



# Лекция 1. Оптические методы исследований

Губарев Ф.А.

# История



Во все времена свет играл важную роль в медицине. В доисторические времена исцеляющая сила света часто приписывалась мифологическим, религиозным и сверхъестественным силам. История светотерапии восходит к древним египтянам, индусам, римлянам и грекам. Многие из них создали храмы, чтобы поклоняться исцеляющим силам света, особенно солнечному свету, для исцеления тела, а также ума и души.



# История



В конце XVI века изобретение микроскопа голландскими исследователями было критически важным для развития биологических и биомедицинских исследований на следующие 200 лет. Теория клеток возникла в 1830-х годах, когда немецкие ученые М. Дж. Шлейден и Теодор Шванн с помощью микроскопа идентифицировали клетку как основную единицу ткани и метаболизма растений и животных. Микроскоп стал основным инструментом наблюдения для нового стиля исследований, из которого возникла бактериальная теория болезни, разработанная Робертом Кохом и Луи Пастером в 1870-х годах.

В 1895 году немецкий физик Вильгельм Рентген, работая со стандартным лабораторным оборудованием, обнаружил новый тип излучения: радиацию. Это открытие расширило диапазон электромагнитного излучения. Кроме того, это открытие привело к разработке мощной новой техники, которая использует рентгеновские снимки для изучения интактного тела для диагностики заболеваний.

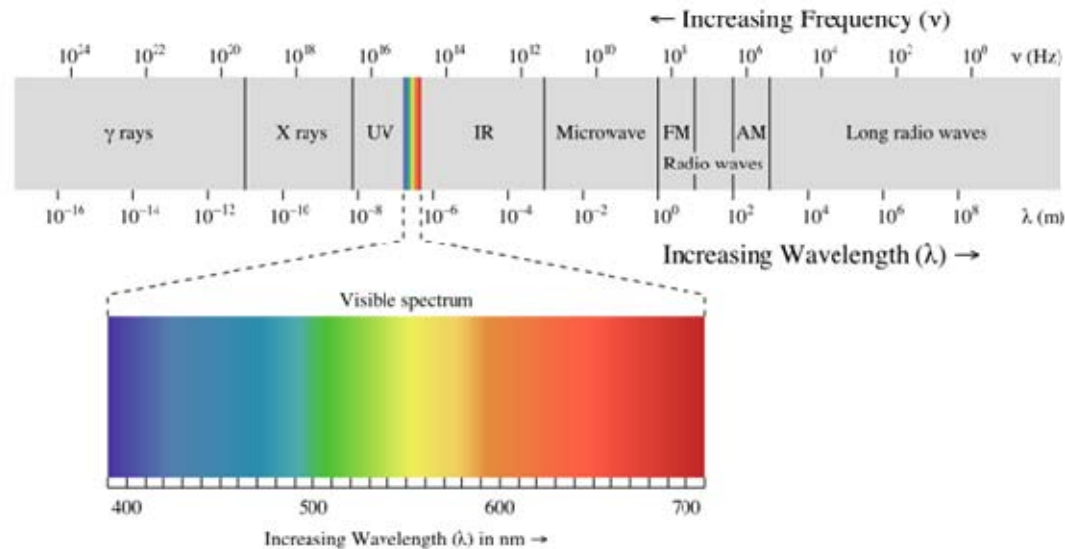
# Биофотоника

Область биомедицинской фотоники (или биофотоники) является относительно новой областью, возникшей на стыке физических и биологических наук и техники. Термин биофотоника обозначает сочетание биологии и фотоники, а фотоника - это наука и технология генерации, манипулирования и обнаружения фотонов, квантовых единиц света. Фотоника связана с электроникой. Фотоны играют центральную роль в информационных технологиях, таких как волоконная оптика, как электроны в электронике.

Биофотоника также может быть описана как «разработка и применение оптических методов, особенно изображений, для изучения биологических молекул, клеток и тканей». Одним из основных преимуществ использования оптических методов, которые составляют биофотонику, является то, что они сохраняют целостность исследуемых биологических клеток.

Поэтому биофотоника стала общепринятым общим термином для всех техник, которые касаются взаимодействия между биологическими объектами и фотонами. Это относится к излучению, обнаружению, поглощению, отражению, модификации и созданию излучения из биомолекулярных клеток, тканей, организмов и биоматериалов. Областями применения являются наука о жизни, медицина, сельское хозяйство и экология.

# Биофотоника



Еще один термин, который обычно используется, это «биомедицинская оптика». Существуют некоторые сходства и различия между биомедицинской фотоникой и биомедицинской оптикой. По общему определению поле оптики включает «оптический» свет или «видимый» свет, который является особым типом электромагнитного излучения, которое можно увидеть и ощутить человеческим глазом. С другой стороны, поле фотоники, которое включает фотоны, кванты энергии во всем спектре электромагнитного излучения, шире поля оптики. Мы склонны думать об оптическом излучении, как о «свете», но радуга цветов, составляющих оптический или видимый свет, является лишь очень небольшой частью гораздо более широкого диапазона энергетического диапазона фотона. <sup>5</sup>

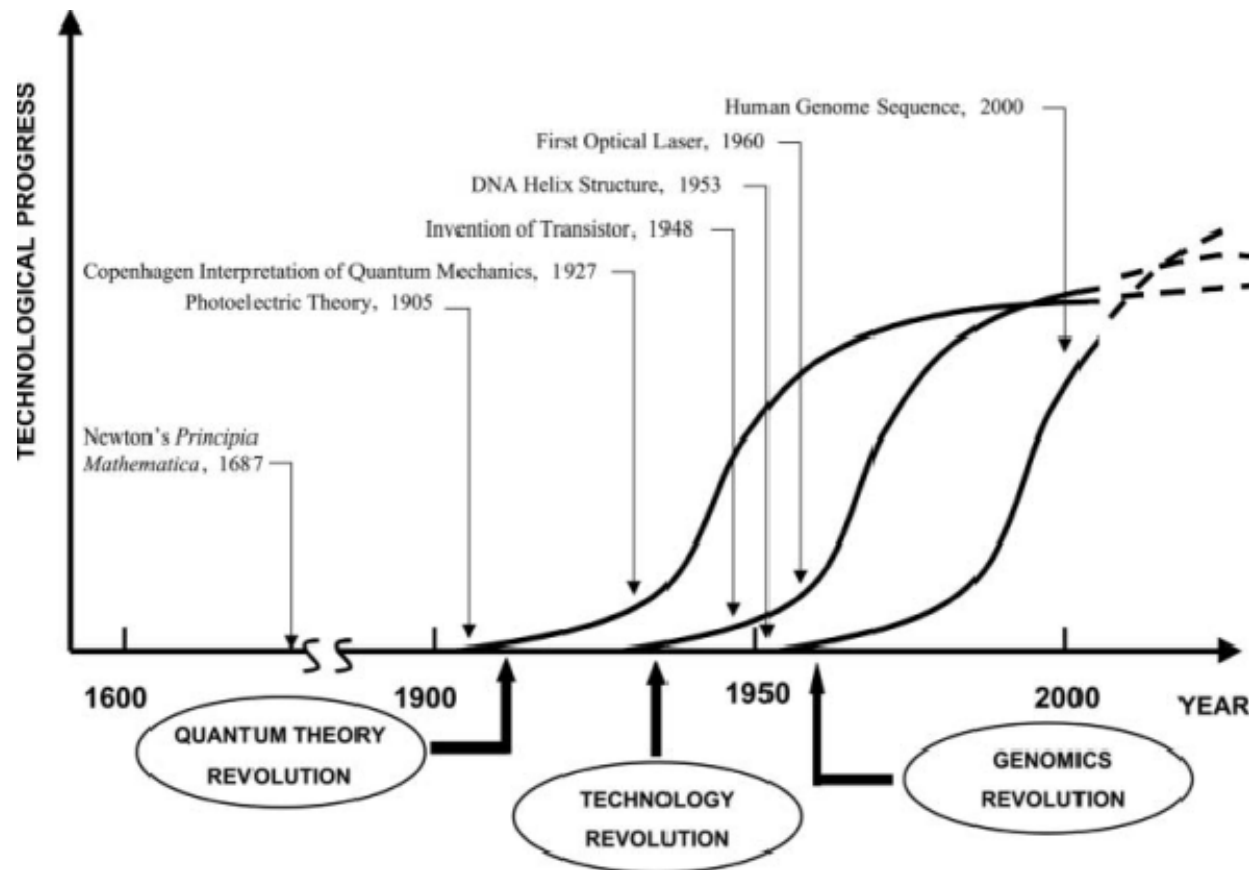
# Биофотоника

Фотоника включает оптические и нанотехнологии, которые касаются электромагнитного излучения, которое представляет собой энергию, распространяющуюся в пространстве между электрическим и магнитным полями. Электромагнитный спектр - это протяженность этой энергии, начиная от космических лучей, гамма-лучей и рентгеновских лучей по всей ультрафиолетовой, видимой, инфракрасной, микроволновой и радиочастотной энергии.

Поэтому биомедицинская фотоника может быть определена как наука и технология, которые используют весь диапазон электромагнитного излучения за пределами видимого света для медицинских применений. Это поле включает в себя создание и использование света и других видов лучистой энергии, квантовой единицей которой является фотон. Наука включает в себя использование поглощения света, излучения, передачи, рассеяния, усиления и обнаружения и использует широкий спектр методов и технологий, таких как лазеры и другие источники света, волоконная оптика, электрооптическая аппаратура, сложные микроэлектромеханические системы и наносистемы для медицинских целей.

Его развитие и рост были обусловлены сближением трех научно-технических революций XX века: революции квантовой теории (1900-1950-е годы), технологической революции (1940-1950-е годы), революции геномики (1950-е-2000).

# Оптические методы исследования



Технологический прогресс обычно представляется как «кривая S», сначала медленно поднимающийся, затем все быстрее и быстрее, до тех пор, пока он не приблизится к естественным пределам, а затем стремится к достижению теоретических пределов.



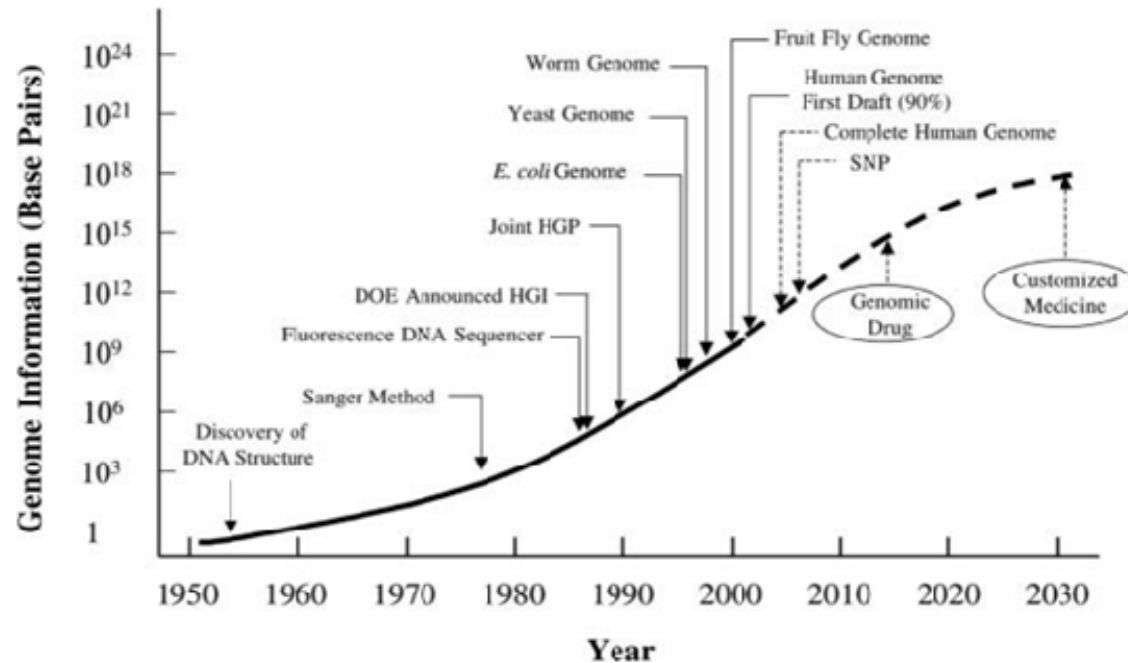
# Оптические методы исследования

Область фотоники значительно выиграла от развития квантовой теории. С появлением этой теории научные области, такие как молекулярная спектроскопия и фотонные технологии (такие как лазеры, оптическая биопсия, оптические пинцеты и ближнепольные зонды), стали мощными инструментами для неинвазивной диагностики заболеваний, исследования клетки на молекулярном уровне, и борьбы с заболеваниями на генетическом уровне.

Квантовая теория атомных явлений обеспечивает фундаментальную основу для молекулярной биологии и генетики из-за ее уникального понимания электронов, атомов и молекул и самого света. Из этой новой научной основы появилось открытие структуры ДНК, молекулярной природы клеточного аппарата и генетической причины заболеваний, которые составляют основу молекулярной медицины. Открытие квантовой теории не только породило новое поле молекулярной спектроскопии, но и привело к созданию мощного набора инструментов фотоники для изучения природы и понимания причины заболевания на фундаментальном уровне. По сути, наше нынешнее знание о том, как молекулы связываются вместе, как строительные блоки ДНК, вызывают рост клетки, а также то, как болезнь прогрессирует на молекулярном уровне, имеет фундаментальную основу в квантовой теории.



# Оптические методы исследования



Публикации Джеймса Уотсона и Фрэнсиса Крика о структуре спирали ДНК в 1953 году можно считать первым знаковым достижением, которое запустило революцию геномики 21-го века. Почти через 50 лет после этого знакового открытия завершение изучения последовательности генома человека стало вторым крупным достижением в области молекулярной генетики. Проект опубликованной последовательности охватывает 90% эухроматической части человеческого генома, которая содержит большинство генов.

# Оптические методы исследования

Полезно получить обзор этого замечательного достижения 21 века в молекулярной биологии, известного как Проект генома человека. Этот проект уходит своими корнями в инициативу Министерства энергетики США (DOE). В 1986 году DOE объявила о своей Инициативе в области генома человека, полагая, что точное знание эталонной последовательности генома человека будет иметь решающее значение для ее миссий для более глубокого понимания потенциальных рисков для здоровья и окружающей среды, связанных с производством и использованием энергии. Вскоре после этого DOE и Национальные институты здравоохранения (NIH) объединились для разработки плана совместного проекта генома человека (HGP), который официально начался в 1990 году.

С самого начала проекта HGP технологии фотоники предоставили важнейшие инструменты для ускорения процесса секвенирования ДНК. В 1986 году Лерой Гуд и его коллеги описали новую методику секвенирования ДНК, при которой четыре флуоресцентных красителя были прикреплены к ДНК вместо использования радиоактивных меток и считывания рентгеновских пленок. Эта схема фотонного детектирования, которая позволила ДНК протекать только по одной полосе и освещаться лазером, а результат четырех флуоресцентных меток, которые следует считывать в компьютер, была рабочей лошадкой последовательности.

# Оптические методы исследования

В июне 2000 года ученые объявили о наиболее впечатляющем достижении биологии: создании рабочей последовательности всего генома человека. При построении рабочего проекта 16 центров изучения генома составили более 22,1 млрд. баз данных исходной последовательности, включающих перекрывающиеся фрагменты на общую сумму 3,9 млрд. оснований и обеспечивающие семикратный охват (секвенированный семь раз) генома человека.

Одним из самых больших влияний на знание последовательности геномов является установление совершенно нового подхода к биомедицинским исследованиям. В прошлом исследователи изучали один ген или несколько генов одновременно. Благодаря цельногеномным последовательностям и новым автоматизированным высокопроизводительным технологиям они могут систематически и широкомасштабно решать биологические и медицинские проблемы в массовом порядке. Теперь они могут исследовать большое количество генов в геноме или различные генные продукты в определенной ткани или органе или опухоли. Они также могут изучать, как десятки тысяч генов и белков работают вместе в взаимосвязанных сетях для организации химии жизни. Специфические гены были выявлены и связаны с многочисленными заболеваниями и расстройствами, включая рак молочной железы, мышечные заболевания, глухоту и слепоту.

# Оптические методы исследования

Еще одним важным событием в фотонных технологиях, способствующим резкому росту клеточных анализов, является разработка передовых систем визуализации, которые обладают совокупной способностью высокого разрешения, высокой пропускной способности и многоспектрального обнаружения флуоресцентных репортеров. Эти репортеры позволяют разрабатывать анализы живых клеток с возможностью наблюдения *in vivo* отдельных биологических реакций по популяциям клеток, отслеживания переноса биологических видов внутри внутриклеточных сред и мониторинга множественных ответов из одной и той же клетки.

Клеточные биосенсоры и внешние клеточные датчики, основанные на сайт-специфической маркировке рекомбинантных белков, также являются важными фотонными инструментами, недавно разработанными для обнаружения лекарств. Продвинутое фотонные методы, использующие измерения времени, разрешения и поляризации по времени, а также измерения продолжительности жизни, еще больше расширяют полезность клеточных анализов. Новые классы меток с использованием неорганических флуорофоров на основе квантовых точек или меток комбинационного рассеяния (SERS) с поверхностным усилением обеспечивают уникальные возможности для мультиплексных анализов.

# Оптические методы исследования

Спектроскопические методы в биологических и биомедицинских применениях

Спектральный диапазон	Длина волны (м)	Метод	Свойства
γ-лучи	$10^{-13}$	Мессбауэра	Свойства ядра
X-лучи	$10^{-10}$	Дифракция/рассеяние рентгеновского излучения	Молекулярная структура
Ультрафиолетовый	$10^{-7}$	Поглощение УФ	Электронные состояния
Видимый	$6 \times 10^{-7}$	Visible absorption Luminescence	Электронные состояния
Инфракрасный	$10^{-5}$	Поглощение ИК излучения, ИК излучение	Колебания молекул
Микроволны	$10^{-3}$	Микроволновый	Вращение молекул
	$10^{-2}$	Электронный парамагнитный резонанс	Спиновый момент ядра
Радио-частота	0,1	Атомный магнитный резонанс	Спиновый момент ядра



# Оптические методы исследования

Лазер является одним из самых удивительных открытий 20-го века и принес большой успех в науке и технике. Лазерная медицина развивается по трем основным направлениям: диагностика, терапия и хирургия. Каждое из этих направлений нуждается в отдельных типах лазеров с конкретной длиной волны, мощностью и энергией, продолжительностью и частотой повторения импульсов, а также собственных волокнах для переноса лазерного излучения в биоткани и обратно.

Возможность применения любого типа лазера или волокна в диагностике или терапии зависит от наших знаний об оптических свойствах биотканей и характере взаимодействия лазерного света с биологическими объектами. Лазерное излучение, как обычный некогерентный свет, может поглощаться, отражаться, рассеиваться и переноситься биологической средой, и каждый из указанных процессов несет информацию о микро- и макроструктуре этой среды, движении и форме ее отдельных компонентов. Лазерное излучение имеет неспецифический тепловой эффект, т. е. действует как электромагнитное излучение. Тепловые эффекты, в отличие от нелазерных источников света, могут быть реализованы в очень малых объемах (внутри ячейки и даже в ее частицах). Возможны и другие механизмы малоинтенсивного лазерного излучения на биоткани на основе фотодинамических и фототоксических эффектов.

**Спасибо за внимание!**

