

КРІОЕЛЕКТРОННА МІКРОСКОПІЯ: ОСТАННІ ДОСЯГНЕННЯ

Васильченко В.С.

Науковий керівник: Кравченко В.М.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

Vickywonder00@gmail.com

Вступ. В останні десятиліття значний прорив у сфері структурної біології став можливим завдяки застосуванню передових технологій, серед яких особливо виділяється кріоелектронна мікроскопія. Цей метод дозволяє детально вивчати структури біомолекул, від білків до вірусів, з вражаючою роздільною здатністю. За останні роки науковці активно вдосконалюють цю техніку, намагаючись подолати обмеження традиційних методів електронної мікроскопії. Кріоелектронна мікроскопія (кріо-ЕМ) – це структурний біологічний метод, який використовується для визначення тривимірної структури біомакромолекул. Після багатьох років розвитку кріо-ЕМ внесла у науковий світ відкриття, що призвели до революції в структурній біології.

Мета дослідження. Огляд має на меті проаналізувати найновіші статті, опубліковані щодо досліджень кріо-електронної мікроскопії.

Матеріали та методи. Виконання даного огляду проводилося шляхом аналізу широкого кола джерел, зокрема PubMed і Web of Knowledge. У даному дослідженні використані теоретичні методи – узагальнення та системний аналіз.

Результати дослідження. Основним принципом кріо-ЕМ є зображення біологічних макромолекул, заморожених і зафіксованих у скляному льоду, отримуючи таким чином проекцію білкових молекул у всіх напрямках. Потім комп'ютер оброблює та обчислює велику кількість 2D (двовимірних) зображень і реконструкції 3D (тривимірної) структури біомакромолекули.

За останні роки кріо-ЕМ досягла великих успіхів у визначенні макромолекулярної структури, особливо структур надмолекулярних систем. У 2017 році Нобелівську премію з хімії отримали троє біофізиків Жак Дюбоше, Йоахім Франк і Річард Хендерсон за їх й внесок у розробку кріо-ЕМ.

Загальний процес структурного аналізу за допомогою кріо-ЕМ виглядає наступним чином. Спочатку експресія та очищення білка: необхідно отримати зразки з високою чистотою, однорідністю та цілісністю, а молекулярне сито повинно демонструвати єдиний пік та симетричний розподіл. Далі негативне фарбування: молекули зразка поміщалися в шар розчину солі важкого металу (зазвичай ацетату урану) так, що сіль важкого металу оточує молекули. Останнє – заморожування зразка (це дуже важливо, і, зазвичай, включає два етапи: спочатку завантаження зразка на сітку для утворення тонкої водяної плівки, а потім швидке заморожування. У більшості випадків воду можна зробити склоподібною шляхом швидкого занурення сітки в рідкий етан вручну, що має перевагу в тому, що зразок може бути близьким до «природного» стану. Оскільки біохімічні реакції, особливо деякі ферментативні, відбуваються швидко, був розроблений інший метод, названий швидким змішуванням/ розпиленням мікрофлюїдних чіпів, щоб отримати інформацію про структуру проміжного стану реакції. Тобто змішування двох молекулярних систем за мілісекунди, а потім їх швидке заморожування, щоб можна було вловити проміжні етапи біохімічних реакцій. Цей метод може досягти роздільної здатності в часі в десятки мілісекунд, що дуже підходить для вивчення короткочасних біологічних подій, таких як рециркуляція рибосом, ініціація трансляції та інші процеси.

Протягом останніх кількох років було зроблено низку важливих проривів у галузі структурної біології завдяки поєднанню кріо-ЕМ та 3D-реконструкції. Прорив кріо-ЕМ,

головним чином, став результатом розробки апаратного та програмного забезпечення. Апаратне забезпечення включає електронний мікроскоп і пристрій запису зображення та програмне забезпечення включає алгоритми 3D-реконструкції та обробки даних зображень.

Існують дослідження, у яких повідомляється, що завдяки потужності кріо-ЕМ тепер детально відомо про структуру, а також динамічні особливості спайкових глікопротеїнів. Це значно допомогло у боротьбі з останніми пандеміями. А також Кріо-ЕМ мембранних білків стала частиною революції в технології та програмному забезпеченні детекторної електронної мікроскопії та виявила структури багатьох мембранних білків, які раніше виявилися несприйнятливими до альтернативних методів визначення структури (таких як рентгенівська кристалографія та ЯМР-спектроскопія).

Висновки. У висновку слід відзначити, що кріоелектронна мікроскопія визначає новий етап у розвитку структурної біології, надаючи дослідникам можливість здійснювати розгорнутий аналіз біомолекулярних структур на неймовірно високому рівні деталізації. Її застосування дозволяє не лише розкривати раніше невидимі аспекти внутрішньої організації клітин та молекул, але і вносити суттєві зміни у розуміння механізмів життєдіяльності організмів. Цей метод не тільки може аналізувати тривимірну структуру білків і їх комплексів на молекулярному рівні, але також вивчати органели на субклітинному рівні і навіть структуру тканини на рівні клітини. В останні роки було отримано багато нових знань у галузі клітинної біології за допомогою кріо-ЕМ, включаючи ультраструктуру мітохондрій, рибосом, ендоплазматичного ретикулуму та комплексу Гольджі, структуру веретен, які беруть участь у поділі клітини.

ПОНЯТТЯ ПРО ХИМЕР. БЛИЗНЮКОВА ТЕОРІЯ ВИНИКНЕННЯ ХИМЕР

Винокурова Д.О.

Науковий керівник: Ткаченко О.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
vidasha73@gmail.com

Вступ. Химера – тваринний або рослинний організм, що сполучає в собі клітини, тканини, органи чи частини тіла різних організмів. В основі утворення химери лежить об'єднання клітин, що виникли з різних зигот. Часто химерично побудованими є не цілі організми, а лише їхні окремі органи. Термін «химера» впроваджений Г. Вінклером у 1908 році.

Мета дослідження. Користуючись науковою літературою описати химер та близнюкові методи досліджень

Матеріали та методи. У роботі було використано аналіз наукових даних та літератури.

Результати дослідження. Химеризм іноді трапляється і в людей. Він може виникати на різних стадіях онтогенезу: на момент запліднення, ембріонального розвитку чи в дорослому віці. На стадії запліднення спостерігають тетрагаметний химеризм – утворення химери з двох різних зигот (чотирьох гамет). Зиготи зливаються незабаром після запліднення і утворюють один зародок. Такі химери можна ідентифікувати за наявністю двох популяцій червонокровців, гермафродитизмом, іноді – за мозаїчним забарвленням шкіри й очей. Найвідомішим представником людей-химер є американка Лідія Фейрчайлд. Мікрохимеризм виникає внаслідок проникнення кліток матері і плода через плаценту й характеризується як незначна частка «чужих» клітин в організмі. Розрізняють два види мікрохимеризму: