



Pressemitteilung, 02. Juli 2020

dr. christiane menzfeld

tel.: +49 89 8578-2824

menzfeld@biochem.mpg.de

www.biochem.mpg.de/news

 @MPI_Biochem

Need for Speed? 100-mal schnelleres DNA-PAINT

Wissenschaftler am Max-Planck-Institut (MPI) für Biochemie ermöglichen mit optimierten DNA-Sequenzen 100-mal schnellere Multiplex-DNA-PAINT-Mikroskopie

- **DNA-PAINT verwendet DNA-basierte Sonden, um biologische Strukturen im Nanomaßstab sichtbar zu machen**
- **Optimierte DNA-Designs ermöglichen eine 100-mal schnellere und mehrfarbige Bildgebung**
- **Mikroskopie mit hohem Durchsatz und molekularer Auflösung könnte in Zukunft helfen, um zum Beispiel das Wechselspiel verschiedener Tumormarker besser zu verstehen**

Mithilfe der supraauflösenden Fluoreszenzmikroskopie können Strukturen kleiner als 200 Nanometer, also unterhalb der Beugungsgrenze des Lichts, sichtbar gemacht werden. Eine der Mikroskopietechniken, genannt DNA-PAINT, wurde von Ralf Jungmann, Forschungsgruppenleiter am MPI für Biochemie und Professor für Experimentalphysik an der Ludwig-Maximilians-Universität München, zusammen mit Kollegen entwickelt. Die Technik verwendet kurze ‚Imager‘, farbstoffmarkierte DNA-Stränge, die vorübergehend an ihre Zielmoleküle komplementär binden, um das notwendige "Blinken" für eine supraauflösende Rekonstruktion der Bilder zu erzeugen.

„Wir haben kürzlich die bisher eher langsame Aufnahmegeschwindigkeit von DNA-PAINT durch Optimierung des DNA-Sequenzdesigns um eine Größenordnung verbessert“, sagt Jungmann. „Dies ging jedoch auf Kosten des Multiplexings, was bedeutet, dass mehrere Strukturen in der Zelle nicht mehr gleichzeitig beobachtet werden können.“, fügt Jungmann hinzu. Mehrere Proteine gleichzeitig räumlich zu beobachten ist wichtig, um zum Beispiel komplexe Signalkaskaden zwischen Tumoren und normalen Zellen besser zu verstehen.





Multiplexing war bei der geschwindigkeitsoptimierten DNA-PAINT bisher nicht erreichbar, da nur eine optimierte Sequenz mit verbesserten Hybridisierungseigenschaften zur Verfügung stand. „Wir haben uns gefragt, wie wir die Multiplex-Bildgebung ermöglichen und gleichzeitig die Bildaufnahmegeschwindigkeit noch weiter erhöhen können“, sagt Sebastian Strauss, Erstautor der Arbeit und Mitarbeiter in Jungmanns Gruppe.

In der aktuellen Studie stellen die Forscher ein neuartiges Konzept vor, mit der es ihnen gelungen ist die Bildaufnahmegeschwindigkeit zu verbessern. Sie machten sich die Tatsache zunutze, dass die Häufigkeit der Bindung der Imager an ihre Zielstränge linear mit der Anzahl der verfügbaren Bindungsstellen verläuft. „Je mehr Bindestellen es gibt, desto schneller verläuft die Aufnahme. Eine einfache Verkettung von Bindungsstellen würde jedoch zu unerwünscht langen Andocksequenzen führen, wodurch die erreichbare Bildauflösung möglicherweise reduziert und die unspezifische Bindung erhöht würde“, so Strauss. Um diese Probleme zu umgehen, entwarfen die Forscher aus den bekannten Basen, Thymin (T), Cytosin (C), Adenin (A) und Guanin (G), sich wiederholende Sequenzmotive z.B. (TCC)_n, die so verkettet werden könnten, dass sie überlappende Bindungsstellen bei nur minimal zunehmender Stranglänge ergeben. „Wir entwarfen sechs individuelle, regelmäßige Sequenzmotive, die es uns erlaubten, Multiplexing in geschwindigkeitsoptimiertem DNA-PAINT einzuführen“, sagt Strauss. „In Kombination mit früheren Verbesserungen können wir DNA-PAINT jetzt 100-mal schneller machen“, fügt Jungmann hinzu.

Von der Steckplatte zur Anwendung

Um die neuen Sequenzmotive zu optimieren und ihre Verbesserungen zu testen, verwendete die Gruppe DNA-Origami-Strukturen. Hierbei handelt es sich um selbstassemblierende DNA-Objekte in Nanometergröße, die sich autonom zu einer Art „Steckplatte“ falten. Diese Platten werden verwendet, um DNA-PAINT-Bindungsstellen in präzisen Abständen von zum Beispiel fünf Nanometern anzuordnen. Auf diese Weise ist es den Forschern möglich, die Verbesserungen von DNA-PAINT unter definierten Bedingungen zu untersuchen. „Die neuen optimierten DNA-Sequenzen erlaubten uns sechs verschiedene DNA-Origami-Strukturen statt nur einer, in nur wenigen Minuten aufzulösen.“, erklärt Strauss.

„Wir freuen uns darauf, die verbesserte Bildgebungsgeschwindigkeit in DNA-PAINT für biologische Fragestellungen anzuwenden. Bisher konnten z.B. Tumormarker nur langsam und nicht eindeutig auf Einzelmolekülebene untersucht werden. In unsere Studie bestätigen wir mit der Messung von vier verschiedenen Tumormarkern eine schnelle und genaue Analyse des Orts und der Interaktion der einzelnen Moleküle. Dies könnte wichtige Erkenntnisse für die Medikamentenentwicklung und deren Wirkmechanismen liefern“, so Jungmann abschließend.

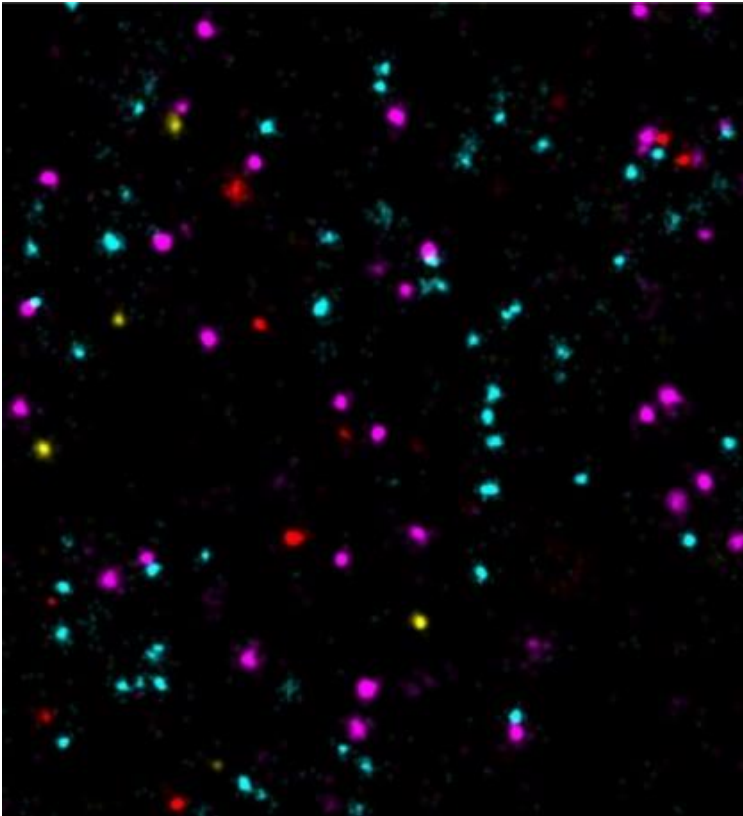




Originalpublikation:

S. Strauss & R. Jungmann, *Nature Methods*, Juni 2020

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41592-020-0869-x>



Bildunterschrift: Speziell designte DNA Sequenzen ermöglichen eine 100-fache Beschleunigung in der DNA-PAINT-Mikroskopie. Einzelne Moleküle wie EGFR und Her2 können nun auf Zelloberflächen in Minutenschnelle sichtbar gemacht werden. Auf dem Bild wurden die Proteine (oder Tumormarker) EGFR (cyan), Her2 (magenta), ErbB3 (gelb) und c-Met (rot) abgebildet.

Illustration: Sebastian Strauss © MPI für Biochemie





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

