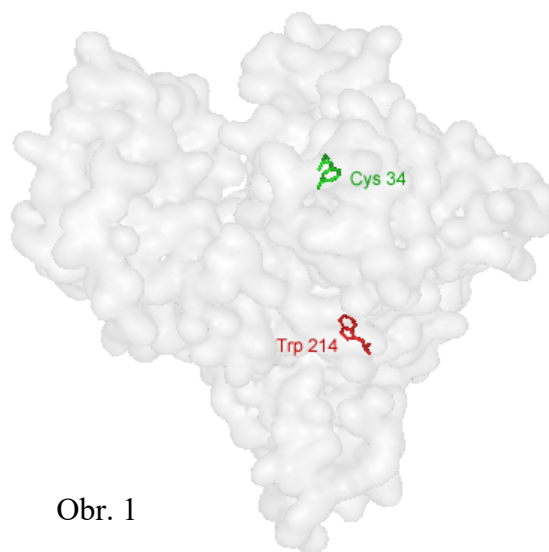
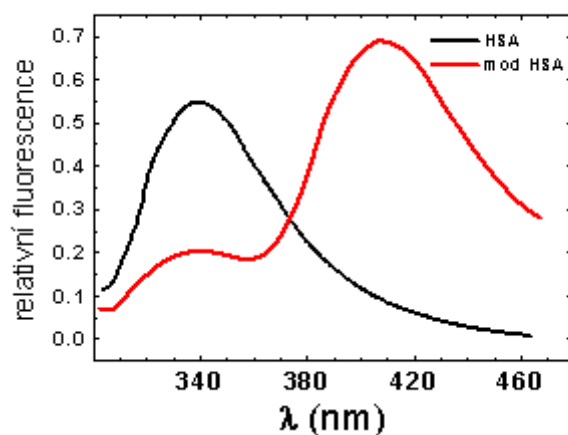


Ověření struktury modifikovaného lidského albuminu

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	Dikunová Alžbeta	31.7	29.0
2	Dzurov Matej	33.2	30.4
3	Faturová Jana	31.7	29.0
4	Gašparik Norbert	33.6	30.7
5	Hesko Ondrej	34.5	31.6
6	Jahodová Kateřina	34.0	31.1
7	Kameniarová Michaela	32.6	29.8
8	Konečná Kateřina	30.2	27.6
9	Korytářová Anna	32.6	29.8
10	Kozeleková Aneta	34.6	31.7
11	Kubinyiová Lenka	33.2	30.4
12	Kůřilová Eliška	35.2	32.2
13	Lysáková Klára	33.7	30.8
14	Mikšátková Barbora	33.3	30.5
15	Nováková Barbora	30.7	28.1
16	Prabhullachandran Unnikannan	35.1	32.1
17	Procházková Markéta	31.1	28.5
18	Šimek Jan	31.8	29.1
19	Tužinčin Dávid	34.1	31.2

Tato úloha vznikla na základě úlohy 1.6 na straně 25 knihy

Principles of Fluorescence Spectroscopy (2006) prof. Lakowicze.