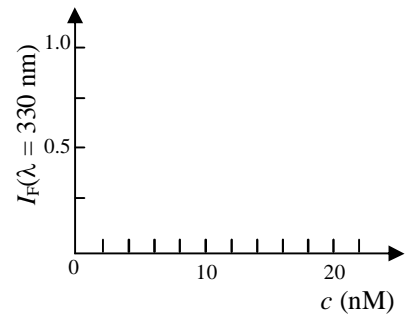
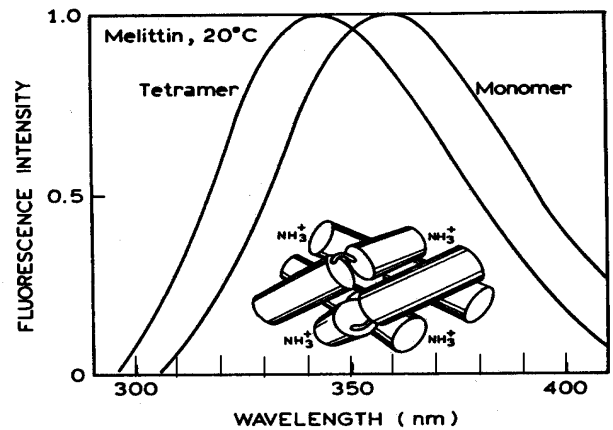


- Melittiini-proteiinissa on yksi tryptofaani (Trp). Kuvassa on melittiinin Trp:n emissiospektrit monomeeristä ja tetrameeristä sekä tetrameerin malli.
  - Piirrä malliin symmetria-akseli, jonka ympäri mallia voidaan kiertää  $180^\circ$  niin, että mikään ei muutu. (1p.)
  - Osoita nuolella yhden monomerin kohta, jossa arvelet tryptofaanin sijaitsevan. (1p.)
  - Miksi tetrameerin spektri on lyhyemmällä aallonpituudella kuin monomeerin spektri? (1p.)
  - Kuinka suurta energiaa (kJ/mol) aallonpituusmuutos vastaa? (2p.) Planckin vakio on  $6.6 \cdot 10^{-34}$  (Js), valonnopeus  $3 \cdot 10^8$  m/s Avogadron luku  $6 \cdot 10^{23}$ /mol.
  - Mellitiinitetrameeri dissosioituu monomeereiksi kooperatiivisesti matalassa pitoisuudessa (n. 10 nM). Piirrä odotettavissa oleva vaste ts. intensiteetti aallonpituudella  $\lambda = 330$  nm viereiseen kuvaan. (1p.)



- Lyhyeen, 16-emästä käsittävään, yksittäiseen DNA-juosteen 5'-päähän on kiinnitetty fluoreysiini (FI), ja mitattu alla oleva emissiospektri (—). Vastaavasti on mitattu emissiospektri (---), jossa DNA-juoste on osa kaksoiskierrettä, jonka komplementaarisen säikeen 5'-päässä on rodamiini-leima (Rh).

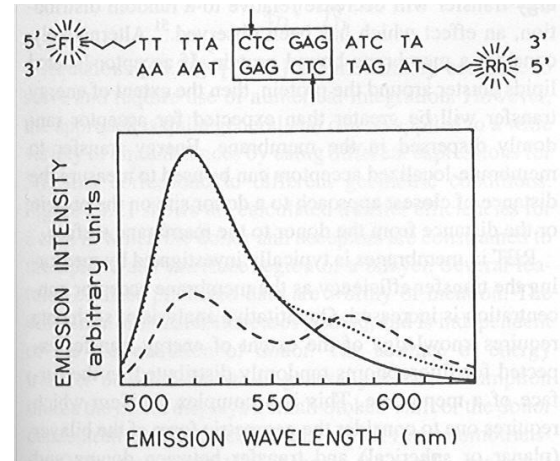
- Miksi FI:n intensiteetti aallonpituudella  $\lambda = 520$  nm on matalampi kaksoiskierteisessä kuin yksittäisessä juosteessa? (1p.)

- Määritä aallonpituudella  $\lambda = 520$  nm olevista intensiteettien

$$\text{suhteesta } 1 - \frac{I_{\text{double}}}{I_{\text{single}}} = \frac{R_o^6}{R_o^6 + r^6} \text{ FI:n ja Rh:n välinen etäisyys } r$$

kun Försterin etäisyys  $R_o = 65 \text{ \AA}$ . (2p.)

- Työnohjaajasi pyytää, että em. tuloksen perusteella selvittäisit, onko kaksoiskierteinen jakso poikkeuksellisesti vasenkätisessä Z-DNA muodossa, jonka nousu on  $43 \text{ \AA} / 12$  emäsparia verrattuna B-DNA:n nousuun  $34 \text{ \AA} / 10$  emäsparia. Mitä vastaat hänelle? (2p.)
- Kuvassa on myös spektri (---), joka on mitattu kaksoiskierteen katkaisevan restriktioentsyymikäsittelyn jälkeen. Tämän jälkeen intensiteetti aallonpituudella  $\lambda = 520$  nm on käytännössä yhtä suuri kuin yksittäisen DNA-juosteen. Mistä "ylimääräinen" intensiteetti aallonpituudella  $\lambda \approx 560$  nm on peräisin? (1p.)

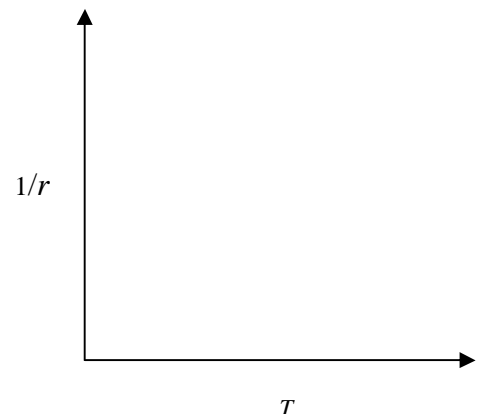


- Proteiinin pyörimisnopeuden ts. rotaatiodiffusiovakion  $D$  voi määrittää anisotropian  $r$  avulla piirtämällä (Perrinin) yhtälö

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{r_0} + \frac{\tau}{r_0} 6D, \text{ jossa } r_0 = 0.4 \text{ on maksimaalinen anisotropia ja } \tau \text{ on}$$

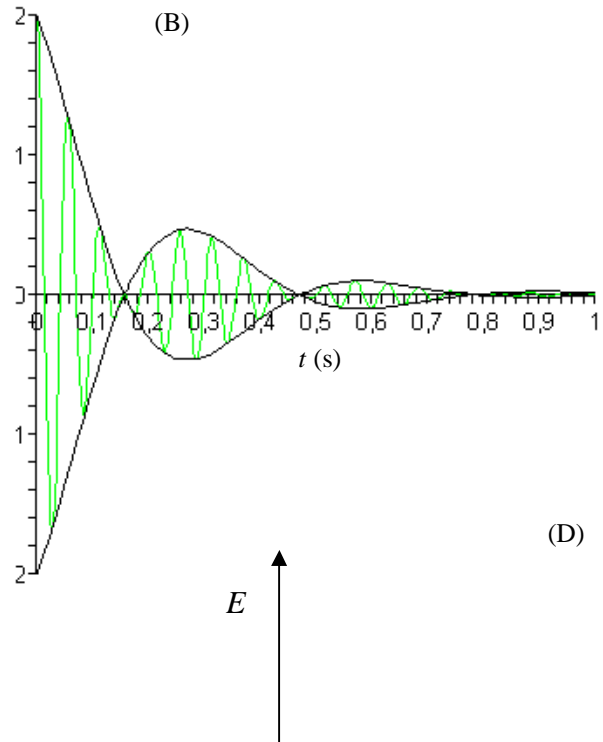
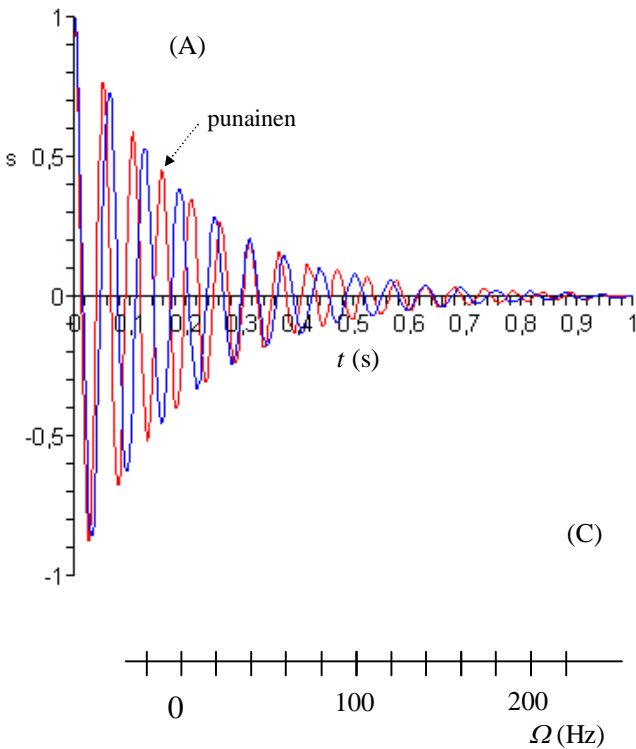
fluoroforin elinaika, lämpötilan  $T$  funktiona. Pyöriminen  $D = RT/(6\eta V)$  on suoraan verrannollinen lämpöenergiaan  $RT$  ja kääntäen molekyylin efektiiviseen kokoon  $V$  ja liuoksen viskositeettiin  $\eta$ .

- Piirrä  $1/r$  vs.  $T$ . (2p.)
- Korkeassa lämpötilassa proteiini denaturoituu, jolloin fluorofori pääsee pyörimään nopeammin, koska auenneen polypeptidiketjun osat liikkuvat toisistaan riippumatta, ts. efektiivinen koko  $V$  pienenee. Hahmottele kuvaaja  $1/r$  vs.  $T$  myös korkeassa lämpötilassa. (2p.)
- Mitä havaitaan, jos fluoroforin elinaika  $\tau$  on kovin lyhyt verrattuna rotaatiorokorrelaatioaikaan  $\tau_c = 1/6D$ ? (1p.)
- Tavoitteesi on selvittää, onko DNAK-proteiini muodostanut n. 110



kDa kokoisen oktameerin, jonka rotaatiokorrelaatioajaksi arvoit 50 ns. Monomeerin  $\tau_c \approx 6$  ns. Millä käytettävissäsi olevista fluoroforeista: DNS ( $\tau = 12$  ns), FI ( $\tau = 4.5$  ns), TRITC ( $\tau = 2.0$  ns) leimaat DNaK:n? (1p.)

4. Kuvassa (A) näkyy kaksi signaalia (sininen ja punainen), jotka vaimenevat yhtä nopeasti.
  - a) Arvioi vaimenemisvakion  $R_2$  suuruus (yksikkö 1/s). (Huom.  $e^{-1} \approx 0.37$ .) (1p.)
  - b) Arvioi signaalien taajuuudet  $\Omega_{\text{sininen}}$  ja  $\Omega_{\text{punainen}}$  (yksikkö Hz). (1p.)
  - c) Kuvassa (B) näkyy em. kahden signaalin yhteenlaskettu signaali (vihreä). Piirrä kuvaan (C) sitä vastaava Fouriermuunnoksen avulla saatava spektri taajuuden funktiona. (2p.)
  - d) Kuvaan (B) on myös piirrettyä summasignaalin verhoikäyrä (musta), joka myös värähtelee tosin verkkaisesti. Mitä taajuutta verhoikäyrä vastaa spektrissäsi? (1p.)
  - e) Piirrä spektriä vastaava energiatasokaavio kuvaan (D). (1p.)



5. Röntgensäde, jonka aallonpituus on  $\lambda$ , osuu kahteen elektroniin viereisen kuvan mukaisesti. Tulevien säteiden matkaero  $p$  voidaan lausua sirottajien välisen etäisyyden  $r$  sekä tulevan aaltovektorin  $s_0$  (punainen) avulla,  $p = \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{s}_0 = \lambda r s_0 \cos \phi_0$  ja vastaavasti  $q$  sironneen aaltovektorin  $s$  (sininen) avulla.
  - a) Kirjoita  $\mathbf{S}$ :n ja  $\mathbf{r}$ :n avulla kokonais-matkaero  $\Delta l$  ja sitä vastaava kokonaisvaihe-ero  $\Delta \phi$ . (2p.)
  - b) Millä vaihe-eron arvolla saadaan maksimi signaali? (1p.)
  - c) Sironnata voi kuvata myös heijastuksena katkoviivoin osoitetuista tasoista. Piirrä kuvaan  $\mathbf{S} = \mathbf{s} - \mathbf{s}_0$ . (1p.)
  - d) Röntgensäteiden sironnata molekyylistä kuvaa nk. rakennetekijä  $\mathbf{F}$ , joka on kaikkien sirottajien vektorisumma. Piirrä viereiseen koordinaatistoon kahden sirottajan (A) ja (B) rakennetekijä  $\mathbf{F} = f_A \mathbf{1} + f_B \exp(2\pi i \mathbf{r} \cdot \mathbf{S})$ , kun  $\mathbf{r} \cdot \mathbf{S} = 1/8$  ja kun atomien sironnatekijät ovat  $f_A \approx 1$  ja  $f_B \approx 1.4$ . (1p.)
  - e) Viereissä kuvassa on kolmen sirottajan antama ”diffraktiokuvio”. Piirrä kuvaan (päälle) diffraktiokuvio, kun sirottajia on paljon enemmän. (1p.)

