

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Especial Premio Nobel de Química 2014: el nanoscopio

Cristina Flors
IMDEA Nanociencia

Biografía

Después de licenciarme en Química, me doctoré en el Institut Químic de Sarrià (Barcelona) en 2004 bajo la supervisión del Prof. Santi Nonell. Durante ese periodo, estudié procesos de fotosensibilización de oxígeno singlete en contexto biológico utilizando diferentes técnicas espectroscópicas. En mi etapa postdoctoral (2005-2008) trabajé en el laboratorio del Prof. Johan Hofkens en Leuven (Bélgica), donde aprendí microscopía de fluorescencia de moléculas individuales y microscopía de súper-resolución. En 2008 me trasladé al Dpto. de Química de la Universidad de Edimburgo (Escocia) para empezar mi etapa independiente. Inicié un nuevo programa de investigación con el objetivo de desarrollar métodos de microscopía de súper-resolución de ADN. Desde febrero de 2012 soy investigadora en IMDEA Nanociencia, donde continúo trabajando en el desarrollo de técnicas de súper-resolución y su aplicación en Biología. Otra línea de investigación paralela es el diseño y caracterización de proteínas fluorescentes como generadoras de especies reactivas de oxígeno genéticamente codificables, y su uso en terapia fotodinámica y microscopía avanzada.

Resumen

El Premio Nobel de Química 2014 ha sido otorgado conjuntamente a Eric Betzig, Stefan Hell y William E. Moerner por el desarrollo de la "microscopía de súper-resolución", también llamada "nanoscopía". El nanoscopio mejora un orden de magnitud la resolución espacial del microscopio de fluorescencia, y permite por primera vez observar estructuras y procesos dinámicos en células vivas a escala nanométrica.

Summary

The Nobel Prize in Chemistry 2014 was awarded jointly to Eric Betzig, Stefan Hell and William E. Moerner for the development of "super - resolution microscopy", also called "nanoscopy". The nanoscope improves an order of magnitude the spatial resolution of fluorescence microscopes, and allows for the first time to observe structures and dynamic processes in living cells at nanoscale.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Hace más de un siglo, el científico Ernst Abbe estableció que la difracción de la luz limita la calidad de las imágenes que pueden obtenerse a través de un microscopio óptico. La difracción hace que los pequeños detalles de la imagen aparezcan borrosos, es decir, que no se puedan resolver. Abbe puso un valor concreto a este "límite de difracción" formulando una ecuación que nos dice que no se pueden discernir detalles más pequeños que 0.2 micras. Cualquier usuario de un microscopio óptico convencional, por ejemplo un microscopio de fluorescencia, ha tenido que convivir con esa limitación durante años. En la práctica, el límite de difracción implica la imposibilidad de observar con claridad lo que ocurre dentro de una bacteria, o en los compartimentos y orgánulos de una célula. Aunque hay otras modalidades de microscopía, como la electrónica, que sí pueden resolver detalles más pequeños, sólo la microscopía óptica permite observar el interior de células vivas.

El límite de difracción sigue siendo una realidad, pero los galardonados de este año consiguieron sortearlo utilizando una serie de ingeniosos trucos, y así nació la nanoscopía. La solución vino de la Química: las moléculas fluorescentes que se usan para marcar las estructuras de interés pasaron a tener un papel protagonista, y se convirtieron en parte activa a la hora de formar la imagen en el microscopio. Stefan Hell, del Instituto Max Planck de Química Biofísica en Göttingen, desarrolló la microscopía STED (*stimulated emission depletion*). Esta técnica consiste en confinar la fluorescencia a un punto más pequeño que el límite de difracción usando el fenómeno de emisión estimulada. Un primer láser excita las moléculas de una muestra para que emitan fluorescencia. Un segundo láser en forma de "donut" apaga las moléculas periféricas mediante emisión estimulada, confinando la fluorescencia a una zona nanométrica en el centro del "donut". Con estos dos láseres combinados se barre la muestra para formar la imagen. Hell propuso el concepto de STED en 1994, y consiguió demostrarlo experimentalmente en 2000 [1]. Sólo siete años más tarde, se vendía el primer nanoscopio comercial.

Otra variante de microscopía de súper-resolución está basada en la detección de moléculas individuales cuya fluorescencia se puede encender y apagar. Moerner, que ahora trabaja en la Universidad de Stanford, sentó las

SEBBM
 SEBBM

Sociedad Española
 de Bioquímica y
 Biología Molecular

bases de esta modalidad, ya que en 1989 fue capaz de detectar por primera vez una molécula individual [2]. Además, en 1997 observó que algunas proteínas fluorescentes (que ya fueron objeto del Nobel de Química en 2008) se encendían y apagaban al irradiar con luz de diferentes colores [3]. Fue Eric Betzig quien conectó de manera brillante estos dos descubrimientos para desarrollar la técnica de súper-resolución llamada PALM (*photoactivated localization microscopy*) [4]. En PALM, los fluoróforos de una muestra se encienden y se apagan para que puedan detectarse y localizarse por separado a diferentes tiempos en la misma zona de una muestra. Con la suma de las posiciones de estas moléculas se construye un mapa de coordenadas con precisión nanométrica. Betzig, que trabaja ahora en el Instituto Médico Howard Hughes (EEUU), desarrolló este concepto desde el desempleo. Había pasado siete años alejado de la ciencia para trabajar en la empresa de su padre y quería volver al mundo académico con una idea ganadora. Montó un prototipo de PALM en el salón de la casa de un amigo suyo también científico, comprando componentes con sus propios ahorros. Sin duda, le salió bien la jugada.

Aunque han pasado pocos años desde la invención de las diferentes modalidades de microscopía de súper-resolución, encontramos innumerables estructuras y procesos biológicos que se han revelado por primera vez. Por ejemplo, se ha visualizado que el esqueleto de los axones, que son prolongaciones de las neuronas cuya función principal es la de canalizar los impulsos nerviosos, tiene una estructura sorprendente compuesta por unos

anillos de actina con un espaciamiento periódico de 180 nm, justo por debajo del límite de difracción (Figura 1) [5,6]. Esta estructura, similar al tubo de una aspiradora micrométrica, es tan insólita que su hallazgo obliga a revisar las teorías actuales sobre comunicación entre neuronas.

Una reflexión que se ha hecho a propósito de la concesión de este premio Nobel de Química (y también el de Física al LED azul) es que se ha premiado la investigación aplicada. Pero la “aplicabilidad” de la microscopía de súper-resolución, que es inmensa, no debe hacernos olvidar que las piedras angulares de estas técnicas son hallazgos fundamentales y relativamente recientes que se hicieron por pura curiosidad e inconformismo ante barreras supuestamente infranqueables. Una de las razones del gran éxito de estas técnicas ha sido la colaboración entre científicos y fabricantes de microscopios para construir versiones comerciales de los distintos nanoscopios. Esto ha propiciado su rápida implantación en numerosos laboratorios no especializados en microscopía, incluidos aquellos que investigan las bases moleculares de todo tipo de enfermedades. Otro ejemplo más que sirve para reivindicar que la curiosidad puede tener un gran impacto económico y social.

Referencias

- [1] T.A. Klar, S. Jakobs, M. Dyba, A. Egner, S.W. Hell (2000), Proc. Natl. Acad. Sci. 87, 8206.
- [2] W.E. Moerner, L. Kador (1989) Phys. Rev. Lett. 62, 2535.
- [3] R.M. Dickson, A.B. Cubitt, R.Y. Tsien, W.E. Moerner (1997) Nature 388, 355.
- [4] E. Betzig et al, Science (2006) 313, 1642.
- [5] K. Xu, G. Zhong, X. Zhuang, Science (2013) 339, 452.
- [6] G. Lukinavičius et al, Nat. Methods (2014) 11, 731.

Figura. Estructura periódica de actina en axones de neuronas vivas registrada con microscopía de súper-resolución STED (adaptado con permiso de Maxmillan Publishers Ltd: Nature Methods [6], copyright 2014).

