

VISUALIZACIÓN DE PROTEÍNAS INDIVIDUALES EN AIRE Y EN AGUA, MEDIANTE MICROSOPIA DE FUERZAS BIMODAL EN RÉGIMEN DE INTERACCIÓN DÉBIL.

Nicolás F. Martínez¹, J. R. Lozano¹, Elena T. Herruzo¹ y Ricardo García¹

¹ *Instituto de Microelectrónica de Madrid. Isaac Newton, 8. 28760. Tres Cantos, MD, (España)*

nicolas@imm.cnm.csic.es

En los últimos años se ha despertado un interés creciente por la aplicación de la microscopía de fuerzas a la visualización de moléculas biológicas. Una de las mayores dificultades que se presenta, resulta de la pérdida de resolución debido a las fuerzas normales y laterales que se aplican durante la adquisición de la imagen. Este efecto se hace más patente al intentar visualizar moléculas aisladas, en las que las fuerzas laterales provocan un desplazamiento de la molécula mayor, que si esta formara parte de una estructura ordenada.

Una opción para superar esta limitación se puede conseguir mediante la microscopía de fuerzas bimodal, una evolución de la técnica de modulación en amplitud (AM-AFM) en la que se excitan simultáneamente los dos modos superiores de oscilación de la micropalanca. La inclusión de una segunda señal de oscilación, proporciona dos canales de información adicionales (amplitud y fase del segundo modo) a los obtenidos tradicionalmente en AM-AFM. Así, utilizando esta técnica en condiciones de interacción débil, esto es, aplicando fuerzas a la muestra por debajo de los 100 pN y en condiciones conservativas o cuasiconservativas; se ha conseguido resolver la estructura de anticuerpos IgG e IgM en aire y en líquidos a través de la señal de fase del segundo modo de oscilación. También se ha demostrado la posible aplicación de esta técnica como herramienta espectroscópica, al caracterizar mediante la señal de fase del segundo modo los fragmentos Fab y Fc de los anticuerpos IgG.

Referencias:

- [1] Martínez, N. F.; Patil, S.; Lozano, J. R. and García, R. *App. Phys. Lett.*, 89 (2006) 153115.
- [2] Patil, S.; Lozano, J. R.; Martínez, N. F. and García, R. *J. Mol. Recogn.*, 20 (2007) 516-523.
- [3] Lozano, J. R.; García, R. *Physical Review Letters*, 100 (2008) 076102.
- [4] Dietz, Ch. et al, *Applied Physics Letters*, 92 (2008) 143107.
- [5] Martínez, N. F.; Lozano, J. R.; Herruzo E.T. García, R. *Nanotechnology* (2008) (in press).
- [6] Proksch, R.; *Applied Physics Letters*, 89 (2006) 113121.
- [7] Rodríguez, T. R. y García, R; *Applied Physics Letters*, 84 (2004) 449.
- [8] Stark, R. W., Naujoks, N. and Stemmer, A.; *Nanotechnology* 18 (2007) 065502.

Figuras:

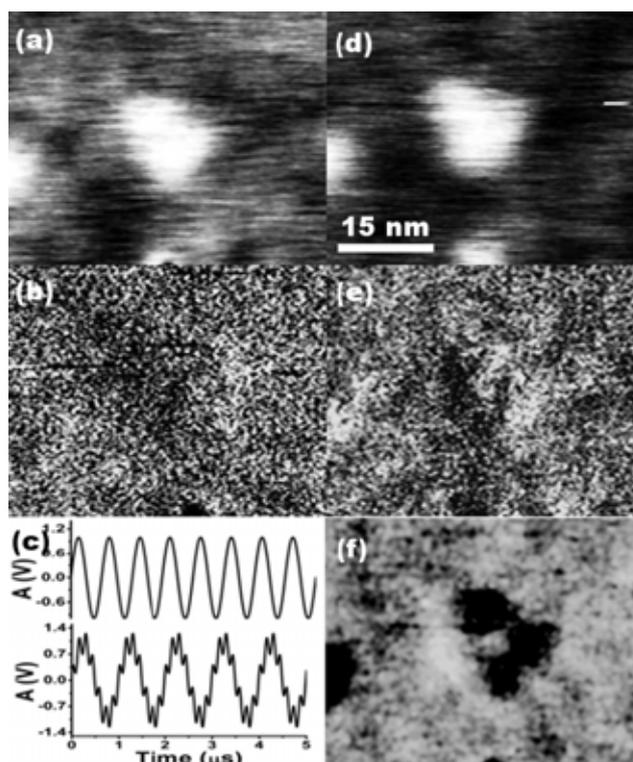


Figura 1. Imágenes de topografía y fase de un anticuerpo IgG obtenidas en AM-AFM (Figs. 1a y 1b) y en operación bimodal (Figs. 1d, 1e y 1f). Solamente la imagen de fase de segundo modo (Fig. 1f) resuelve la estructura en forma de Y. En la Figura 1c se muestran las señales de oscilación de la micropalanca en ambas técnicas. En el recuadro de la Figura 1b se muestra un esquema del anticuerpo.

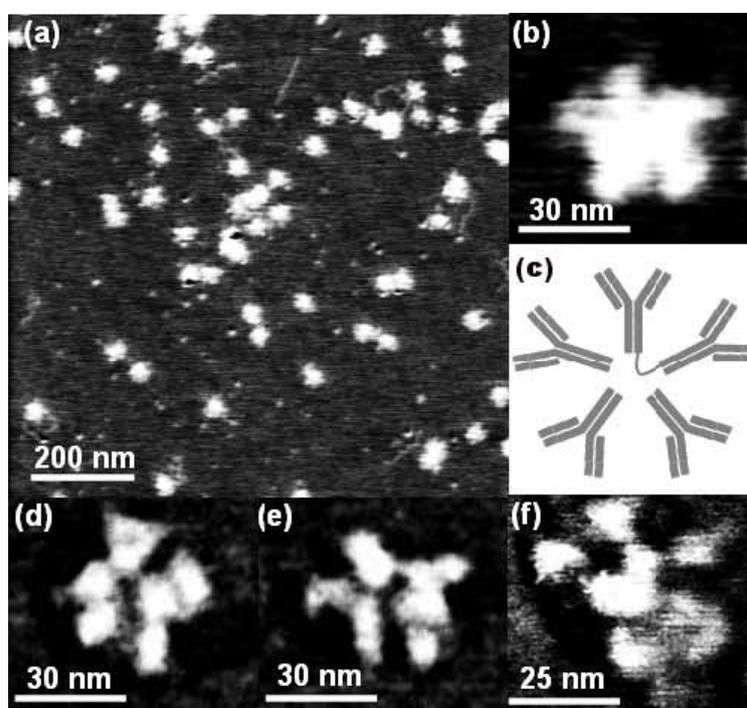


Figura 2. Imágenes de topografía (Figs. 2a y 2b) y fase de segundo modo (Figs 2d, 2e y 2f) de anticuerpos IgM obtenidas en operación bimodal. En la imagen de topografía solamente se puede resolver la silueta pentamérica. Los monómeros de los que se compone la molécula así como de la cadena J, se pueden resolver en las imágenes de fase de segundo modo. En la Figura 2c se muestra un esquema de la molécula.