

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](#). Napište také případně, že je stávající laser ideální.
- 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.

	Fluorofor A
Bačovská, Petra	Hypoxia Green
Badin, Jan	ROX (carboxy X rhodamine)
Bajerová, Martina	Acridine Orange
Blažková, Gabriela	GFP (emerald GFP)
Faldynová, Hana	Lucifer Yellow
Fialková, Barbora	Ethidium homodimer
Hendrych, Jan	Pacific Green
Hricinová, Michaela	JOE
Hrnčířová, Barbora	Alexa Fluor 488
Hýsková, Anna	Cy3
Chamrádová, Linda	Oregon Green 514
Kajabová, Simona	Cyanine5
Koktavá, Monika	SYBR Green
Körtingová, Martina	RFP (TagRFP)
Králová, Barbora	TOTO-3
Kružlicová, Jana	Alexa Fluor 594
Levková, Petra	BOBO-1
Linhartová, Eliška	Sypro Orange
Lněničková, Anna	TOTO-1
Martikan, Jakub	Texas Red
Neumeisterová, Nikola	TAMRA
Novotná, Pavla	SYTO 9
Páleníčková, Zuzana	Rhodamine Red
Pluskal, Daniel	TetraSpeck orange
Pospíšilová, Anna	Lucifer Yellow
Sedláčková, Barbora	mBanana
Segedyová, Daniela	mCherry
Sklenářová, Dorota	mHoneyDew
Strunga, Alan	Rhodamine 6G
Štrbáňová, Anna	SYBR Gold
Vilkova, Anastassiya	Fluorescein (FITC)
Voznicová, Simona	Calcium Orange
Žatko, Daniel	tdTomato