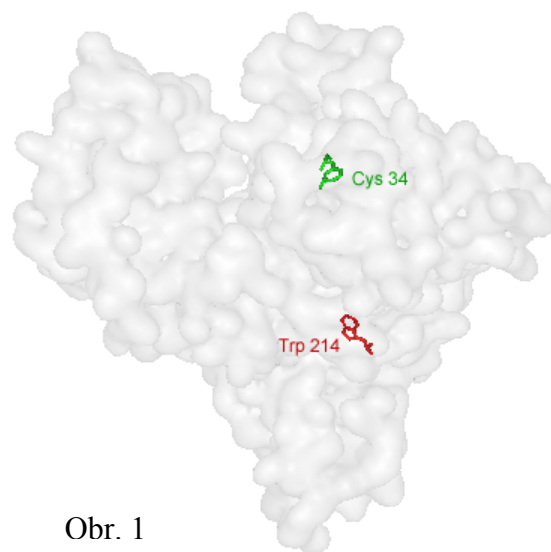
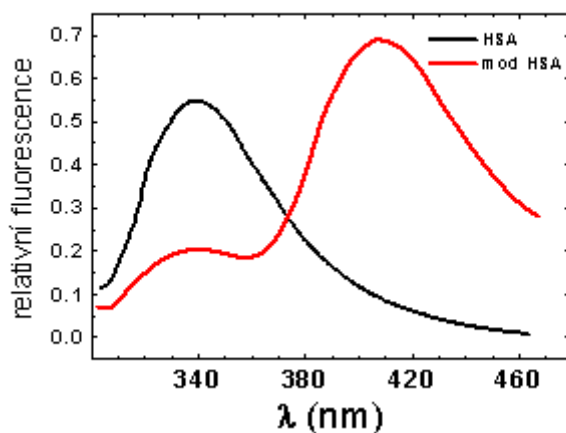


Ověření struktury modifikovaného lidského albuminu

Vaši kolegové z laboratoře strukturní analýzy Vás požádali o pomoc při experimentálním ověření struktury modifikovaného lidského sérového albuminu (HSA). Z krystalografické studie znáte vzdálenost R_{kryst} modifikovaného cysteinu v pozici 34 a tryptofanu v pozici 214 (Obr.1 a Tabulka 2). Otázka, kterou byste měli pomoci zodpovědět je, zda je v roztoku konformace HSA stejná a tedy jestli je vzdálenost modifikovaného cysteinu a tryptofanu srovnatelná se vzdáleností určenou z krystalu s odchylkou $\pm 2\text{\AA}$. Při spektroskopických měření „normálního“ HSA a jeho modifikované varianty (mod HSA), jste zjistili, že cystein modifikovaný aromatickou látkou (anthraniloyl) velmi výrazně snižuje intenzitu emise tryptofanu (Obr.2). Z této pozorované spektrální změny a překryvu emisního spektra tryptofanu s absorpčním spektrem modifikující molekuly jste usoudili, že důvodem změny spektra je fluorescenční rezonanční přenos energie (FRET) mezi tryptofanem a anthraniloyl cysteinem.



Obr. 1



Obr. 2

Tabulka 1

	relativní fluorescence	
	λ (340nm)	λ (408nm)
HSA	0.546	0.091
mod HSA	0.202	0.687

Naměřili jste emisní spektra pro obě varianty HSA. Spektra byla následně normalizována na koncentraci vzorku (Obr. 2). Na základě hodnot odečtených ze spekter (Tabulka 1) a hodnoty Försterovy vzdálenosti R_0 pro pár tryptofan - anthraniloyl uvedené u Vašeho jména určete:

- Jaká je účinnost přenosu energie E mezi tryptofanem a anthraniloylem v modifikovaném lidském sérovém albuminu?**
Hodnotu E uveďte s přesností na dvě desetinná místa.
- Jaká je vzdálenost tryptofanu 214 a anthraniloyl cysteinu 34 v roztoku vypočtená na základě pozorovaného fluorescenčního rezonančního přenosu energie a je srovnatelná ($\pm 2\text{\AA}$) s hodnotou určenou z krystalografie?**
Hodnotu vzdálenosti uveďte v Angstretech (\AA) s přesností na jedno desetinné místo.

Stručné odpovědi mi zašlete emailem. Správná dílčí odpověď = 1 bod.

Tabulka 2

		R_{krvst}	R_0			R_{krvst}	R_0
1	Baráthová, Jana	29.3	33.4	23	Polák, Martin	27.9	31.9
2	Brzobohatá, Anna	27.9	31.9	24	Pospíšil, Jakub	30.0	34.2
3	Činčárová, Lenka	28.6	32.7	25	Potěšilová, Michaela	29.0	33.1
4	Dvořáková, Hana	29.0	33.1	26	Rokosová, Lenka	28.2	32.2
5	Faltejsková, Petra	29.0	33.1	27	Rumíšková, Gabriela	26.7	30.6
6	Franek, Michal	30.1	34.3	28	Sedláková, Šárka	27.1	31.0
7	Havrila, Marek	29.4	33.6	29	Sehnalová, Petra	29.8	34.0
8	Hluchý, Milan	27.5	31.5	30	Skalák, Jan	29.5	33.7
9	Hošek, Tomáš	29.3	33.4	31	Šmířáková, Eliška	29.3	33.4
10	Hubená, Emilie	27.9	31.9	32	Šromová, Renata	27.2	31.1
11	Chrást, Lukáš	26.5	30.4	33	Šteflová, Pavlína	27.3	31.2
12	Knociková, Juliana	30.2	34.4	34	Štěpánková, Veronika	26.4	30.3
13	Kočková, Helena	27.9	31.9	35	Tichý, Vlastimil	27.0	30.9
14	Kozáková, Lucie	27.6	31.6	36	Trčka, Filip	30.0	34.2
15	Králová, Stanislava	29.9	34.1	37	Trenčanský, Lumír	27.3	31.2
16	Kratochvílová, Kateřina	29.5	33.7	38	Turek, Dušan	27.1	31.0
17	Majerská, Jana	26.4	30.3	39	Vašíčková, Jana	28.9	33.0
18	Malá, Aneta	29.2	33.3	40	Zábrady, Matej	28.9	33.0
19	Mikulášová, Aneta	29.4	33.6	41	Žďárská, Markéta	30.2	34.4
20	Nováková, Kateřina	30.1	34.3	42	Žůrek, Michal	28.0	32.0
21	Ogrocká, Anna	27.6	31.6	43	Žváčková, Ivana	30.2	34.4
22	Pavloušková, Jana	26.6	30.5				

Tato úloha vznikla na základě úlohy 1.6 na straně 25 knihy Principles of fluorescence spectroscopy (2006) prof. Lakowicze.