

ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ, ДНК И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

В. С. Горелик¹, И. И. Сутула

Исследованы спектры фотолюминесценции нуклеиновых оснований, ДНК и двух типов микроорганизмов, возбуждаемые излучением четвёртой гармоники лазера YAG:Nd³⁺ с длиной волны 266 нм. Показано, что фотолюминесценция в данных биологических объектах весьма эффективно возбуждается вследствие близости длины волны возбуждающего излучения к краю фундаментального поглощения анализируемого объекта.

Ключевые слова: ДНК, нуклеиновые основания, лазер, спектр, бактерии, фундаментальное поглощение, ультрафиолетовое излучение.

Квантовый выход фотолюминесценции (ФЛ) ДНК составляет $10^{-4} - 10^{-5}$, т.е. существенно ниже, чем у большинства ароматических люминофоров, вследствие сложной структуры этого соединения и проявления различных процессов тушения ФЛ. В связи с этим до настоящего времени удавалось зарегистрировать спектры ФЛ ДНК лишь при низких температурах.

В данной работе была поставлена задача регистрации спектров ФЛ твердотельной фазы ДНК и входящих в её состав нуклеиновых оснований, а также двух типов микроорганизмов на основе использования современных методов волоконно-оптической лазерной спектроскопии. Спектры ФЛ возбуждались четвёртой гармоникой импульсно-периодического лазера на алюмоиттриевом гранате со средней мощностью излучения 10 мВт. При этом длина волны возбуждающего излучения составляла 266 нм, что соответствует краю фундаментального поглощения исследуемых биологических объектов.

Был зарегистрирован при комнатной температуре спектр ФЛ конденсированной фазы ДНК цыплёнка, иллюстрируемый на рис. 1. Как видно из этого рисунка, спектр ДНК цыплёнка регистрируется при малом уровне шумов и находится в диапазоне 400–650 нм.

Физический институт им. П. Н. Лебедева Российской академии наук.

¹ E-mail: gorelik@sci.lebedev.ru

Как выяснилось, спектр излучения нуклеиновых оснований (аденина, гуанина, цитозина, тимина и урацила) также находится в диапазоне 400–600 нм, что свидетельствует о том, что главный вклад в спектр ФЛ ДНК обусловлен этими основаниями.

В качестве микроорганизмов исследовались два типа бактерий: *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus Subtilis*. Микроорганизмы находились в споровом состоянии в физиологическом (0.9%) водном растворе поваренной соли. Концентрация микроорганизмов изменялась в диапазоне 10 – 10^6 мл⁻¹. Рис. 2 и 3 иллюстрируют вид спектров ФЛ водной взвеси бактерии “*Bacillus thuringiensis*” для концентрации 10^3 мл⁻¹.

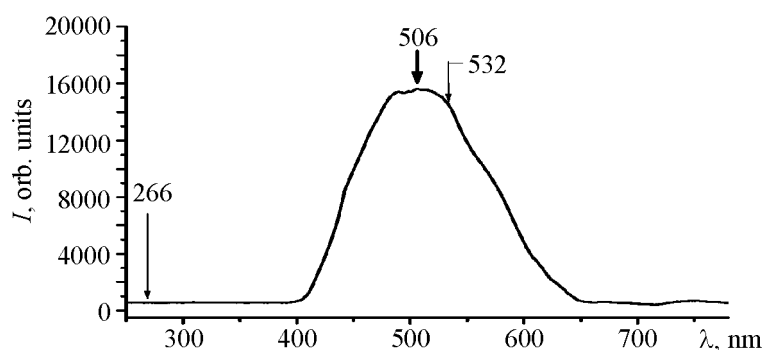


Рис. 1: Спектр ДНК цыпленка при возбуждении 4-ой гармоникой лазера.

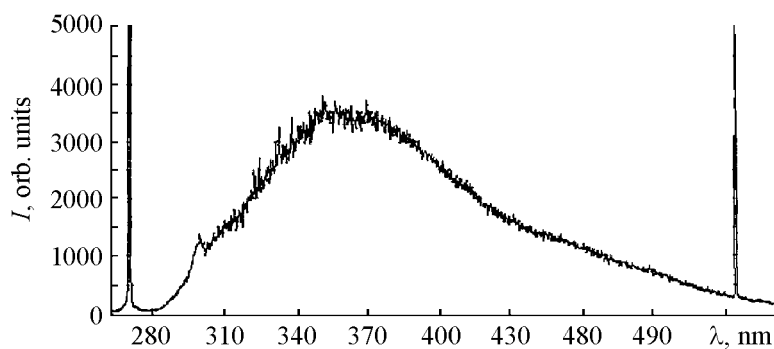


Рис. 2: Спектр ФЛ бактерий *Bacillus thuringiensis* при концентрации 10^3 мл⁻¹ (*in vivo*). Возбуждение линией 271.2 нм.

При этом спектр, представленный на рис. 2, соответствует бактерии *in vivo*, а спектр на рис. 3 – бактерии, предварительно подвергнутой облучению жестким (менее 200 нм) ультрафиолетовым излучением в течение 30 мин.

Как видно из рис. 2 и 3, в результате облучения микроорганизма коротковолновым ультрафиолетовым излучением спектральный диапазон ФЛ микроорганизма смещается

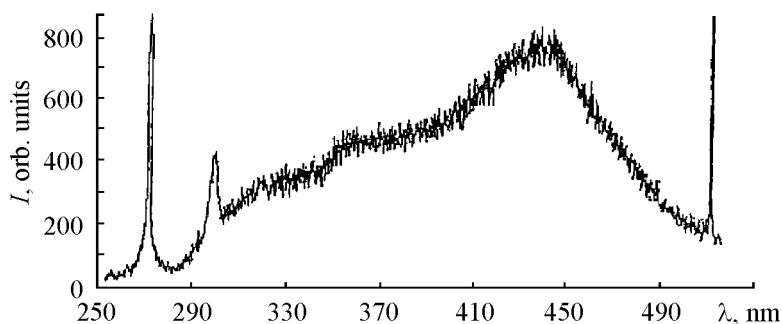


Рис. 3: Спектр ФЛ бактерий *Bacillus thuringiensis*, подвергнутых воздействию жесткого ультрафиолетового облучения в течение 30 мин. Концентрация бактерий в водной взвеси – 10^3 мл^{-1} . Возбуждение линией 271.2 нм.

в длинноволновую область, что свидетельствует о существенном видоизменении его микроструктуры и разрушении белковых и генетических компонент.

Таким образом, в результате выполненных исследований установлено, что при использовании в качестве возбуждающего излучения четвертой гармоники лазера YAG:Nd³⁺, длина волны которого соответствует краю фундаментального поглощения ДНК, нуклеиновых оснований и микроорганизмов, удаётся регистрировать надёжные спектры ФЛ от этих объектов при комнатной температуре. Полученные результаты представляют интерес для диагностики состояния ДНК и структурного состояния микроорганизмов на основе регистрации их спектров ФЛ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ; гранты №№ 08-02-00114, 09-02-00582, 10-02-00293, 10-02-90042, а также Программы № 27 Президиума РАН “Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов”.

Л И Т Е Р А Т У Р А

[1] V. S. Gorelik, Journal of Russian Laser Research **20**(2), 169 (1999).

По материалам 3 Всероссийской молодежной школы-семинара “Инновационные аспекты фундаментальных исследований по актуальным проблемам физики”, Москва, ФИАН, октябрь 2009 г.

Поступила в редакцию 27 апреля 2010 г.