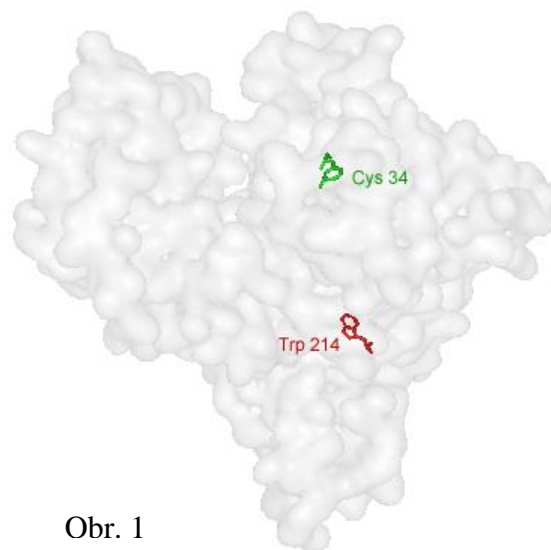
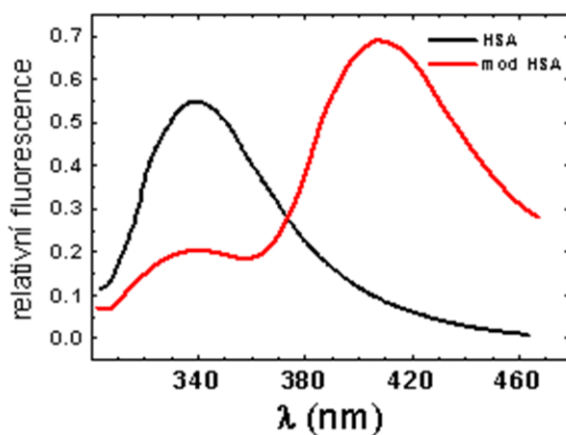


Ověření struktury modifikovaného lidského albuminu

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} (Å) u 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 $\pm 2\text{Å}$. 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?**
Hodnotu vzdálenosti uveďte v Angstretech (Å) s přesností na jedno desetinné místo.

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

Tabulka 2

		r_{kryst}	R_{θ}
1	Didi, Vojtěch	31.6	28.9
2	Gelová, Zuzana	30.5	27.9
3	Institoris, Jakub	31.9	29.2
4	Jaške, Karin	34.2	31.3
5	Kocur, Tomáš	33.1	30.3
6	Konečná, Jana	32.2	29.5
7	Muchová, Veronika	30.6	28.0
8	Nečasová, Ivona	31.0	28.4
9	Novosadová, Soňa	34.0	31.1
10	Orság, Petr	33.7	30.8
11	Plch, Johana	33.4	30.6
12	Plucnara, Medard	31.1	28.5
13	Prát, Tomáš	31.2	28.6
14	Reichman, Pavel	30.3	27.7
15	Skoupilová, Hana	30.9	28.3
16	Stejskal, Karel	34.3	31.4
17	Šafránková, Barbora	31.2	28.6
18	Špaček, Jan	31.0	28.4
19	Voráč, Aleš	33.3	30.5
20	Zouharová, Monika	33.0	30.2

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