

揭秘RNA结构与功能的关系：实验指南

RNA结构应用案例

2017

目录

序言	3
实验设计？	4
生化准备：怎么制备合适的样品？	5
C-Trap®实验：单个RNA分子的操纵	6
系统设置	6
RNA结构力学的研究	7
RNA平衡动力学的研究	7
数据分析和解析：选择合适的模型？	8
力-距离曲线	8
怎么解析力-距离曲线上的突然变化？	8
平衡动力学测量	9
总结与展望	11
参考文献	11

一个RNA分子，多种结构和功能

动力学的研究，结构与功能的相互作用

RNA分子的结构-功能关系与多种生物过程密切相关。其中包括基因调控、基因组信息的编码和传输以及蛋白质合成等。然而，通过使用现代影像学 and 生物化学方法，试图建立一个特定的结构或构象如何行使特定的功能，科学界必须克服的以下具体挑战：

- RNA分子可以形成多种可变的结构，这就导致使用整体分析或者静态分析技术时，可能会忽略多种结构及其与不同活动模式的关系；
- RNA结构的构象随机出现或者比其他构象出现的频率高，并且仅仅在特定的条件下才会形成；
- RNA的生物功能随着时间发生变化，因此那些针对静态特征的分析技术不具备捕捉特异性的动态特征（如速度，持续加工的能力）

RNA分子通常形成与生物学功能紧密结合的各种复杂结构，并且这些结构是高度动态变化的。为了真正理解这些系统并克服上述挑战，需要同时研究RNA分子的动态变化，结构和功能。

结构与功能间的相互影响常见于多种RNA分子。例如，核糖开关的主要功能是调节RNA片段的折叠，在与代谢物或者配体折叠、打开或关闭基因后表现出各种不同结构的构象。类似的，我们都知道，RNA分子通过转录合成时折叠成具备各种功能的结构，因此可以通过在单分子水平上观察共翻译时折叠的发生进而详细研究RNA的折叠动力学。

由于不可能仅仅根据序列预测RNA分子的三维结构，因此通过实验上研究这些结构从而进一步揭秘蛋白质合成的调节方式就显得非常重要。此外，众多的RNA结合蛋白（RNPs）也是基本生物过程中不可缺少的，如剪接或者核糖体的组装，但是他们的功能，结构与动态变化过程仍然未知。

科学家需要研究这些参量间的相互关联，使用高分辨光镊系统探索蛋白与RNA之间相互作用的动力过程；进一步的，光镊与多色荧光显微成像技术的结合（FRET），能够有效的建立RNA分子的力学性能与特定的构象状态之间的关联。

内容简介

本指南旨在帮助研究RNA分子的科学家们掌握光镊的基础知识，提供研究RNA结构与功能，以及动力学行为的解决方案。

在下面的内容中，您将学习到：

- 如何设计用于研究RNA分子以及其余蛋白质相互作用的实验；
- 做光镊实验时，如何制备样品；
- 如何使用C-Trap完成实验，分析和解析数据。

C-Trap®的性能

LUMICKS C-Trap光镊-共聚焦荧光成像集成系统支持RNA结构的研究，并且非常适用研究RNA与蛋白间的相互作用。

首先，通过在单个RNA分子上施加力学操控研究RNA分子的构象转变，用以模拟局部温度波动或者与小分子结合时产生的生理结构转变。

其次，测量操纵力随时间的变化有助于量化不同构象的稳定性以及构象间变化的动力学行为。最终，通过这些信息建立有关RNA分子的能量图谱。



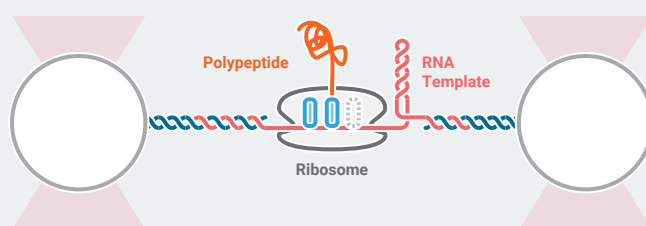
实验设计：可以完成哪些实验？

RNA折叠早在数十年前已经为科学家所知。现在的科学技术已经表明，对于几乎每一类的细胞RNA来说，他们的三级机构都是可变的，并且直接依赖于化学修饰和细胞的生理状态。mRNA的结构用于调节剪接和翻译，RNA和RNA的三级结构在生物起源和结构依赖的功能上起到重要作用。RNA的调节在各种疾病中起到重要作用，然而关于RNA结构的动态变化如何影响细胞和整个生物体的生理学功能还有众多未知的科学问题。

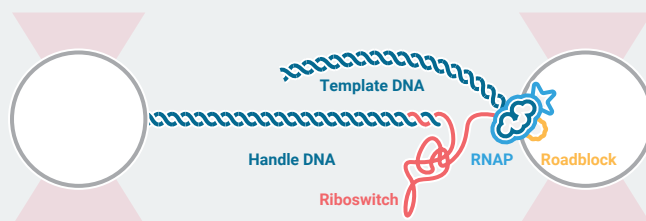
科学家们使用C-Trap进行实验时，光镊捕获微球用以固定RNA分子。通过对微球的可控、定向移动对RNA模板分子进行力学操作，同时测量和记录力和距离的变化值，系统中集成的共聚焦或STED超分辨显微系统在力学测量

的同时实现荧光标记的蛋白实时成像。科学家们可使用C-Trap研究RNA聚合酶合成后的RNA的折叠动力学，同时，也可以探究配体在维持RNA亚稳态结构中的作用。图1展示了不同实验设计的例子，这些实验设计可用于评估RNA分子的特性及其与蛋白质的相互作用，阐明这些过程的热力学及动力学行为将帮助科学家们进一步的了解这些系统的精确机制。

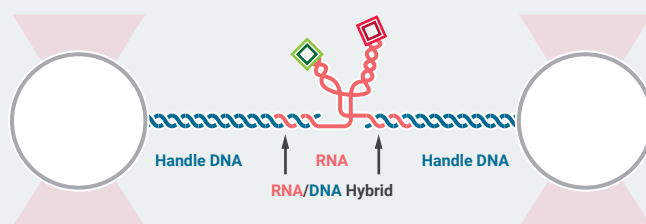
实验1：当新出现的肽链仍然附着在核糖体上时，蛋白质折叠开始共翻译。单分子方法可以实时记录共翻译折叠开始的时刻，这种方法可以帮助科学家们剖析核糖体在引导新生肽链向其折叠的三维结构中的作用，并且表征调节蛋白折叠的翻译延伸动力学。



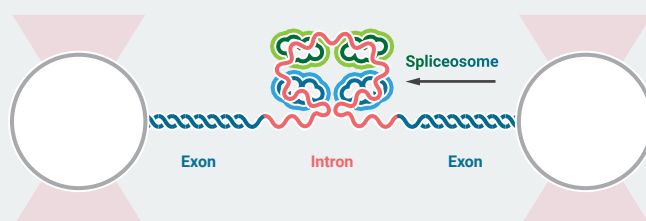
实验2：RNA分子在RNA聚合酶开始出现时立即开始折叠。新生RNAs与配体间的相互作用直接与不同的RNA结构的形成相关，这是核糖开关的一个基本特征，他通过配体依赖的RNA的折叠动力学与转录速率间的紧密耦合来调节下游基因的表达。



实验3：RNA折叠通路导致调节功能开关与亚稳态结构的形成密切相关。借助于单分子力谱和共聚焦荧光成像，可以确定核糖开关在mRNA转录代谢物是否存在的情况下，具备的热力学稳定状态下的能量图谱。



实验4：mRNA前体分子由剪接体加工而成。剪接体是一种大型的RNA-蛋白质复合物，有几个小的核糖核蛋白组成，可产生编码蛋白质的成熟mRNA。由于遗传密码的三重性质，仅切割一个核苷酸的RNA产生的错误将导致具备可改变阅读框的mRNA，从而导致无法编码正确蛋白质。当然，也可以使用单分子方法详细研究剪接过程。



怎么制备合适的样品？7步制样

实验配置

在最普通的去折叠实验中，RNA样品（本例中为RNA发卡结构）主要由感兴趣的RNA组成，两侧为两个双链RNA/DNA杂交手柄（图2）；RNA/DNA手柄的两端都标记了Digoxigenin或者Biotin，手柄的长度通常为900-2000个核苷酸，这样可以基本覆盖各种类型的实验，同时也能保证最好的分辨率。

Biotin和Digoxigenin标记的功能化RNA/DNA手柄，就可以将整个分子固定在两个不同功能化的微米级的二氧化硅或者聚苯乙烯微球上，这些微球的表面通常已经做了Streptavidin和anti-digoxigenin的化学修饰，分别与Biotin和Digoxigenin特异性结合。高能量激光产生的光阱固定光学微球，科学家们通过操纵其中的一个光阱改变他们之间的相对距离。通过这种方法，我们可以拉伸或放松单个RNA分子，测量其力学性能和结构特性。

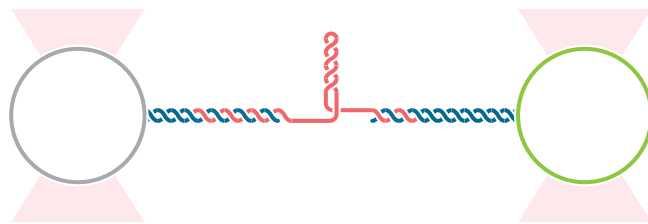


图2 使用光镊研究RNA发卡结构示意图，为了保证RNA分子与光镊固定的微球特异性的结合，手柄的末端与微球的表面修饰的DNA链互补配对。

样品制备

制备适用于光镊实验的RNA样品，我们建议参考Stephenson等人[1]和Wen等人[2]提出的方案，首先，将与感兴趣的RNA相对应的DNA序列克隆到质粒载体中；接下来，对同一个质粒进行三次PCR反应，生成两个手柄和一个转录模板；转录模板包含手柄区和插入序列，而全长RNA是通过体外转录合成的。最后，将RNA和化学修饰的手柄退火在一起，以生成用于光镊操作的分子。

7步制备适用于光镊实验的RNA样品

- 克隆目标序列：将与RNA结构相对应的DNA序列克隆到载体中。
- 转录模板的合成和纯化：通过PCR合成转录模板。接下来，使用PCR纯化试剂盒纯化PCR产物，并将样品浓缩至>200 ng/μl。由于纯化的DNA用于转录，因此在洗脱和浓缩步骤中应使用无RNase的水。
- 体外转录：通过体外转录在37 °C下过夜合成RNA，以最大限度地提高RNA产量。反应发生在1x T7 RNA聚合酶反应缓冲液中。转录后，加入1 μl DNase I在37 °C下消化DNA模板15分钟。使用硅胶自旋柱纯化RNA。通过变性琼脂糖凝胶电泳验证产品的长度和完整性。
- 生物素化手柄A的合成：首先，使用A_forward和A_reverse引物通过PCR生成未修饰的手柄A，并将扩增的DNA浓缩至>200 ng/μl。接下来，使用引物延伸反应将生物素修饰加入PCR产物中。您可以直接在退火中使用生物素化的手柄A（生物素-HA），无需纯化。由于生物素-HA将与RNA退火，因此在两个步骤中都使用无RNase的水是至关重要的。
- 地高辛修饰手柄B的合成：使用引物Bf和地高辛修饰寡核苷酸Dig-Br通过PCR合成地高辛修饰手柄B (dig-HB)。接下来，纯化PCR产物并将样品浓缩至>200 ng/μl。与上述相同的方法也可用于合成生物素化手柄A，而是使用生物素修饰的寡核苷酸。
- 退火，RNA与手柄链结合上：在退火缓冲液中使用大约等摩尔浓度的RNA和每个DNA手柄进行反应。使用800 μl 甲酰胺、2 μl EDTA 0.5 M pH 8.0 40 μl PIPES 1 M pH 6.3 和80 μl NaCl 5 M。将混合物在95 °C下孵育10分钟，在62 °C下孵育1小时，在52 °C下孵育1小时，最后自然降温至4 °C。
- 退火样品的纯化：通过乙醇沉淀回收杂交构建体。然后，将它们溶解在无RNase的水中。样品已准备好使用，可以储存在-20°C。

小贴士

在您的RNA/DNA样品手柄末端添加多个Dig和Bio，能够保持样品的长时间稳定，并且适用于强的力学拉伸实验。

每次Dig或Bio修饰时留下2或3个未修饰的碱基对，最大限度地减少手柄功能化过程中的空间位阻。

如果您想制备具有聚AT或GC序列的RNA构建体，请参阅Wei Cheng [3]开发的实验方案。

单个RNA分子的操纵

实验设计

在接下来的实例中，我们展示如何使用上面所述的方案制备RNA样品的实验结果。

首先，我们使用C-Trap集成的层流微流控系统构建单分子检测实验，简而言之，我们将样品与AntiDig包被的微球一起孵育，将携带RNA的微球通入到第一个通道，并且利用光镊抓住此微球；接下来，我们将捕获的微球转移到包含缓冲液的第二个通道。然后，我们将第二个光阱转移到充满Streptavidin包被的微球所在的第三个通道中，并捕获了一个微球。最后，我们将第二个微球转移到含有缓冲液的通道中，并将其靠近第一次捕获的微球以形成稳定结构，如图 3 所示。平均而言，整个RNA体系的组装大概花费2分钟。

原位构建单个RNA分子拴系结构

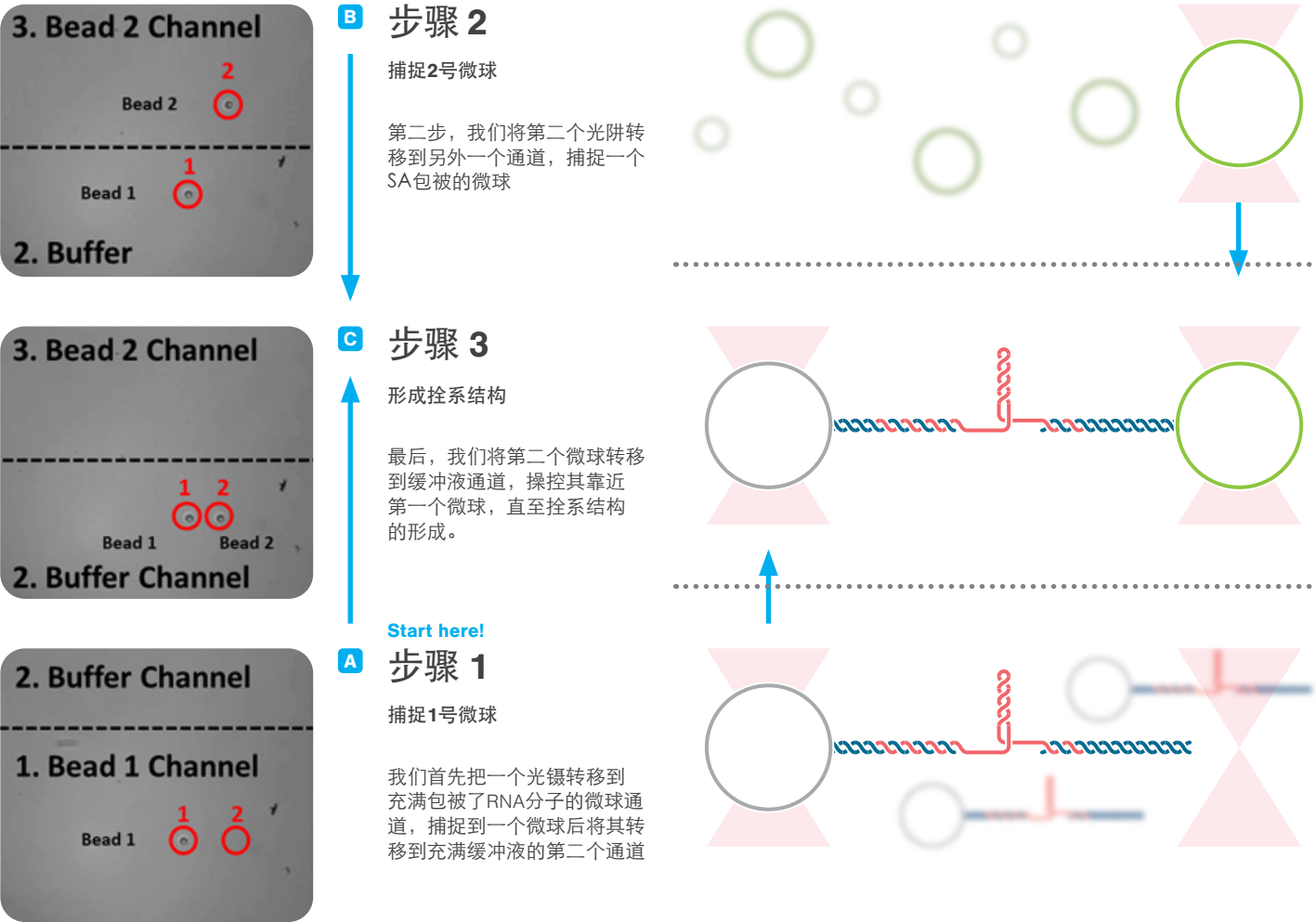


图3 A 在通道1中光镊1捕获带有RNA-antiDig的微球，B C-Trap具备大视野及操纵能力的特征，光镊2在通道3中捕获Streptavidin修饰的微球，C，在缓冲液通道2中微球1和微球2相互靠近构建稳定的单RNA分子组装体系，此时施加在RNA分子上的力及两个微球间的距离可以实时连续记录。图片来自于清华大学史航教授课题组。

单个RNA分子的力学性能研究

RNA单分子体系组装完成后，我们开始进行操纵和测量。在第一个实验中，我们以10nm/s的恒定速度拉伸和放松RNA分子，记录的力-延伸距离曲线如图4。

在大约8pN时，我们观察到大约15nm的展开裂口，当我们放松分子时，再折叠曲线的路径与展开时路径相同，这对应于大小相似的再折叠过程。如果我们放大产生变化的过度区域，我们发现RAN分子似乎随着时间在折叠和打开两个状态间波动。

这些发现证实RNA分子的打开是一个可逆的过程，在这些条件下（超出平衡态），需要8pN的力来克服展开与折叠之间的壁垒，展开与再折叠之间的循环可以重复多次，并且结果相同。

RNA 平衡动力学研究

在第二个实验中，我们评估了RNA分子随时间（处于平衡态）的构象转变。为此，我们将单个RNA分子置于特定的初始张力。有趣的是，虽然在6.2pN和7.2pN附近可以观察到两个主要的态，偶尔也会看到其他的瞬态构象的产生。

如果在测量的开始改变初始预设拉力，我们观察到不同态的占据逐渐变化。初始拉力增大时，展开态更多；相应的，初始拉力减小时更倾向于折叠态。高分辨的光镊还能以前所未有的稳定性实时监测小的并且瞬时的RNA构象，为科学家们提供有关构象态的数量及出现的频率相关的宝贵信息。

下一节，我们将展示如何通过更高级的分析来确认多个构象转换的存在。

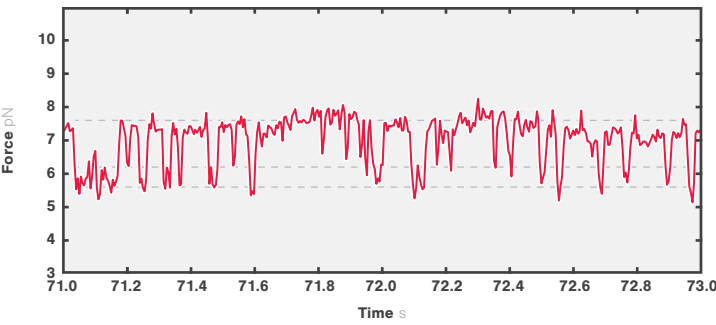


图5 单个RNA分子在初始拉力为7pN的情况下，力随时间变化的曲线图，其中灰色虚线表示两个主要的态及第三个潜在的瞬态。

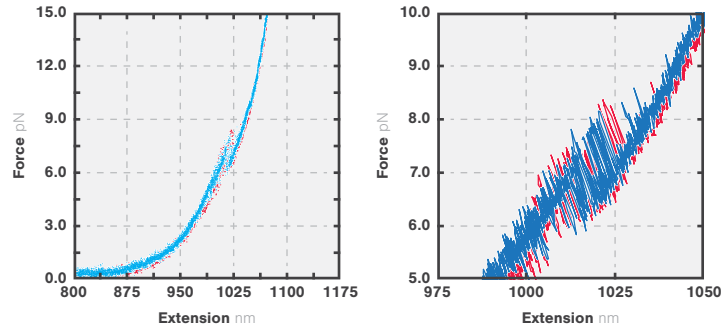


图4 单个RAN分子的力与距离曲线，其中红色和蓝色分别对应于拉伸和收缩，速度为10nm/s。右图为展开与再折叠转变的放大图像。数据点的采集频率为200Hz。

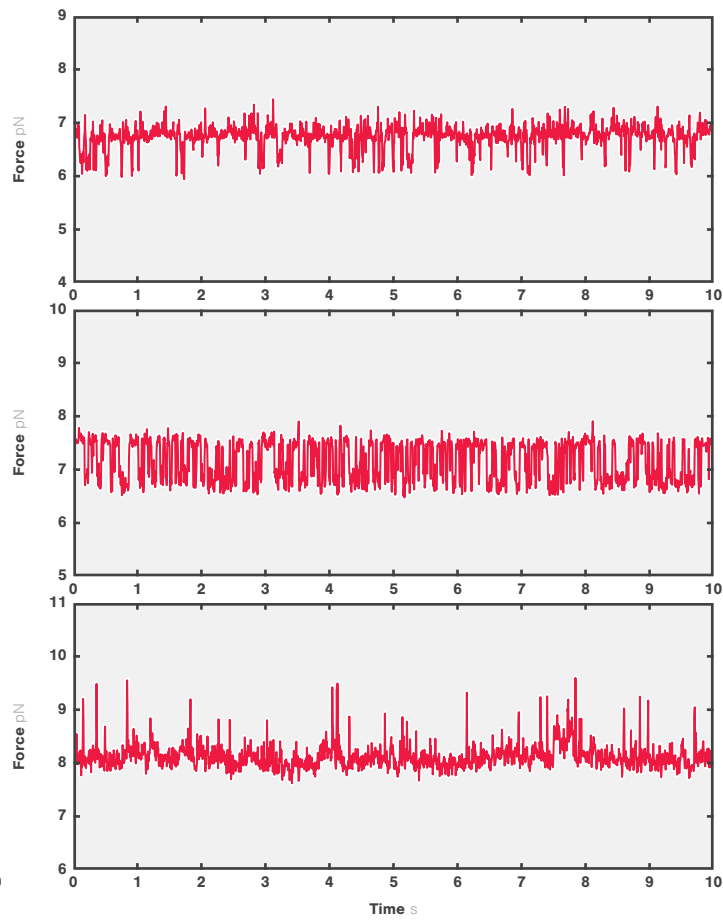


图6 不同初始拉力下的力（6.5,7.5,8.2pN）随时间变化的曲线。

实验数据的分析与解析：选择合适的模型。

力-延伸距离曲线

力-延伸距离曲线（FEC）通常用于表征聚合物的弹性和力学性能，例如DNA或者RNA（图7）。在典型的实验中，RNA分子被拴系到两个着力点上。为了操纵RNA分子，通常其中一个光学捕获的微球时可以随意操控，从而对分子施加张力。因此施加的力和两个着力点之间的距离为我们可以实验过程中控制和测量的参数，我们可以实时操控两个连接点的距离，因此分子的状态也随之发生改变。在较小的延伸距离是分子保持松弛；延伸距离增加时分子状态也随之紧绷起来。他甚至可以显示不同张力下分子构象的展开转变，这直接反映了破坏某个特定结构所需要的能量。

当我们改变连接点间的距离时，FEC曲线定量表达了分子对其所受到力的响应。很直观的是，对于连接点间的任意给定距离，较灵活的分子将比相同长度的聚合物承受更小的力。这些特性对于分子的生物学功能至关重要，例如，RNA分子的力学性能决定了RNA分子在翻译过程中的加工方式。

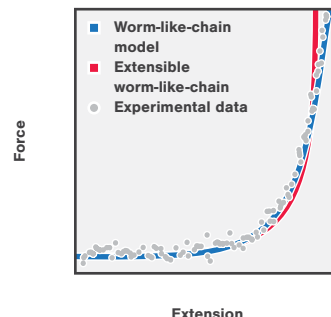


图7 力-延伸距离曲线及蠕虫状链模型的拟合

如何进行数据分析？

FEC曲线可以拟合到蠕虫状链（WLC）模型中。经典模型有两个自有参数：轮廓长度（L）和持久长度（Lp）（图7，红线）。轮廓长度对应于完全延伸聚合物的延伸长度，持久长度表征这感兴趣对象的弯曲特性（更高的Lp值对应于更硬的分子），该模型有以下方程表示，其中F表示任意给定延伸距离x时检测到的力：

$$F = \frac{k_B T}{L_p} \left(\frac{1}{4 \left(1 - \frac{x}{L}\right)^2} - \frac{1}{4} + \frac{x}{L} \right)$$

考虑到聚合物在收到外力时会发生延长，此时需要采用扩展WLC模型。它表征了该聚合物的弹性特性（图7，蓝线）。这个模型具有与经典模型相同的自有参数，外加一个附加参数：拉伸模量（S），用于测量分子轮廓长度的形变。此模型可以由下面的方程表示：

$$F = \frac{k_B T}{L_p} \left[\frac{1}{4} \left(1 - \frac{x}{L} + \frac{F}{S} \right)^{-2} - \frac{1}{4} + \frac{x}{L} - \frac{F}{S} \right]$$

如何解析FEC曲线上的突变？

在多种生物学应用中，DNA分子通常被用作分子手柄来操纵其他分子，例如RNA结构。随着连接点间距离的增加，DNA手柄和感兴趣的研究对象所承受的力也随之增加。测量获得的FEC曲线与DNA分子的典型FEC曲线间的偏差对应于研究对象相对于施加张力的响应。

在适当的张力下，我们会观察到力的突然下降，这表明分子已瞬时松弛（图8）。这种突然的松弛对应于分子构象的协同展开，例如RNA发夹展开，导致拴系分子的延伸距离突然增加，因此张力松弛下来。与哪些不太稳定的物体相比，力学性能上非常稳定的物体在更高张力下会观察到这种拉伸的突然变化。

通过FEC曲线，您可以：

- 通过测量施加的张力在表征RNA分子的力学稳定性，观察到力的突然下降，并且
- 量化力突然下降时延伸距离的变化，识别实验过程中受影响的特异性片段的变化。

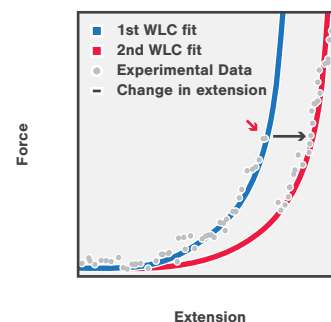


图8 FEC曲线上的突变给出研究对象相关的价值信息

FEC数据可以分为几个部分，按照力信号突然下降时间节点分开。数据的每部分都适用于WLC模型（图8中的蓝线和红线）。首次出现力突然下降时的最高点决定了研究对象的延伸变化所需要的力（反应了展开事件，图8中的红色箭头），对应于此力的水平线链接连续的WLC曲线，这条曲线的长度对应于研究对象中延伸距离的增加。

数据分析

力拉伸距离曲线反应了分子对力学操纵的响应，因此力学操纵分子的方式（通常指操纵方案）也会影响这种响应。

通常来讲，某物体的延伸突然增加是对应的张力与分子延伸时的速率密切相关。换句话说，在较低的速率下，力的突然下降通常发生于较低的值（对应于图9中的虚线），而在较高的速率下，力的突然下降发生于较高的值（对应于图9中的实线）。这种现象背后的原因是伸长率的缓慢变化为分子在施加的张力之间松弛接近平衡提供了更多时间。另一方面，更快的变化会不断驱使分子远离平衡态，而平衡态（缓慢变化）过程远比非平衡（快速变化）过程需要更少的工作，因此行为的差异取决于力学操作方案。如果我们以不同的速率进行多次测量，我们就可以从中提取展开和折叠速率以及展开所需的能量 ΔG ，以及中间态的数量和对应的距离，计算的方法基于Bell-Evans理论。

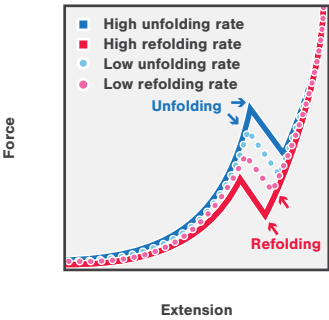


图9 突然发生松弛的力取决于拉伸与松弛的速度

平衡态测量

平衡态的测量（EM）是在不改变固定点之间距离下的测量，通常与力-延伸距离曲线（FEC）结合使用。在EM中，预先设定的拉伸力施加到分子上，同时记录其响应随时间而变化的曲线（图10）

在适当的拉伸力范围内，延伸距离的突然变化显示出分子在延伸态和非延伸态之间转变的丰富动力学行为，这些动力学行为完全由热波动驱动，最能代表溶液中分子在特定张力下的内在特性。

此外，FEC的每次测量仅仅能在延伸曲线上看到一个突然地变化，而EM通常在很短的时间（几分之一秒）内获得多个态转变事件。更重要的是，EM能够直接检测到短寿命事件，分辨出延伸距离上非常小的变化，这对应于可能存在的中间态，而这些中间态由于变化迅速，超出了FEC的检测范围。EM的这些所有特征帮助科学家获得分子热力学特性相关的参数，例如与折叠状态或特定转变相关的自由能，同时也能够提供分子处在特定态上的寿命以及出现的频率。从生物学的角度来看，这些特性对于理解细胞内复杂大分子反应非常重要，例如共翻译蛋白折叠和蛋白聚集。

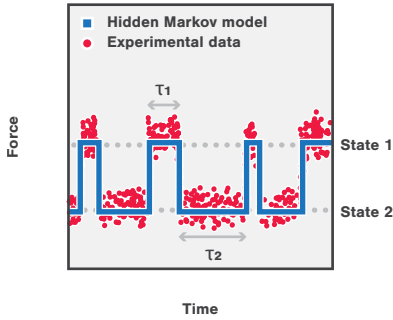


图10 平衡态测量能够识别分子所处的态以及态间的转变动力学

数据分析

通常使用Hidden Markov模型分析平衡态测量时间序列。HMM模型是一种统计算法，它假设存在明确定义的态，例如RNA发卡结构中的折叠和展开态，这些态被一系列的噪音覆盖，例如溶液中分子的布朗运动。通过确定最可能存在态的分布以及态间的转变速率，同时分析计算每个轨迹中潜在态的时间序列，HMM模型也有以下问题提供答案：

- 分子本身有多少态？
- 分子在每个态上的停留时间？
- 特定态之后分子态的预期及停留时间？

HMM模型需要依靠深入了解统计学相关的知识，幸运的是，多种有关HMM算法的开源知识帮助我们分析分子的平衡态测量曲线。

在这篇指南中

HaMMy: 原本用于分析smFRET轨迹曲线，具备自身用户界面，请通过下面的链接获取：
www.ha.med.jhmi.edu/resources/#1464200861600-0fad9996-bfd4

QuB: 原本用于分析离子通道轨迹曲线
www.qub.mandelics.com/

vb-FRET: 原本用于分析smFRET轨迹曲线，是一个基于Matlab的可执行程序，请通过下面的链接获取：
www.vbFRET.sourceforge.net



总结和展望

生物学家和生命科学家可以使用这项技术轻松快速的设计和完成实验，解析数据并获取以前无法获取的实验信息。

RNA分子结构与功能关系的确定，对于了解这些分子如何与细胞内的分子机器和其他蛋白质相互作用有十分重要的意义。RNA分子的结构，功能与态间动力学的变化相互制约，决定着基因表达、蛋白合成等生理学过程，而蛋白质稳定决定了对信号传导和蛋白质稳态至关重要的重塑过程。

本指南展示了如何使用C-Trap研究单个RNA分子，并展示了从样品制备到数据解析整个实验工作流程。过去，单分子相关的实验需要由具备先进知识背景的专业研究人员主导。然而，新技术的进步，自有开放的软件以及最近一代的操作简单的科学仪器，生物学家和生命科学家们也可以使用这项技术轻松快速的设计和完成实验，解析数据并获取以前无法获取的实验信息。

C-Trap的优势

Optical traps:

光镊是高度聚焦的相干光束，能够在3D空间内操纵移动物体（细胞，微球等），同时以高时空分辨主动测量物体的位移。C-Trap的优势在于，双光镊可以相对于彼此可控移动，并且都具备非常高的空间分辨率。RNA的折叠/展开实验最好在双光镊系统中进行，保证我们在缓冲液深处进行3D实验，远离表面效应如非特异性结合和复杂的表面张力的影响。

高时间分辨率，高灵敏度的检测技术；

C-Trap的共时空分辨率帮助您探测发生在单个RNA分子上的微小变化，并且其时间分辨率高达百万分之一秒。

高性能层流微流控系统

RNA相关实验的样品非常珍贵，并且稀少，并且需要在多种缓冲条件下进行实验操作。集成的自动化微流控系统优化了实验流程，您可以在不同条件下，研究多个蛋白质与单个RNA分子的相互作用。

长时间的、可重复实验

经过专门设计的C-Trap系统在降低漂移、增加系统稳定性方面具备独一无二的优势，对于非常慢的RNA展开实验也能够高灵敏测量。

温度控制

RNA相关过程通常发生在生理温度下，C-Trap系统在室温到37摄氏度的范围内可控，这将帮助您更深入的了解这些分子在细胞内部的行为。

全自动操作和软件脚本

C-Trap集成了最先进的脚本界面，让您以完全自动的操作方式控制实验中的细微变化，这将大大腾出你的时间用作其他实验，论文写作或者喝杯咖啡休息一下。

精确的力学操控

C-Trap系统能够精确测量RNA分子的打开与折叠以及RNA结合蛋白在RNA分子上的移动；与可以使用恒定的力学控制单个RNA分子和蛋白质，而该力会随着分子自身效应自动调整或者可控的增加或减少力。

相关文献

1. W. Stephenson, G. Wan, S. A. Tenenbaum, and P. T. X. Li, "Nanomanipulation of Single RNA Molecules by Optical Tweezers", J. Vis. Exp, no. 9010, 2014
2. J.-D. Wen, M. Manosas, P. T. X. Li, C. Bustamante, F. Ritort, and I. Tinoco, Jr, "Force Unfolding Kinetics of RNA Using Optical Tweezers. I. Effects of Experimental Variables on Measured Results", Biophys. J., vol. 92, no. 9, pp. 2996–3009, 2007.
3. W. Cheng, "Mechanisms of HCV NS3 Helicase Monitored by Optical Tweezers", Methods Mol. Biol., vol. 1259, pp. 229–55, 2015
4. S. Tafoya, S. J. Large, S. Liu, C. Bustamante, and D. A. Sivak, "Using a System's Equilibrium Behavior to Reduce its Energy Dissipation in Non-Equilibrium Processes", bioRxiv 291989, 2018
5. A. Alemany, and F. Ritort, "Force-Dependent Folding and Unfolding Kinetics in DNA Hairpins Reveals Transition-State Displacements along a Single Pathway", J. Phys. Chem. Lett., vol. 8, pp. 895-900, 2017

info@lumicks.com

www.lumicks.com

Or find us on:



LUMICKS HQ

Pilotenstraat 41

1059 CH Amsterdam, The Netherlands

+31 (0)20 220 0817



LUMICKS Americas

800 South Street, Suite 100

Waltham, MA 02453, USA

+1 781 366 0380



LUMICKS 亚太

中国北京市朝阳区东三环中路20号 乐成中心A座 577房间

电话: +86 (0)10 58783028

All content and images used in this document are owned or licensed by LUMICKS Technologies B.V and/or its subsidiaries (LUMICKS)!. Unauthorized use is prohibited. Any information provided herein by LUMICKS is made available "as is" and [you] understand and agree that such information is made available without any representation or warranty, express or implied, including any implied warranty of merchantability, satisfactory quality or fitness for any particular purpose or any warranty that the use of such information will not infringe or violate any patent or other proprietary rights of any third party.

For the latest product information please consult us directly. C-Trap®, m-Trap®, AFS®, u-Flux™, Bluelake™, z-Movi®, LUMICKS and the LUMICKS logo are registered trademarks of LUMICKS.

© LUMICKS. Amsterdam, The Netherlands.

LUMICKS