

Nowe znaczniki fluorescencyjne dla zastosowań w mikroskopii dwufotonowej ze szczególnym uwzględnieniem wykrywania amyloidów

Absorpcja dwufotonowa (2PA) jest procesem, w którym równocześnie dwa fotony są absorbowane, aby wzbudzić cząsteczkę. Wzbudzenie cząsteczki może prowadzić do jej relaksacji z emisją fluorescencyjną, co stanowi podstawę mikroskopii dwufotonowej (2PM). 2PM jest szeroko stosowana do obrazowania złożonych, głęboko położonych struktur *in vivo*, takich jak naczynia krwionośne i mózg, a także do obrazowania molekularnego i funkcjonalnego, np. aktywności neuronalnej.^[1] W celu przeprowadzania takich procedur, stosuje się fluorofory, które powinny mieć zoptymalizowane właściwości optyczne takie jak przekroje na absorpcje dwufotonową, zakresy emisji fluorescencji czy wydajność kwantowa fluorescencji. Prelekcja będzie skupiała się nad nowymi fluoroforami – nanoklastrami srebra stabilizowanymi DNA oraz barwnikami organicznymi do potencjalnego zastosowania w 2PM.

Atomowo precyzyjne nanoklastry srebra stabilizowane DNA (Ag_N -DNAs) to nowa klasa nanomateriałów wywodząca się z kompleksów srebra. W ostatnich latach zyskały one na popularności dzięki postępowi w metodach ich oczyszczania oraz wykorzystaniu uczenia maszynowego do projektowania ich struktur.^[2,3] Materiały te wykazują unikalne, silnie zależne od sekwencji DNA właściwości fotoluminescencyjne, w tym emisję w zakresie dalekiej czerwieni i bliskiej podczerwieni oraz wysokie wydajności kwantowe fluorescencji, co czyni je obiecującymi znacznikami do obrazowania biologicznego. Zbadano absorpcję dwufotonową czterech przedstawicieli atomowo precyzyjnych Ag_N -DNAs.^[4] Ag_N -DNAs charakteryzowały się emisją w zakresie powyżej 600 nm oraz zróżnicowanym składem chemicznym i strukturą – liczbą atomów srebra, sekwencją ssDNA, liczbą walencyjnych elektronów.^[5] Przekroje czynne na absorpcję dwufotonową (σ_2) zostały wyznaczone w szerokim zakresie długości fal od 810 do 1400 nm. Badane nanoklastry wykazywały przekroje efektywne na absorpcje dwufotonową rzędu $\sim 10^2$ GM, przewyższające wodnorozpuszczalne fluorofory organiczne świecące w zakresie bliskiej podczerwieni czym potwierdzono potencjał Ag_N -DNAs jako sond dwufotonowych typu NIR–NIR.

Znaczniki do zastosowań w 2PM, mogą być zoptymalizowane również w celu targetowania konkretnych bioanalitów, jednymi z nich mogą być amyloidy. Amyloidy to agregaty białkowe, które występują przy chorobie m.in. Alzheimera, Parkinsona^[6]. Konstrukcja takich znaczników wymaga nie tylko optymalizacji wyżej wspomnianych właściwości optycznych, ale także zrozumienia wpływu struktury chemicznej fluoroforu na modulacje właściwości optycznych po związaniu z amyloidami. W szczególności w zakresie modulacji absorpcji dwufotonowej, brak systematycznych prac, które poruszałyby ten wątek. Barwniki oparte na rdzeniu BF/BF₂ zostały wykorzystane do systematycznych prac w tym kierunku^[7], jak i zaproponowania znacznika fluorescencyjnego z właściwościami optycznymi konkurencyjnymi w stosunku do komercyjnie dostępnemu standardu do znakowania amyloidów w 2PM.^[8]

[1] Annu. Rev. Biomed. Eng. **2000**, 02:399–429

[2] Nanoscale Adv., **2021**, 3, 1230-1260

[3] Chem. Commun., **2023**, 59, 10360-10375

[4] Chem. Sci., **2025**, 16, 1737-1745

[5] Chem. Sci., **2023**, 14, 11340-11350

[6] Nature Reviews Molecular Cell Biology, **2018**, 19, pages755–773

[7] ACS Appl. Bio Mater. **2023**, 6, 12, 5676–5684.

[8] Chem. Commun **2025**, 61, nr 20, s. 3990-3993