

Заседание рабочей группы  
по научной программе нового источника нейтронов ЛНФ

# Применение нейтронов в науках о жизни

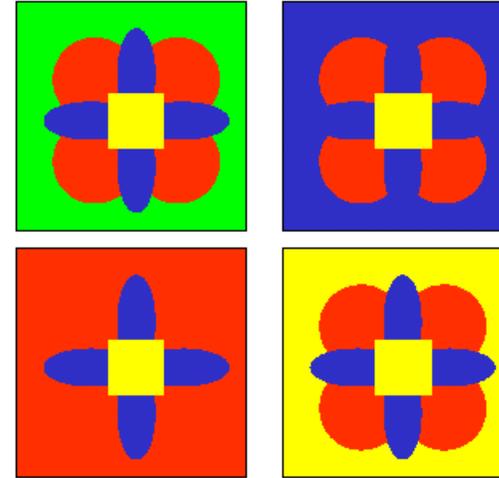
Т.Н. Муругова

# Главные темы

1. Здоровье и долголетие (механизмы функционирования живых систем в норме; механизмы старения; факторы и механизмы развития заболеваний);
2. Медицина и фармакология;
3. Окружающая среда и экология;
4. Адаптация и устойчивость к стрессовым условиям;
5. Биотехнологии (молекулярные машины, энергетика, нанороботы, биосенсоры, создание организмов / структур с новыми или заданными свойствами).

# Значение нейтронов в биологии

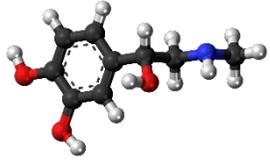
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	1 H																	2 He
2	3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
3	11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
4	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
5	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
6	55 Cs	56 Ba		72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
7	87 Fr	88 Ra		104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Cn	113 Uut	114 Fl	115 Uup	116 Lv	117 Uus	118 Uuo
Lanthanides	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu			
Actinides	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr			



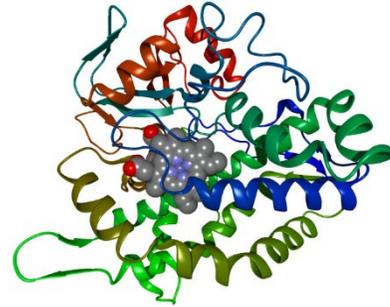
98% массы живых организмов

- «Видны» легкие атомы
- Водород – 50% атомов в биообъектах: виден **ВОДОРОД** и **ВОДА** и их взаимодействие с окружением
- Дейтерирование объекта Вариация контраста
- Динамические свойства
- Окружение образца (температура, давление, сдвиг, концентрации солей и т.д.)
- Не разрушает образец

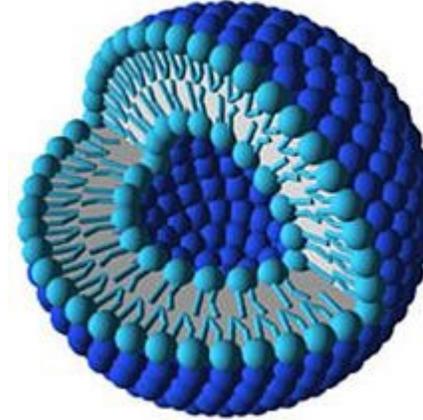
# Пространственный диапазон



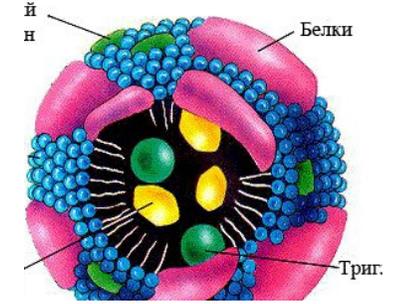
**Молекулы**  
(вода, биоактивные молекулы, пептиды, сахара)



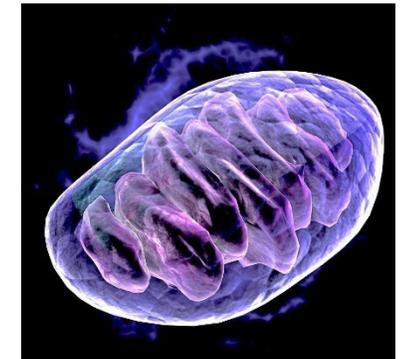
**Биополимеры**  
(белки, РНК, ДНК, полисахариды)



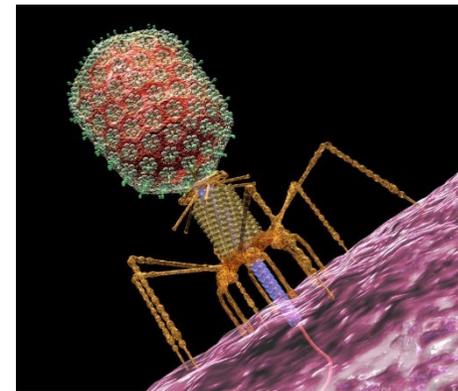
**Агрегаты**  
(мицеллы, мембраны модельные и биологические)



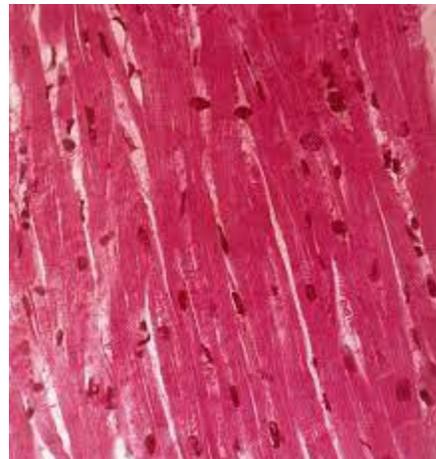
**Мультикомпонентные Комплексы**  
(мульти-субъединичные белки, мембраны модельные и биологические, фибриллы, белок-ДНК-РНК, хроматин, липопротеиды)



**Органеллы**



**одноклеточные организмы**  
(Клетки, вирусы)



**Ткани**



**Многоклеточные Организмы**

# Временные диапазоны (спектроскопия)

psec – nsec 1-10 Å

- Автокорреляционные колебания атомов (*INS некогерентное рассеяние*). ВОДОРОД.
- Коллективная подвижность высокой амплитуды: связывание субстрата с каталитическим центром, конформационные изменения
- Конформационная подвижность субъединиц в белковых и других макромолекулярных комплексах (*спин-эхо NSE, ps-100ns*)
- Диффузия и вращение липидных молекул в мембранах, формирование рафтов
- Ондуляционные колебания в мембране: физико-механические свойства мембраны (модуль изгиба)
- Сворачивание белков
- Динамика гидратной оболочки макромолекул.
- Динамика воды в клетках (*квазиупругое QENS, NSE*)
- Применение избирательного дейтерирования.

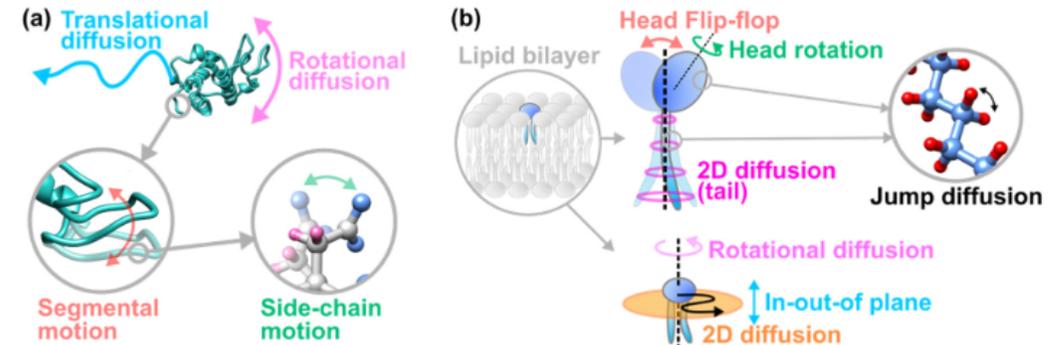
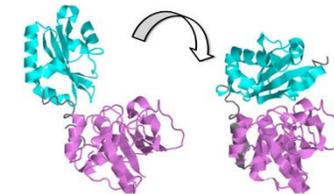


Figure 1. Hierarchical intramolecular motions observed by iNS for proteins (a) and lipid molecules (b). Classification of the motions of lipid molecules is based on the latest theoretical dynamical model called the Matryoshka model [15]. This figure is adapted from Ref. [16] with permission.



# 1. Здоровье и долголетие:

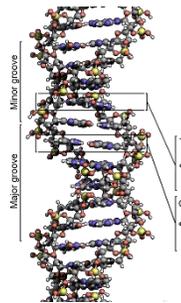
## Функционирование живых систем в норме и развитие болезней

### Основные процессы в живых системах:

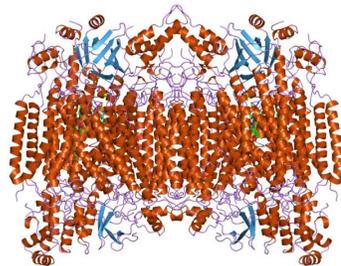
- Строительство и поддержание структуры
- Хранение, запись, передача информации
- Передача/распознавание сигналов
- Химическое производство / утилизация
- Производство энергии
- Движение

### Распространенные болезни:

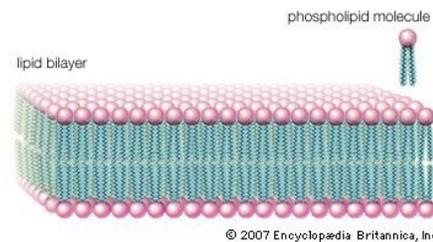
- Диабет
- Ожирение
- Гиперлипидемия
- Атеросклероз
- Рак
- Нейродегенеративные заболевания
- ВИЧ
- Старение



Нуклеиновые кислоты



Белки



Липиды

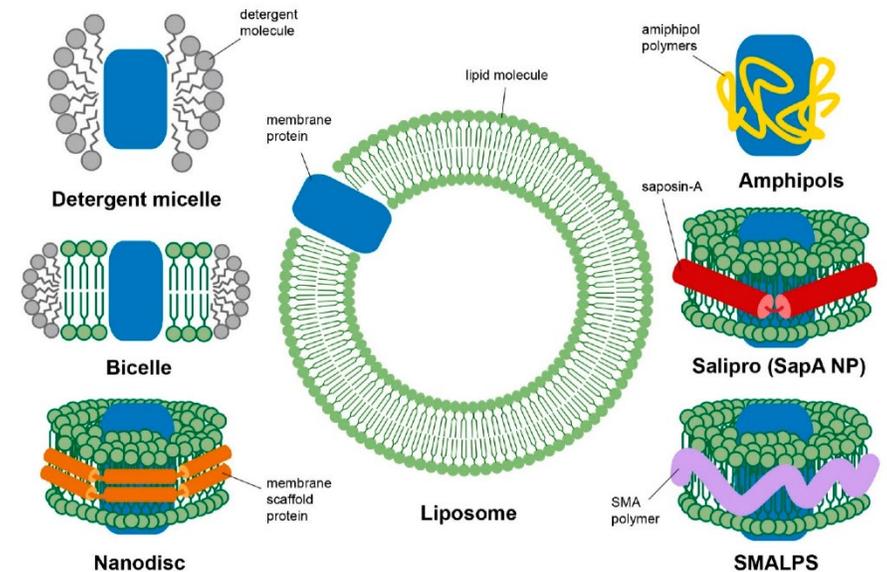
# 1. Здоровье и долголетие: белки

**БЕЛКИ ЯВЛЯЮТСЯ ВАЖНЕЙШИМИ БИОМОЛЕКУЛАМИ.  
ОГРОМНОЕ КОЛИЧЕСТВО ФУНКЦИЙ:**

- Метаболизм (ферменты)
- Транспорт (ионы, метаболиты, крупные молекулы – белки и РНК),
- Производство и преобразование энергии
- Передача сигналов (химические, фотосигналы, электрические импульсы)
- Контроль над липидным составом клеточных мембран
- Поддержание формы клетки и ее органелл

## Мембранные белки

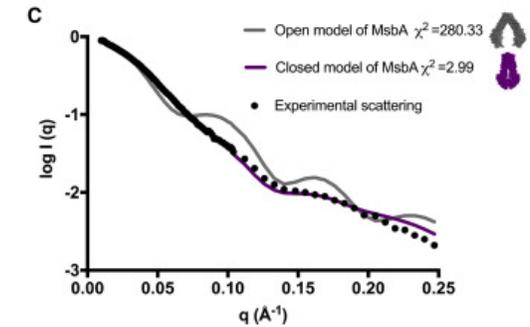
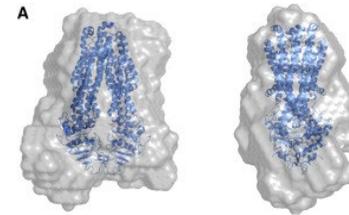
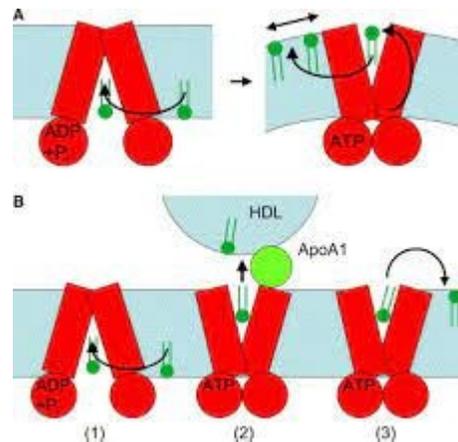
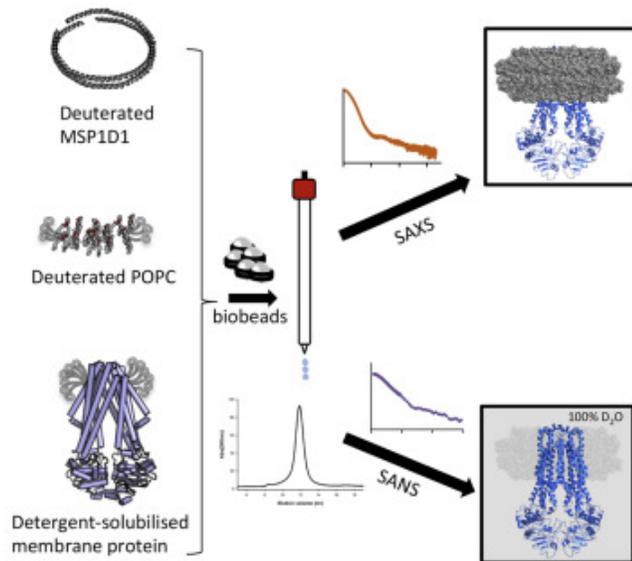
- 1/3 человеческого генома кодирует мембранные белки.
- Мишень ~60% лекарств – мембранные белки



Стабилизация мембранных белков

# 1. Здоровье и долголетие: мембранные белки

АТФ-связывающий транспортный белок MsbA  
Липид флиппаза



(A) Ab initio shape reconstruction by DAMMIF from the SANS data of MsbA-sNDs superimposed on the crystal structure of MsbA in the closed apo state (Ward et al., 2007).

((C) SANS data acquired in stealth nanodiscs can be used to discriminate between different conformations of MsbA. The closed apo model (purple) fits much better to the experimental data (black dots) than the open apo model (gray).

**SANS позволил однозначно определить общую конформацию MsbA**

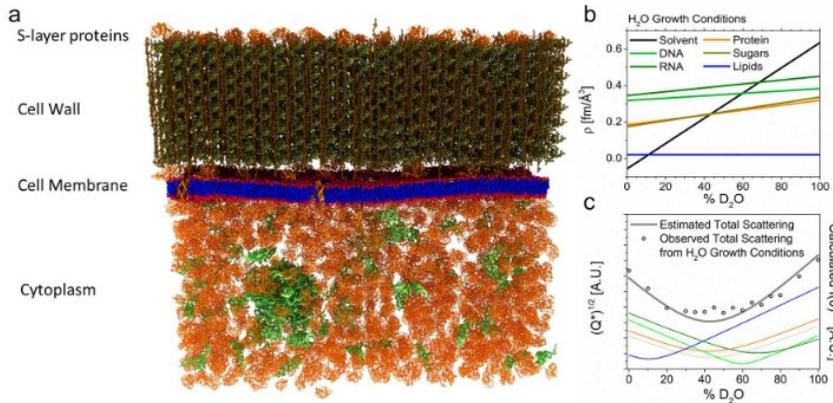
**Различие в конформациях в присутствии АДФ**

# Дейтерирование в живой клетке



*Bacillus Subtilis*

- Выращивание бактерий в D2O-среде
- Внедрение в бактерии H/D-жирных кислот при генетическом регулировании биохимии ЖК в клетках.
- Определили толщину гидрофобной части мембраны в живой бактерии ( $24.3 \pm 0.9 \text{ \AA}$ ).
- Увидели формирование рафтов в мембранах живой бактерии



Envelope structure and scattering properties of *B. subtilis*. (a) Representation of the cell wall, the membrane and a portion of the cytoplasm.

# МУРН

- Приспособление к стрессу (6 лет на спутнике НАСА)
- Продуцирует антимикробные пептиды
- Очистка сточных вод
- Переработка пластика

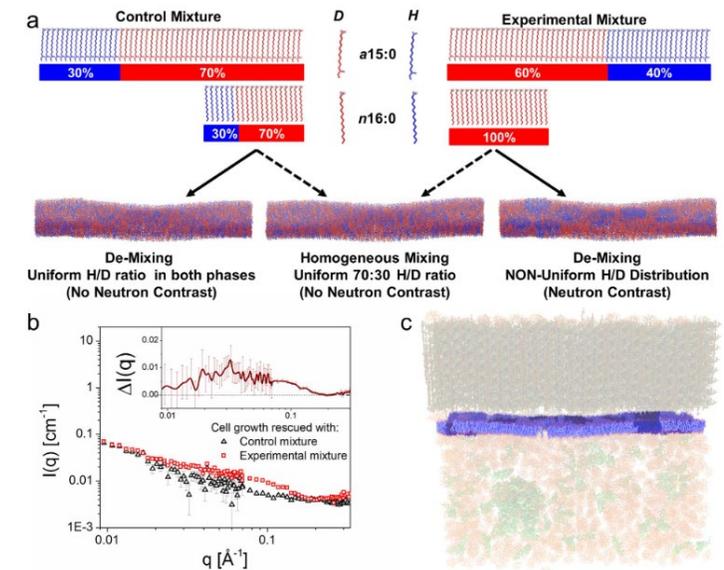


Fig 4. Detecting lateral lipid organization in *B. subtilis*. (a) Schematic of the experiment. Neutron contrast in the membrane was

lateral features smaller than 40 nm that are consistent with the notion of lipid rafts.

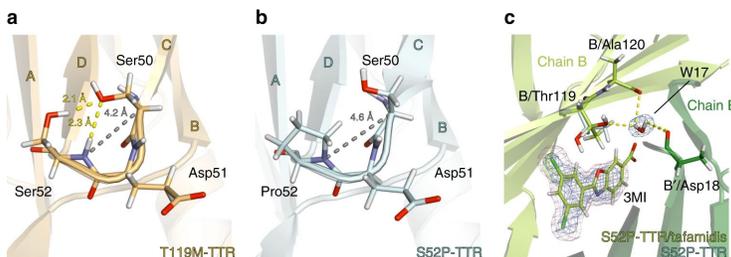
# 1. Здоровье и долголетие

## Формирование фибрилл

Болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, диабет II типа, полинейропатия, прионные болезни

### Транстиретиновый амилоидоз

(периферическая и автономная нервная система)

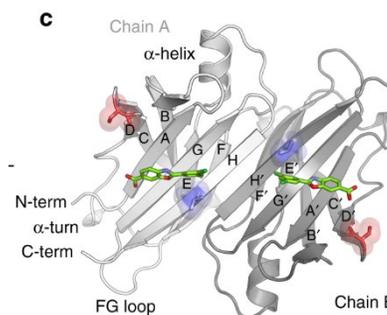


Мутация  
Стабильный

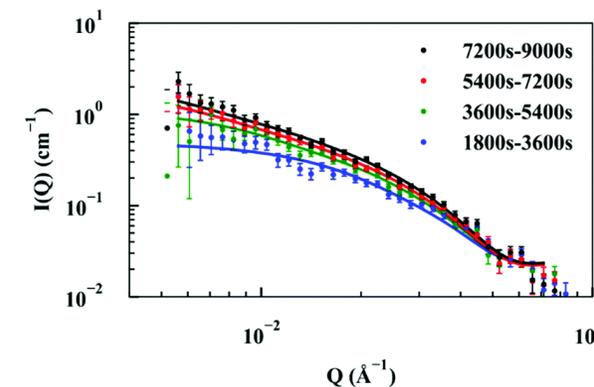
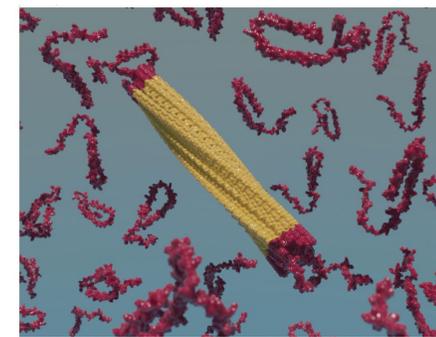
Мутация.  
Амилоидоз  
Развернутая  
петля

Лиганд,  
стабилизирующий  
петлю.

Нейтронная дифракция + рентгеновская  
дифракция + молекулярная динамика



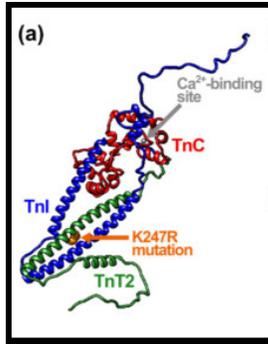
Обратная замена D на H.  
(области, более подвергнуты  
денатурации и агрегации)



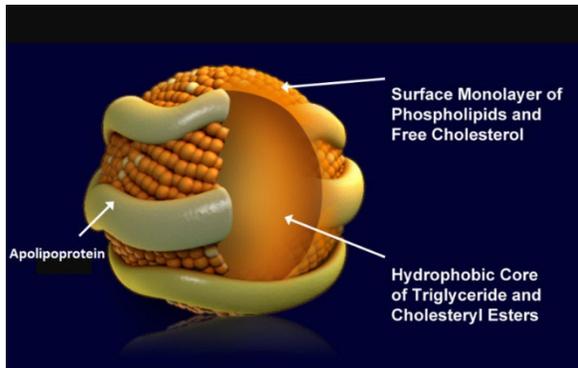
Оценена скорость роста и средняя длина амилоидных фибрилл ( $\alpha$ -synuclein-тельца Леви) из дейтерированных мономеров. Время-разрешенное МУРН. Центры нуклеации «занулены» за счет контраста. Отсутствие спонтанного зарождения центров нуклеации фибрилл. 6,3 Å/мин; длина 4,2мм.

# 1. Здоровье и долголетие

## Изменение динамических свойств при патологиях

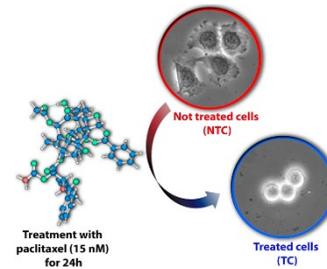


**Кардиомиопатия**, вызванная точечной мутацией в гене белка тропонина. Повышенная подвижность неупорядоченного участка белка мешает взаимодействию миозина и актина, а следовательно, правильному сокращению сердечной мышцы.  
QENS



### Атеросклероз

Динамический ответ липопротеидов (ЛП) в норме и с патологическими свойствами при повышенном гидродинамическом давлении (20 бар, 3 кбар) Амплитуды колебания для паталогических ЛП уменьшаются при повышении давления  
EINS IN13

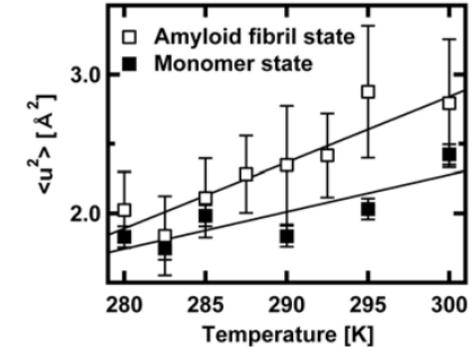
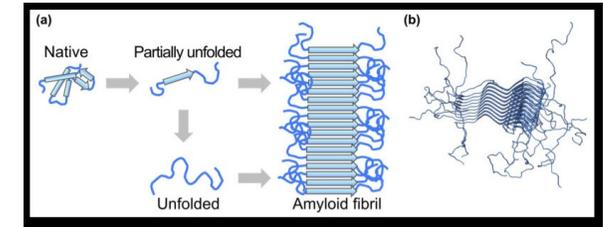


breast cancer cells with 15 nM of paclitaxel for 24 h

### Раковые клетки

- Динамика воды зависит от типа рака по сравнению с нормой. В норме же ткани не имеют различий
- Динамика воды как маркер рака
- Понять молекулярный механизм
- Присутствие лекарств изменяет динамику воды.  
QENS BASIS SNS 3.5meV

## Нейтронная спектроскопия (QENS, INS)



### Амилоидоз (EINS)

- Повышение подвижности боковых групп белка в фибриллах
- Стабилизирующее свойство биопротектора тригалозы
- Взаимосвязь условия формирования фибрилл – полиморфизм фибриллы – подвижность – токсичность (степень взаимодействия с мембраной)

# 1. Здоровье и долголетие

## Сборка вирусного капсида

1. Для формирования оболочки необходимо 3 взаимодействия:

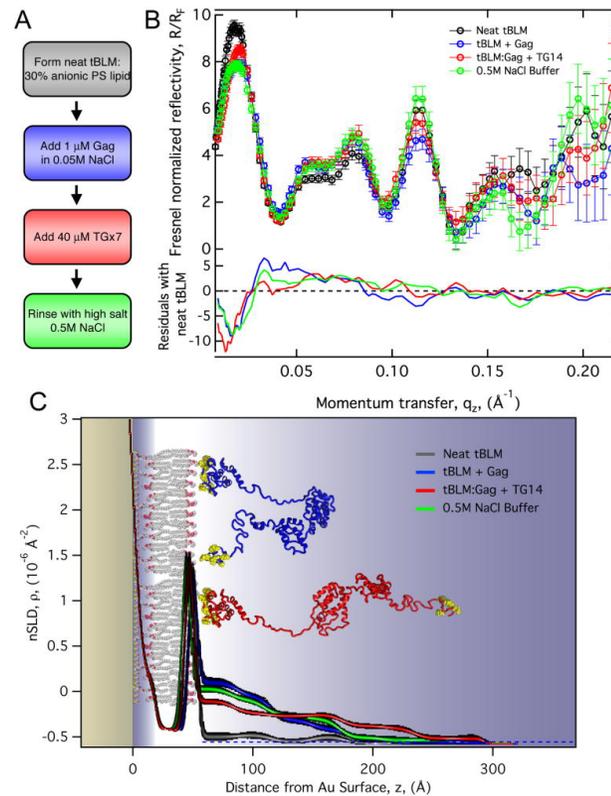
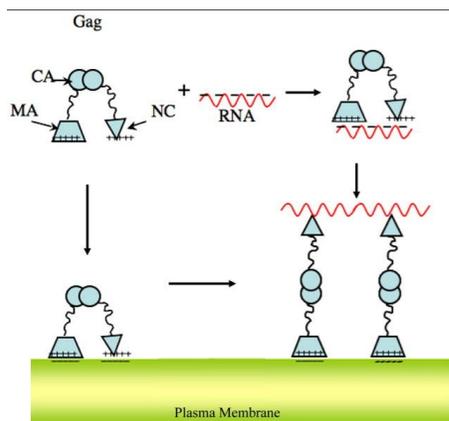
Gag+Gag

Gag+РНК

Gag+мембрана

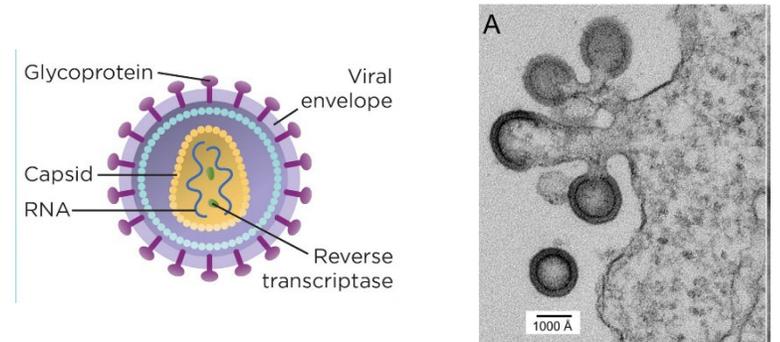
2. Влияние состава мембраны на формирование оболочки (анионные липиды)

3. Gag не способен формировать капсид, пока нет контакта с мембраной и НК

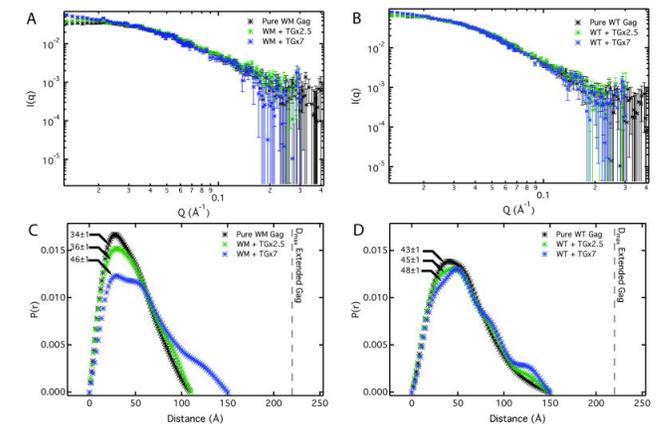


Нейтронная рефлектометрия: изменение конформации Gag при связывании с мембраной (tBLM) и ДНК (TG).

## Нейтронная рефлектометрия МУРН



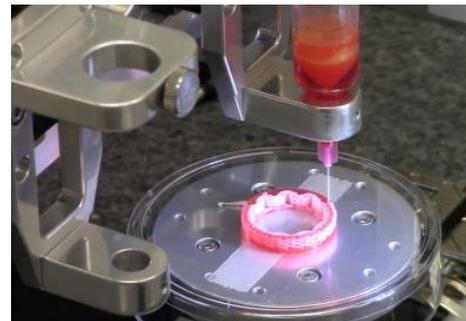
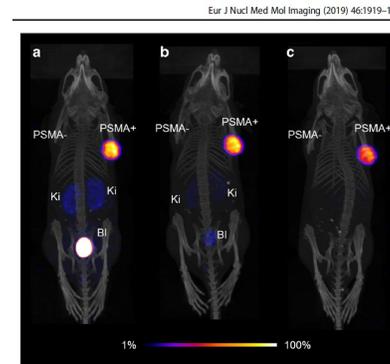
**Figure 1** Gag dimensions. (A) Gag assembly at different stages of immature virion formation imaged by EM. Protein shell in both the spherical virion and incomplete arcs has a thickness of  $\approx 200 \text{\AA}$ .



МУРН: изменение конформации капсидного белка Gag в присутствии РНК

## 2. Медицина и фармакология

- Разработка и поиск новых лекарств;
- Адресная доставка лекарств
- Антимикробная защита;
- Вакцины;
- Терапия рака;
- Биопринтинг
- Протезирование



# 2. Медицина и фармакология

- **Разработка Новых Лекарств (Rational Drug Design)**

- **ЗНАТЬ СТРУКТУРУ БЕЛКА**
- Знать расположение ВОДОРОДА, ВОДОРОДНЫХ СВЯЗЕЙ, ГИДРАТАЦИИ ( $H_2O$   $H_3O^+$   $OH^-$   $H^+$ ) – основные участники в связывании лекарств
- Детали связывания клеточного рецептора с вирусом
- Наблюдения при комнатной температуре
- Помощь для компьютерного моделирования

140 кристаллов исследовано НД

Размер кристаллов  $<0.5\text{mm}^3$

80% кристаллов – дейтерирование в окружении кристалла

### Расшифровка химии ферментов и регуляции их работы:

- Перенос протонов
- Участие воды в переносе протонов
- Участие воды в положении лиганда в активном центре фермента
- Протонирование химических групп
- Промежуточные состояния лигандов в ферменте при участии водородных связей
- Оценка значения  $pK_a$  боковых групп активных центров при титровании H/D

Белок человека



улучшить или скомпенсировать функцию

Чужеродный микроорганизм



воздействовать на функционально значимые белки микроорганизма и блокировать их функцию

# 2. Медицина и фармакология

- **Разработка Новых Лекарств (Rational Drug Design)**

hCA II (всего 16 изомеров)

- Катализирует обратимую гидратацию CO<sub>2</sub>.
- Глаукома
- Эпилепсия
- Высотная болезнь
- Некоторые виды рака

**ILL INSTRUMENT USED:** quasi-Laue diffractometer LADI-III

- Комнатная температура (рентгеновская кристаллография – заморозка кристаллов при -170 -180 оС)

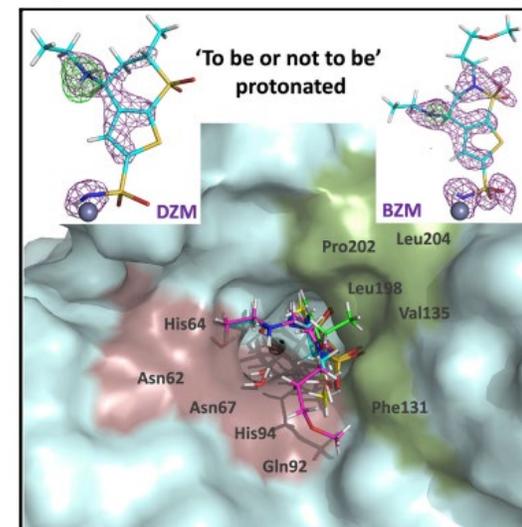
Определено положение атомов водорода, найдена сеть водородных связей  
идея ввести дополнительную водородную связь для усиления связывания с лигандом

Рентген – brinzolamide – хвост в гидрофобном кармане

Нейтроны – в гидрофильном кармане

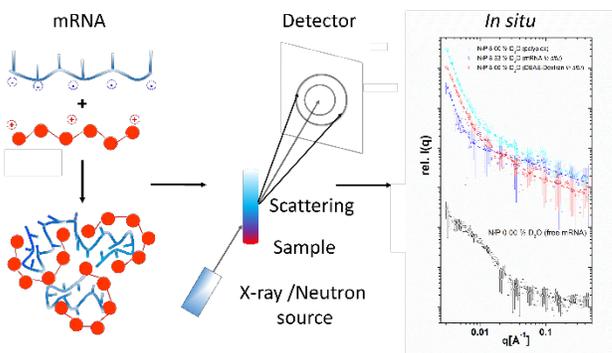
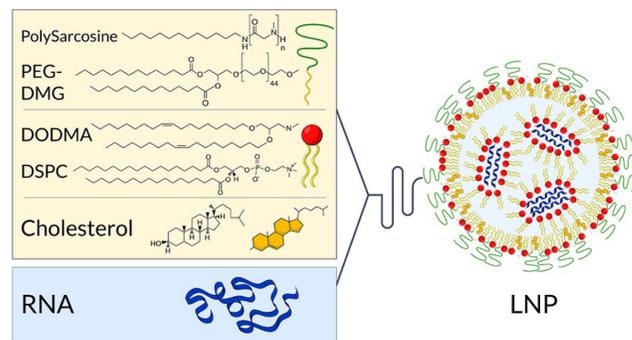
-> обратить внимание на гидрофильные карманы у других изомеров

## Нейтронная дифракция



# 2. Медицина и фармакология

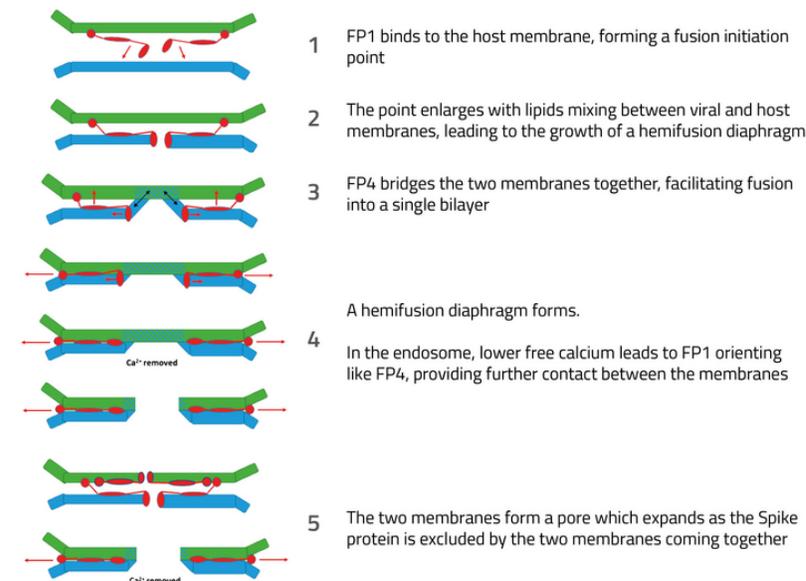
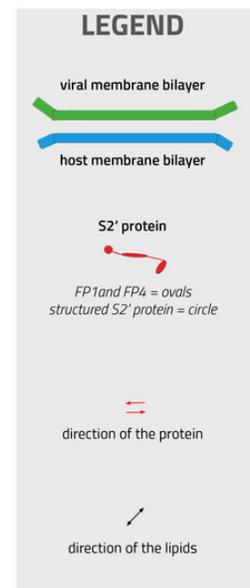
## ВАКЦИНЫ



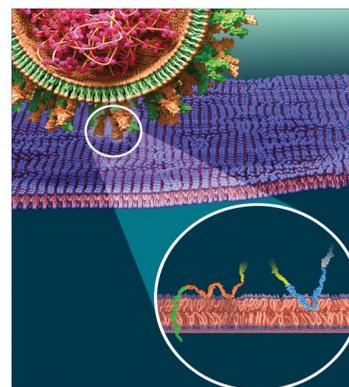
Copyright:— BioNTech, Cristina Sala

[https://www.fz-juelich.de/en/jcns/jcns-1/news/announcements/2021/2021-03-08\\_biontech](https://www.fz-juelich.de/en/jcns/jcns-1/news/announcements/2021/2021-03-08_biontech)

## SARS-CoV-2 fusion peptides during infection



February 23, 2022  
Volume 144  
Number 2  
ACS Publications  
**JACS**  
JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY



ACS Publications  
www.acs.org

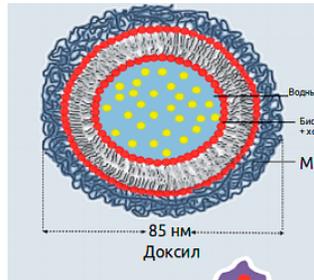
### ILL instruments :

Neutron reflectometer FIGARO,  
SANS instrument D22,  
Thermal neutron backscattering spectrometer IN13,  
Spin-echo spectrometer IN15,  
Backscattering spectrometer IN16B,  
cold neutron multichopper spectrometer IN5

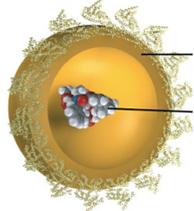
<https://www.ill.eu/news-press-events/news/scientific-news/neutron-scattering-techniques-reveal-the-roles-of-sars-cov-2-fusion-peptides-during-infection> 16

# 2. Медицина и фармакология

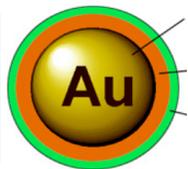
## Адресная доставка лекарств



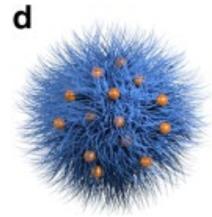
Липосомы



Белковые наночастицы (альбумин)



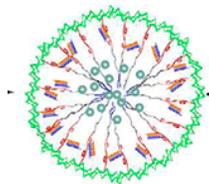
Наночастицы металлов  
Магнитные частицы



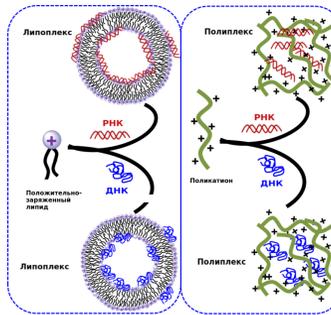
Микрогели



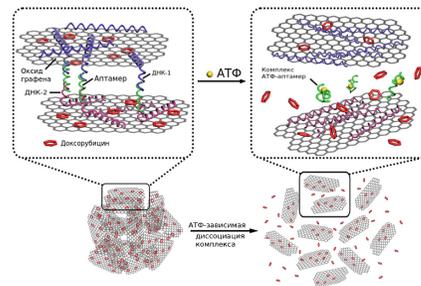
Фуллерены



Наномицеллы



Липоплексы  
Полиплексы



Графен  
модифицированный

- Биосовместимость
- Устойчивость при транспортировке
- Адресность
- Синтез

Scheffold, F. Pathways and challenges towards a complete characterization of microgels. Nat Commun 11, 4315 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17774-5>

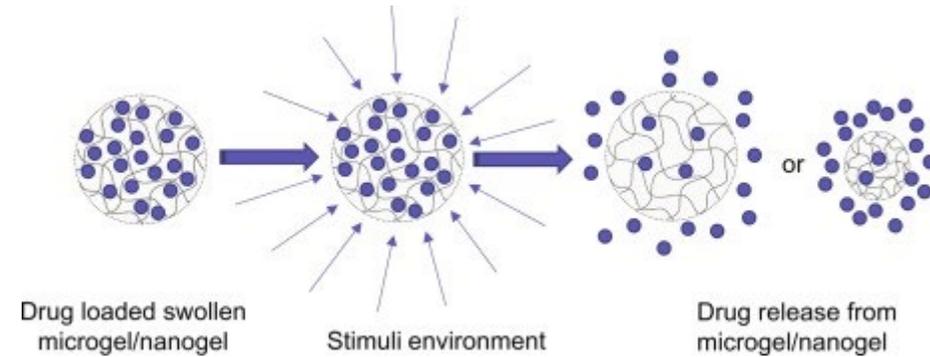
<https://biomolecula.ru/articles/nanochastitsy-instrument-adresnoi-dostavki-lekarstv>

# 2. Медицина и фармакология

QENS,  
SANS

- Доставка лекарств
- Биосенсоры
- Биопринтинг
- Протезирование

Гидрогели



**Реакция на внешние условия**  
(уменьшение объема и размера за нсек):

- pH
- Температура
- Молекулы (глюкоза)
- Ультразвук, магнитное поле, свет (внедрение металлических частиц)

**Для нейтронов:**

Внутренняя структура гелей при различных условиях

Размеры каналов,

Плотность, пористость, мягкость/твердость

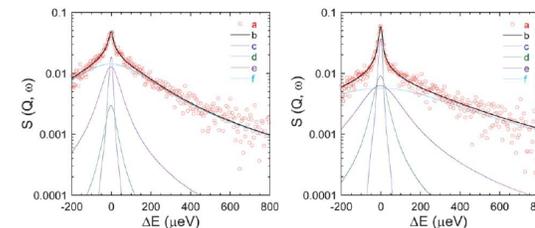
расположение нагруженных веществ

Динамика и диффузия жидкости внутри

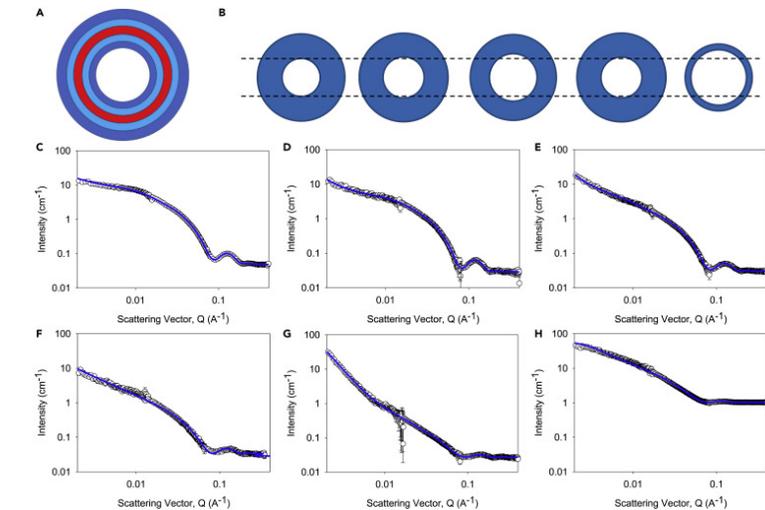
Кинетика

гепарин, гиалуроновая

Кислота, акриламид, поливиниловый спирт и т.д.



**Fig. 4** QENS spectra of DexM10 microgels at 293 K (left), 323 K (right) at  $Q = 1.157 \text{ \AA}^{-1}$ : (a) experimental data, (b) total fit, (c) elastic polymer component, (d) quasielastic polymer component, (e) slow relaxing water component and (f) fast relaxing water component. For the sake of clarity only 30% of the data points are shown.



Emily R. Draper et al. "Using Small-Angle Scattering and Contrast Matching to Understand Molecular Packing in Low Molecular Weight Gels." *Matter* Volume 2, Issue 3, 4 March 2020, Pages 764-778

Ghugare, Shivkumar V. et al. "Biodegradable dextran based microgels: a study on network associated water diffusion and enzymatic degradation." *Soft Matter* 8 (2012): 2494-2502.

## 2. Медицина и фармакология

- Детектирование опухоли (single-photon emission computed tomography (SPECT); positron emitting tomography (PET))
- Облучение опухоли (гамма-частицы)

Терапевтический «золотой стандарт» **lutetium-177**

Комбинирование изображения и терапии:

Tb-161 и Tb-149 (терапевтические свойства),  
Tb-152 и Tb-155 (**imaging**)

ILL производство Tb-161

облучение мишени Gd-160

PSI

Очистка ion-exchange chromatography

CERN-ISOLDE

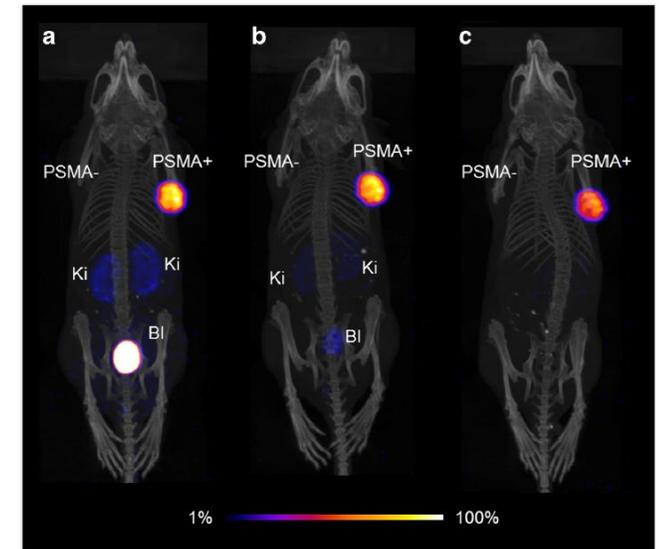
using a proton beam to break up nuclei in a tantalum-foil target, followed by so-called on-line mass separation of the isotopes

- Изотопы для диагностирования и терапии рака;

1926

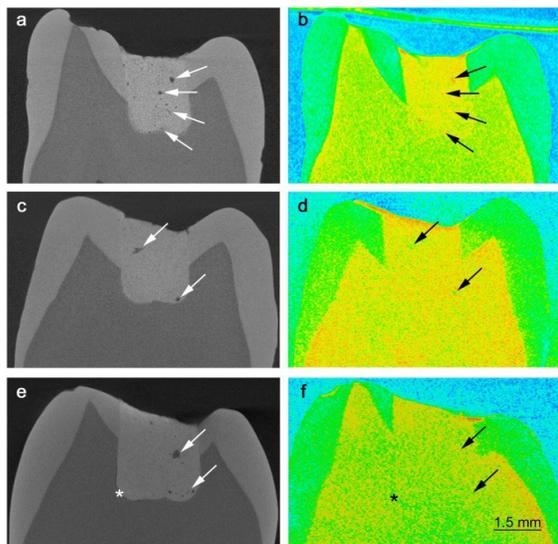
Eur J Nucl Med Mol Imaging (2019) 46:1919–1930

Fig. 3. SPECT/CT images of mice after injection of ~25 MBq  $^{161}\text{Tb}$ -PSMA-617 shown as maximum intensity projections. a Scan obtained 1 h p.i., b Scan obtained 4 h p.i., c Scan obtained 24 h p.i.



# 2. Медицина и фармакология

рентген      нейтроны



Старение материала пломбы, проникновение в трещины и полости воды.

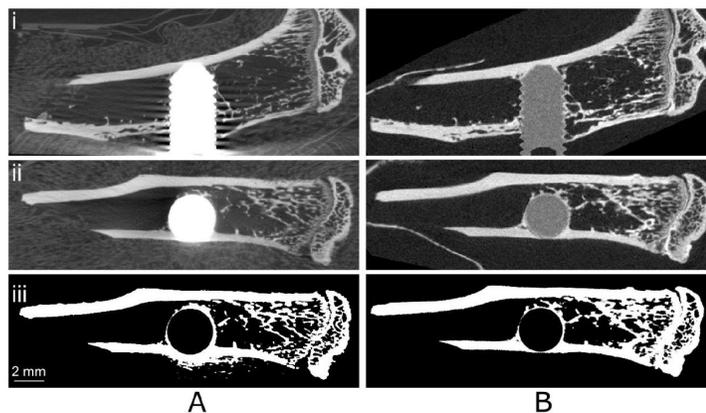
Обнаружена повышенная подвижность воды в материале.

Extracted teeth restored with GIC (glass ionomer cements).

The neutron images also suggest that interconnecting pores or cracks are filled with liquid (b, f), while some of the larger pores seem to be empty (d).

Nakanishi, T.M., Okuni, Y., Furukawa, J. et al. Water movement in a plant sample by neutron beam analysis as well as positron emission tracer imaging system. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **255**, 149–153 (2003).

рентген      нейтроны



Comparison of images obtained with (A) X-ray tomography (Zeiss-XRM520 laboratory tomograph, 26  $\mu\text{m}$  voxel size) and (B) neutron tomography (13.5  $\mu\text{m}$  voxel size) with sagittal (i) and horizontal (ii, iii) views. Images iii show the same slices as ii after segmenting the bone from the background.

## Ремоделирование костной ткани на границе с металлическим имплантом.

Hanna Isaksson, Sophie Le Cann, Christina Perdikouri, Mikael J. Turunen, Anders Kaestner, Magnus Tägil, Stephen Hall, Erika Tudisco, Neutron tomographic imaging of bone-implant interface: Comparison with X-ray tomography, *Bone* (2017),

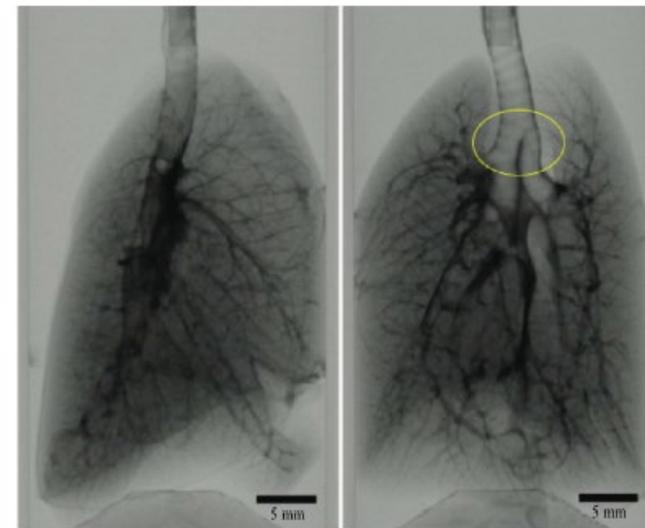
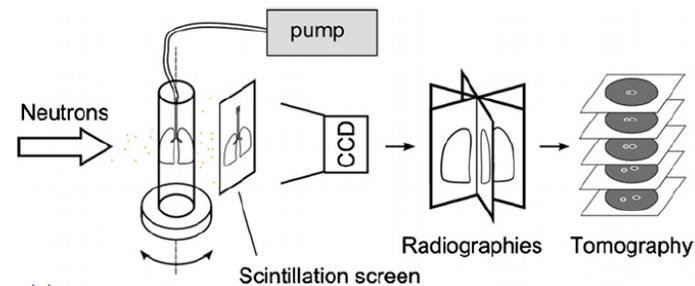


Figure 17  
Left: photograph of a rat lung at the neutron beamline. Right: lateral and frontal neutron radiographs of the lung showing the lung physiology such as the trachea, lobes and airways (Metzke et al., 2011). The spatial resolution was approximately 50–60  $\mu\text{m}$ . The yellow ellipse indicates the first bifurcation. Videos of the nCT data are available at <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/0031-9155/56/1/N01/data#>.

## Хороший контраст между воздухом и тканью распределение воздуха в легких

Metzke RW, Runck H, Stahl CA, Schillinger B, Calzada E, Mühlbauer M, Schulz M, Schneider M, Priebe HJ, Wall WA, Guttman J. Neutron computed tomography of rat lungs. *Phys Med Biol.* 2011 Jan 7;56(1):N1-N10.

# 3. Окружающая среда и экология

Нейтронный активационный анализ

Мониторинг загрязнения (потребления организмом) тяжелыми металлами

Fig. 1  
Map of sample collection sites of moss biomonitoring in 2015–2016.

Рис. 1  
Карта пробоотбора мхов-биомониторов в 2015–2016 гг.



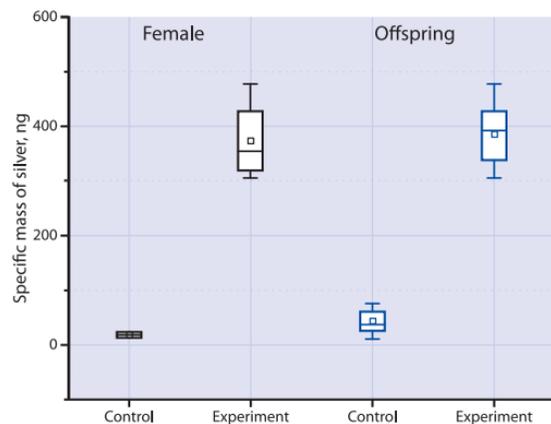
Fig. 1  
Mussels *Mytilus galloprovincialis*.

Рис. 1  
Мидии *Mytilus galloprovincialis*.



Fig. 2  
Mass content of silver in the brain of female mice and their offspring determined by neutron activation analysis.

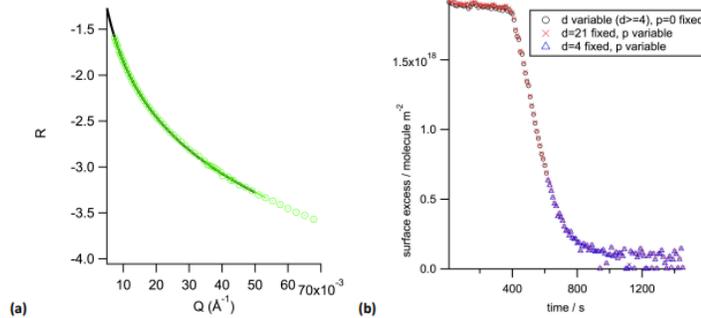
Рис. 2  
Массовое содержание серебра в мозге самок и их потомства, определенное методом нейтронного активационного анализа.



НАА помогает оценить безопасность морепродуктов

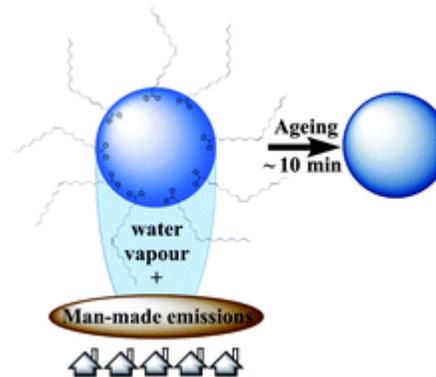
# 3. Окружающая среда и экология

## Влияние атмосферы на климат и здоровье

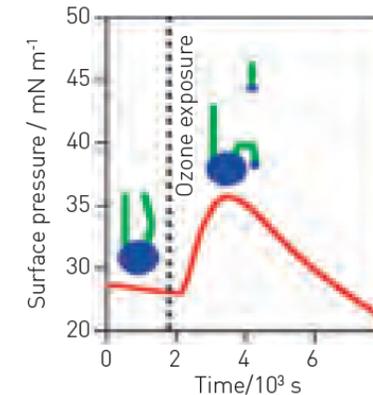


**Figure S2.** (a) Neutron reflectivity,  $R$ , as a function of momentum transfer,  $Q$ . The depicted fit (black line) results in a layer thickness of 2.1 nm; (b) The three fitting approaches described above lead to negligible uncertainties; the error bars are omitted for clarity.

- Механизм образования осадков
- Влияние аэрозолей на климат (круговорот воды)
- Процесс окисления (утонышения) органических ПАВ пленок в атмосфере  $\text{NO}_3$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{O}_3$
- Скорость роста капель,
- моделирование вклада аэрозолей в отражаемость облаков, вероятность осадков и круговорот воды



## UNDERSTANDING OZONE POISONING NEUTRON STUDIES REVEAL HOW OZONE POLLUTION DAMAGES THE LINING OF THE LUNG



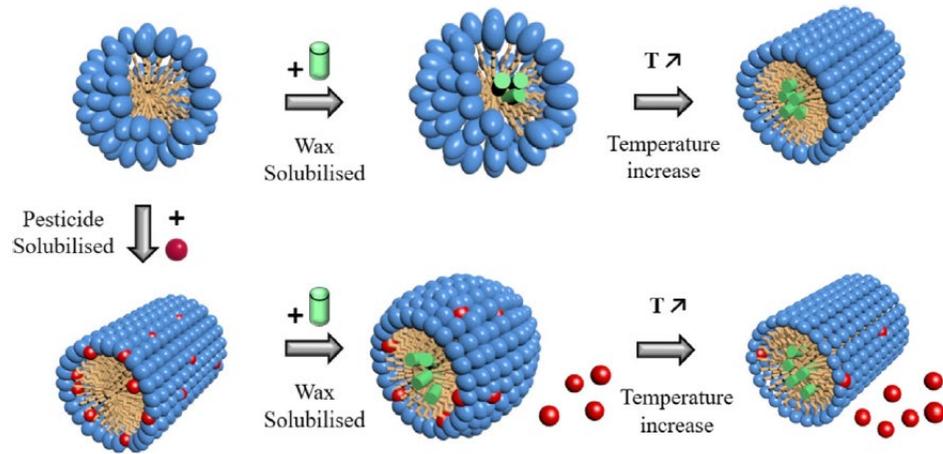
The damaging effect of ozone on an unsaturated lipid monolayer showing how one hydrocarbon tail bends round and breaks off as the surface pressure of the monolayer increases

**ILL INSTRUMENT USED:**  
FIGARO reflectometer

# 3. Окружающая среда и экология

МУРН

## Применение пестицидов



Более эффективное действие пестицидов



Меньшее количество применяемых пестицидов

Wax solubilization caused pesticide release and shell hydration, and shortened the length of the cylindrical micelles of the CP loaded C12E6. Temperature increase led to a significant rise in the amount of the dissolved waxes, increased pesticide release, increased micellar length, and caused shrinkage and dehydration of the shell. This study indicates that agrochemical sprays are capable of dissolving leaf waxes, and may trigger pesticide release from surfactant micelles upon contact with plant surfaces.

# 3. Окружающая среда и экология

## Парниковые газы, источники природного газа

Метан – обладает высоким парниковым эффектом

Гидраты природного газа – дно океана, ледники

Формирование в нефте- и газопроводах

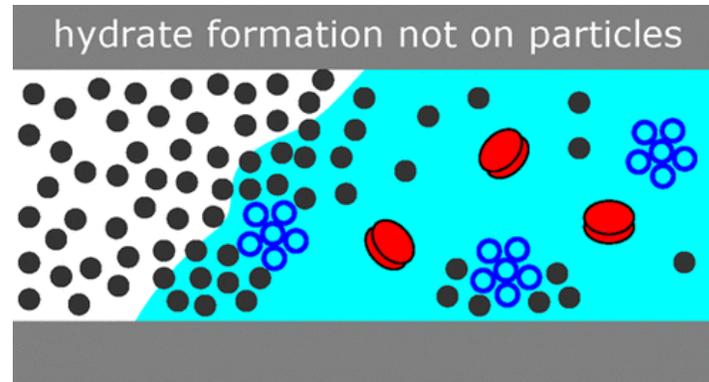
Поиск ингибиторов нуклеации гидратов природного газа

Присутствие примесей (наночастиц) не влияет на кинетику формирования гидратов метана (нужно искать на разделе фаз вода/газ или in the bulk)

time-resolved neutron diffraction in conjunction with H/D isotopic labeling.

NIMROD and SANDALS, ISIS

These instruments are optimized for studies of liquids and amorphous materials containing a high proportion of hydrogen (1H), and they provide continuous access to a momentum transfer range  $0.02 < Q < 50 \text{ \AA}^{-1}$



## Нейтронная дифракция

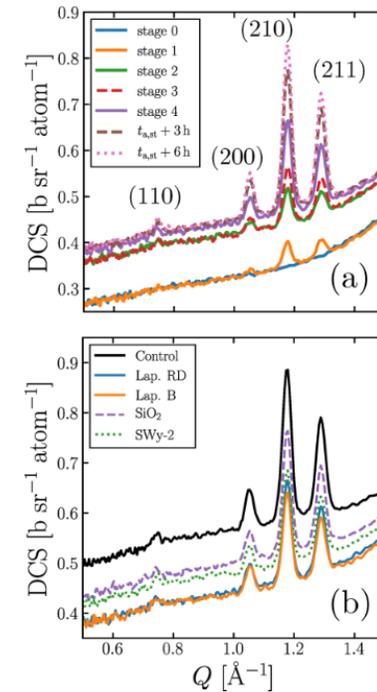


Figure 1. Methane hydrate formation as studied by neutron diffraction from  $\text{CH}_4 + \text{D}_2\text{O}$  solutions at 180 bar and 278 K. All results obtained with the “standard” agitation regime. (a) The effects of agitation time for a sample containing 0.5 wt % Laponite RD clay, showing the increase of the DCS level (Eq. S2) and evolution of the sI methane hydrate Bragg peaks. It is clear that the overall scattering level increases as methane is dissolved into the  $\text{D}_2\text{O}$ . (b) The effects of different solid additives (0.5 wt %) as seen in the DCS at time  $t_{\text{nst}}$ . Note that the scattering level is highest for the control sample of  $\text{CH}_4 + \text{D}_2\text{O}$  without added solids. The  $\text{SiO}_2$  sample consists of 20 nm spheres.

crystalline methane hydrate sI structure of composition  $\text{CH}_4:\text{D}_2\text{O} \approx 1.0:5.75$

# 4. Приспособление и устойчивость к стрессовым условиям

Радиация

Активные формы кислорода

Давление

Температура

Высокие концентрации соли

Экстремальные pH

Криопротекторы

Раковые клетки тоже адаптируют нормальные пути смягчения стресса, чтобы опухоль прогрессировала,

# 4. Приспособление и устойчивость к стрессовым условиям

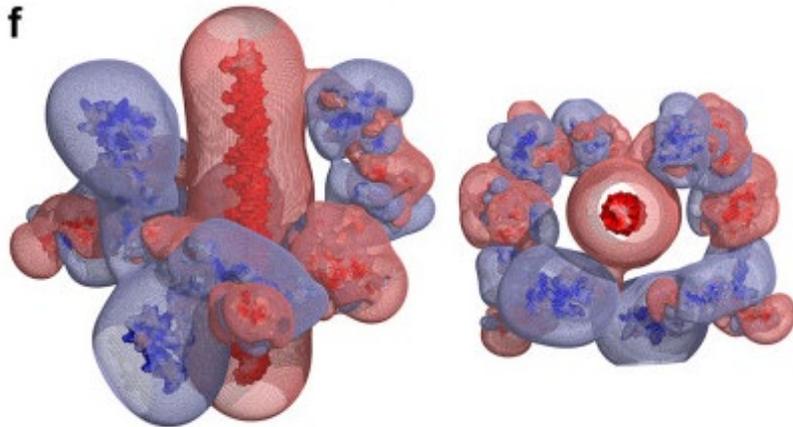


## Tardigrade disordered proteins

- Криопротектор
- Трансплантология - длительное хранение биообразцов
- Космические полеты

## Damage suppressor protein (Dsup)

Физический щит для ДНК от излучения и радикалов



Устойчивость к радиации  
Устойчивость к высыханию

### Особая группа неупорядоченных белков:

- Комплексообразование с другими белками, ДНК, малыми молекулами
- Сигнализация и регуляция клеточных процессов

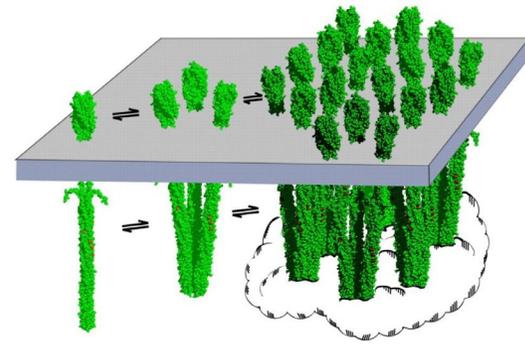
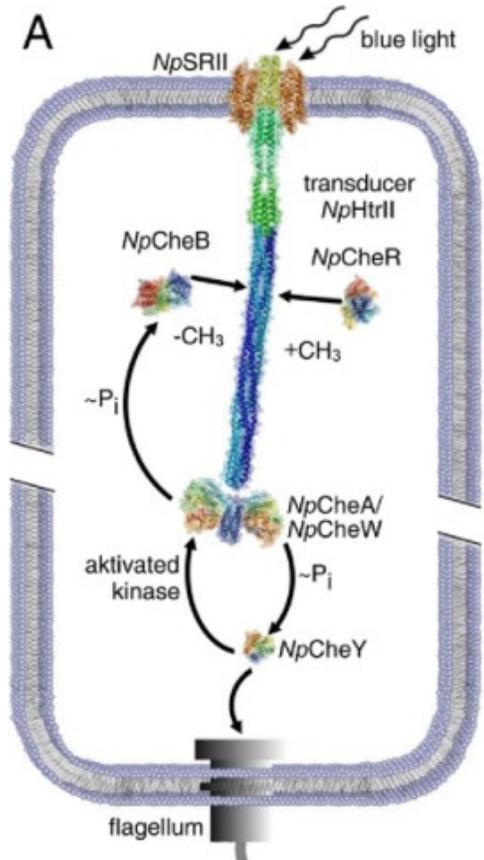
- Динамические свойства
- Дейтерирование и вариация контраста
- Информация о среднем состоянии динамического ансамбля конформаций и выделенных среди ансамбля структур

# 4. Приспособление и устойчивость к стрессовым условиям

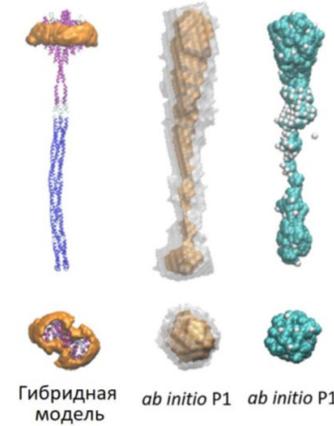
МУРН+МУРР+МД

Фоторецептор галоалкалифильные археи *N. pharaonis*

Высокая соль 4M NaCl  
Щелочная среда

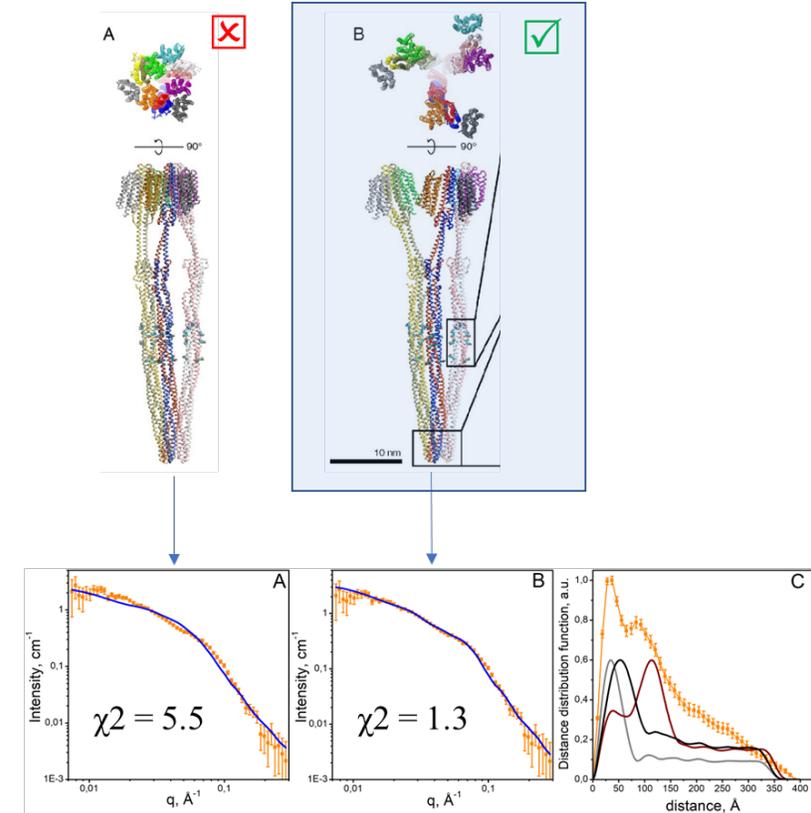


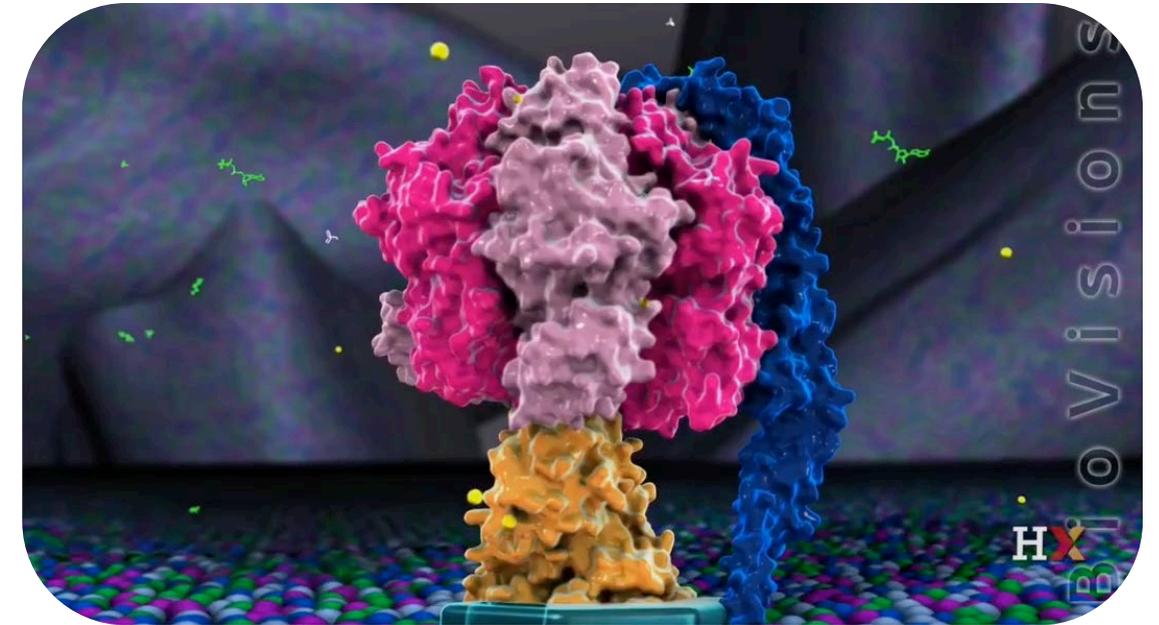
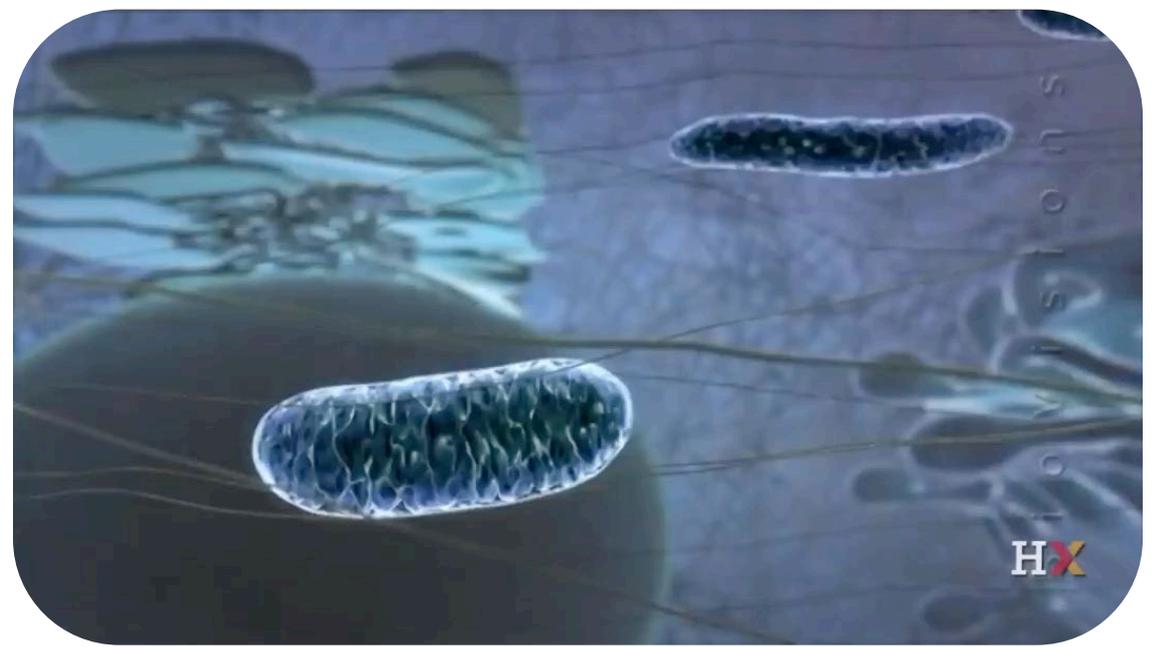
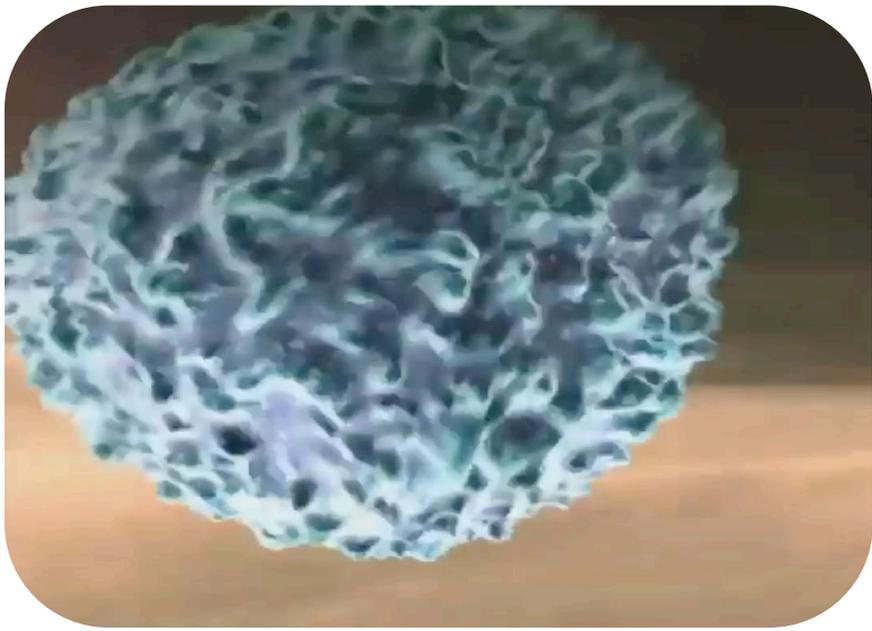
Oligomerization of dimers of chemoreceptors



Transmembrane-bound

Tripod-shaped





# 5. Биотехнологии

Биологические заводы: производство химических соединений из биомассы, электроэнергии и т.п.

Биопереработка отходов (пластик, нефть, уран)

Биосенсоры/биомаркеры

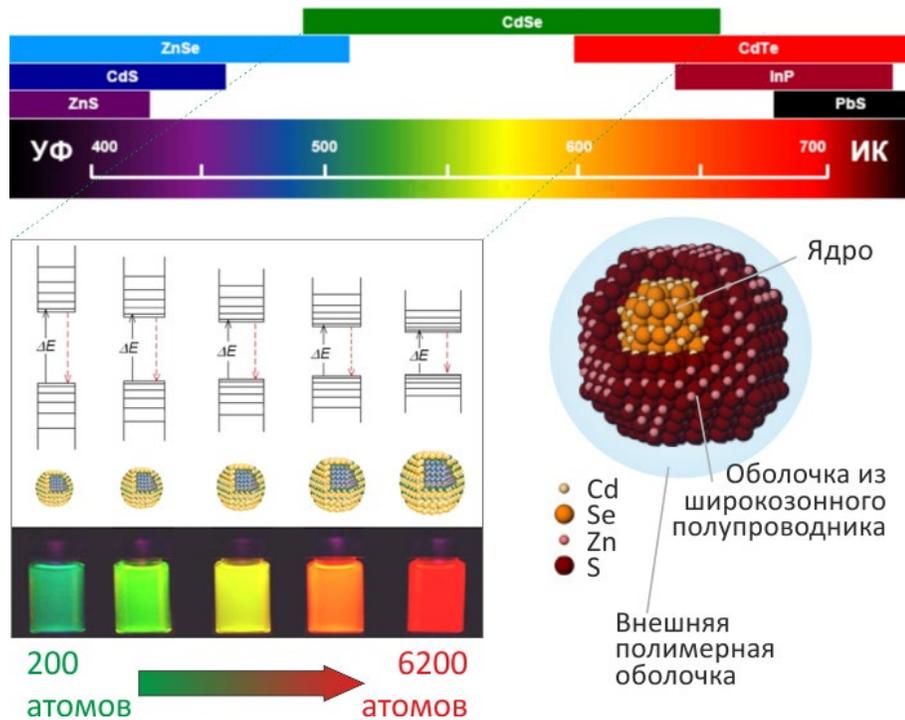
Биороботы

Создание биоматериалов с заданными свойствами –гибридные материалы

# 5. Биотехнологии

## Флуорофоры на основе квантовых точек

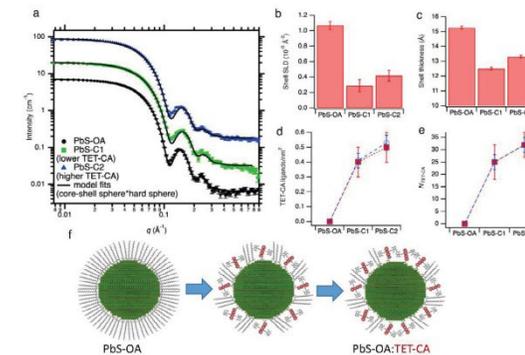
МУРН



**Проблема** – токсичность и гидрофобность

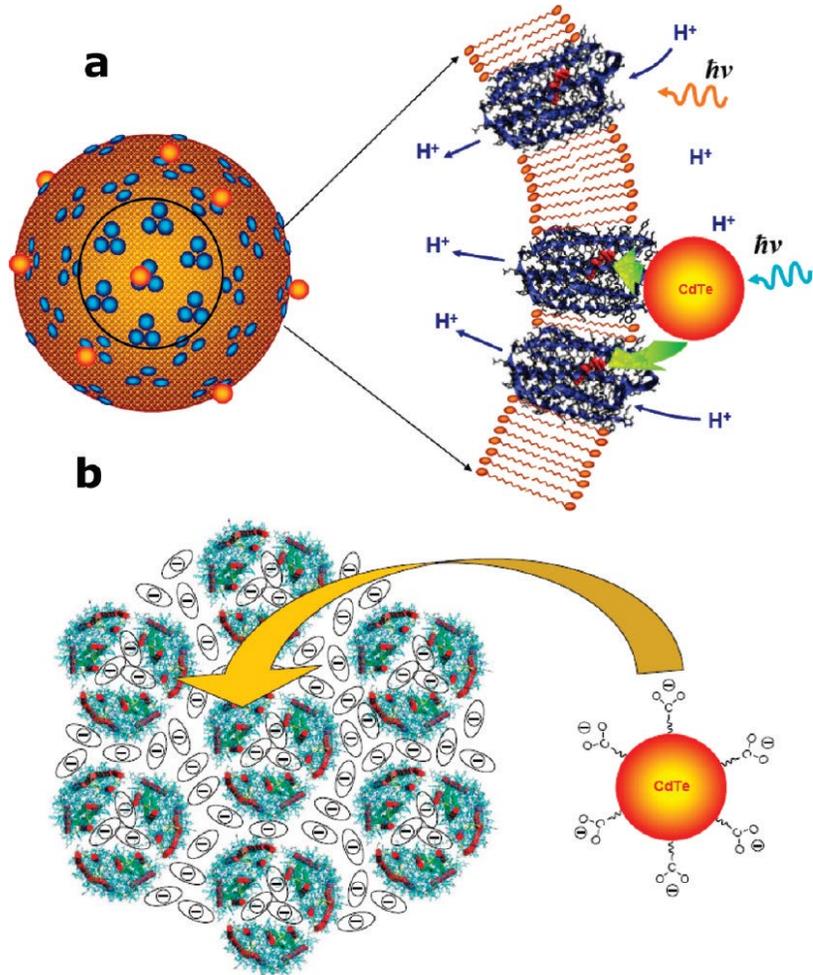
**Решение** – покрытие биосовместимыми материалами + изменяющими свои свойства при разных pH, температуре, ионной силе, излучении, электрическое/магнитное поле и т.д. + пришить метку

1. Синтез КТ непосредственно в присутствии полимеров.
2. Прямая функционализация КТ макромолекулами (т.е. молекулами полимеров).
3. Раздельный синтез КТ и полимеров с дальнейшим получением гибридов комбинациями разного рода стратегий молекулярной сборки.



# 5. Биотехнологии

## Преобразование солнечной энергии



Бактериородопсин + Квантовые точки = наноконвертер с высокой эффективностью (от дальнего УФ до видимого голубого)

- Оптоэлектронные и фотонные устройства
- Электроэнергетики
- другие виды фотоэлектрических преобразований

# 5. Биотехнологии

## Флуоресцентные биомаркеры

Циановый флуоресцентный белок Cyan Fluorescent Proteins (CFPs)

- Многоцветные изображения клетки/тканей
- Биомаркер изменяющихся параметров клетки (рН, концентрации ионов, мембранного потенциала и т.п.)
- Маркер взаимодействия между белками
- Слежение за белками в клетке

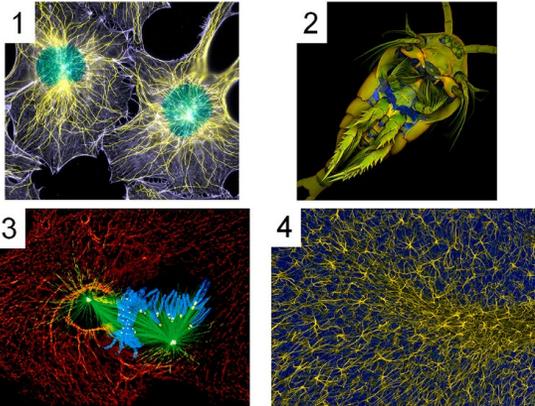
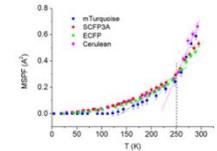
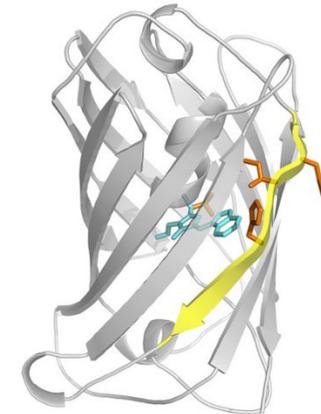
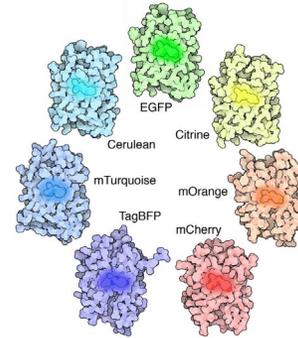


Рисунок 8. Флуоресцентные микрофотографии с галереи ежегодного конкурса Nikon Small World. 1. Фибробласты мыши. 2. Везикулярный регион Tetrahymena. 3. Митоз в клетках легких мыши. 4. Клетки мозга мыши in vivo (двухфотонная флуоресцентная микроскопия).

<https://biomolecula.ru/articles/fluorestsentye-reportery-i-ikh-molekuliarnye-reportazhi>

## Elastic incoherent neutron scattering (EINS)

Поиск нужной модификации белка для изменения диапазона флуоресценции и ее усиления  
Цвет зависит от аминокислотного состава в центре -> изменяет водородные связи.



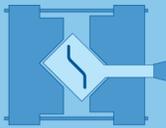
**Нейтроны показали связь между подвижностью / жесткостью хромофора и его окружения и эффективностью флуоресценции**

protein motions were mainly connected to a part of the protein core which is organized as a  $\beta$ -barrel – specifically to the seventh strand of this barrel.

Elastic incoherent neutron scattering (EINS) experiments were led on spectrometers [IN6](#), [IN13](#) and [IN16B](#).

<https://www.ill.eu/fr/news-press-events/news/scientific-news/investigating-cyan-fluorescent-proteins-for-bioimaging-with-neutron-experiments>

# Органы на чипе

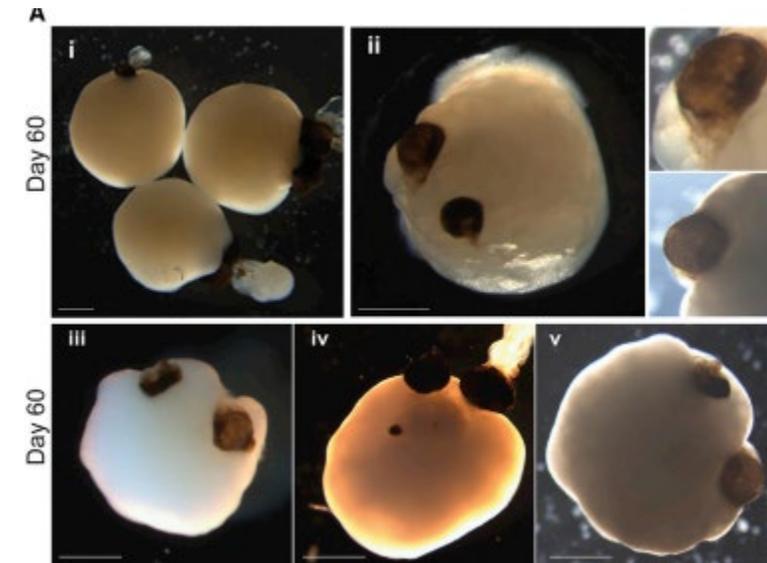
Purpose of experiments		Material and fabrication selection
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Complex and elaborate microstructure (tunable membrane, cantilever)</li> <li>• Mechanical tunability (exert mechanical forces)</li> <li>• Gas permeability (hypoxic condition)</li> </ul>	High resolution	<b>a</b> PDMS-based soft lithography 
	Rapid processing	<b>b</b> PDMS-based laser processing 
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biocompatibility</li> <li>• Microelectrode array (gold or platinum)</li> <li>• Non-conducting substrate</li> <li>• Chemical durability</li> </ul>		<b>c</b> Glass PDMS-based lithography 
		<b>d</b> Thermoplastic-based injection moulding (mass production) 
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Large-scale drug screening (HCS equipment)</li> <li>• Small-molecule screening (low surface absorption)</li> <li>• High-throughput screening</li> <li>• Low cost and ready-made</li> </ul>		<b>e</b> UV curable resin-based 3D printing 
		<b>f</b> Hydrogel-based 3D bioprinting 

- Biocompatibility (natural or synthetic bio-ink)
- 3D cellular architecture

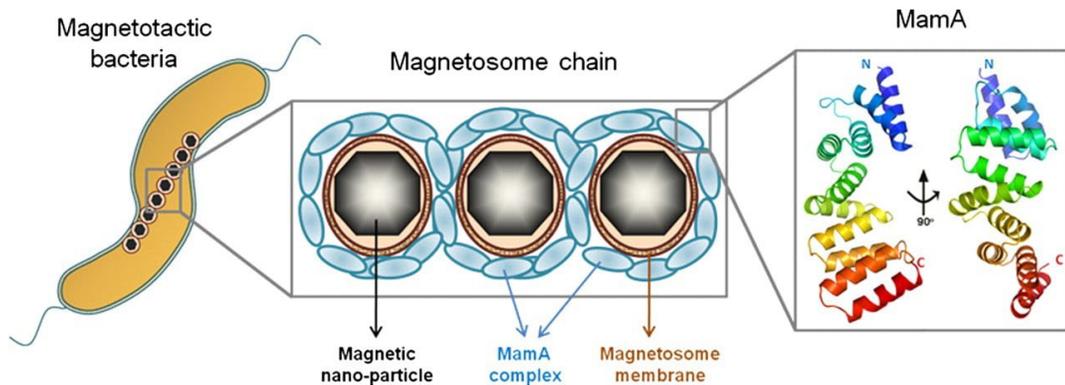
## Neutron Tomography SANS

1. Тестирование фармацевтических и химических соединений
2. Тестирование биоматериала
3. Биологические исследования

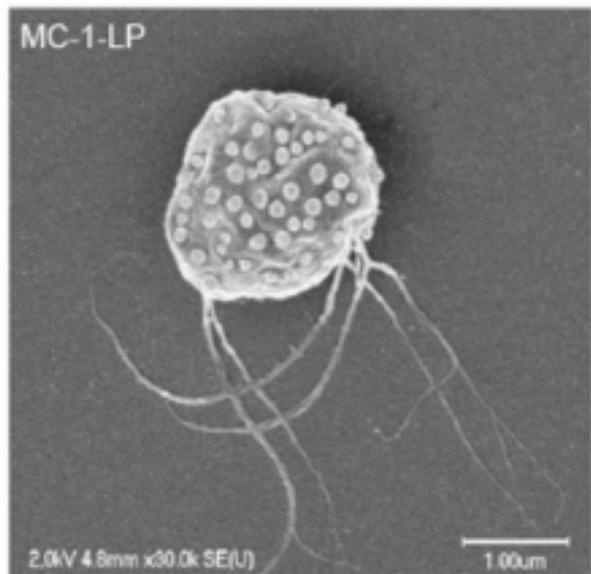
### Микрофлюидный чип + ткани



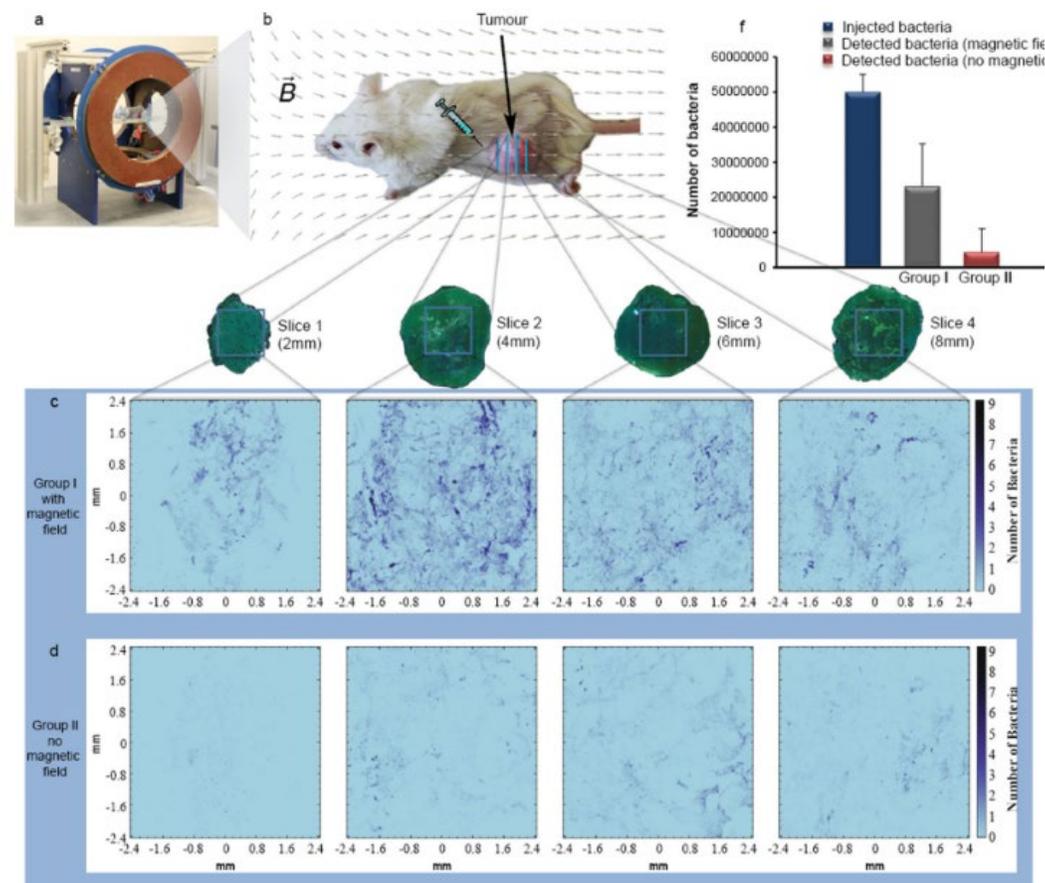
[https://www.cell.com/cell-stem-cell/pdfExtended/S1934-5909\(21\)00295-2](https://www.cell.com/cell-stem-cell/pdfExtended/S1934-5909(21)00295-2)



Magnetococcus marinus



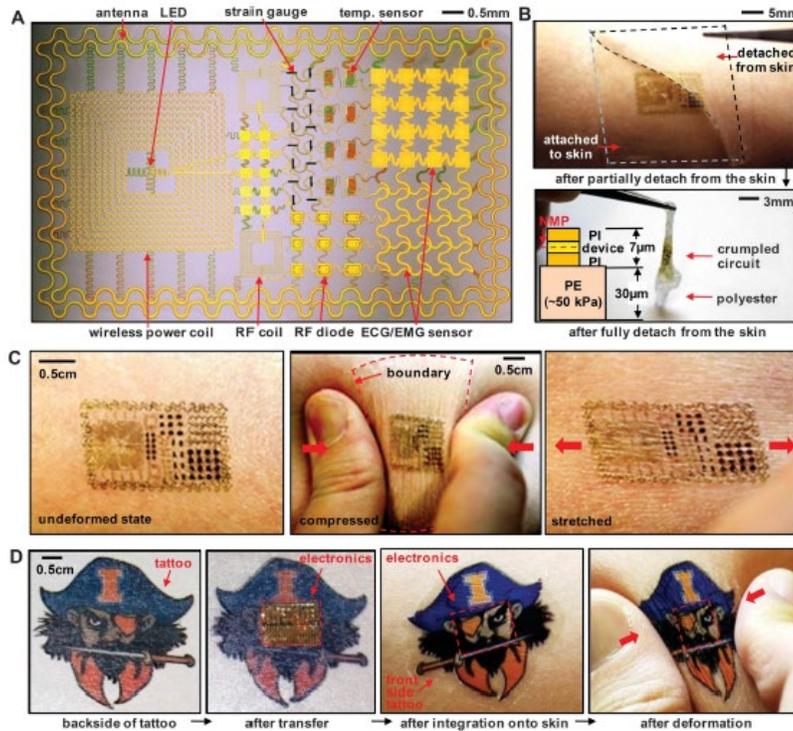
## МАГНИТОТАКСИС аэротаксис



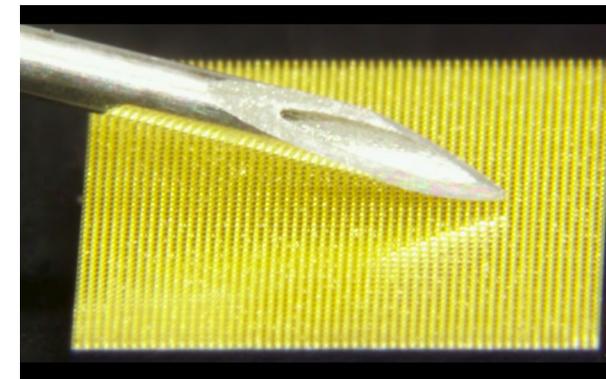
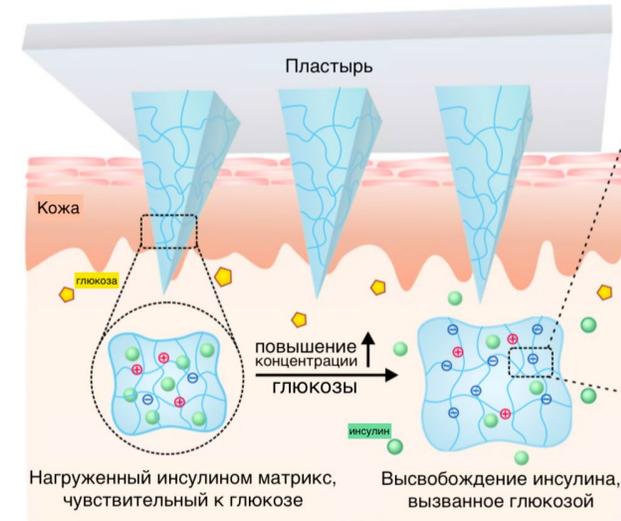
## ГИПОКСИЧЕСКИЕ ЗОНЫ ОПУХОЛЕЙ.

# Эпидермальная электроника: применение гидрогелей

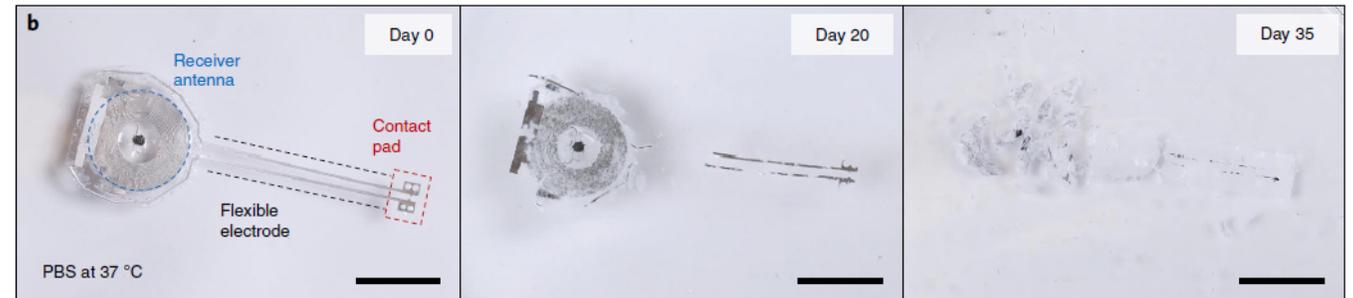
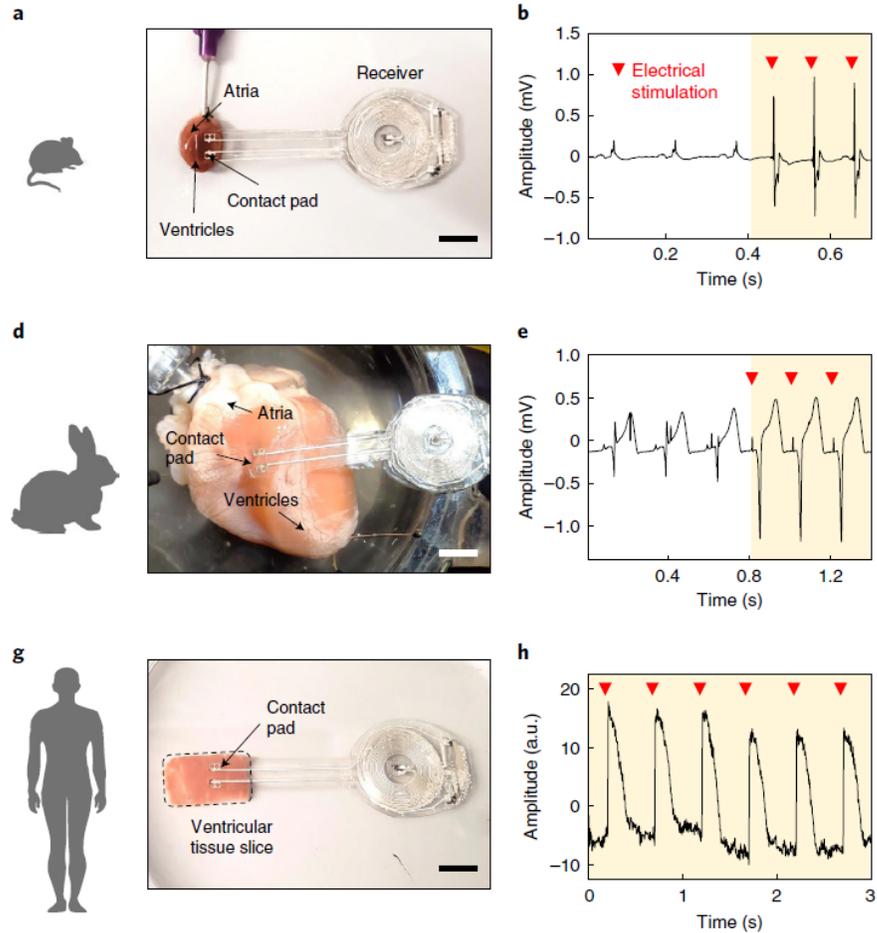
## Epidermal Electronics



**Fig. 1.** (A) Image of a demonstration platform for multifunctional electronics with physical properties matched to the epidermis. Mounting this device on a sacrificial, water-soluble film of PVA, placing the entire structure against the skin, with electronics facing down, and then dissolving the PVA leaves the device conformally attached to the skin through van der Waals forces alone, in a format that imposes negligible mass or mechanical loading effects on the skin. (B) EES partially (top) and fully (bottom) peeled away from the skin. (Inset) A representative cross-sectional illustration of the structure, with the neutral mechanical plane (NMP) defined by a red dashed line. (C) Multifunctional EES on skin: undeformed (left), compressed (middle), and stretched (right). (D) A commercial temporary transfer tattoo provides an alternative to polyester/PVA for the substrate; in this case, the system includes an adhesive to improve bonding to the skin. Images are of the backside of a tattoo (far left), electronics integrated onto this surface (middle left), and attached to skin with electronics facing down in undeformed (middle right) and compressed (far right) states.



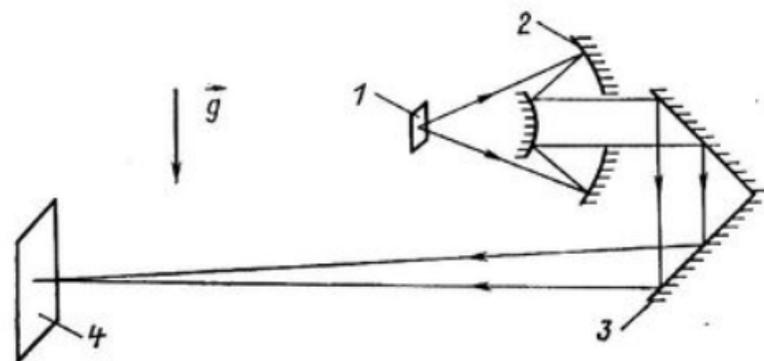
# Биоразлагаемые материалы



**Fully implantable and bioresorbable cardiac pacemakers without leads or batteries**

Choi, Y.S., Yin, R.T., Pfenninger, A. *et al.* Fully implantable and bioresorbable cardiac pacemakers without leads or batteries. *Nat Biotechnol* **39**, 1228–1238 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41587-021-00948-x>

# Нейтронный микроскоп

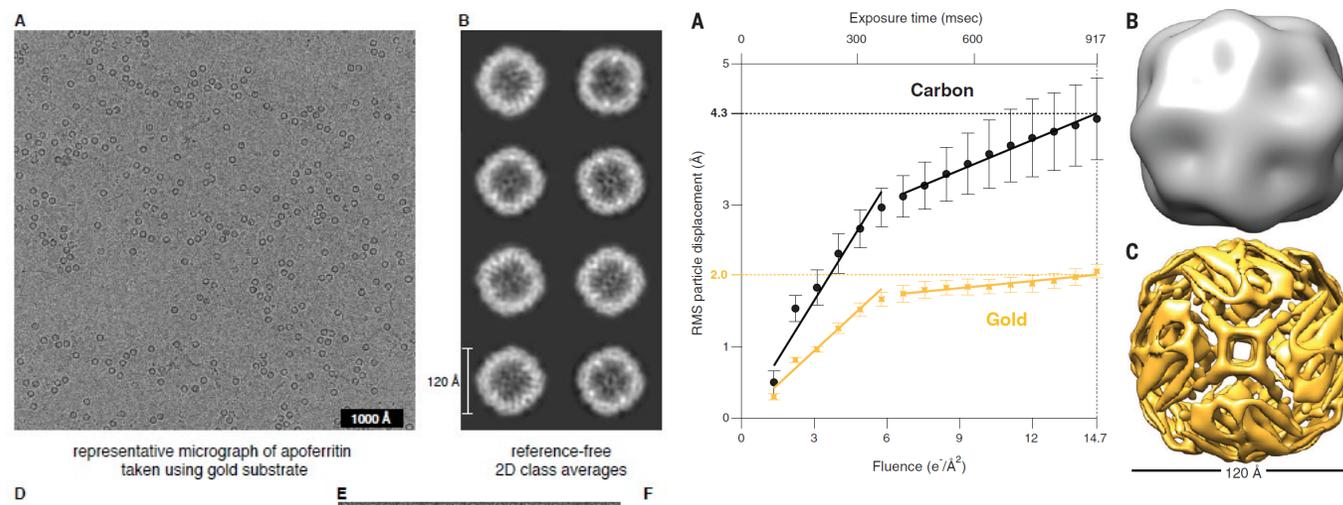


Р и с. 4. Нейтронный микроскоп с горизонтальным ходом лучей: 1 — объект; 2 — объектив; 3 — зеркала оборачивающей системы; 4 — изображение

Франк А.И.

АТОМНАЯ ЭНЕРГИЯ, Т. 66, ВЫП. 2, ФЕВРАЛЬ 1989

## Крио-электронная микроскопия



CHRISTOPHER J. RUSSO AND LORI A. PASSMORE Authors Info & Affiliations Ultrastable gold substrates for electron cryomicroscopy  
SCIENCE 12 Dec 2014 Vol 346, Issue 6215 pp. 1377-1380

## Важно

- Лаборатория для получения **дейтерированных** соединений и дейтерирования биологических объектов
- **Компьютерное моделирование** сложных мультикомпонентных систем
- **Совместное использование нескольких методов** (рентгеновское рассеяние, ЯМР, ЭМ и т.д. NSE+МУРН, динамическое светорассеяния и др.)
- Программы для одновременного анализа данных разных методов
- **Усложнение систем** и исследование молекулярных механизмов внутри клетки
- **Время-разрешенные эксперименты** (запуск процессов светом, сигнальными химическими молекулами, ионной силой, давлением, температурой и т.д.)

## Методики

- Малоугловое рассеяние нейтронов
- Спектроскопия:
  - Неупругое рассеяние
  - Неупругое спин-эхо
  - Квазиупругое рассеяние
  - Некогерентное
- Рефлектометрия
- Дифракция для макромолекулярных кристаллов
- Томография
- Активационный анализ