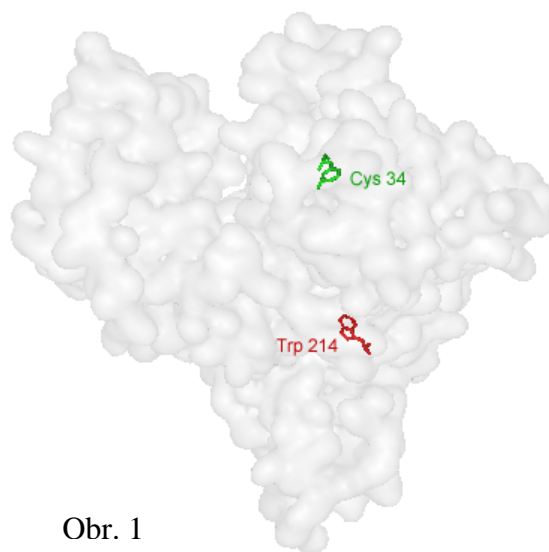
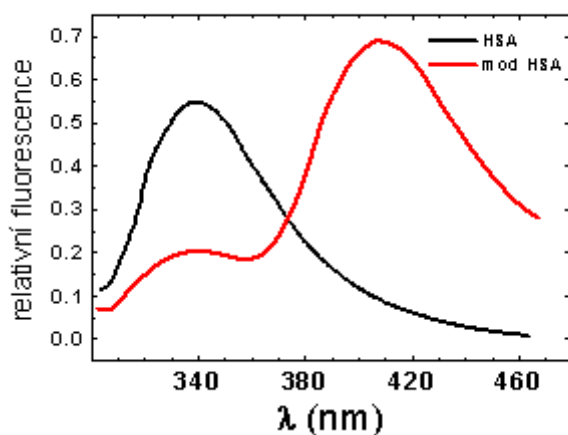


Ověření struktury modifikovaného lidského albuminu

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}	R_0
1	Balakhonova Veronika	31.7	29.0
2	Baliak Patrik	33.2	30.4
3	Buchta David	31.7	29.0
4	Džatko Šimon	33.6	30.7
5	Gajarský Martin	34.5	31.6
6	Gajdošík Martin	33.3	30.5
7	Horváth Peter	32.6	29.8
8	Hrebík Dominik	30.2	27.6
9	Kopková Alena	32.6	29.8
10	Koudelka Adolf	34.6	31.7
11	Krafčíková Michaela	33.2	30.4
12	Kurková Pavlína	35.2	32.2
13	Ludvíková Lucie	33.7	30.8
14	Pastierik Tomáš	33.3	30.5
15	Pastucha Matěj	30.7	28.1
16	Šmoldas Jan	35.1	32.1
17	Turis Juraj	31.1	28.5
18	Válková Martina	30.4	27.8
19	Vávra Ondřej	30.7	28.1
20	Veselá Barbora	33.1	30.3
21	Víšková Pavlína	33.0	30.2
22	Zapletal David	32.6	29.8
23	Závodník Michal	33.2	30.4
24	Zeman Michal	32.3	29.6

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