



Pressemitteilung, 7. Oktober 2019

dr. christiane menzfeld

tel.: +49 89 8578-2824

menzfeld@biochem.mpg.de

www.biochem.mpg.de/news

 @MPI_Biochem

10-fach schnellere Superauflösungsmikroskopie

Optimierte DNA-Sequenzen ermöglichen 10-fach schnellere Bildaufnahme mit DNA-PAINT

- **DNA-PAINT nutzt DNA-basierte Sonden um kleinste zelluläre Strukturen sichtbar zu machen**
- **Bislang war die Technik durch vergleichsweise langsame Bildaufnahme limitiert**
- **Optimiertes DNA-Sequenzdesign erlaubt es, nun Ergebnisse 10-fach schneller zu erhalten und ebnet den Weg zu Hochdurchsatzstudien mit biomedizinischer Relevanz**

Fortschritte in der Fluoreszenzmikroskopie ermöglichen es, biologische Prozesse unterhalb der klassischen Beugungsgrenze des Lichtes sichtbar zu machen. Eine Variante dieser sogenannten Superauflösungstechniken ist DNA-PAINT, die von Ralf Jungmann, Forschungsgruppenleiter für "Molekulare Bildgebung und Bionanotechnologie" am Max-Planck-Institut für Biochemie und Professor für Experimentalphysik an der LMU, und Kollegen entwickelt wurde. „DNA-PAINT ermöglicht es, superaufgelöste Bilder mit technisch vergleichsweise einfachen Mikroskopen zu erhalten“, sagt Jungmann. Um das zur Rekonstruktion superaufgelöster Bilder notwendige „Blinken“ von Zielmolekülen zu erreichen, werden diese bei DNA-PAINT mit kurzen DNA-Strängen markiert. In Lösung befindet sich ein komplementärer, farbstoffmarkierter DNA-Strang, der wiederholt an den Zielstrang an- und abbindet und das Ziel zum „Blinken“ bringt. So erreicht DNA-PAINT sehr hohe Ortsauflösungen von besser als 10 nm und kann durch die Nutzung verschiedener DNA-Sequenzen, quasi Barcodes, viele Zielmoleküle gleichzeitig abbilden.

„In den letzten Jahren haben wir die Technik in vielen Bereichen verbessert. Eine große Einschränkung hat uns jedoch immer daran gehindert DNA-PAINT für biologisch relevante Hochdurchsatzstudien einzusetzen: Die vergleichsweise langsame Bildaufnahme“, sagt Jungmann. Klassische DNA-PAINT-Experimente nehmen üblicherweise mehrere zehn Minuten bis hin zu Stunden in Anspruch. „Wir haben uns genau angeschaut, warum das so lange dauert“, so Florian Schüder, Erstautor der Studie und Mitarbeiter im Labor von Jungmann. „Durch optimiertes DNA-Sequenzdesign und verbesserte Pufferbedingungen konnten wir die Geschwindigkeit um einen Faktor 10 erhöhen“, so Schüder weiter. Hierzu haben die Forscher in Kollaboration mit der Abteilung





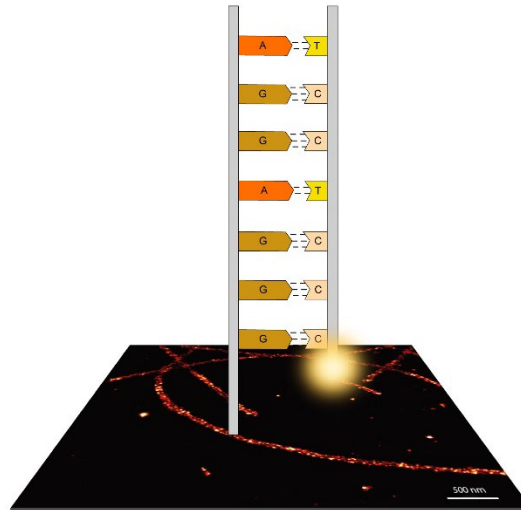
von Petra Schwille den Einfluss der DNA-Sequenz und der Basenabfolge auf die Geschwindigkeit der Hybridisierung, also das Ausbilden der Doppelhelix, untersucht. Der farbstoffmarkierte Einzelstrang, bei DNA-PAINT auch ‚Imager‘ genannt, besteht generell aus den Grundbausteinen der DNA, den vier Basen: Adenin (A), Thymin (T), Guanin (G) und Cytosin (C). Der Einfluss der Basenkomposition und Länge der Einzelstränge auf die Bindezeit ist recht gut verstanden: Je länger der Doppelstrang und je mehr GC-Basenpaare in der Sequenz vorhanden sind, desto stabiler ist der DNA-Duplex und desto länger die Bindezeit. Der Einfluss auf die Geschwindigkeit der Duplexbildung, und damit die Blinkgeschwindigkeit in DNA-PAINT, ist jedoch deutlich schlechter untersucht. Hier konnten die Forscher nun zeigen, dass die Ausbildung intramolekularer Haarnadelkonformationen, also das Falten mit sich selbst, in kurzen Strängen durch die Reduktion auf zwei Basen (z.B. nur T und C statt A, T, C, G) vollständig unterbunden werden kann. „Wir haben jetzt die Stränge so entworfen, dass wir nur ein sogenanntes ‚Zweibuchstabenalphabet‘, z.B. nur T und C oder nur A und G, benutzen. So konnten wir die Bindefrequenz bereits um einen Faktor 5 steigern“, erklärt Schüder. „Durch weitere Optimierungen am verwendeten Puffersystem konnten wir zusätzlich einen Faktor 2 rausholen, so dass wir jetzt 10-mal schneller Bilder aufnehmen können“.

Von der DNA-Origami-Testplattform zur Zelle

Um die Verbesserungen der DNA-PAINT-Technik zu testen, kombinierten die Forscher diese mit DNA-Origami-Strukturen. Hierbei handelt es sich um selbstassemblierende DNA-Objekte in Nanometergröße, die sich autonom zu einer Art „Steckplatte“ falten. Auf dieser befinden sich die Gegenstränge, die als definierte Punkte im Abstand von ungefähr 5 nm aufgetragen sind. Unter dem Mikroskop untersuchten die Forscher so die verbesserte Messgeschwindigkeit unter definierten Bedingungen. Im nächsten Schritt konnte die verbesserte Aufnahmegeschwindigkeit auch in zellulärer Umgebung gezeigt werden. Hierzu wurden in einer Zellprobe die Mikrotubuli, ein Teil des Zytoskelettes, mit 10-fach höherer Geschwindigkeit sichtbar gemacht. „Wir konnten so ein quadratmillimetergroßes Areal in 8 Stunden bei einer Auflösung von 20 nm aufnehmen. Das hätte vorher fast vier Tage gedauert!“, erklärt Florian Schüder.

Ralf Jungmann fasst zusammen: „Mit der in dieser Studie gezeigten 10-fach höheren Abbildungsgeschwindigkeit eröffnen wir ein neues Kapitel supraaufgelöster DNA-basierter Mikroskopie. Dies sollte es uns nun erlauben, DNA-PAINT für Hochdurchsatzstudien mit biologischer und biomedizinischer Relevanz z.B. in der Diagnostik einzusetzen.“

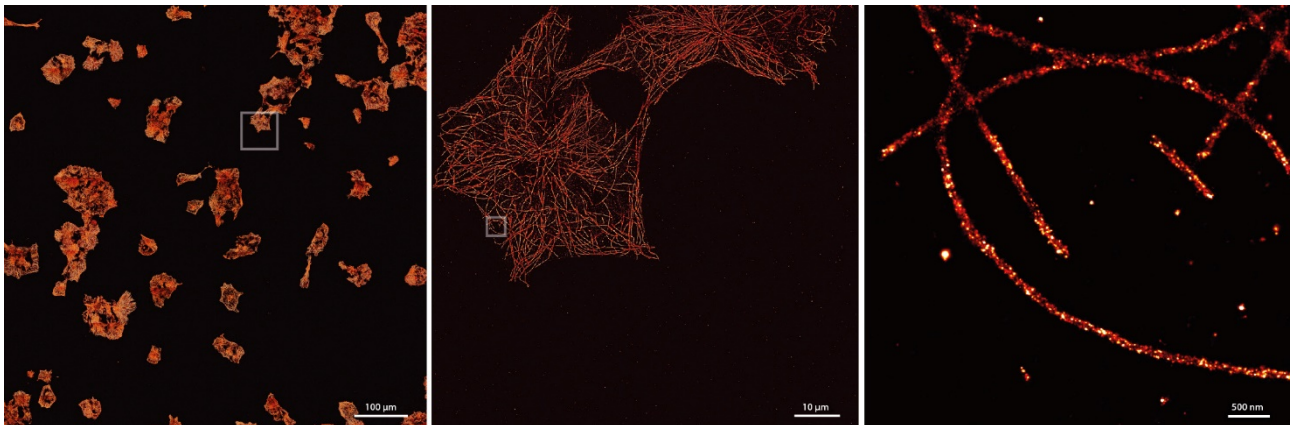




Bildunterschrift:

Darstellung des optimierten Farbstranges. Durch die neu konzipierte Abfolge der Basenpaare kann die Binfrequenz erhöht werden und Bilder schneller aufgenommen werden.

Illustration: Susanne Vondenbusch © MPI für Biochemie



Bildunterschrift:

Die superauflösende Mikroskopietechnik DNA-PAINT ermöglicht die Detektion von feinen Strukturen in der Zelle, wie hier die Mikrotubuli, Bestandteile des Zytoskelettes.

Bild: Florian Schueder © MPI für Biochemie



Originalpublikation

F. Schüder, J. Stein, F. Stehr, A. Auer, B. Sperl, M.T. Strauss, P. Schuille und R. Jungmann: An order of magnitude faster DNA-PAINT imaging by optimized sequence design and buffer conditions. *Nature Methods*, Oktober 2019. DOI: 10.1038/s41592-019-0584-7

Animation für Social Media finden sie hier: (Passwort: DNA-PAINT)

<https://datashare.biochem.mpg.de/s/pOWD8tZhM5IE90n>

Über Ralf Jungmann

Ralf Jungmann studierte von 2001 bis 2006 Physik an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken. Nach seiner Diplomarbeit an der UC Santa Barbara, USA, promovierte er 2010 an der Technischen Universität München, gefolgt von einem Postdoc-Aufenthalt am Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering der Harvard University. Seit 2014 leitet er die unabhängige Forschungsgruppe „Molekulare Bildgebung und Bionanotechnologie“ am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried und der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) in München. Seit 2016 hat er an der LMU eine Professur für experimentelle Biophysik inne. 2016 wurde Jungmann der ERC Starting Grant des Europäischen Forschungsrates zugesprochen.

Über das Max-Planck-Institut für Biochemie

Das Max-Planck-Institut für Biochemie (MPIB) in Martinsried bei München zählt zu den führenden internationalen Forschungseinrichtungen auf den Gebieten der Biochemie, Zell- und Strukturbiologie sowie der biomedizinischen Forschung und ist mit rund 35 wissenschaftlichen Abteilungen und Forschungsgruppen und ungefähr 800 Mitarbeitern eines der größten Institute der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. Das MPIB befindet sich auf dem Life-Science-Campus Martinsried in direkter Nachbarschaft zu dem Max-Planck-Institut für Neurobiologie, Instituten der Ludwig-Maximilians-Universität München und dem Innovations- und Gründerzentrum Biotechnologie (IZB).

<http://www.biochem.mpg.de>

Kontakt:

Prof. Dr. Ralf Jungmann
Molekulare Bildgebung und Bionanotechnologie
Max-Planck-Institut für Biochemie
Am Klopferspitz 18
82152 Martinsried

E-Mail: jungmann@biochem.mpg.de
<https://www.biochem.mpg.de/jungmann>

Dr. Christiane Menzfeld
Öffentlichkeitsarbeit
Max-Planck-Institut für Biochemie
Am Klopferspitz 18
82152 Martinsried
Tel. +49 89 8578-2824

E-Mail: pr@biochem.mpg.de
www.biochem.mpg.de

