

光镊结合STED超分辨技术 揭示DNA与蛋白相互作用

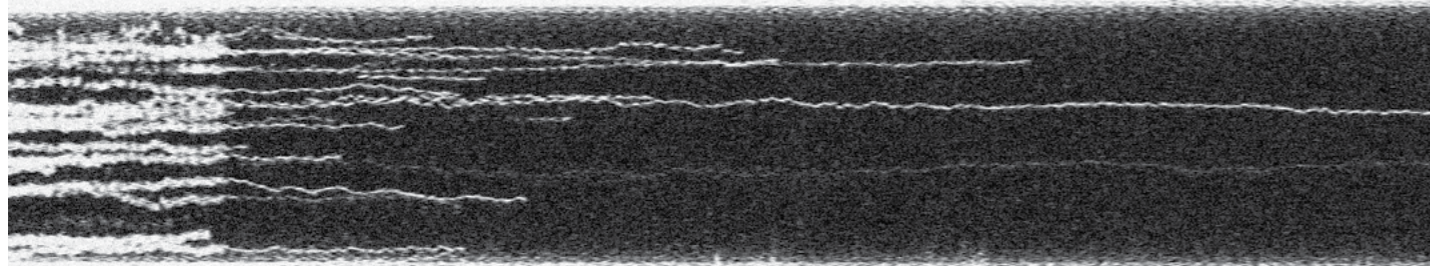
STED 超分辨 应用案例

本手册应用案例由LUMICKS公司开发，欢迎引用。

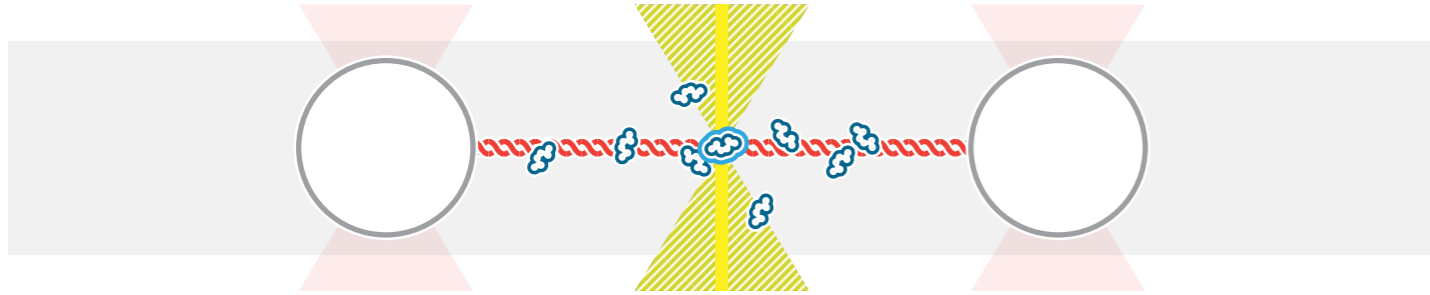
www.lumicks.com
info@lumicks.com
+31 (0) 20 598 79 84

De Boelelaan 1085
1081 HV, Amsterdam, The Netherlands

STED 超分辨 应用案例



1 普通共聚焦（左半部分）和STED超分辨（右半部分）检测DNA蛋白互作效果对比。（5nM TFAM 647N，恒力4pN）



3 光镊技术（红色部分）结合STED超分辨技术（黄色部分）模式图，单激发模式。

STED 超分辨

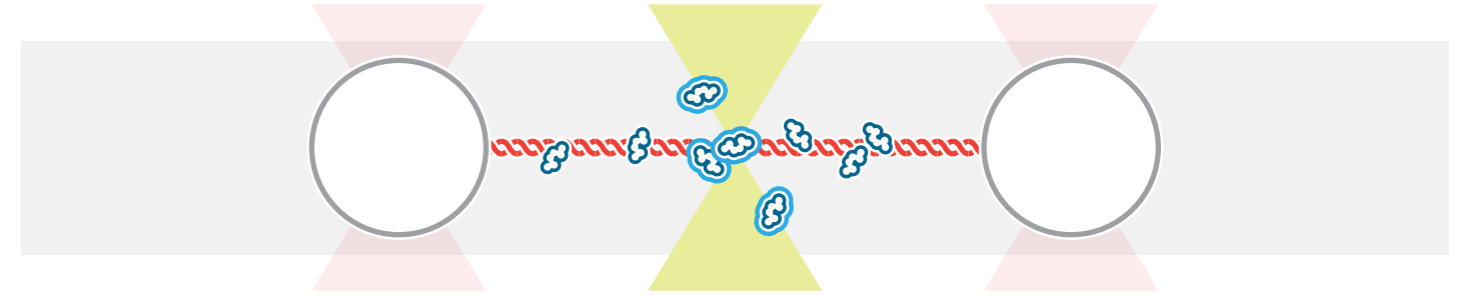
单分子水平定量分析DNA与蛋白的相互作用要求技术水平达到在复杂的生物微环境中保证超高的时间分辨率。

这种体内复杂的生物学反应尤其常见于在体外模拟体内实验，比如高浓度的蛋白与不断变化的DNA相互作用。采用受激发射损耗显微技术（STED）能够实现快速对复杂的DNA进行高分辨的扫描。LUMICKS公司研发的SuperC-Trap™技术结合STED，能够实现高分辨率可视化的研究多蛋白结合的DNA反应动力学。

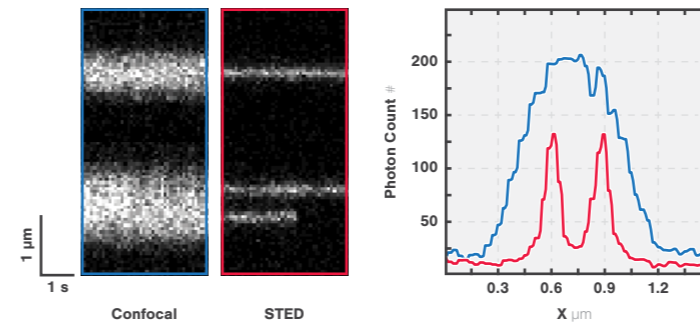
Figure 1 显示实时观测荧光标记的高浓度（大约 5nM）TFAM转录因子与λ-DNA的相互作用。SuperC-Trap™采用光镊技术原位拉直DNA，然后结合STED技术高分辨率（≥50 nm）高频率（≤200 Hz）线性追踪TASM的动态变化。STED 能够实现单个结合或非结合、寡聚化蛋白基团的实时追踪（**Figure 1**，右半部份）。然而利用共聚焦显微镜却分辨不出来（**Figure 1**，左半部分）。共聚焦的点状激发原理决定了其只能追踪分布密度比较高的蛋白分子的动态变化，却不能进行广角扫描。而且采用共聚焦技术位置比较相近的两种蛋白也很难被分辨。但是利用STED的受激发射损耗技术可突破衍射极限，可以轻易分辨两种相邻蛋白。

Figure 2 光镊技术结合共聚焦技术模式图。

Figure 3 光镊技术结合STED超分辨技术模式图。



2 光镊技术（红色部分）结合共聚焦技术（绿色部分）模式图，多激发模式。



4 共聚焦（左）和超分辨率显微镜STED（右）分辨率对比。647N-标记的结合DNA的限制性内切酶。

5 共聚焦（蓝色）和超分辨率显微镜STED（红色）对两个相邻蛋白的分辨率对比。

SuperC-Trap

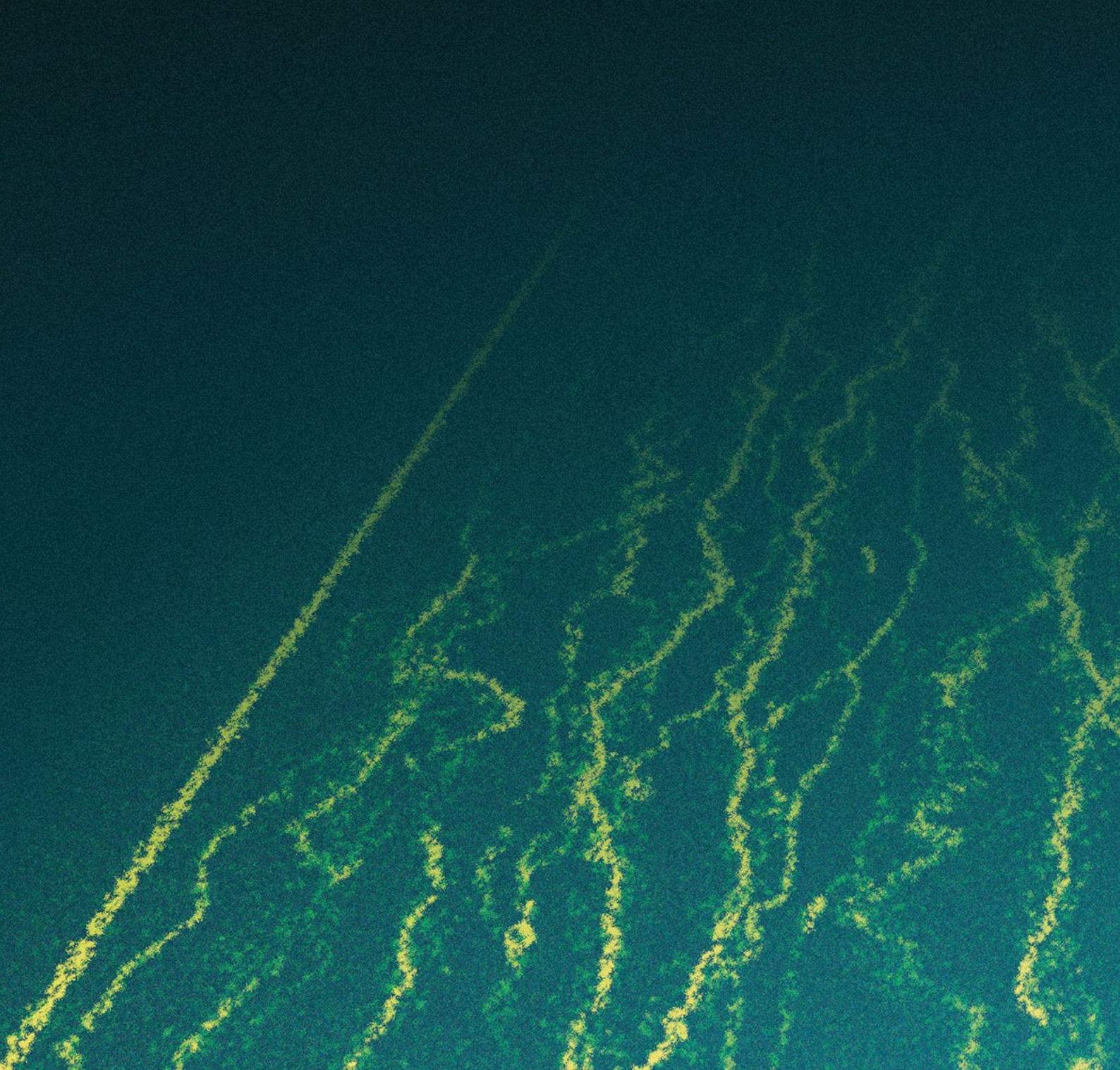
共聚焦显微镜和超分辨显微镜的区别很明显。

从**Figure 4**中可以看出超分辨显微镜能够清晰的将两种相邻蛋白分辨出来，而共聚焦的分辨率并不能达到。这种对比明显的说明了超分辨在精确定位上的优势。

LUMICKS公司的SuperC-Trap不仅能够实现实时超分辨可视化的观察，而且还可以在亚pN水平、亚nm分辨率监测分子间的相互作用。结合我们的超稳定液流系统和独立的整合软件，使得整个实验在数分钟之内就能完成。

1 Heller et. al. Nature Methods (2013)

Data courtesy of Vrije Universiteit Amsterdam.



LUMICKS - 专注分子互作研究

De Boelelaan 1085, 1081HV Amsterdam
The Netherlands

www.lumicks.com
info@lumicks.com
+31 (0) 20 598 79 84

申明：本手册版权归 LUMICKS B.V 公司所有，未经授权，不得转载。手册所述内容如有变化，恕不另行通知。如需最新产品资料，请致信垂询。

C-Trap, AFS, u-Flux, LUMICKS 和 LUMICKS 为 LUMICKS B.V.© 专用商标。

LUMICKS B.V. Amsterdam, The Netherlands.