

单分子水平上定量测量 DNA构象动力学

DNA呼吸应用案例

2017

单分子水平上定量测量DNA构象动力学

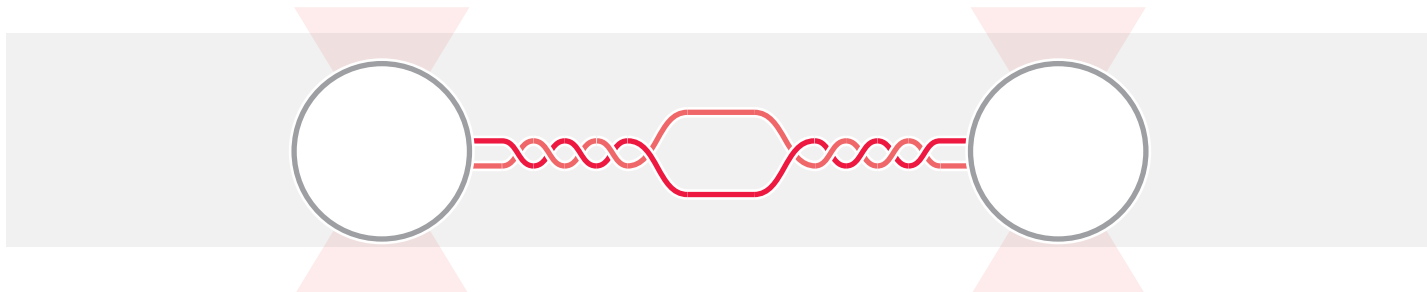


图1 DNA呼吸实验示意图。双链DNA分子与两个光镊捕获的微球形成拴系结构，DNA泡状结构形成产生力的变化

DNA呼吸的实时测量

为解开并正确传输包含在 DNA 中的细胞遗传信息，需要进行无数基本的生物相互作用。这种 DNA 功能相关的反应进程（例如复制、转录或修复）不仅受与特异性酶的相互作用的调控，还受 DNA 本身物理特性的动力学影响。这些可以促进或在不同时间点停止特异性相互作用。从DNA结构的角度来看，DNA 是一种高度可塑的分子，容易弯曲或产生呼吸作用。

DNA呼吸作用，指的是DNA双链内部发生的局部构象转变，此时碱基对自发断裂而不需要任何外部的能量。这种现象会产生局部片段，即DNA气泡，其中DNA双链暂时转变为DNA单链。这些DNA气泡随后可以作为与特异性蛋白相互作用的位点。

由于此过程的瞬时性和自发性，在单分子水平上对实时DNA呼吸转变的研究需要具备时间和空间上的高灵敏特性。LUMICKS公司开发的高分辨光镊-高性能微流控集成系统，可以通过测量低至亚纳米水平上的长度变化以研究DNA呼吸作用带来的构象转变。

此外，集成的层流微流控系统保证在捕获的微球之间自动原位形成DNA拴系结构（图1），使用特异性的蛋白质分子非常轻易的表征不同DNA呼吸构象以及精确测量相关过程，如序列稳定性和DNA泡形成的频率。

LUMICKS实验室的工程师测试单根DNA的呼吸带来的力变化，在低盐缓冲液（10nM TRIS）环境中，长度为8.4kbp的双链DNA分子拉伸至约65pN时的力学-延伸曲线如图2所示。沿着DNA磷酸骨架所带的负电荷，在低浓度盐的环境中增加了DNA双链间的排斥力，施加在DNA双链上的力维持在接近过度拉伸的平台期时（大约58pN），有利于DNA呼吸作用即DNA气泡的高频产生。通过保持DNA链的长度恒定，我们观察到的力学信号随时间的变化波动揭示了DNA的呼吸作用。LUMICKS光镊系统的超低漂移特性，保证了在类似实验条件下，我们能够监测到超过500秒的DNA呼吸作用。

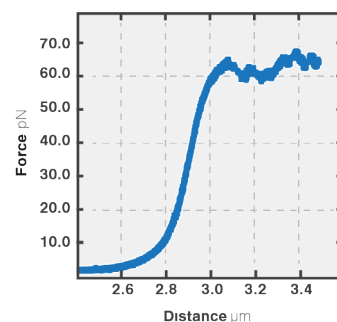


图2 低盐缓冲液（10nM TRIS）环境中单个长度为8.4kbp的DNA双链分子的力学延伸曲线。DNA双链分子被固定在光学捕获的经Streptavidin修饰的微球之间，biotins分别修饰单链的3'和5'端，在接近65pN作用下，分子处在过度拉伸的状态下，观测到了一系列的DNA呼吸作用。

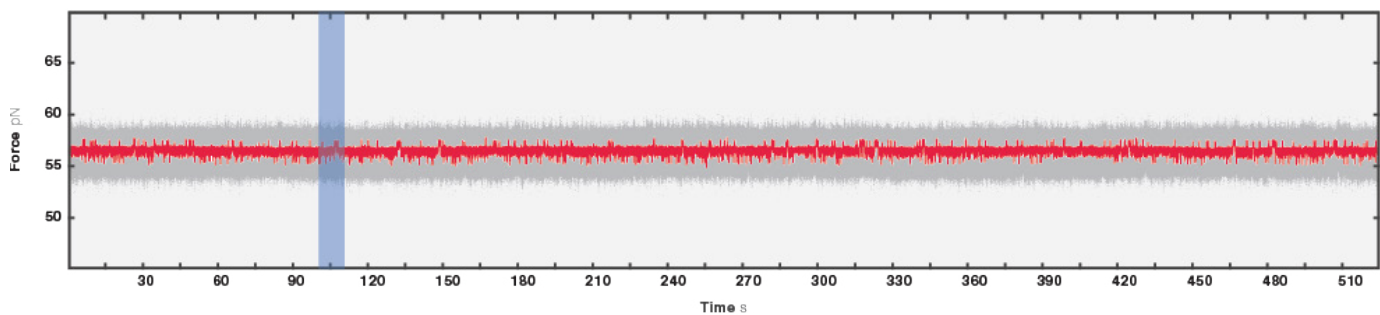


图3a 光学捕获的PS微球（直径为0.8 μ m）间固定的单根dsDNA（长度为8.4bp）在超高520秒的时间内力学信号变化曲线，此时的应变系数为500pN/ μ m，灰色和红色信号分别对应的频率为50kHz和1000Hz。

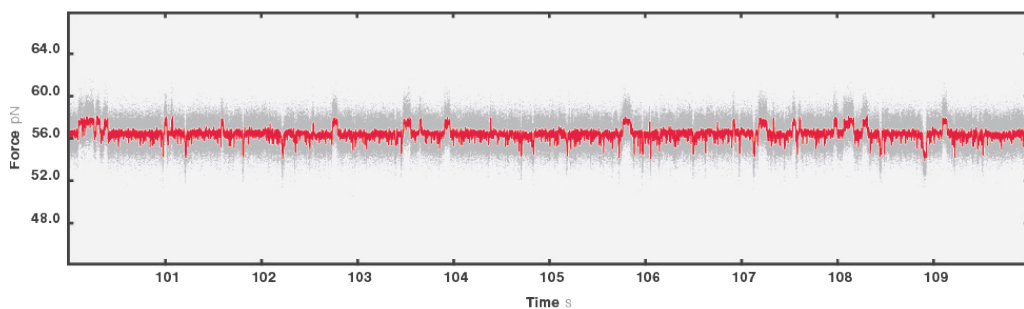


图3b 从图3a中截取的10s内的力学信号变化曲线

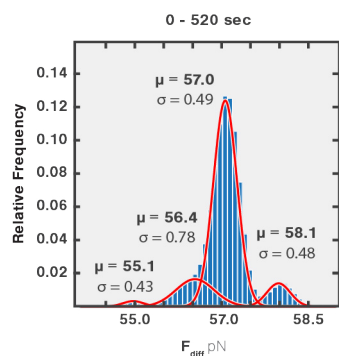


图3c 全部时间内的力学信号统计直方图

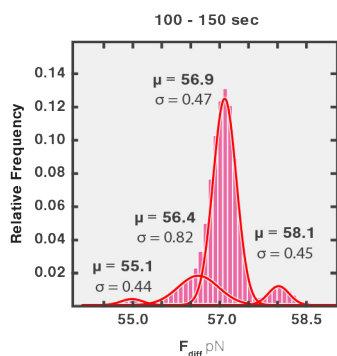


图3d 100到150秒内力学信号的统计直方图

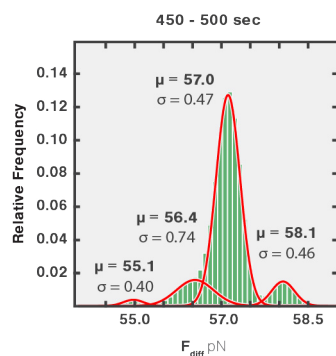


图3e 450到500秒内力学信号的统计直方图

图3c-e 全部时间内力学信号的统计直方图（3c）和两个长度为50秒的片段内力学信号的统计直方图（3d和3e），通过高斯拟合获得每个峰的平均值和 σ 值。

单独分析放大后的10秒内力学信号的变化曲线，可以清楚的看到多个态之间的快速转变（图3b）；事实上，当我们对全部时间内进行直方图分析时（图3c），可以解析出4个态，对应于高达60个碱基对的DNA呼吸作用。当我们随意在整个时间

内摘取连个50秒的片段（图3d和3e）进行相同的直方图分析时，得到相同的特征参数。这不仅表明了实验是在不改变DNA分子过渡动力学的情况下进行，也进一步证明了LUMICKS高分辨光镊系统的超高稳定性，能够以前所未有的方式实时

监测微弱和瞬间的DNA构象变化，为科学家们定量提供有关各种构象态的数量和频率的宝贵信息。

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