

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА КАНТИЛЕВЕРОВ АТОМНО-СИЛОВОГО МИКРОСКОПА

А.Гайдук¹, М.Антоник², К.Сандхаген², В.Кудрявцев², К.Зайдель², Р.Кюнемуд²

¹Институт Молекулярной и Атомной Физики НАНБ, пр-т. Ф.Скорины 70, Минск, Беларусь.

²Макс-Планк-Институт Биофизической Химии, Фассберг 11, 37077 Гёттинген, Германия.

Совмещение методики атомно-силовой микроскопии – атомно-силовой спектроскопии с методиками оптической спектроскопии позволит решать многие задачи биофизики по свертыванию белков и протеинов, везикулярной динамике, исследованию структуры биополимеров и флуоресцентных свойств красителей [1,2].

Экспериментальная установка для оптической и атомно-силовой микроскопии состоит из коммерческого атомно-силового микроскопа (Pico-AFM, Molecular Imaging), помещённого на трёхкоординатный пьезотранслятор (Piezosystem Jena), закреплённый на месте предметного столика обратного флуоресцентного микроскопа (IX70, Olympus). Вся система собрана на виброзащищённом оптическом столе и находится в звукоизолированной коробке. Для возбуждения флуоресценции используется линейно поляризованный Ar^+ - лазер с активной модуляцией добротности (496 нм, 73,5 МГц, 200пс).

Одним из важных вопросов, относящихся к экспериментальной реализации совмещения атомно-силовой спектроскопии, флуоресцентной спектроскопии одиночных молекул и явления флуоресцентного резонансного переноса энергии в одиночных молекулах, является изучение флуоресцентных свойств сенсоров АСМ и определение условий применимости их для такого рода экспериментов.

Нами были исследованы флуоресцентные свойства ряда коммерческих кантилеверов: DI - кантилеверы (Digital Instruments, США), Park - кантилеверы (TM Microscopes, США), Biolever - кантилеверы (Olympus, Япония), непокрытые золотом SiN - кантилеверы (TM Microscopes), Nanosensor - кантилеверы (Nanosensors, Германия) и HDC - кантилеверы (NanoTOOLS, Германия).

Для изучения флуоресценции использовались:

- Конфокальное эпи-люминесцентное возбуждение и анализ с использованием двух каналов в четырёхканальной схеме мультипараметрического флуоресцентного детектирования [4].
- Конфокальное эпи-люминесцентное возбуждение и спектральный анализ с использованием дифракционного спектрографа, оснащённого ПЗС-камерой.

В результате получены изображения интенсивности флуоресценции поверхности кантилеверов при различных рабочих расстояниях (расстояние от поверхности стекла до острия кантилевера). Полученные изображения позволяют определить условия применимости каждого типа кантилеверов при данной схеме возбуждения и регистрации флуоресценции исходя из оценки соотношения сигнал/шум для люминесцентного сигнала от одиночной молекулы.

Возможность применения того или иного вида кантилеверов можно повышать путем применения методики детектирования флуоресцентного сигнала с определённой задержкой по отношению к импульсу возбуждения. Так как основным сигналом от кантилеверов является быстрозатухающий сигнал рассеяния, то эта методика позволяет анализировать флуоресценцию одиночной молекулы со значительно увеличенным

соотношением сигнал/шум и применять для экспериментов кантилеверы с более подходящими механическими свойствами.

Авторы искренне благодарны к.ф.-м.н. С.Фелекяну за поддержку и обсуждение в ходе подготовки.

Список использованных источников.

1. S. Weiss, (1999) *Science* 283, 1676-1683
2. C. Bustamante, J.C. Macosko, G.J.L. Wuite, (2000) *Nature Reviews* 1, 130-136.
3. A. Janshoff, M. Neizert, Y. Oberdörfer, H. Fuchs, (2000) *Angew. Chem. Int. Ed.* 39, 3212-3237.
4. C. Eggeling, S. Berger, L. Brand, J.R. Fries, J. Schaffer, A. Volkmer and C.A.M. Seidel, (2001) *J. Biotechnol.* 86, 163-180.