

TISKOVÁ ZPRÁVA

Praha 10. února 2021

Akademie věd ČR
Národní 1009/3, 110 00 Praha 1
www.avcr.cz

NOVÁ METODA MIKROSKOPIE UMOŽŇUJE VIDĚT ZMĚNY TVARU JEDNOTLIVÝCH MOLEKUL, KTERÉ ŘÍDÍ ZÁKLADNÍ PROCESY V BUŇKÁCH

Čeští vědci vyvinuli nový optický mikroskop, který svou citlivostí výsoce předčí ostatní. Je totiž schopný zachytit pohyb v nitrobuněčných strukturách složených jen z několika molekul a umožňuje přímé pozorování změny tvaru bílkovin. Nová metoda pomohla lépe pochopit fungování mikrotubulů, které stojí za základními biologickými procesy. Soubor nových mikroskopických metod představili vědci z Ústavu fotoniky a elektroniky AV ČR a Biotechnologického ústavu AV ČR ve vědeckém časopise *Small Methods*.

Vědci si kladli za cíl zobrazit a prozkoumat mechanismy dynamických buněčných struktur pomocí vysokorychlostního snímání. Optická mikroskopie nabízí dosud nepřekonané možnosti sledovat změny a funkce základních biologických soustav ve viditelném světle. Vykreslení zobrazených detailů však naráží na omezení optického rozmazání obrazu nazývaného difrakční limit. „*Průlomové metody založené na super-rozlišovací mikroskopii laureátů Nobelovy ceny dnes již běžně rozkrývají nanoskopické detaily o poloze určitých biomolekul,*“ přibližuje Marek Piliarik z Ústavu fotoniky a elektroniky AV ČR. „*Nahlédnout, jak tyto biomolekuly pracují a jak se mění, ale optická mikroskopie nikdy nedokázala. To jsme změnili a poprvé jsme pozorovali změny tvarů a vzájemných interakcí minimálních shluků bílkovin,*“ vysvětluje přínos studie.

Nová mikroskopická metoda umožňuje přímé pozorování změny tvaru nanoskopických struktur složených jen z několika molekul, a dokáže tak odhalit molekulární mechanismy skryté hluboko pod rozlišovací schopností optického mikroskopu.

Miliony snímků za sekundu: ultracitlivě, bez značkování

K dosažení této úrovně detailu byla použita ultracitlivá zobrazovací metoda, označovaná jako mikroskopie interferometricky detekovaného rozptylu. Právě tuto metodu před lety poprvé použil jeden ze spoluautorů publikované práce k přímému pozorování jednotlivých proteinů bez použití

Kontakt pro média: **Markéta Růžičková**
Divize vnějších vztahů SSČ AV ČR
press@avcr.cz
+420 777 970 812

Petra Palečková
Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR
paleckova@ufe.cz
+420 731 028 303

(fluorescenčních) značek přidaných dodatečně k měřenému vzorku. Tým vědců z uvedených pracovišť Akademie věd nyní posunul možnosti této metody a dokázal přesně změřit nejenom polohu krátkých řetízků bílkovin, ale i jejich okamžitý tvar. „Věřím, že naše metoda otevře celou škálu nových aplikací podobných super-rozlišovací mikroskopii, které ale nebudou vyžadovat světlo z fluorescenčních značek. Namísto toho rozpozná různé tvary a formace nepozměněných proteinových struktur,“ představuje svou vizi Marek Piliarik.

„Tato metoda je schopná neinvazivního zobrazování řádově až s milionem snímků za sekundu, vidíme její velký potenciál stát se oknem k pochopení nitrobuňčických mechanismů a velkou příležitostí pro celou optickou mikroskopii.“

Nové metody vědci využili k popsání změn souvisejících s rozpadem buněčné kostry mikrotubulů. „Skutečnost, že jsme dokázali sledovat proměny tvaru malých shluků bílkovin těsně předtím, než se rozpadnou, nás ohromila,“ přibližuje Milan Vala z Ústavu fotoniky a elektroniky AV ČR, jeden z autorů publikované práce „Když si navíc uvědomíme, že tato metoda je schopná neinvazivního zobrazování řádově až s milionem snímků za sekundu, vidíme její velký potenciál stát se oknem k pochopení nitrobuňčických mechanismů a velkou příležitostí pro celou optickou mikroskopii,“ upozorňuje Milan Vala.

Jedinečné mikrotubuly

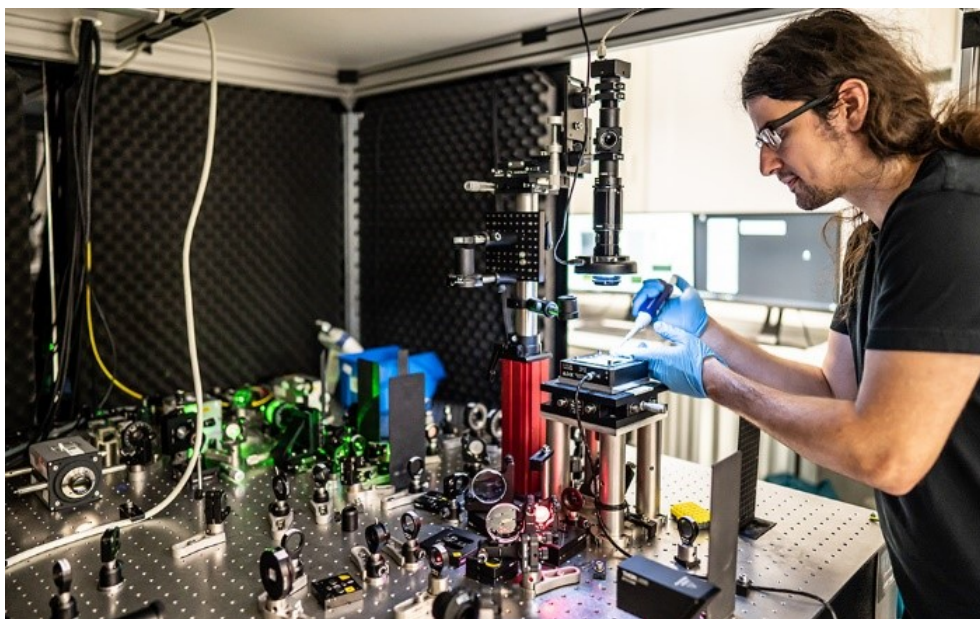
Mikrotubuly jsou mimořádně proměnlivé buněčné struktury, které samovolně, opakovaně a velmi rychle rostou a zkracují se, a tím plní svou funkci v životadárných procesech, jako je dělení nebo pohyb buněk. Na konečcích rozpadajících se mikrotubulů byly ve statických obrázcích z elektronového mikroskopu již před desítkami let objeveny zakřivené, pouhé nanometry velké struktury. Protože však nebylo možné přímo sledovat vznik těchto bílkovinných formací v reálném čase, hlubší souvislosti mechanismů řídících rozpad mikrotubulů se změnami a dynamikou jednotlivých bílkovin setrvaly dosud v rovině hypotéz a modelů.

„Unikátní rozlišení této metody nám umožňuje lépe pochopit dynamické změny ve struktuře mikrotubulů, které stojí v pozadí základních biologických procesů, jako je buněčné dělení.“

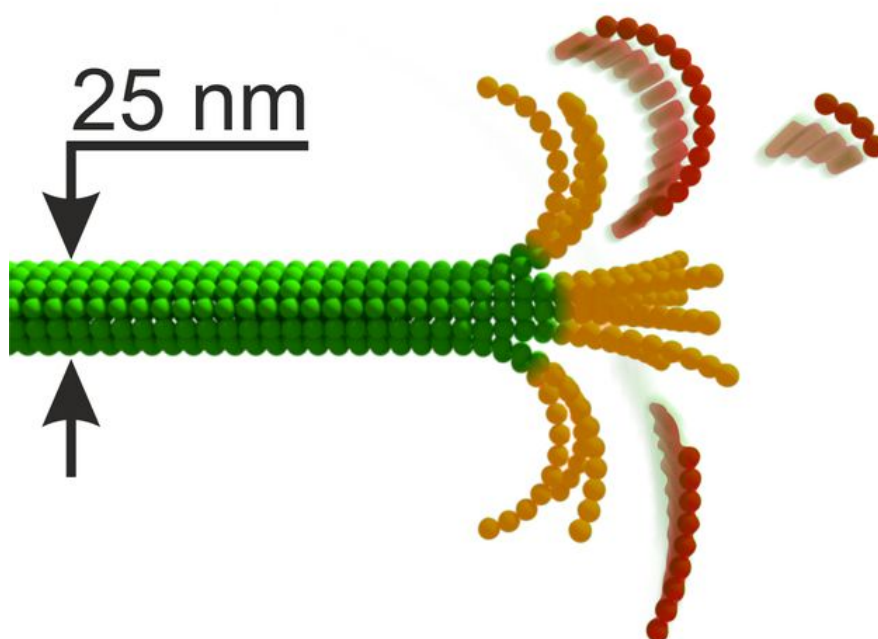
Nová práce nyní ukazuje, jak je možné měřit drobné odchylky ve vlastnostech světla rozptýleného na strukturách složených z pouhých několika molekul a z nich dokonce rozlišit jejich okamžitý tvar (konformaci). Vědci tak byli schopni zachytit poměrně detailní choreografii, četnost a velikost výchylek těchto proměnlivých struktur v prostoru i čase. Zdeněk Lánský z Biotechnologického ústavu AV ČR zdůrazňuje biologický aspekt této práce: „Unikátní rozlišení této metody nám umožňuje lépe pochopit dynamické změny ve struktuře mikrotubulů – až donedávna nezachytitelných mechanismů, které stojí v pozadí základních biologických procesů, jako je buněčné dělení.“

Více informací: **Marek Piliarik, Ph. D.**
Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR
piliarik@ufe.cz
+420 777 012 991

Reference: M. Vala, L. Bujak, A. G. Marín, K. Holanová, V. Henrichs, M. Braun, Z. Lánský, M. Piliarik, Nanoscopic Structural Fluctuations of Disassembling Microtubules Revealed by Label-Free Super-Resolution Microscopy, *Small Methods*, DOI: [10.1002/smtd.202000985](https://doi.org/10.1002/smtd.202000985)



*Laboratoř Nano-optiky v Ústavu fotoniky a elektroniky AV ČR
FOTO: Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR (autor: Zuzana Havlínová)*



Ilustrace rozpadajícího se mikrotubulu. Nová metoda mikroskopie umožňuje rozlišit tělo mikrotubulu (načrtnuto zeleně) od zakřivených struktur na jeho konci (oranžové) a zachytit dynamiku jejich rozpadu (ilustrováno červeně).