|  |  |
| --- | --- |
|  |  |

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 vysoce 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 (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 nitrobuněčných 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 nitrobuněčných 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 bílkovinových formací v reálném čase, hlubší souvislosti mechanismů řídících rozpad mikrotubulů se změnami a dynamikou jednotlivých bílkovin setrvávaly 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 eletroniky AV ČR  
[piliarik@ufe.cz](mailto: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). |