
Sledovat interakci v krevním séru je jako sedět v kotli na stadionu

Sledovat interakci molekul v krevním séru je jako sedět v kotli na stadionu

„Fascinuje mě ta šíře oblastí, do níž nám biosenzory umožňují nahlédnout. Dokážeme jejich prostřednictvím detekovat molekuly související se vznikem a rozvojem nemocí, toxiny ze sinic, bakterie ve vzorcích jídla a podobně,“ říká letošní laureátka Bolzanovy ceny **Markéta Bocková**, která se svými kolegy právě vyvíjí novou generaci optických biosenzorů s povrchovými plazmony, které umožní studium molekulárních interakcí v komplexních roztocích.

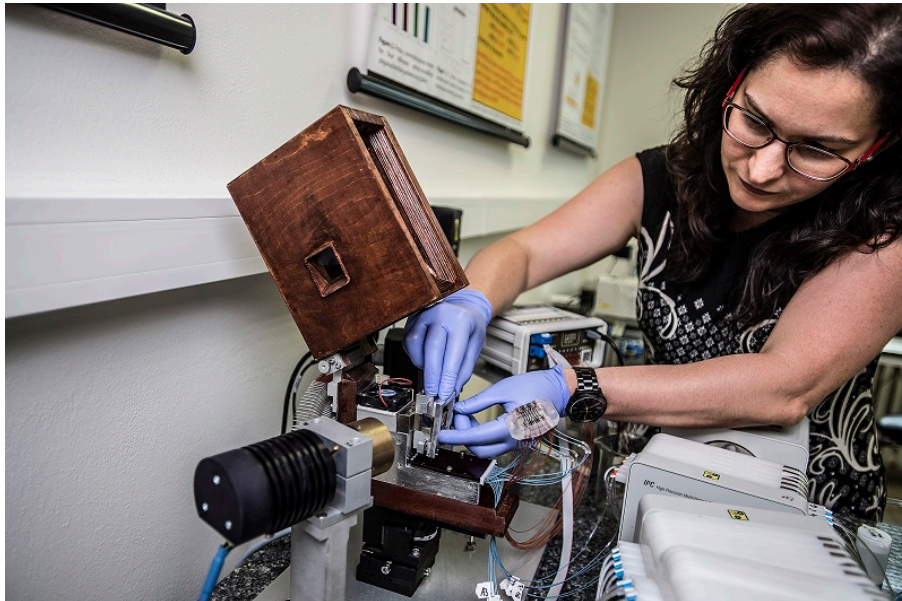


Co vlastně jsou optické biosenzory s povrchovými plazmony?

Jedná se o jednu z nejrozvinutějších optických metod pro přímou detekci chemických a biologických látek a pozorování interakcí biomolekul v reálném čase. Povrchový plazmon je speciální elektromagnetická vlna, podobně jako světlo, která vzniká na povrchu tenkých kovových vrstev nebo částic. V našich biosenzorech využíváme povrchové plazmony buzené na rozhraní čipu se zlatou vrstvičkou a kapalného vzorku, který chceme zkoumat. Na čipu jsou ukotveny speciální molekuly – receptory. Ty fungují jako „pasti“ schopné rozpoznat a zachytit látku, kterou potřebujeme detekovat nebo sledovat její interakci. Jakmile se molekula na této „pasti“ zachytí, změní se na povrchu kovové vrstvy index lomu (prostředí se zahustí), což vede ke změně rychlosti povrchového plazmonu. A tuto změnu rychlosti my dokážeme velmi přesně měřit. To dává našim biosenzorům unikátní citlivost a umožňuje nám to detekovat extrémně nízké koncentrace hledané látky.

Hledáte vždy jednu konkrétní molekulu?

My tu konkrétní molekulu nevidíme přímo, ale zprostředkovaně podle toho, jak se mění vlastnosti povrchového plazmonu. Změna rychlosti i její průběh závisí na tom, jaký typ molekuly a v jakém množství je ve vzorku, jaká je interakce mezi molekulou a receptorem na povrchu a na spoustě dalších parametrů. Receptory jsou velmi selektivní, ale zároveň pro různé látky existují různé receptory. Proto umíme vyvinout jak biosenzor pro velmi citlivou detekci jedné konkrétní látky tak biosenzor, který kombinuje různé receptory a detekuje desítky látek současně.



V čem je tato metoda výjimečná?

Kromě vysoké citlivosti především svou univerzálností. Díky velkému množství typů receptorů jsme schopni detekovat velmi širokou škálu molekul – od toxinů přes nukleové kyseliny a proteiny až po bakterie či buňky. S tím souvisí využití našich biosenzorů v mnoha různých oblastech jako lékařská diagnostika, kontrola kvality potravin nebo monitorování životního prostředí.

Ale musíte vědět, co hledáte.

Ano, většinou ano. V medicínských aplikacích se zaměřujeme především na tzv. biomarkery – molekuly, které charakterizují určitý biologický stav a změna jejich koncentrace nebo vlastností může souviset s patologickým procesem nebo být reakcí na terapeutický zásah. Nejčastěji jako receptory využíváme protilátky nebo nukleové kyseliny, které interagují se svým protějškem na principu „zámek a klíč“ a komplementarity bází. Díky tomu specificky vycytávají jen hledané molekuly.

Neruší vás ty ostatní molekuly, které vidět nechcete?

Samozřejmě. Je to jedna z největších výzev při vývoji biosenzorů. Zejména v reálných vzorcích (*např. krevní plazma nebo sérum pacientů, pozn. redakce*) je řada molekul, které nás nezajímají, ale je jich ve vzorku i o několik koncentračních řádů více než „našeho“ biomarkeru. Tyto molekuly se mohou nespecificky adsorbovat na povrch čipu, kde generují falešně pozitivní signál, a mohou tím přehlušit specifický signál biomarkeru. Studujete-li interakci molekul v jednoduchém roztoku, je to podobné, jako když si spolu povídáme takto v klidu v ústraní a dobře si rozumíme. Pokud chceme tu samou interakci pozorovat v reálném komplexním roztoku, například krevním séru, je to jako bychom se snažily povídat si v kotli fotbalového stadionu.



Daří se vám to?

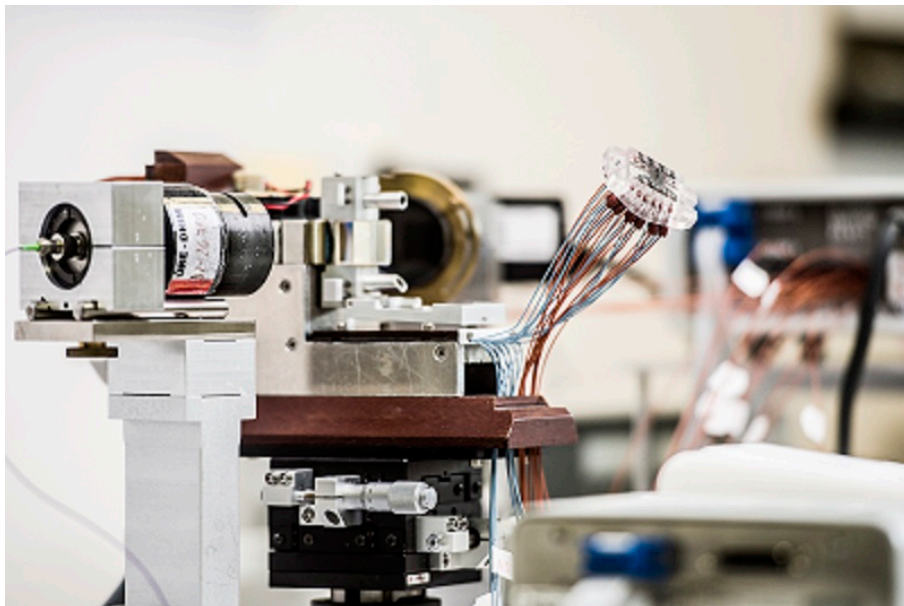
Ve spolupráci s kolegy z Ústavu hematologie a krevní transfuze jsme vyvinuli čip, který má na svém povrchu proteinové receptory, které souvisí s melodysplastickým syndromem (*onemocnění krve tvorby, pozn. red.*) a jejichž koncentrace v krvi se v průběhu tohoto onemocnění mění. V tomto případě sledujeme interakci proteinových receptorů se vzorkem krevní plazmy pacienta jako s celkem, necílíme na jednu molekulu a konkrétní interakci, ale zajímá nás, zda se profil interakcí mění podle stádia onemocnění. Melodysplastický syndrom se až ve třiceti procentech případů může přehoupnout do akutní myeloidní leukemie, ale dosud se přesně neví, kdy a proč se tak děje. Náš výzkum tak snad přispěje k pochopení vzniku tohoto velmi vážného onemocnění.

Díky tomu, že spolupracujete s lékaři a pracujete se vzorky pacientů, má vaše činnost jasný přesah do praxe.

To je právě to, co mě na tom nejvíce baví, a proto se využití biosenzorů s povrchovými plazmony v medicíně věnuji už od magisterského studia. Kromě myelodysplastického syndromu se na našem pracovišti věnujeme i dalším onkologickým onemocněním nebo Alzheimerově chorobě. Fascinuje mě ta šíře oblastí, do níž nám biosenzory umožňují nahlédnout. Dokážeme jejich prostřednictvím detekovat molekuly související se vznikem a rozvojem nemocí, toxiny ze sinic, bakterie ve vzorcích jídla a podobně.

Jak se dnešní přístroje liší od těch, s nimiž jste začínala?

Nyní pracujeme již s jejich několikátou generací. Ty první nebyly tak citlivé a robustní a neměly tolik funkcí. Naší velkou výhodou je, že si dokážeme nejen čipy, ale i samotné přístroje vyrobit sami. Máme zde i komerční přístroj, ale my vědci s ním pracujeme neradi. Když se něco během experimentu pokazí, je to pro nás taková černá skříňka. Naopak, pokud pozorujeme zvláštní chování během experimentu v námi sestavených zařízeních, máme mnohem větší šanci problém odhalit. Náš výzkum biosenzorů je ale mnohem širší. Kromě instrumentace zahrnuje i výzkum plasmonických jevů, které naše biosenzory využívají, vyvoj speciálních funkčních vrstev, které rozpoznávají vybrané molekuly a chrání povrch biosenzoru před nespecifickou adsorpcí, a aplikace biosenzorů pro detekci biomolekul a studium biomolekulárních interakcí.



Trávíte v laboratoři hodně času?

Ano, ale stejně důležitá je práce mimo laboratoř, kdy analyzuji výsledky a plánuji další úkoly. Pracujeme v týmu, takže řadu experimentů provádí kolegové.

Jak moc je vaše práce časově náročná?

Věda se nedělá od osmi do půl páté, ale tak, jak to vyžaduje experiment. Jeden možná trochu extrémní případ byl, když jsme studovali interakci enzymu, který pro nás připravili kolegové z Biotechnologického ústavu. Věděli jsme, že asi do čtrnácti hodin od přípravy enzym začne ztrácet svoji aktivitu a umírá. Proto jsme uspořádali několikadenní „měřící“ maraton, v jehož průběhu jsme udělali velkou sadu experimentů. Biosenzory jely nonstop, pracovali jsme na směny i v noci. Kolegové, kteří bydlí daleko, měli zajištěný pokoj na ústavní ubytovně. Bylo to celkově logisticky náročné. Spoustu času jsme věnovali i přípravě, aby všechno bylo perfektní a v daný čas bezproblémově fungovalo. Bylo to hektické, ale také úžasná výzva.

RNDr. Markéta Bocková, Ph.D.

Absolvovala magisterské studium na [katedře biochemie PŘF UK](#), doktorské pak na MFF UK – program biofyzika a chemická a makromolekulární fyzika. Za svou disertační práci věnovanou biosenzorům získala v červnu Bolzanovu cenu. Nyní působí jako postdoktorandka ve výzkumném týmu Optické biosenzory v [Ústavu fotoniky a elektroniky AV ČR, v. v.](#)