XXIII CAFQI

aaiFQ
ASOCIACIÓN ARGENTINA DE INVESTIGACIONES FISICOQUÍMICAS

XXIII CONGRESO ARGENTINO DE FISICOQUÍMICA Y QUÍMICA INORGÁNICA
EL CALAFATE 2023

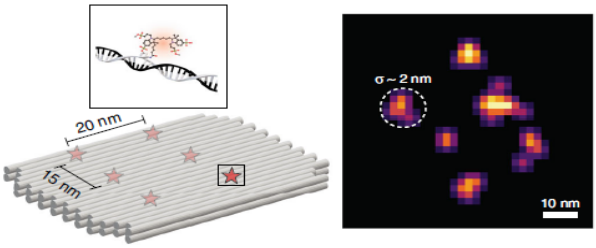
LOCALIZACIÓN DE MOLÉCULA ÚNICA MEDIANTE EL ESCANEO DE UN MÍNIMO DE INTENSIDAD

Masullo, Luciano A.[1, 2], Szalai, Alan M.[1], Lopez, Lucía F.[1], Pilo-Pais, Mauricio[3], Acuna, Guillermo P.[3], Edorna, Florencia[1] y Stefani, Fernando[1, 2].

Filiación de los autores:
1. CIBION, CONICET. Godoy Cruz 2390, CABA, Bs As.
2. Departamento de Física, FyCEN, UBA.
3. Department of Physics, University of Fribourg, Switzerland.

floredorna@gmail.com

La localización de emisores fluorescentes individuales es clave para las mediciones fisicoquímicas y biofísicas a nanoescala, como son el seguimiento de molécula única y la obtención de imágenes de superresolución. Las técnicas de microscopía de fluorescencia surgidas en las últimas décadas otorgan imágenes con resolución nanoscópica. El enfoque habitual consiste en la detección y el seguimiento de una molécula mediante campo amplio utilizando una iluminación uniforme, obteniendo una precisión de localización lateral de ~10-50 nm. Sin embargo la precisión está limitada por la fotoestabilidad de los fluoróforos. La incorporación de la iluminación estructurada secuencial da un uso más eficiente de los fotones detectados [1], lo que permite sortear el límite de localización impuesto por la fotoestabilidad, dando una resolución espacial a escala molecular. RASTMIN [2] es un método de localización de moléculas individuales basado en el escaneo de barrido de un patrón de luz que comprende un mínimo de intensidad. RASTMIN proporciona una precisión de localización de ~1-2 nm utilizando sólo unos cientos de fotones de fluorescencia. El rendimiento experimental de RASTMIN se evaluó localizando moléculas fluorescentes individuales (ATTO647N) unidas a estructuras de origami de ADN [3]. La muestra consiste en posiciones objetivo etiquetadas con oligonucleótidos, está posición se revela mediante hibridación transitoria de oligonucleótidos complementarios marcados con fluoróforos presentes en la solución de la muestra. La hibridación transitoria y estocástica del ADN en las posiciones marcadas proporciona el parpadeo necesario para obtener imágenes con resolución nanométrica. Combinando estas técnicas se obtuvo la imagen nanoscópica de una estructura de origami de ADN con una precisión de localización de ~2 nm.



Referencias

1) Masullo et al, Biophys. Rep., **2022**, 2, 100036
2) Masullo et al, Light: Science & Applications, **2022**, 11, 199.
3) Rothemund, P. W. K., Nature, **2006**, 440 (7082), 297–302.