

# Videnskaben i øjet

## - et billede siger mere end tusind ord

Med moderne mikroskopiteknikker er det muligt at tage detaljerede billeder af selv de mindste biologiske strukturer. Sådanne billeder kan rumme stor skønhed, hvilket nu har udmøntet sig i den virtuelle udstilling "Science in Your Eyes".

Af forskere og studerende ved MEMPHYS

■ I vores søgen efter viden om os selv og vores omgivelser har afbildningen af de undersøgte objekter altid spillet en afgørende rolle for dokumentation og beskrivelse af det observerede. Billeder har også været vigtige for formidlingen af den indsigt, som vi har opnået ved forskning og videnskabelige observationer. Tegning og fotografi, og senere video og digitaliserede billeder, er blevet brugt i formidlingens tjeneste, først i form af statiske og senere levende billeder. Samtidig har der gennem videnskabens historie været et stedse stærkere ønske om at se flere og mindre



Leonardo da Vincis tegning af et foster.

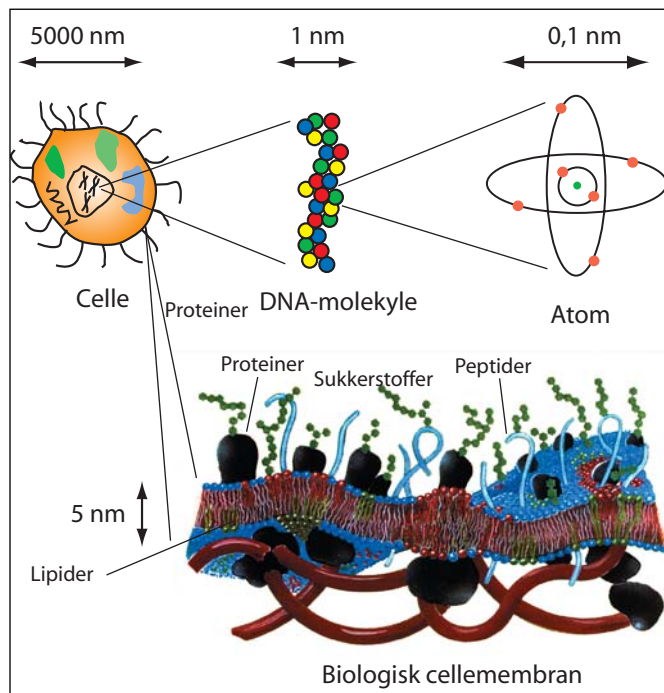
detaljer, fra det, som er synligt med det blotte øje (ca. 0,2mm), helt ned til stoffets mindste dele, molekyler og atomer, som måles i nanometre, hvor en nanometer (nm) er en milliontedel af en millimeter.

### Mikroskoper

En lang række tekniske opfindelser, mikroskoper, er gennem tiden blevet gjort med henblik på at forstærke det menneskelige syn og se ind i den mikroskopiske verden. I næsten alle tilfælde har opfindelserne ført til videnskabelige gennembrud. Mikroskopi af forskellig type er således grundlaget for vores forståelse af materialers struktur og levende stoffers opbygning. Mikroskoper har spillet en meget vigtig rolle for diagnosticering og behandling af sygdomme, ikke mindst sygdomme som skyldes mikroorganismer.

Det optiske lysmikroskop blev opfundet i slutningen af det 16. århundrede og havde en forstørrelsesgrad på under 10 gange. Lysmikroskoper benytter sig af lys og glaslinser, og med et moderne lysmikroskop kan man opnå en forstørrelse på helt op til 1000 gange.

Moderne forskning benytter sig af lasere og avancerede optiske teknikker i såkaldt



Naturen har gennem evolutionen over de sidste 3,5 milliarder udviklet sin helt egen unikke nano-teknologi i form af celler bestående af livets molekyler, proteiner, nukleinsyrer (DNA, RNA, gener), kulhydrater og fedtstoffer (lipider), som er organiseret i strukturer fra omkring 1nm op til ca. 10.000nm.

konfokalmikroskopi og laser-skanning-mikroskopi (se boks). Ofte udnyttes særlige farvestoffer (fluorescerende molekyler) inden for fluorescensmikroskopi, som muliggør meget nøjagtig billeddannelse med stor

kontrast og en betydelig dybdeskarphed.

Lysets bølgelængde sætter grænser for, hvor små ting man kan se med et lysmikroskop. Det er derfor en fysisk umulighed at se noget, der er meget

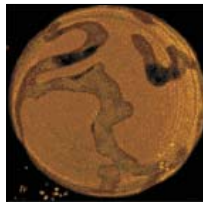
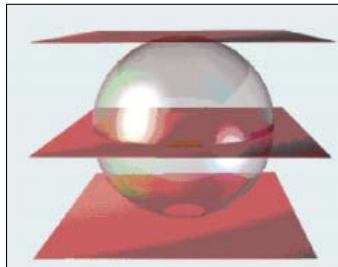
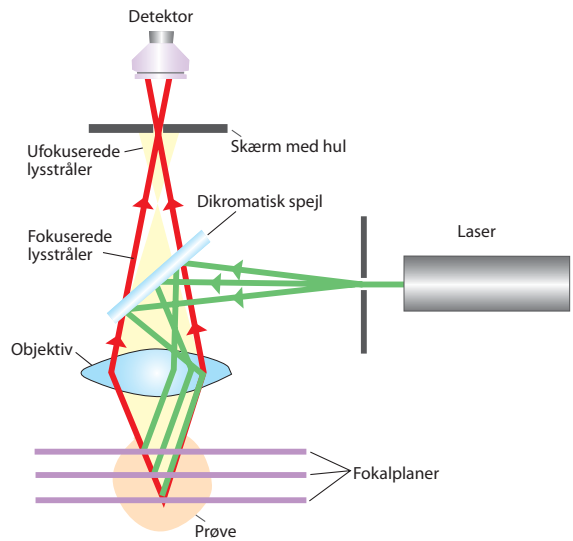
## Konfokalmikroskopi og anvendelse af lasere

Hovedprincippet i et almindeligt lysmikroskop er, at man ved belysning af emnet, som evt. kan indeholde stoffer der fluorescerer, fokuserer lyset ved hjælp af linser, så der dannes et billede. Imidlertid bliver billedet ofte udtværet af lys, som ikke er i fokus. Dette problem kan undgås ved en særlig mikroskopteknik, såkaldt laser-skanning konfokalmikroskopi, som blev opfundet i 1980'erne.

Ved denne metode benytter man en laser til at fokusere lys med en ganske bestemt bølgelængde i et lille plet på det undersøgte emne (fokalplanen). Ved at skanne laserpletten hen over emnet kan der dannes et helt todimensionalt billede, som fremstår klart ved forstærk-

ning i en ultra-følsom fotomultiplikator-detektor. Detektoren frembringer dernæst billedet på en computerskærm. Lys, som ikke er i fokus, er her et mindre problem, fordi laseren koncentrerer det meste af lyset i et lille område. Desuden er der indsat en skærm med et lille hul, der forhindrer resterne af det lys, som ikke er i fokus, i at komme ind i detektoren.

Ved at skanne laseren hen over flere fokalplaner kan man danne en serie af todimensionale snit gennem det undersøgte emne. Disse snit kan derefter sættes sammen i computeren til et komplet tredimensionalt billede. Metoden er simpel, hurtig og robust og har derfor et bredt anvendelsesområde.



Laserskanning gennem et liposom (til venstre) gennem en række planer, som hver giver en fluorescenskontur (i midten), og som bagefter kan rekonstrueres til et tredimensionalt billede af liposomet (til højre). Liposomet består her af en blanding af fedtstoffer, som ligner indholdet i huden.

# Atomarkraftmikroskopi

Atomarkraftmikroskopi (AFM) blev opfundet i 1986. AFM bygger på et simpelt mekanisk princip, hvor vekselvirkningerne mellem prøven og en meget spids nål (en "tip"), som skannes hen over prøvens overflade, måles ved hjælp af ultrafølsom laserteknik. Med denne teknik er det muligt under ideale forhold at opnå en opløsning på atomart niveau.

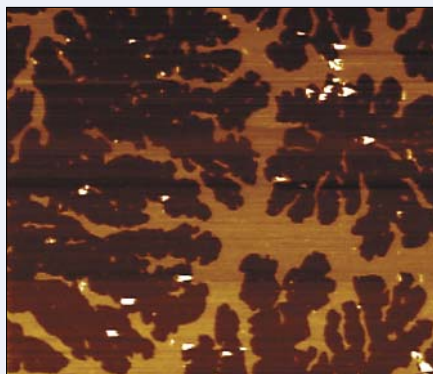
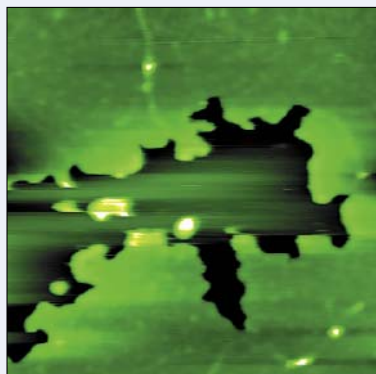
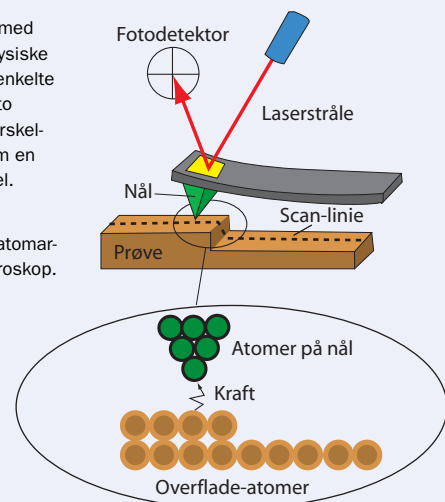
For vandige opløsninger af blødt biologisk materiale er

den rumlige opløsning normalt noget mindre. Ved passende præparation af prøven, f.eks. fiksering på et fast substrat, giver AFM mulighed for at danne billeder af den topografiske struktur af prøven, og i visse tilfælde er det muligt at følge tidsudviklingen af en biokemisk proces, f.eks. en enzymatisk reaktion.

AFM gør det muligt at måle kræfter, der er så svage som en titusindedel af en stærk (kova-

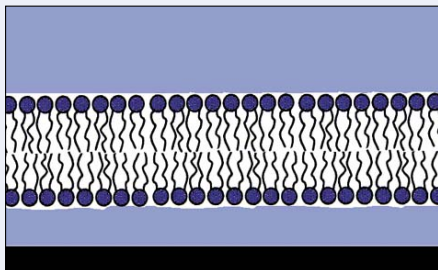
lent) kemisk binding. Dermed er det muligt at studere fysiske vekselvirkninger mellem enkelte molekyler, f.eks. mellem to DNA-molekyler, mellem forskellige proteiner, eller mellem en receptor og et lægemiddel.

Princippet i et atomarkraftmikroskop.

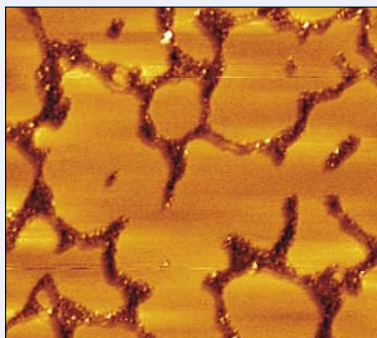


Fotos: Eksempler på atomarkraftmikroskopiske undersøgelser af biologiske overflader, her lipidmembraner. Billedet til venstre viser nedbrydningen af en membran under indvirkning af et fedtnedbrydende enzym. Billedet til højre viser strukturen i en membran dannet af en blanding af to forskellige fedtstoffer.

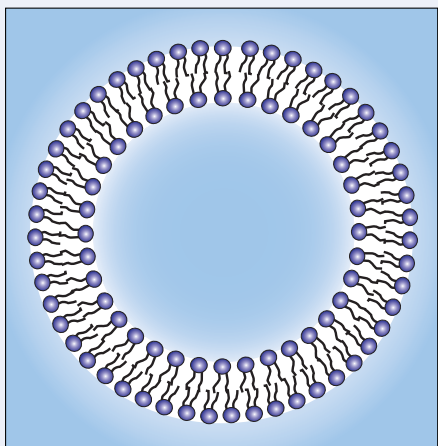
# Membraner og liposomer



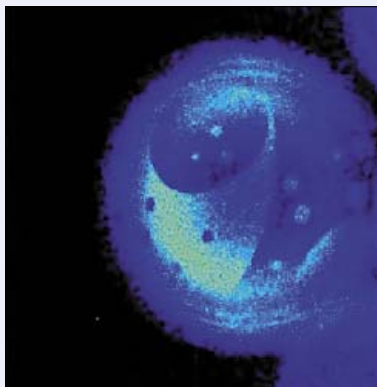
Skematisk illustration af et dobbeltlag af lipid (fedstof) på en fast overflade. Sådanne lipid-dobbeltlag er velegnede til studier med atomarkraftmikroskopi (AFM).



AFM-billede af en lipidmembran dannet af de lipider, som findes i cellens kraftværker: mitochondrierne. Membranen er tilsat et protein, der genererer energi til cellen ved at omdanne ilt til vand. De små lyse prikker i de mørke områder er enkelte proteinmolekyler (ca. 15 nm i diameter).



Skematisk illustration af liposom (lukket skal af et lipiddobbeltlag), som er velegnet til studier med fluorescensmikroskopi. Små liposomer kan benyttes til målrettet fremføring af lægemidler, f.eks. i cancerterapi.



Fluorescensmikroskopi af et liposom, som er dannet af de særlige fedtstoffer (lipider), som findes i huden. Billedet viser, at lipiderne er ujævnt fordelt hen over membranen.

mindre end bølgelængden af violet lys, dvs. ca. 400nm. Hvis man imidlertid bruger elektroner, som har en meget mindre bølgelængde, er det muligt med et såkaldt elektronmikroskop at se objekter, som f.eks. enkelte atomer, med en nøjagtighed på 0,1nm.

## Visualisering af biologiske strukturer

Et afgørende gennembrud inden for billeddannelse af meget små genstande blev gjort i 1980'erne i form af de såkaldte scanning-probe teknikker, som gør det muligt at visualisere en overflade i meget stor detalje. Når det drejer sig om at danne billeder af biologiske systemer

er såkaldt atomarkraftmikroskopi (AFM) af særlig interesse (se boks). Teknikken, som blev opfundet i 1986 er på vej til at revolutionere den strukturelle biologi, fordi den gør det muligt at afbilde blødt, biologisk stof, f.eks. en celle, i naturligt vandigt miljø. Den rumlige opløsning rækker fra et enkelt protein- eller DNA-molekyle på nogle få nm op til størrelsen af en levende celle (nogle tusinder nm).

Afbildning af struktur og funktion af biologiske systemer på mikroskopisk skala er et værdifuldt værktøj til at opnå en forståelse af biologiske processer samt for diagnostik af sygdomme. Lysmikroskopet har

derfor været et helt centralt værktøj inden for biologisk og medicinsk forskning i århundreder. Ved at anvende fluorescensmikroskopi kan man opnå forbedret kontrast samt visualisere udvalgte vævstyper, sub-cellulære strukturer eller specielle grupper af molekyler. Denne teknik bygger på udsendelse af lys fra specielle fluorescerende molekyler, som enten findes naturligt i systemet, introduceres udefra eller indbygges ved genteknologiske metoder.

## Naturens egen nanoteknologi

Selv om det ofte er nemt, om end teknisk indviklet, at tage billeder med moderne mikro-

skopi-teknikker, kan det være temmelig svært at fortolke, hvad billederne viser. Det gælder især, når det drejer sig om meget fine detaljer, som ikke kendes fra vores daglige erfaringsverden.

Oftentimes er de observerede strukturer påvirket af - eller måske endda dannet som følge af - præparationsmetoderne eller selve måleteknikken. Det kræver derfor stor erfaring, samt et sammenligningsgrundlag fra billeddannelse af i forvejen kendte strukturer, at foretage en kvantitativ pålidelig fortolkning af billederne.

For at illustrere anvendelsen af fluorescensmikroskopi og atomarkraftmikroskopi skal vi her se på den mest udbredte cellulære struktur i alt levende stof, nemlig membraner

Cellemembraner består af et dobbeltlag af fedtstoffer (lipider), hvortil der er knyttet sukkerstoffer, proteiner og enzymer. Membraner er typisk 5nm tykke, og de er eksempler på naturens egen unikke nanoteknologi (se figur 1).

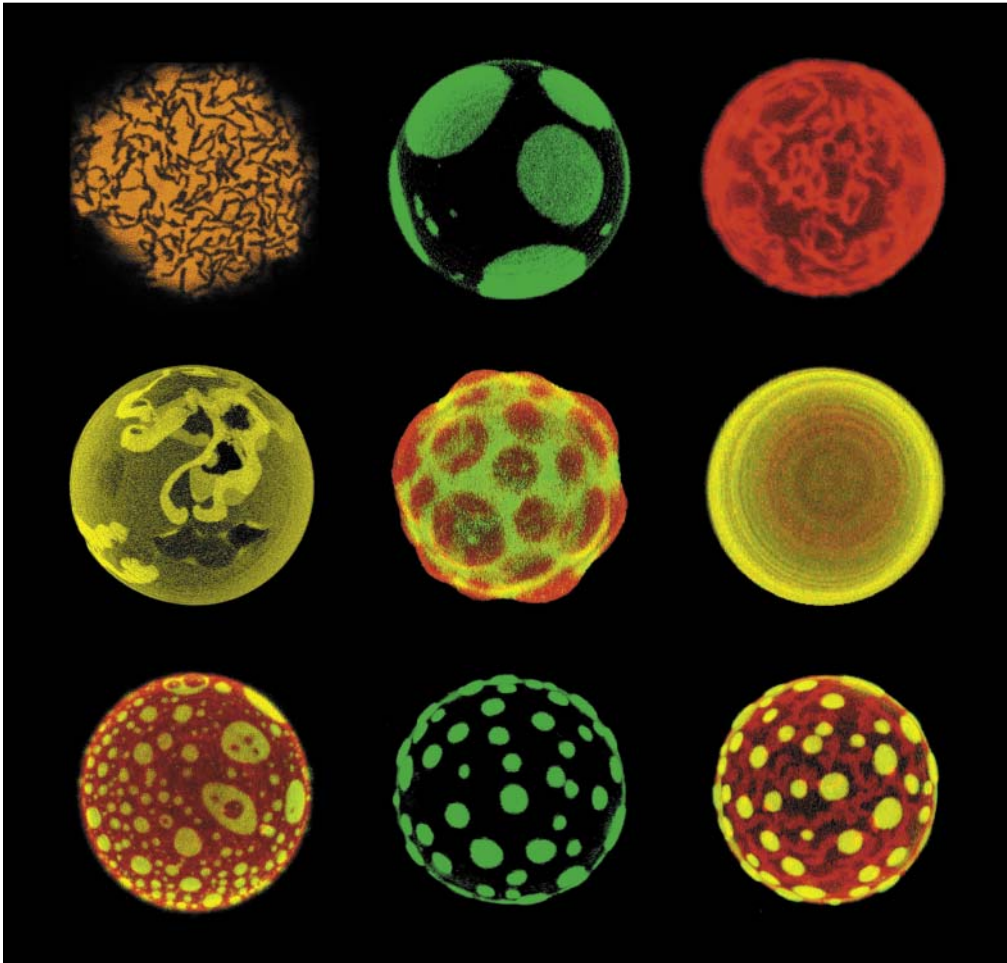
Fedtstoffer (lipider) organiseres spontant i vand i form af dobbeltlag, som er den simpleste form for en cellemembran. Disse dobbeltlag kan enten lægges fladt ud på en fast overflade eller lukkes omkring sig selv i et såkaldt liposom (se boks).

Fordelingen og i nogle tilfælde strukturen af lipidmolekylerne i sådanne dobbeltlagsmembraner kan studeres i stor detalje ved hjælp af fluorescensmikroskopi og atomarkraftmikroskopi. Denne fordeling er vigtig for en lang række bioke-miske processer, som er knyttet til cellens liv, f.eks. vækst, transport af energi og materiale, nerveaktivitet, osv. Fordelingen er også vigtig for virkningsmekanismen af en række lægemiddelstoffer.

## Tag fat i molekylerne

Udover at visualisere overfladestrukturen af lipidmembraner med og uden funktionelle proteiner, er det også muligt med både fluorescensmikroskopi og atomarkraftmikroskopi at følge tidsafhængige processer på





Sære kloder: Liposomer dannet af forskellige fedtstoffer og proteiner. Den typiske størrelse er ca.  $40\mu\text{m}$ . Fluorescensmikroskopi: Luis Bagatolli.

membraner, f.eks. virkningen af enzymer, lægemidler og andre stoffer, som påvirker membranens struktur. F.eks. er det muligt at visualisere virkningen af ét enkelt fedtnedbrydende enzym på en lipidmembran (se figur).

Man kan ligeledes udnytte atomarkraftmikroskopets meget store rumlige opløsning og dets store følsomhed til at måle kraften mellem enkelte molekyler - f.eks. mellem et lægemiddel-molekyle, som er fastgjort til atomarkraftmikroskopets spidse nål og en receptor på en overflade. Endvidere er det muligt at trække ét enkelt proteinmolekyle ud af en membran. Denne form for enkelt-molekylkraftspektroskopikopi har i de senere år været med til at åbne et helt nyt vindue ind i biosfikkens verden. og bla. ført til en kvan-

titativ beskrivelse af foldning og udfoldning af membranbundne proteiner.

#### Visualisering i formidlings-tjeneste

Som et led i bestræbelserne på at finde nye og utraditionelle veje til at formidle naturvidenskab og teknik for en bredere offentlighed har forskere og studerende ved Danmarks Grundforskningsfonds MEMPHYS-Center for Biomembran-fysik ved Syddansk Universitet i Odense fremstillet et virtuelt galleri af billeder, som er optaget med moderne mikroskopi-teknikker, specielt fluorescensmikroskopi og atomarkraftmikroskopi. Galleriet består i øjeblikket af omkring 50 billeder, og det er planlagt løbende at udvide galleriet. Billederne er udvalgt ud fra et kriterium, som kombinerer billedernes

videnskabelige og æstetiske værdier. Hovedideen er at fange opmærksomhed gennem skønhed og æstetik, for derefter at give en videnskabelig forklaring på den genstand og det fænomen, som billedet repræsenterer. Det er forhåbningen, at denne kombination af "kunst" og videnskab kan medvirke til at skabe større interesse for naturvidenskabens og teknikens verden, både hos den brede befolkning og hos unge, som står i et uddannelsesvalg. Den virtuelle udstilling er nemt tilgængelig via internettet, som også giver mulighed for at søge yderligere information.

En del af det virtuelle galleris billeder er gengivet i denne artikel. Alle billederne med forklaringer kan hentes på hjemmesiden <http://scienceinyoureyes.memphys.sdu.dk>

Billederne er optaget af forskere og studerende ved Danmarks Grundforskningsfonds Center for Biomembran-fysik (MEMPHYS) ved Syddansk Universitet i Odense. [www.memphys.sdu.dk](http://www.memphys.sdu.dk)

#### Mikroskopi

Luis Bagatolli, Adam Cohen Simonsen, Danielle Keller, Thomas Kaasgaard, Jonas Henriksen, Amy Rowat og Matthias Weiss (MEMPHYS)

#### Grafisk design og layout

Tove Nyberg, Fysisk Institut, SDU.

#### Idé

Ole G. Mouritsen, MEMPHYS og Jonas Drotner Mouritsen, Kolding Designskole.

#### Videre læsning

Giant vesicles, LAURDAN and two-photon fluorescence microscopy: direct evidence of lipid lateral separation in bilayers. (L. A. Bagatolli, S. Sanchez, T. Hazlett and E. Gratton) *Meth. Enzymol.* 360, 481-500 (2003).

Acyl-Coenzyme A organizes laterally in membranes and is recognized specifically by acyl-Coenzyme A binding protein (A. C. Simonsen, U. Bernchou Jensen, N. J. Førgeman, J. Knudsen, and O. G. Mouritsen) *FEBS Lett.* 552, 253-258 (2003).

Life – as a Matter of Fat. *The Emerging Science of Lipidomics* (O. G. Mouritsen) Springer Verlag, in press (2005).

Se mere på <http://scienceinyoureyes.memphys.sdu.dk>