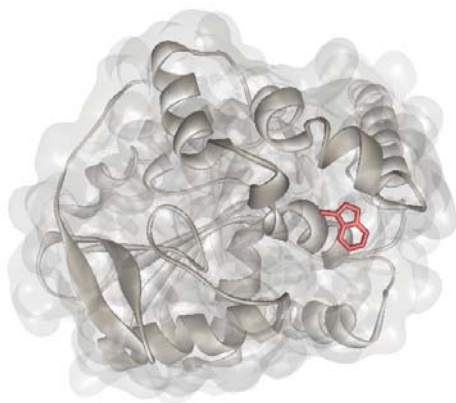


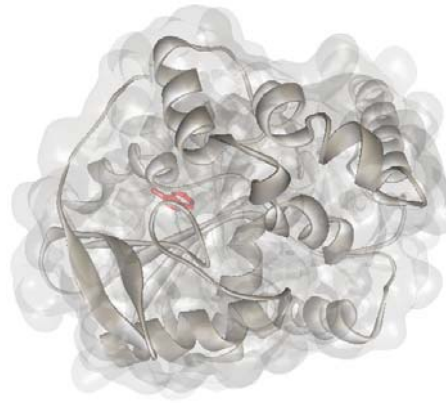
Úloha 3

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 jeden tryptofan. Víte, že mutant pX1 má tryptofan umístěn výrazně blíže k povrchu a je tedy více v kontaktu s okolním roztokem, než je tomu v případě druhé varianty proteinu pX2.



pX1



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 tryptofan 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 s každým proteinem měření závislosti fluorescence na 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	Baráthová, Jana	A	944	911	891	870	853	834
		B	944	794	697	621	560	510
2	Brzobohatá, Anna	A	977	943	922	901	883	864
		B	977	822	722	643	580	528
3	Činčárová, Lenka	A	940	908	887	867	850	831
		B	940	791	694	619	558	508
4	Dvořáková, Hana	A	951	918	898	877	860	841
		B	951	800	703	626	565	514
5	Faltejsková, Petra	A	960	927	907	886	868	849
		B	960	808	709	632	570	519
6	Franek, Michal	A	986	952	931	910	891	872
		B	986	830	729	649	585	533
7	Havrila, Marek	A	938	906	886	865	848	829
		B	938	790	693	617	557	507
8	Hluchý, Milan	A	957	924	903	882	865	846
		B	957	805	707	630	568	517
9	Hošek, Tomáš	A	986	952	931	910	891	872
		B	986	830	729	649	585	533
10	Hubená, Emilie	A	975	942	921	899	881	862
		B	975	821	720	642	579	527
11	Chrást, Lukáš	A	981	947	926	905	886	867
		B	981	825	724	646	582	530
12	Knociková, Juliana	A	957	924	903	882	865	846
		B	957	805	707	630	568	517
13	Kočková, Helena	A	936	904	884	864	846	828
		B	936	788	692	616	556	506
14	Kozáková, Lucie	A	994	959	938	917	898	878
		B	994	836	734	654	590	537
15	Králová, Stanislava	A	984	950	929	908	890	870
		B	984	829	727	648	584	532
16	Kratochvílová, Kateřina	A	962	929	908	887	870	851
		B	962	810	711	633	571	520
17	Majerská, Jana	A	964	931	910	889	871	852
		B	964	811	712	635	572	521
18	Malá, Aneta	A	953	920	900	879	861	842
		B	953	802	704	627	566	515
19	Mikulášová, Aneta	A	970	936	915	894	876	857
		B	970	816	716	638	575	524
20	Nováková, Kateřina	A	997	963	942	920	901	882
		B	997	839	737	656	592	539
21	Ogrocká, Anna	A	988	954	933	911	893	873
		B	988	832	730	650	586	534
22	Pavloušková, Jana	A	942	909	889	869	851	833
		B	942	793	696	620	559	509
23	Polák, Martin	A	983	949	928	906	888	869
		B	983	827	726	647	583	531
24	Pospíšil, Jakub	A	962	929	908	887	870	851
		B	962	810	711	633	571	520

		rezervoár	Koncentrace akrylamidu [M]					
			0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
25	Potěšilová, Michaela	A	979	945	924	903	885	865
		B	979	824	723	644	581	529
26	Rokosová, Lenka	A	981	947	926	905	886	867
		B	981	825	724	646	582	530
27	Rumíšková, Gabriela	A	959	925	905	884	866	847
		B	959	807	708	631	569	518
28	Sedláková, Šárka	A	934	902	882	862	845	826
		B	934	786	690	615	555	505
29	Sehnalová, Petra	A	990	956	935	913	895	875
		B	990	833	731	652	588	535
30	Skalák, Jan	A	996	961	940	918	900	880
		B	996	838	735	655	591	538
31	Šmiráková, Eliška	A	947	915	894	874	856	837
		B	947	797	700	624	562	512
32	Šromová, Renata	A	955	922	901	881	863	844
		B	955	804	705	628	567	516
33	Šteflová, Pavlína	A	971	938	917	896	878	859
		B	971	818	718	639	577	525
34	Štěpánková, Veronika	A	947	915	894	874	856	837
		B	947	797	700	624	562	512
35	Tichý, Vlastimil	A	966	933	912	891	873	854
		B	966	813	714	636	573	522
36	Trčka, Filip	A	994	959	938	917	898	878
		B	994	836	734	654	590	537
37	Trenčanský, Lumír	A	983	949	928	906	888	869
		B	983	827	726	647	583	531
38	Turek, Dušan	A	946	913	893	872	855	836
		B	946	796	698	622	561	511
39	Vašíčková, Jana	A	955	922	901	881	863	844
		B	955	804	705	628	567	516
40	Zábrady, Matej	A	996	961	940	918	900	880
		B	996	838	735	655	591	538
41	Žďárská, Markéta	A	968	934	914	893	875	855
		B	968	814	715	637	574	523
42	Žůrek, Michal	A	979	945	924	903	885	865
		B	979	824	723	644	581	529
43	Žváčková, Ivana	A	992	958	936	915	896	877
		B	992	835	733	653	589	536