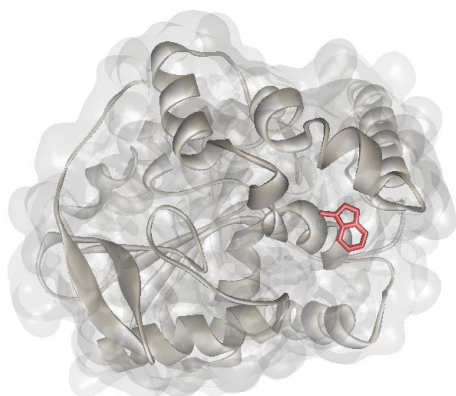
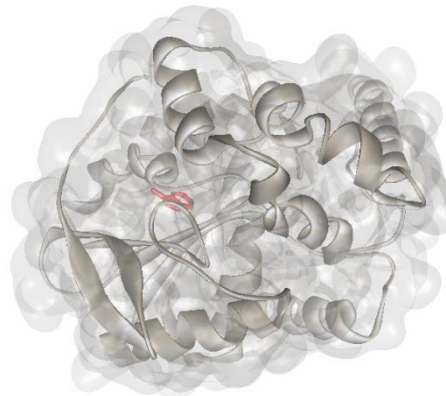


## Rozlišení mutantů X

Při prvním experimentu v biotechnologické laboratoři *BFP* (Biotechnology for purification) dostáváte za úkol rozlišit dvě mutantní varianty X1 a X2 proteinu, který se používá k rozkladu nebezpečných látek v pitné vodě. Omylem došlo k záměně štítků na reakčních rezervoárech s enzymy. Jste informováni o tom, že oba typy enzymu obsahují jeden tryptofan. Víte, že mutant X1 má tryptofan umístěn výrazně blíže k povrchu a je tedy více v kontaktu s okolním roztokem, než je tomu v případě druhé varianty proteinu X2.



**X1**



**X2**

Rozlišení obou enzymů je životně důležité pro obnovení dodávek pitné vody obyvatelům v oblasti sužované suchem. Při řešení tohoto problému jste využili své znalosti o zhášení fluorescence. Víte, že ze závislosti intenzity fluorescence na koncentraci zhášedla se dá určit, u kterého z proteinů je tryptofan blíž povrchu a takto proteiny identifikovat. Pro zhášení fluoroforu platí základní

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q]$$

Stern-Volmerova rovnice:

kde  $F_0$  je intenzita fluorescence bez přítomnosti zhášedla,  $F$  je intenzita fluorescence za přítomnosti zhášedla,  $K_{sv}$  je Stern-Volmerova konstanta a  $[Q]$  je koncentrace zhášedla.

Provedli jste měření intenzity fluorescence proteinů odebraných z rezervoárů A a B. Intenzita fluorescence byla změřena bez přítomnosti zhášedla. Následně jste provedli s každým proteinem měření závislosti fluorescence na postupně vzrůstající koncentraci zhášedla - akrylamidu. Naměřené absolutní hodnoty intenzity fluorescence jsou v tabulce níže. Sestavte Stern-Volmerův graf pro závislost relativního úbytku fluorescence na koncentraci akrylamidu. Určete směrnici závislosti a odpovězte na následující otázky.

- 1. Je akrylamid zhášedlem dynamickým nebo statickým?**
- 2. Jaké jsou konstanty  $K_{sv}$  příslušné jednotlivým mutantním variantám enzymu?**
- 3. Ve kterém z rezervoárů je enzym X1?**

Stručné odpovědi mi společně s grafem zašlete emailem.

Správná dílčí odpověď = 0.5 bodu.

**Pozn.** K určení směrnice a tedy hodnoty  $K_{sv}$  použijte lineární regresi podle videonávodu [zde](#).

		rezervoár	Koncentrace akrylamidu [M]					
			0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
1	Patrik Čech	A	944	911	891	870	853	834
		B	944	794	697	621	560	510
2	Veronika Fedorová	A	977	943	922	901	883	864
		B	977	822	722	643	580	528
3	Pavel Hannig	A	940	908	887	867	850	831
		B	940	791	694	619	558	508
4	Michal Hejda	A	951	918	898	877	860	841
		B	951	800	703	626	565	514
5	Alena Hofrová	A	960	927	907	886	868	849
		B	960	808	709	632	570	519
6	Petr Kohutek	A	986	952	931	910	891	872
		B	986	830	729	649	585	533
7	Marek Korsák	A	938	906	886	865	848	829
		B	938	790	693	617	557	507
8	Petra Kováčiková	A	957	924	903	882	865	846
		B	957	805	707	630	568	517
9	Michal Kramárek	A	986	952	931	910	891	872
		B	986	830	729	649	585	533
10	Alžbeta Kusová	A	975	942	921	899	881	862
		B	975	821	720	642	579	527
11	Adéla Machelová	A	981	947	926	905	886	867
		B	981	825	724	646	582	530
12	Andrea Martišová	A	957	924	903	882	865	846
		B	957	805	707	630	568	517
13	David Novák	A	961	928	908	887	869	850
		B	961	809	710	633	571	520
14	Kristýna Pernicová	A	855	834	813	794	776	758
		B	855	732	639	568	510	464
15	Veronika Rájecká	A	943	911	891	870	853	834
		B	943	794	697	621	560	510
16	Natália Varhaníková	A	978	943	922	901	883	864
		B	978	822	722	643	580	528
17	Michal Vašina	A	941	908	887	867	850	831
		B	941	791	694	619	558	508