významu acetylce. V úvodu jsou popsány techniky stanovení acetylce histonových lysinů pomocí hmotnostní spektroskopie, včetně jejich různých modifikací, jako tzv. kolizně indukované uvolnění acetylových zbytků z lysinů (CIRAD – collisionally induced release of acetyl diagnostics) nebo protokolu pro vyhledávání specificky modifikovaných peptidových sekvencí v analyzovaném proteinu: MIDAS (multiple reaction monitoring-initiated detection and sequencing). Následují metody imunochemické detekce acetylovaného lysinu přímo v buňkách, využití bromkyanu jako ligandu při afinitní chromatografii pro purifikaci N-terminálně acetylovaných peptidů nebo jejich stanovení pomocí HPLC ve spojení s použitím N-terminální acetyltransferasy. Další protokol je zaměřen na různé metody identifikace O-acetylovaných sialoglykoproteinů, jak přímo na buňkách, tak v buněčných lysátech či purifikovaných proteinech. Je presentována i HPLC na katexu, která je schopna odlišit histony lišící se v acetylaci jediného lysinového zbytku. Další postup je založen na inkorporaci izotopově značených acetylů do proteinů v gelu, následně digesci a analýze pomocí hmotnostní spektroskopie. Poměrně krátké jsou kapitoly popisující počítačovou predikci acetylovaných míst v proteinech, která vychází z proteomických údajů a dále přípravu polyklonálních protilátek proti acetylovanému ovoalbuminu, včetně způsobu přípravy tohoto antigenu. Pro proteomické studium acetylce lysinů je presentována aplikace nukleosomové acetyltransferasy a radioaktivně značeného substrátu na proteomové mikročipy. Další protokoly se týkají analýzy acetylovaných histonů a to buď ELISA stanovení stupně jejich acetylce, nebo možnosti jejich modifikace přípravou polosyntetických histonů vzniklých ligací syntetického peptidu s částí rekombinantního proteinu. Dále je popsán způsob produkce N-terminálně acetylovaných proteinů při bakteriální expresi genu kódujícího požadovaný protein společně s genem pro N-terminální acetyltransferasu. Závěrečné kapitoly knihy popisují možnosti identifikace acetylovaných proteinů inkorporací fluorescenčních

reportérových značek místo acetylové skupiny a možnosti stanovení aktivity lysinacetyltransferasy. Poslední kapitola je věnována poměrně detailnímu rozboru možností využití Ramanovy spektroskopie pro studium strukturního a funkčního stavu transkripčního aktivátoru; histon acetyltransferasy p300.

Kniha přináší kompilát vybraných metod. V některých protokolech poskytuje poměrně detailní informace, ale jsou zde i pasáže mající spíše charakter běžné publikace. Přes nesporné kvality některých kapitol, si nejsem jist, zda může splnit deklarovaný cíl, tj. poskytnout propracované metody pracovníkům diagnostických laboratoří.

Tomáš Ruml



Alper Hal S. (ed.):
Systems Metabolic Engineering: Methods and Protocols

Vydal Humana Press 2013, 474 stran, 61 obrázků, cena 117,65 Euro.
ISBN 978-1-62703-298-8

Ohromný rozvoj molekulárně biologických metod otevřel nové možnosti analýzy komplexního stavu buněk a jeho cíleného ovlivnění tak, aby bylo dosaženo požadované změny buněčného metabolismu. K tomuto účelu přispěl především pokrok vysokokapacitních („omics“) metod poskytujících data vypovídající o celkovém stavu buňky tj. analýza genomu, transkriptomu, metabolomu, či proteomu. Vyhodnocení těchto dat společně s modelováním *in silico* umožňují navrhovat přeprogramování metabolismu buněk. Kniha „Systems Metabolic Engineering: Methods and Protocols“ shrnuje hlavní metody modelování a simulace multiplexního genomového inženýrství, vysokokapacitních metod „omics“ a vyhodnocení dat pro cílené změny metabolismu.

V první části, věnované modelování a simulaci procesů, je nejprve popsána strategie konstrukce modelů na genomové úrovni, včetně využití dostupných databází a používaných standardů pro anotaci vstupních dat a dále využití údajů fenotypové analýzy či genomových dat a genetických algoritmů pro vytváření a zlepšování metabolických modelů. Je zde nastíněna i možnost zahrnout do komplexních metabolických modelů transkripční a metabolické sítě a reflektovat změny způsobené mutacemi nebo odchylkami v důsledku změn prostředí. Další alternativou je modelování kinetiky procesů na základě kinetických parametrů jednotlivých, enzymově katalyzovaných, metabolických přeměn. Nechybí ani přehled dostupného software pro modelování a řízení metabolických drah. První část knihy uzavírá kapitola věnovaná retrosyntetickému

postupu zahrnujícímu výběr rámce modelu, výpočet včetně predikce výtěžků metabolitů a toxicity, implementaci modelu a verifikaci výsledku.

Druhá část knihy, která se nazývá “Nástroje genomového inženýrství“ se zabývá konkrétními případy ovlivnění genové exprese na úrovni transkripce a adaptací kmenů odolávajících selekčnímu tlaku v kontinuálním reaktoru. Zde se může jednat jak o spontánní mutanty, tak o kmeny získané multiplexní rekombinací. Třetí část knihy s názvem „Systems-Level Omics Tools“ přináší kromě návodu na klasické Sangerovo sekvenování pro identifikaci mutací, také modernější pojetí jako je příprava knihoven cDNA a hledání regulačních RNA pomocí sekvenování nové generace, využití NMR spektroskopie či několik variant použití izotopu ^{13}C pro sledování metabolického toku. Poslední kapitola této části pojednává o přípravě vzorků pro metabolomické a proteomické analýzy včetně krátkého pojednání o biostatistice. Poslední okruh je věnovaný integraci velkých souborů dat pro modelování a inženýrské aplikace. Shrnuje metody predikce fenotypových změn způsobených akceptovanými mutacemi jednoho nukleotidu s pozměněným smyslem, využitím transkriptomických a metabolomických dat pro vytvoření metabolického modelu. Knihu uzavírá kapitola stručně nastiňující strategii integrace a interpretace různých vysokokapacitních („omics“) analytických dat.

Knihy poskytuje orientaci odborníkům, věnujícím se regulaci metabolických procesů. Je zřejmé, že nemůže poskytnout detailní návod pro aplikace v tomto velmi komplexním oboru. Dle mého názoru však přináší celkem zdařilý přehled o současných metodických přístupech s ním spjatých.

Tomáš Ruml

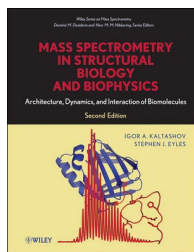
MS metodikách, které lze použít k řešení těch nejnáročnějších problémů biofyziky, strukturální biologie a biofarmaceutik, je praktická příručka pro pochopení role MS technik v biofyzikálním výzkumu. Příručka je napsána tak, aby vyhovovala potřebám akademické i průmyslové oblasti výzkumníků, tím vlastně činí hmotnostní spektrometrii přístupnou pro odborníky v řadě oborů.

Nové vydání bylo podstatně rozšířeno a aktualizováno, aby obsahovalo nejnovější experimentální metody a techniky, aplikace MS v biofyzice a strukturální biologii, metody pro studium struktur vyššího řádu a dynamiky proteinů, zkoumání jiných biopolymerů a syntetických polymerů, jako jsou nukleové kyseliny a oligosacharidy, a mnoho dalšího.

Díky vysoce kvalitním ilustracím, které osvětlují koncepty popsané v textu, stejně jako díky rozsáhlému bibliografickému materiálu, který umožňuje čtenáři další studium v oboru je knížka nepostradatelným zdrojem pro výzkumné pracovníky a postgraduální studenty v citovaných oborech.

Autoři jsou uznávanými odborníky, Igor A. Kaltashov je profesorem na katedře chemie na University of Massachusetts, Amherst a Stephen J. Eyles, je docentem na katedře biochemie a molekulární biologie a ředitelem Centra hmotnostní spektrometrie na University of Massachusetts, Amherst.

Pavel Drašar



Kaltashov Igor A., Eyles Stephen J.:
Mass Spectrometry in Structural Biology and Biophysics: Architecture, Dynamics, and Interaction of Biomolecules

J. Wiley 2012, 2. vydání, pevná vazba, 316 stran, cena €112,20.
ISBN: 978-0-470-93779-2

Knížka představuje (podle recenzí „definitivní“) průvodce technik hmotnostní spektrometrie v biologii a biofyzice.

Využití hmotnostní spektrometrie (MS) ve studiu architektury a dynamiky proteinů je stále běžnější v oblasti biofyzikálních studií a strukturální biologii a biofyzice: poskytuje pohled i na interakce biomolekul. Toto druhé vydání poskytuje čtenářům podrobný, systematický přehled současného stavu této moderní techniky.

Knížka nabízí bezkonkurenční přehled o moderních