

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 spuštění aplikace je nutno mít nainstalované rozšíření prohlížeče [Java](#). 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 do 48 hodin.

Správná odpověď = 0.5 bodu.

		A
1	Didi, Vojtěch	Fluorescein (antibody conjugate)
2	Gelová, Zuzana	5 ROX (carboxy X rhodamine)
3	Institoris, Jakub	Acridine Orange
4	Jaške, Karin	GFP
5	Kocur, Tomáš	Lucifer Yellow
6	Konečná, Jana	5 FAM (carboxyfluorescein)
7	Muchová, Veronika	6 JOE
8	Nečasová, Ivona	AlexaFluor 488 (oligo conjugate)
9	Novosadová, Soňa	Cy3 dye (antibody conjugate)
10	Orság, Petr	Oregon Green 514 (antibody conjugate)
11	Plch, Johana	Cy5 dye (antibody conjugate)
12	Plucnara, Medard	Propidium iodide
13	Prát, Tomáš	YOYO-1
14	Reichman, Pavel	SYBR Green-1
15	Skoupilová, Hana	YFP
16	Stejskal, Karel	SYBR Gold
17	Šafránková, Barbora	FITC (antibody conjugate)
18	Špaček, Jan	SYPRO Ruby
19	Voráč, Aleš	RFP
20	Zouharová, Monika	Tetramethylrhodamine dextran