

ОТ РЕДАКТОРОВ



УДК 577.322.2+577.322.5

Успехи структурных исследований методом электронной микроскопии в России (итоги четвертой международной конференции RICSEM-2023)

О.С. Соколова* , Т.Б. Станишневa-Коновалова , М.П. Кирпичников

Кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, г. Москва, 119234, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

*e-mail: sokolova@mail.bio.msu.ru

IV международная конференция «Криоэлектронная микроскопия 2023: достижения и перспективы» (RICSEM-2023) прошла на биологическом факультете МГУ в гибридном (онлайн- и оффлайн-) формате и собрала более 250 исследователей из 10 стран. По итогам конференции был издан специальный выпуск журнала «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология». В этой статье кратко обсуждаются основные результаты конференции и содержание опубликованных в спецвыпуске работ.

Ключевые слова: криоэлектронная микроскопия, криоЭМ, структурная биология, структуры макромолекул, конференция, RICSEM

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-3S-1

С 4 по 7 июня 2023 г. в Москве проходила IV международная конференция «Криоэлектронная микроскопия 2023: достижения и перспективы» (IV Russian International Conference on Cryo-Electron Microscopy, RICSEM-2023) (рисунок). Первый день начался с выступления академика В.О. Попова. В приветственной речи он отметил, что за последние годы криоэлектронная микроскопия (криоЭМ) достигла выдающихся успехов, и этот метод взяли на вооружение фармакологи, химики-органики, физики, специалисты в области наук о материалах. Завершился первый день уже традиционной экскурсией по Ботаническому саду МГУ. Далее началась работа конференции:

пленарные заседания, секционные заседания, постерные сессии.

Биологический факультет МГУ стал в эти дни площадкой для активных научных дискуссий. Работа конференции проходила в гибридном формате, совмещая онлайн- и оффлайн-доклады. Второй день конференции открыл нобелевский лауреат по химии 2002 г. Курт Вютрих. За четыре дня работы конференции в ней приняли участие более 250 исследователей. Около 40 ведущих специалистов в области структурной биологии из 10 стран выступили с лекциями. 15 лекций, включая часовую лекцию Курта Вютриха, прошли онлайн.



Рисунок. Участники конференции после ее закрытия, перед аудиторией М-1 на биологическом факультете МГУ.

© Соколова О.С., Станишневa-Коновалова Т.Б., Кирпичников М.П., 2023

Метод криоЭМ, позволивший ученым расшифровать структуру многих макромолекул, в последние годы развивается особенно быстро. Разрешение метода с 2015 г. существенно возросло и в 2020 г. оно впервые сравнялось с кристаллографическим [1, 2]. Стало возможно отслеживать изменения пространственной структуры биологических молекул, а также положение ионов и молекул воды. Такие структурные данные необходимы для разработки новых лекарственных средств и рекомбинантных вакцин против появляющихся заболеваний. Российскими исследователями из Москвы, Казани, Гатчины были получены реконструкции белковых молекул с околотоновым разрешением. Некоторые неопубликованные результаты были представлены на конференции RICSEM-2023. Мы можем с уверенностью утверждать, что у нас есть молодые мотивированные ученые, которые прошли европейские школы и обучились методам криоЭМ. Основное препятствие для развития метода в России — количество качественных криомикроскопов, имеющих в распоряжении русских ученых; единственный высокоразрешающий микроскоп находится в НИЦ «Курчатовский институт».

По итогам конференции впервые в истории RICSEM издан специальный выпуск журнала «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология». Он в какой-то мере является уникальным, так как собрал статьи, посвященные достижениям в области структурной биологии и электронной микроскопии в России и за рубежом. Авторами сборника являются ученые различных факультетов МГУ, институтов РАН, МГУ-ППИ в Шэньчжэне (Китай) и других научных учреждений. Наиболее распространенными темами, над которыми работают биологи, использующие электронную микроскопию, являются строение вирусов и вирусных белков, мембранных белков, рибосом. Это, очевидно, связано с перспективами применения криоЭМ для получения атомных реконструкций и дальнейшего дизайна лекарственных средств.

Спецвыпуск открывает теоретическая работа проф. К.В. Шайтана [3]. Теоретические исследования позволяют заложить физическую основу для развития теории фолдинга в направлении интерпретации разнообразных экспериментальных наблюдений и выяснения принципов формирования аминокислотного кода для 3D-структур белков. Для моделирования 3D-структур белков *de novo* часто используются нейросети, например, AlphaFold 2.0 [4]. Авторы П.А. Миронов и З.О. Шенкарев провели моделирование структур ктениотоксинов (многокомпонентных ядов пауков-бегунов *Ctenidae*) и сравнили свои результаты с предсказаниями программы AlphaFold 2.0 [5]. Выяснилось, что эта нейронная сеть все еще не

всегда корректно предсказывает структуры цистеин-богатых пептидов, особенно если моделируются структуры зрелых молекул без лидерных последовательностей.

Методы криоЭМ незаменимы в области структурных исследований оболочечных вирусов — опасных патогенов человека и животных. В работе Л.В. Кордюковой и соавт. продемонстрированы возможности просвечивающего электронного микроскопа JEOL JEM-2100 (входящего в состав уникальной научной установки «3D-ЭМС» МГУ имени М.В. Ломоносова), дополненного криодержателем, для визуализации штаммов вирусов гриппа А и В, а также вирионов SARS-CoV-2, инактивированных бета-пропиолактоном [6]. Получены изображения, позволяющие сделать выводы о сохранности вирусных частиц. Еще одна работа молодых ученых биологического факультета Н.Ю. Мамаевой и соавт. посвящена исследованию S-белка коронавируса [7]. Авторы разработали протокол очистки полноразмерного S-белка с использованием сополимера стирола и малеиновой кислоты (липидисков). Полученные препараты были исследованы в электронном микроскопе уникальной научной установки «3D-ЭМС» и показали, что применение липидисков помогает улучшить разрешение реконструкций за счет стабилизации мембранной части белка. В работе И.В. Демьяновой и соавт. с помощью сканирующей электронной микроскопии были визуализированы пленки и скаффолды из поли-3-оксибутирата [8]. Было показано, что различная микроструктура поверхности не влияет на рост мезенхимальных стволовых клеток на пленках и скаффолдах в течение недели, однако оказывает влияние на морфологию прикрепленных клеток.

Одним из преимуществ метода криоЭМ является возможность построения реконструкций молекул в разных конформациях. Т.Б. Станишнев-Коновалова и соавт. использовали криоЭМ для расчета трехмерной структуры бычьего шаперона TRiC в открытой конформации с разрешением 4,4 Å [9]. А.А. Атамас и соавт. с помощью криоЭМ и анализа изображений получили структуру рибосомы патогенного грибка *Candida auris* с разрешением 2,8 Å [10]. Авторы описали архитектуру субъединиц рибосомы и их взаимодействие, что поможет в дальнейшем для разработки антимикотических лекарств.

Нужно отметить, что всплеск публикаций атомных структур по данным криоЭМ стал результатом ряда методологических и технических достижений. Несколько оригинальных технологических инноваций представлены в данном выпуске. В работе А.В. Моисеенко и соавт. продемонстрирован успешный пример модернизации аналитического просвечивающего электронного микроскопа JEOL JEM-2100 до криоэлектронного

микроскопа субнанометрового разрешения, предназначенного для решения задач пробоподготовки и оценки качества препарата [11]. В результате модернизации прибор позволяет получать разрешение реконструкций белковых молекул в пределах 8 Å. В статье О.В. Градова разработан подход для коррелятивной микроскопии и предложен протокол для анализа биологических образцов в единой микрокувете, последовательно перемещаемой от неразрушающих инструментов оптической микроскопии низкого разрешения и оптического сверхразрешения на уровень CryoSEM/CryoESEM (в программируемых средах и атмосферах) [12]. Преимущество данного протокола состоит в обеспечении сохранности образца на протяжении всего цикла. В работе В.С. Молчанова и соавт. показано, что добавление малого количества нанотрубок природной глины галлуазита в гели альгината натрия позволяет создавать более прочные гели [13]. В перспективе подобные гели могут применяться в качестве чернил для экструзионной 3D-печати, а также использоваться для инкапсулирования различных веществ в полости нанотрубок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nakane T., Kotecha A., Sente A., et al. Single-particle cryo-EM at atomic resolution. *Nature*. 2020;587(7832):152–156.
2. Yip K.M., Fischer N., Paknia E., Chari A., Stark H. Atomic-resolution protein structure determination by cryo-EM. *Nature*. 2020;587(7832):157–161.
3. Шайтан К.В. Как биополимер (белок) сворачивается в уникальную 3D-структуру? *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):9–12.
4. Jumper J., Evans R., Pritzel A., et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021;596(7873):583–589.
5. Миронов П.А., Шенкарев З.О. Схемы замыкания дисульфидных связей в токсинах пауков семейства Ctenidae. Сравнение с предсказаниями нейросети AlphaFold 2.0. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):13–20.
6. Кордюкова Л.В., Моисеенко А.В., Тимофеева Т.А., Федякина И.Т. Криоэлектронная микроскопия оболочечных вирусов на базе усовершенствованного просвечивающего электронного микроскопа: вирусы гриппа типа А, В и коронавируса SARS-CoV-2. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):21–26.
7. Мамаева Н.Ю., Деркачева Н.И., Гасанова Д.А., Соколова О.С., Глухов Г.С. Стабилизация полноразмерного S-белка коронавируса SARS-CoV-2 в полимере SMA для исследования в электронном микроскопе. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):27–32.
8. Демьянова И.В., Акулина Е.А., Жаркова И.И., и др. Рост мезенхимальных стволовых клеток на ориентированных микроструктурированных пленках и электроформованных скаффолдах. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):33–39.
9. Станишневa-Коновалова Т.Б., Пичкур Е.Б., Кудрявцева С.С., Ярошевич И.А., Семенов А.Н., Максимов Е.Г., Моисеенко А.В., Волох О.И., Муронец В.И. Структура бычьего шаперонина TRiC/CCT в открытой конформации по данным криоэлектронной микроскопии. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):40–46.
10. Атамас А.А., Гуськов А.И., Рогачев А.В. Структурное исследование рибосомы *Candida auris*. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):47–50.
11. Моисеенко А.В., Егоров А.М., Шайтан К.В., Соколова О.С. Криоэлектронная микроскопия на биологическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):51–56.
12. Градов О.В. Криоконвейерные протоколы в корреляционной световой и электронной микроскопии: от многоуровневой визуализации до моделирования биофизических эффектов и «криотераностики». *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):57–62.
13. Молчанов В.С., Глухова С.А., Филиппова О.Е. Реологические свойства полисахаридных гидрогелей альгината с малыми добавками нанотрубок галлуазита для экструзионной 3D-печати. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол.* 2023;78(3S):63–68.

Поступила в редакцию 01.09.2023

Принята в печать 20.09.2023

EDITORIAL

Advances in structural research using electron microscopy in Russia (results of the fourth international conference RICCEM-2023)

O.S. Sokolova , T.B. Stanishneva-Konovalova , M.P. Kirpichnikov 

*Department of Bioengineering, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie Gory, 119234, Moscow, Russia*

**e-mail: sokolova@mail.bio.msu.ru*

The IV Russian International Conference on Cryo-Electron Microscopy (RICCEM-2023) was held at the Faculty of Biology of Lomonosov Moscow State University in a hybrid (offline and online) format and brought together more than 250 researchers from 10 countries. Following the conference, a special issue of the journal “Lomonosov Biology Journal” (“Vestnik Moskovskogo universiteta. Seria 16. Biologia”) was published. This article briefly summarizes the main results of the conference and the content of the works published in the special issue.

Keywords: *cryo-electron microscopy, cryo-EM, structural biology, structures of macromolecules, conference, RICCEM*

Funding: Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow Lomonosov University “Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic Biology.”

Сведения об авторах

Соколова Ольга Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-57-38; e-mail: sokolova@mail.bio.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4678-232X>

Станишнев-Коновалова Татьяна Борисовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-95; e-mail: stanishneva-konovalova@mail.bio.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8427-8178>

Кирпичников Михаил Петрович — акад., проф., докт. биол. наук, зав. кафедрой биоинженерии биологического факультета МГУ, зав. отделом биоинженерии ИБХ РАН, главный редактор журнала «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология». Тел.: 8-495-939-27-76; e-mail: kirpichnikov@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8170-1607>