

Premio Nobel de Química 2014: el nanoscopio

Cristina Flors

“Química ha sido siempre mi asignatura más floja en el instituto y la universidad”. Esto fue lo que confesó Eric Betzig en una entrevista pocas horas después de recibir la noticia de que había sido galardonado con el Premio Nobel de Química 2014, junto con Stefan Hell y William E. Moerner. Los tres premiados de este año son físicos, y una vez más se pone de manifiesto que las fronteras entre los campos de la ciencia son difusas. El motivo de su reconocimiento ha sido el desarrollo de nuevas técnicas de microscopía de fluorescencia llamadas en su conjunto “microscopía de súper-resolución” o nanoscopía. En estas técnicas, las propiedades fotoquímicas y fotofísicas de las moléculas fluorescentes juegan un papel protagonista.

El término “súper-resolución” se refiere a la habilidad de estos nuevos microscopios para superar una barrera que era infranqueable hasta hace poco, el llamado “límite de difracción”. La difracción de la luz, un fenómeno físico conocido desde 1660, limita la calidad de las imágenes que se obtienen a través de un microscopio óptico convencional. La difracción hace que los pequeños detalles de la imagen aparezcan borrosos, es decir, no se puedan *resolver*. En 1873, el científico Ernst 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 200 nm. 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 la dinámica en el interior de células vivas.

Aunque el límite de difracción sigue siendo una realidad, los galardonados de este año consiguieron sortearlo utilizando una serie de ingeniosos trucos, y así nació la nanoscopía. 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



Eric Betzig



Stefan Hell



William E. Moerner

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. Sólo siete años más tarde, se vendía el primer nanoscopio comercial.

La 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 bases de esta modalidad, ya que en 1989 fue capaz de detectar por primera vez una molécula individual. Además, en 1997 observó que algunas proteínas fluorescentes (que ya fueron objeto del Premio Nobel en 2008) podían encenderse y apagarse irradiando con luz de diferentes colores. Fue Eric Betzig quien conectó estos dos descubrimientos de Moerner para desarrollar la técnica de súper-resolución llamada PALM (*photoactivated localization microscopy*), que publicó en 2006. 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 área de una muestra. Con la suma de las posiciones de estas moléculas se puede construir un mapa nanométrico de coordenadas. Betzig, que había pasado siete años alejado de la ciencia para trabajar en la empresa de su padre, quería hacer un retorno triunfal y desarrolló su idea desde el desempleo (aunque con la ayuda de otros científicos en activo). Para ello, montó un prototipo de PALM en el salón de la casa de su amigo y también científico Harald Hess, comprando componentes con sus propios ahorros. Betzig trabaja ahora en el Instituto Médico Howard Hughes (EEUU).

Aunque han pasado pocos años desde la invención de las diferentes modalidades de microscopía de súper-resolución, encontramos innumerables ejemplos de nuevas estructuras y procesos biológicos que se han revelado por primera vez. Del laboratorio de Xiaowei Zhuang, en la Universidad de Harvard, salen descubrimientos espectaculares como la visualización del esqueleto de los axones, que son prolongaciones de las neuronas cuya función principal es la de canalizar los impulsos nerviosos. Usando una técnica similar a PALM, se ha observado que el esqueleto del



C. Flors

IMDEA Nanociencia
C/ Faraday 9, Ciudad Universitaria de Cantoblanco,
28049 Madrid
C-e: cristina.flors@imdea.org

Recibido: 12/11/2014. Aceptado: 03/12/2014.

axón está compuesto por unos anillos con un espaciamiento periódico de 180 nm, justo por debajo del límite de difracción (Figura 1). Esta estructura, similar al tubo de una aspiradora micrométrica, ha resultado tan sorprendente que su hallazgo obliga a revisar las teorías actuales sobre comunicación entre neuronas.

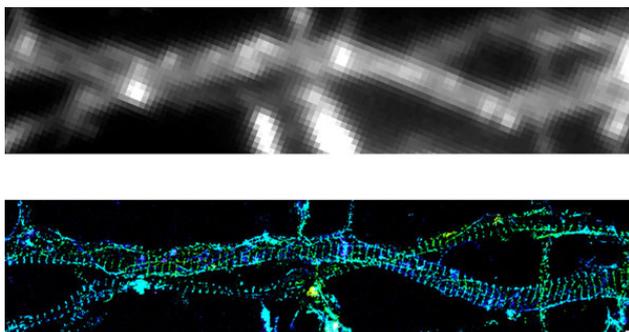


Figura 1. Descubrimiento de una nueva estructura periódica en los axones con microscopía de súper-resolución (abajo). Arriba se muestra una imagen de microscopía de fluorescencia convencional, en la que la estructura aparece borrosa (adaptado de Xu *et al.*, *Science* 339: 452, 2013)

La nanoscopia ha tenido también impacto en otras áreas más cercanas a la Química como el estudio de catalizadores heterogéneos, permitiendo visualizar mapas de reactividad a escala nanométrica. Para ello, se utiliza un reactivo no fluorescente (por ejemplo alcohol furfúrico), que se transforma en un producto fluorescente

después de la acción del catalizador (en este caso una partícula de zeolita, Figura 2a). De este modo, cada vez que una molécula de reactivo se transforma en producto, se produce un destello de luz fluorescente que puede observarse en el microscopio y localizarse con mucha precisión (Figura 2b). La frecuencia de los destellos es proporcional a la reactividad en esa zona, y con esa información se construye el mapa de reactividad de la zeolita con resolución nanométrica. En él se puede apreciar que la reactividad es mayor en una zona muy estrecha en el borde de la zeolita (Figura 2c).

Una reflexión que se ha hecho en los medios de comunicación 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 distraernos del hecho de que las piedras angulares de estas técnicas son descubrimientos fundamentales y relativamente recientes que se hicieron por pura curiosidad e inconformismo ante barreras supuestamente infranqueables. La clave de su éxito 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, 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.

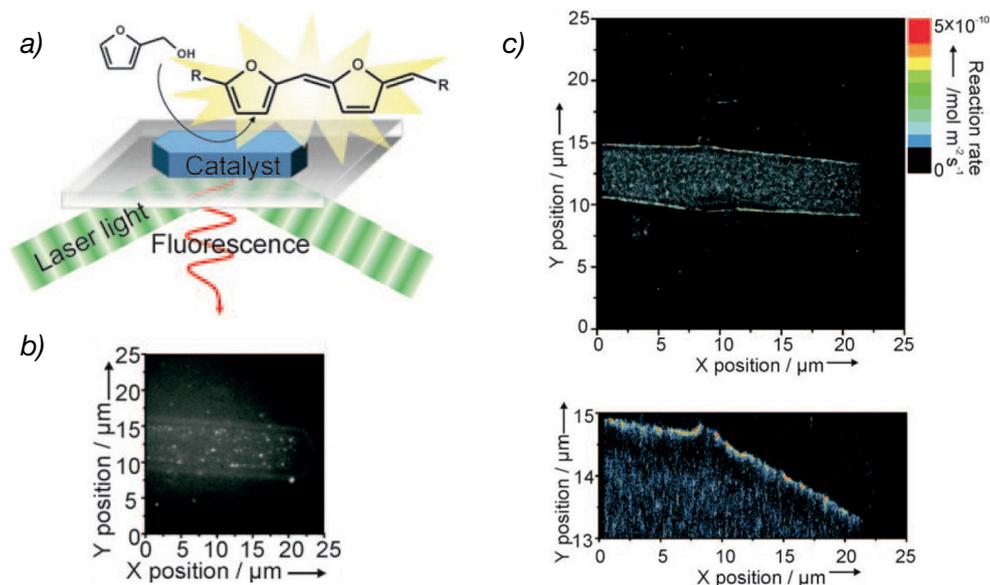


Figura 2. a) Transformación del alcohol furfúrico en un producto fluorescente mediante la acción del catalizador; b) Fotograma en el que se visualizan reacciones de moléculas individuales catalizadas por una zeolita; c) Mapa de reactividad sobre la zeolita, y ampliación donde se observa que la reactividad es mayor en los bordes (adaptado de Roelfaers *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48: 9285, 2009)