

POSSIBLE PITFALLS IN LIVE TRACKING MICROSCOPY EXPERIMENTS ВОЗМОЖНЫЕ ЛОВУШКИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ДИФфуЗИИ ДНК

Anastasia Lyulina, Geoffrey Fudenberg, Boryana Doyle, Polina Shpilker, Maxim Imakaev

INTRODUCTION

Characterizing chromosome dynamics and organization in living cells is experimentally challenging. In particular, experimental observations can perturb chromosome organization and lead to altered dynamics. For example, it has been observed that the amount of fluorescent probe binding (e.g. GFP) to DNA can change chromosome dynamics (A. Javer et al., 2013). Using polymer simulations, we explored whether a local change in properties of DNA due to the probe binding can change the measured diffusion of that region. We found that locally changing the stiffness or stickiness of DNA can alter the dependence of the mean square displacement on time, MSD(t), which is a measure commonly used to characterized diffusion of DNA in live tracking experiments. Finally, we assessed if the duration of the exposure time in microscopy experiments can alter MSD(t). In our simulations, we found that averaging particle coordinates over the exposure time is different from taking "instant" coordinates, and can lead to about 5% error in measured diffusion exponent.

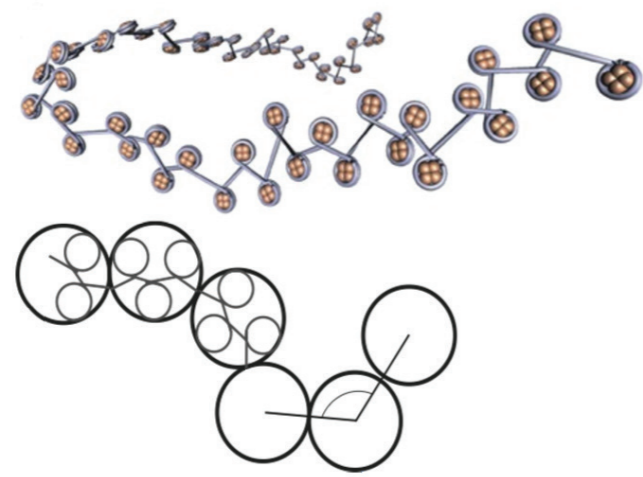


Fig.1. Polymer DNA model
Рис.1. Полимерная модель ДНК

STIFFNESS ЖЕСТКОСТЬ

We chose the polymer region of varying length and change its stiffness. From the plots you can see that when the region's length increases, the stiff region moves faster, and when the region's stiffness increases, it moves slower.

Мы выбирали участок полимера разной длины и изменяли его жесткость. Из представленных графиков видно, что чем длиннее жесткий участок, тем быстрее он двигается, и чем жестче, тем медленнее.

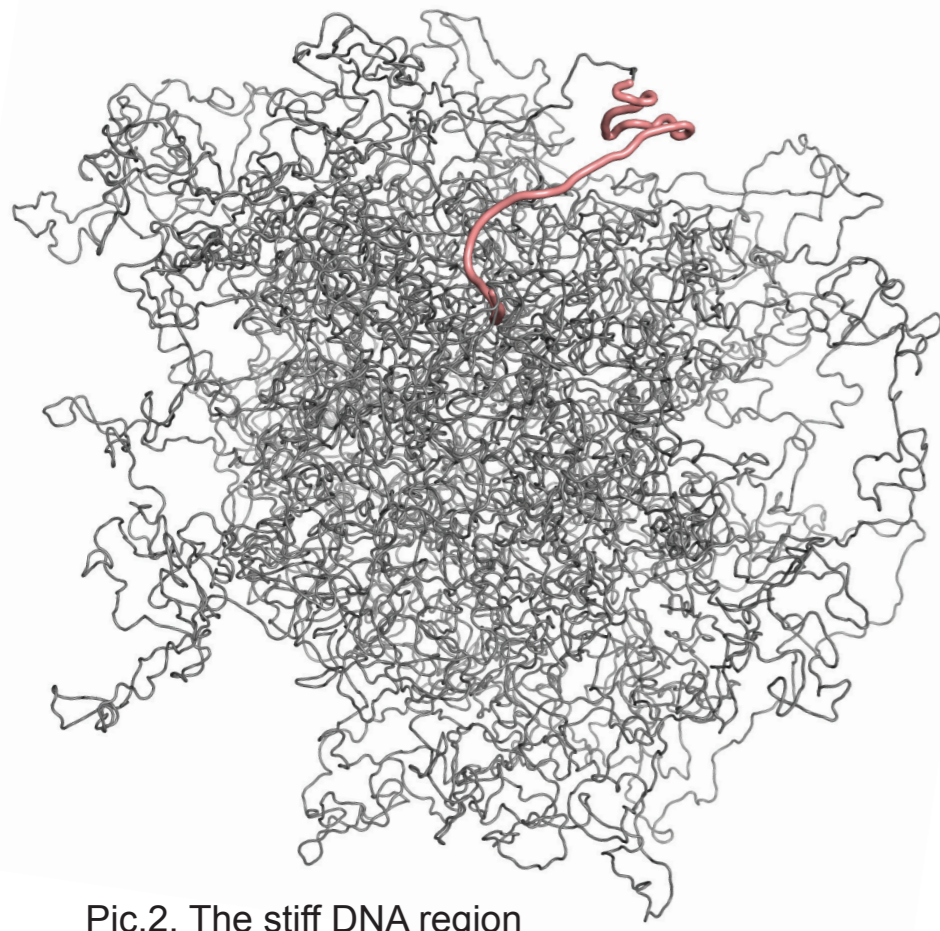
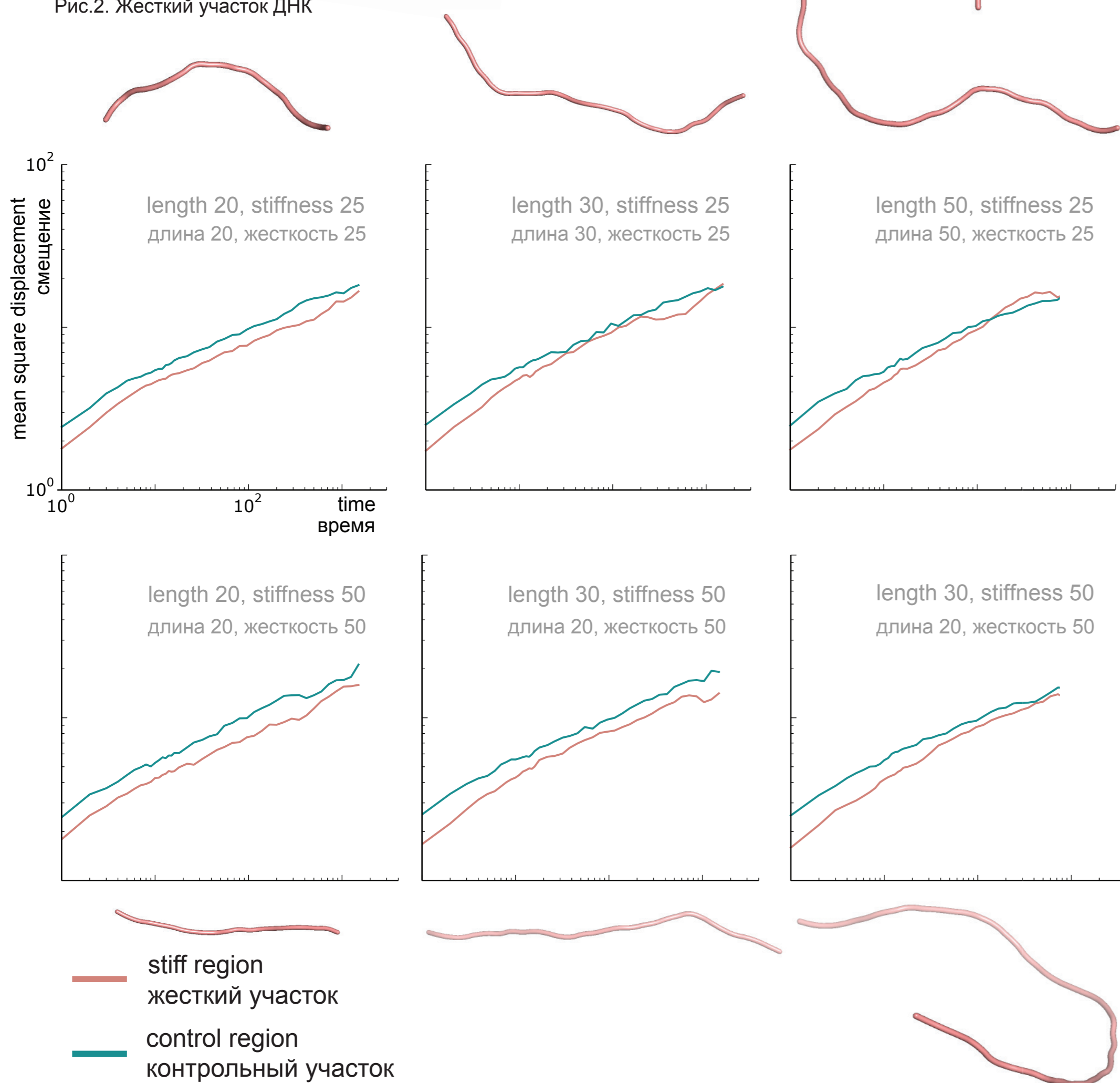


Fig.2. The stiff DNA region
Рис.2. Жесткий участок ДНК



CONCLUSION

In our research we found two effects which can introduce bias in live microscopy experiments and lead to a slower measured diffusion.

ВВЕДЕНИЕ

Движение и организация хромосом в клетках до сих пор остаются сложными для экспериментального изучения. Существует множество методов, один из которых – наблюдение за флуоресцентно окрашенным участком ДНК. Но некоторые исследования (A. Javer et al., 2013) показывают, что присоединение к ДНК флуоресцентных проб (например, GFP), может влиять на движение хромосом. Используя полимерное моделирование, мы исследовали, является ли локальное изменение флуоресцентной пробой свойств ДНК причиной изменения свойств диффузии ДНК. Мы обнаружили, что изменение жесткости или липкости ДНК может изменить зависимость смещения участка ДНК от времени, MSD(t), которая обычно является характеристикой диффузии в экспериментальных исследованиях. Кроме того, мы рассмотрели, может ли влиять на результат способ измерения MSD(t). Результаты моделирования показывают, что разница между зависимостью средних координат мономера от времени и «мгновенных» координат составляет около 5%.

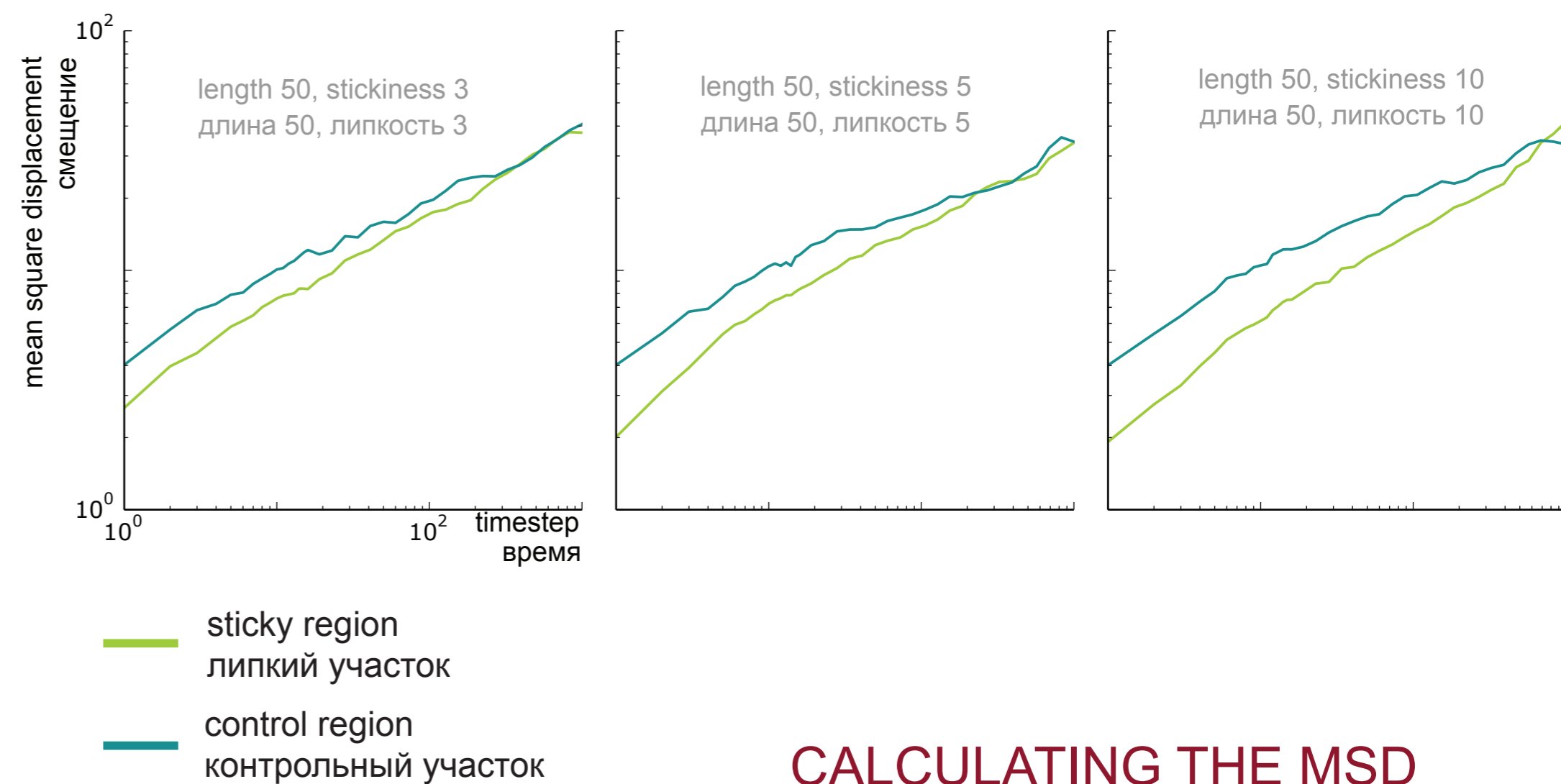
STICKINESS ЛИПКОСТЬ

We chose the polymer region of varying length and change its stickiness. But there is no visible difference between the results, so the local stickiness does not alter DNA diffusion.

Мы выбирали участок полимера разной длины и изменяли его липкость. Но мы не увидели никакой разницы, так что можно сказать, что локальное изменение липкости не влияет на диффузию ДНК.



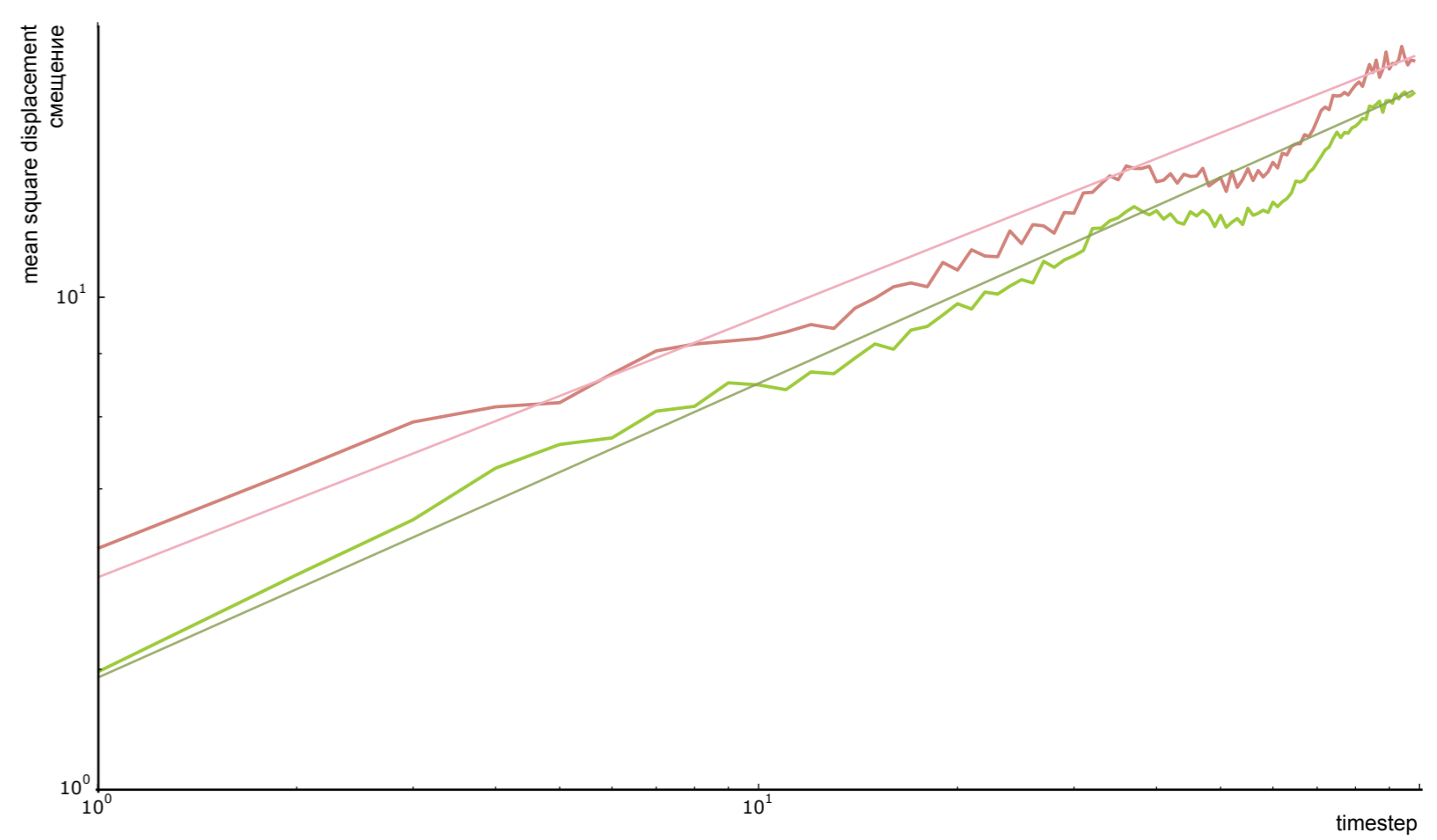
Fig.3. The sticky DNA region
Рис.3. Липкий участок ДНК



CALCULATING THE MSD РАСЧЕТ СМЕЩЕНИЯ

In experimental studies the MSD is calculating taking the average monomer coordinates, but actually we must take the "instant". This method leads to about 5% error.

В экспериментальных работах для расчета смещения обычно используются средние координаты мономера, хотя правильнее было бы использовать "мгновенные". Ошибка такого метода составляет около 5%.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате нашей работы мы нашли две причины, которые могут влиять на диффузию ДНК в реальных экспериментах.

