

George Emil Palade: ob stoletnici rojstva

Saša Lipovšek in Ana Jerenko

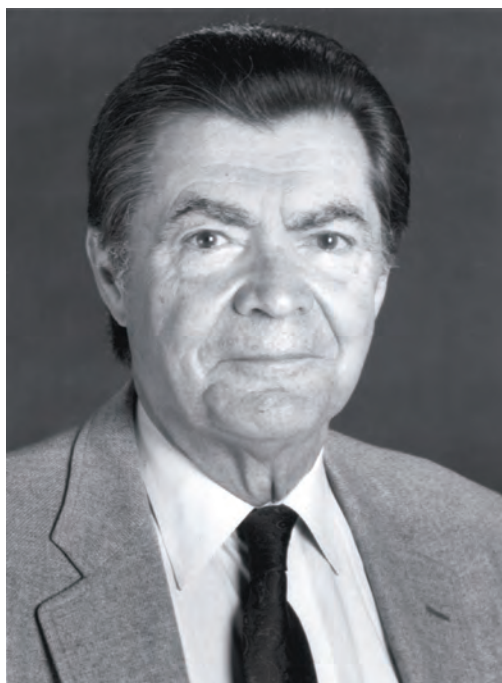
19. novembra lani bi George Emil Palade (1912–2008) praznoval svoj stoti rojstni dan. Vsi, ki se ukvarjamo s preučevanjem podrobne zgradbe ali ultrastrukture tkiv in celic ter pri svojem delu uporabljamo transmisijski elektronski mikroskop, smo mu hvaležni za številne iznajdbe na področju mikroskopije. Njegov genialni um in raziskovalni duh sta obogatila naše védenje o celici z mnogimi novimi spoznanji, ki danes pomenijo temeljna znanja o celičnih organskih in fizioloških procesih.

George Emil Palade je bil rojen v kraju Iași na severovzhodu Romunije. Njegova dovzetnost za okolje, njegov intelekt in težnja po novem ter eleganca povezovanja vsega trojega so bili neverjetni. Po študiju medicine v Bukarešti se je posvetil doktorskemu delu,

v katerem je raziskoval ledvice delfinov iz Črnega morja. Do leta 1946 je bil zaposlen na Inštitutu za anatomijo na Univerzi v Bukarešti. Takrat se je, star 34 let, z družino preselil v Združene države Amerike. Prvih nekaj mesecev bivanja v Združenih državah Amerike je raziskoval celične membrane na Univerzi v New Yorku. Ko pa je Palade videl prve fotografije ultrastrukture celic (mikrografije), ki jih je naredil Albert Claude, je bil zelo navdušen, zato se mu je pridružil pri njegovih raziskavah na Oddelku za patologijo in bakteriologijo na Inštitutu za medicinske raziskave Rockefeller. Albert Claude, rojen leta 1899 v Luxemburgu, se je v Združene države Amerike preselil leta 1929 in od takrat dalje je na omenjenem inštitutu vodil raziskovalno skupino za elektronsko mikroskopijo. V Belgijo, kjer je deloval pred prihodom v Združene države Amerike, se je Claude ponovno vrnil leta 1949.

Čeprav je Palade sprva nameraval ostati na podoktorskem študiju na Inštitutu Rockefeller le dve leti, se je njegovo tamkajšnje bivanje podaljšalo na 27 izjemno plodnih let in delo njegove raziskovalne skupine za elektronsko mikroskopijo je hitro postalo prepoznavno v svetu. V njegov laboratorij so prihajali izpopolnjevati svoje znanje raziskovalci različnih disciplin. Rezultat njihovega skupnega intenzivnega delovanja je bilo rojstvo moderne celične biologije, ključnega dogodka za nadaljnji razvoj biomedicinske znanosti.

Mikrografije celičnih struktur so omogočale prvi pogled v podrobno zgradbo znotrajce-



George Emil Palade.

Vir: <http://www.google.si/search?q=george+emil+palade&hl=sl&prmd=imvns0&itbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=qTz5T5mTLY3P4QS8tdCWBQ&ved=0CFkQsAQ&biw=1311&bih=626>

A STUDY OF FIXATION FOR ELECTRON MICROSCOPY

By G. E. PALADE, M.D.

(From the Laboratories of The Rockefeller Institute for Medical Research)

PLATES 19 TO 23

(Received for publication, November 5, 1951)

Microtomy for electron microscope studies has recently shown considerable progress due to a number of improvements such as the reduction of the advancing rate of the usual microtomes (1, 2), the embedding in hard plastics (3), and the introduction of glass knives (4). As a result of this progress, it is now possible to obtain sections of suitable thickness in sufficient yield to permit systematic study of practically any type of cell *in situ*. An appreciable number of electron microscope studies on sectioned material have already been published. Although they have provided interesting morphological information, the results with the technique have not thus far come up to expectations, particularly in the range of fine structure. This is due, in general, to the poor fixation of the specimens, although, in most instances, fixatives known to give good results in light microscopy have been used. It was soon realized, even before sectioning became practical, that as far as fixation is concerned, electron microscopy is going to be more exacting than light microscopy.

Using tissue cultured cells, Ferter, Claude, and Fullam (5), Porter (6), and later Barrer (7), found that fine cell morphology, as revealed by the electron microscope, is influenced to a considerable extent by the fixative employed. The authors first mentioned (5, 6) concluded that the best fixation was obtainable by treatment with OsO_4 vapors. This was stressed again recently by Porter and Kallman (8), who, in addition, studied in detail the influence of the duration of OsO_4 fixation upon the morphology of the specimen. In some of the studies on sectioned material, OsO_4 solutions were used as a fixative, but the results appeared to be less satisfactory in tissue blocks than in tissue cultures, even when the fixation was performed by perfusion. In the opinion of the writer, the addition of other reagents, such as potassium sulfate and potassium dichromate, to the OsO_4 solutions (9), does not seem to improve the situation materially.

The present paper reports a series of experiments conducted in order to find better conditions for the fixation of small blocks of tissue in OsO_4 solutions. The experiments indicate that: (a) in tissue blocks, OsO_4 fixation is preserted by an acidification of the tissue, (b) the quality of OsO_4 fixation is highly independent on the pH, and (c) the fixation can be considerably improved by buffering the OsO_4 solutions at pH 7.3-7.5 with acetate-veronal buffer.

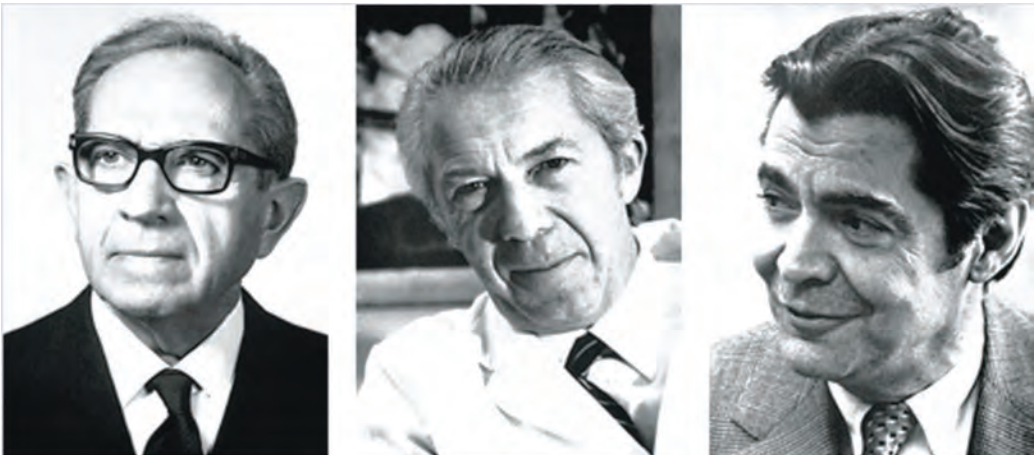
Naslovnica članka o uporabi osmijevega tetroksida v procesu fiksacije tkiva in celic.

Vir: George Emil Palade: a study of fixation for electron microscopy.

obdobju od leta 1945 do 1947 Porter, Claude, Fullam in Pickels opazili v celici strukturo, podobno čipki. Ta je kasneje postala znana kot endoplazemski retikel. V tistem času so spoznali tudi mitohondrije, lizosome, mikrosome.

Palade je razvijal metode fiksacije tkiva, ki so ključnega pomena za ohranitev znotraj-celičnih struktur v raziskavah ultrastrukture celic. Celica se kmalu ni več zdela tako »oddaljena«, saj je Palade marsikatero tehnično težavo rešil z uporabo osmijevega tetroksida za fiksacijo celic. Prispevek o tem postopku je napisal leta 1951, njegov slavni članek o uporabi osmijevega tetroksida v procesu fiksacije tkiva in celic pa je bil objavljen pred enainšestdesetimi leti. Protokol fiksacije, ki ga je vpeljal, je pomenil izjemen napredek v postopku priprave tkiva za mikroskopiranje, saj osmijev tetroksid omogoča fiksacijo nenasičenih maščobnih kislin, ki so pomembna sestavina celične membrane. Struktura celice se je z uporabo osmijevega tetroksida ohranjala, kar je posledično olajšalo tudi vse nadaljnje raziskave organelov in njihovih membran. Fiksacija z osmijevim tetroksi-

ličnega prostora. Čeprav sta prvi transmissijski elektronski mikroskop že leta 1931 skonstruirala Max Knoll in Ernst Ruska (slednji si je še s tremi raziskovalci leta 1986 razdelil Nobelovo nagrado za fiziko za dosežke na področju elektronske optike), so bili izboljšani primeri tovrstnih mikroskopov na voljo šele sredi prejšnjega stoletja. Kljub slabšim ločljivostim mikroskopa so v



Albert Claude, Christian de Duve in George Emil Palade. Vir: www.microscopy.org/images/posters/Palade.pdf.

dom je še danes ključna stopnja v postopku fiksacije tkiva in brez nje si je delo z elektronskim mikroskopom skoraj nemogoče predstavljati.

Raziskovalci so izpopolnjevali tudi druge stopnje v procesu priprave tkivnih vzorcev za analizo s transmisijskim elektronskim mikroskopom. Leta 1950 sta Latta in Hartman izdelala stekleni nož za rezanje tkiva, Joseph Blum in Porter pa mikrotom, aparat za izdelovanje tankih tkivnih rezin. Mikrotom je postal komercialno dostopen leta 1953. Tega leta je Palade prvič opisal »male delce v citoplazmi« - ribosome.

Obdobje od leta 1960 do 1975 je bilo zelo pomembno zaradi raziskav membran endoplazemskega retikla ter biogeneze membran kloroplasta. Palade je, med drugim, študiral biogenezo membran v evkariotski celici, prepustnost kapilar, sintezo proteinov in znotrajcelični transport sekrecijskih proteinov v celicah trebušne slinavke. Med preučevanjem endotelnih celic leta 1964 je Palade skupaj s švicarskim anatomom Ewaldom R. Weibelom opisal tako imenovana Weibel-Paladijeva telesca. To so sekretorni organeli cigaraste oblike, veliki od 1 do 6 mikrometrov, za skladiščenje produktov po sintezi v endotelijski celici. Weibel-Paladijeva telesca vsebujejo številne bioaktivne snovi, ki so potrebne za učinkovite in kompleksne odzive v krvnih celicah. Sledile so še raziskave presledkovnih povezav, endocitoze, epiteljskih celic in raziskave membrane eritrocita.

Za svoje pionirsko delo je George Emil Palade leta 1974 skupaj z Albertom Claudeom in Christianom de Duveom prejel Nobelovo nagrado za fiziologijo ali medicino. Nagrado so prejeli za inovacije v elektronski mikroskopiji in za razvoj metode celičnega frakcioniranja s centrifugiranjem. S slednjo so lahko ločili organele, ki so jih zanimali, od preostanka celice in raziskovali ter dokazovali prisotnost encimov v njih. Njihova odkritja na področju strukturne in funkcionalne organizacije celice pomenijo temelje

sodobne molekularne celične biologije.

Po prejetju nagrade je Palade skupaj s Siekevitzem preučeval mehanizem transporta proteinov. Po letu 1973 je deloval na univerzi Yale, po letu 1990 pa na Kalifornijski univerzi v San Diegu.

Zunaj laboratorija se je Palade ukvarjal še s pisanjem in izdajanjem. Leta 1955 je sodeloval pri ustvarjanju revije *Journal of Cell Biology* (prvotno se je imenovala *Journal of Biochemical and Biophysical Cytology*), leta 1985 pa pri ustvarjanju revije *Annual Reviews of Cell Biology* (zdaj *Annual Reviews of Cell and Developmental Biology*). Številnim nadarjenim raziskovalcem iz rojstne Romunije je omogočil njihovo nadaljnje izobraževanje v Združenih državah Amerike. Prizadeval si je tudi za ustanovitev inštituta v Bukarešti, ki ga sedaj vodijo njegovi prijatelji in kolegi. George Emil Palade je umrl 8. oktobra leta 2008 na svojem domu v Kaliforniji.

Paladejev raziskovalni opus je izjemno obsežen in bogat, zato ne preseneča dejstvo, da ga mnogi avtorji opredeljujejo kot vodilnega raziskovalca na področju biologije celice in elektronske mikroskopije.

Literatura:

- Brown, T. H., 2008: *Nobel laureate George E. Palade, 95. The Rockefeller University*. http://benchmarks.rockefeller.edu/viewArticle.php?id=195&issue_id=90.
- Kresge, N., Simoni, R. D., Hill, R. L., 2005: *JBC centennial 1905–2005. 100 years of biochemistry and molecular biology. George Emil Palade: How sucrose and electron microscopy led to the birth of cell biology. The Journal of Biological Chemistry, 280 (22): 19–21*.
- Palade, G. E., 1975: *Intracellular aspects of the process of protein secretion. Science, 189: 347–358*.
- Tartakoff, A. M., 2002: *George Emil Palade: charismatic virtuoso of cell biology. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 3: 871 – 875*.
- George Emil Palade: 1912–2008. *Vir*: <http://www.microscopy.org/images/posters/Palade.pdf>.