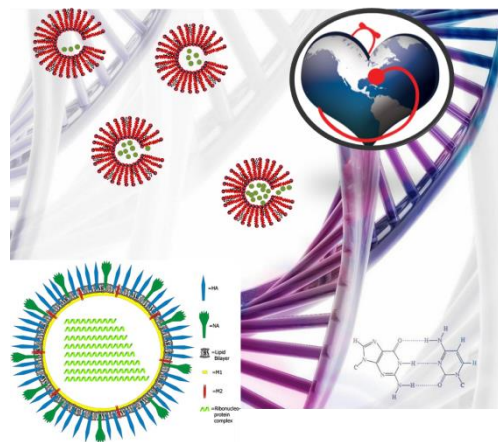


Moderní nástroje pro zobrazování biologicky významných molekul pro zajištění zdraví

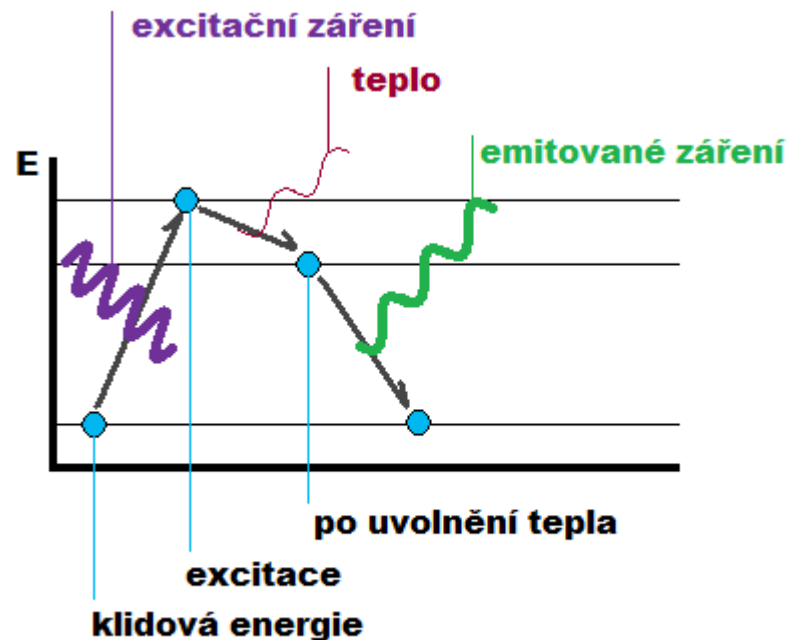
René Kizek

12.04.2013



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Fluorescence je fyzikálně chemický děj, který je typem luminiscence. Luminiscence se dále dělí na elektroluminiscenci, fotoluminiscenci, radioluminiscenci a chemiluminiscenci. Fluorescence patří mezi fotoluminiscenční záření, které je vyvoláno buď účinkem jiného dopadajícího záření, nebo účinkem dopadajících částic.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Původ luminiscenčního záření je v atomech popřípadě v molekulách látek. Model atomu byl navržen již v roce 1911 anglickým fyzikem Ernestem Rutherfordem. Tento model byl dále upravován a upřesňován dalšími fyziky. Pro pochopení fluorescence je postačující představa modelu atomu dánského fyzika Nielse Bohra, který se domníval, že elektrony obíhají jen po určitých drahách - orbitalech. Každý orbital představuje určitou hladinu energie potřebnou pro udržení elektronu v obalu. Čím je orbital vzdálenější, tím více energie na udržení je potřeba a naopak tím menší energie je potřeba na odtržení elektronu.



Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Polarizace fluorescence

Je-li roztok fluoroforů excitován lineárně polarizovaným zářením, potom budou excitovány pouze ty molekuly, které mají nenulový průmět svého absorpčního přechodového momentu do směru polarizace (fotoselekce). Je-li průměrná rotační relaxační doba (charakterizující rotační difúzi v roztocích) mnohem delší než doba dohasínání fluorescence, potom také výsledná fluorescence bude polarizována. Bude-li naopak průměrná rotační relaxační doba mnohem kratší než doba dohasínání fluorescence, potom anizotropie systému klesne ještě před emisí na limitní hodnotu (v izotropním systému o malé viskozitě až na nulu). Pokud jsou doba dohasínání fluorescence a rychlost molekulární reorientace srovnatelné, potom bude polarizace fluorescence modulována molekulárním pohybem a analýza časové závislosti emisní anizotropie bude poskytovat informaci o anizotropii systému, v němž se fluorofor nachází.

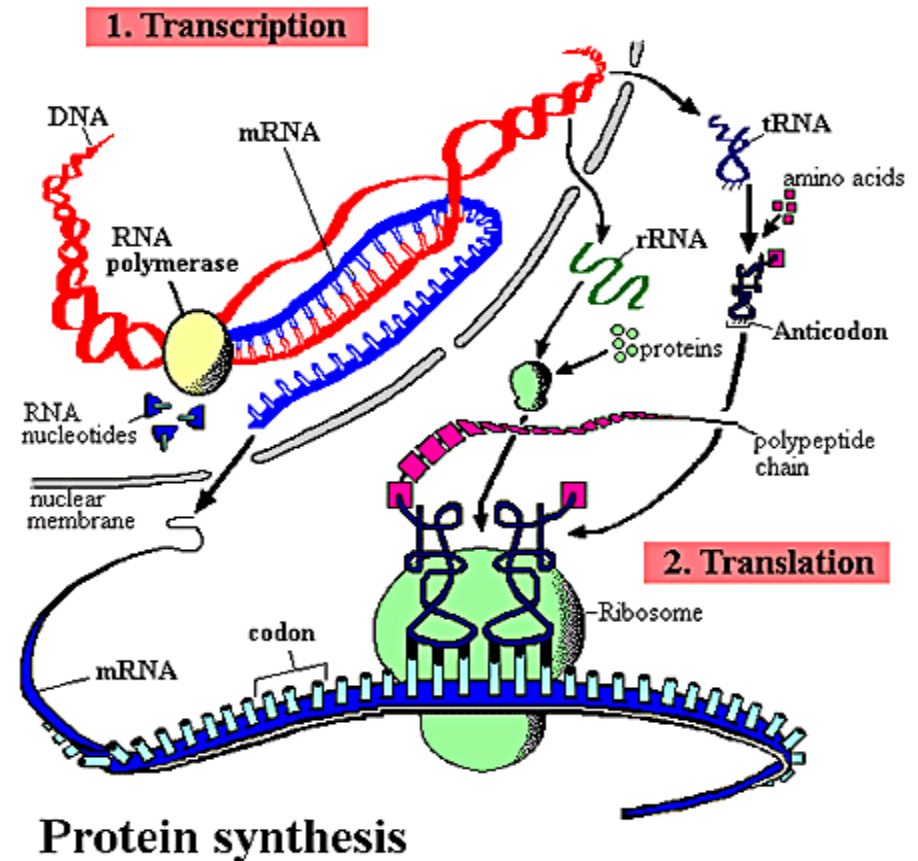
Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik



Měření polarizace fluorescence poskytuje informace o molekulární orientaci a pohyblivosti a procesech, které je modulují, např.:

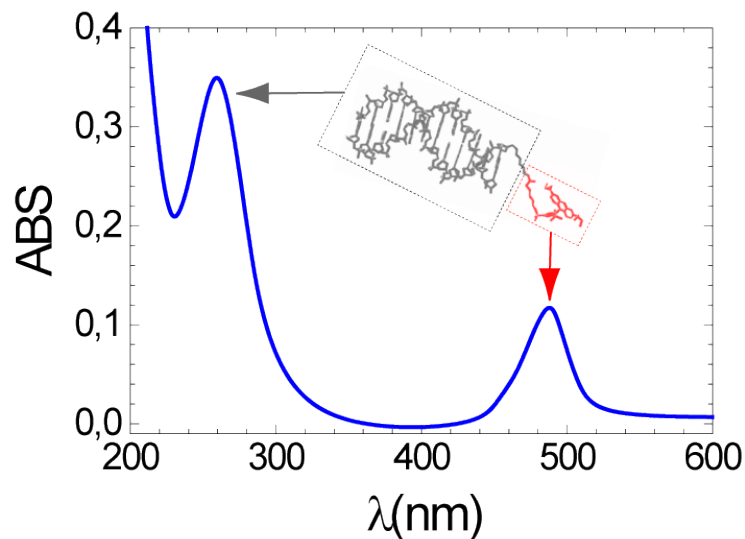
- fluidita membrán
- interakce ligand-receptor
- proteolýza
- interakce protein-DNA
- kontrakce svalů
- aktivita proteinkináz



Zhášení fluorescence

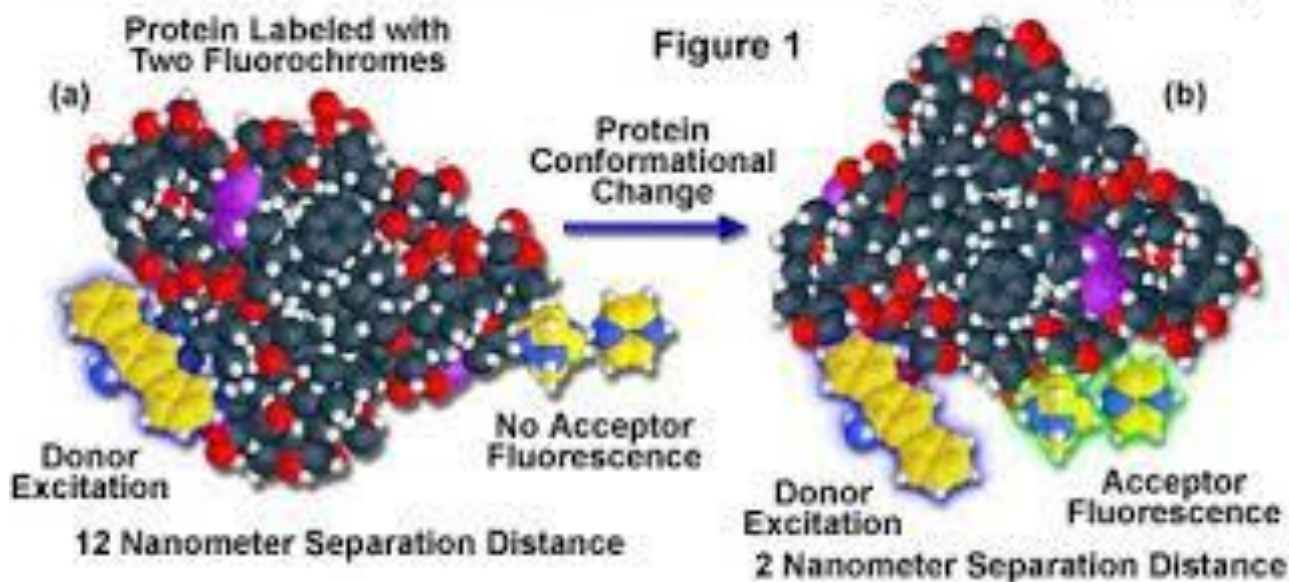
Zhášení fluorescence lze definovat jako bimolekulární proces, který snižuje kvantový výtěžek fluorescence beze změny fluorescenčního emisního spektra. Může být důsledkem různých procesů. Srážkové (dynamické) zhášení nastává, když je fluorofor v excitovaném stavu deaktivován (tj. navrací se nezářivě do základního stavu) při srážce s molekulou zhášedla. Molekuly nejsou při tomto procesu chemicky změněny na rozdíl od statického zhášení, kdy se po kontaktu fluoroforu a zhášedla vytváří nefluorescenční komplex. Samozhášení je zhášení fluoroforu jím samotným; nastává při jeho vysokých koncentracích nebo při vysoké denzitě značení.

Absorbční spektrum fluorescenčně značené DNA



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

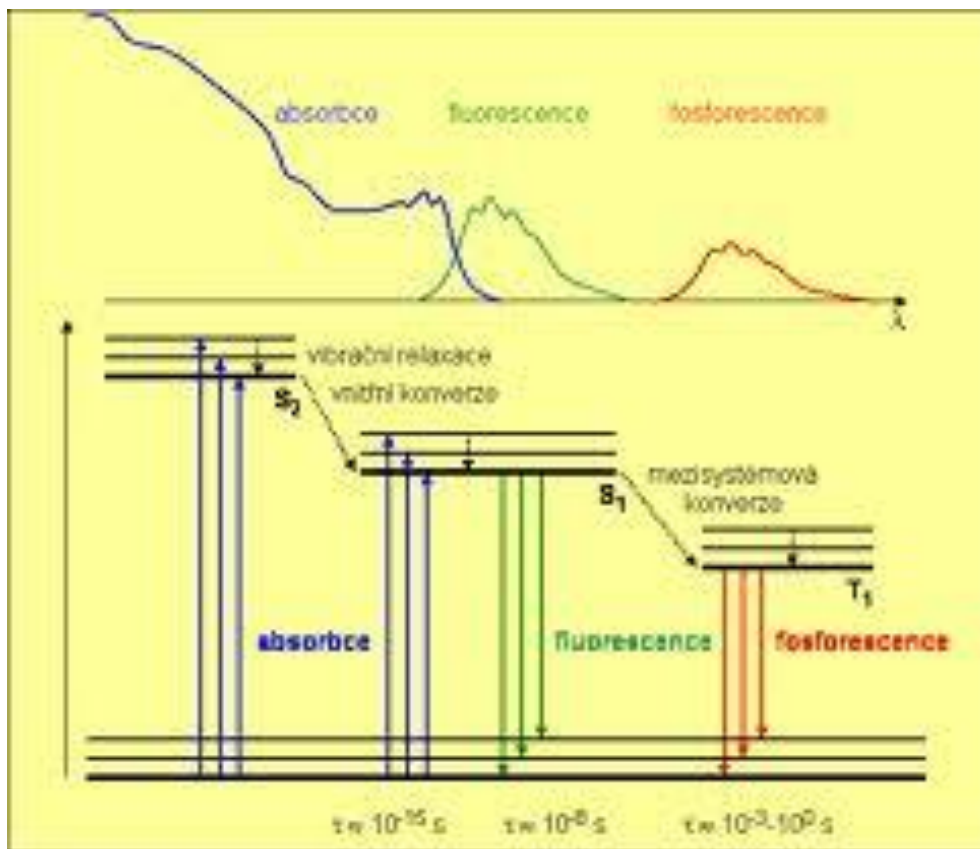
Intramolecular Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET)



Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

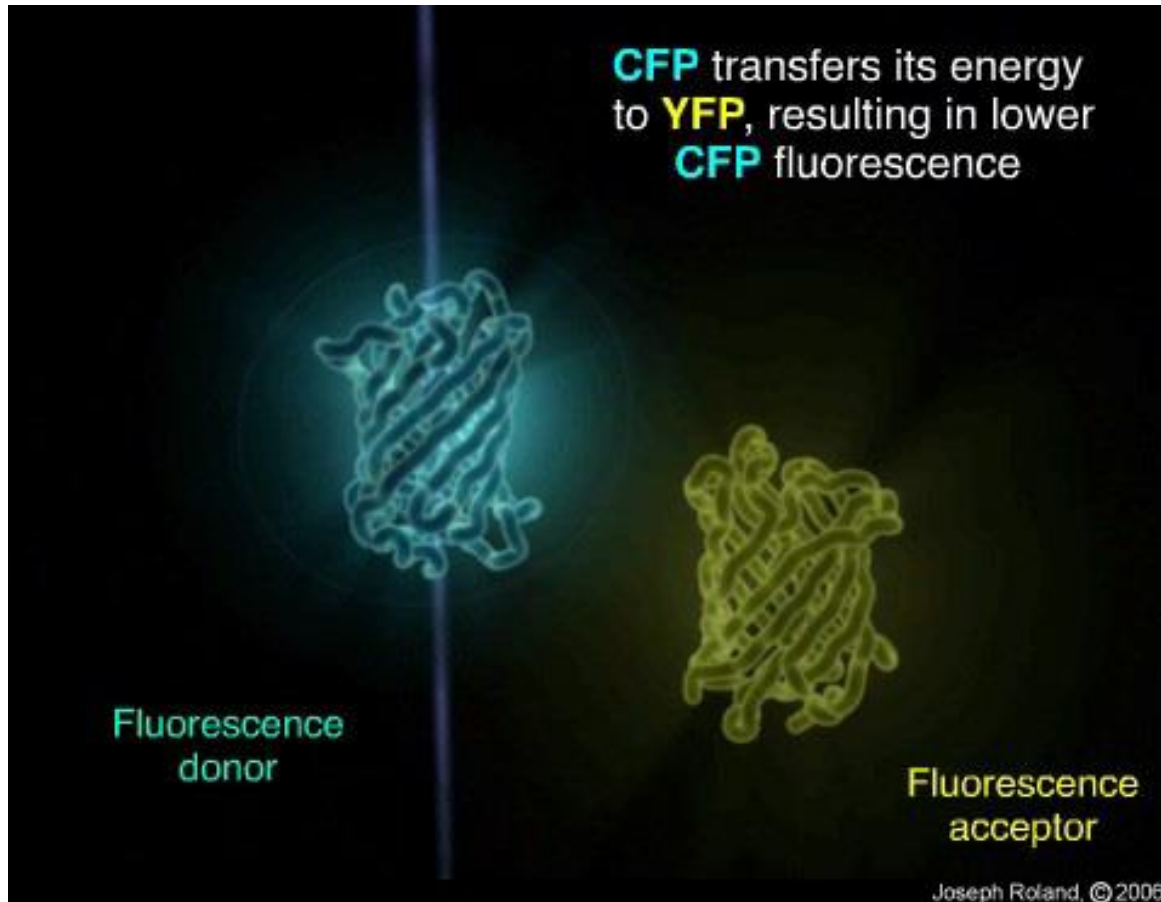


Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

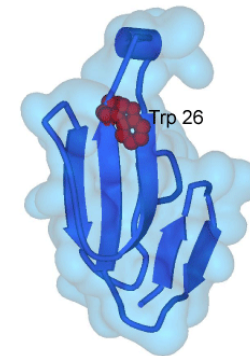
Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Využití fluorescence tryptofanu při sledování
strukturních změn a interakcí proteinů



Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Využití fluorescence

Fluorescence je v medicíně nejčastěji využívána jako principiální prvek některých laboratorních analytických metod.

Přístroje, které jsou založené na měření fluorescence, se rozdělují do čtyř typů:

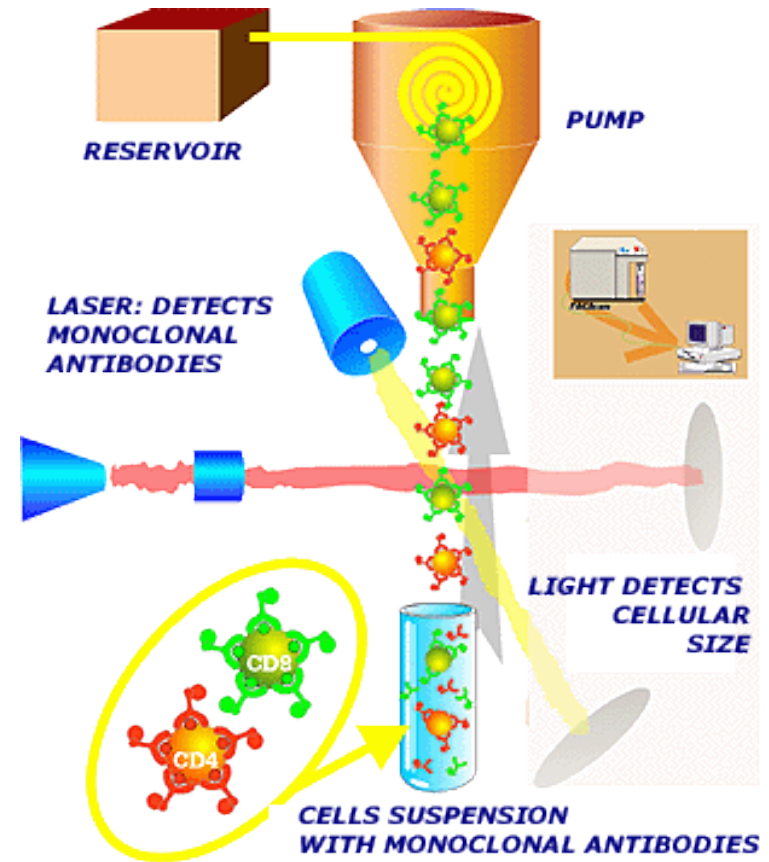
spektrofluorimetry – měří střední signál celého vzorku umístěného obvykle v kyvetě nebo v jamce mikrodestičky

fluorescenční mikroskopy – umožňují pozorovat fluorescenci dvojrozměrných nebo trojrozměrných mikroskopických objektů. Využití fluorescence v mikroskopii se stalo základem právě fluorescenční mikroskopie, která nachází široké uplatnění zejména v medicíně a v oblasti přírodních věd. Pokud kupříkladu na jednu protilátku navážeme fluorescein (emituje zelené světlo při excitaci modrým světlem) a na jinou rhodamine (emituje červené světlo při excitaci žluto-zeleným světlem), pak můžeme porovnávat vzájemné pozice různých molekul ve stejné buňce apod.

Využití fluorescence

fluorescenční skenery (včetně čteček mikrodestiček) – měří fluorescenci dvojrozměrných makroskopických objektů (elektroforetické gely, bloty, chromatogramy)

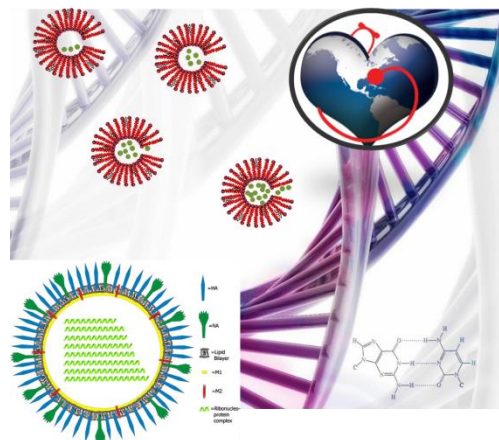
průtokové cytometry – měří fluorescenci velkého množství jednotlivých buněk a umožňují identifikaci a separaci jejich subpopulací



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Moderní nástroje pro zobrazování biologicky významných molekul pro zajištění zdraví, byla zpracována z veřejně dostupných dat na internetu

Děkuji za pozornost



Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik

