

Revoluční metoda českých vědců odhalila strukturu chromozomu

24.7.2024 - | Grantová agentura ČR

Po letech bádání a pokusů světových laboratoří, jak zobrazit biologické vzorky v přirozeném stavu, přišli čeští vědci s řešením. Nově vyvinutá metoda A-ESEM otevírá zcela nové možnosti zkoumání neživé, ale především živé hmoty.

Dosud se pro zobrazení prostorové struktury biologických i nebiologických materiálů s rozlišením až miliontiny milimetru používala rastrovací elektronová mikroskopie (SEM), při které se vzorky pozorují ve vysokém vakuu. Proto musejí projít úpravami, jež ale mohou poškodit jejich strukturu. A to vylučuje jejich pozorování v nativním stavu.

Jako auto, které jezdí po vodě a umí se ponořit

Metoda A-ESEM, pokročilá environmentální rastrovací elektronová mikroskopie (A-ESEM; Advanced Environmental Scanning Electron Microscopy), umožňuje zkoumat prakticky všechny živé vzorky: rostlinné a částečně i živočišné buňky v přirozeném stavu, malé živé živočichy, houby, plísně, roztoče, proteiny, bakterie, a vědci se chystají i na viry. Navíc lze sledovat dynamické změny vzorků v důsledku změny jejich teploty, vysychání, chemické reakce, fyzikálního působení.

„Klasický mikroskop lze přirovnat k luxusnímu automobilu, přičemž environmentální mikroskop je luxusním automobilem v ještě vyšší výbavě, který navíc umí jezdit po vodě a potápět se jako ponorka, zkrátka má všechny funkce klasického mikroskopu, a navíc řadu dalších,“ vysvětluje Vilém Neděla, vedoucí brněnského týmu Environmentální elektronové mikroskopie Ústavu přístrojové techniky AV ČR, který metodu vyvinul.

„Využíváme softwaru s umělou inteligencí, které poradí, jak nastavit parametry, aby se vzorek nezničil. Využili jsme mnoha vlastních inovací a díky ultracitlivým detektorům pozorujeme vzorky ve vysokém tlaku plynu a ve vlhkosti až 100 %, tedy v environmentálně kompatibilních podmínkách – velice šetrně, neubližujeme jim,“ popisuje Vilém Neděla.

A-ESEM je ze všech elektronově mikroskopických metod nejvíce univerzální, navíc ji lze použít k přípravě a dalším fyzikálně-chemickým analýzám vzorků. Podle Viléma Neděly je dokonce rychlejší, levnější a vhodnější pro studium dynamických změn biologických vzorků než kryo-elektronová mikroskopie, oceněná v roce 2017 Nobelovou cenou. *„Tato nová metoda řeší základní problém zdánlivé neslučitelnosti elektronové mikroskopie s přítomností vody v kapalném skupenství ve vzorku. Proto je vhodná pro zobrazování živých organismů a extrémně citlivých nanostruktur a nanopovrchů vše ve vysokém rozlišení,“* říká Vilém Neděla.

Potenciál nové metody ověřili vědci ve spolupráci s olomouckým pracovištěm Ústavu experimentální botaniky AV ČR studiem chromozomů, tedy mikroskopických struktur, ve kterých je uložena dědičná informace.

Chromozomy v průběhu dělení buněk kondenzují v mikroskopické válečkovité útvary. O odhalení jejich nanostruktury se léta pokoušely vědecké týmy z celého světa. Neuspěly, protože všechny dostupné metody vyžadovaly drastické ošetření chemikáliemi, sušení, pokovování či mrazení a následnou sublimaci ledu. A protože povrchová vrstva chromozomu je extrémně citlivá, byla při takovém zkoumání buď poškozena, nebo zcela odstraněna.

„Teprve nově vyvinutá metoda A-ESEM odhalila, že povrch kondenzovaných chromozomů je posetý četnými výběžky, smyčkami chromatinových vláken o průměrné velikosti kolem 30 nm. Takové prostorové uspořádání povrchu chromozomů nebylo dosud pozorováno. Navíc je velmi pravděpodobné, že se nám podařilo zobrazit i nepatrné, jen 12 nm velké nukleozomy, na kterých je jako na cívky navinuta molekula DNA,“ doplňuje rostlinný genetik Jaroslav Doležel, vedoucí olomouckého týmu Ústavu experimentální botaniky AV ČR.

Získané výsledky přispívají k pochopení molekulární struktury mikroskopických útvarů – chromozomů –, které přenášejí dědičnou informaci z rodičů na potomstvo. Zatímco u člověka jsou jejich poruchy příčinou dědičných chorob, u zemědělských plodin vedou ke snížené plodnosti a výnosu. Odhalení povrchové struktury chromozomů poskytuje nový pohled na strukturu dědičného aparátu, umožní identifikaci poruch v jeho uspořádání a přispěje k vývoji syntetických organismů s uměle vytvořenou dědičnou informací.

Dosažitelné rozlišení A-ESEM je při podmínkách studia chromozomů srovnatelné s rozlišením klasického „vakuového“ rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM), což může mít podle Viléma Neděly zcela zásadní vliv na vývoj světového trhu s elektronovými mikroskopy. *„Možnost spojení A-ESEM s dalšími zobrazovacími technikami, včetně světelné mikroskopie, umožní vědcům zobrazování a funkční analýzu nejen chromozomů, ale i dalších biologických objektů v přirozeném stavu. Jaké praktické dopady bude případné široké nasazení nové metody A-ESEM mít, v tuto chvíli není možné ani odhadnout. V Ústavu přístrojové techniky Akademie věd ČR jsme každopádně přesvědčení, že jde o jeden z nejdůležitějších objevů, které byly učiněny na půdě naší instituce, a revolučním krokem vpřed pro elektronovou mikroskopii jako takovou,“* uzavírá Vilém Neděla.

Výsledky mnohaletého výzkumu brněnských a olomouckých vědců publikoval časopis *Scientific Reports*, který je součástí nakladatelství vydávajícího jeden ze světově nejprestižnějších vědeckých časopisů *Nature*.

<http://gacr.cz/revolucni-metoda-ceskych-vedcu-odhalila-strukturu-chromozomu>