

Neue „Augen“ für Biologen

Uli Dammer und Martin Hegner

Anwendungen der Raster-Kraftmikroskopie in der Biologie

Auch in der Biologie eröffnet die neue Raster-Sondenmikroskopie (SPM) vielfältige aufregende Möglichkeiten. Die moderne Biologie kann als Beispiel dienen für ein Forschungsgebiet, das durch immer bessere mikroskopische Beobachtungsmöglichkeiten wesentlich geprägt und vorangebracht wird. Die Entdeckung der Zellen mit Hilfe des Lichtmikroskops durch Anton van Leeuwenhoek machte in der zweiten Hälfte des 17. Jahrhunderts den Anfang, und bis heute helfen immer „schärfere Augen“, das heisst mikroskopische und spektroskopische Methoden, den Forschern, weiter in die Geheimnisse der Natur vorzudringen.

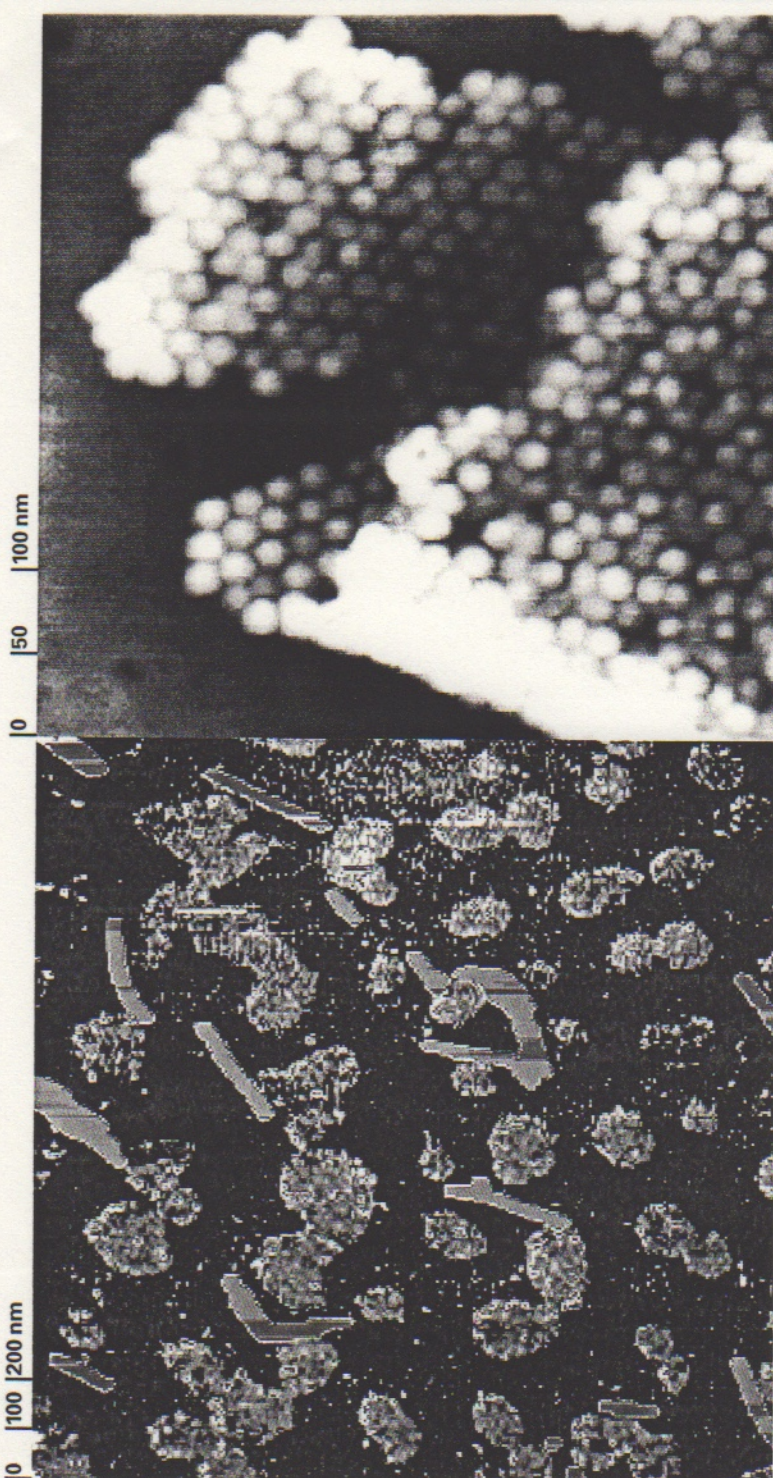
Untersuchung empfindlicher biologischer Strukturen

Neben der klassischen optischen Lichtmikroskopie, ein immer noch unentbehrliches und sich stets weiter entwickelndes Hilfsmittel („Interferenzkontrast“, „konfokale Mikroskope“, vergleiche uni nova Heft 69/93), sind vor allem die verschiedenen Spielarten der Elektronenmikroskopie, die das Auflösungsvermögen in geradezu phantastische Grössenordnungen gebracht haben, zu nennen. Hier wird strukturelle Information mit teilweise molekularer Auflösung unter speziellen Bedingungen gewonnen, das heisst, die Proben werden getrocknet, in ein Hochvakuum gebracht und dann meist mit Metall bedampft oder auf andere Weise kontrastverstärkt. Anschliessend wird die Probe mit einem mehr oder weniger intensiven Elektronenstrahl beschossen. Diese manchmal recht drastischen Eingriffe in die empfindlichen biologischen Strukturen können teilweise mit den neuen Raster-Sondenmethoden vermieden werden. Ihr grosser Vorteil ist, dass man die Proben zum Beispiel auch in ihrer natürlichen Umgebung oder anderen chemischen Lösungen anschauen kann. Dies bietet die Gelegenheit, biochemische und physiologische Prozesse in ihrer natürlichen Umgebung mit molekularer Auflösung zu verfolgen.

Alternative zur Elektronenmikroskopie

Das Raster-Kraftmikroskop (SFM), bei dem wie vorher beschrieben eine feine Spitze die Probe zeilenweise abtastet, ist in der Lage, nanometergrosse Objekte abzubilden, unter Bedingungen, die den physiologischen weitgehend entsprechen. Da das SFM auch in Luft oder im Vakuum arbeitet, stellt es in vielen Fällen eine preisgünstige Alternative zur Elektronenmikroskopie dar.

Natürlich möchten wir Biomoleküle nicht nur abbilden können, sondern auch herausfinden, welche Rolle sie in der Natur spielen, das heisst ihre Funktion bestimmen. Die molekulare Funktion von Biomolekülen kann mit zahlreichen biochemischen, elektrophysiologischen und molekularbiologischen Methoden untersucht werden. Es ist schwierig, elektronenmikroskopische und analytische Untersuchungsmethoden zu kombinieren und so Struktur und Funktion in Beziehung zu setzen. Hier kommt das SFM zum Zuge. Es misst topografische Informationen und Kraftwechselwirkungen („force mapping“) an Oberflächen, also direkt dort, wo die meisten regulatorischen biochemischen Prozesse stattfinden.

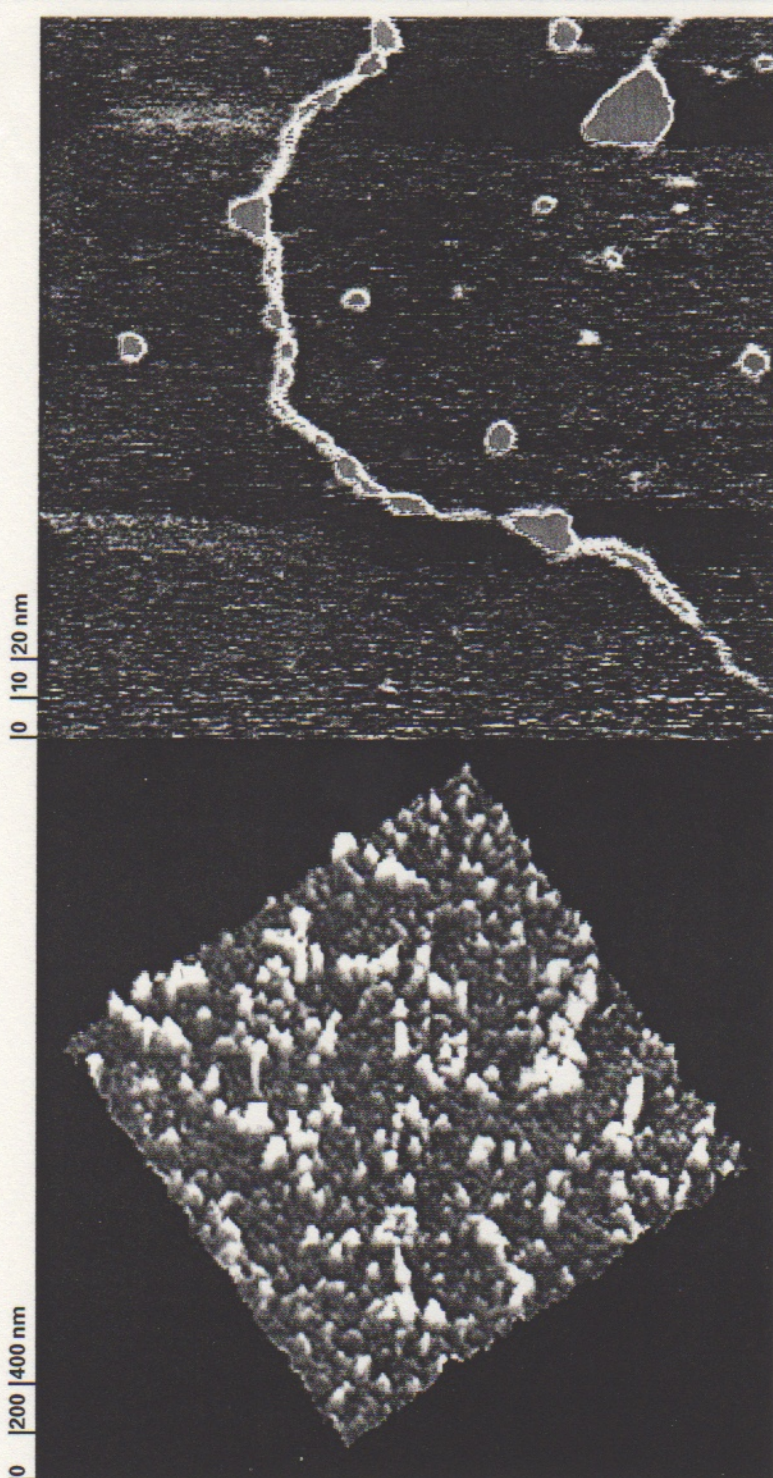


Pflanzliche und tierische Zellen sind mit dünnen Membranen umgeben, die gewöhnlich aus mehreren Schichten bestehen. Durch diese Membranen geschieht der gesamte Stoffwechsel der Zellen, zum Beispiel die Nahrungsaufnahme der Zelle. Das SFM Bild zeigt einen Ausschnitt aus der Zellmembran eines Bakteriums (*Deinococcus Radiodurans*). Man findet eine wohlgeordnete hexagonale Struktur aus Proteinringen mit einer Periodizität von 18 nm.

Noch kleiner als Bakterien sind bekanntlich Viren, die im wesentlichen nur aus einem Stück DNA (Desoxyribonukleinsäure), umgeben von einem Proteinmantel, bestehen. Das Bild zeigt einzelne Viren, die für den Menschen ungefährlich sind, bevorzugt jedoch Tabakpflanzen befallen (tobacco mosaic virus). Die stäbchenförmigen Viren sind etwa 300 nm lang und haben einen Durchmesser von etwa 18 nm.

Mit sanfter Sensibilität

Man kann sich fragen, welche die besonderen Herausforderungen sind, denen sich der Kraftmikroskopiker gegenüber sieht, wenn er mit biologischen Proben arbeitet. Im Vergleich zu metallischen oder mineralischen Stoffen sind biologische Strukturen und Moleküle sehr weich. Es besteht somit die Gefahr, dass sie während der Messung zerstört oder zumindest modifiziert werden. Deshalb hat man Methoden entwickelt, um die Kraftwechselwirkung zwischen Probe und Spitze so gering wie möglich zu halten. So kann man zum Beispiel die Sondenspitze leicht vibrieren lassen und so erreichen, dass sie immer nur sanft und senkrecht auf die Probe drückt („tapping“). Es ist auch nützlich, das zu beobachtende Objekt möglichst gut auf dem Substrat zu fixieren, was am besten mit festen chemischen Bindungen gelingt („kovalente Immobilisierung“).



Selbst sehr komplexe Biomoleküle wie die DNA, Trägerin unserer Erbinformationen, können mit SPM abgebildet werden. Das Bild zeigt DNA-Stränge, Träger unserer Erbsubstanz. Diese Fäden sind Nähgarn nicht unähnlich, allerdings sind sie mit einem Durchmesser von nur 2 nm etwa 100 000 mal dünner. Mit Hilfe einzelner Unterabschnitte dieses Doppelstrangmoleküls lassen sich beispielsweise Wechselwirkungen zwischen DNA und bestimmten Proteinen untersuchen.

Es ist in der Medizin sehr wichtig, bestimmte Krankheitserreger (hier: Antigene) oder die dagegen gerichteten Abwehrstoffe des Immunsystems (Antikörper) im Blut nachweisen zu können. Dazu entwickelt man seit einiger Zeit sogenannte Biosensoren, indem man zum Beispiel Antikörper auf einen Sensor bringt, die dann spezifisch mit den Antigenen reagieren können. In Zusammenarbeit mit der Firma Hoffmann-La Roche haben wir solche Sensoroberflächen mit dem Kraftmikroskop charakterisiert. Die Abbildung zeigt einen 2 µm grossen Ausschnitt einer Goldoberfläche, die mit Antikörpern beschichtet wurde. Die Erhebungen sind die einzelnen Moleküle. In Zukunft sollen auch direkt mit dem SFM die Wechselwirkungen zwischen Antikörpern und Antigenen studiert werden.

Viele biologische Objekte von Zellen bis zu individuellen Molekülen konnten mit SPM erfolgreich abgebildet werden. Beispiele umfassen DNA Moleküle (Erbinformation), Proteine, Zellmembranen sowie komplette Zellen. Dynamische Prozesse, physikalisch/chemische Eigenschaften wie Elastizität oder Viskosität und intermolekulare Wechselwirkungen wurden untersucht.

Dr. Dario Anselmetti, Projektleiter

Uli Dammer, Assistent

Markus Dreier, Assistent

Dr. Martin Hegner, Gastwissenschaftler (Biochemiker)