

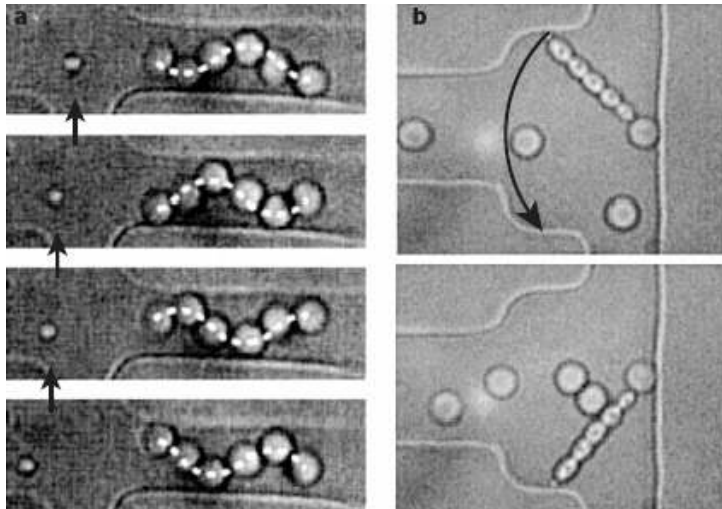
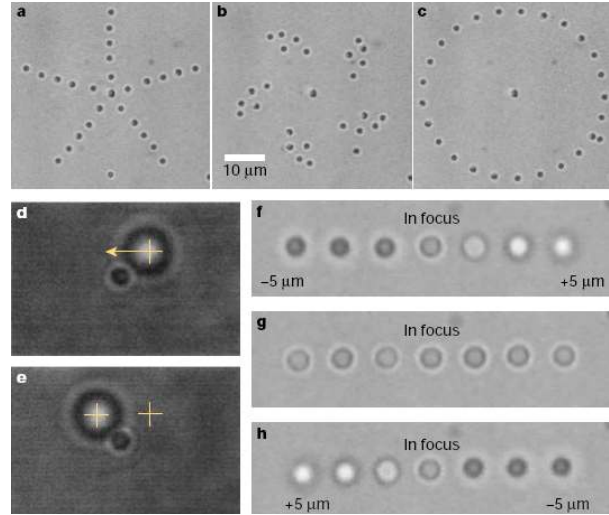


Optical Tweezers

- Grier, A revolution in optical manipulation. *Nature* 424, 810-816 (14 August 2003)
- Miklós, et al., Folding-Unfolding Transitions in Single Titin Molecules Characterized with Laser Tweezers. *Science* 276, 1112 (1997)
- Gijs et al., An Integrated Laser Trap/Flow Control Video Microscope for the Study of Single Biomolecules. *Biophysical Journal* 79, 1155–1167 (2000)
- Galburt et al., Single molecule transcription elongation. *Methods* 48, 323–332 (2009)



~ 10 μm



~ 6 μm



Topics

Orígenes y evolución

Fundamentos

Arreglos experimentales típicos

Caracterización

Estudio de biopolímeros – Titina

Off – Topic: ADN, transcripción y elongación de ARN

Estudio del mecanismo de transcripción del ADN – Backtacking

Conclusiones

Off – Topic: jugando un poco más...

Origen y evolución

Motivación

Historia

La técnica

Aplicación:
biopolímeros

Off - Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones

Ashkin demuestra el efecto de la presión de radiación en esferas de látex y contruye la primer trampa óptica

Ashkin y Dzedzic demuestran la primera aplicación biológica: manipulación de virus y bacterias

Chu: Secretario de energía de E.E.U.U.

Ashkin & friends juegan mucho con esferas de varios tamaños y algunos láser

Bustamante, Block, Spudich Estudios de motores moleculares

1970

1975

1980

1985

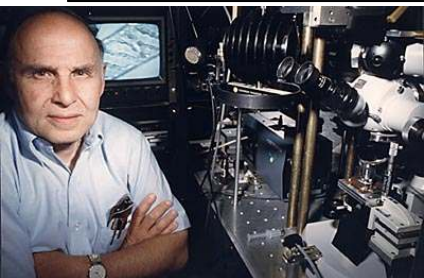
1990

1995

2000

2005

2010

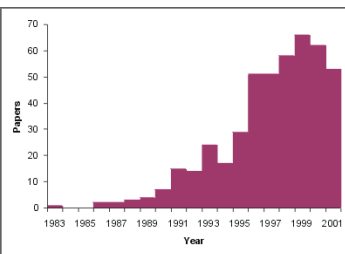


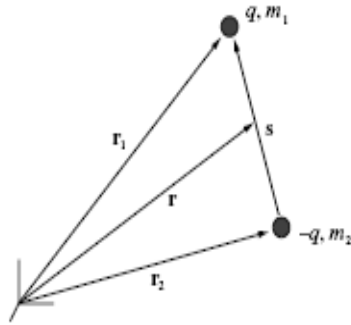
Ashkin logra desarrollar la primer "pinza óptica" (single beam)

Block et al. Primera aplicación para estudio de motores moleculares (Kinesina)

Bustamante et al. Estudio de ADN y su transcripción

Chu: Nobel 1997 (junto a Cohen - Tannoudji)





$$m_1 \ddot{\mathbf{r}}_1 = q [\mathbf{E}(\mathbf{r}_1, t) + \dot{\mathbf{r}}_1 \times \mathbf{B}(\mathbf{r}_1, t)] - \nabla U(\mathbf{r}_1, t),$$

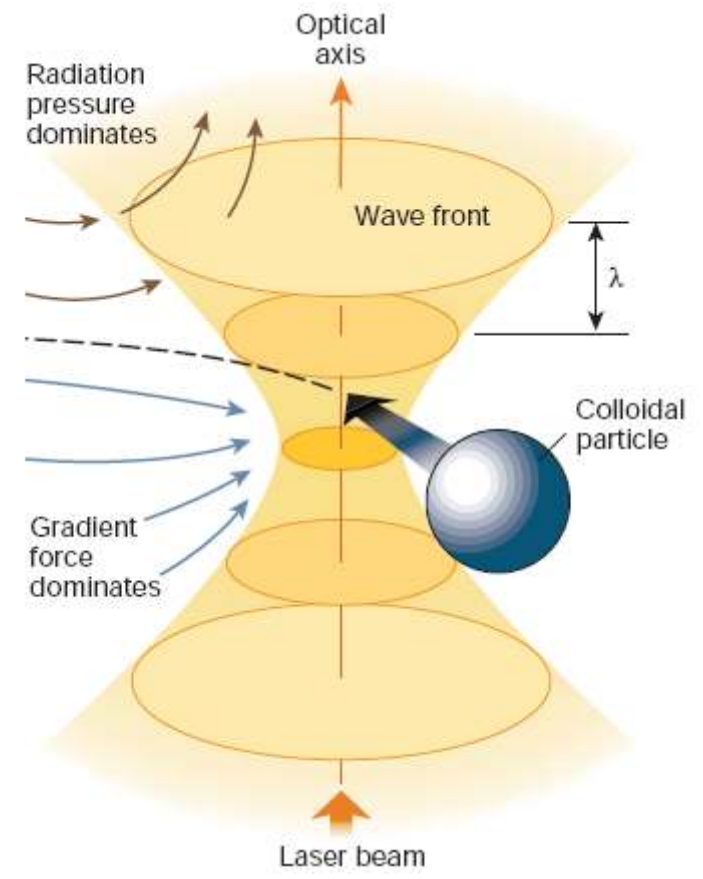
$$m_2 \ddot{\mathbf{r}}_2 = -q [\mathbf{E}(\mathbf{r}_2, t) + \dot{\mathbf{r}}_2 \times \mathbf{B}(\mathbf{r}_2, t)] + \nabla U(\mathbf{r}_2, t).$$

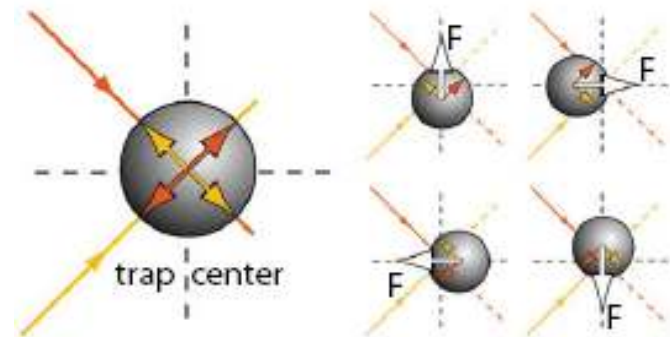
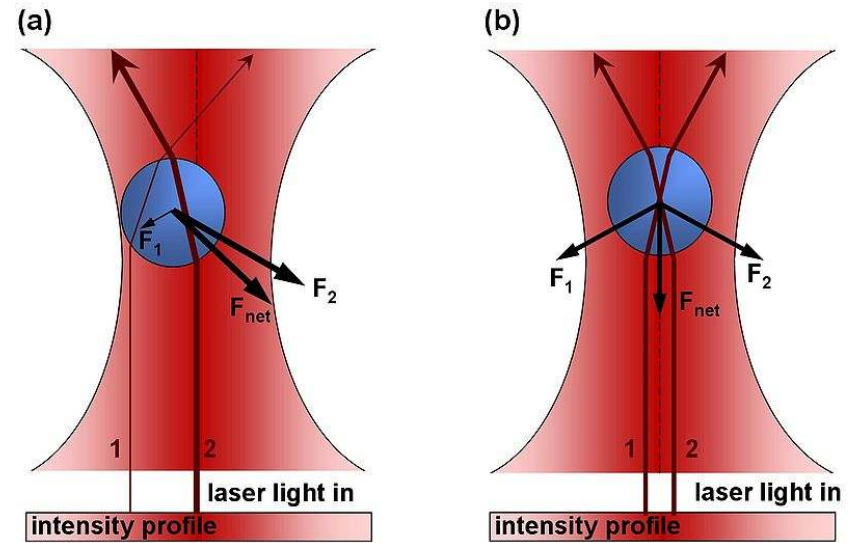
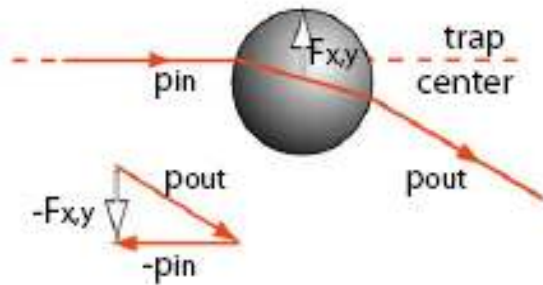
$$\mathbf{F} = (\boldsymbol{\mu} \cdot \nabla) \mathbf{E} + \dot{\boldsymbol{\mu}} \times \mathbf{B} + \dot{\mathbf{r}} \times (\boldsymbol{\mu} \cdot \nabla) \mathbf{B}.$$

$$\langle \mathbf{F} \rangle = \frac{\alpha'}{4} \nabla E_0^2 + \frac{\alpha''}{2} E_0^2 \nabla \phi.$$

$$\alpha = \alpha' + i\alpha'' \text{ and } \nabla E_0^2 = 2E_0 \nabla E_0$$

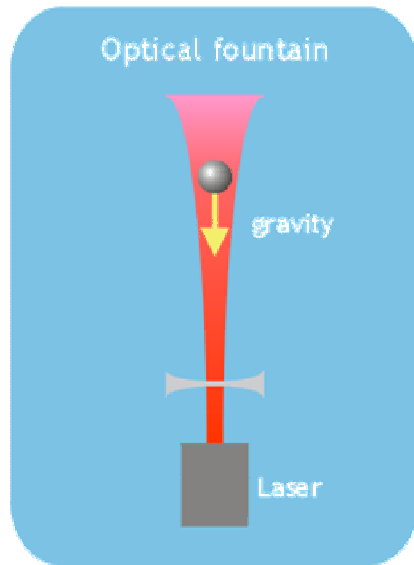
$$\langle \mathbf{F} \rangle_x \prec \left(\frac{d^3 NA^2}{\lambda^2} \boldsymbol{\varepsilon}(\boldsymbol{\varepsilon}, \boldsymbol{\varepsilon}_m) P \right) x$$







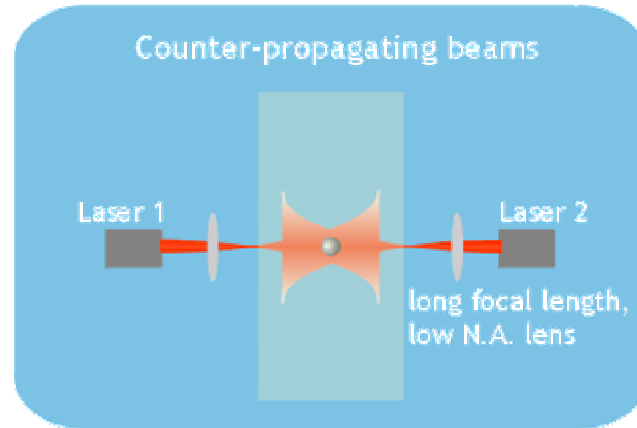
- Desplazamientos 3D
- De 1 pN a 100 pN con resoluciones de hasta 100 aN
- Se atrapan partículas de ~ 10 nm hasta ~ 10 μ m
- La trampa resulta lineal en rango de μ m
- 50 mW \Rightarrow trampas de unos 0.2 pN/nm para esferas de 1 μ m
- Utilizando polarizaciones circulares pueden ejercerse torques



“Fuente óptica” (Ashkin and Dziedzic, 1971)

Permite suspender partículas donde la presión de radiación es contrarrestada por la gravedad.

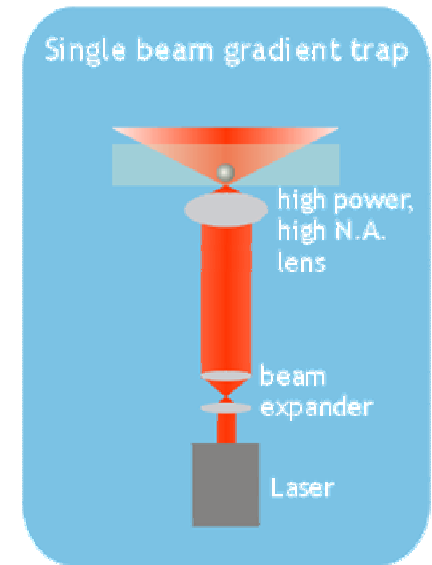
Sin aplicación importante



Haces contrapropagante (Ashkin, 1970)

La presión de radiación de ambos lasers se cancelan en un punto, manteniendo las fuerzas radiales debidas al gradiente.

Se obtiene una trampa con estabilidad 3D; sin embargo esta configuración resulta complicada de alinear y maniobrar.



Trampa de haz único (Ashkin *et al.* 1986)

Permite el confinamiento y la manipulación en 3D con sencillez y precisión.

La fuerza restitutiva resulta lineal con el desplazamiento en un rango amplio.

Permite ejercer torques y controlar rotaciones utilizando polarización circular.

La técnica: Arreglos típicos

Motivación

Historia

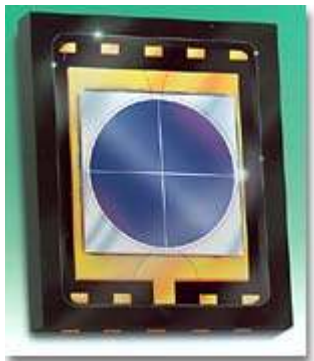
La técnica

Aplicación:
biopolímeros

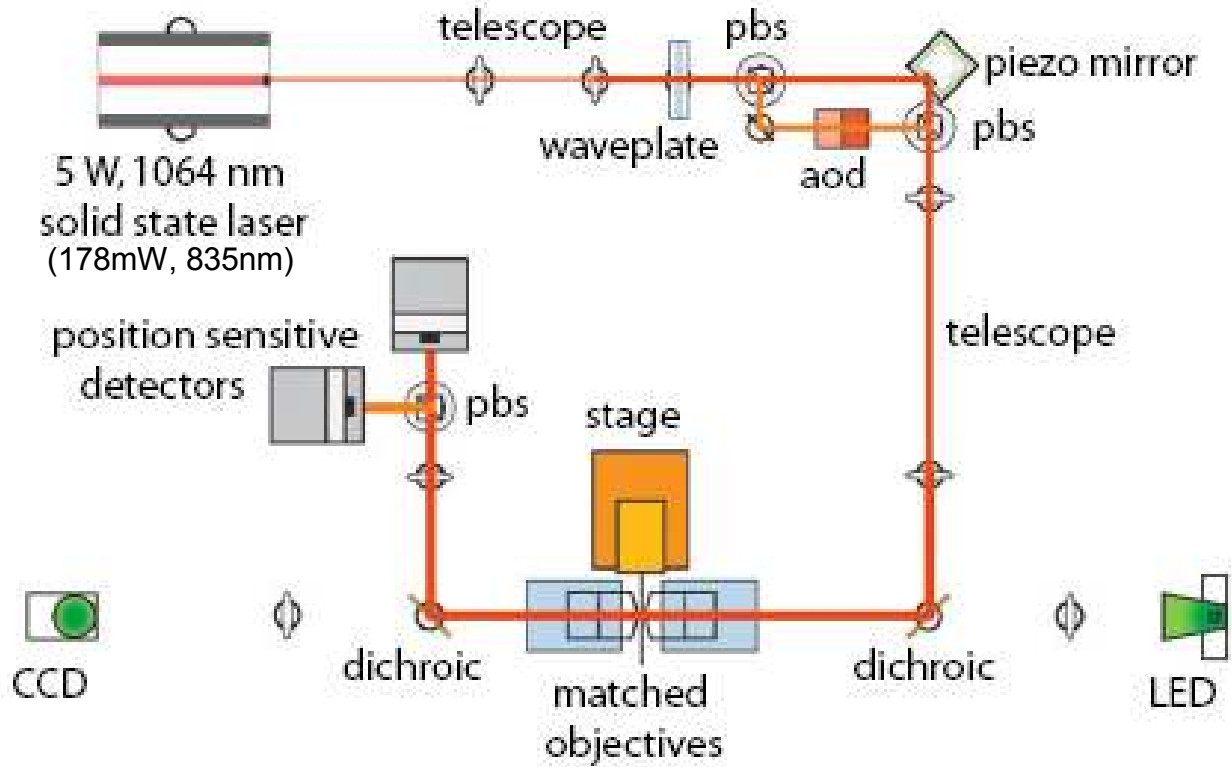
Off - Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones



Detector de cuadrante



La técnica: Caracterización de las pinzas

Motivación

Historia

La técnica

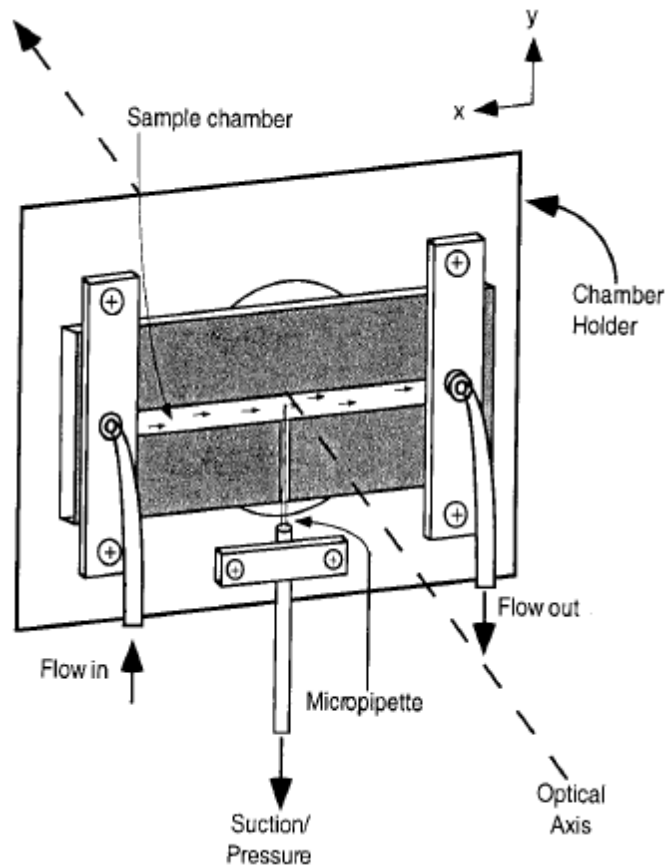


Aplicación:
biopolímeros

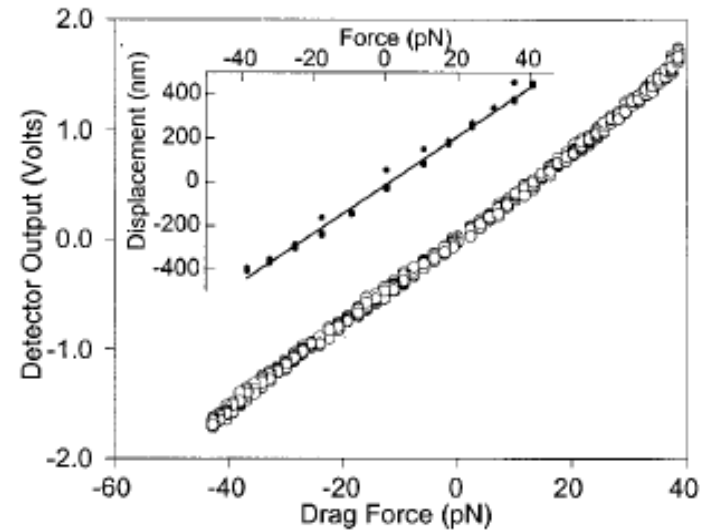
Off - Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones



Cámara de ensayos



Caracterización de la trampa óptica

Aplicación: Biopolímeros

Motivación

Historia

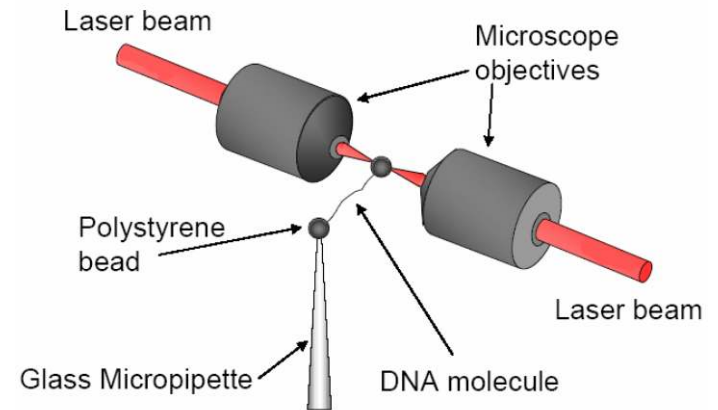
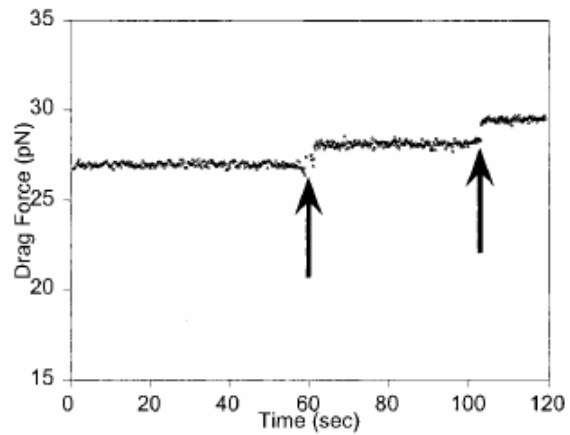
La técnica

Aplicación:
biopolímeros

Off - Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones



Aplicación: Caracterización de Titina

Motivación

Historia

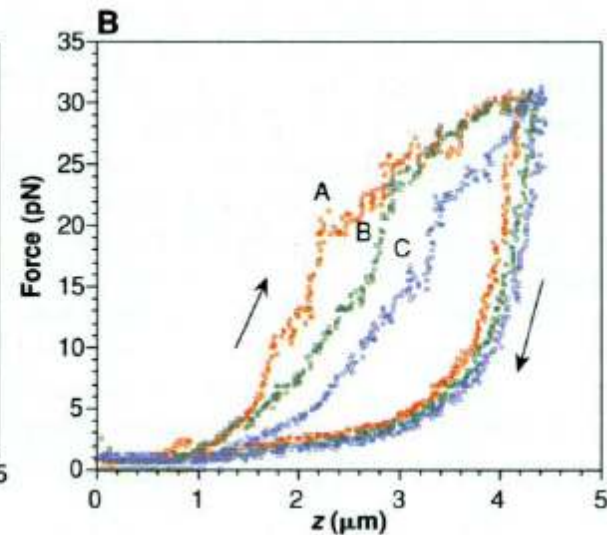
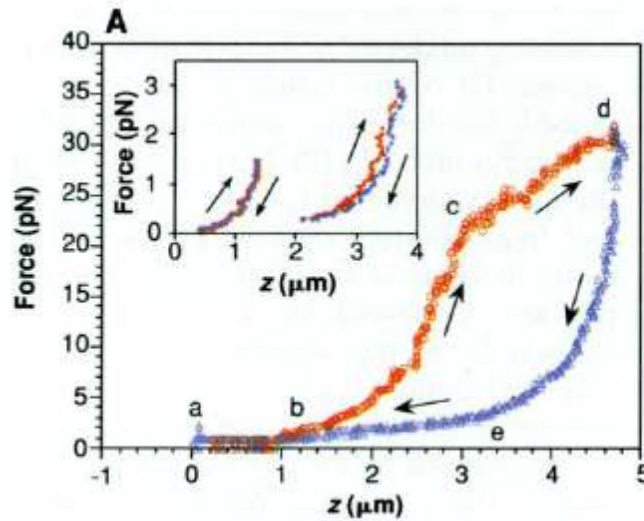
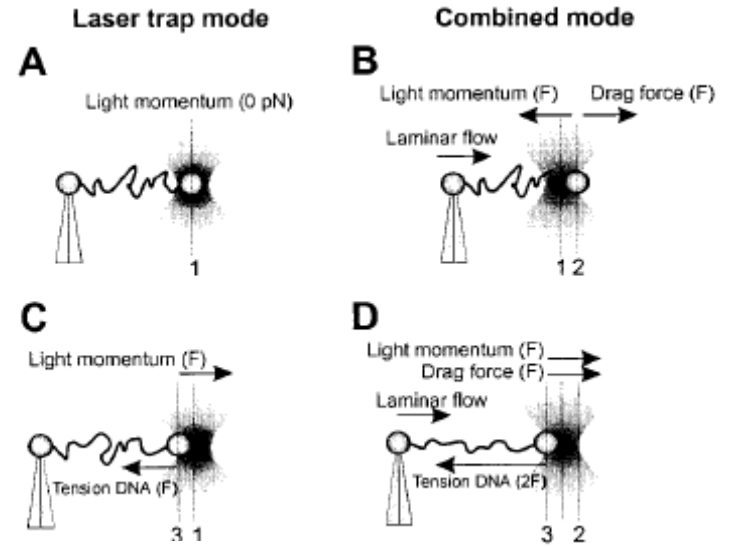
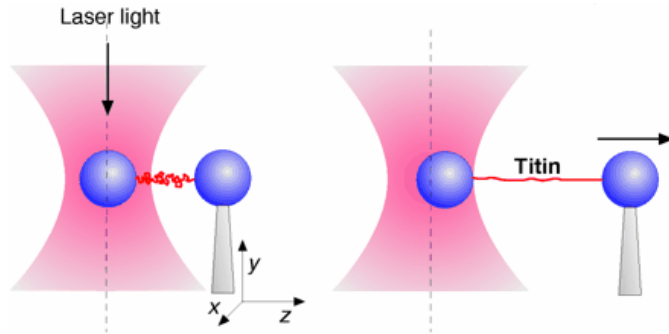
La técnica

Aplicación:
biopolímeros

Off - Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones



Miklós, et al. Science 276, 1112 (1997)

Off Topic: algo del ADN

Motivación

Historia

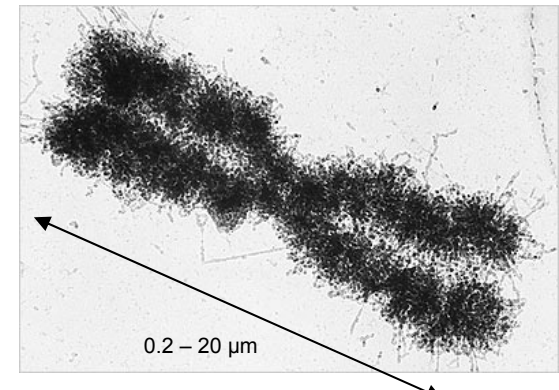
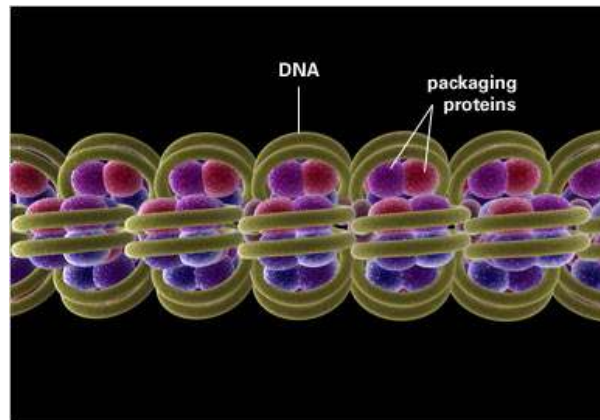
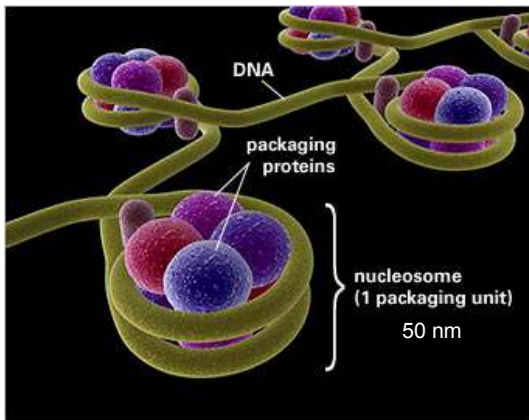
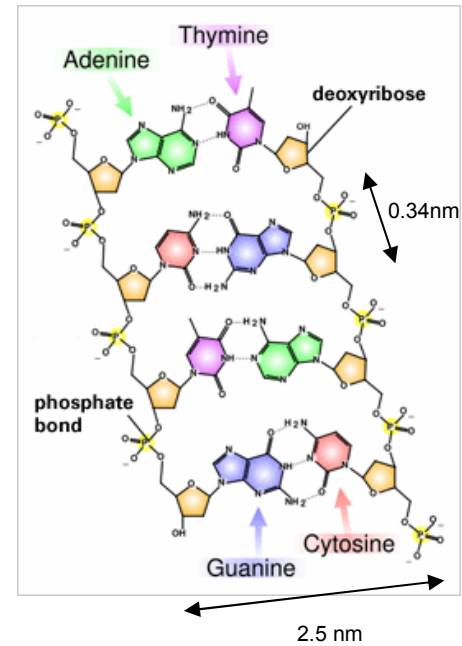
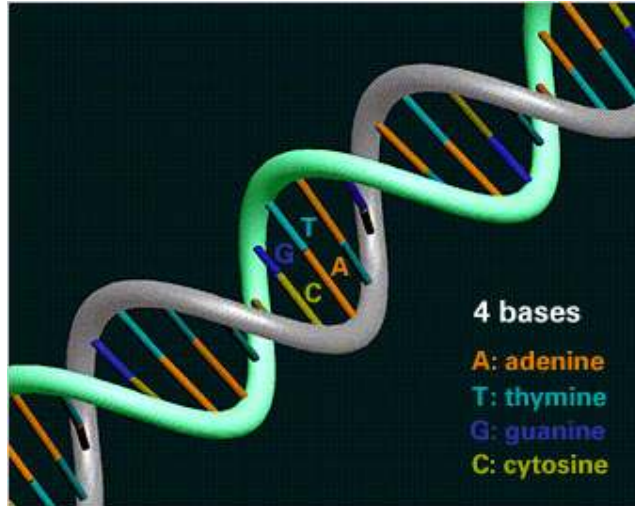
La técnica

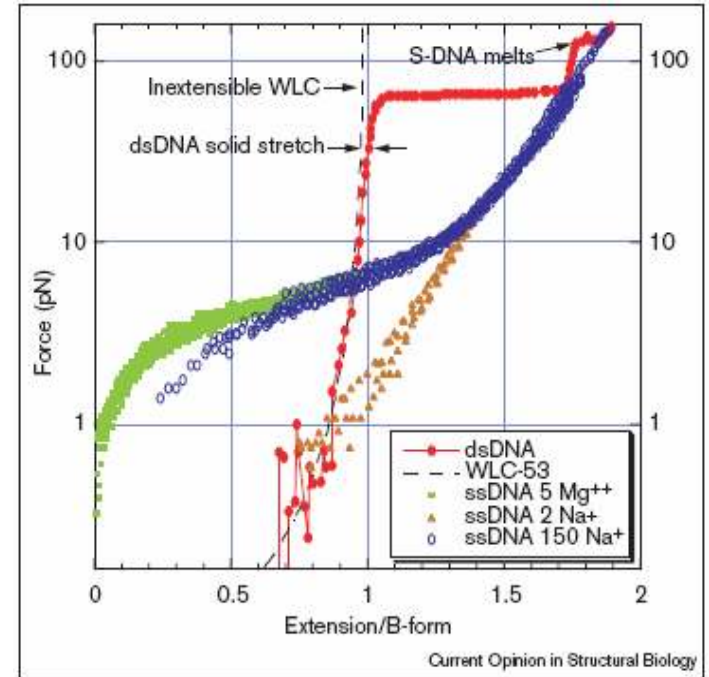
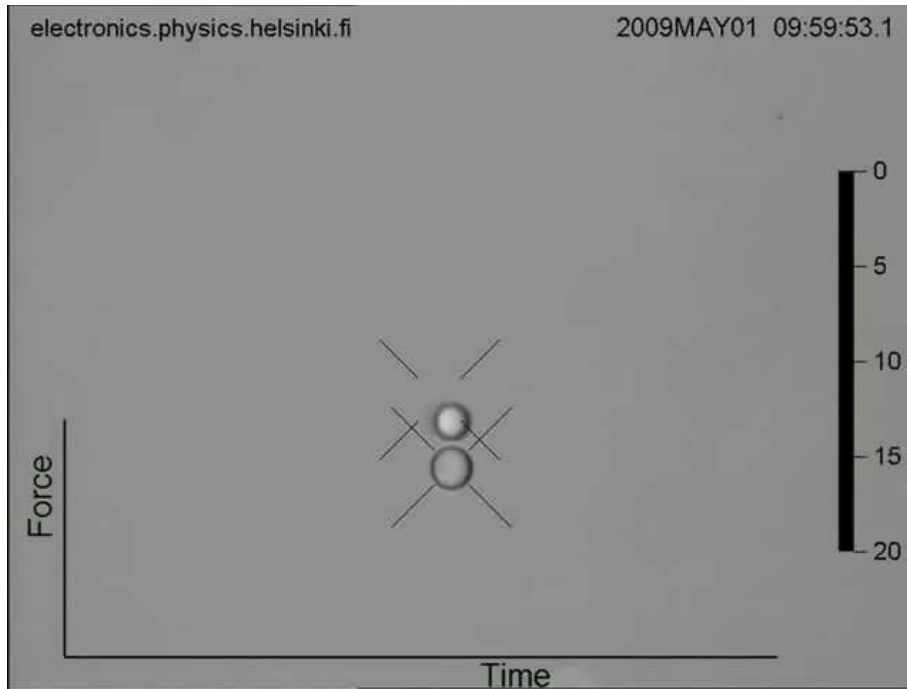
Aplicación:
biopolímeros

Off-Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones





$$\frac{FP}{k_B T} = \frac{1}{4 \left(1 - \frac{x}{L}\right)^2} + \frac{x}{L} - \frac{1}{4}$$

$$F = \frac{3k_B T}{2P} \left(\frac{x}{L}\right)$$

Force/extension behavior of dsDNA and ssDNA. Different DNA molecules were pulled with force-measuring laser tweezers [6]. Both pulling and relaxing curves are shown, so all force curves were reversible. Dashed line data (WLC-53) are from Equation 1, assuming $P = 53$ nm. The dsDNA curve was taken using a 10.4 kbp restriction fragment in 50 mM Na^+ and 5 mM Mg^{++} buffer [25*]. The same fragment and buffer were used to make ssDNA (labeled ssDNA 5 Mg^{++}) [40**]. The ssDNA curves in 150 mM Na^+ and 2 mM Na^+ were taken using 48 kbp λ phage DNA [6]. See text for further details.

Off Topic: Transcribiendo ADN

Motivación

Historia

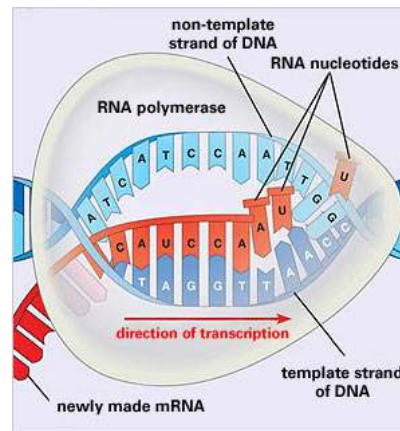
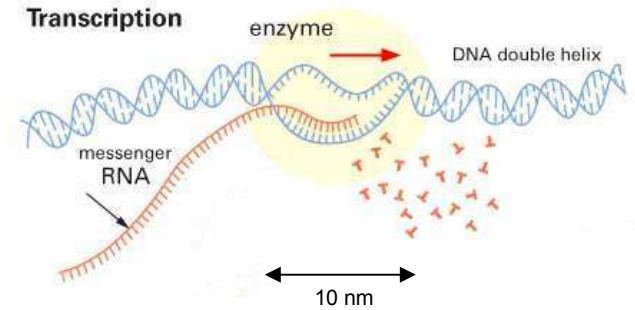
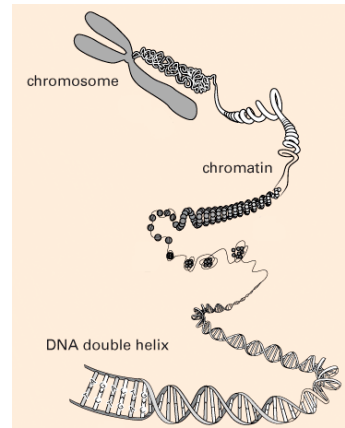
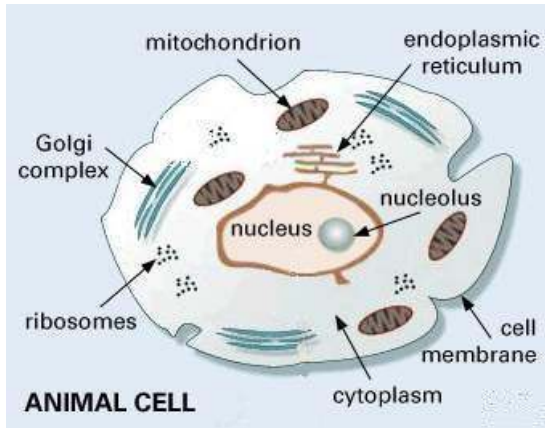
La técnica

Aplicación:
biopolímeros

Off-Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones



Aplicación: Estudio de ARN pol II

Motivación

Historia

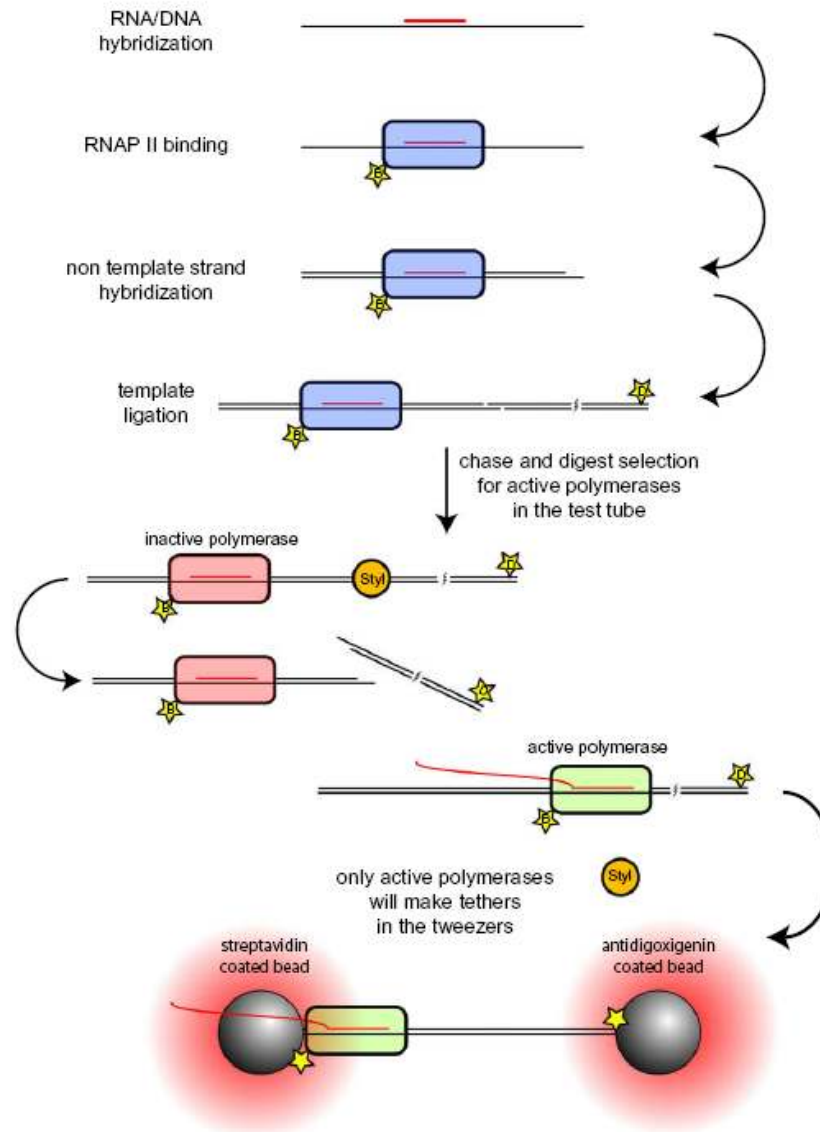
La técnica

Aplicación:
biopolímeros

Off - Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones



Modos de trabajo

Sin feedback

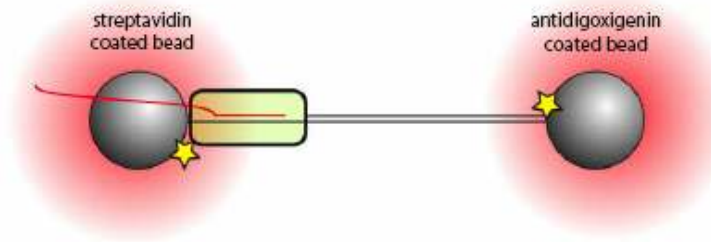
Caracterización de fuerza

Backtracking “espontáneo”

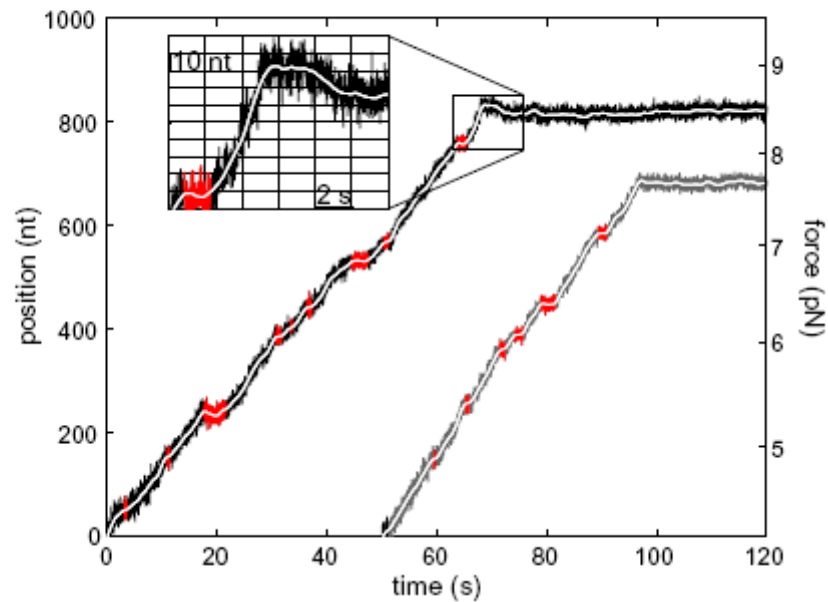
Con feedback

Caracterización de velocidad

Backtracking “inducido”

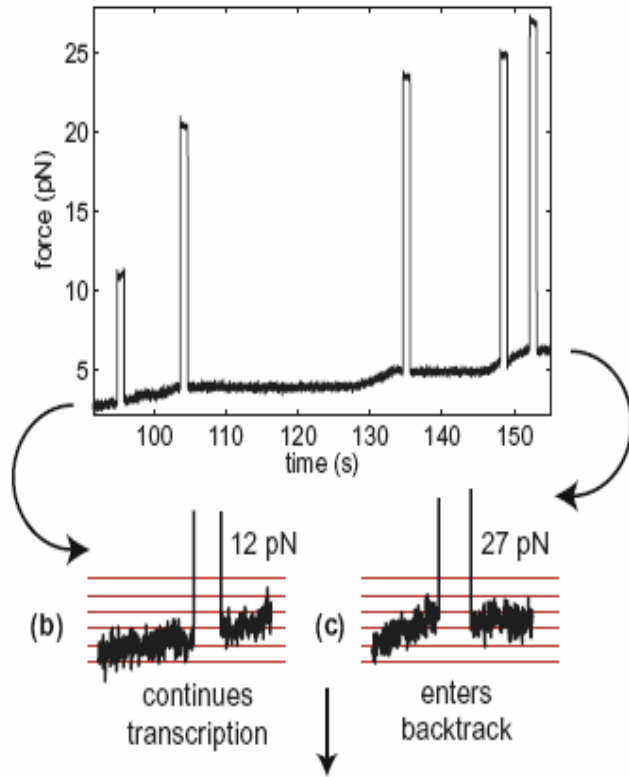


(a) trajectories

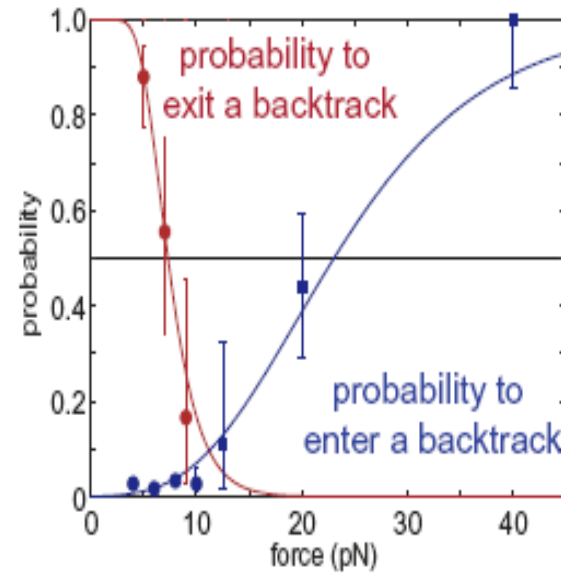


Backtracking “espontáneo”

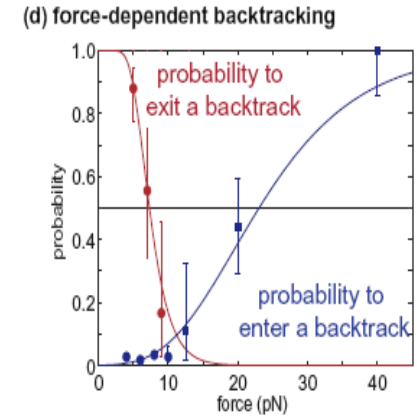
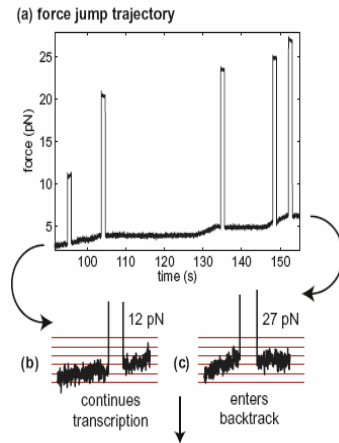
(a) force jump trajectory



(d) force-dependent backtracking



Backtracking “inducido”



- Se observa
- Continua elongación (transcripción) durante el “salto”
 - Se detiene la elongación durante el “salto” y luego reanuda la transcripción
 - Se detiene la transcripción y ya no se reanuda



- Técnica muy útil y de relativa sencillez para manipular partículas individuales
- Permitió la caracterización mecánica de motores moleculares, sólo realizables en bulk hasta el momento
- En biología permite la separación y ordenamiento individual de células
- Su aplicación en el estudio de los procesos de transcripción de ADN en forma individual permitiría aprender más sobre los procesos de verificación y backtracking.
- Extendiendo este estudio a actividad de otras proteínas / estructuras, se podría arrojar luz en lo referente a los errores de copia de ADN o síntesis de proteínas.

THE END

Off-Topic: Jugando un poco mas...

Motivación

Historia

La técnica

Aplicación:
biopolímeros

Off-Topic

Aplicación:
Backtracking

Conclusiones

