光镊-共聚焦荧光集成系统在研究小分子与蛋白间相互作用中的应用

小分子与蛋白相互作用应用案例

2017

LUMICKS

本文为LUMICKS应用案例指南，欢迎大家免费引用。

聚合物和蛋白纤维的单分子操纵及可视化

图**1** 小分子与蛋白质相互作用实验示意图，双链DNA连接到光镊捕获的微球表面，马达蛋白与DNA发生相互作用。多个小分子与马达蛋白发生相互作用，降低或者改变其活性。

小分子与蛋白或者**DNA**分子的相互作用对酶活性的影响

小分子抑制剂广泛用于制药工业，经常用于癌症治疗，并且目前仍然是临床使用中最有效的药物之一。小分子在 DNA 模板中的嵌入，或与各种酶在活性结合位点的结合，被广泛用作药物治疗，用于修复发生异常DNA 加工相关过程。

高分辨光镊技术和荧光显微成像技术系统的结合，不仅能够研究小分子的结合特性（如动力学和扩散特征），还可以研究他们在抑制DNA加工相关过程活性的研究。

这些过程可以分为两大类:

- 小分子与DNA模板相互作用，导致其成为蛋白质运动的障碍;
- •小分子与酶的活性结合位点相互作用，从而降低或改变其性能。

LUMICKS C-Trap® 光镊-荧光显微集成系统能够施加和测量拴系 DNA 的力和延伸距离，同时在蛋白质与 DNA 相互作用时实时成像。 通过这种方式，可以监测蛋白质并直接表征其作用。当在单分子水平上测量DNA-蛋白质相互作用时，可以详细研究 DNA 组织、复制、翻译和修复的确切机制，包括构象变化。

为什么单分子技术可以用于药物发现

用单分子方法鉴定最有效的候选药物在未来的药物发现中具有巨大的潜力，与用于筛选的传统分析相比具有重大优势。单分子技术能够表征复杂生化通路中的新特性和特定瞬态步骤，而这些可能淹没在整体平均系统中的细节，才使您能够实现对特定步骤的抑制。 鉴于大多数生化通路通常由多个步骤组成，潜在药物靶点的总数大大增加。 而 C-Trap 能够直接识别多步过程（即使是瞬态动态过程），因此可以直截了当的观察哪一步抑制发生及其工作机理。 反过来，开发的药物定位更加准确，降低带来副作用的可能性 。

C-Trap集成系统完全消除了单分子实验中常见的问题，如实验时间长和成本高。 批量分析通常是间接的筛选方法，需要许多实验来揭示所讨论的分子机制。 此外，由于 C-Trap 实验只需要单个分子，因此试剂消耗要低几个数量级。 直观的操作软件、集成的微流体和自动化功能保证了前所未有的快速工作流程。 C-Trap 可以获取更多新数据并确保快速有效地精确筛选小分子 。

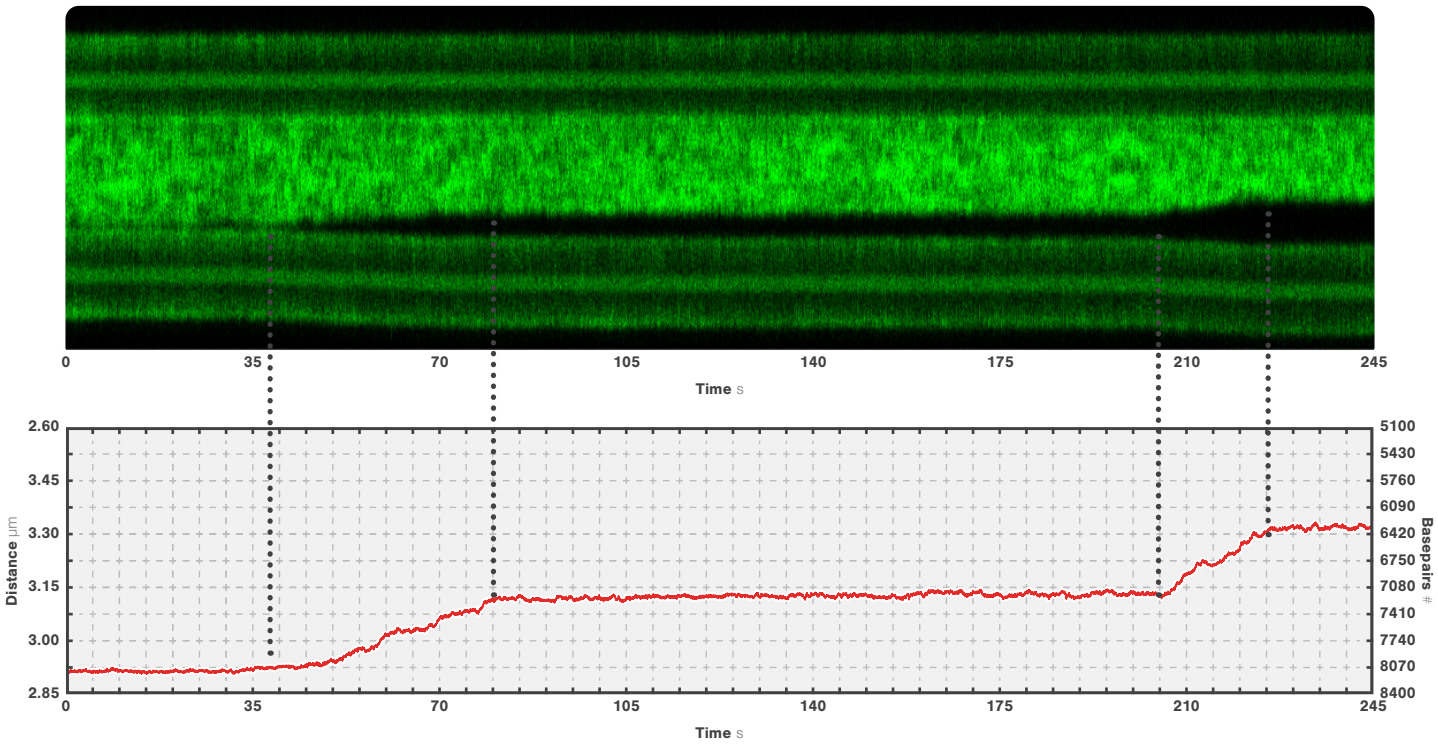

图**2** 上，Kymograph显示SYTOX与dsDNA的结合，DNA聚合酶的位置和活性的间接成像 下，生成ssDNA时，同步产生的DNA距离变化显示了DNA聚合酶活性步骤

小分子与蛋白间相互作用的实时成像与表征

LUMICKS C-Trap系统的高分辨光镊可用于捕获拴系在两个微球之间的DNA 分子，而马达蛋白和不同标记的小分子可以通过共聚焦荧光显微镜同步成像。

图 1 显示了小分子如何与马达蛋白相互作用，从而降低或改变其活性；或者，小分子可以与 DNA 模板相互作用，阻碍蛋白质在DNA分子上的运动。

图 2 显示了最近的实验结果，在最开始，DNA 模板 (8.3 kbp) 被 SYTOX 完全嵌入，SYTOX是一种小分子，非常容易插入双链 DNA 的碱基对之间，通常作为dsDNA的标志物。通过从DNA模板中去除校对核苷酸的单结合 DNA 聚合酶使dsDNA变为ssDNA，这个过程可以通过荧光显微镜实时监测，图中随时间增加而出现的暗区为ssDNA的区域。

同时，由于单链 DNA 的产生，通过保持恒定的操控力，观察到DNA 的长度有明显增加。在这种情况下，小分子的存在损害了运动蛋白的运动性，通过增加其相互作用期间暂停的频率和持续时间来显著降低其速度。

参考文献

Manosas et al. Nature Communications (2017)

Almaqwashi et al.

Nucleic Acid Research (2016)

用户视角：

德国哥廷根大学

Georg August University

我们使用LUMICKS的C-Trap操控细胞亚结构，研究他们的动态行为，同时实时成像性能帮助了解其功能。虽然我们是光镊的新用户，但是他的优秀操控、测量能力和实时成像的集成效果令我们印象深刻，让我们能够设计、完成一个完整的研究。

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