

Способ усиления флуоресценции GFP в микрорезонаторе Фабри-Перо под действием фемтосекундных лазерных импульсов

С. А. Вьюнышева¹, С. А. Мысливец^{1,2}, Н. Н. Давлетшин^{1,2}, Е. В. Еремеева³, Е. С. Высоцкий³,
И. Н. Павлов⁴, А. М. Вьюнышев^{1,2}

¹Институт физики им. Л.В. Киренского, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

²Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

³Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

⁴Институт леса им. В.Н. Сукачева, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

Приведены результаты экспериментального исследования усиления лазерно-индуцированной флуоресценции *sgreGFP* в микрорезонаторе Фабри-Перо под действием фемтосекундных лазерных импульсов. Показано, что возбуждение белкового раствора фемтосекундным излучением приводит к усилению флуоресцентного сигнала на два порядка на спектральных частотах, соответствующих модам резонатора. Техники лазерно-индуцированной флуоресценции могут привести к разработке новых методов высококонтрастной микроскопии и получения гиперспектральных изображений в биомедицинских приложениях.

Ключевые слова: Флуоресценция, Зеленый флуоресцентный белок, Микрорезонатор Фабри-Перо, Фемтосекундные лазерные импульсы.

Цитирование: Вьюнышева, С. А. Способ усиления флуоресценции GFP в микрорезонаторе Фабри-Перо под действием фемтосекундных лазерных импульсов / С. А. Вьюнышева, С. А. Мысливец, Н. Н. Давлетшин, Е. В. Еремеева, Е. С. Высоцкий, И. Н. Павлов, А. М. Вьюнышев // HOLOEXPO 2023: 20-я Международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям : Тезисы докладов. — СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2023. — С. 110–112.

Последние десятилетия ознаменовались всесторонним развитием эффективных методов визуализации, основанных на явлении флуоресценции. Широкое распространение флуоресцентных методов микроскопического анализа обусловлено совместимостью с живыми организмами, быстротой отклика и высокой чувствительностью метода [1,2]. Актуальной задачей биоимиджинга является исследование тканевых и клеточных структур биологических объектов со слабыми люминесцентными свойствами. В связи с этим, представляют интерес методики лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ), позволяющие повысить полезный сигнал с помощью селективного возбуждения флуорофора. Разработка микроскопических методов анализа, основанных на лазерно-индуцированной флуоресценции, ведет к повышению контрастности изображения за счет увеличения отношения сигнал/шум.

В нашей работе усиление сигнала флуоресценции достигалось путем помещения раствора *sgreGFP* в микрорезонатор типа Фабри-Перо, состоящий из двух плоскопараллельных многослойных диэлектрических зеркал с фотоннозапрещенной зоной в диапазоне 450–620 нм. Возбуждение флуорофора осуществлялось второй гармоникой титан-

сапфирового лазера на длине волны 400 нм (80 МГц, 100 фс) по схеме, представленной на Рис.1. Средняя мощность варьировалась в пределах 1-30 мВт.

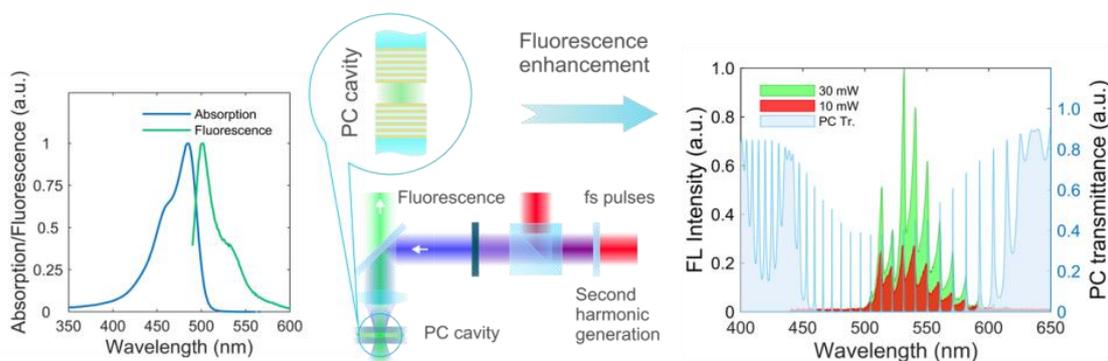


Рис. 1. Блок-схема эксперимента по усилению ЛИФ cgreGFP

Спектр флуоресценции cgreGFP в микрорезонаторе при различных мощностях падающего излучения имеет пиковую структуру (Рис.1), что свидетельствует об усилении сигнала флуоресценции на спектральных частотах, соответствующих микрорезонаторным модам. Нами предпринята попытка количественной оценки усиления флуоресценции cgreGFP по величине полуширины пика на полувысоте [3]:

$$Q = \lambda / \Delta\lambda,$$

где Q – добротность микрорезонатора; λ – длина волны; $\Delta\lambda$ – полуширина пика на полувысоте. На длине волны 530 нм ширина пика на полувысоте составляет 3 нм, что соответствует добротности микрорезонатора ≈ 177 . Таким образом, можно заключить, что усиление флуоресцентного сигнала достигает по величине двух порядков на длине волны 530 нм.

В работе продемонстрирована возможность усиления флуоресценции cgreGFP в микрорезонаторе под действием фемтосекундного лазерного излучения. Полученные результаты представляют интерес для развития существующих микроскопических методов анализа в биомедицинских приложениях.

Список источников

- [1] Li Q., Wu S. S. H., Chou K. C. Subdiffraction-limit two-photon fluorescence microscopy for GFP-tagged cell imaging // Biophysical journal. – 2009. – Т. 97. – №. 12. – С. 3224-3228.
- [2] Neumüller R. A. et al. Stringent analysis of gene function and protein-protein interactions using fluorescently tagged genes // Genetics. – 2012. – Т. 190. – №. 3. – С. 931-940.
- [3] Maitland A., Dunn M. H. Laser Physics // North-Holland Pub. Amsterdam. – 1969.

Method for enhancing GFP fluorescence in Fabry-Perot microcavity under femtosecond laser pulses

*S. A. Vyunisheva¹, S.A. Myslivets^{1,2}, N.N. Davletshin^{1,2}, E.V. Ereemeeva³, E.S. Vysotski³, I.N. Pavlov⁴,
A.M. Vyunishev^{1,2}*

¹Kirensky Institute of Physics, FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

²Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

³Institute of Biophysics, FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

⁴Sukachev Forestry Institute, FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

The results of an experimental study of the enhancement of laser-induced cgreGFP fluorescence in Fabry-Perot microcavity under femtosecond laser pulses are presented. The excitation of a protein solution by femtosecond radiation is shown to lead to an increase in the fluorescent signal by two orders of magnitude at spectral frequencies corresponding to the cavity modes. Laser-induced fluorescence techniques are likely to result in the development of new methods for high-contrast microscopy and hyperspectral imaging in biomedical applications.

Keywords: Fluorescence, Green fluorescent protein, Fabry-Perot microcavity, Femtosecond laser pulses.