

Cores chegam ao microscópio eletrônico

Pesquisadores dos EUA produzem as primeiras imagens coloridas no mais potente equipamento de ampliação de seres e objetos. A solução facilitará, por exemplo, a identificação de componentes presentes em vírus e bactérias

Os microscópios eletrônicos são os equipamentos disponíveis mais potentes para se observar o minúsculo mundo composto de células e moléculas. Os mais avançados conseguem aumentar uma imagem em até 10 milhões de vezes. Porém, até recentemente, apenas imagens monocromáticas eram geradas. Foram necessários 15 anos de trabalho para que pesquisadores da Universidade da Califórnia em San Diego (UCSD), nos Estados Unidos, desenvolvessem um método para que esses aparelhos passassem a produzir imagens coloridas.

O grupo foi supervisionado por Mark Ellisman, diretor do Centro Nacional de Microscopia e Pesquisa em Imagiologia da universidade norte-americana, e pelo falecido Roger Tsien, ganhador do Prêmio Nobel de Química em 2008 e visionário em imagem celular. Os cientistas ilustraram a descoberta com imagens de membranas celulares e sinapses entre dois neurônios, em um artigo publicado na edição de ontem da revista *Cell Chemical Biology*.

A técnica permite que até três cores (verde, vermelho e amarelo) sejam adicionadas a uma imagem. Um sensor instalado no microscópio detecta elétrons emitidos por íons metálicos, que são espalhados sobre o objeto a ser observado. Dessa forma, a perda de energia dos metais é registrada pelo aparelho como uma cor. As substâncias devem ser adicionadas ao espécime — uma célula, por exemplo — uma de cada vez, criando um mapa de cor completo, adicionado à imagem microscópica no fim do processo.

“É como ver uma imagem colorida pela primeira vez, depois de conhecer apenas preto e branco. Estivemos tão acostumados, pelos últimos 50 anos, às micrografias eletrônicas com apenas uma cor que, agora, é difícil imaginar voltar atrás”, disse o principal autor do estudo Stephen Adams, químico na UCSD. “Esse método tem várias aplicações potenciais na biologia. No artigo, demonstramos como ele pode distinguir entre compartimentos



É como ver uma imagem colorida pela primeira vez, depois de conhecer apenas preto e branco (...) Esse método tem várias aplicações potenciais na biologia. No artigo, demonstramos como ele pode distinguir entre compartimentos celulares, rastrear proteínas e marcar células”

Stephen Adams, principal autor do estudo e químico da Universidade da Califórnia em San Diego

celulares, rastrear proteínas e marcar células”, complementou.

Sucessão de metais

Para criar imagens com cores, os pesquisadores precisaram encontrar complexos metálicos estáveis, que não deteriorassem rapidamente, borrando o resultado final. As substâncias deveriam emitir também uma assinatura distinta ao perder energia para que fossem reconhecidas pelo sensor. Os cientistas utilizaram íons de lantânio, cério e praseodímio — metais da família dos lantanídeos —, sobrepondo cada complexo metálico ao objeto, já no microscópio, por vez.

“Um desafio que nos impediu de publicar a descoberta mais cedo, porque nós temos o conhecimento e os aparelhos necessários há quatro anos, foi que precisávamos de uma maneira de depositar os componentes metálicos em sequência”, contou Mark Ellisman, coautor do estudo. “Gastamos uma enorme quantidade de tempo tentando descobrir como depositar um dos lantanídeos e, então, limpá-lo para que não reagisse ao depositar um segundo elemento no mesmo local.”

Depois de estabelecer o processo de aplicação, a equipe ilus-

trou o poder do método ao visualizar uma sinapse compartilhada por dois neurônios. Eles também observaram peptídeos (conjuntos de aminoácidos) atravessando a membrana de uma célula. A técnica desenvolvida é análoga à microscopia fluorescente, ferramenta que detecta a luz colorida liberada por proteínas brilhantes marcadas em um espécime biológico, mas se beneficia de detalhes que só podem ser observados pelos microscópios eletrônicos, que são mais poderosos do ponto de vista da visualização.

Trabalho póstumo

O artigo publicado na *Cell Chemical Biology* foi um dos últimos que Roger Tsien, ganhador do Nobel de Química pela descoberta e aplicação da fluorescência verde em imagens biológicas, viu aceitos por uma revista científica antes da sua morte, em agosto, durante um passeio de bicicleta. O químico realizou os primeiros **experimentos** para desenvolver componentes necessários à imagiologia colorida quase 15 anos atrás.

“Um tema que esteve presente em todos os trabalhos do Roger foi o desejo de se olhar mais de perto para o funcionamento de uma célula”, disse Adams. “Com

todas as técnicas de fluorescência que introduziu, ele foi capaz de fazer isso em células vivas e fazer vídeos delas em ação, com cores vívidas. Mas ele sempre quis olhar mais de perto.”

“Esse é um exemplo de como Roger era brilhante na química e como ele viu que, se pudéssemos criar esse método, seríamos capazes de aproveitar as vantagens dos microscópios eletrônicos”, acrescentou Ellisman, colaborador de longa data e coautor com Tsien em dezenas de estudos. “A maior vantagem que nós observamos é que você obtém contrastes fracos pela forma como a coloração funciona. Então, rótulos coloridos específicos dão contexto para toda a riqueza de informações no cenário no qual as moléculas estão operando.”

Os autores dizem que existem mais estudos a serem feitos para aperfeiçoar o processo de aplicação dos íons metálicos e produzir imagens com mais de três cores. Pode também haver maneiras de aumentar a quantidade de metal a ser depositada, o que ajudaria a obter uma resolução maior nas imagens. O uso da solução poderá ser ampliado imediatamente, uma vez que ela utiliza ferramentas já presentes nos laboratórios.

Luminescência

Roger Y. Tsien ficou conhecido na comunidade química por modificar uma proteína luminescente para ser utilizada para facilitar a observação de células pelo microscópio.

A proteína foi descoberta em águas-vivas por Osamu Shimomura, que dividiu o Nobel com Roger e com Martin Chalfie, o primeiro a inserir a molécula em outro organismo.

O laboratório de Tsien transformou a molécula em uma ferramenta capaz de emitir luz de diferentes cores e marcar diversas células em uma mesma amostra. Em 24 de agosto último, durante um passeio de bicicleta, na cidade de Eugene, nos Estados Unidos, perdeu a vida as 64 anos. A causa da morte não foi divulgada.