

Microscopia crioelettronica: Premio Nobel per la Chimica 2017

✍ S. Croci 📅 30-11-2017 ↗ <http://www.primapagina.sif.it/article/692>

Il Premio Nobel per la Chimica 2017 è stato assegnato a Jacques Dubochet, Joachim Frank e Richard Henderson *"per aver sviluppato la microscopia crioelettronica per determinare in alta definizione le strutture delle biomolecole in soluzione"*.

Circa 3000 sono i lavori pubblicati dal 1990 a oggi se si cerca "cryo-electron microscopy", quasi tutti divisi tra i settori di biochimica, biologia cellulare e biofisica con una vera crescita esponenziale. Tuttavia solo recentemente è stato possibile determinare la struttura di biomolecole in forma non cristallina in soluzione ad alta risoluzione beneficiando così completamente delle scoperte pionieristiche e dei miglioramenti portati da Jacques Dubochet (Université de Lausanne, CH), Joachim Frank (Columbia University, New York, USA) and Richard Henderson (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK).

Poco dopo la dimostrazione sperimentale della microscopia elettronica da parte di Ernst Ruska che gli valse il Premio Nobel nel 1986, Ladislaus Marton commentando la scoperta sottolineò come purtroppo tale tecnica non potesse essere applicata a materiali biologici senza portare alla loro distruzione per effetto del bombardamento elettronico. Marton propose una soluzione al problema: raffreddamento del campione biologico o l'uso di un metodo simile alla colorazione negativa. Un altro ostacolo era preservare l'acqua nel campione biologico all'interno del vuoto dentro alla camera del microscopio elettronico. Vi erano anche altre difficoltà, tra cui il fatto che campioni biologici avessero un basso contrasto, a causa della bassa probabilità d'interazione degli atomi "biologici" con gli elettroni d'alta energia. D'altra parte la dose doveva essere tenuta sufficientemente bassa per evitare, come detto, un danno al campione. Infine le macromolecole studiate spesso si muovono a causa dell'interazione con gli elettroni o per drift termico e ciò riduceva l'informazione.

È nel 1990 che grazie a Richard Henderson, laureato in fisica e convertito alla biologia molecolare, si arriva a un'immagine tridimensionale della bacteriodopsina con risoluzione atomica. Quest'immagine è ottenuta applicando la microscopia elettronica senza danneggiare la proteina. Le basse temperature durante l'acquisizione permettono di utilizzare un flusso di elettroni per Å^2 anche 10 volte maggiore di quello a temperatura ambiente senza danneggiare il campione. Si trattava tuttavia ancora di un campione in forma cristallina e non in soluzione, acquisito in vari laboratori con diversi microscopi elettronici. È infatti tra il 1975 e il 1986 che Joachim Frank, anche lui laureato in fisica, sviluppa prima un metodo di analisi dell'immagine che ha il vantaggio di usare immagini di bassa qualità cioè prese con fasci elettronici meno intensi e in seguito un metodo statistico che consente il passaggio a immagine tridimensionale, fornendo acquisizioni

bidimensionali. L'applicazione della microscopia elettronica al mondo biologico e il suo successo sono indubbiamente legati al contributo di Jacques Dubochet, "*laureato in ingegneria-fisica presso Ecole Polytechnique de l'Université de Lausanne, per diventare biologo*", come riporta nel suo esilarante curriculum. Il suo contributo permette di visualizzare le biomolecole nella loro struttura funzionale, cioè in presenza di acqua. L'acqua liquida evapora a causa del vuoto del microscopio elettronico, come precedentemente detto, ma un rapido congelamento in etano liquido a -196°C , permette la vetrificazione della proteina e il suo congelamento nella sua conformazione. Questo è un passaggio fondamentale, per studiare i sistemi biologici in relazione alla loro funzione, poiché diverse conformazioni significano diversa funzione. Ogni soluzione può essere congelata, si possono quindi studiare i sistemi biologici nella loro condizione nativa e/o in presenza di diversi soluti, il che porta questa tecnica a essere particolarmente importante anche nello sviluppo di nuovi farmaci.