

Rozlišení mutantů

Při prvním experimentu v biotechnologické laboratoři *BTP* (Biotechnology for purification) dostáváte za úkol rozlišit dvě mutantní varianty pX1 a pX2 proteinu, který se používá k rozkladu nebezpečných látek v pitné vodě. Omylem došlo k záměně štítků na reakčních rezervoárech s enzymy. Jste informováni o tom, že oba typy proteinu obsahují fluorofor navázaný v blízkosti reakčního centra enzymu. Víte, že mutant pX1 má fluorofor umístěn výrazně blíže k povrchu a je tedy více v kontaktu s okolním roztokem, než je tomu v případě druhé varianty proteinu pX2.



Při řešení tohoto úkolu, důležitého pro obnovení dodávek pitné vody obyvatelům v oblasti sužované suchem, jste využili své znalosti o zhášení fluorescence. Víte, že ze závislosti intenzity fluorescence na koncentraci zhášedla se dá určit, u kterého z proteinů je fluorofor blíže povrchu a takto proteiny identifikovat. Pro zhášení fluoroforu platí základní Stern-Volmerova rovnice:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV} [Q]$$

kde F_0 je intenzita fluorescence bez přítomnosti zhášedla, F je intenzita fluorescence za přítomnosti zhášedla, K_{SV} je Stern-Volmerova konstanta a $[Q]$ je koncentrace zhášedla.

Provedli jste měření intenzity fluorescence proteinů odebraných z rezervoárů A a B. Intenzita fluorescence byla změřena bez přítomnosti zhášedla. Následně jste provedli měření při postupně vzrůstající koncentraci zhášedla - akrylamidu. Naměřené hodnoty jsou v tabulce níže. Sestavte Stern-Volmerův graf pro závislost relativního úbytku fluorescence na koncentraci akrylamidu a odpovězte na následující otázky.

- 1. Je akrylamid zhášedlem dynamickým nebo statickým?**
- 2. Jaké jsou konstanty K_{SV} příslušné jednotlivým mutantním variantám proteinu?**
- 3. Rozhodněte, který enzym je v rezervoáru A a který protein je v rezervoáru B.**

Stručné odpovědi mi společně s grafem zašlete emailem.

Správná dílčí odpověď = 0.5 bodu.

		rezervoár	Koncentrace akrylamidu [M]					
			0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
1	Bastl Karel	A	944	911	891	870	853	834
		B	944	794	697	621	560	510
2	Bednářová Kateřina	A	977	943	922	901	883	864
		B	977	822	722	643	580	528
3	Boroň Ján	A	940	908	887	867	850	831
		B	940	791	694	619	558	508
4	Burián Michal	A	951	918	898	877	860	841
		B	951	800	703	626	565	514
5	Dobranská Kamila	A	960	927	907	886	868	849
		B	960	808	709	632	570	519
6	Drienovská Ivana	A	986	952	931	910	891	872
		B	986	830	729	649	585	533
7	Erben Dan	A	938	906	886	865	848	829
		B	938	790	693	617	557	507
8	Jonášová Eva	A	957	924	903	882	865	846
		B	957	805	707	630	568	517
9	Kudláčková Kristýna	A	986	952	931	910	891	872
		B	986	830	729	649	585	533
10	Marková Hana	A	975	942	921	899	881	862
		B	975	821	720	642	579	527
11	Matejičková Eva	A	981	947	926	905	886	867
		B	981	825	724	646	582	530
12	Musilová Jana	A	957	924	903	882	865	846
		B	957	805	707	630	568	517
13	Nováková Monika	A	936	904	884	864	846	828
		B	936	788	692	616	556	506
14	Novotná Šárka	A	977	943	922	901	883	864
		B	977	822	722	643	580	528
15	Polášková Hana	A	984	950	929	908	890	870
		B	984	829	727	648	584	532
16	Ručka Zdeněk	A	962	929	908	887	870	851
		B	962	810	711	633	571	520
17	Synáček Michal	A	964	931	910	889	871	852
		B	964	811	712	635	572	521
18	Šejnohová Romana	A	953	920	900	879	861	842
		B	953	802	704	627	566	515
19	Šerá Leona	A	970	936	915	894	876	857
		B	970	816	716	638	575	524
20	Šubertová Veronika	A	997	963	942	920	901	882
		B	997	839	737	656	592	539
21	Trenčanský Lumír	A	988	954	933	911	893	873
		B	988	832	730	650	586	534
22	Vašíček Ondřej	A	942	909	889	869	851	833
		B	942	793	696	620	559	509
23	Vidláková Pavlína	A	983	949	928	906	888	869
		B	983	827	726	647	583	531
24	Vrbiniaková Jana	A	962	929	908	887	870	851
		B	962	810	711	633	571	520