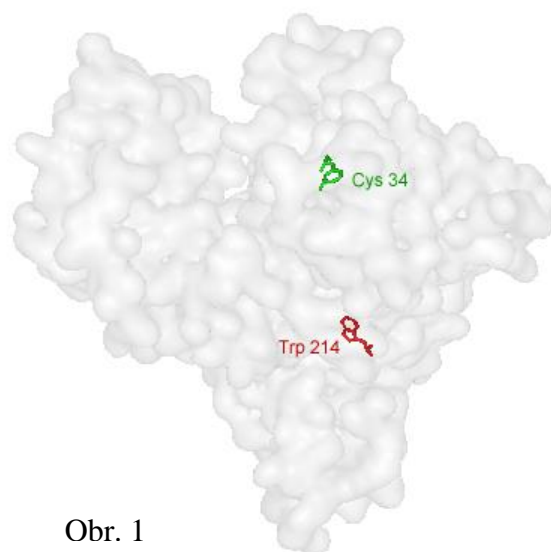
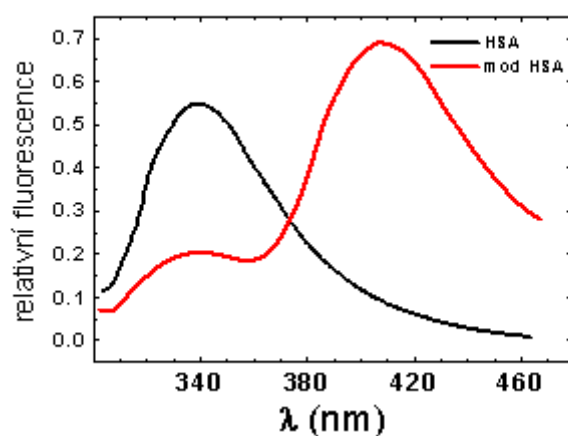


Ověření struktury modifikovaného lidského albuminu

Vaši kolegové z laboratoře strukturní analýzy Vás požádali o pomoc při experimentálním ověření struktury modifikovaného lidského sérového albuminu (HSA). Z krystalové analýzy znáte vzdálenost R_{kryst} (Å) modifikovaného cysteinu v pozici 34 a tryptofanu v pozici 214 (Obr.1 a Tabulka 2). Otázka, kterou byste měli pomoci zodpovědět je, zda v roztoku je konformace HSA stejná jako v krystalové struktuře a tedy zda je vzdálenost jmenovaných aminokyselin velmi podobná v krystalu a v roztoku. 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?**
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}	R₀
1	Balázs, Beáta	31.6	28.9
2	Duranová, Tereza	30.5	27.9
3	Jùzová, Kateřina	31.9	29.2
4	Kaštovský, Jakub	34.2	31.3
5	Korenčiaková, Zuzana	33.1	30.3
6	Linhartová, Kateřina	32.2	29.5
7	Murgašová, Katarína	30.6	28.0
8	Pavelka, Vít	31.0	28.4
9	Rathouzská, Šárka	34.0	31.1
10	Stojaspal, Martin	33.7	30.8
11	Vondrová, Lucie	33.4	30.6
12	Weisová, Veronika	32.6	29.8
13	Zigová, Hana	31.3	28.6

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