

## Практикум по курсу "Современные биофизические технологии".

### Цикл "Флуоресцентная спектроскопия".

#### Список вопросов для подготовки.

- 1) Люминесценция. Виды люминесценции в зависимости от способа возбуждения. Фотолюминесценция.
- 2) Типы энергетических переходов в молекулах после поглощения света оптического диапазона спектра. Колебательная релаксация. Внутренняя и интеркомбинационная конверсия. Флуоресценция и фосфоресценция.
- 3) Правило Каши. Исключение из правила Каши.
- 4) Закон Стокса-Ломмеля. Стоксов сдвиг. "Стоксовая" и "антистоксовая" области спектров. Влияние растворителей на спектры люминесценции.
- 5) Правило Левшина. Исключения из правила Левшина.
- 6) Закон Вавилова. Энергетический и квантовый выход люминесценции, связь между ними.
- 7) Техника флуоресцентной спектроскопии. Флуориметры и спектрофлуориметры.
- 8) Спектры флуоресценции. Спектры возбуждения и испускания флуоресценции. Синхронные спектры флуоресценции.
- 9) Выражение для интенсивности флуоресценции. Выражение для интенсивности флуоресценции при регистрации спектров возбуждения и спектров испускания.
- 10) Коррекция спектров возбуждения и испускания флуоресценции.
- 11) Качественный флуориметрический анализ. Качественный анализ по спектрам испускания флуоресценции.
- 12) Взаимосвязь между спектром поглощения и спектром возбуждения флуоресценции. Применение спектров возбуждения флуоресценции в качественном анализе.
- 13) Количественный флуориметрический анализ. Связь между интенсивностью флуоресценции и концентрацией вещества.
- 14) Методы количественного определения веществ во флуориметрическом анализе. Метод градуировочного графика, метод сравнения со стандартом, метод добавок, метод внутреннего стандарта. Области применения, преимущества и недостатки методов.
- 15) Чувствительность флуориметрических методов анализа. Коэффициент чувствительности, предел обнаружения, нижняя граница определяемых концентраций, диапазон измеряемых концентраций.
- 16) Зависимость люминесцентных характеристик от внешних факторов. Влияние температуры, pH, полярности растворителя, концентрации, светорассеяния образца.
- 17) Эффекты внутреннего фильтра. Эффекты экранировки и реабсорбции.
- 18) Время жизни возбуждённого состояния. Излучательное (собственное) и реальное время жизни. Связь с квантовым выходом люминесценции.
- 19) Тушение люминесценции. Статическое и динамическое тушение. Уравнение Штерна-Фольмера.
- 20) Флуоресцентные зонды. Определение, классификация, применение в биофизических исследованиях.
- 21) Связывание флуоресцентных зондов с биологическими объектами. Некооперативное и кооперативное связывание. Уравнение для константы некооперативного (простого) связывания, физический смысл этой константы.
- 22) Параметры связывания флуоресцентных зондов с биологическими объектами.

Метод двойных обратных координат, метод Клотца, метод Скэтчарда.

*Литература.*

[Владимиров Ю.А., Рощупкин Д.И., Потапенко А.Я., Деев А.И. "Биофизика".](#)

*Презентации лекций.*

[Деев А.И. "Связывание лигандов с макромолекулами".](#)

*Методички (Обновлено!).*

[Теселкин Ю.О. Метод флуоресцентных зондов. Определение параметров связывания флуоресцентного зонда АНС с белками.](#)