

УДК 535.372+616-089.819

СИСТЕМА РЕГИСТРАЦИИ ПАРАМЕТРОВ ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ ЭНДОГЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ С ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКИМ ЗОНДОМ

Шуплецов В.В. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Научно-технологический центр биомедицинской фотоники,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия),

Стельмащук О.А. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Научно-технологический центр биомедицинской фотоники,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия)

Научный руководитель – к.т.н. Жеребцов Е.А.
(Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Научно-технологический центр биомедицинской фотоники,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия)

Аннотация Работа посвящена разработке экспериментальной системы регистрации времени жизни флуоресценции биологических тканей.

Введение.

В настоящее время оптические диагностические методы, основанные на измерении параметров времени жизни флуоресценции, нашли широкое распространение при исследованиях клеток и живых организмов. Анализ параметров времени жизни флуоресценции позволяет исследователям получить необходимую информацию о биохимических взаимодействиях флуорофоров на молекулярном уровне, а также о метаболическом состоянии клеток и взаимодействии ряда коферментов, например, никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД) с окружающими веществами. На сегодняшний день существует ряд различных принципов создания систем для регистрации параметров времени жизни флуоресценции, различающихся эффективностью регистрации фотонов, временем регистрации необходимого для записи, временным разрешением и т.д. В настоящем исследовании представлена экспериментальная система счета одиночных фотонов с корреляцией по времени (Time Correlated Single Photon Counting – TCSPC), основанной на зондировании исследуемого образца импульсным лазерным излучением высокой частоты и регистрацией единичных фотонов флуоресцирующего сигнала с последующим формированием распределения фотонов по времени жизни в течение облучающего лазерного импульса.

Основная часть.

Реализованная экспериментальная система TCSPC имеет два канала измерения и состоит из следующих компонентов. Для возбуждения флуоресценции используется лазерный источник BDS-SM-375-FBC-101, с пиком излучения в области 375 нм и частотой повторения импульсов 80 МГц, совместно с монохроматором MonoScan2000 (OceanOptics). В качестве детекторов используется два гибридных фотодетектора HPM-100-40-CMOUNT (Becker & Hickl, Германия) со спектральным диапазоном чувствительности 250-720 нм и квантовой эффективностью в 45% (для 500 нм). Фотонно-импульсные выходы двух детекторов подключаются к двум модулям счета фотонов соответственно. Для выделения участков спектров флуоресценции, перед оптическими входами детекторов используются флуоресцентные оптические фильтры MF 479-40 и MF 530-43 (ThorLabs, США). Источник лазерного излучения и детекторы подсоединены к волоконно-оптическому зонду, состоящему из одного одномодового зондирующего волокна и двух собирающих многомодовых волокон. Расстояние источник-детектор между излучающим и собирающим световодами составляет около 1 мм.

В качестве экспериментальной части, для определения чувствительности системы, были проведены измерения параметров времени жизни растворов, содержащих НАДН и ФАД в концентрациях, близких к реальным справочным значениям в тканях человека. Значения параметров времени жизни флуоресценции для канала 479 ± 40 нм отличается от данных,

полученных в канале 530 ± 43 нм для каждого раствора, что указывает на чувствительность к измерению указанных флуорофоров.

Выводы.

Использование разработанной системы регистрации времени жизни флуоресценции является перспективным для дальнейших исследований биологических тканей с более подробным анализом влияющих на результаты параметров. Применение представленной системы TCSPC позволяет количественно оценивать сложные профили кинетики затухания анализируемых веществ в составе сложных многокомпонентных сред, включая живые биоткани.