

Výběr excitačních laserů a emisního filtru

Přijeli jste na výzkumný pobyt do významné zahraniční laboratoře. Její vedoucí Vás provedl po laboratořích a ukázal mimo jiné scanner pro fluorescenční snímání gelů. Po úvodním pohovoru Vás nový vedoucí vyzval, abyste sepsali seznam vybavení, které budete pro svůj výzkum potřebovat.

Protože budete používat fluorofor **A**, potřebujete zjistit, zda je možné na stávajícím scanneru excitovat a selektivně detekovat fluorescenční emisi Vašeho fluoroforu.

Excitační vlnové délky instalovaných laserů jsou 473 nm, 532 nm, 635 nm.

Instalované „long-pass“emisní filtry jsou 510 LP, 575 LP, 665 LP.

- 1) Jaký stávající laser byste použili pro excitaci Vašeho fluoroforu?
- 2) Laser o jaké vlnové délce emitovaného záření byste případně dokoupili pro dosažení maximální intenzity fluorescence a tedy i citlivosti pro Váš fluorofor? Vyberte prosím dostupný laser z nabídky aplikace [SpectraViewer](#).
- 3) Který nainstalovaný emisní filtr „long-pass“ by byl použitelný pro detekci fluorescence Vašeho fluoroforu?
- 4) Jaký „band-pass“ filtr s šířkou pásu 20 nm byste objednali, aby byla detekce Vašeho fluoroforu optimální. Napište hodnotu střední vlnové délky lomenou šířkou pásma (např. 530/20).

Pro zjištění spektrálních charakteristik fluoroforu a navrhování „band-pass“ filtru použijte aplikaci SpectraViewer

<http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/support/Research-Tools/Fluorescence-SpectraViewer.html>

Pozn.: Pro aktualizaci zobrazení spekter a filtrů klikněte dvakrát za sebou na **“Toggle Excitation Display”**.

Fluorofor **A** naleznete níže v tabulce u svého jména.

Vaše odpovědi mi prosím zašlete emailem.

Správná odpověď = 0.5 bodu.

		A			A
1	Baráthová, Jana	Fluorescein (antibody conjugate)	23	Polák, Martin	HEX
2	Brzobohatá, Anna	5 ROX (carboxy X rhodamine)	24	Pospíšil, Jakub	Ethidium homodimer 1
3	Činčárová, Lenka	Acridine Orange	25	Potěšilová, Michaela	Fluorescein (antibody conjugate)
4	Dvořáková, Hana	GFP	26	Rokosová, Lenka	5 ROX (carboxy X rhodamine)
5	Faltejsková, Petra	Lucifer Yellow	27	Rumíšková, Gabriela	Acridine Orange
6	Franek, Michal	5 FAM (carboxyfluorescein)	28	Sedláková, Šárka	GFP
7	Havrila, Marek	6 JOE	29	Sehnalová, Petra	Lucifer Yellow
8	Hluchý, Milan	AlexaFluor 488 (oligo conjugate)	30	Skalák, Jan	5 FAM (carboxyfluorescein)
9	Hošek, Tomáš	Cy3 dye (antibody conjugate)	31	Šmiřáková, Eliška	6 JOE
10	Hubená, Emilie	Oregon Green 514 (antibody conjugate)	32	Šromová, Renata	AlexaFluor 488 (oligo conjugate)
11	Chrást, Lukáš	Cy5 dye (antibody conjugate)	33	Šteflová, Pavlína	Cy3 dye (antibody conjugate)
12	Knociková, Juliana	Propidium iodide	34	Štěpánková, Veronika	Oregon Green 514 (antibody conjugate)
13	Kočková, Helena	YOYO-1	35	Tichý, Vlastimil	Fluorescein (antibody conjugate)
14	Kozáková, Lucie	SYBR Green-1	36	Trčka, Filip	5 ROX (carboxy X rhodamine)
15	Králová, Stanislava	YFP	37	Trenčanský, Lumír	Acridine Orange
16	Kratochvílová, Kateřina	SYBR Gold	38	Turek, Dušan	GFP
17	Majerská, Jana	FITC (antibody conjugate)	39	Vašíčková, Jana	Lucifer Yellow
18	Malá, Aneta	SYPRO Ruby	40	Zábrady, Matej	5 FAM (carboxyfluorescein)
19	Mikulášová, Aneta	RFP	41	Žďárská, Markéta	6 JOE
20	Nováková, Kateřina	Tetramethylrhodamine dextran	42	Žůrek, Michal	AlexaFluor 488 (oligo conjugate)
21	Ogrocká, Anna	Fluorescein (pH 9.0)	43	Žváčková, Ivana	Cy3 dye (antibody conjugate)
22	Pavloušková, Jana	X-rhod 1			