

# Hledáme molekuly v kupce sena

Vlada Filimoněnko

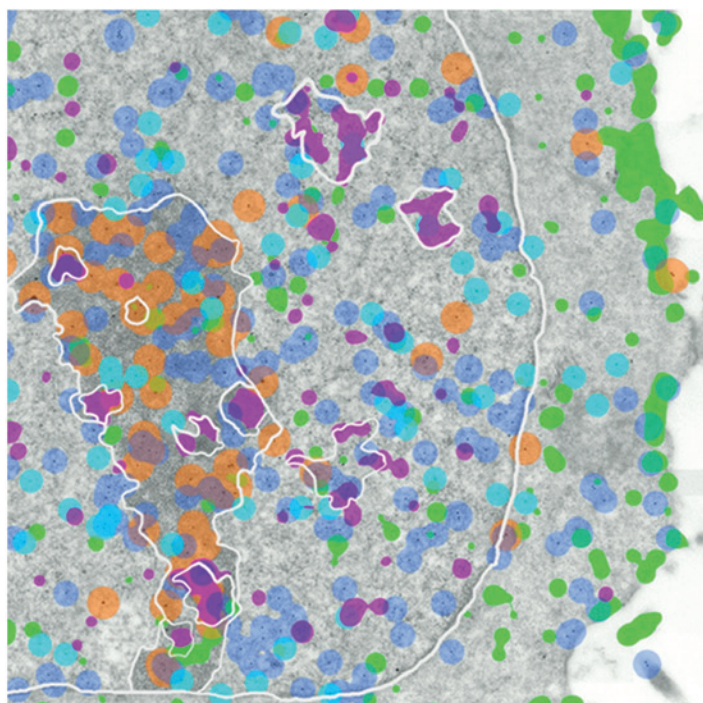
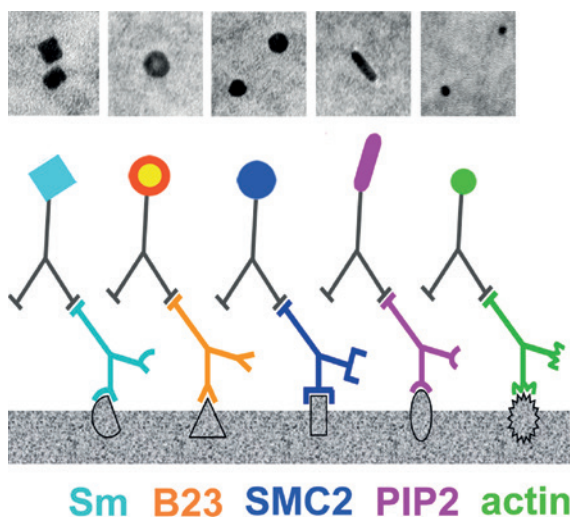
V každé buňce je obrovské množství molekul. Biologické molekuly – makromolekuly – se rozdělují na několik velkých skupin. Lipidy tvoří vnější a vnitřní membrány, DNA v buněčném jádře nese genetickou informaci, bílkoviny plní rozmanité funkce od stavebních přes pohybové až po regulační a obranné, cukry (většinou polysacharidy) slouží často jako zásobárna energie, ale jsou také stavebními prvky a regulátory. Každá z těchto velkých skupin zahrnuje množství jednotlivých druhů molekul, které jsou zastoupeny v buňce určitým počtem kopií a plní svoje specifické úlohy. Aby daná molekula správně fungovala, potřebuje být v buňce na správném místě a interagovat s jinými molekulami. Pokud je narušena struktura molekul nebo jejich umístění, a následně i jejich interakce, nefungují tak, jak mají, což má za následek vznik rozličných nemocí.

K rozluštění složitých procesů v buňce potřebují vědci informaci o tom, kde se

dané molekuly nacházejí a co tvoří jejich okolí. Nejlepší cestou je podívat se na ně v mikroskopu. Moderní elektronové mikroskopy mají rozlišení méně než 1 Angström, tedy  $10^{-10}$  m, což umožňuje zobrazovat dokonce jednotlivé atomy. Jestliže buněčné molekuly izolujeme, dokážeme pomocí speciálních metod kryoelektronové mikroskopie vytvořit prostorové modely molekul s přesností na atomy. V přirozeném prostředí uvnitř buňky jsou však molekuly natolik nahuštěné, že je není možné ani v nejlepším mikroskopu jednotlivě rozeznat.

Jedinou možností, jak zviditelnit určitou biologickou molekulu, je navázat na ni nějakou značku, která bude viditelná v mikroskopu a nesplyne s prostředím – bude vypadat jinak, než cokoli, co se v buňce běžně nachází. Jednou z cest, jak molekuly specificky označit, je imunocytochemie, neboli imunoznačení. Tato metoda je, jak napovídá její název, založená na vlastnostech imunitního systému vyšších obrat-

lovců. Ten totiž při vniknutí cizorodého organismu nebo látky začíná produkovat speciální molekuly – protilátky. Protilátky jsou unikátní v tom, že dokážou velmi specificky rozeznat cílové molekuly a pevně se na ně navázat. V těle slouží k obraně organismu před infekcí, ale vědci se jich naučili využívat při bádání. Na protilátky je možné chemicky navázat speciální značky, které jsou viditelné v mikroskopu. Takovými značkami jsou zlaté nanočástice s velikostí 5–15 nanometrů, které jsou pro elektrony neprostupné (jsou elektrondensní). Postup imunoznačení je poměrně jednoduchý. Speciálně připravený vzorek buněk či tkáňně inkubujeme s roztokem specifické protilátky, která je buď sama přímo spojena s kovovou nanočásticí, nebo se na ni naváže další, tzv. sekundární protilátka se značkou. Ve výsledku vidíme v elektronovém mikroskopu buněčné struktury a tmavé kovové nanočástice označující pozice molekul, o které máme zájem.



Pro studium interakcí molekul v buňce potřebujeme označit více různých molekul zároveň. Abychom je rozlišili, použijeme zlaté nanočástice rozdílné velikosti. Můžeme však využít pouze částice v rozmezí 5 až 15 nm – menší nebudou vidět v mikroskopu na pozadí buněčných struktur, větší se jen obtížně dostanou k molekulám ve vzorku. Proto jsme použili nanočástice různých tvarů a dokázali rozlišit pět druhů biologických molekul zároveň. Práce byla publikována v časopise *Histochemistry and Cell Biology* (Filimonenko et al., 2014. *Histochem Cell Biol* 141(3):229-39)