

Vědci z Brna odhalili strukturu nejzářivějšího enzymu. Umí jej rozsvítit ještě intenzivněji a vpravit do lidské buňky

25.1.2024 - | Fakultní nemocnice u sv. Anny

Krevetí luciferáza je tou nejzářivější. A teď už víme, jak funguje

Odhalit podstatu tohoto enzymu se desítky let pokoušeli vědci po celém světě, podařilo se to ale až teprve nedávno výzkumníkům z Brna. Jednu z nejmenších, ale zároveň nejzářivějších enzymových celebrit, tzv. nanoluciferázu, izolovali z hlubokomořské krevety *Oplophorus gracilirostris*.

Když dravá ryba dostane na tuto krevetu chuť, ona jako obranný mechanismus vystříkne do svého okolí vysoce viskózní sekret, který se záhy promění v ohromující světelnou show. Zatímco je predátor zaskočený tímto podvodním ohňostrojem, kreveta získává cenný čas, aby se zachránila.

Díky své skutečně malé velikosti se enzym nanoluciferáza těší velké oblibě, a vědci a inženýři po celém světě jí používají pro neinvazivní zobrazování nejrůznějších biologických dějů. V posledních letech se luciferázy začínají též uplatňovat ve fotodynamické terapii nádorových onemocnění.

„Nicméně i přes velkou oblibu nanoluciferázy doposud nebyl znám molekulární princip, jak tato nejzářivější luciferáza produkuje světlo,“ vysvětluje vedoucí výzkumného týmu Martin Marek z Loschmidtových laboratoří Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity a Mezinárodního centra klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity.

Díky modifikaci může enzym svítit ještě intenzivněji

„V laboratoři se nám podařilo biochemicky připravit nanoluciferázu v komplexu s luciferinovými molekulami a odhalit atomární struktury těchto makromolekulárních komplexů. Tak jsme vizualizovali klíčové kroky nanoluciferázové reakce, a pochopili tak její reakční mechanismus na molekulární úrovni, tedy podstatu toho, jak nanoluciferáza svítí. A díky tomu jsme pak mohli v molekule nanoluciferázy provést strukturní změny, které vedly k jejímu katalytickému vylepšení,“ dodávají členové výzkumného týmu Jana Horáčková a Daniel Pluskal. Tento maličký enzym tak díky brněnským vědcům dokáže svítit ještě intenzivněji. Výzkum tým publikoval v časopise *Nature Communications*.

Svítilí lidské buňky: Posun ve výzkumu nádorů i nových léků

Na to, jak efektivitu upravené luciferázy změřit a vyhodnotit, přišel Tomáš Bárta, vedoucí výzkumné skupiny Stem Cell Biology and Vision Research na Lékařské fakultě Masarykovy univerzity. „Ve spolupráci s Martinem Markem jsme získali sekvenci modifikovaného genu pro nanoluciferázu, tuto sekvenci jsme začlenili do lidských buněk. Pomocí námi vyvinutého přístroje jsme podrobně zkoumali aktivitu této upravené luciferázy. A výsledky nám ukázaly, že modifikovaná forma je mnohem aktivnější,“ vysvětluje Bárta.

Objev je významným milníkem. Otevírá nové možnosti využití v širokém spektru aplikací, od základního výzkumu po praktické aplikace. Získané poznatky přispějí k lepšímu porozumění mechanismů bioluminiscence a mají potenciál pro vývoj citlivějších bioluminiscenčních reporterů. Obrovským krokem posune dopředu další výzkum lidských buněk, testování nových léčiv, nové poznatky najdou uplatnění i v nádorové biologii nebo při studiu exprese genů.

„Genetické modifikace jsme mezi sebou porovnávali, hledali tu, která nejefektivněji přemění luciferin na světlo, tedy bude produkovat nejvíce světla z daného množství substrátu,“ doplňuje.

Využití nanoluciferázy je však mnohem širší. „Nanoluciferáza se využívá třeba i při neinvazivním monitorování jednotlivých buněk či virů. Díky ní můžeme vidět, jak se v organismu šíří metastázující buňky nebo jak jím prostupuje virová infekce. Biologické procesy tak můžeme monitorovat v čase i prostoru,“ doplňuje Marek.

Levné a dostupné řešení i pro zbytek vědeckého světa

A jak aktivitu luciferinu v buňce změřit, si výzkumníci nenechávají pro sebe. Výzkumný tým Tomáše Bárty představil open-source platformu pro konstrukci univerzálního, levného, lehkého a přenosného luminometru – LuminoCell, který lze vytisknout pomocí 3D tiskárny.

LuminoCell je schopen současně měřit signál luciferázy v šesti Petriho miskách. A proces to není vůbec drahý. Odhadované náklady na sestavení LuminoCell jsou přibližně 40 amerických dolarů, tedy něco přes osm set korun. „Jeho sestavení zabere zhruba hodinu času,“ doplňuje Bárta. Lze jej využít v různých typech inkubátorů pro kultivaci buněk. Je schopný provádět citlivé detekce v reálném čase.

<https://www.fnusa.cz/vedci-z-brna-odhalili-strukturu-nejzarivejsiho-enzymu-umi-jej-rozsvitit-jeste-intenzivneji-a-vpravit-do-lidske-bunky>