

EXTINCIÓN DE FLUORESCENCIA EN UN CONJUNTO HETEROGÉNEO DE EMISORES, CÁLCULO DE CONTRIBUCIONES INDIVIDUALES.

José M. Otón, Francisco J. López Hernández, A. Ulises Acuña y José A. Martín Pereda.

ETSI Telecomunicación. Ciudad Universitaria, Madrid-3

INTRODUCCION

La extinción de fluorescencia ("quenching") multifluoróforo ha sido empleada para obtener información dinámica y estructural especialmente en muestras biológicas tales como proteínas y ácidos nucleicos.

La calidad de la información obtenida viene restringida por la dificultad de obtener parámetros individuales (fracciones de fluorescencia, f_i , y constantes de extinción, K_i) de cada una de las familias de cromóforos a partir de la curva total Stern-Volmer.

Se presenta aquí un nuevo método mixto gráfico y numérico que permite separar al menos tres fracciones distintas con diferente accesibilidad de la molécula extintora.

METODO

La ecuación de Stern-Volmer para varios fluoróforos independientes se puede expresar (1) como:

$$-\frac{\Delta F}{F_0} = \sum_i \frac{f_i k_i Q}{1 + k_i Q}$$

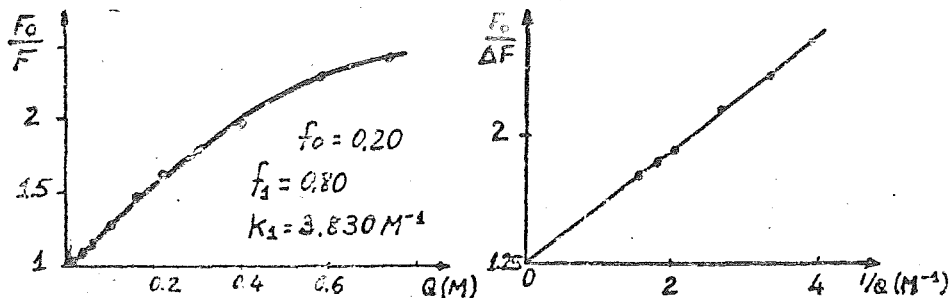
donde F_0 es la intensidad de fluorescencia inicial y $\Delta F = F_0 - F$ donde F es la intensidad residual a una concentración de extintor Q .

La fluorescencia total queda, pues, distribuida en fracciones tal que $\sum_i f_i = 1$. Si una de estas fracciones, f_0 , es inaccesible al extintor ($k_0 = 0$), se puede comprobar fácilmente que

$$\lim_{Q \rightarrow \infty} \frac{\Delta F}{F_0} = \sum_{i \neq 0} f_i = 1 - f_0$$

Una ordenada en el origen distinta de 1 en la representación $\frac{F_0}{\Delta F}$ vs. $\frac{1}{Q}$ nos permitirá conocer la existencia de una fracción no accesible y su cálculo.

Una vez sustraída la contribución no accesible, se aborda el cálculo de las fracciones accesibles por medio de un programa iterativo de mínimos cuadrados no lineales (2). Hemos con seguido con el mismo buenos ajustes a dos fracciones accesibles. En la Fig. 1a se puede observar la curva de extinción de fluorescencia de triptófano en lisozima utilizando acrilamida como extintor. Los puntos experimentales (●) han sido obtenidos directamente de la fig 4 de la referencia 3. La línea sobre los puntos es el ajuste por mínimos cuadrados del sistema utilizando como fracción no accesible 0,20, obtenido de la ordenada en el origen de la representación inversa, fig. 1b.



BIBLIOGRAFIA

- (1) S.S. Lehrer, Biochem. 10 3254 (1971)
- (2) H.E. Zimmerman et al. J. Amer. Chem. Soc. 95 439 (1974)
- (3) M.R. Eftink y C.A. Ghiron, Biochem. 15 672 (1976)