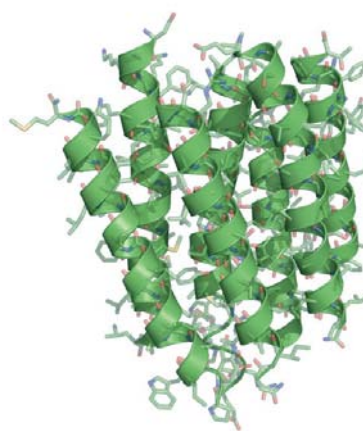
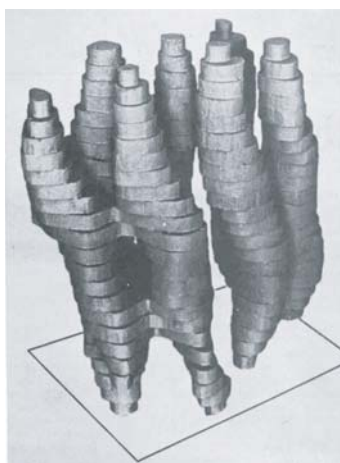


# SPOT PÅ LIVETS MOLEKYLER

Et elektronmikroskop er som udgangspunkt ikke velegnet til at undersøge biologiske molekyler som proteiner. Men det har årets tre nobelpristagere i kemi lavet om på.



Til venstre ses den første 3D-model af proteinet bacteriorhodopsin, som Richard Henderson publicerede i *Nature* i 1975. I 1990 publicerede han en struktur i atomar opløsning af samme protein (th).

**S**mag på ordet cryo-elektronmikroskopi. Det lyder måske nørdet, men det er en Nobelpris værd. Kort fortalt kan man med denne teknik skabe tredimensionelle billeder af biologiske molekyler med atomar opløsning. Og evnen til at kunne gøre det har haft så stor videnskabelig betydning, at tre hovedmænd bag udviklingen af teknikken, Jacques Dubochet, Joachim Frank og Richard Henderson, i år har modtaget Nobelprisen i kemi for deres indsats.

Et grundvilkår for al mikroskopi er, at man ikke kan se noget, der er mindre end bølglængden af det lys, man undersøger sin prøve med. Derfor kan almindelige lysmikroskoper ikke "se" objekter mindre end 400-700 nanometer. For at se mindre strukturer kan man i stedet bruge røntgenstråling. Men

hvis man undersøger biologiske molekyler som proteiner, er det en udfordring, at de bliver ødelagt af strålingen. Det problem kan løses, hvis man kan få proteinerne til at danne krystaller. Og det er baggrunden for teknikken røntgenkrystallografi, som har været brugt til at afsløre strukturen af mange biologiske molekyler – blandt andet DNA, store proteiner og viruspartikler. I starten af 1980'erne kom endnu en teknik til, nemlig nuklearmagnetisk resonans spektroskopi (NMR). Med denne teknik kan man studere mindre biologiske molekyler i både fast form og i opløsning og også tilgå dynamiske strukturer og deres vekselvirkning med andre molekyler.

De to metoder har været meget succesfulde, men som alle metoder har de også begrænsninger. Undersøger man biologiske molekyler i opløsning med NMR, virker meto-

den kun godt for relativt små proteiner, og der kræves store mængder i høj koncentration. Og som nævnt kræver røntgenkrystallografi, at biomolekylerne "fastfryses" i en krystalstruktur. Det giver dermed kun information om denne statiske tilstand og lokal dynamik, mens overordnet dynamik kun kan afdækkes gennem mange individuelle krystalstrukturer, der repræsenterer forskellige tilstande. Mange biomolekyler kan slet ikke bringes til at danne krystaller og kan derfor ikke undersøges med røntgenkrystallografi.

## Gennembrud for elektronmikroskopi

I 1970'erne kastede Richard Henderson sin interesse på elektronmikroskopi som en alternativ teknik til at undersøge de membranproteiner, han var interesseret i. Et transmissions-elektronmikroskop virker i

princippet som et lysmikroskop, men i stedet for synligt lys, er det en elektronstråle, der sendes gennem prøven. For at opnå billeder med atomar opløsning skal elektronstrålen dog være så intens, at den brænder prøven af. Desuden kræver et elektronmikroskop, at prøven befinder sig i vakuum, hvilket lynhurtigt udtørre det biologiske materiale, så det kollapser og mister sin struktur.

Henderson arbejdede med proteinet bacteriorhodopsin, som er et lilla-farvet protein, der sidder indlejret i cellemembranen og fanger energien fra Solens stråler hos organismer, der udfører en simpel form for fotosyntese. Det er faktisk disse proteiner, der giver saltsøer deres farverige udseende, da det blandt andet er saltelskende bakterier, der har disse proteiner i cellemembranen. Ved at undlade at isolere proteinet, men i stedet lade det blive siddende i membranen og dække hele molevitten med en opløsning af glukose for at beskytte mod vakuum, lykkedes det Henderson og kolleger at undersøge proteinet i et elektronmikroskop. I 1975 kunne forskerne præsentere en grov 3D-model af bacteriorhodopsins struktur, og i 1990 havde de forfinet teknikken i en grad, så strukturen nu var i atomar opløsning.

Proteinet bacteriorhodopsin udmærker sig ved naturligt at pakke tæt som velordnede, 2-dimensionelle krystaller i bakteriemembranen, hvilket var en stor hjælp for forskerne i forhold til at afsløre dets struktur. Et godt spørgsmål var derfor, om det var muligt at generalisere metoden, så man også kunne skabe 3D-afbildninger af proteiner, som var mere tilfældigt spredt i prøven og orienteret i forskellige retninger.

### Billedbehandling og vand på glasform

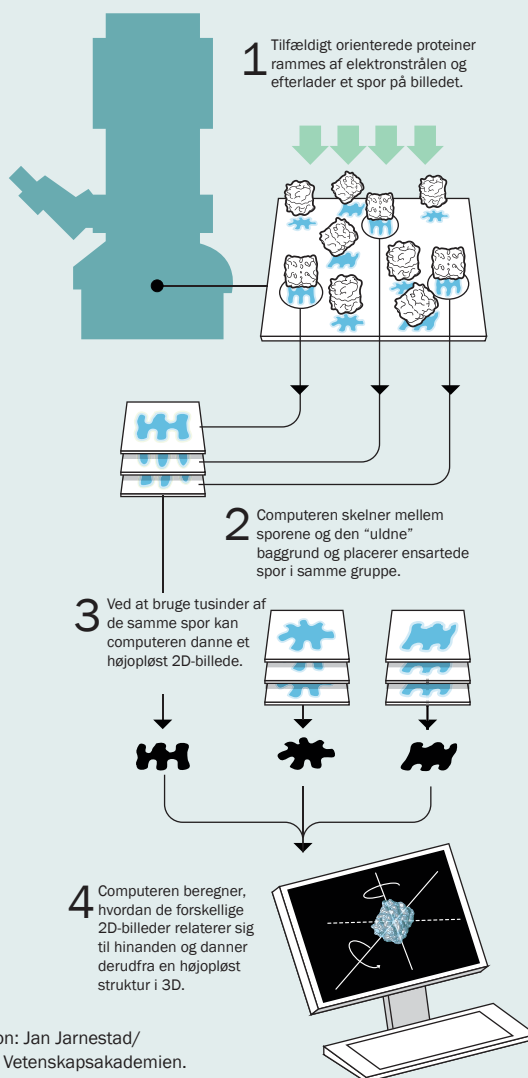
Den udfordring kom den anden af årets Nobelpristagere, Joachim Frank, med en løsning på. Hans bidrag til historien er udviklingen af en metode, som kunne samle informationen fra en masse billeder



### Pristagerne

Jacques Dubochet (th) er fra Schweiz og er i dag æresprofessor ved universitetet i Lausanne. Joachim Frank (tv) er tysker og i dag professor ved Columbia University, USA. Richard Henderson (midt) er skotte og i dag programleder ved MRC Laboratory of Molecular Medicine, Cambridge, England.

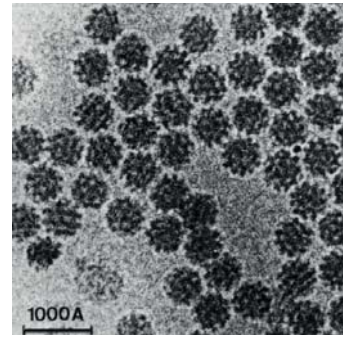
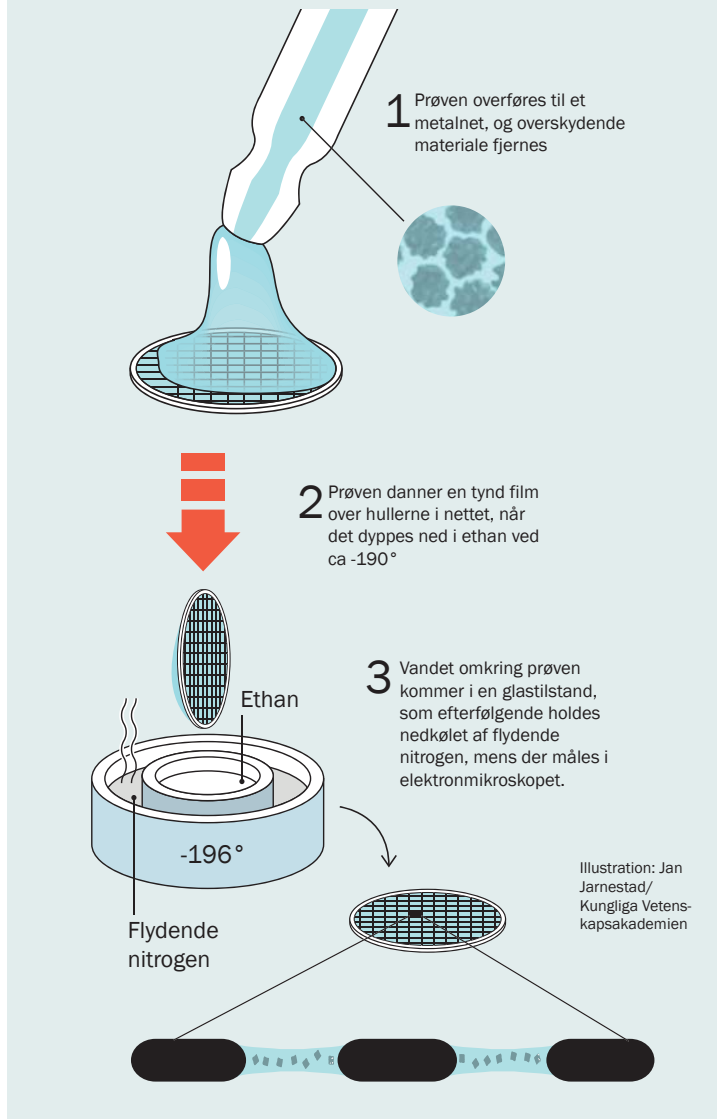
### Princippet i Joachim Franks metode til billedanalyse



af enkelt-partikler af biomolekyler som 2D-projektioner i alle mulige orienteringer til at genskabe en 3D-rekonstruktion af partiklen. I midten af 1980'erne publicerede

Frank centrale applikationer af denne metode til billedanalyse og brugte den i 1990'erne til at lave de første modeller af den overordnede form af ribosomet – en kæmpestor

## Jacques Dubochets "vitrifikations-metode"



Dubochet genererede de første billeder af vira omgivet af vitrificeret vand i 1984. Billede fra Nature 308: 32-36.

At bringe vanddråber på glasform var i sig selv en bedrift, som mange forskere dengang troede umuligt. Efter dette gennembrud i 1982 udviklede Dubochet og kolleger hurtigt fundamentet for den teknik, der i dag stadig bruges til at forberede prøver til cryo-elektronmikroskopi- eller cryo-EM, som det blot kaldes.

### Cryo-EM i Danmark

Siden de tre nobelpristagere udviklede de tre afgørende brikker til cryo-EM, er teknikken til stadighed blevet forfinet. I dag anvendes cryo-EM vidt omkring, da teknikken har en række fordele. Dubochets vitrifikations-metode (som den kaldes) er relativt nem at bruge og kræver kun meget små prøvestørrelser. På grund af den hurtige nedkølingsproces kan biomolekylerne stivne midt i deres aktivitet, og forskere kan derfor tage billedserier, som fanger forskellige dele af en proces og viser, hvordan proteiner bevæger sig og vekselvirker med andre molekyler.

En praktisk udfordring er, at elektronmikroskoper er store, komplicerede og dyre apparaturer, som de enkelte forskningsgrupper, universiteter og virksomheder har svært ved at finansiere driften af. Lige som for mange andre typer storskala-anlæg til naturvidenskabelig forskning som partikelacceleratorer og synkrotroner ser man derfor i stigende grad, at cryo-EM organiseres som faciliteter, der kan understøtte mange brugere på nationalt eller internationalt plan. Det kan også blive tilfældet i Danmark,

samling af molekyler, der populært sagt fungerer som cellens proteinfabrik. Disse studier har siden kunnet drives til høj opløsning i mange forskellige laboratorier og har givet direkte information om atomare strukturer af ribosomer i forskellige funktionelle tilstande. Samme metode anvendes i dag på alle større biomolekyler.

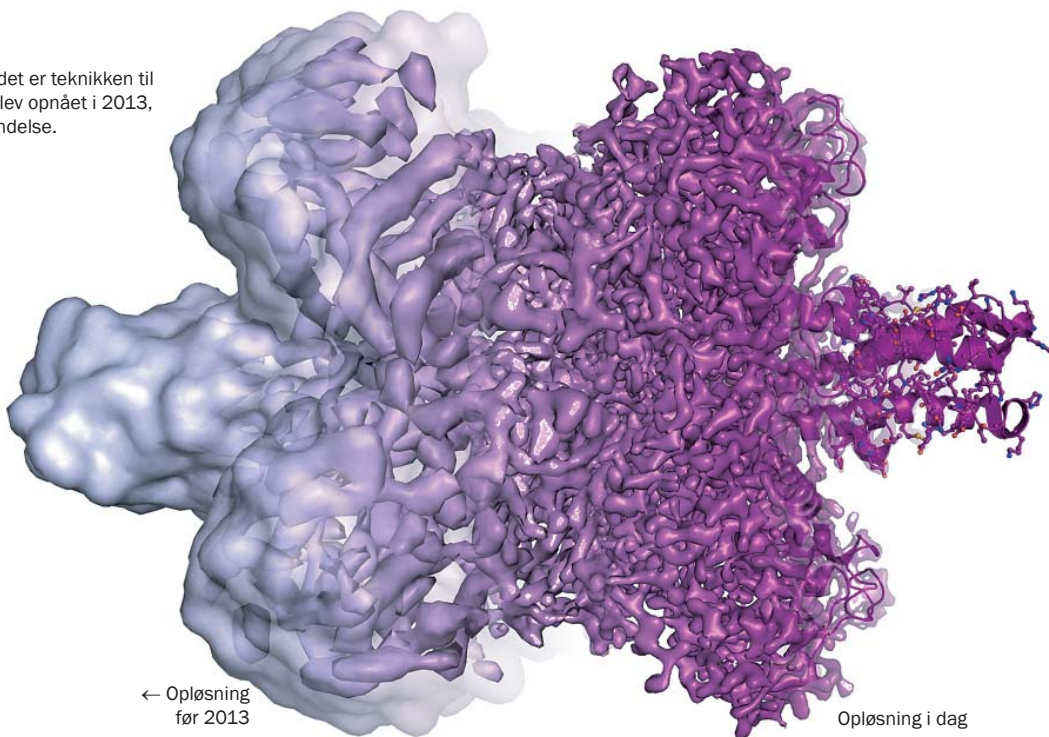
At Frank lykkedes med sit forehavende skyldtes blandt andet, at den tredje nobelpristager, Jacques Dubochet, forinden havde fundet en generel løsning på den udfordring, at biologiske molekyler tørrer ud i vakuum. Henderson havde løst problemet ved at beskytte

prøven af cellemembraner med en glukoseopløsning – men den fremgangsmåde dur ikke for vandopløselige biomolekyler. Andre forskere havde forsøgt sig med nedfrysning af prøven, men de dannede iskrystaller spredte elektronstrålen i en grad, så billederne blev ubrugelige. Dubochets løsning blev at fryse prøven som tynd film i flydende ethan, hvilket sker så hurtigt, at vandet bliver fanget i en glastilstand i stedet for som iskrystaller. Fordelen ved det er, at i glastilstanden er vandmolekylerne uordnede ligesom i flydende vand, og det vil derfor sprede elektronstrålen jævnt og relativt svagt og skabe en ensartet baggrund.

Siden cryo-elektronmikroskopi blev opfundet er teknikken til stadighed blevet bedre. Et stort fremskridt blev opnået i 2013, hvor en ny type elektrondetektor kom i anvendelse. Billede: Martin Högbom.



Sådan ser et moderne cryo-elektronmikroskop ud. På billedet ses det instrument, som er installeret på Aarhus Universitet. Foto: Lisbeth Heilesen.



hvor Københavns Universitet og Aarhus Universitet har indgået et tæt samarbejde omkring cryo-EM. Centralt for dette samarbejde er der installeret to topklasse mikroskoper på AU og KU med støtte fra private fonde til førende forskningsgrupper

i strukturbologi. Dette samarbejde stiller også mod at danne en national forskningsinfrastruktur, så cryo-EM-revolutionen kan udbredes generelt til de danske forskningsmiljøer og vidensbaserede innovationsmiljøer og industrier. ■

#### Videre læsning

Artiklen er baseret på den populærvidenskabelige artikel *They captured life in atomic detail*, publiceret på Nobelprisen hjemmeside. [www.nobelprize.org](http://www.nobelprize.org) Professor Poul Nissen, Aarhus Universitet, har venligst bidraget med kommentarer og perspektiver.

## FALDSKÆRM I FART PÅ ALSION

Vi inviterer alle fysikhold i det almene gymnasium og htx til Faldskærm i fart-konkurrencen på AlSION i Sønderborg torsdag den 7. december 2017 kl. 10-14.

Faldskærm i fart på SDU Sønderborg er en konkurrence for gymnasier, hvor fysikklasser på alle niveauer er inviteret til at dyste med deres egne selvbyggede faldskærme i de to konkurrencediscipliner Premium Class Award og Innovation Award.

Tilmeldte klasser får tilsendt et Faldskærm i fart-kit med undervisningsmateriale, der kan anvendes i forberedelsen til konkurrencen, samt materialer og udstyr, der egner sig til at konstruere små faldskærme af.

På konkurrencedagen sendes faldskærmene ud i frit fald på 12,5 meter inde i universitetsbygningen AlSION. Der er flotte præmier til vinderne af de to konkurrencediscipliner.

**Tilmeldingsfrist er onsdag den 15. november.**

Mere information og tilmelding finder du her:  
[www.sdu.dk/faldskaermskonkurrence](http://www.sdu.dk/faldskaermskonkurrence)

