

### 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 nový 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>

**Návod:** Vyberte svůj fluorofor z nabídky. Zadejte Váš vhodný dostupný laser do Light Sources výběrem Custom a zadáním vlnové délky. Zadejte Váš vhodný filtr do Emission Filters zvolením Custom, zadáním vlnové délky a do Bandwidth zadejte LP nebo šířku pásu v nanometrech.

Fluorofor **A** naleznete níže v tabulce u svého jména.

Vaše odpovědi mi prosím zašlete emailem do 48 hodin.  
Správná odpověď = 0.5 bodu.

		<b>A</b>
1	Bahelková Michaela	FITC (Fluorescein)
2	Berková Veronika	ROX (carboxy X rhodamine)
3	Boudná Klára	Acridine Orange
4	Bugdolová Sandra	GFP (emerald GFP)
5	Hrušková Marcela	Lucifer Yellow
6	Jakubcová Klára	Ethidium Homodimer
7	Kafka Filip	Pacific Green
8	Kramářová Jana	JOE
9	Mlynárová Kristína	Alexa Fluor 488
10	Ondrášková Kateřina	Cy3
11	Pavelka Antonín	Oregon Green 514
12	Rigóová Gabriela	Cyanine5
13	Urban Tomáš	SYBR Green
14	Vejvodová Markéta	Red Fluorescent Protein (RFP)
15	Zimčík David	TOTO-3
16	Sita Jaroslav	Alexa Fluor 594