

Метод формирования люминесцентных квантовых точек в эмбрионах и ооцитах фемтосекундным лазерным излучением *in situ*: новый подход к визуализации биообъектов

Научный руководитель – Надточенко Виктор Андреевич

Точило Ульяна Алексеевна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра эмбриологии, Москва, Россия

E-mail: Yanulyana@gmail.com

До сих пор в современной биологии существует актуальная задача по разработке методов визуализации объектов. Биологам необходимы красители или другие метки, которые могли бы витально связываться с интересующей структурой, а также не препятствовать метаболизму клетки, встраиваясь в ее работу. Учитывая эти два условия, мы сможем в режиме реального времени наблюдать за меткой и отслеживать многие процессы, происходящие в организме. В 2008 году американские ученые получили Нобелевскую премию за открытие и изучение зеленого флуоресцентного белка, что позволило прижизненно визуализировать отдельные органы и части тела. Однако для такого мечения белок необходимо вводить в организм, а значит нарушать его целостность, а также нельзя точно пометить малые структуры.

В данной работе мы впервые демонстрируем возможность создания окрашивающих центров *in situ* в живом объекте. Работа проводилась на преовуляторных ооцитах мыши, на стадии зародышевого пузырька. На ооциты воздействовали остросфокусированным фемтосекундным лазером в область цитоплазмы, ядра и ядрышка. Флуоресценцию центров окраски возбуждали однофотонно на длине волны 462 нм или двухфотонно - на длине волны 790 нм (ширина спектра - 30 нм). Был определен спектр флуоресценции центров окраски, его максимум находится на длине волны 520 нм. Генерируемые лазерным воздействием центры окраски оказались стабильны (их можно обнаружить как через несколько часов, так и спустя сутки после воздействия)

Центры окраски не токсичны, поскольку меченые ооциты развивались так же, как и контрольные, успешно проходили стадию МП и отделяли полярное тельце. У зрелых ооцитов можно было подсчитать все созданные лазером точки, их было в различных сериях экспериментов от 1 до 10. В зависимости от параметров воздействия область свечения различалась по площади и интенсивности.

Данный метод отлично применим к биологическим исследованиям по многим причинам. Во-первых, метод не инвазивен, для введения метки не нужны инъекции или другие манипуляции, повреждающие клетку. Можно точно метить область интереса - за счет малого размера метки и ее острой фокусировки. В нашей работе мы метили цитоплазму, ядро и ядрышко. Наша метка стабильна, она сохраняется в живом объекте как минимум в течение суток. Окрашивающий центр не токсичен, клетка продолжает жить, проходить обычные стадии метаболизма (в нашем случае ооцит проходит созревание, мы наблюдаем отделение полярного тельца).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-53-52046 МНТ_a