



UNIVERSITÄT
HEIDELBERG
ZUKUNFT
SEIT 1386

AG Herten – Uni Heidelberg

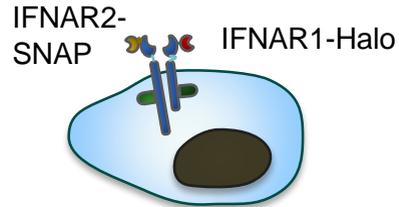
Chemische Schalter & Quantitative Mikroskopie

Dirk-Peter Herten

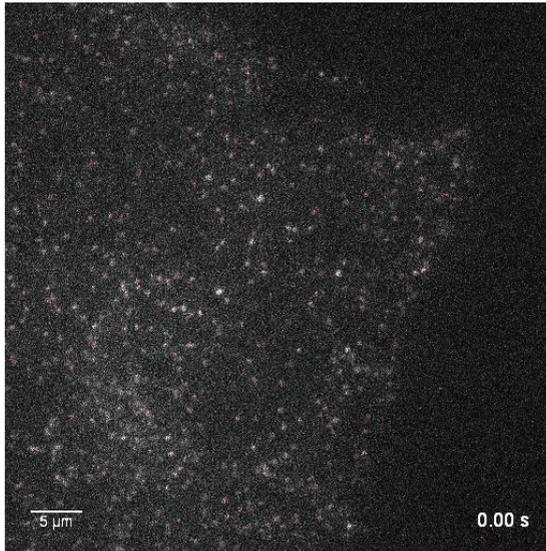
AG Herten – Single Molecule Spectroscopy
Physikalisch-Chemisches Institut
Universität Heidelberg

15.12.2017

Dynamik einzelner Rezeptoren

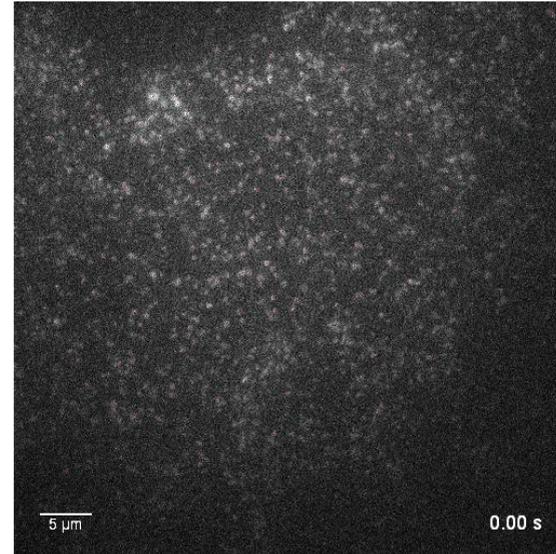


IFNAR1-Halo



Stained with 10 nM HaloTMR
Imaged in L-15 Buffer
Excitation with 5,7 mW @ 561 nm
50 ms exposure time

IFNAR2-SNAP



Stained with 100 nM SiR SNAP
Imaged in ROX Buffer
Excitation with 6,7 mW @ 640 nm
50 ms exposure time

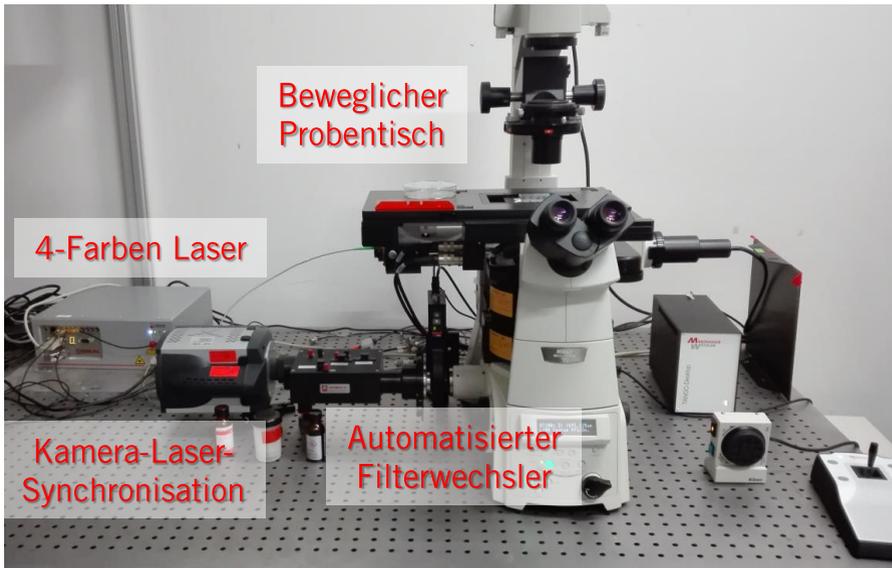
Fluoreszenzmikroskopie

Einzelmolekülmikroskopie & Super-Resolution



UNIVERSITÄT
HEIDELBERG
ZUKUNFT
SEIT 1386

Eigenbau & Erweiterung von optischen Mikroskopen:



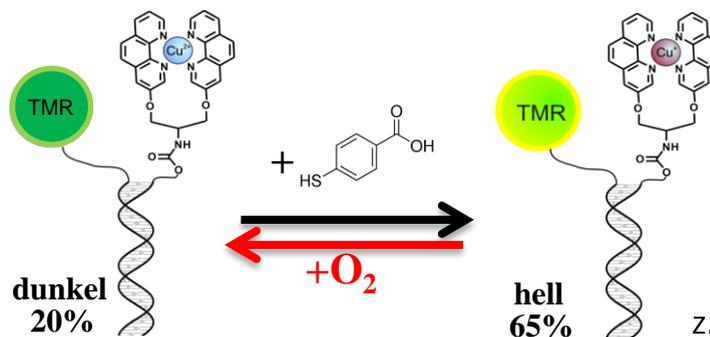
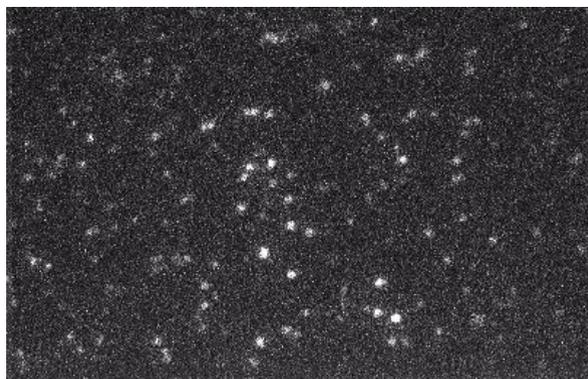
- Lasereinkopplung m. besonderen Anforderungen (Leistung, ps-Pulse)
- Integration hochempfindlicher Detektoren
- Automatisierbare Ansteuerung
- Implementierung von Einzelmolekülexperimenten (Mikrokanäle, Zugabe von Reagenzien, live-cell Experimente)
- (Automatisierte) Datenanalyse

Hochaufgelöste und quantitative Mikroskopie

Nicht publizierte Daten über chemische Schalter

z.B. Mitochondrien in lebenden Zellen
(Kooperation: Richard Wombacher)

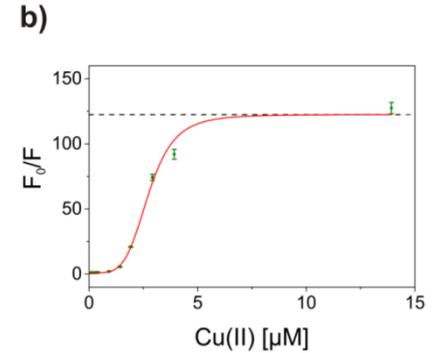
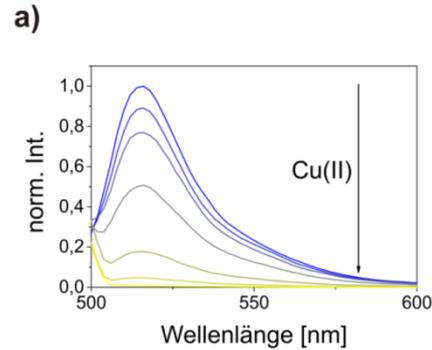
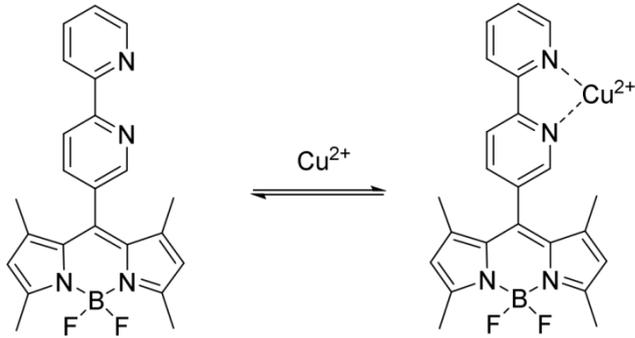
Untersuchung chemischer Reaktionen von einzelnen Molekülen



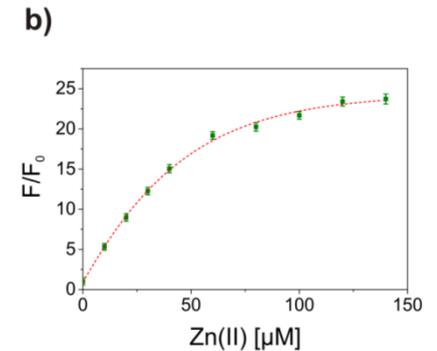
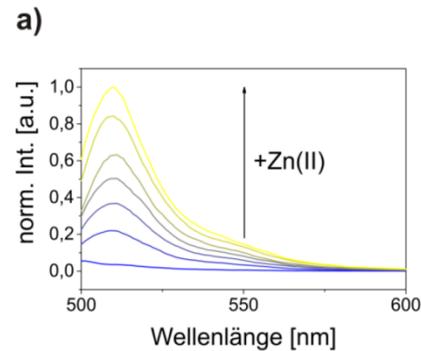
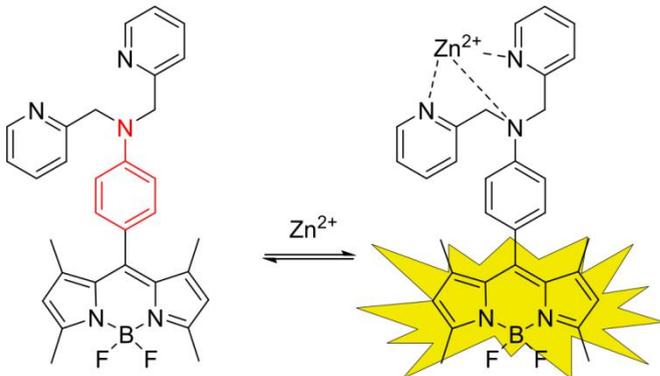
Molekulare Schalter



BODIPY-BPy – „Turn off“ durch Cu^{2+}



BODIPY-DPA – „Turn on“ durch Zn^{2+}

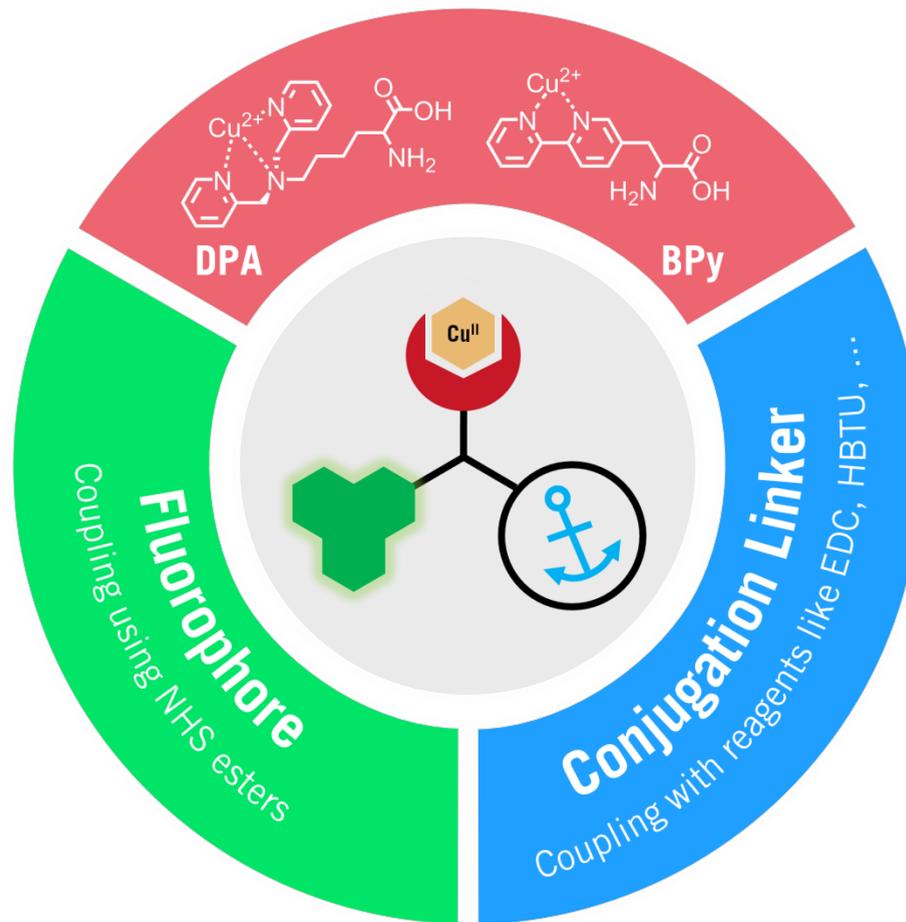


Cu-Schalter: Modulares Synthese-Konzept



UNIVERSITÄT
HEIDELBERG
ZUKUNFT
SEIT 1386

**Nicht
publizierte
Daten über
chemische
Schalter**

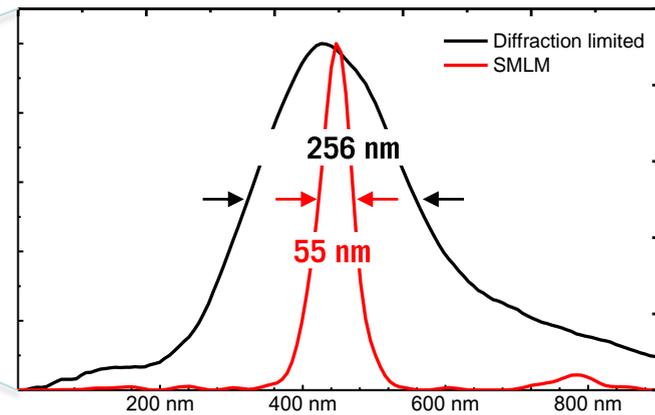
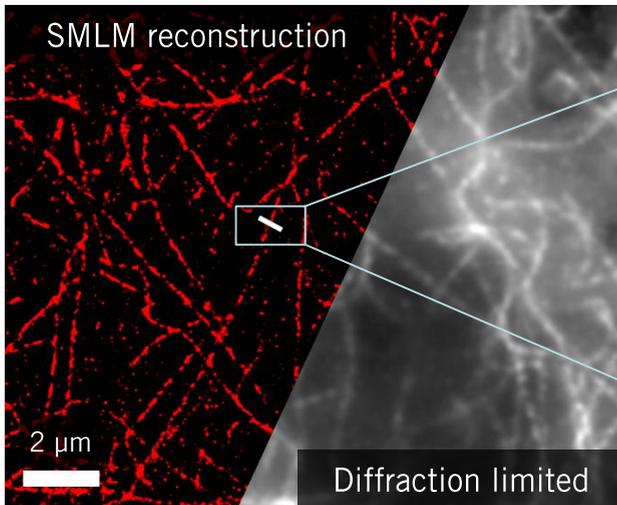
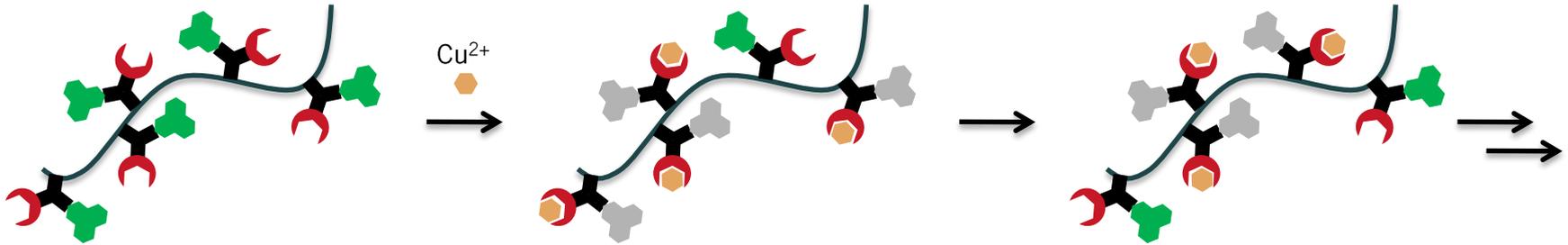


**Nicht
publizierte
Daten über
chemische
Schalter**

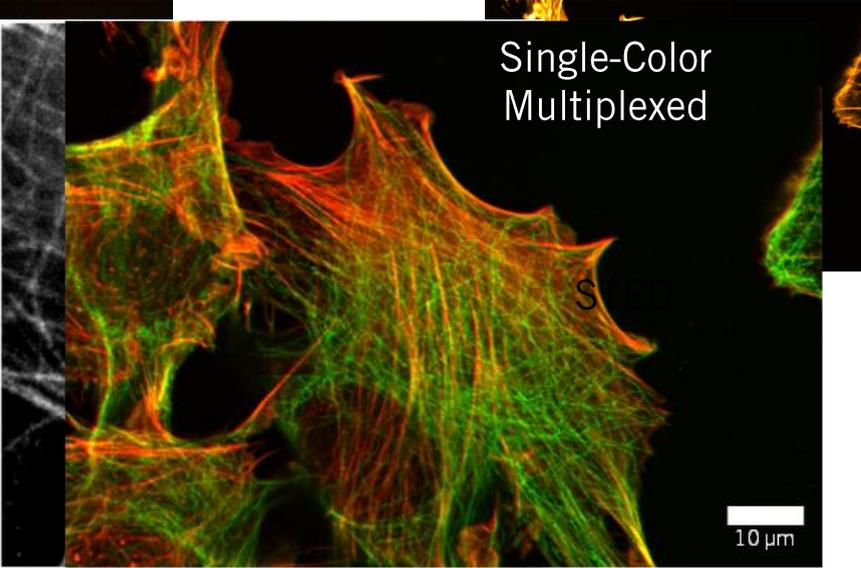
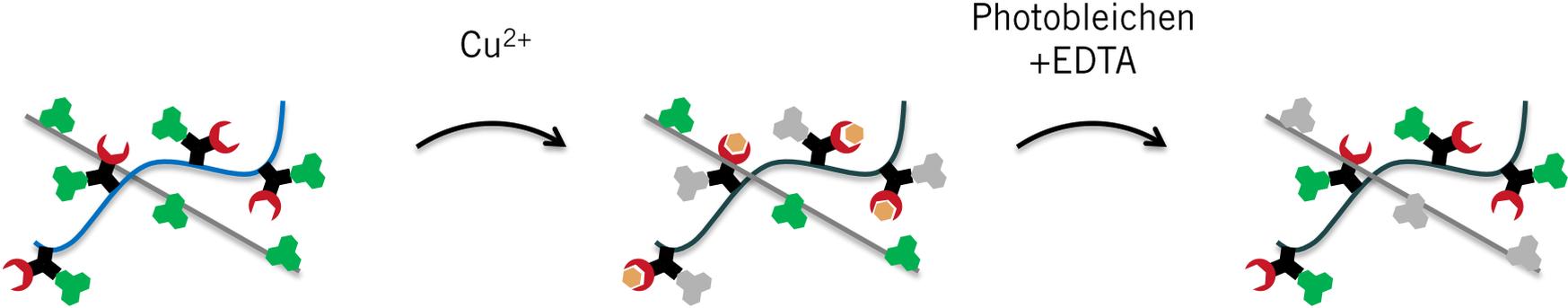


**Nicht publizierte Daten über
chemische Schalter
(verschiedene Strukturen in Zellen)**

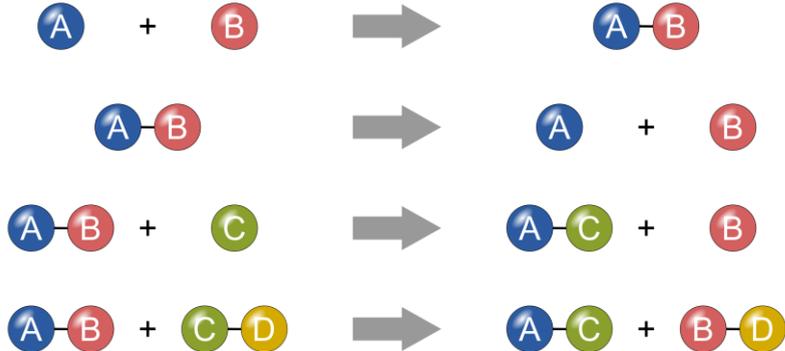
Hochaufgelöste Lokalisationsmikroskopie



Chemisches Multiplexing



Chemische Reaktionen einzelner Molekülen



Direkte Beobachtung chemischer Transformationen:

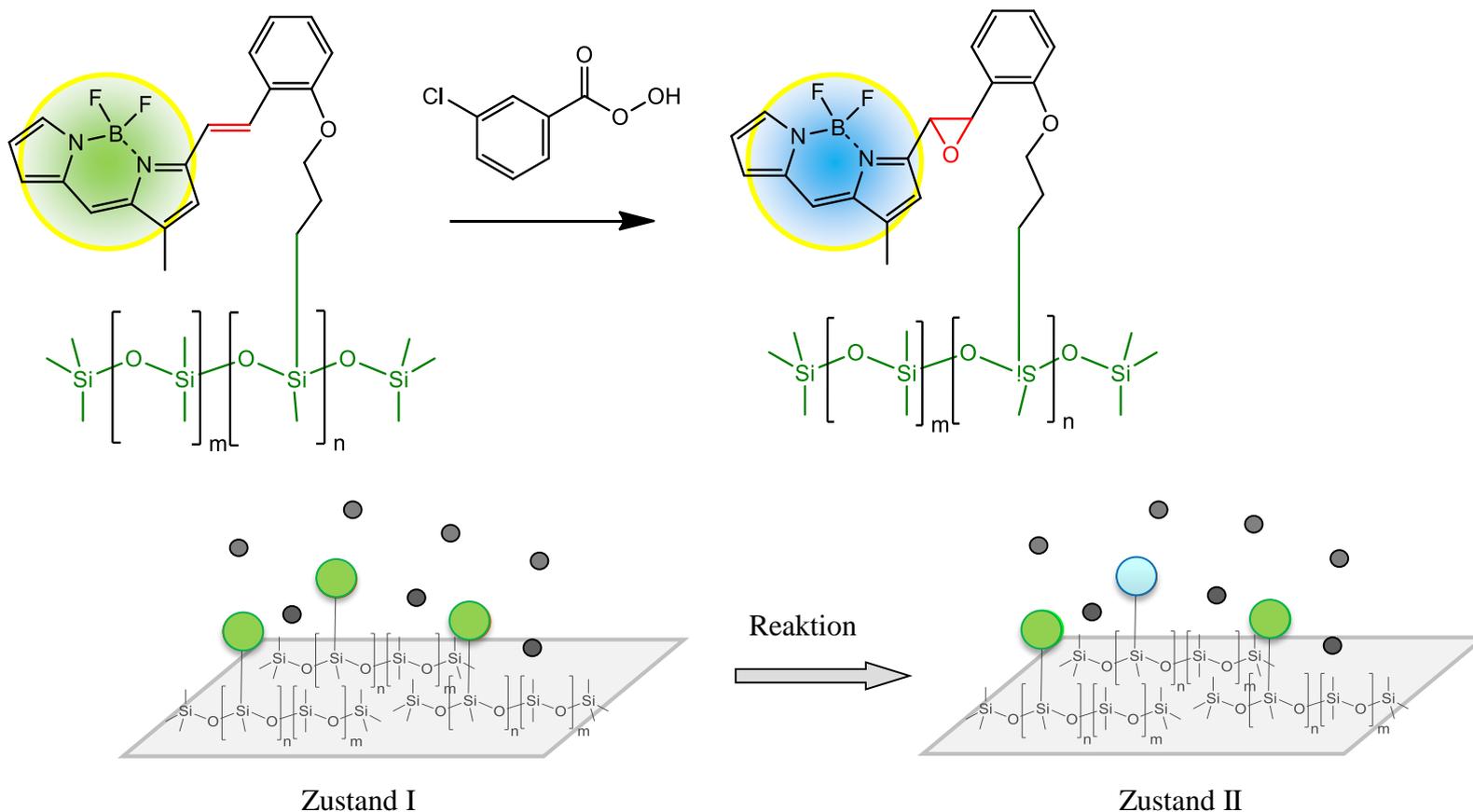
- Einzelne Reaktionsschritte
- Reaktionskinetik
- Mechanistische Untersuchung
- Unterschiedliche Reaktionswege
- Kontrolle der Reaktion!



Epoxidierung olefinischer Doppelbindungen



Beobachtung mehrerer Zustände:

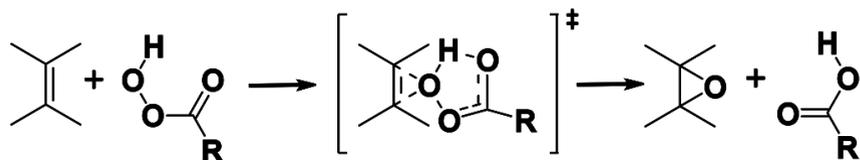
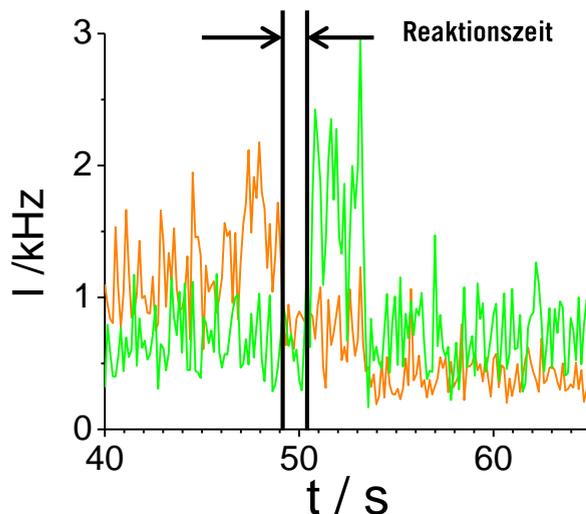
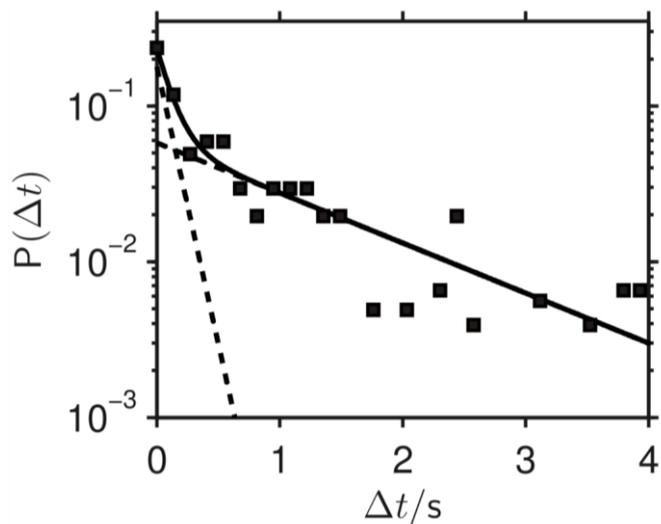


Epoxidierung olefinischer Doppelbindungen



UNIVERSITÄT
HEIDELBERG
ZUKUNFT
SEIT 1386

7% aller Moleküle zeigen Umsetzung (Rest: Fotobleichen)



Bartlett Rec Chem Proc 1950

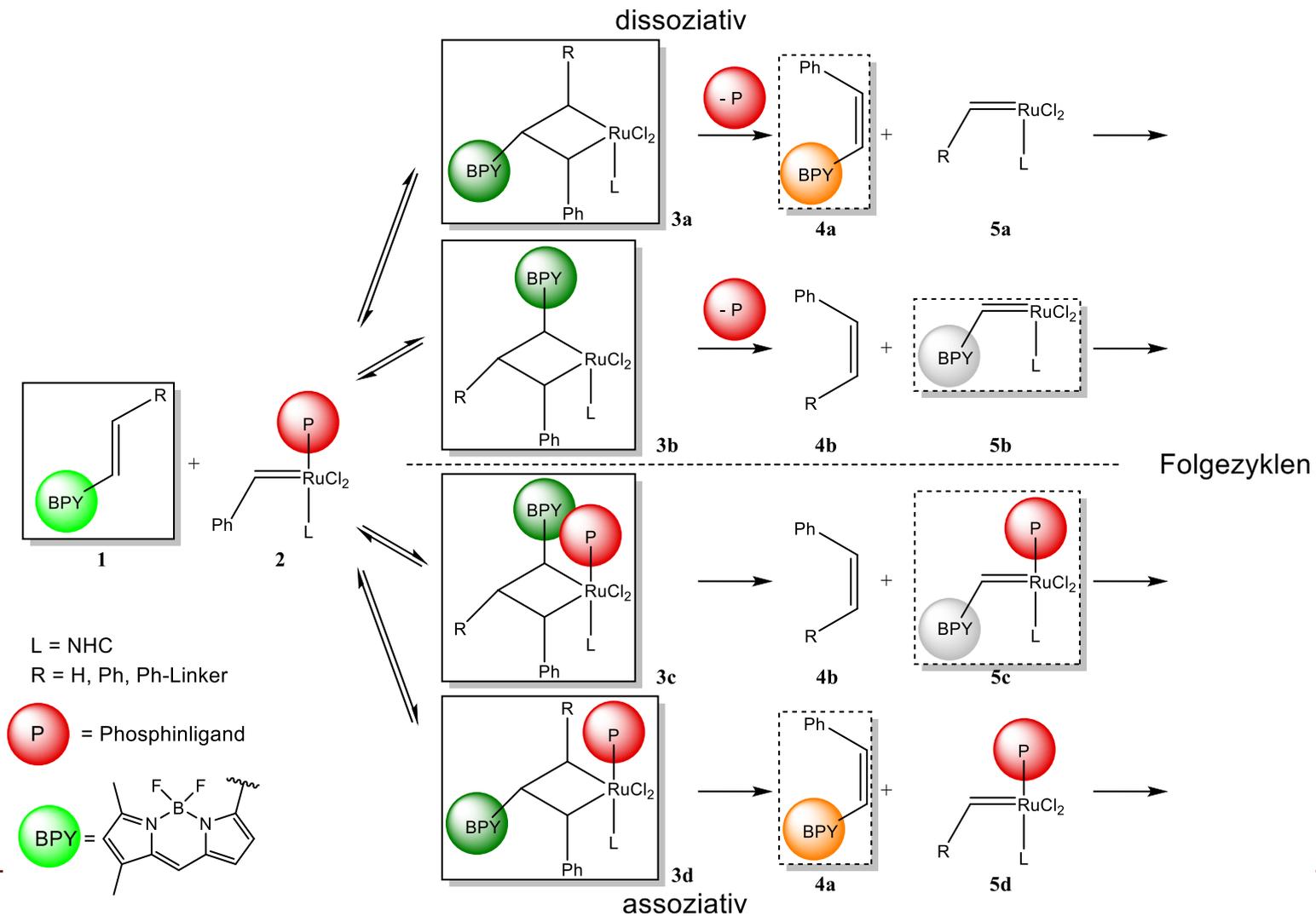
⇒ **Alternativer Reaktionsweg über ein Intermediat!**

- **Protoniertes Epoxid??**

Vorgeschlagen: Bach, J Org Chem 1997

Vorhergesagt: Shi, J Mol Catal A 2005

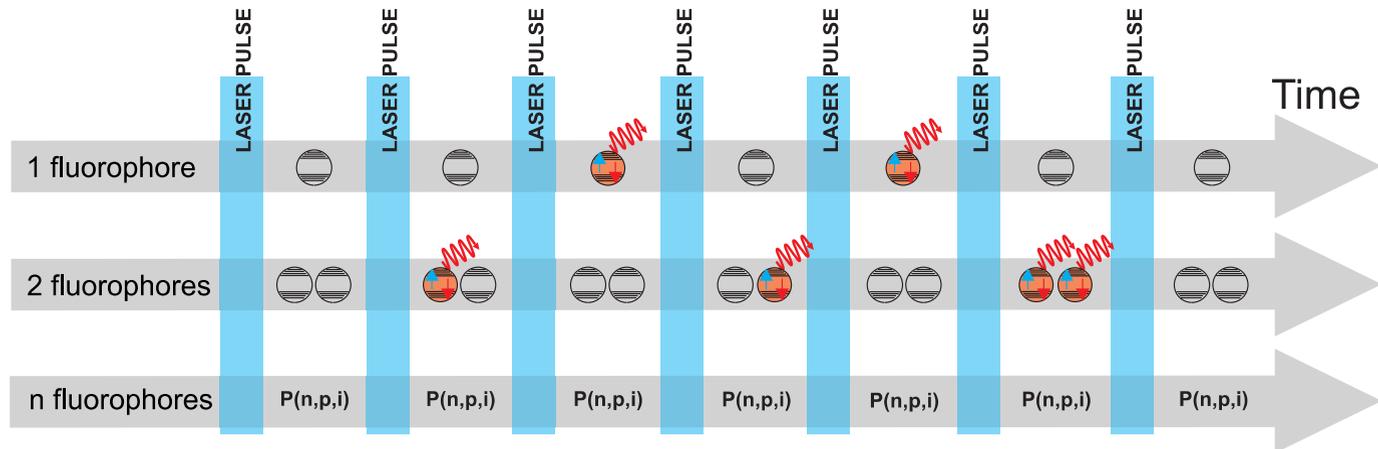
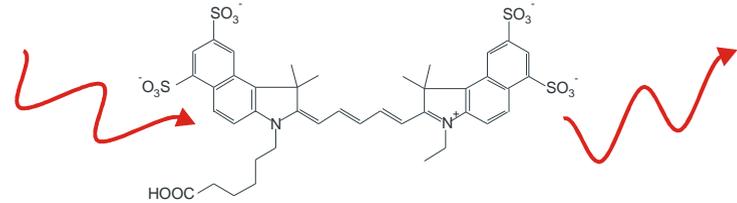
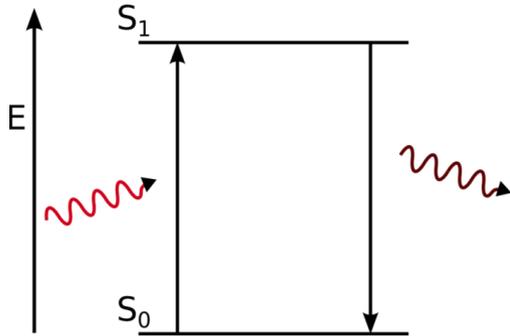
Aktuelles Projekt: Olefin Metathese





- **Chemie mit einzelnen Molekülen**
- **Mikroskopiesonden**
- **Sensorentwicklung (z.B. Beschichtung von Oberflächen)**
- **Steuerung der Funktionalität (Verknüpfung m. optischen Eigenschaften)**
- **...**

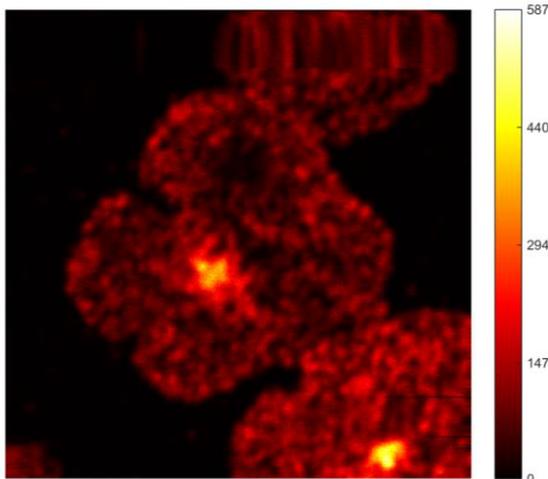
Photon anti-bunching



Untersuchung von T-Zellrezeptorclustern

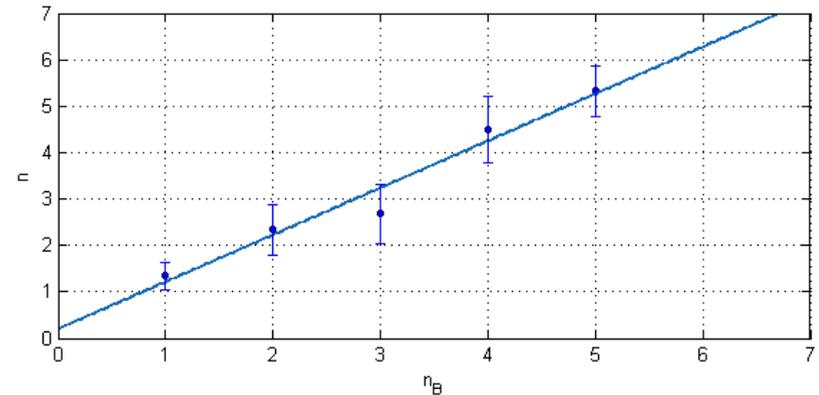


Stimulierte Jurkat Zellen
(LAT-Halo-TMR markiert)



→ Isolierte TCR-Cluster

Korrelation von CoPS (n) mit
Photozerstörung (n_B)



→ Schätzung in fixierten Zellen möglich!!

Road map

**Quantitative
microscopy**

Labeling efficiency
- Calibration protocol

Real samples
- autofluorescence

Labeling stoichiometry
- Tagging techniques (SNAP, Halo, ...)

Fluorophores

- Bright & photo-stable
- Non-toxic etc.

**Counting
emitters in
confocal
observation
volumne**

Imaging

- 2d imaging sensor
- Single-photon sensitive
- Fast readout (~ MHz)

Multiplexing

- 2nd ps-pulsed laser source (→DFG)!
- Modify existing setup (→ **Physicist??**)

Experimental challenges
Technical challenges

Thanks to ...



UNIVERSITÄT
HEIDELBERG
ZUKUNFT
SEIT 1386

Klaus Yserentant
Wioleta Chemielewicz
Felix Braun
Martin Seefeld

Former members:

Andreas Haderspeck
Siegfried Hänselmann
Arina Rybina
Sebastian Bierbaum
Kristin Großmayer
Anton Kurz
Haisen Ta

Cooperations:

Oliver Fackler (Virologie)
Ursula Klingmüller (DKFZ)
Richard Wombacher (IPMB)
Gregor Jung (Saarbrücken)

Deutsche
Forschungsgemeinschaft



... and for your attention