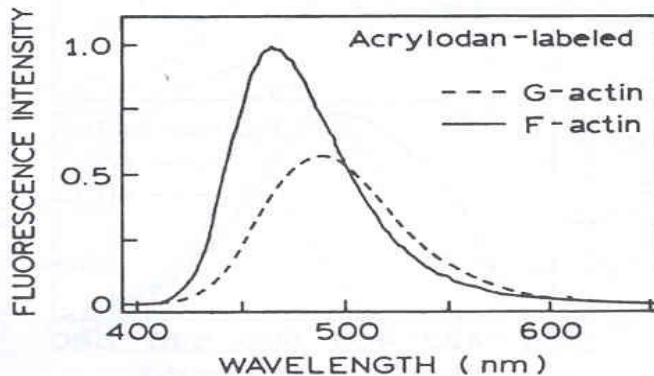
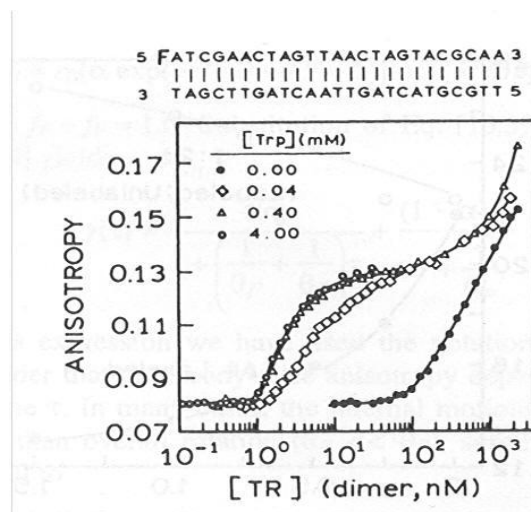


- Kuvassa on monomeerisestä (G) ja polymeroituneesta (F) aktiinista vesiliuoksessa mitatut emissiospektrit.
 - Miksi maksimi-intensiteetti siirtyy lyhyemmällä aallonpituudella, kun aktiinisäie muodostuu? (2p.)
 - Kuinka suurta energiaeroa (kJ/mol) F- ja G-aktiineista mitattujen spektrien maksimien välinen aallonpituusero vastaa? (2p.)
 - Kuvittele, että tutkit kahta proteiinia: koaktosiinia ja kofiliinia. Osoittautuu, että kun lisää koaktosiinia näytteeseen jossa on F-aktiinia, niin spektrin maksimin aallonpituus laskee hieman F-aktiinin maksimista n. 450 nm:iin. Kun lisää kofiliinia F-aktiininäytteeseen, niin spektrin maksimin aallonpituus kasvaa aina n. 475 nm:iin asti, siis melko lähelle G-aktiinin aallonpituusmaksimia. Mitä päättelet koaktosiinin ja kofiliinin vaikutuksista aktiiniin? (2p.)



Planckin vakio on $6.6 \cdot 10^{-34}$ (SI-yksikköä), valonnopeus $3 \cdot 10^8$ m/s, Avogadron luku $6 \cdot 10^{23}$ /mol.

- Kuvassa on fluoroforilla (F) leimatusta DNA:sta mitattu (molekyylin pyörimisnopeuteen verrannollinen) anisotropia (r), kun näytteeseen on titrattu Trp-repressoriproteiinia (TR) neljässä Trp-pitoisuudessa (0.00, 0.04, 0.40, 4.00 mM).
 - Mikä on DNA:n anisotropia, kun TR:n pitoisuus on alle 1 nM? (1p.)
 - Miksi DNA:n anisotropia kasvaa kun TR-proteiinia lisätään? (1p.)
 - Miksi DNA:n anisotropia kasvaa jo pienellä TR-pitoisuudella, kun tryptofaania (Trp) on 0.04 mM tai enemmän, mutta vasta suurilla TR-pitoisuuksilla, kun Trp:tä ei ole lainkaan? (1p.)
 - Miksi DNA:n anisotropia TR-pitoisuuden funktiona on olennaisesti sama kun Trp:tä on 0.40 tai 4.00 mM? (1p.)
 - Kuvasta näkyy, että DNA:n anisotropia satureituisi n. 0.13:een, kun tryptofaania (Trp) on paljon (0.40 ja 4.00 mM). Mikä on TR-dimeerin (suurinpiirtein) sitoutumisvakio DNA:han (ts. kun puolet proteiinista on kompleksissa ja puolet proteiinista vapaana $k = [\text{TR}_2\text{DNA}] / [\text{TR}_2][\text{DNA}]$? (1p.)
 - Miksi anisotropia kasvaa vielä arvoa $r = 0.13$ suuremmaksi hyvin suurilla TR-pitoisuuksilla käytännöllisesti katsoen riippumatta Trp-pitoisuudesta? (1p.)

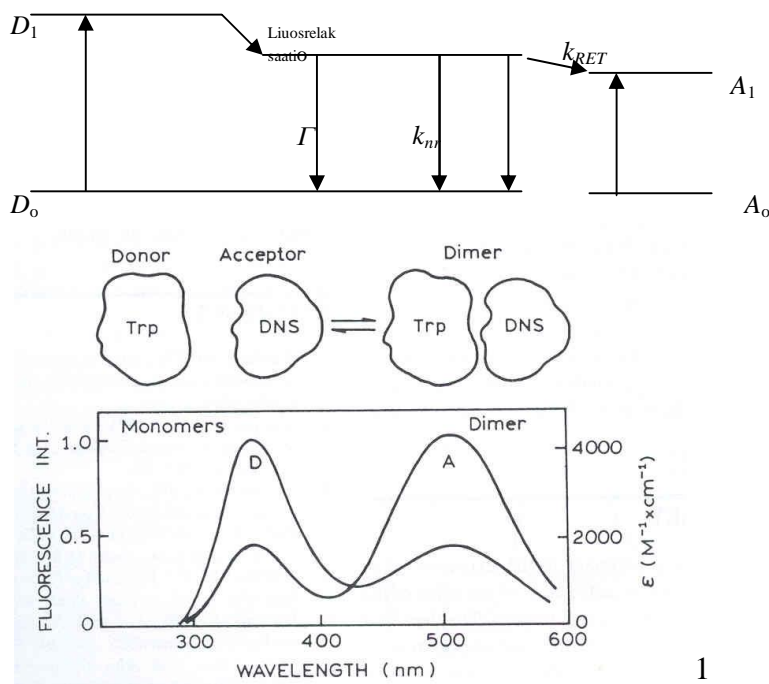


- Virittynyt tila voi purkautua Jablonskyn kaavion mukaisesti energian siirtona donorilta (D) akseptorille (A) nopeudella

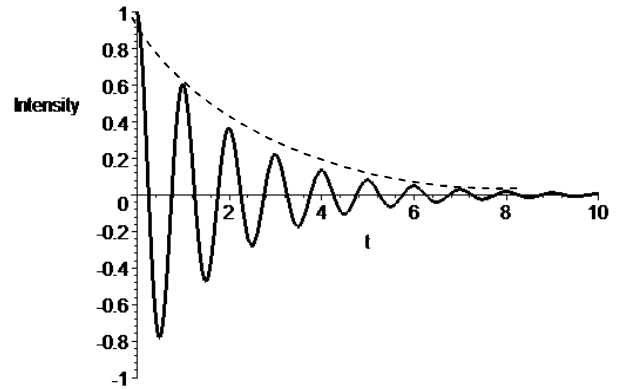
$$k_{RET} = \frac{1}{\tau_D} \frac{R_o^6}{r^6} \quad \frac{I_{DA}}{I_D} = \frac{r_o^6}{R_o^6 + r^6}$$

jossa intensiteetti I_{DA} mitataan akseptorin läsnäollessa ja I_D on intensiteetti ja τ_D on elinaika, kun akseptoria ei ole.

- Miksi viereissä spektrissä Trp:n (D) emissio aallonpituudella $\lambda = 350$ nm pienenee, kun dimeeri muodostuu? (2p.)
- Arvioi Trp:n emissiospektrien perusteella Trp:n ja dansyylin (DNS) välinen etäisyys r dimeerissä, kun Försterin etäisyys on $R_o = 30$ Å. (4p.)



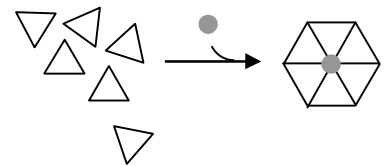
4. Kuvassa näkyy NMR-signaali mitattuna ajanfunktiona.
- Kirjoita katkoviivalla näkyvän eksponentiaalisesti vaimenevan verhoikäyrän $V(t)$ lauseke ajan funktiona käyttäen vaimenemisvakiota R_2 . (1p.)
 - Arvioi kuvasta vaimenemisvakion R_2 suuruus (yksikkö 1/s). (Huom. $e^{-1} \approx 0.37$.) (1p.)



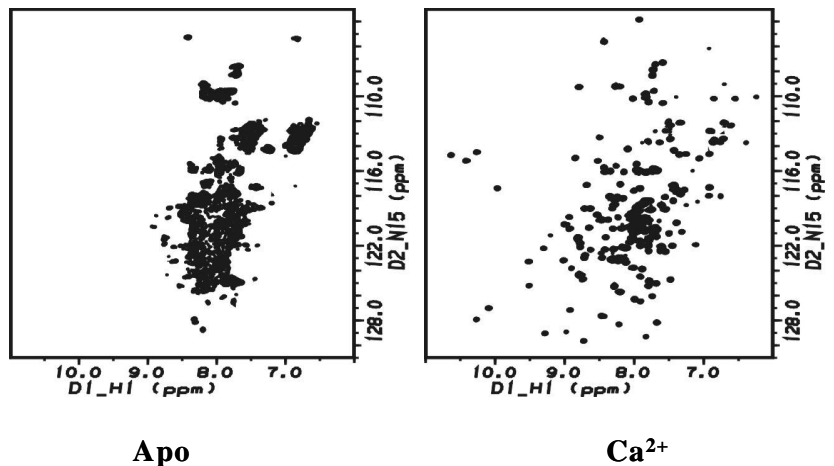
- Vast: Katso missä kohtaa verhoikäyrä on laskenut 0.37 osaan: se on n. 2.5 s kohdassa, joten $T_2 = 2.5$ ja $R_2 = 1/T_2 = 0.4$ s.
- Täydennä (a)-kohdan lauseketta siten, että se kuvaa vaimenevasti värähtelevää signaalia $I(t)$ ajan funktiona. Merkitse värähtelytaajuutta Ω :lla (1p.)
- Vast: $I(t) = \exp(-R_2 t) \cos(\Omega t)$
- Arvioi kuvasta taajuus Ω (yksikkö 1/s). (1p.)

Vast: Katso missä kohtaa käyrä on edennyt yhden aallonpituuden: se on n. 1 s kohdassa, joten $T = 1.0$ ja $\Omega = 1/T = 1.0$ 1/s.

- Piirrä signaalin $I(t)$ Fourier-muunnoksen seurauksena saatava spektri taajuuden funktiona. Merkitse kuvaan myös 0-taajuus. (1p.)
- Spektriviivan leveys on verrannollinen R_2 :een, joka on edelleen verrannollinen molekyylin pyörimisaikavakioon τ_c , joka on edelleen verrannollinen molekyylin kokoon (molekyyllipainoon) M . Miten spektriviivan leveys muuttuu, jos proteiini muodostaa heksameerin pienen ligandin sitoutumisen seurauksena? (1p.)



5. Kuvassa näkyy 20 kDa proteiinista, kalerytriinistä, mitattu kaksikulotteinen ^1H - ^{15}N korrelaatio-spektri ilman kalsiumia (Apo) ja kalsiumin kera (Ca^{2+}). NMR-signaalin paikka ts. taajuus riippuu ytimen (kemiallisesta) lähiympäristöstä.
- Päättele, miten kalsium vaikuttaa kalerytriinin rakenteeseen? (1p.)
 - Mikä aminohappo ei voi näkyä ^1H - ^{15}N korrelaatio-spektrissä? (1p.)
 - Kalerytriini sitoo kolme kalsium-iona. Jokaisessa sitoutumispaikassa on glysiini. Tee valistunut arvaus siitä, missä ko. kolmen glysiinin NH-signaalit ovat Ca^{2+} -kalerytriinin spektrissä ympyröimällä ne kuvaan. (1p.)
 - Kuvittele, että teet pistemutaation yhteen kalsiumia sitovaan kohtaan korvaten glysiinin tryptofaanilla. Minkälaisia mahdollisia spektrejä odotat saavasi ja mitä päättelisit niiden perusteella pistemutaation vaikutuksesta rakenteeseen? (3p.)



6. Röntgensäde, jonka aallonpituus on λ , osuu kahteen elektroniin viereisen kuvan mukaisesti. Saapuvien säteiden matkaero p voidaan lausua sirottajien välisen etäisyyden \mathbf{r} sekä tulevan \mathbf{s}_0 aaltovektorin avulla, $p = \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{s}_0 = \lambda r s_0 \cos \phi_0$.
- Kirjoita vastaavasti lähtevien säteiden matkaero q , \mathbf{r} :n ja \mathbf{s}_1 :n pistetulon avulla. (1p.)

$$q = \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{s} = \lambda r s \cos \phi_1.$$

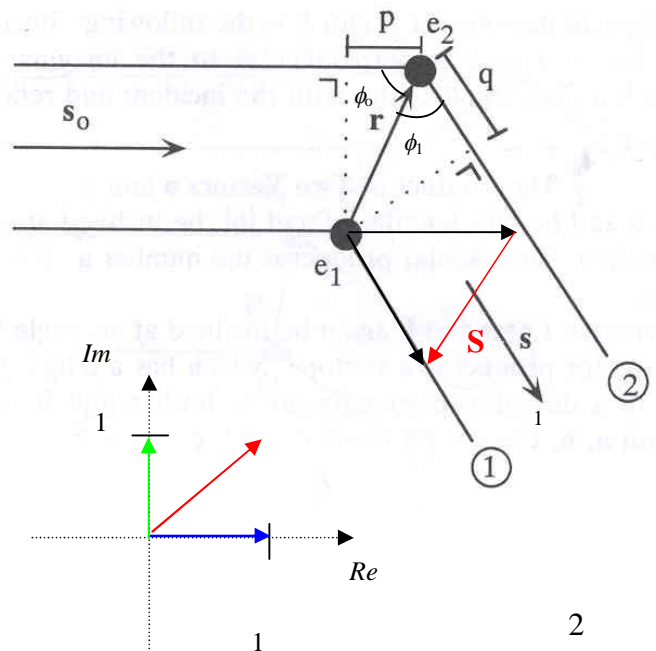
- Piirrä kuvaan $\mathbf{S} = \mathbf{s} - \mathbf{s}_0$. (1p.)
- Kirjoita \mathbf{S} :n ja \mathbf{r} :n avulla kokonais-matkaero Δl ja sitä vastaava kokonaisvaihe-ero $\Delta \phi$. (1p.)

$$\Delta l = p - q = \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{s}_0 - \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{s} = \lambda \mathbf{r} \cdot (\mathbf{s}_0 - \mathbf{s}) = \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{S}$$

$$\Delta \phi = 2\pi \lambda \mathbf{r} \cdot \mathbf{S} / \lambda = 2\pi \mathbf{r} \cdot \mathbf{S}$$

- Millä vaihe-eron arvoilla saadaan maksimisignaali? (1p.)

Vast: kun $\Delta \phi = 0, 2\pi, 4\pi,$



- e) Piirrä viereiseen koordinaatistoon paikan 1 sironta ja paikan 2 sironta ja em. kahden sirottajan yhteenlaskettu sironta ts. rakennetekijä (summavektori) $\mathbf{F} = 1 + \exp(2\pi i \mathbf{r} \cdot \mathbf{S})$, kun $\mathbf{r} \cdot \mathbf{S} = 1/4$. (Huom. $\pi/2 = 90^\circ$) (1p.)
- f) Mittaus ei kuitenkaan anna rakennetekijää sellaisenaan vaan diffraktiopiikin intensiteetti on verrannollinen rakennetekijän neliöön ts. $I = \mathbf{F} \mathbf{F}^* = |\mathbf{F}|^2$, eli \mathbf{F} :n Re -akselilla olevan komponentin pituuden neliöön. Kuvittele, että teet nk. ”raskasatomijohdannaisen” siten, että paikasta 1 tuleva sironta kaksinkertaistuu (mutta säilyttää vaiheensa). Kuinka paljon intensiteetti kasvaa? (1p.)

Vast: F on kaksinkertaistunut, joten intensiteetti on nelinkertaistunut.

