

Бекиш С.А.

ИНТЕРКАЛЯЦИЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ КАК ИНСТРУМЕНТ ФИЗИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ХРОМОСОМ

Научные руководители: канд. физ.-мат. наук., доц. *Иванов А.А.¹*,
канд. хим. наук *Улащик Е.А.²*

Кафедра медицинской и биологической физики

¹*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

²*Институт физико-органической химии национальной академии наук беларуси, г. Минск*

Актуальность. Визуализация хромосом, содержащих генетический материал клетки, является ключевым инструментом цитогенетики, молекулярной биологии и биофизики. Одним из наиболее информативных методов исследования хромосом является флуоресцентная микроскопия, в которой контраст создаётся за счёт специфического взаимодействия флуоресцентных красителей с ДНК. В классических методах гибридизации *in situ* (FISH) стандартом для окраски хромосом служит краситель DAPI. Однако при многоканальной визуализации, когда требуется одновременное использование нескольких флуорофоров, спектральные характеристики DAPI могут ограничивать возможности исследования. Поэтому актуально изучение альтернативных флуоресцентных красителей, способных обеспечивать устойчивый и различимый флуоресцентный отклик при взаимодействии с ДНК, а также чьи спектры возбуждения и излучения не перекрываются между собой и не создают паразитных сигналов в соседних каналах.

Цель: сравнить оптические характеристики трех флуоресцентных красителей Hoechst33342 (аналог DAPI), ZUBR Green (аналог SYBR Green I) и Propidium Iodide, а также оценить возможности их одновременного использования при визуализации хромосом.

Материалы и методы. Лимфоциты периферической крови культивировали 72 ч в питательной среде при 37 °С, после чего митоз останавливали колхицином и клетки подвергали гипотонической обработке раствором KCl, затем использовали фиксатор Карнуа. Препараты окрашивали флуоресцентными красителями Hoechst33342, Propidium Iodide и ZUBR Green и визуализировали на флуоресцентном микроскопе Olympus CKX41 при увеличении 1000х. Относительный квантовый выход определяли на спектрофотометре Solar PB 2201 и спектрофлуориметре Solar CM 2203 с использованием эталонов (флуоресцеин, хинин сульфат, родамин 101) по стандартной формуле на основе интегральной интенсивности спектров.

Результаты и их обсуждение. Проведённое исследование позволило комплексно оценить эффективность трёх флуоресцентных красителей для визуализации хромосом в микроскопе. Полученные микроскопические изображения подтвердили, что все три красителя обеспечивают устойчивую флуоресценцию при связывании с двухцепочечной ДНК, однако их яркость, контраст и оптические свойства существенно различаются. Результаты показывают, что ZUBR Green обладает наибольшим квантовым выходом (0,7) среди исследованных красителей, что согласуется с высокой яркостью полученных изображений и делает его особенно перспективным для задач, требующих максимального сигнала при минимальной интенсивности возбуждения. Hoechst33342, традиционно используемый в FISH-методах, продемонстрировал средний квантовый выход (0,5), обеспечивая стабильную и хорошо воспроизводимую флуоресценцию, что подтверждает его статус стандарта для окраски хромосом. Propidium Iodide показал наименьший квантовый выход (0,3), однако его спектральное расположение в красной области делает его ценным компонентом многоканальной визуализации.

Выводы. Таким образом, сравнение оптических характеристик трёх красителей показало, что их свойства позволяют рассматривать эти соединения как потенциально совместимые для многоканальной визуализации хромосом, обеспечивая возможность их одновременного использования без существенного спектрального перекрытия.