



РАЗРАБОТКА криоэлектронной микроскопии

Нобелевскую премию по химии в 2017 г. получили Жак Дюбоше, Иоким Франк и Ричард Хендерсон за разработку метода криоэлектронной микроскопии, позволяющего определять с высоким разрешением структуру молекул в растворе

«Метод криоэлектронной микроскопии перевел биохимию в новую эру» – эти слова прозвучали в 2017 г. на церемонии вручения Нобелевской премии по химии. Бесспорно, новый мощный и прорывной метод открыл для ученых новые возможности. Однако для многих решение Нобелевского комитета выглядело несколько странным: все-таки химия – наука о веществах и их превращениях. С другой стороны, неплохо отметить развитие метода, который действительно позволяет исследовать структуру макромолекул и других биологических объектов в нативном состоянии. Не нужно думать, что криоэлектронная микроскопия – только микроскоп. Прежде всего это – комплекс сложных и дорогостоящих процедур подготовки образцов, требующий высокой квалификации исследователя. Три нобелевских лауреата, Жак Дюбоше, Иоким Франк и Ричард Хендерсон, внесли свой вклад в совершенствование этого метода.

Электронная микроскопия стала необходимым инструментом ученых, работающих в разных областях, в том числе ученых-биологов. В электронном микроскопе образец подвергается действию пучка электронов, вакуума и высоких температур, что не позволяет изучать клетки и другие объекты без предварительной обработки. Последняя, несомненно, влияет на тонкую структуру, и перед исследователями стояла задача разработать метод изучения объектов в нативном состоянии. *Метод замороженных срезов*, используемый в световой микроскопии, стал одной из основ разработки аналогичного метода для микроскопии электронной. Суть же криоэлектронной микроскопии – изучение в электронном микроскопе замороженных образцов. Воздействие высокой температуры в криоэлектронном микроскопе нивелировали охлаждением образца жидким азотом, а вот проблема кристаллизации воды при замораживании потребовала отдельного решения.

Кристаллы воды повреждали структуру образца, и Жак Дюбоше в 1980-х гг. предложил использовать быстрое охлаждение воды, чтобы она, минуя фазу кристаллизации, переходила в стеклообразное (*витрифицированное*) состояние, без повреждения клеточных структур. Кроме этого, оказалось, что вода в витрифицированном состоянии не рассеивает электроны, а это важно для формирования изображения в электронном микроскопе.



РЯБЧИКОВА Елена Ивановна – доктор биологических наук, заведующая группой микроскопических исследований Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), доцент кафедры биомедицинской физики и кафедры молекулярной биологии Новосибирского государственного университета. Автор и соавтор более 150 научных работ

Ключевые слова: Нобелевская премия, криоэлектронная микроскопия, структура молекул, микроскопия, электронная микроскопия.

Key words: Nobel Prize, cryoelectron microscopy, structure of molecules, microscopy, electron microscopy

© Е. И. Рябчикова, 2017

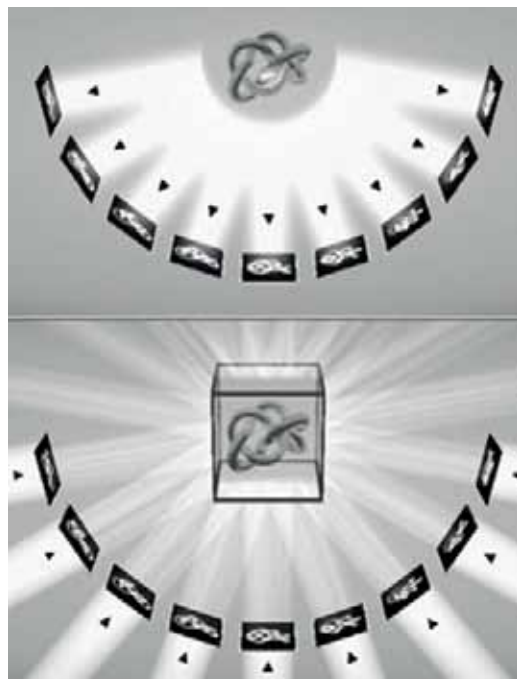
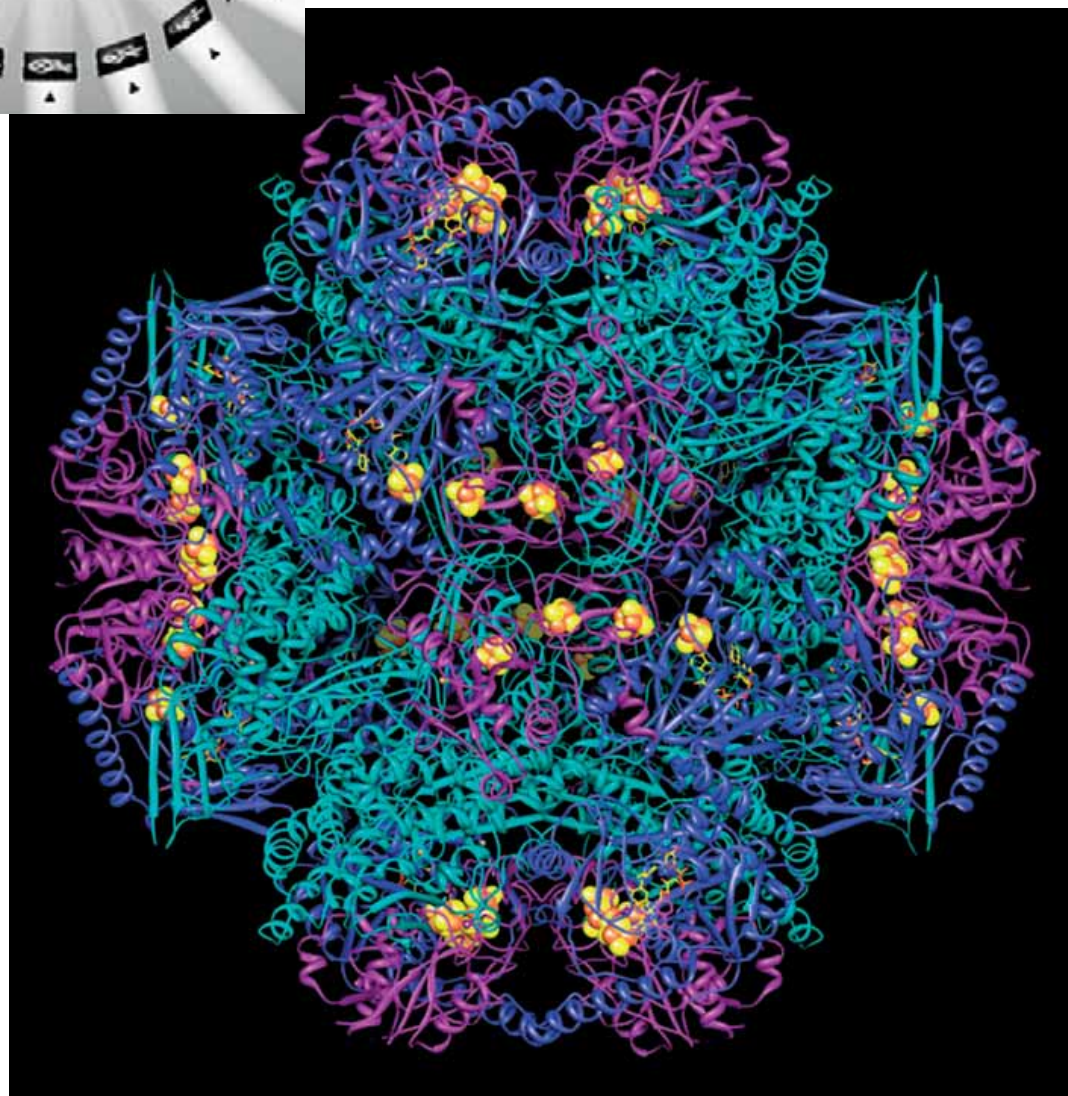


Схема получения в электронном микроскопе серии двумерных изображений молекулы белка, которую снимают под разными углами и затем реконструируют в трехмерную структуру. Внизу – реконструкция комплекса белков Frl грибка *Neurospora*, изображение приводится в псевдоцветах. Раскрашивать можно как угодно, но на самом деле все биологические объекты полупрозрачны, а на экране цифровой камеры электронного микроскопа – черно-белые.
© MPI Biophysik



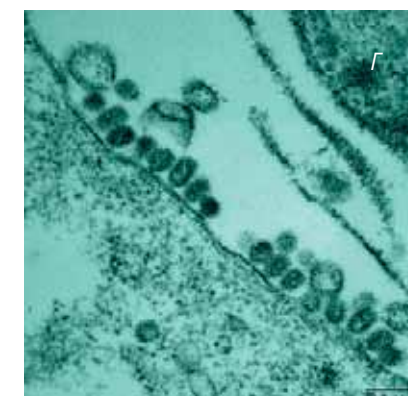
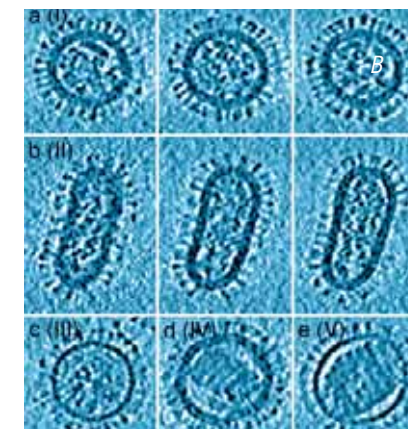
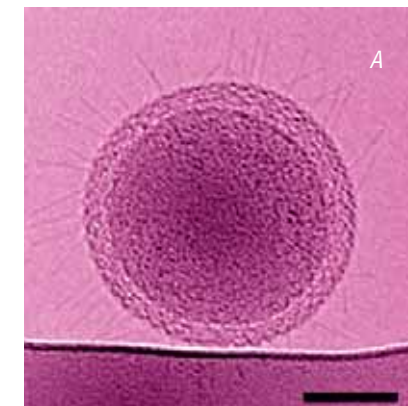
Человечество всегда стремилось лучше разглядеть окружающий мир. Вся микроскопия базируется на линзах Левенгука и оптической системе микроскопов Гука, созданных в XVII в. Микроскоп Левенгука позволил открыть мир микроорганизмов, а микроскоп Гука – клетки. Позже появилась световая микроскопия, где объекты освещались при помощи лампы, и относительно недавно – электронная микроскопия

Второй лауреат, Иоким Франк, в 1980-х гг. разработал метод построения трехмерных изображений изучаемых объектов на основе обработки полученных с помощью электронного микроскопа двумерных изображений – *электронно-микроскопическую томографию*. Этот метод применяется не только для анализа биологических объектов, но и в других областях науки.

Третий лауреат, Ричард Хендерсон, в 1990 г. с помощью криоэлектронного микроскопа первым получил трехмерное изображение белка родопсина с разрешением на атомарном уровне. Тогда это было большим достижением, в настоящее же время опубликованы реконструкции множества белков. Особую ценность криоэлектронная томография имеет для понимания строения белков сложной формы, в первую очередь – мембранных, которые нельзя изучать методом рентгеноструктурного анализа.

Криоэлектронная микроскопия отражает комплекс технических и теоретических разработок и, несомненно, является одним из самых передовых методов клеточной и молекулярной биологии. Приборная база этого метода постоянно совершенствуется и требует высокой квалификации исследователей, а также постановки адекватных задач.

Примеры объектов, визуализированных с помощью криоэлектронного микроскопа. А – очень мелкая бактерия, одна из тех, существование которых обсуждается и оспаривается. При помощи криомикроскопа удалось увидеть на ее поверхности тонкие волоски-филаменты, участвующие во взаимодействии с клетками животных и человека. Б – криосрез эпидермиса кожи, между клетками видны липидные структуры, которые другими методами не просматриваются. В – вирус гриппа, на его поверхности видны «шпики» – белки нейраминидазы и гемагглютинаина, с помощью которых вирус взаимодействует с заражаемой клеткой. Г – изображение частиц вируса гриппа на поверхности клетки в «обычном» электронном микроскопе (для сравнения)



Литература

Adrian M. Dubochet J., Lepault J. et al. *Cryo-electron microscopy of viruses* // *Nature*. 1984. V. 308. P. 32–36.
Frank J. Shimkin B., Dowse H. *Spider – A modular software system for electron image processing* // *Ultramicroscopy*. 1981. V. 6. N. 4. P. 343–357.
Henderson R., Baldwin J. M., Ceska T.A. et al. *Model for the structure of bacteriorhodopsin based on high-resolution electron cryo-microscopy* // *J Mol Biol*. 1990. V. 213. N. 4. P. 899–929.
Henderson R., Unwin P.N.T. *Three-dimensional model of purple membrane obtained by electron microscopy* // *Nature*. 1975. V. 257. P. 28–32.