

Reforma a rozvoj výuky Biofyziky pro potřeby 21. století

Číslo výzvy: **IPo - Oblast 2.2 (výzva 15)**

Reg. č. projektu: **CZ.1.07/2.2.00/15.0215**



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Ramanův rozptyl

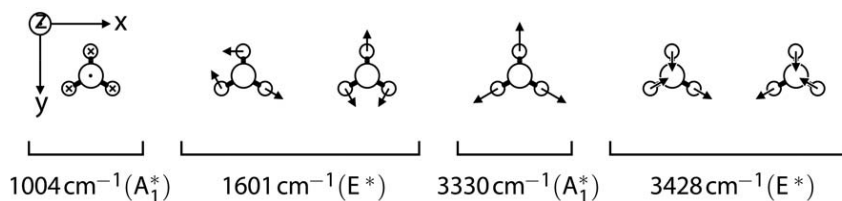
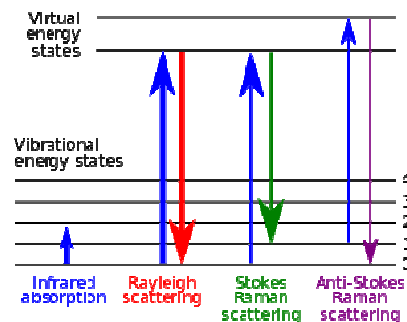
nepružný rozptyl světla (předpověděl Smekal 1923)

Raman, Krishnan 1928 (Nobelova cena 1930)

nezávisle Landsberg, Mandelstam 1928

rubínový laser (Maiman 1960), předpovězeno Einstein 1917

široce aplikovatelná spektroskopie (kapaliny, plyny, krystaly), s charakteristickými otisky materiálů reaguje na atomární uspořádání zkoumané látky prostřednictvím interakce s jejími vibracemi



dopadající elmag. vlna: $\vec{E} = \vec{E}_0 \cos \omega t$ $u(t) = u_0 \cos \Omega t$

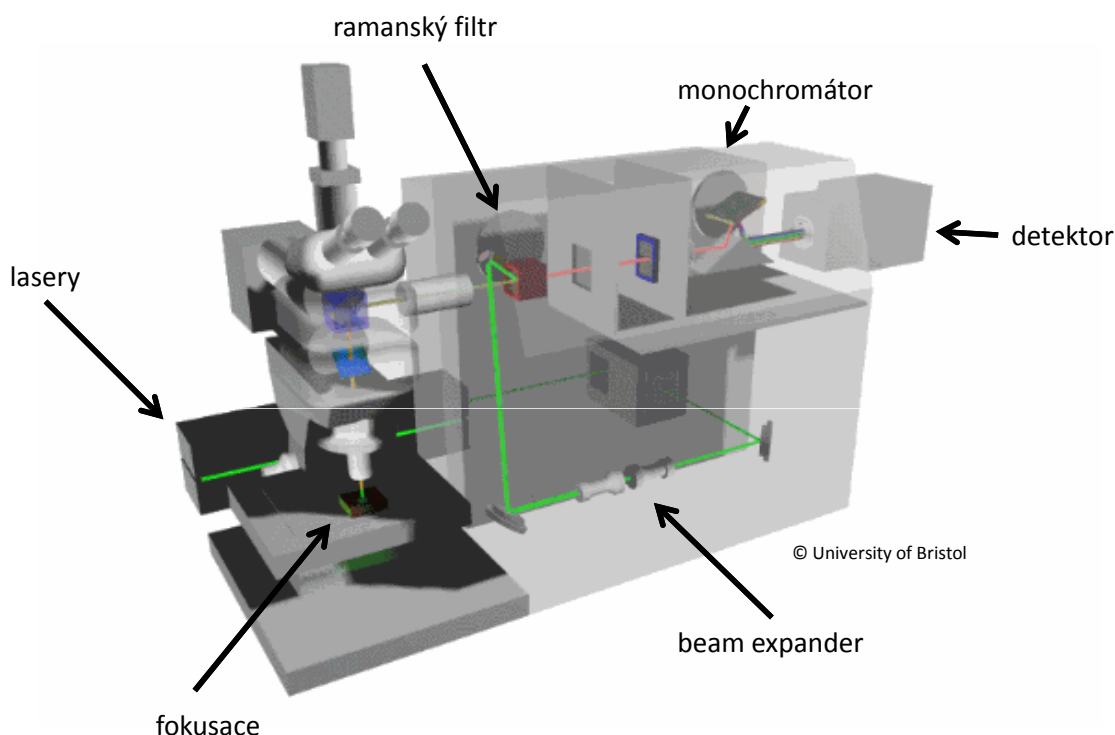
polarizovatelnost spojená s vibrací $\alpha = \alpha_0 + \alpha_1 u(t) + \alpha_2 u^2(t) + \dots$

indukovaný elektrický dipólový moment :

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos \omega t + \alpha_1 \vec{E}_0 u_0 \cos \omega t \cos \Omega t = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos \omega t + \frac{1}{2} \alpha_1 \vec{E}_0 u_0 [\cos(\omega + \Omega)t + \cos(\omega - \Omega)t]$$

výběrová pravidla pro Ramanův rozptyl prvního řádu: $\omega = \omega' \pm \Omega$ $k = k' \pm K$

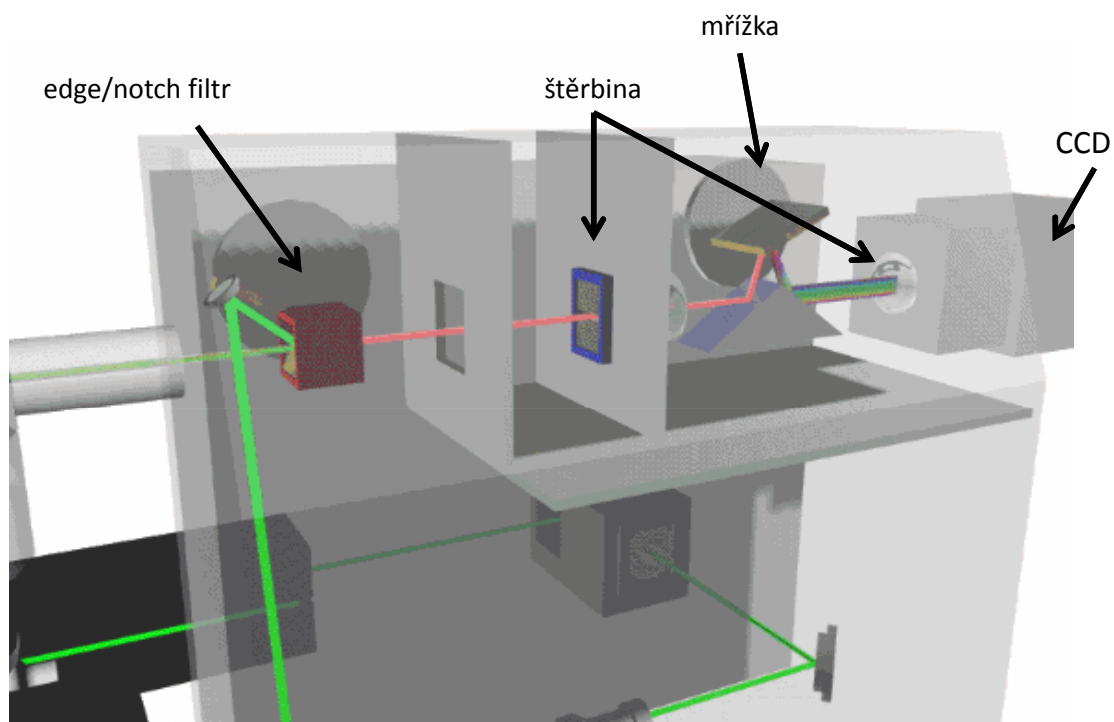
(mikro) Ramanský spektrometr



© University of Bristol

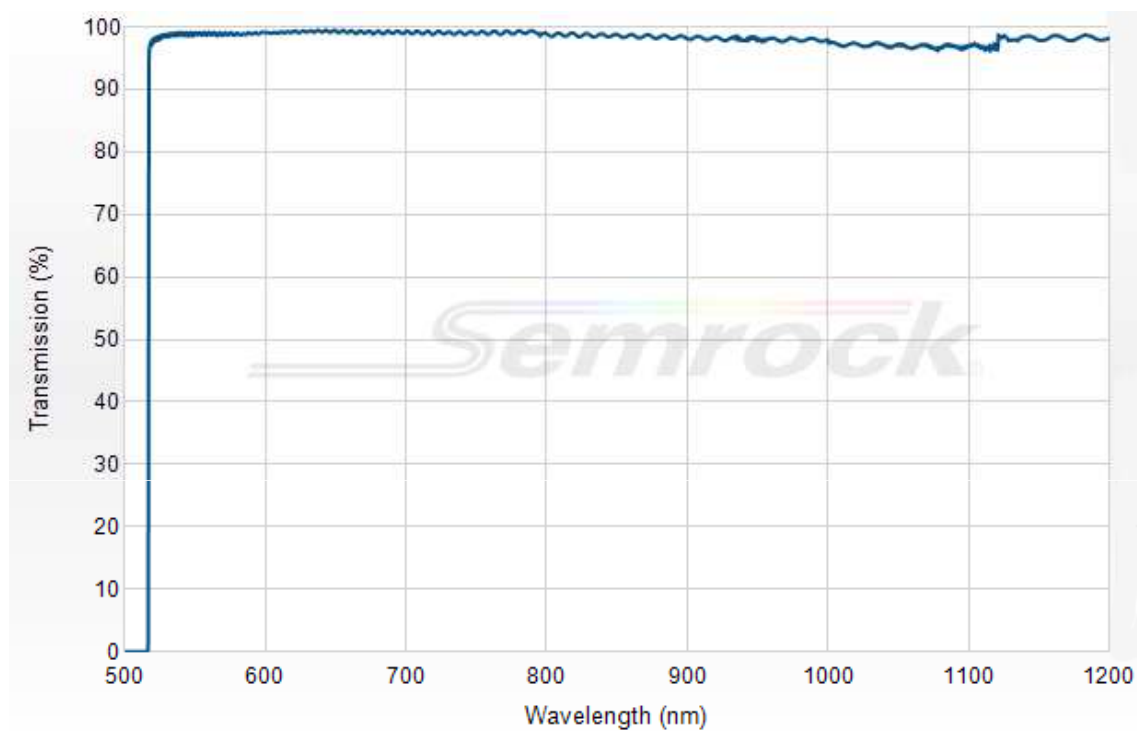
Renishaw inVia, cca 7mil. Kč

(mikro) Ramanský spektrometr



© University of Bristol

Renishaw inVia, detail optické cesty



514 nm RazorEdge® ultrasteep long-pass edge filter, SEMROCK

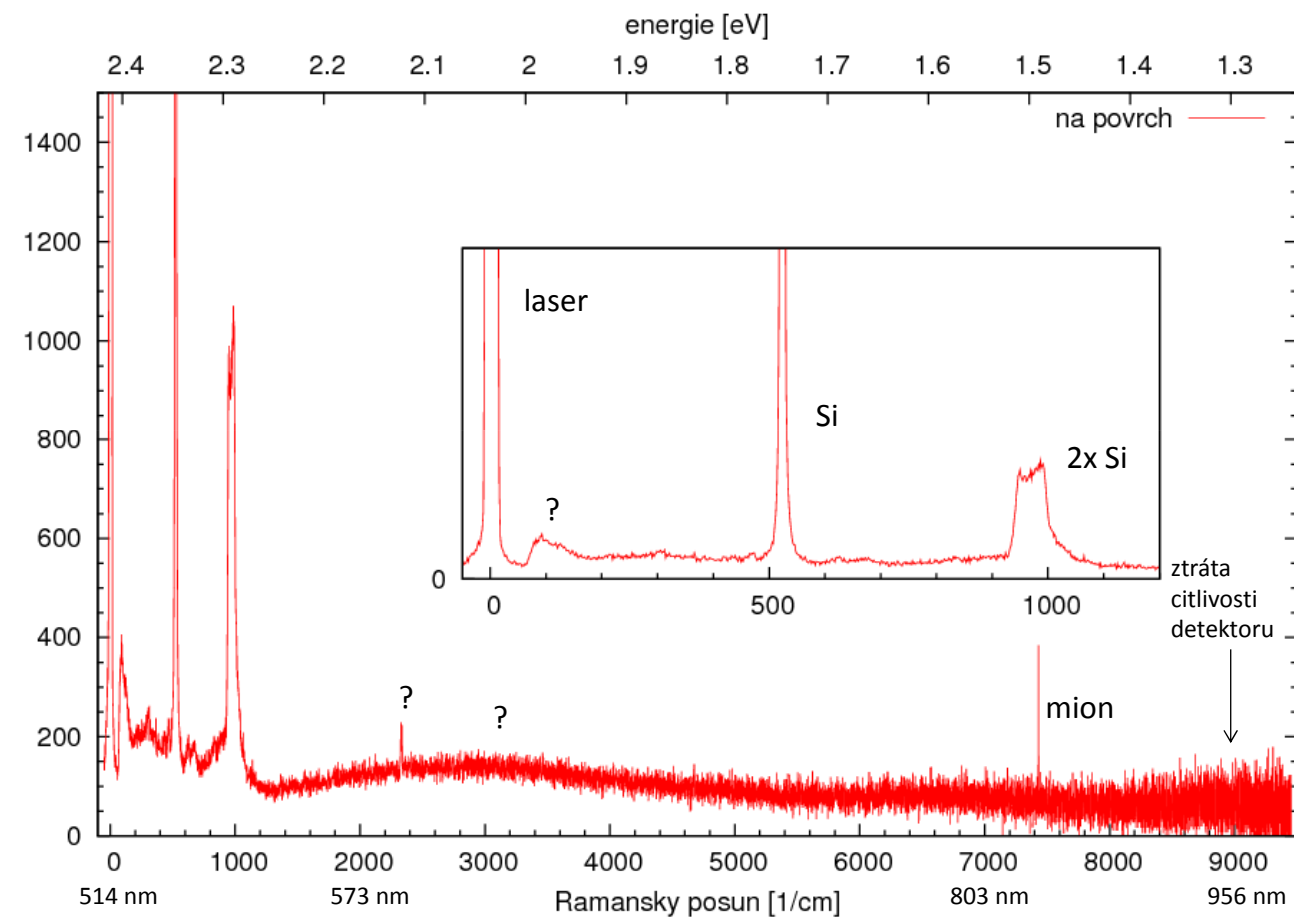
- Laser Wavelength = 514.5 nm
- 97 cm^{-1} transition
- $T_{\text{avg}} > 93\%$ 517.8 – 1160.5 nm

Custom sizing available in less than a week (sizing fee applies).

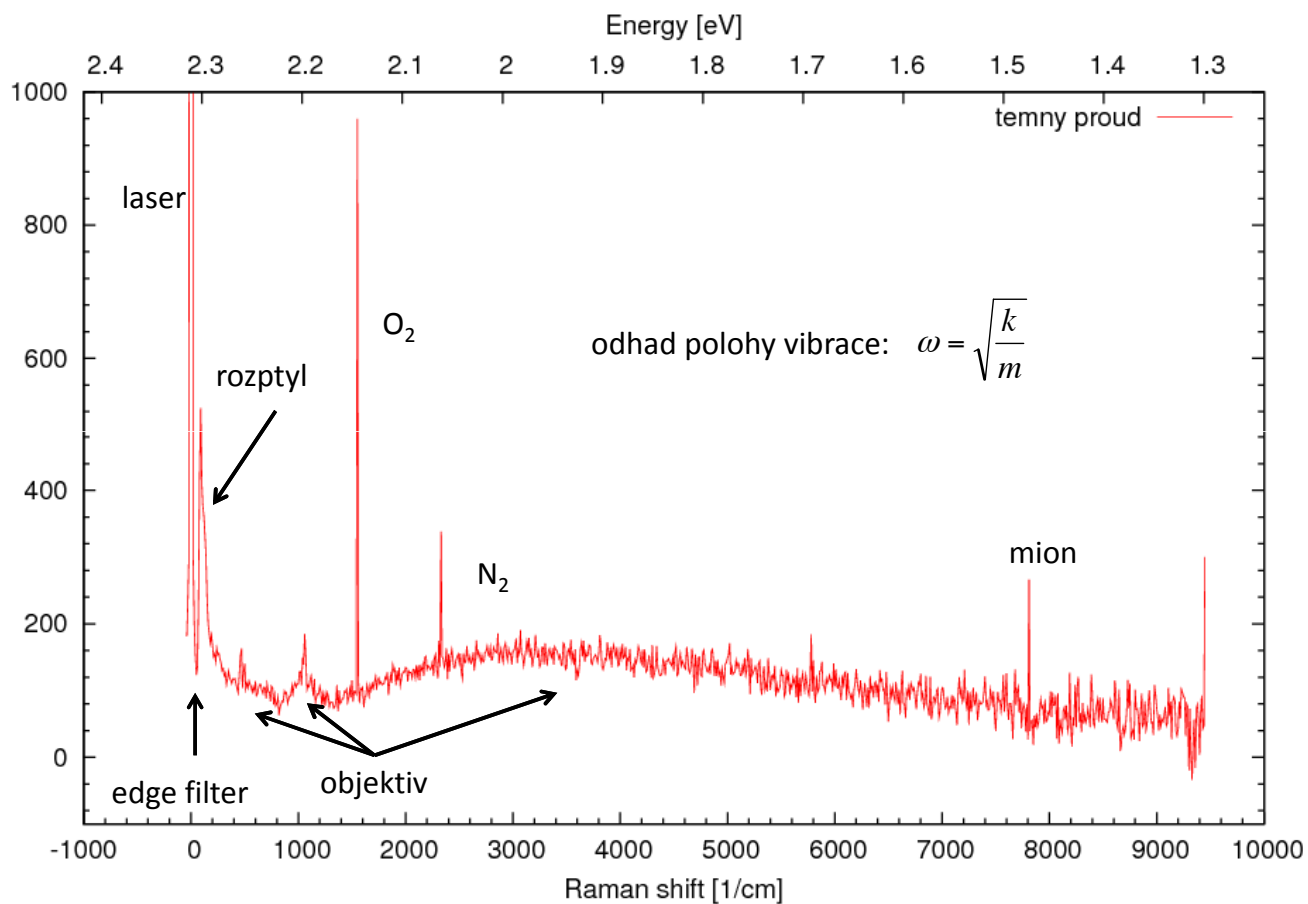
Part # [LP02-514RE-25](#)

\$995

epitaxe 15 um, neoxidovany, 20mW at 514 nm, AFM 10x, Janis 71K, 1x10s, pos 1



expitaxe 15 um, neoxidovany, 20mW at 514 nm, 10x AFM, Janis, 1x10s



ramanská spektra proteinů (a jejich aminokyselinových složek)

aminokyseliny: obsahují $-\text{COOH}$ a $-\text{NH}_2$ skupinu

alfa-aminokyseliny: obě skupiny navázány na stejném uhlíku (C_α)

biogenní aminokyseliny: 20 alfa-L-aminokyselin, podílejí se na stavbě většiny bílkovin živých tkání
(+ 2 speciální, výjimečně také alfa-D formy aminokyselin)

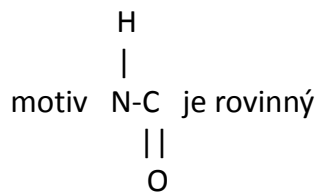
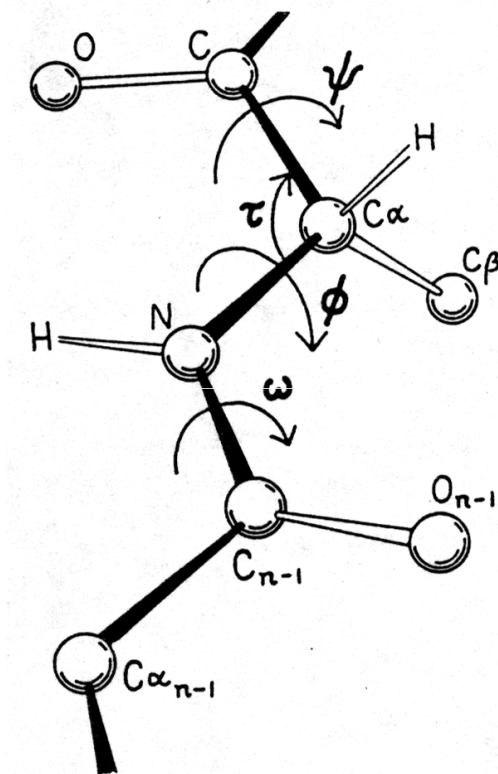
bílkoviny: lineární posloupnost aminokyselin (primární struktura) ve složitém prostorovém uspořádání (sekundární až kvartérní struktura)

proteiny nebo (poly)peptidy, dle délky řetězce

vzorový peptid: základní motiv carboxy-terminal domain (CTD) RNA-polymerázy II

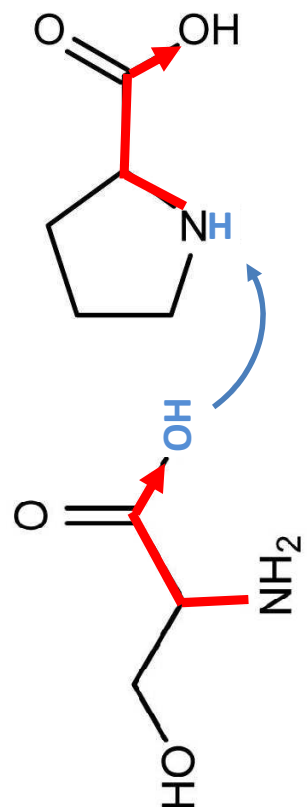
heptamer **Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser**,
v našem případě s fosforylovaným prostředním serinem

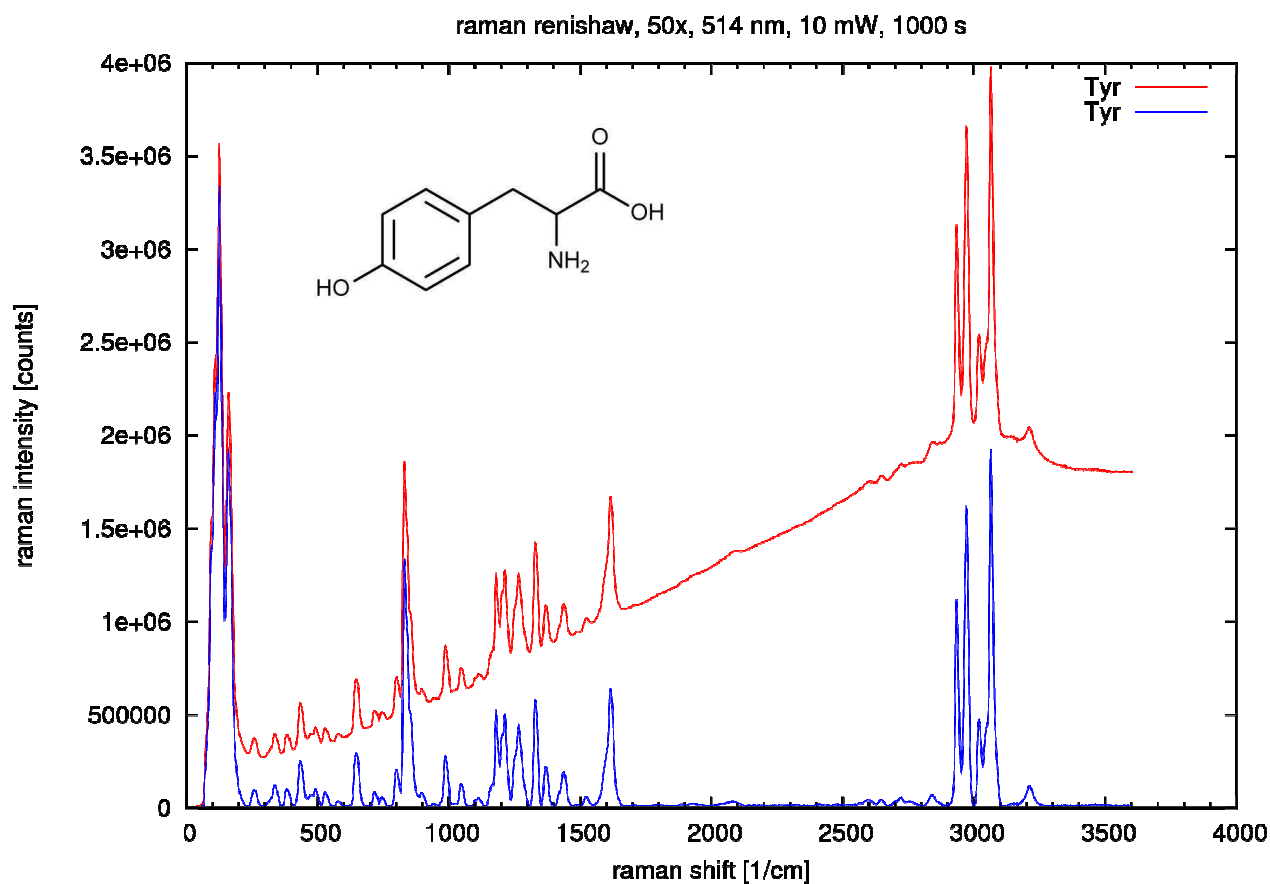
primární struktura – pořadí aminokyselin



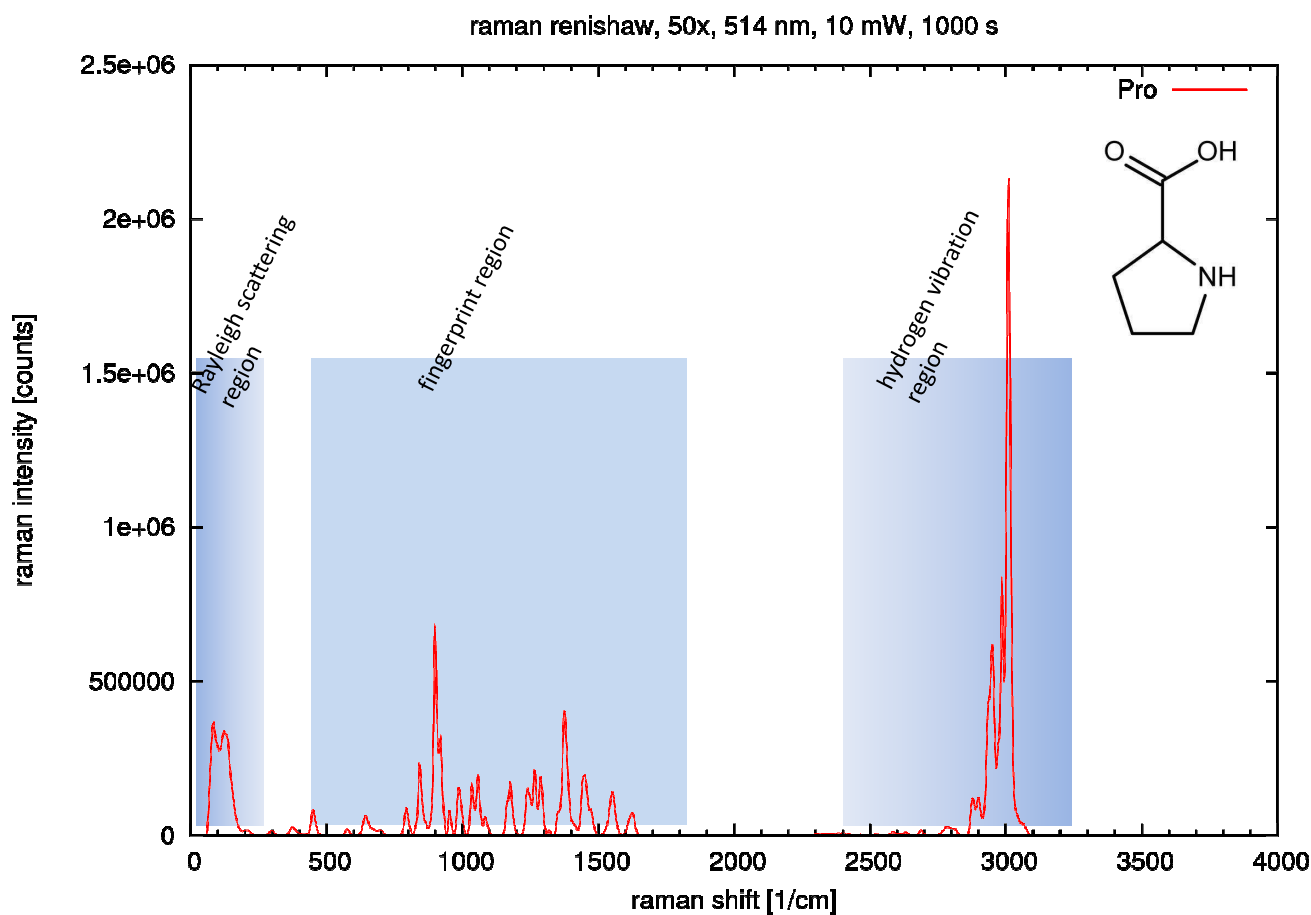
jednotlivé aminokyseliny se
pouze otáčejí kolem uhlíků C_α

dva po sobě jdoucí uhlíky C_α
mají vždy stejnou vzdálenost

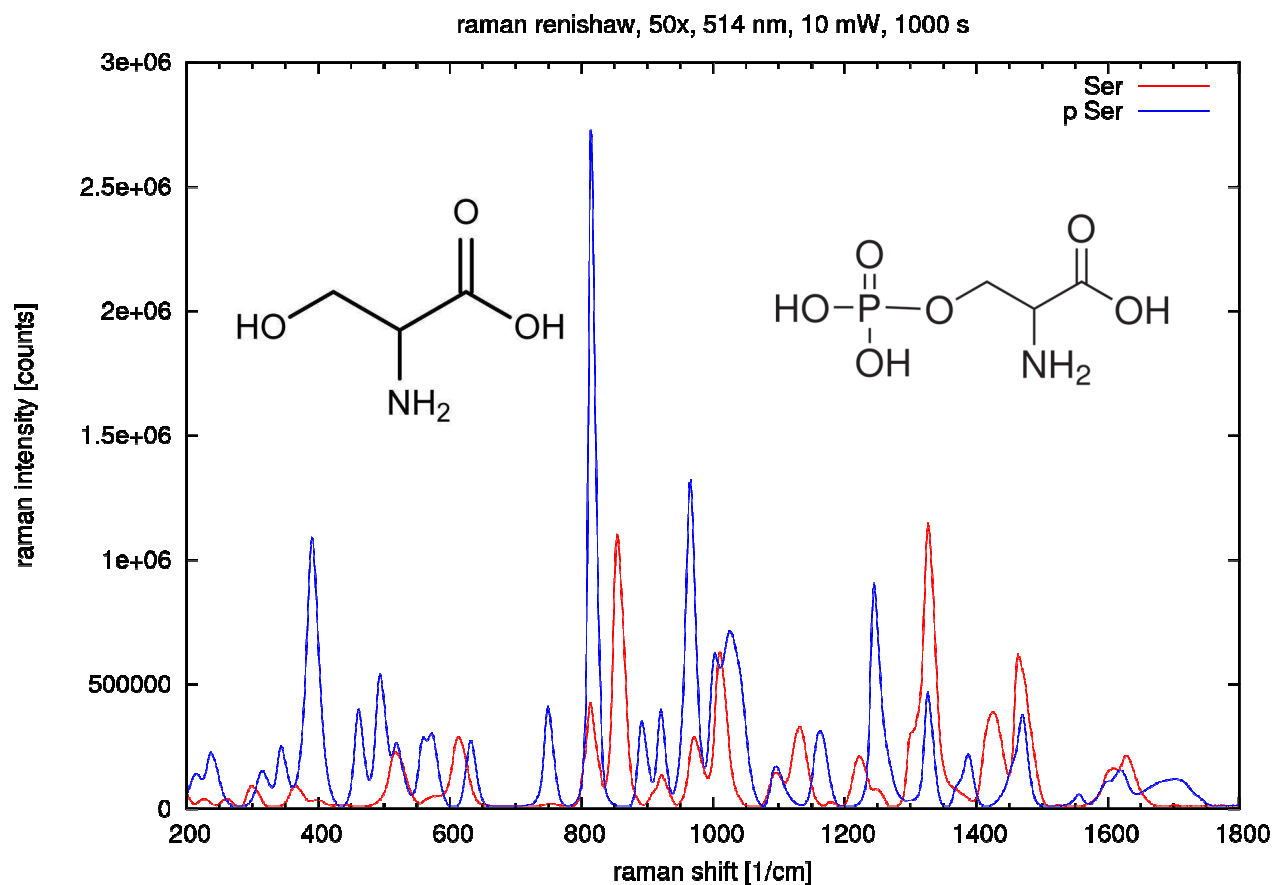




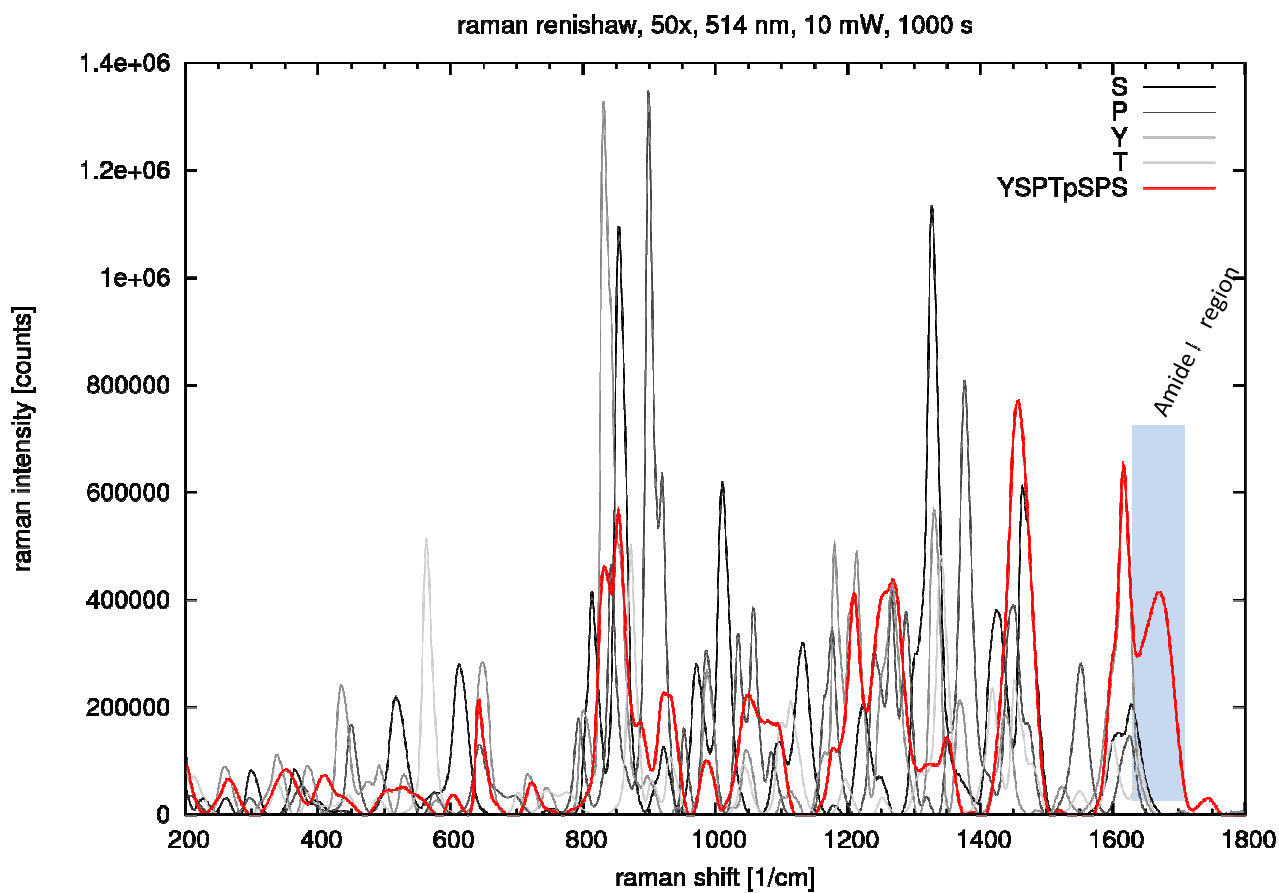
ramanské spektrum of lyofilizovaného Tyrosinu, bez (červeně) a s (modře) odstraněním luminiscence



ramanské spektrum lyofilizovaného prolinu

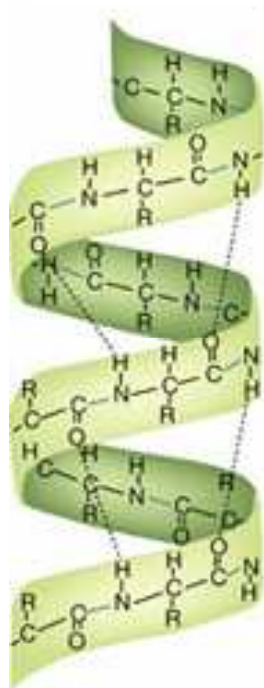


vliv fosforylace serinu na ramanské spektrum

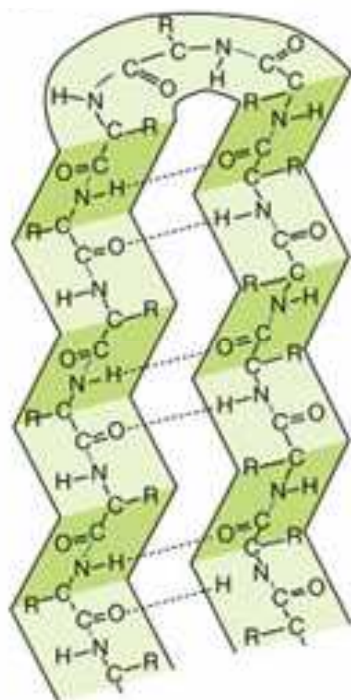


ramanská spektra (částečně fosforylovaného) CTD a jeho aminokyselinových konstituentů

sekundární struktura proteinu - stabilizována vodíkovými můstky



α -helix



β -pleated sheet

vliv sekundární struktury
na vibrační pásy [1/cm]:

| | Amide I | Amide III |
|-------------|-----------|-----------|
| alpha-helix | 1645-1660 | 1265-1300 |
| beta-sheet | 1665-1680 | 1230-1240 |
| beta-turns | 1640-1690 | 1290-1330 |
| unordered | 1660-1670 | 1240-1260 |

[1] Max Diem: Introduction to Modern
Vibrational Spectroscopy, Wiley 1993