



# Deras mikroskop sprängde gränsen

Länge har ljusmikroskopin hämmats av en förmodad begränsning: det skulle aldrig gå att nå en upplösning bättre än halva ljusets våglängd. Eric Betzig, Stefan W. Hell och William E. Moerner, belönas med 2014 års Nobelpris i kemi för att de snillrikt kringgått denna gräns. Deras banbrytande arbeten har tagit ljusmikroskopin till nanodimensioner.

Med det som numera kallas nanoskopi kan forskare synliggöra enskilda molekylers vägar inuti levande celler. De kan till exempel se hur molekyler formar synapser mellan hjärnans nervceller eller följa proteiner som klumpar ihop sig vid Parkinsons, Alzheimers och Huntingtons sjukdomar.

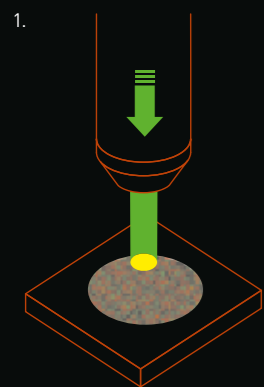
Ljusmikroskopet är ett av livsvetenskapernas viktigaste verktyg. Med det kan forskare följa processer inuti levande celler. Men man har länge trott att det skulle vara omöjligt att observera cellens molekylära detaljer. År 1873 bestämde mikroskopisten Ernst Abbe en gräns för ljusmikroskopin: upplösningen skulle aldrig kunna bli bättre än halva ljusets våglängd, cirka 0,2 mikrometer. Men tack vare 2014 års Nobelpristagare i kemi kan nu nanovärlden synliggöras med ljusmikroskopi.

Två olika principer belönas; båda bygger på att forskare märker det som ska studeras med fluorescerande molekyler. Idén till den ena mikroskopimetoden, *stimulated emission depletion (STED)*, fick Stefan Hell 1993. Han förverkligade den experimentellt år 2000.

Teorin för den andra metoden, *enmolekylmikroskopi*, formade Eric Betzig 1995. Men det var William Moerner som lade den praktiska grunden när han 1989 som förste forskare i världen, detekterade en enda liten fluorescerande molekyl. Det andra avgörande steget tog Moerner 1997 när han utvecklade en liten molekyllampa som han kunde slå på och av. Tack vare dessa framsteg kunde Betzig år 2006 förverkliga enmolekylmikroskopin.

## Principen för STED-mikroskopi

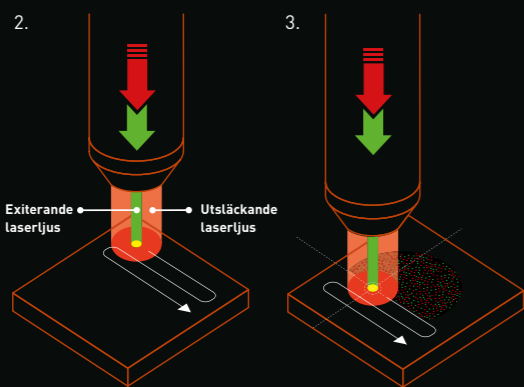
Konventionellt ljusmikroskop



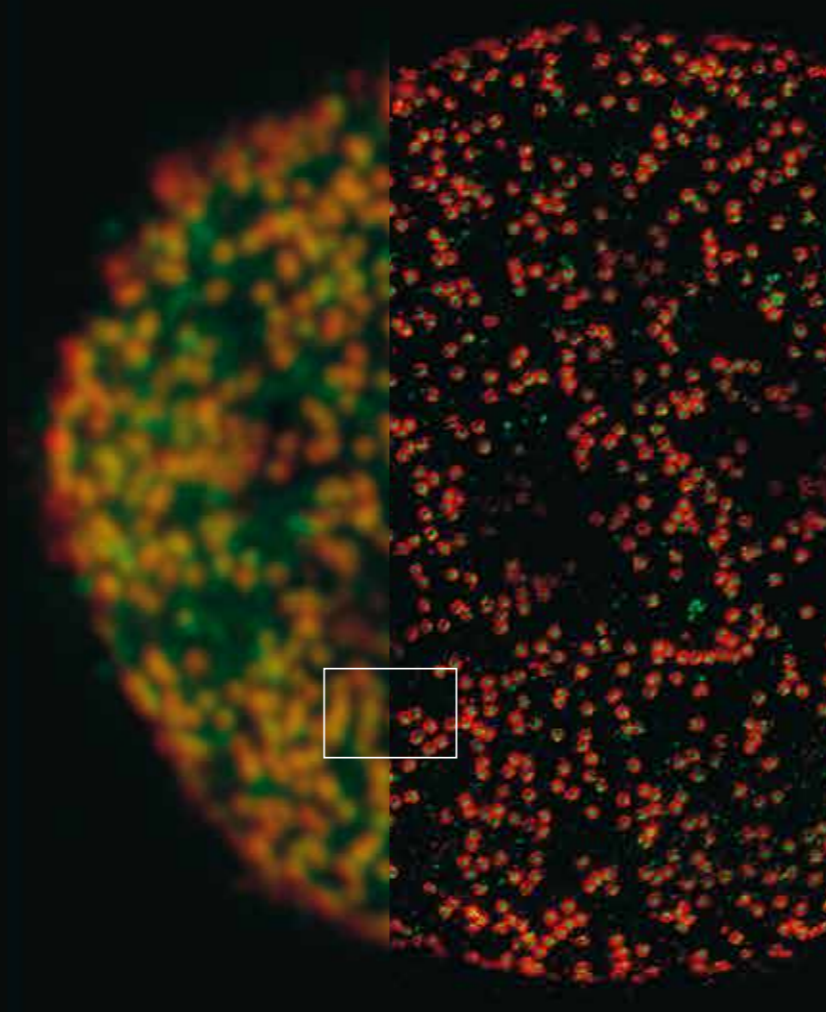
## 2000 – Hell utvecklar STED-mikroskopi

1. I ett konventionellt mikroskop är ljusstrålen bred och upplösningen blir aldrig bättre än 0,2 mikrometer.
2. Stefan Hell började använda två laserstrålar i mikroskopet. Den ena exciterar alla fluorescerande molekyler så att de börjar lysa. Den andra, som är ringformad, släcker ut

STED-mikroskop



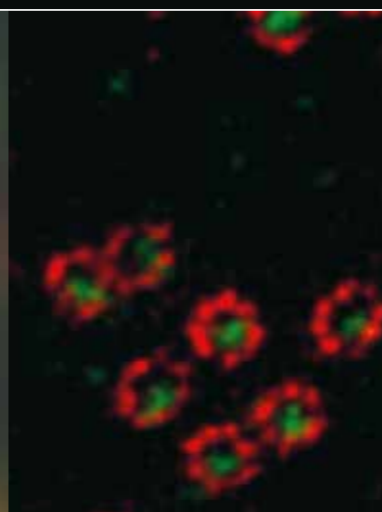
3. Laserstrålarna får svepa över provet, nanometer för nanometer. Forskarna vet exakt var på provet som strålen träffar och kan använda den informationen för att bearbeta bilden till en upplösning som är långt bättre än 0,2 mikrometer.



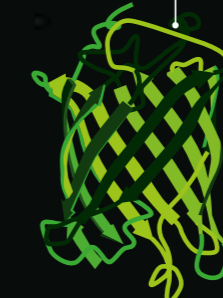
Konventionell mikroskopi



Superupplöst mikroskopi



Bilden visar en cellkärna och proteiner som bildar porer in i kärnan. Genom porerna transporteras viktiga molekyler in i och ut från kärnan. Bilden är tagen med STED-mikroskopi.



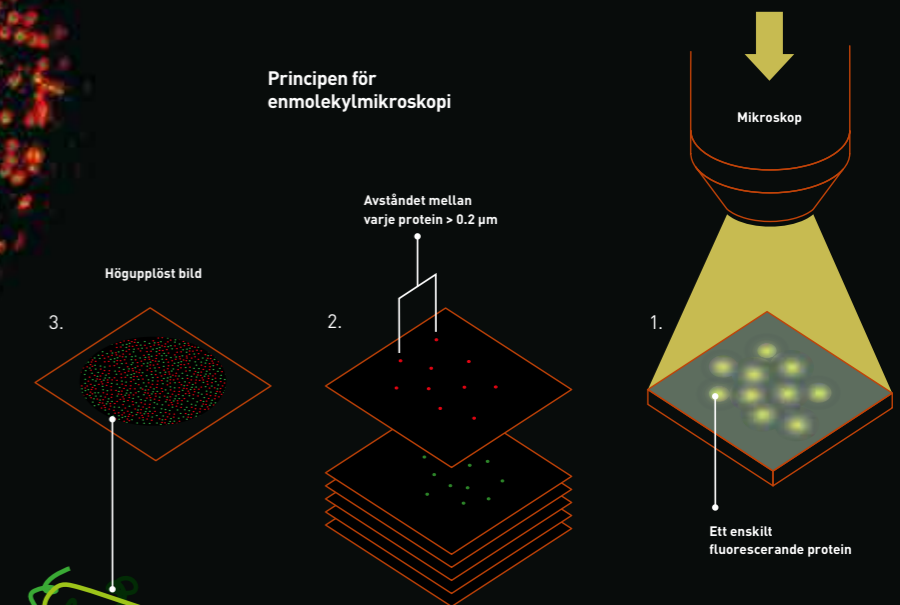
## 1989 – Moerner lägger grunden för enmolekylmikroskopi

Enmolekylmikroskopin bygger på en tidigare Nobelprisbelönad (2008) upptäckt: *det grönfluorescerande proteinet (GFP)*. På genteknisk väg kopplar forskare GFP till andra proteiner som de vill studera i cellen. GFP fungerar som en molekyllampa som visar var proteinet befinner sig. År 1997 hittade William E. Moerner en variant av GFP som gick att slå på och av, som en liten molekyllampa med en strömbrytare.

## 2006 – Betzig utvecklar enmolekylmikroskopi

1. Eric Betzig kringgick Abbes gräns med hjälp av en GFP-variant liknande den Moerner tagit fram. Med hjälp av en svag ljuspuls väckte han en bråkdel av alla fluorescerande GFP i ett prov. Eftersom så få vaknade till liv var avståndet mellan dem stort och mikroskopet kunde urskilja varje enskild GFP. De fick lysa tills de bleknade medan en bild registrerades. Sedan väckte Betzig en ny undergrupp av GFP till liv och tog en ny bild. Proceduren upprepades tills alla GFP i provet hade lyst och ett tusental bilder hade registrerats.
2. De suddiga bilderna bearbetades med sannolikhetssteori så att de blev mycket skarpare.
3. När Betzig lade alla bilderna på varandra framträdde en högupplöst helhet där enskilda proteiner gick att urskilja.

## Principen för enmolekylmikroskopi



## Eric Betzig

Amerikansk medborgare. Född 1960 i Ann Arbor, MI, USA. Gruppledare vid Janelia Research Campus, Howard Hughes Medical Institute, Ashburn, VA, USA.

## Stefan W. Hell

Tysk medborgare. Född 1962 i Arad, Rumänien. Forskningsledare vid Max Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen och chef vid Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Tyskland.

## William E. Moerner

Amerikansk medborgare. Född 1953 i Pleasanton, CA, USA. Harry S. Mosher Professor in Chemistry and Professor, by courtesy, of Applied Physics vid Stanford University, CA, USA.

