

Entrevista a Jordi Arbiol amb motiu de la commemoració del Premi Nobel de Química 2017

Interview with Jordi Arbiol on the commemoration of the Nobel Prize in Chemistry 2017

Jordi Arbiol

Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA) a l'Institut Català de Nanociència i Nanotecnologia (ICN2), Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC) i Barcelona Institute of Science and Technology (BIST). Group of Advanced Electron Nanoscopy (GAe-N)

Entrevista feta per Ciril Jimeno i Montserrat Heras, editors de la REVISTA DE LA SOCIETAT CATALANA DE QUÍMICA.

Resum: El Premi Nobel de Química 2017 va ser atorgat a Jacques Dubochet, Joachim Frank i Richard Henderson pel «desenvolupament de la microscòpia crioelectrònica per a la determinació estructural a alta resolució de biomolècules en dissolució». En aquesta entrevista, el professor ICREA Jordi Arbiol, de l'Institut Català de Nanociència i Nanotecnologia (ICN2), Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC) i Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), parla sobre els aspectes més revolucionaris d'aquesta tècnica, entre altres aspectes de la microscòpia electrònica.

Paraules clau: Microscòpia crioelectrònica, Premi Nobel de Química.

Abstract: *The Nobel Prize in Chemistry 2017 was awarded to Jacques Dubochet, Joachim Frank and Richard Henderson "for developing cryo-electron microscopy for the high-resolution structure determination of biomolecules in solution". In this interview, ICREA Prof. Jordi Arbiol, from Catalan Institute of Nanoscience and Nanotechnology (ICN2), Spanish National Research Council (CSIC) & Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), discusses the revolutionary aspects of this technique among other issues related to electron microscopy.*

Keywords: *Cryo-electron microscopy, Chemistry Nobel Prize.*

P: Què són les microscòpies electròniques i quina importància han tingut i tenen en l'estudi de la matèria?

R: Les microscòpies, en general, són actualment els ulls que té la ciència a les escales més petites de la natura. En concret, les microscòpies electròniques ens permeten observar, mesurar i interactuar amb la matèria fins i tot a escala atòmica. Els grans avenços en microscòpia electrònica ens permeten observar els àtoms individualment i extreure'n les propietats. Podem deixar el feix d'electrons sobre un àtom i mesurar-ne la composició elemental, l'estat químic (per exemple, l'estat d'oxidació) o l'estat de coordinació. Podem congelar la matèria orgànica en líquid, mantenint les seves propietats estructurals, i observar les cèl·lules, els virus i les proteïnes en 3D amb resolucions properes a l'ångstrom. Les noves microscòpies electròniques ens permeten recrear i modelitzar la matèria en 3D àtom a àtom. Som capaços de mesurar i localitzar a escala subnanomètrica les energies dels plasmons, dels fotons emesos pel material, de la banda prohibida (o *gap* en els semiconductors) o de les seves vibracions fonòniques. En definitiva, estem explorant contínuament els límits de resolució que ens permet la física, per donar resposta i entendre les propietats físiques, estructurals i químiques dels materials i la composició i l'estructura 3D de la matèria orgànica.

P: En particular, què és la microscòpia crioelectrònica i per què ha estat mereixedora del Premi Nobel? [1, 2]

R: L'any 1934, Max Knoll i Ernst Ruska dissenyen el primer microscopi electrònic. Ja des dels inicis, un dels somnis de gran part de la comunitat científica va ser poder observar els components bàsics de la matèria, els àtoms i les molècules, per tal de poder entendre millor la natura. Les primeres proves d'aplicació d'un microscopi electrònic per observar teixits orgànics es realitzen el mateix any 1934, per part de Ladislaus L. Marton, i s'arriba a la conclusió que els electrons no són adequats, ja que la seva alta energia destrueix la matèria orgànica amb massa facilitat. Marton, en un article a la revista *Nature*, conclou: «Aquest alt poder de resolució no es pot aplicar en la recerca biològica sense abans desenvolupar una nova tècnica histològica que previngui la destrucció de les cèl·lules orgàniques degut a l'intens bombardeig electrònic.» Aquesta impossibilitat inicial no impedeix que, al cap d'uns anys, diversos grups d'arreu del món ho segueixin intentant, desenvolupant noves tecnologies que permetin minimitzar els efectes de l'exposició de la matèria als electrons.

La criomicroscòpia és, doncs, una metodologia complexa que aglutina diversos avenços científics que permeten, en definitiva, «congelar» les mostres i observar-les en un microscopi electrònic en el seu estat original, sense destruir-les.

Aquesta nova metodologia conté tres punts o aspectes primordials que han estat bàsics per al seu desenvolupament:

1) en primer lloc, la posada a punt d'una nova metodologia de preparació de mostres que ens permet congelar-les a molt baixa temperatura de forma instantània i evita la cristallització del gel; 2) en segon lloc, el desenvolupament de tècniques que combinen imatges de múltiples angles, utilitzant un feix d'electrons de baixa potència, per generar imatges 3D dels «objectes» orgànics, 3) i finalment, en tercer lloc, el desenvolupament d'algorismes matemàtics que ens permetin recons-

truir els objectes observats en 3D a escales quasi atòmiques (vegeu la figura 1).

P: Com d'important és la preparació de la mostra per poder fer-ne l'observació?

R: Com he comentat abans, una correcta preparació i congelació de la mostra és primordial i necessària de cara a aconseguir una bona observació i adquisició de les dades que després

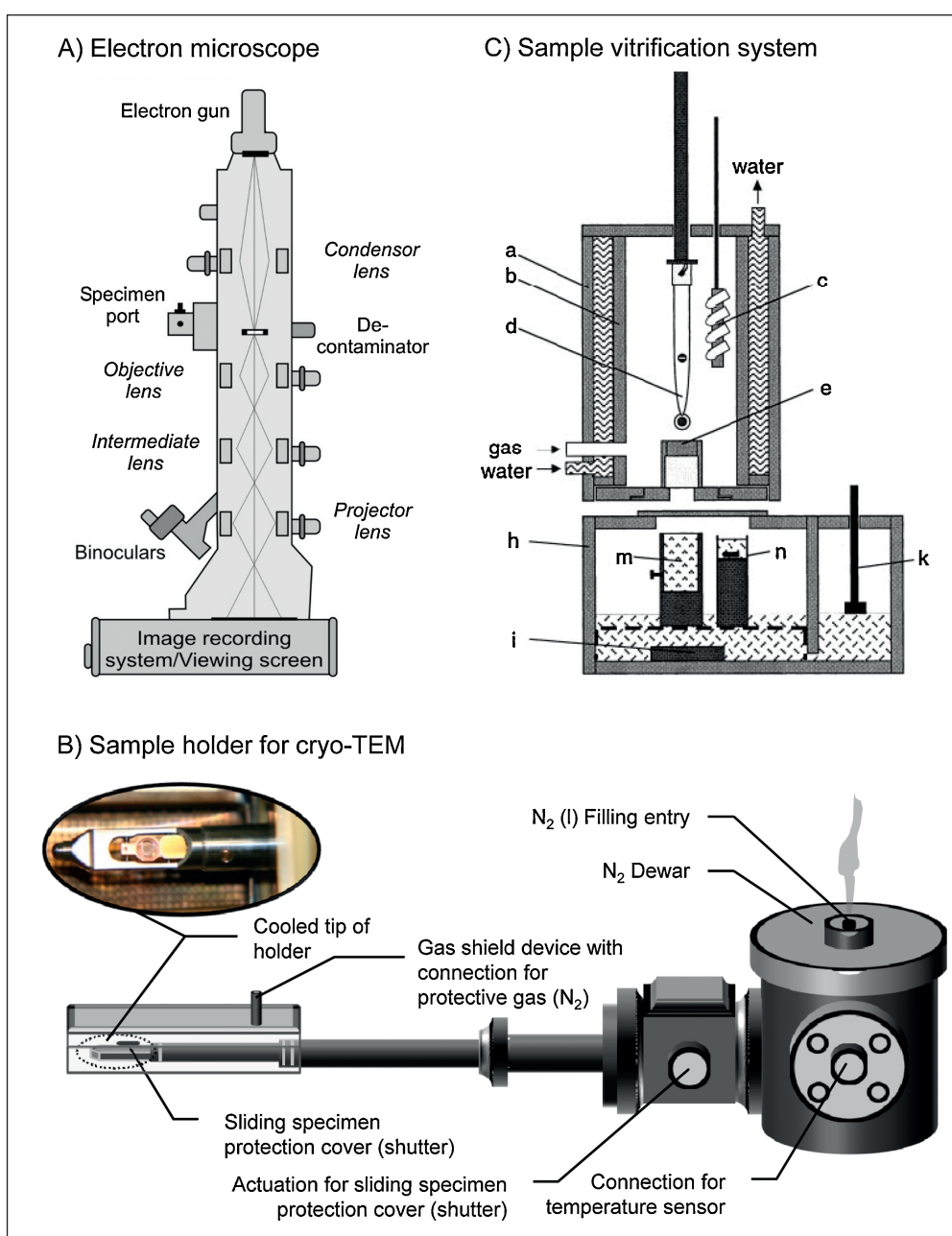


FIGURA 1. Esquemes de funcionament de: A) un microscopi electrònic (TEM); B) un portamostres de crio-TEM, i C) la cambra de vitrificació de mostres. Reproduït de J. KUNTSCHKA, J. C. HORSTB i H. BUNJESB, *Int. J. Pharm.*, vol. 417 (2011), p. 120-137, amb permís d'Elsevier (Copyright © 2011). Vegeu la referència [3] per a més detalls.

seran reconstruïdes. La criogenització permet conservar les propietats estructurals de la mostra, tant de cèl·lules com de virus i proteïnes, durant la seva exposició al feix d'electrons. És per això que un dels tres guardonats amb el Premi Nobel, el professor Dubochet, ho ha estat pels seus treballs en el desenvolupament, la posada a punt i la millora de les tècniques de criogenització.

P: A quin nivell es poden observar les biomolècules en solució amb la criomicroscòpia electrònica? atòmic? nano? Quines estructures i fins a quin detall és possible observar? [2, 4]

R: Amb els nous desenvolupaments tecnològics, podem treballar a un voltatge elevat (300 keV), la qual cosa augmenta la resolució i el poder de penetració dels electrons en el gel. Tot això, conjuntament amb tecnologies que ens permeten augmentar el contrast de les imatges tot i treballar amb una dosi baixa d'electrons per evitar el deteriorament de les mostres. Per això, avui en dia es treballa amb detectors directes d'electrons, que ens permeten capturar senyal encara que es facin servir radiacions molt baixes. La suma de totes aquestes tecnologies, juntament amb uns algorismes de reconstrucció cada cop més sofisticats, ens permeten arribar a resolucions de l'entorn de dos àngstroms, prop de la resolució atòmica. En alguns virus i proteïnes s'han aconseguit desxifrar les propietats estructurals a aquestes escales tan baixes.

P: En quins àmbits científics i tecnològics s'utilitza més?

R: La criomicroscòpia s'utilitza sobretot en dues grans branques: 1) en biologia cel·lular, mitjançant la criotomografia electrònica, i 2) en biologia estructural, mitjançant la reconstrucció de partícules individuals (*single particle*) per a l'anàlisi de virus i proteïnes.

P: Ens podries posar un exemple d'algun descobriment en què aquesta tècnica hagi estat clau?

R: Es fa difícil posar un exemple d'algun descobriment, ja que es tracta d'una tècnica o metodologia en constant evolució en què els avenços o descobriments van des del desenvolupament tecnològic en si fins a les aplicacions més sofisticades en camps diversos, com la biomedicina, la genètica o la biologia cel·lular o estructural. De totes maneres, el fet de poder arribar a tenir resolucions de l'entorn de l'àngstrom en l'estudi de la matèria orgànica ens permet comprendre millor les relacions entre estructura i funcionalitat en les petites peces que componen tots els éssers vius (des de proteïnes, ribosomes o

àcids nucleics fins a les cèl·lules mateixes). Si em pregunteu per una fita històrica o un descobriment clau gràcies a la criomicroscòpia electrònica, potser destacaria el desenvolupament metodològic que van fer A. K. Kleinschmidt i R. K. Zahn l'any 1959 per tal d'aconseguir una visualització directa dels àcids nucleics, i que va permetre, entre d'altres, demostrar amb gran precisió l'estructura de doble hèlix de l'ADN.

P: Quina ha estat la contribució dels tres guardonats en aquest camp?

R: Els tres guardonats amb el Premi Nobel han estat pioners, cadascun d'ells, en un dels tres punts o aspectes primordials que, com he dit abans, han estat bàsics per al desenvolupament de la criomicroscòpia electrònica:

1) Jacques Dubochet va afegir el «crio» a la microscòpia electrònica posant a punt una nova metodologia de preparació de mostres que permetia congelar-les a molt baixa temperatura de forma instantània i evitar la cristallització del gel. L'aigua de la mostra «vitrificada» està desordenada, però es conserva l'estructura 3D de les biomolècules a la mostra. Això li va permetre crear les primeres imatges de diversos virus.

2) Richard Henderson va ser la primera persona que va generar una imatge d'una proteïna amb microscòpia electrònica. Va empaquetar moltes còpies de la proteïna bacteriorodopsina en una mostra i va combinar imatges de múltiples angles, utilitzant un feix d'electrons de baixa potència, per generar imatges 3D de la proteïna. Va continuar refinant aquestes tècniques fins a produir imatges amb la mateixa resolució que les de difracció de raigs X.

3) Finalment, Joachim Frank va contribuir crucialment en el processament i l'anàlisi de les imatges de criomicroscòpia. Va desenvolupar mètodes computacionals per prendre imatges de múltiples proteïnes orientades a l'atzar dins d'una mostra i compilar-les en conjunts d'orientacions similars per obtenir imatges 2D més nítides, i va poder construir una imatge 3D a partir d'aquestes projeccions 2D. Va utilitzar els seus algorismes per generar imatges del ribosoma, una estructura massiva feta de diverses proteïnes i fils d'ARN (vegeu la figura 2).

Sense aquests tres desenvolupaments, no cal dir-ho, la criomicroscòpia electrònica actual no seria possible, i és per això que el Premi Nobel ha estat concedit a tots tres.

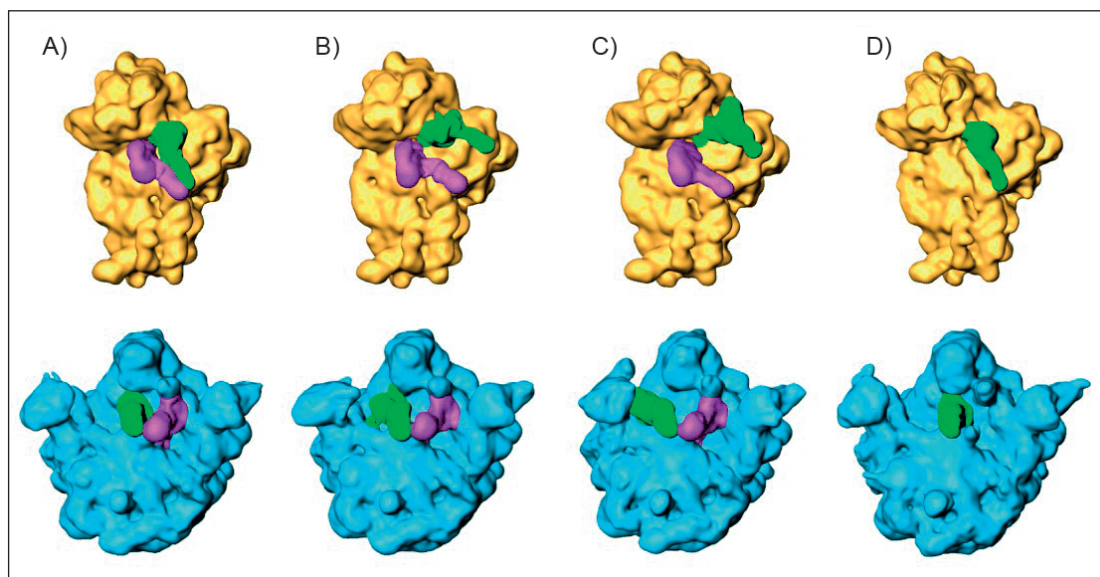


FIGURA 2. Reconstruccions de quatre classes de ribosomes de la mateixa mostra. La subunitat gran i la petita han estat separades computacionalment, de manera que l'ARNt es fa visible. A) Ribosoma *unratcheted*, amb ARNt en la posició clàssica (A/A, P/P). B) Ribosoma amb rotació intermèdia de la subunitat petita, i ARNt en posicions intermèdies. C) Ribosoma *ratcheted*, amb ARNt en posició híbrida (A/P, P/E). D) Estructura de ribosoma addicional en què la posició A no està ocupada per ARNt. Reproduït amb permís de Wiley VCH. Vegeu la referència [5] per a més detalls.

P: Al teu grup treballem amb aquesta tècnica? Quin nivell d'implantació té a Catalunya?

R: En el meu grup, tot i fer un ús extensiu de les microscòpies electròniques avançades, normalment treballem amb materials i no amb matèria orgànica, per la qual cosa el nostre ús de la criomicroscòpia no és habitual. En ciència de materials prima sobretot la resolució espacial i energètica del feix d'electrons i, contràriament al que passa en les aplicacions biomèdiques, en les quals s'ha apostat per voltatges elevats i dosis d'electrons baixes, en el camp dels materials cada cop treballem amb voltatges més baixos, de prop de 60 keV. En el nostre camp fem servir correctors d'aberracions que ens permeten assolir resolucions per sota de l'àngstrom fins i tot a aquests voltatges tan baixos, i això ens permet estudiar materials tan sensibles com el grafè sense malmetre'n l'estructura. Diguem que l'escala atòmica no és un secret per a nosaltres, sinó més aviat el dia a dia.

Pel que fa a la implantació de la microscòpia electrònica, com a mínim en ciència de materials i nanotecnologia, tenim a casa nostra grups capdavanters a nivell mundial, amb grans tecnòlegs i científics de reconegut prestigi. Tenim gent premiada a nivell europeu tant pel desenvolupament de tècniques com per l'aplicació d'aquestes a la millora del coneixement de nous materials, des dels mecanismes de creixement fins a la

correlació de la seva estructura amb les seves propietats físiques i químiques.

Tot i això, a l'Estat hi ha vuit microscopis electrònics avançats amb correctors d'aberracions, mentre que a Catalunya encara no en tenim cap. Fa anys que en reclamem un i sembla que finalment ho aconseguirem. Hi ha una iniciativa que liderem des de l'ICN2 i el BIST, en col·laboració amb el CSIC i la Fundació CELLS, per dotar el Sincrotró ALBA amb dos microscopis d'última generació: un per a ciència de materials, amb correctors d'aberracions i monocromador, i un altre per poder desenvolupar una criomicroscòpia correcta.

P: Quins són actualment els grups de recerca capdavanters en microscòpia crioelectrònica?

R: A Catalunya, ara mateix no hi ha cap grup capdavanter en criomicroscòpia electrònica, a diferència del que passa en microscòpia electrònica aplicada a materials. En el seu moment, tant la Universitat de Barcelona com la Universitat Autònoma de Barcelona i la Universitat Rovira i Virgili es van dotar de microscopis electrònics amb prestacions criogèniques. Però la pèrdua de personal qualificat i la manca d'inversió en nous equipaments han fet que moltes d'aquestes instal·lacions hagin quedat obsoletes. A nivell estatal hi ha diversos grups de molta qualitat al Centro Nacional de Biotecnología de Madrid,

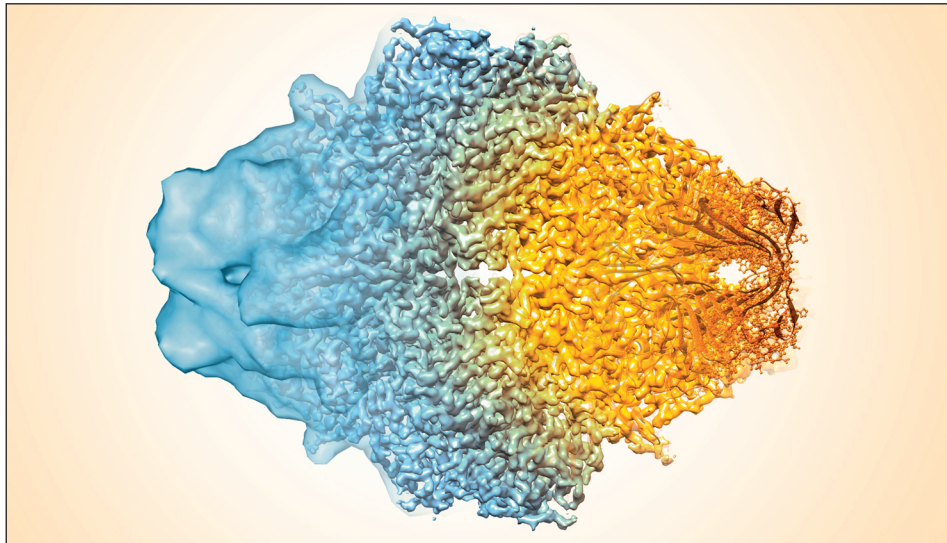


FIGURA 3. Imatge composta de l'enzim β -galactosidasa que mostra l'evolució de la resolució de la microscòpia crioelectrònica en els darrers anys. D'esquerra a dreta: mapa de baixa resolució, resolució a 2,2 Å i coordenades atòmiques ajustades. Crèdit: Veronica Falconieri, Subramaniam Lab, National Cancer Institute (Estats Units d'Amèrica).

i petits grups escampats per la geografia, com al País Basc o Andalusia. Però, malauradament, tampoc no hi ha cap criomicroscopi d'última generació a l'Estat. És per això que, amb la iniciativa que volem desenvolupar a l'ALBA, esperem que aquestes tècniques tan utilitzades pels nostres investigadors puguin tornar a ressorgir. Actualment hem d'anar fora a utilitzar aquestes noves tecnologies.

P: Com preveus que serà el desenvolupament futur d'aquesta tècnica i de les microscòpies electròniques?

Espero que en un futur no massa llunyà puguem aconseguir resolucions atòmiques reals en criomicroscòpia i es puguin reconstruir les diferents peces que componen la matèria orgànica àtom a àtom, com ja fem en ciència de materials. Això donaria una nova dimensió a la recerca en ciències de la vida i ens ajudaria a entendre alguns dels misteris que encara ens queden per resoldre. Perquè, en definitiva, observant el món a petita escala, podem entendre'l..., i entenent-lo, construïm el coneixement de la nostra societat (vegeu la figura 3).

Referències i altres fonts

- [1] *The Nobel Prize in Chemistry 2017* [en línia]. <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2017/> [Consulta: 24 abril 2018].
- [2] GELFAND, A. «The rise of cryo-electron microscopy». *Biomedical Computational Review*, vol. 12, núm. 1 (2016), p. 13-21. <<http://biomedicalcomputationreview.org/content/rise-cryo-electron-microscopy>> [Consulta: 24 abril 2018].
- [3] KUNTSCHER, J.; HORSTB, J. C.; BUNJES, H. «Cryogenic transmission electron microscopy (cryo-TEM) for studying the morphology of colloidal drug delivery systems». *Int. J. Pharm.*, vol. 417 (2011), p. 120-137.
- [4] MERINO, F.; RAUNSER, S. «Electron cryo-microscopy as a tool for structure-based drug development». *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 56 (2017), p. 2846-2860.
- [5] FRANK, J. «The ribosome comes alive». *Isr. J. Chem.*, vol. 50 (2010), p. 95-98.



J. Arbiol

Jordi Arbiol és llicenciat en física per la Universitat de Barcelona (UB, 1997). Obtingué el doctorat en física en el Departament d'Electrònica de la UB l'any 2001 (amb menció europea i premi extraordinari de doctorat). Treballà als Serveis Científicotècnics de la UB i com a professor associat del Departament d'Electrònica. El 2009, esdevingué professor ICREA, i fins al 2015 treballà a l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC). Des del 2015 és professor ICREA a l'Institut Català de Nanociència i Nanotecnologia (ICN2) i líder del Group of Advanced Electron Nanoscopy (GAe-N). Des del 2017 és el president de la Sociedad de Microscopía de España (SME), en va ser vicepresident del 2013 al 2017 i des del 2009 és membre de la junta executiva. Des del 2019 és membre de la junta executiva de la International Federation of Societies for Microscopy (IFSM). És el supervisor científic de l'àrea transversal en microscòpia electrònica a l'ICN2 i a Barcelona Institute of Science and Technology (BIST). Va ser guardonat amb els premis EU40 Materials Prize 2014 (E-MRS) i EMS Outstanding Paper Award 2014 i va ser inclòs a la llista Top 40 Under 40 Power List (2014) per *The Analytical Scientist*. Té més de 320 publicacions relacionades amb les microscòpies electròniques aplicades a nanomaterials, més de 12 000 cites, un índex *h* de 62 (WoS) i 71 (GoS) i més de 120 exposicions orals com a convidat, entre plenàries, *keynotes*, conferències i seminaris.