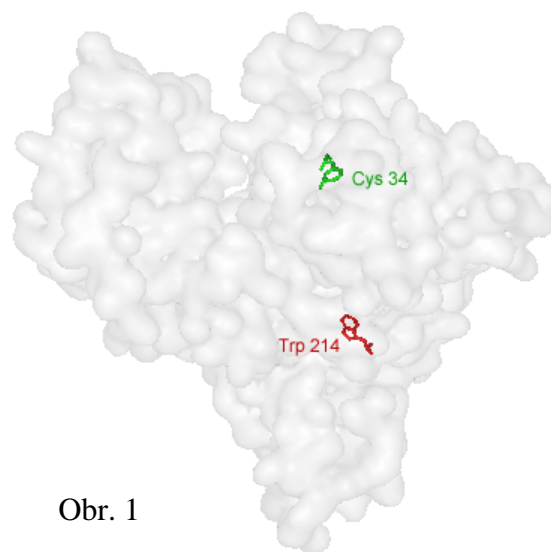
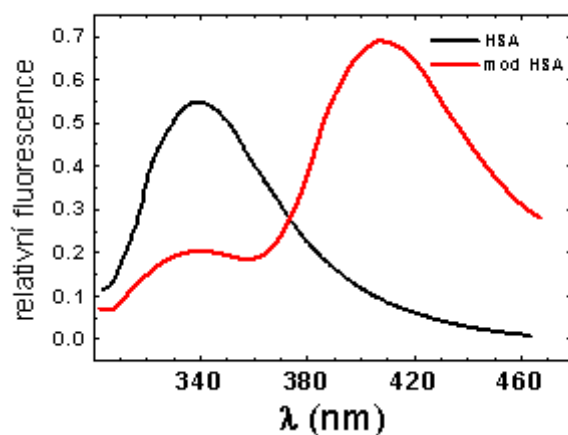


Ověření struktury modifikovaného lidského albuminu

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

		Γ_{kryst}	R_0
1	Patrik Čech	31.7	29.0
2	Veronika Fedorová	33.2	30.4
3	Pavel Hannig	31.7	29.0
4	Michal Hejda	33.6	30.7
5	Alena Hofrová	34.5	31.6
6	Petr Kohutek	34.0	31.1
7	Marek Korsák	32.6	29.8
8	Petra Kováčiková	30.2	27.6
9	Michal Kramárek	32.6	29.8
10	Alžbeta Kusová	34.6	31.7
11	Adéla Machelová	33.2	30.4
12	Andrea Martišová	35.2	32.2
13	David Novák	33.7	30.8
14	Kristýna Pernicová	33.3	30.5
15	Veronika Rájecká	30.7	28.1
16	Natália Varhaníková	35.1	32.1
17	Michal Vašina	31.1	28.5

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