

Premio Nobel de Química 2017: El desarrollo de la Criomicroscopía Electrónica

María del Jesús Rosales Hoz*

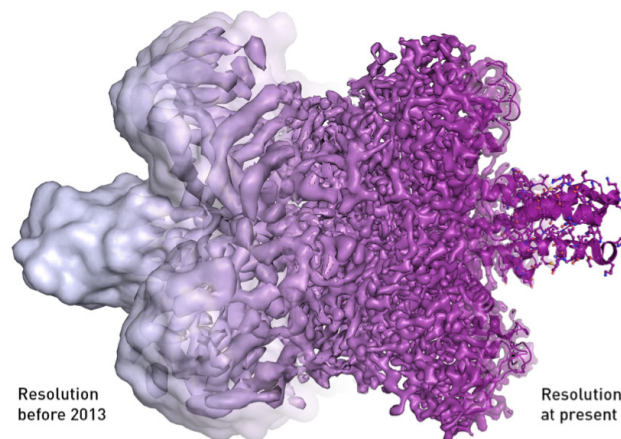
El pasado mes de octubre, la Fundación Nobel dio a conocer a los ganadores de los diversos Premios Nobel correspondientes a 2017. En el área que más nos concierne, la química, el Premio fue otorgado a los Profesores Jacques Dubochet, Joachim Frank y Richard Henderson de las Universidades de Lausana, Suiza, Columbia, Estados Unidos y Cambridge, Reino Unido respectivamente. El premio se otorgó como reconocimiento al “desarrollo de la técnica de Criomicroscopía Electrónica que permite determinar la estructura, en alta resolución, de biomoléculas en solución”. [1]

Conocer la estructura de moléculas de interés biológico siempre ha sido un objetivo muy codiciado entre los investigadores de biología, bioquímica, medicina y otras áreas afines. Algunas de las primeras moléculas cuyas estructuras fueron determinadas por medio de la difracción de rayos X de monocristal, fueron moléculas biológicas a pesar de las grandes dificultades que representaba la aplicación de la técnica a estas moléculas tan complejas.

Tal fue el caso de la determinación estructural de la mioglobina llevada a cabo por Max Ferdinand Perutz y John Kendrew, investigación que fue reconocida con el Premio Nobel de Química en 1962 mientras que en 1964 Dorothy Hodgkin también obtuvo el premio Nobel de Química por la determinación de varias estructuras de importancia biológica, como la penicilina y la vitamina B12, entre otras. Francis Crick, James Watson y Maurice Wilkins recibieron el Premio Nobel de Medicina en 1962 por sus descubrimientos sobre la estructura molecular de los ácidos nucleicos.

Sin embargo, la difracción de rayos X requiere que la muestra se encuentre en forma de cristal, muy particularmente, de cristal único; es decir un cristal con un empaquetamiento regular y simétrico. Obtener un cristal con esas características puede ser muy difícil. Esto es particularmente cierto para moléculas biológicas como las proteínas. Es por ello que los bioquímicos que buscan la caracterización estructural de este tipo de moléculas, han sido pioneros en la exploración de métodos de cristalización, entre los que se incluye el estudio del efecto de la ingravidez en el proceso de cristalización. Para ello, se realizaron experimentos en el espacio. [2]

Una técnica instrumental que los biólogos han utilizado para conocer la estructura de células y otros materiales biológicos es la microscopía electrónica. La microscopía electrónica funciona



más o menos igual a la microscopía óptica pero se utiliza un haz de electrones para que pase a través de la muestra, en lugar de un haz luminoso. La longitud de onda de los electrones es mucho más pequeña que la de la luz lo que permite hacer visibles estructuras mucho más pequeñas. [3] Sin embargo, un grave inconveniente que limitó el uso de la microscopía electrónica en muestras biológicas es que las células orgánicas eran destruidas por el intenso bombardeo electrónico, como lo hizo notar Morton al inicio de los estudios con esta técnica. [4]

Había problemas adicionales en el uso de la técnica para estudiar moléculas de origen biológico: las muestras debían ser muy delgadas y, normalmente, la resolución obtenida era baja, solo unos pocos nanómetros. [5] Para resolver estos problemas, se desarrollaron otros métodos para preparar las muestras [6] y estos métodos aunados a poderosas técnicas computacionales permitieron proponer modelos tridimensionales de moléculas o complejos moleculares. [7]

El siguiente reto que enfrentaron los investigadores fue poder someter a moléculas biológicas a la técnica de microscopía electrónica pero preservando su naturaleza hidratada intacta. Henderson and Nigel Unwin en los años 70, [8] lograron importantes avances sustituyendo el agua que rodeaba a la molécula de proteína, por una solución de glucosa. También se ajustó la intensidad de la radiación para minimizar el daño a las moléculas. Estos estudios se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Posteriormente se sugirió congelar las muestras para evitar la evaporación de las moléculas de agua pero esto provocó otros problemas por la formación de hielo. Este problema se resolvió mediante la introducción de técnicas de congelamiento rápidas además de la introducción de crio-protectores. [9]

*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados.
Av. Instituto Politécnico Nacional 2508.
Col. San Pedro Zacatenco.
mrosales@cinvestav.mx

En 1990, Henderson y sus colaboradores mostraron por primera vez que era posible obtener estructuras de bio-macromoléculas utilizando crio-microscopía electrónica promediando muchas copias del mismo objeto.[10]

Otro problema fundamental pendiente de resolver era la determinación estructural de moléculas en solución, es decir en su medio natural. Resolver este problema requirió del desarrollo de herramientas matemáticas para análisis de imágenes que se pudieran configurar en un solo objeto. Frank desarrolló muchas de estas herramientas.[11]

Una aportación adicional vino por parte de Dubochet que mejoró el método de preparación de muestras. Este nuevo método permitió la preparación de capas de agua, sin soporte, suficientemente delgadas para acomodar una sola capa de moléculas o complejos moleculares orientados al azar en su estado natural. Esto permitió la obtención de excelentes imágenes en el microscopio electrónico a bajas temperaturas.[12]

Todos estos avances apoyados por avances tecnológicos en emisores, detectores y otras partes, han permitido obtener imágenes de bio-moléculas con mucho mayor resolución (Figura).

Y el futuro promete aún más.

Referencias.

1. https://6702d.https.cdn.softlayer.net/2017/10/sciback_ke_en_17.pdf
2. https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/news/lmm_biophysics
3. La semejanza entre la longitud de onda de la radiación y el objeto o muestra bajo estudio es lo que permite hacer visibles diferentes objetos con diferentes tipos de radiación.
4. Marton, L. (1934). Nature 133, 911-911.
5. Althoff, T., Mills, D. J., Popot, J. L., and Kühlbrandt, W. (2011). The EMBO Journal 30, 4652-4664.
6. Huxley, H. E., and Zubay, G. (1961). J. Biophys. Biochem. Cytology 11, 273-296.
7. DeRosier, D. J., and Klug, A. (1968). Nature 217, 130-134.
8. Unwin, P. N. T., and Henderson, R. (1975). J. Mol. Biol. 94, 425-432.
9. Taylor, K. A., and Glaeser, R. M. (1976) J. Ultrastruct. Res. 55, 448-456.
10. Henderson, R., Baldwin, J. M., Ceska, T.A., Zemlin, F., Beckmann, E., and Downing, K. H. (1990). J. Mol. Biol. 213, 899-929.
11. Frank, J., Shimkin, B., and Dowse, H. (1981) Ultramicroscopy 6, 343-357.
12. Dubochet, J., Adrian, M., Lepault, J., and McDowell, A.W. (1985) Trends Biochem. Sci. 10, 143-146.

El *Boletín de la Sociedad Química de México* es el medio de comunicación de la SQM. En él, se da parte de las actividades que organiza la Sociedad Química y otros eventos externos en los que participa. También, se publican temas relacionados con las ciencias químicas, su historia, evolución y estado actual de sus aplicaciones, así como de su enseñanza y de la generación del conocimiento.

¿Te interesa publicar con nosotros? Escríbenos a boletin.sqm@gmail.com