



Флуоресцентные кюветы с диагональной пластинкой

Н. Векшин nvekshin@rambler.ru

Известно, что наибольшей чувствительностью среди всех инструментальных методов анализа обладает флуоресцентная спектроскопия, позволяющая детектировать микро- и наномолярные концентрации веществ и получать информацию о свойствах микрообъектов, их структуре, подвижности и взаимодействиях [1, 2]. В статье рассмотрен метод увеличения чувствительности флуоресцентного анализа. Для увеличения чувствительности флуоресцентного анализа предлагается использовать кювету с прозрачной кварцевой диагональной пластинкой, на поверхности которой помещен образец (рис.1).

Кварцевая пластинка устанавливается в кювету по диагонали так, чтобы паразитный свет не попадал в канал регистрации, а линза обеспечивала максимальное собирание потока флуоресценции из центра. Образец, иммобилизованный или сорбированный на пластинке, помещается точно в центр, что позволяет увеличить сигнал на порядок (по сравнению с раствором такого же количества образца, хотя образец на пластинке обычно гипохромирован). Для устранения паразитных отражений кювета заполняется водой (если образец не растворяется в воде) или наоборот – инертным растворителем, например перфтордекалином (если образец растворяется в воде). При этом возможно проведение флуориметрического определения кинетики химических и биохимических реакций [3]. Кроме того, применение пластинки имеет еще одно преимущество: образец, фиксированный на

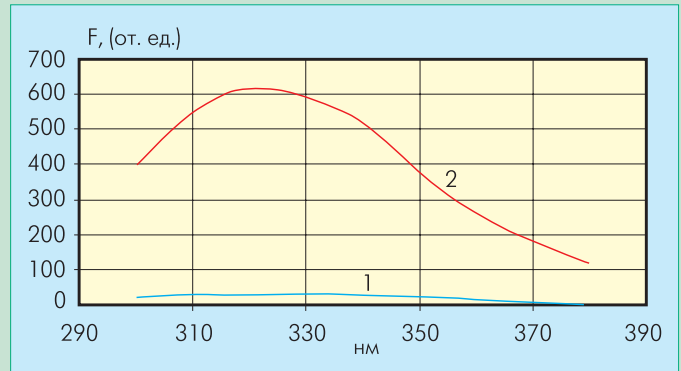


Рис.2 Спектр триптофановой флуоресценции белков митохондрий: 1 (синяя) – в растворе в стандартной кювете; 2 (красная) – на диагональной кварцевой пластинке в зеркальной кювете, заполненной перфтордекалином

ней, можно использовать многократно, помещая пластинку (после промывки) в нужную среду.

Дополнительное увеличение флуоресцентного сигнала достигается применением разработанных ранее зеркальных кювет [1,4]. Причем такие кюветы обеспечивают существенно большее усиление сигнала от образца на пластинке, чем от растворенного образца. Например, если зеркальная кювета длиной 1 см дает для растворенного образца усиление в 3,5 раза (по сравнению со стандартной кюветой), то для образца на пластинке она дает усиление в 5 раз (по сравнению со стандартной кюветой с диагональной пластинкой). В итоге суммарное усиление флуоресценции в зеркальной кювете с диагональной пластинкой оказывается в десятки раз выше по сравнению со стандартной кюветой с растворенным образцом. На рис.2 для примера приведен спектр триптофановой флуоресценции белков митохондрий в растворе в стандартной кювете и на диагональной кварцевой пластинке в зеркальной кювете.

Благодаря использованию подобных кювет удается измерять чрезвычайно малые концентрации веществ, например следы ферментов и ДНК, что может быть использовано в криминалистике и для различных медико-биологических анализов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vekshin N.L. Photonics of Biopolymers. – Springer, 2002.
2. Vekshin N.L. Energy Transfer in Macromolecules. – SPIE, 1997.
3. Векшин Н.Л. Флуоресцентная спектроскопия биополимеров. – Пущино, 2006.
4. Векшин Н.Л. – Оптическая техника, 1994, №3, с.18–20.

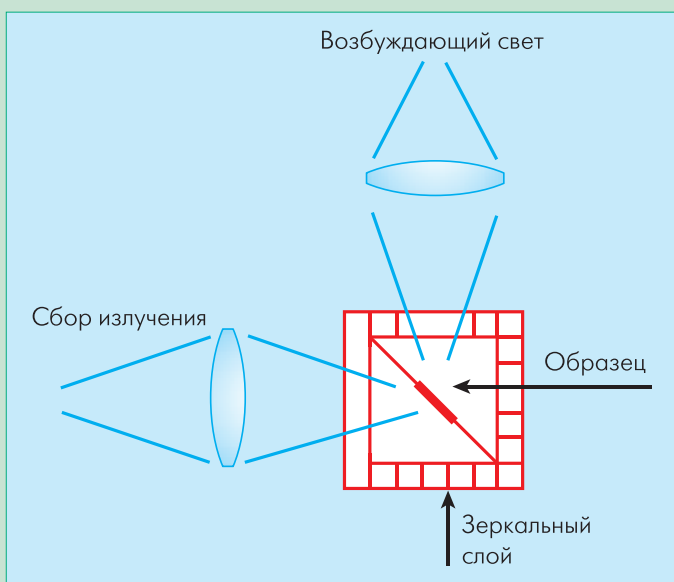


Рис.1 Схема флуориметрической кюветы с пластинкой (вид сверху). Образец в виде мазка или пленки расположен на той стороне пластинки, которая обращена к возбуждающему свету