

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 daný fluorofor? Vyberte prosím dostupný laser z nabídky **Light sources** aplikace [SpectraViewer](#).
- 3) Který nainstalovaný emisní filtr „long-pass“ by byl použitelný pro detekci fluorescence daného 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

<https://www.thermofisher.com/cz/en/home/life-science/cell-analysis/labeling-chemistry/fluorescence-spectraviewer.html>

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 | Patrik Čech | Fluorescein (FITC) |
| 2 | Veronika Fedorová | ROX (carboxy X rhodamine) |
| 3 | Pavel Hannig | Acridine Orange |
| 4 | Michal Hejda | GFP (emerald GFP) |
| 5 | Alena Hofrová | Lucifer Yellow |
| 6 | Petr Kohutek | Ethidium Homodimer |
| 7 | Marek Korsák | Pacific Green |
| 8 | Petra Kováčiková | JOE |
| 9 | Michal Kramárek | Alexa Fluor 488 |
| 10 | Alžbeta Kusová | Cy3 |
| 11 | Adéla Machelová | Oregon Green 514 |
| 12 | Andrea Martišová | Cy5 |
| 13 | David Novák | SYBR Green |
| 14 | Kristýna Pernicová | RFP (TagRFP) |
| 15 | Veronika Rájecká | TOTO-3 |
| 16 | Natália Varhaníková | Alexa Fluor 594 |
| 17 | Michal Vašina | BOBO-1 |