

## ОБЗОР

УДК 577.32



# Изучение гибких элементов структуры микротрубочек с помощью криоэлектронной микроскопии и молекулярного моделирования: миссия выполнима?

В.А. Федоров<sup>1,\*</sup> , Е.Г. Холина<sup>1</sup> , Н.Б. Гудимчук<sup>2</sup> , И.Б. Коваленко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 24;

<sup>2</sup>Кафедра биофизики, физический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

\*e-mail: xbgth@ya.ru

Микротрубочки являются базовыми элементами цитоскелета эукариотических клеток. Благодаря своей многофункциональности, уникальной структуре и высокой механической жесткости, они остаются излюбленным объектом исследований с использованием различных методов микроскопии, включая криоэлектронную. Несмотря на впечатляющие успехи в визуализации решетки микротрубочек, гибкие элементы их структуры — отдельные протофиламенты на собирающихся или разбирающихся плюс-концах, а также регуляторные неструктурированные пептиды, известные как С-концевые «хвосты», — до сих пор слабо поддаются визуализации. В этой статье мы обсуждаем прогресс в применении криоэлектронной микроскопии и томографии к изучению этих участков, а также роль и потенциал методов молекулярного моделирования для анализа и интерпретации полученных экспериментальных данных.

**Ключевые слова:** микротрубочки, тубулин, криоэлектронная микроскопия, молекулярная динамика, гибкие элементы структуры

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-3S-3

## Введение

Микротрубочки являются ключевыми элементами цитоскелета всех эукариотических клеток. Они представляют собой полые цилиндры, образованные из  $\alpha/\beta$ -гетеродимеров тубулина, которые, как правило, организованы в тринадцать линейных цепочек — протофиламентов, соединенных между собой боковыми контактами [1]. Такая архитектура обеспечивает высокую изгибную жесткость, позволяя микротрубочкам служить транспортными магистралями внутри клетки, а также придавать стабильность различным внутриклеточным структурам. На плюс-концах микротрубочек, где происходит встраивание и отсоединение субъединиц, протофиламенты могут иметь разную длину и частично или полностью утрачивать латеральные связи [2]. Это приводит к образованию гибких олигомерных участков, которые обладают повышенной подвижностью и сложно визуализируются методами криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ), даже несмотря на то, что разрешение в области стабильной ци-

линдрической решетки микротрубочки, вдали от динамических концов, достигает порядка 3 Å.

Другим трудно визуализируемым элементом являются неструктурированные С-концевые участки тубулинов — гибкие и, как правило, сильно заряженные участки, известные как «хвосты». Эти участки играют важнейшую регуляторную роль в цитоскелете [3]. В эукариотических клетках они участвуют в рекрутировании множества белков на поверхность микротрубочек, включая северазы, моторные белки и плюс-концевые белки, ассоциирующиеся с динамическими концами микротрубочек [4]. Эти участки подвергаются множественным посттрансляционным модификациям, включая тирозинирование, полиглутамилирование и полиглицилирование, что позволяет тонко регулировать свойства микротрубочек в различных клетках и на разных стадиях клеточного цикла [5]. Гибкие участки, хотя и отличные по последовательности и длине, обнаруживаются у бактериальных гомологов тубулина, таких как FtsZ и уникальных тубулинов BtubA/B из рода *Prostheobacter* [6].

Несмотря на значительный прогресс в области структурной биологии, достигнутый благодаря криоэлектронной микроскопии и одночастичным методам (“single particle”), гибкость элементов белков и особенно неструктурированных пептидов, таких как С-концевые участки тубулинов остается серьезным препятствием для их прямой визуализации. Поэтому важную роль в исследовании их динамики и взаимодействий продолжают играть методы молекулярного моделирования, позволяющие восполнить недостающую информацию о гибких зонах, невидимых в криоэлектронной микроскопии.

## Результаты и обсуждение

### 1. Успехи и сложности крио-ЭМ в визуализации тубулинов

В 1998 г. методом электронной кристаллографии искусственно индуцированных ионами цинка полимеров тубулина в виде «листов» была получена первая атомарная структура тубулина с разрешением 3,7 Å. Реконструкции естественных полимеров тубулина — микротрубочек — долгое время не удавалось получить с разрешением лучше, чем примерно 8 Å. Основные ограничения были связаны отчасти с техническими характеристиками микроскопов, но также с отсутствием необходимых алгоритмов обработки изображений. В 2014 г. работа Алушиной и соавт. [7] обеспечила качественный прорыв в этой области. Благодаря использованию микроскопа FEI Titan 300 и разработанной авторами стратегии декорирования микротрубочек доменом моторного белка кинезина, который создавал повторяющийся и легко различимый на низком разрешении маркер на каждом димере тубулина, помогая отличать  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы, удалось впервые добиться высокой степени детализации при реконструкции микротрубочек в двух различных нуклеотидных состояниях. Обе реконструкции имели разрешение лучше 5 Å, чего было достаточно для различения связанных нуклеотидов, а также элементов вторичной структуры, включая отдельные  $\beta$ -цепи и крупные ароматические боковые цепи. Таким образом, эта работа впервые позволила на атомарном уровне проследить структурные изменения микротрубочек в зависимости от нуклеотидного состояния, то есть связанных с ГТФ (гуанозинтрифосфат) или ГДФ (гуанозиндифосфат), и открыла путь к структурному анализу механизмов нестабильности и регуляции микротрубочек. В настоящее время известны структуры решеток микротрубочки, как декорированные, так и не декорированные белками с разрешением около 3 Å [8–13].

В 2023 г. удалось определить структуры отдельных димеров *Drosophila melanogaster* в растворе, полученные в состоянии, связанном как с ГТФ, так с ГДФ [6]. Это долгое время оставалось трудной задачей, по всей видимости, из-за про-

блемы преимущественной ориентации димеров на подложке, что мешало реконструкции с высоким разрешением. Однако визуализация гибких и подвижных элементов структуры микротрубочек до сих пор представляет техническую сложность в связи с тем, что гибкость препятствует получению данных высокого разрешения путем алгоритмов одночастичного анализа, основанных на возможности наблюдать один и тот же объект многократно с различных ракурсов и получать данные высокого разрешения путем усреднения.

### 2. Примеры успешных визуализаций С-концов при иммобилизации на белках-партнерах

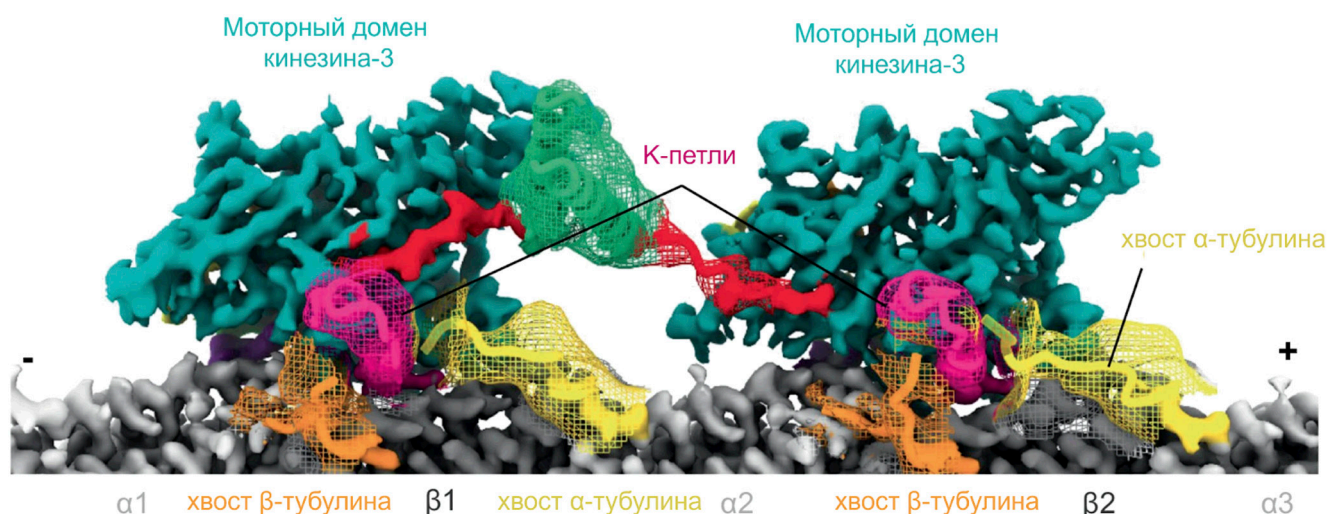
Тем не менее, гибкие С-концевые участки все же могут быть обнаружены методами криоэлектронной микроскопии, по крайней мере, в случаях, когда эти участки хотя бы частично обездвижены при взаимодействии с белками-партнерами. Так, плотность, соответствующая С-концевым хвостам тубулина, была обнаружена при реконструкции взаимодействия микротрубочек с плюсконцевым белком p150(glued) [14]. В более свежей работе еще более четко была аннотирована плотность  $\alpha$ - и  $\beta$ -хвостов тубулинов при реконструкции взаимодействия моторного белка кинезина-3 (KIF1A) и микротрубочки [15], рис. 1.

Другим ярким примером визуализации С-концов тубулина в контексте связанных с микротрубочками белков является реконструкция взаимодействия микротрубочек с кинетохорным комплексом NDC80 [16]. На полученной в этой статье карте плотности отчетливо различается С-конец  $\alpha$ -тубулина, тянущийся от глобулы тубулина к глобуле субъединицы Nuf2 комплекса NDC80. Этот контакт, вероятно, объясняет парадокс вклада субъединицы Nuf2 в аффинность всего комплекса NDC80 к микротрубочке при отсутствии каких-либо контактов ее с глобулами тубулина [17].

Наконец, в недавней работе, опубликованной в качестве препринта, впервые обнаружены плотности крио-ЭМ С-концов  $\alpha$ -тубулинов, взаимодействующих с глобулами соседних тубулинов в решетке [18]. Это наблюдение полностью соответствует предсказаниям молекулярного моделирования о возможных контактах гибких высокозаряженных С-концов тубулина с глобулярными участками и регуляторной роли этих контактов при межтубулиновых взаимодействиях [19].

### 3. Применение метода криоэлектронной томографии к исследованию гибких элементов структуры микротрубочек

Несмотря на сложность получения данных высокого разрешения одночастичными методами криоэлектронной микроскопии применительно к гибким структурам, методы криоэлектронной томографии позволили визуализировать с низким

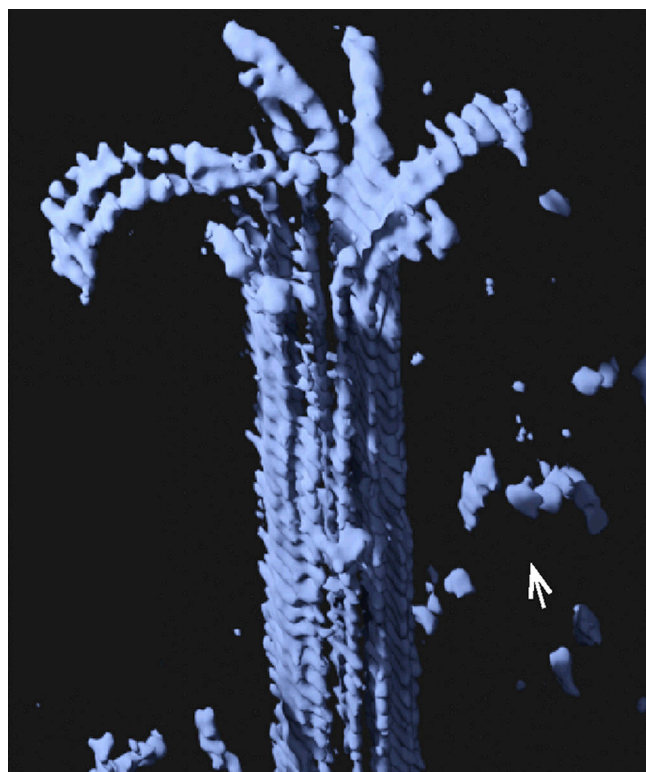


**Рис. 1.** Пример визуализации С-концов тубулина в крио-ЭМ при взаимодействии кинезина 3 с микротрубочкой. Иллюстрация адаптирована из статьи Бенуа и соавт. [15] по лицензии Creative Commons Attribution 4.0. Поясняющие надписи переведены на русский язык или опущены. Разными цветами обозначены различные функциональные области белков. С-концы  $\beta$ -тубулинов показаны оранжевым, С-концы  $\alpha$ -тубулинов — желтым. Серым изображены глобулярные участки тубулинов, зеленым — глобулярные участки моторных доменов кинезина 3.

разрешением относительно подвижные протофиламенты на динамических концах микротрубочек, как в образцах клеток, замороженных при высоком давлении, так и *in vitro* [20–23]. Благодаря ручной сегментации протофиламентов на тонких виртуальных срезах томограмм, проведенных через плоскость, содержащую ось микротрубочки, удалось изучить формы индивидуальных гибких протофиламентов и выяснить, что они в среднем изогнуты, как при сборке, так и при разборке микротрубочек в различных организмах или в разнообразных экспериментальных условиях, что меняет устоявшиеся представления о механизмах полимеризации микротрубочек [22]. А именно, согласно возникшим на основе этого анализа новым представлениям, подкрепленным моделированием, микротрубочки полимеризуются и деполимеризуются за счет смыкания-размыкания изогнутых протофиламентов на своих динамических концах [24]. Нуклеотидный состав тубулинов (ГТФ и ГДФ), по всей видимости, определяет, будет баланс между смыканием и размыканием протофиламентов смещен в среднем в сторону удлинения или разборки тела микротрубочек, но не равновесную форму протофиламентов тубулина. Различия между ГТФ- и ГДФ-связанными микротрубочками скорее определяются влиянием нуклеотидов на гибкость протофиламентов в этих состояниях и различиями в их латеральных связях.

Структурные данные томографии в основе этой модели, изначально полученные путем сегментации вручную, в последних работах находят подтверждение благодаря развитию методов устранения шума («денойзинга»), таких как метод CryoCARE [25]. Применение этого подхода позволило улучшить соотношение сигнала к шуму

в данных и проводить сегментацию подвижных протофиламентов на концах микротрубочек даже в автоматическом или полуавтоматическом режимах [26, 27], что обеспечило большую надежность и детализацию при визуализации подвижных протофиламентов (рис. 2).



**Рис. 2.** Пример визуализации подвижных протофиламентов на конце полимеризующейся микротрубочки. Иллюстрация воспроизведена из статьи Айер и соавт. [27] по лицензии Creative Commons Attribution 4.0. Показанная автоматическая сегментация тубулинов произведена после применения алгоритма устранения шума CryoCARE.

Гибкость глобулярных протофиламентов, однако, все же несопоставимо ниже гибкости С-концевых пептидов тубулина. Несмотря на это, в литературе имеются некоторые прецеденты применения томографии и к визуализации этих крайне гибких С-концов микротрубочек. Так, в 2015 г. стало известно о возможности с помощью обычной крио-томографии без использования контрастирующих агентов разрешить участок С-концов тубулинов, непосредственно примыкающий к глобулярной части тубулина [28]. В работе, опубликованной недавно в виде препринта [29] представлены результаты визуализации препарата очищенных микротрубочек, которые были окрашены солями тяжелых металлов, и далее визуализированы с помощью электронной томографии. На виртуальных срезах образцов этого препарата микротрубочек видны характерные «выросты», длиной до  $\sim 2,5$  нм и шириной около  $\sim 1$  нм на половине длины, которые выступают из микротрубочки с периодичностью  $4 \pm 0,8$  нм, то есть по одному на каждыйномер тубулина. Однако, несмотря на успешную визуализацию, примененный метод негативного контрастирования окрашиванием солями тяжелых металлов, как известно, не лишен артефактов, поэтому задача развития подходов к визуализации гибких хвостов тубулина методами криоэлектронной томографии остается высоко актуальной.

#### **4. Методы молекулярного моделирования как важнейший вспомогательный инструмент при анализе карт плотности крио-ЭМ**

Важнейшей задачей структурной биологии является объединение структурных данных, различающихся как методами получения, так и пространственным разрешением, в рамках единой 3D-модели. На помощь в решении этой задачи приходят методы молекулярного компьютерного моделирования, в частности, метод MDFF (Molecular Dynamics Flexible Fitting). Этот метод был специально разработан для совмещения атомных структур высокого разрешения (полученных, например, методами рентгеноструктурного анализа и ЯМР) и карт плотности крио-ЭМ [30], для получения атомных координат молекулярной системы в конформации, определенной методом крио-ЭМ. В силовое поле вводится дополнительный потенциал, зависящий от карты плотности и налагающий на атомы молекулярной системы дополнительные силы, пропорциональные градиенту плотности. К моменту создания этого метода разрешение метода крио-ЭМ было низким и не превышало  $8\text{--}10$  Å, и одна из его задач заключалась в интерпретации данных крио-ЭМ с использованием высокого разрешения, доступного в рентгеновской кристаллографии.

На рубеже десятилетней давности пространственное разрешение метода крио-ЭМ существенно возросло. Метод молекулярной динамики стал

применяться для улучшения крио-ЭМ структур среднего ( $4\text{--}6$  Å) и даже высокого (менее  $4$  Å) разрешения. Один из таких усовершенствованных подходов к определению положений атомов макромолекулы для их оптимального соответствия карте плотности, полученной методом крио-ЭМ, названный «Молекулярная динамика, управляемая корреляцией» (Correlation-Driven Molecular Dynamics, CDMD), предлагается в работе Игаева и соавт. [31]. Так же, как и в предыдущем методе, результат достигается за счет введения дополнительного глобального возмущающего потенциала. Отличие состоит в том, что в итерационном процессе вычисляется корреляционный коэффициент между плотностью крио-ЭМ и плотностью, соответствующей текущим координатам атомов, на основании которого уже вычисляются возмущающие силы. Процесс повторяется много раз и приводит к построению пространственной структуры, которая лучше соответствует экспериментальной карте плотности крио-ЭМ, чем начальная структура.

Метод CDMD применен для определения координат атомов димера ГДФ-тубулина в прямой конформации на основании карты плотности крио-ЭМ среднего разрешения ( $4,1$  Å) декорированной кинезином микротрубочки. Для этой карты плотности не было доступной соответствующей пространственной структуры, однако существовали две структуры ГДФ-тубулина высокого разрешения в том же конформационном состоянии, которые были использованы авторами в качестве контроля для подтверждения точности и сходимости метода. В качестве начальной модели использовалась изогнутая структура ГДФ-тубулина в растворе, полученная из  $\sim 3$  мс траектории молекулярной динамики. Несмотря на более высокую точность контрольных структур, полученная методом CDMD модель достигла той же корреляции с полной картой плотности, что и контрольные структуры. Это особенно примечательно, поскольку карта плотности имела более низкое разрешение  $4,1$  Å, по сравнению с картами, используемых для генерации контрольных структур ( $3,3$  Å и  $3,5$  Å).

Аналогичный по духу подход «Density-Restrained MD» был применен в работе Эшун-Уилсон и соавт. [32] для моделирования плотности, соответствующей ансамблю конфигураций гибкой петли ацетилирования тубулина.

#### **Заключение**

Таким образом, неуклонное развитие технологий неизбежно приводит к увеличению возможностей, переводя в класс выполнимых даже такие задачи, с которыми структурные методы не могли справиться длительное время. Мы ожидаем, что развитие методов денойзинга, которые уже внесли ощутимый вклад в визуализацию подвижных протофиламентов на конце микротрубочек [26, 27] в комбинации с повышением точности методов



молекулярного моделирования позволят напрямую визуализировать важнейшие регуляторные С-концевые участки тубулинов, как в контексте взаимодействия с белками-эффекторами, так и без них, открывая широкие перспективы понимания механизмов контроля над динамикой тубулинового цитоскелета в клетках.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Desai A., Mitchison T.J. Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 1997;13:83–117.
- Gudimchuk N.B., McIntosh J.R. Regulation of microtubule dynamics, mechanics and function through the growing tip. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2021;22(12):777–795.
- Roll-Mecak A. The tubulin code in microtubule dynamics and information encoding. *Dev. Cell.* 2020;54(1):7–20.
- McKenna E.D., Sarbanes S.L., Cummings S.W., Roll-Mecak A. The tubulin code, from molecules to health and disease. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2023;39:331–361.
- Janke C., Magiera M.M. The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2020;21(6):307–326.
- Wagstaff J.M., Planelles-Herrero V.J., Sharov G., Alnami A., Kozielski F., Derivery E., Löwe J. Diverse cytomotive actins and tubulins share a polymerization switch mechanism conferring robust dynamics. *Sci. Adv.* 2023;9(13):eadf3021.
- Alushin G.M., Lander G.C., Kellogg E.H., Zhang R., Baker D., Nogales E. High-resolution microtubule structures reveal the structural transitions in  $\alpha\beta$ -tubulin upon GTP hydrolysis. *Cell.* 2014;157(5):1117–1129.
- Manka S.W., Moores C.A. The role of tubulin–tubulin lattice contacts in the mechanism of microtubule dynamic instability. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2018;25(7):607–615.
- Zhang R., LaFrance B., Nogales E. Separating the effects of nucleotide and EB binding on microtubule structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2018;115(27):E6191–E6200.
- Zhang R., Alushin G.M., Brown A., Nogales E. Mechanistic origin of microtubule dynamic instability and its modulation by EB proteins. *Cell.* 2015;162(4):849–859.
- Debs G.E., Cha M., Liu X., Huehn A.R., Sindelar C.V. Dynamic and asymmetric fluctuations in the microtubule wall captured by high-resolution cryoelectron microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020;117(29):16976–16984.
- LaFrance B.J., Roostalu J., Henkin G., Greber B.J., Zhang R., Normanno D., McCollum C.O., Surrey T., Nogales E. Structural transitions in the GTP cap visualized by cryo-electron microscopy of catalytically inactive microtubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2022;119(2):e2114994119.
- Estévez-Gallego J., Blum T.B., Ruhnow F., Gili M., Speroni S., García-Castellanos R., Steinmetz M.O., Surrey T. Hydrolysis-deficient mosaic microtubules as faithful mimics of the GTP cap. *Nat. Commun.* 2025;16(1):2396.
- Wang Q., Crevenna A.H., Kunze I., Mizuno N. Structural basis for the extended CAP-Gly domains of p150(glued) binding to microtubules and the implication for tubulin dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2014;111(31):11347–11352.
- Benoit M.P.M.H., Rao L., Asenjo A.B., Gennerich A., Sosa H. Cryo-EM unveils kinesin KIF1A's processivity mechanism and the impact of its pathogenic variant P305L. *Nat. Commun.* 2024;15(1):5530.
- Alushin G.M., Musinipally V., Matson D., Tooley J., Stukenberg P.T., Nogales E. Multimodal microtubule binding by the Ndc80 kinetochore complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012;19(11):1161–1167.
- Ustinov N.B., Korshunova A.V., Gudimchuk N.B. Protein complex NDC80: properties, functions, and possible role in pathophysiology of cell division. *Biochemistry (Mosc.)*. 2020;85(4):448–462.
- Zehr E.A., Roll-Mecak A. Cryo-EM structures of human  $\alpha 1\beta / \beta 1 + \beta IV \beta$  microtubules shed light on isoform specific assembly. *BioRxiv*. 2023:2023.12.01.569594.
- Chen J., Kholina E., Szyk A., Fedorov V.A., Kovalenko I., Gudimchuk N., Roll-Mecak A.  $\alpha$ -tubulin tail modifications regulate microtubule stability through selective effector recruitment, not changes in intrinsic polymer dynamics. *Dev. Cell.* 2021;56(14):2016–2028.e4.
- McIntosh J.R., Grishchuk E.L., Morphew M.K., Efremov A.K., Zhudenzov K., Volkov V.A., Cheeseman I.M., Desai A., Mastroratte D.N., Ataullakhanov F.I. Fibrils connect microtubule tips with kinetochores: a mechanism to couple tubulin dynamics to chromosome motion. *Cell.* 2008;135(2):322–333.
- Höög J.L., Huisman S.M., Sebö-Lemke Z., Sandblad L., McIntosh J.R., Antony C., Brunner D. Electron tomography reveals a flared morphology on growing microtubule ends. *J. Cell Sci.* 2011;124(Pt. 5):693–698.
- McIntosh J.R., O'Toole E., Morgan G., Austin J., Ulyanov E., Ataullakhanov F., Gudimchuk N.B. Microtubules grow by the addition of bent guanosine triphosphate tubulin to the tips of curved protofilaments. *J. Cell Biol.* 2018;217(8):2691–2708.
- Atherton J., Stouffer M., Francis F., Moores C.A. Microtubule architecture in vitro and in cells revealed by cryo-electron tomography. *Acta Crystallogr. D Struct. Biol.* 2018;74(Pt. 6):572–584.
- Gudimchuk N.B., Ulyanov E.V., O'Toole E., Page C.L., Vinogradov D.S., Morgan G., Li G., Moore J.K., Szczesna E., Roll-Mecak A., Ataullakhanov F.I., McIntosh J.R. Mechanisms of microtubule dynamics and force generation examined with computational modeling and electron cryotomography. *Nat. Commun.* 2020;11(1):3765.
- Buchholz T.-O., Jordan M., Pigino G., Jug F. Cryo-CARE: content-aware image restoration for cryo-transmission electron microscopy data. *2019 IEEE 16<sup>th</sup> International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2019)*. IEEE; 2019:502–506.
- Kalutskii M., Grubmüller H., Volkov V.A., Igaev M. Microtubule dynamics are defined by conformations and stability of clustered protofilaments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2025;122(22):e2424263122.
- Iyer S.S., Chen F., Ogunmolu F.E. et al. Centriolar cap proteins CP110 and CPAP control slow elongation of microtubule plus ends. *J. Cell Biol.* 2025;224(3):e202406061.
- Garnham C.P., Vemu A., Wilson-Kubalek E.M., Yu I., Szyk A., Lander G.C., Milligan R.A., Roll-Mecak A. Multivalent microtubule recognition by tubulin tyrosine ligase-like family glutamylases. *Cell.* 2015;161(5):1112–1123.

29. Fera A., Reese T., Zimmerberg J., Sackett D. Radial carboxyterminal peptides of tubulin directly imaged in microtubules by electron microscopy tomography exploiting amplitude contrast. *ResearchGate preprint*. 2021;10.21203/rs.3.rs-409249/v1.

30. Trabuco L.G., Villa E., Schreiner E., Harrison C.B., Schulten K. Molecular dynamics flexible fitting: A practical guide to combine cryo-electron microscopy and X-ray crystallography. *Methods*. 2009;49(2):174–180.

31. Igaev M., Kutzner C., Bock L.V., Vaiana A.C., Grubmüller H. Automated cryo-EM structure refinement

using correlation-driven molecular dynamics. *Elife*. 2019;8:e43542.

32. Eshun-Wilson L., Zhang R., Portran D., Nachury M.V., Toso D.B., Löhr T., Vendruscolo M., Bonomi M., Fraser J.S., Nogales E. Effects of  $\alpha$ -tubulin acetylation on microtubule structure and stability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2019;116(21):10366–10371.

Поступила в редакцию 29.06.2025

После доработки 27.07.2025

Принята в печать 02.08.2025

## REVIEW

# Studying flexible elements of microtubule structure using cryo-electron microscopy and molecular modeling: mission possible?

V.A. Fedorov<sup>1,\*</sup> , E.G. Kholina<sup>1</sup> , N.B. Gudimchuk<sup>2</sup> , I.B. Kovalenko<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Biophysics, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, 1–24 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia;

<sup>2</sup>Department of Biophysics, School of Physics, Lomonosov Moscow State University, 1–2 Leninskie gory, Moscow, 119991, Russia

\*e-mail: xbgth@yandex.ru

Microtubules are the basic elements of the cytoskeleton of eukaryotic cells. Due to their multifunctionality, unique structure and high mechanical rigidity, they remain a favorite object of research using various microscopy techniques, including cryo-electron microscopy. Despite impressive advances in visualizing the microtubule lattice, flexible elements of their structure – individual protofilaments at the assembling or disassembling ends, as well as regulatory unstructured peptides known as C-terminal “tails” – are still poorly visualized. In this paper, we discuss progress in the application of cryo-electron microscopy and tomography to the study of these structural elements, as well as the role and potential of molecular modeling methods for the analysis and interpretation of the obtained experimental data.

**Keywords:** microtubules, tubulin, cryo-electron microscopy, molecular dynamics, flexible structural elements

**Funding:** This work was supported by the Russian Science Foundation, project no. 24-74-00002 (<https://rscf.ru/project/24-74-00002/>).

## Сведения об авторах

Федоров Владимир Андреевич – канд. физ.-мат. наук, науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-11-16; e-mail: xbgth@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9397-1548>

Холина Екатерина Георгиевна – канд. биол. наук, ст. преп. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-11-16; e-mail: tenarra@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5918-5084>

Гудимчук Никита Борисович – докт. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики физического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-00-06; e-mail: nikita\_gb@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7283-8959>

Коваленко Илья Борисович – докт. физ.-мат. наук, вед. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-11-16; e-mail: ikovalenko78@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4949-6591>