

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
Babánková, Bára	Hypoxia Green
Červinka, Jakub	ROX (carboxy X rhodamine)
Greňa, Tomi	Acridine Orange
Halasová, Andrea	GFP (emerald GFP)
Hrachovinová, Šárka	Lucifer Yellow
Hruška, Jakub	Ethidium homodimer
Jurtíková, Anna	Pacific Green
Křivská, Tereza	JOE
Maroz, Volha	Alexa Fluor 488
Miléřová, Lenka	Cy3
Minaříková, Anna	Oregon Green 514
Murínová, Markéta	Cyanine5
Paříková, Tereza	SYBR Green
Pastyříková, Nela	RFP (TagRFP)
Přikryl, Matěj	TOTO-3
Salivarová, Petra	Alexa Fluor 594
Sošková, Ema	BOBO-1
Staník, Vojtěch	Sypro Orange
Stejskalová, Běla	TOTO-1
Valášek, Jan	Texas Red