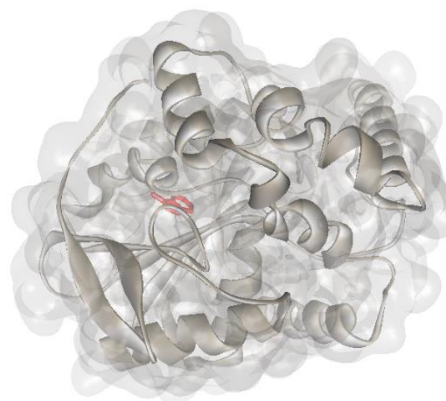


## Rozlišení mutantů X

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 zhasnutí fluorescence. Víte, že ze závislosti intenzity fluorescence na koncentraci zhasnědla se dá určit, u kterého z proteinů je tryptofan blíže povrchu a takto proteiny identifikovat.

Pro zhasnutí fluoroforu platí základní Stern-Volmerova rovnice:

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

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

Provedli jste měření intenzity fluorescence proteinů odebraných z rezervoárů A a B. Intenzita fluorescence byla změřena bez přítomnosti zhasnědla. Následně jste provedli s každým proteinem měření závislosti fluorescence na postupně vzrůstající koncentrací zhasnědla - 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 zhasnědlem dynamickým nebo statickým?**
- 2. Jaké jsou konstanty KSV příslušné jednotlivým mutantním variantám enzymu?**
- 3. Ve kterém z rezervoárů je enzym X1?**

Vytvořte grafy a stručné odpovědi mi společně s grafy v příloze 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 Babánková, Bára	A	988	963	940	918	896	876
	B	988	845	725	644	579	526
2 Červinka, Jakub	A	977	943	922	901	883	864
	B	977	822	722	643	580	528
3 Greňa, Tomi	A	940	908	887	867	850	831
	B	940	791	694	619	558	508
4 Halasová, Andrea	A	951	918	898	877	860	841
	B	951	800	703	626	565	514
5 Hrachovinová, Šárka	A	960	927	907	886	868	849
	B	960	808	709	632	570	519
6 Hruška, Jakub	A	986	952	931	910	891	872
	B	986	830	729	649	585	533
7 Jurtíková, Anna	A	938	906	886	865	848	829
	B	938	790	693	617	557	507
8 Křivská, Tereza	A	957	924	903	882	865	846
	B	957	805	707	630	568	517
9 Maroz, Volha	A	986	952	931	910	891	872
	B	986	830	729	649	585	533
10 Miléřová, Lenka	A	975	942	921	899	881	862
	B	975	821	720	642	579	527
11 Minaříková, Anna	A	981	947	926	905	886	867
	B	981	825	724	646	582	530
12 Murínová, Markéta	A	957	924	903	882	865	846
	B	957	805	707	630	568	517
13 Paříková, Tereza	A	961	928	908	887	869	850
	B	961	809	710	633	571	520
14 Pastyříková, Nela	A	855	834	813	794	776	758
	B	855	732	639	568	510	464
15 Přikryl, Matěj	A	943	911	891	870	853	834
	B	943	794	697	621	560	510
16 Salivarová, Petra	A	978	943	922	901	883	864
	B	978	822	722	643	580	528
17 Sošková, Ema	A	941	908	887	867	850	831
	B	941	791	694	619	558	508
18 Staník, Vojtěch	A	953	918	898	877	860	841
	B	953	800	703	626	565	514
19 Stejskalová, Běla	A	962	927	907	886	868	849
	B	962	808	709	632	570	519
20 Valášek, Jan	A	987	952	931	910	891	872
	B	987	830	729	649	585	533