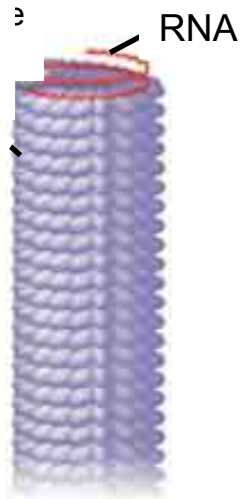
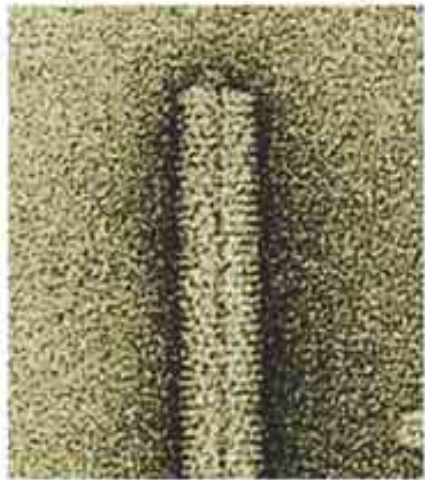


# ТИПЫ СТРУКТУРЫ ВИРУСОВ

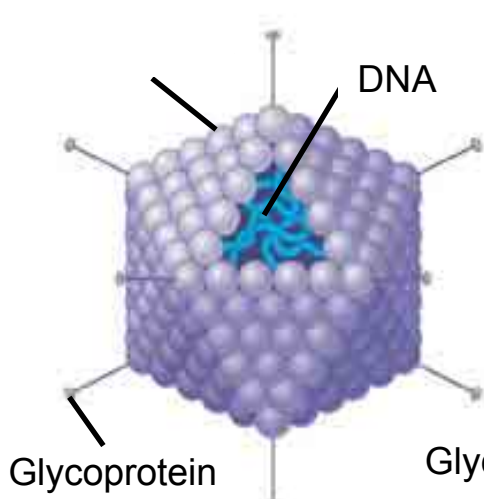


18 × 250 nm



20 nm

(a) Tobacco mosaic virus

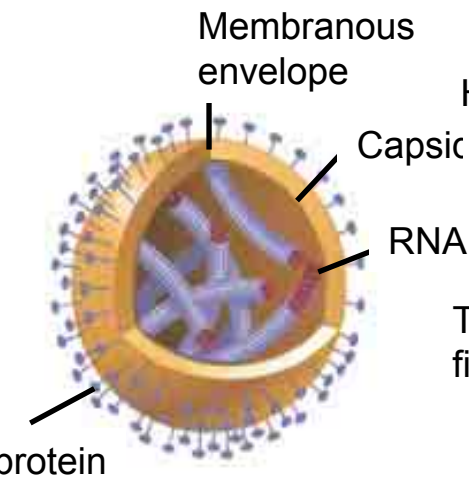


70–90 nm (diameter)



50 nm

(b) Adenoviruses

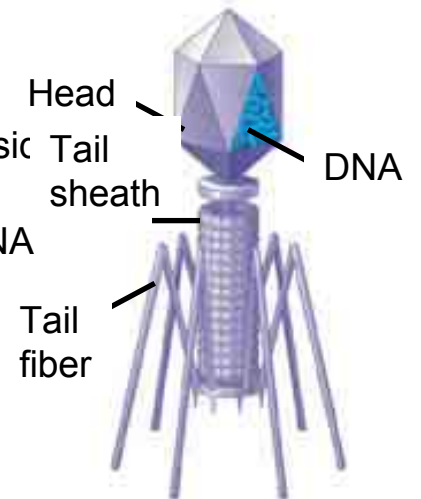


80–200 nm (diameter)



50 nm

(c) Influenza viruses



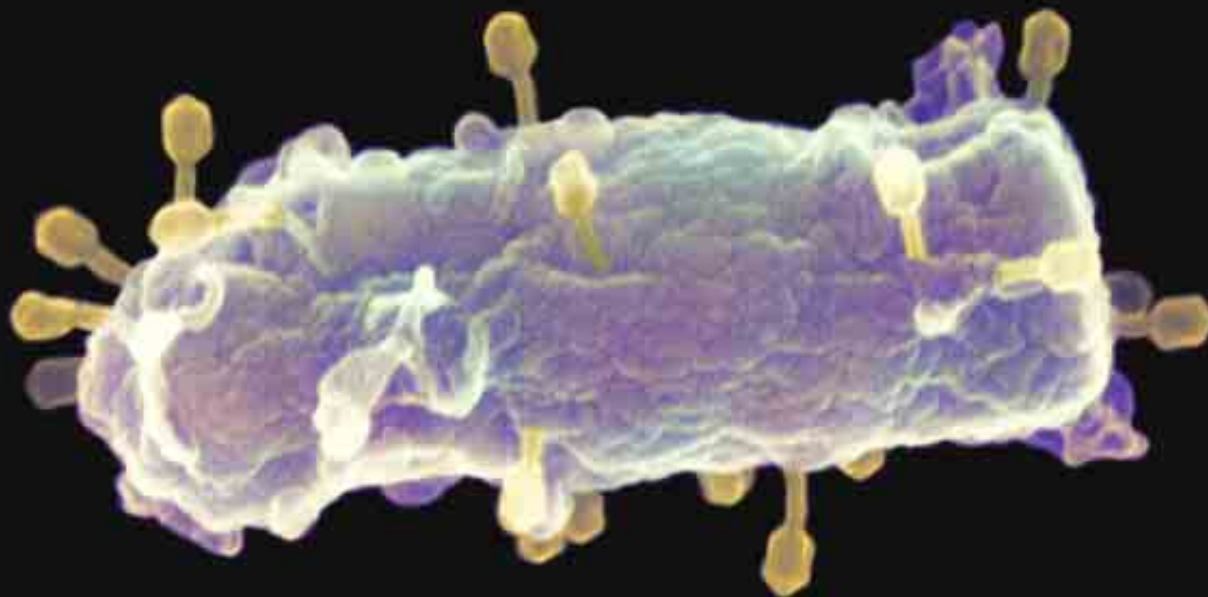
80 × 225 nm



50 nm

(d) Bacteriophage T4

# АДСОРБЦИЯ ЧАСТИЦ БАКТЕРИОФАГА Т4 НА КЛЕТКЕ *E. coli*



0.5  $\mu\text{m}$

# РАЗНООБРАЗИЕ РАЗМЕРОВ ГЕНОМОВ.

## ДНК-ВИРУСЫ.

(двунитевые ДНК)

*Mimivirus* (mimicring microbes).

Ø 400 nm+80nm; >1000 генов; 500 млн. Da, 1182 kbp .

Вирус оспы 150- 300 генов; 160млн. Da, 150-300 kbp.

Бактериофагаг Т4 300 генов; 120 млн. Da, 169 kbp.

Вирус герпеса - 70 генов; 100млн. Da, 120 kbp.

Аденовирус 40 генов; 25 млн. Da, 26-46 kbp.

Папиллома - 8 генов; 3.2 млн. Da, 7.0-8.4 kbp.

## Однонитевые ДНК:

Бактериофаг М13 -10 генов; 8 kb.

Парвовирус – 6 генов; 1.5 млн. Da; 5 kb.

# РАЗНООБРАЗИЕ РАЗМЕРОВ ГЕНОМОВ (РНК-вирусы)

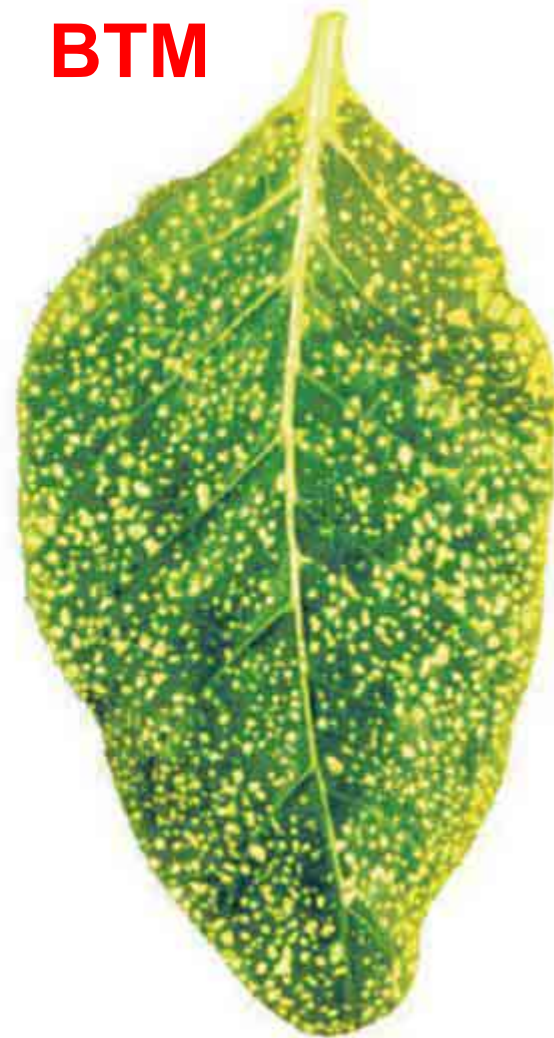
- Коронавирус **7 генов**; >30 млн. Da, 30 kb.
- ВТМ- **3-4 гена**; 2 млн. Da, 6.4 kb.
- РНК-фаг - **4 гена**; 1.5 млн. Da, 3.4-4.2 kb.
- Астровирусы - **2 гена**; 1 млн. Da, 6-7 kb.
- Нарнавирусы (naked RNA) – кодируют 1 белок:  
РНК-РНК полимеразы,  
**геном-20S РНК, 2.3-3.0 kb.** 23S РНП,  
[poly(A)-, CAP-] ;RdRp:РНК=1:1.



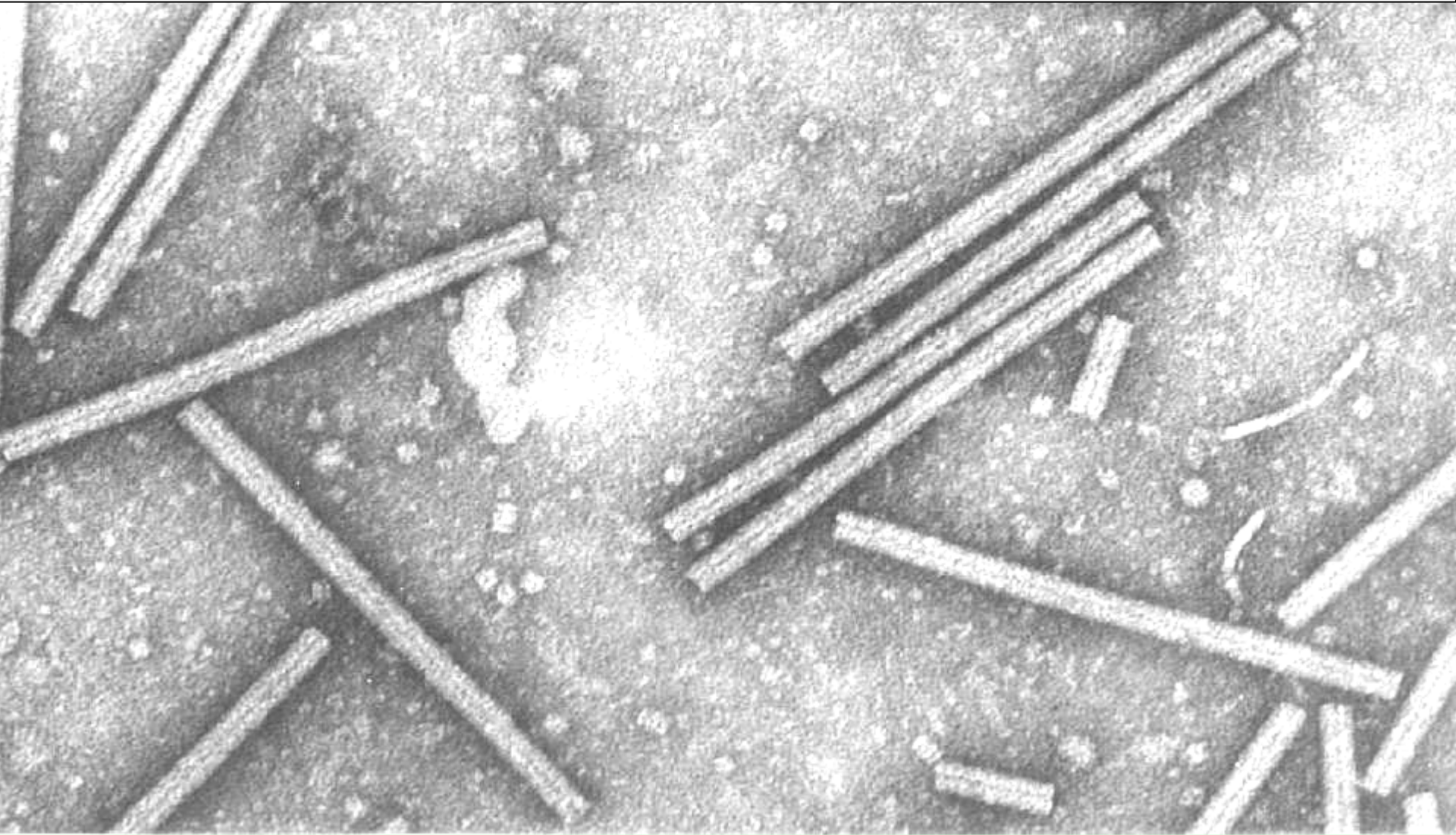
**КОНТРОЛЬ**



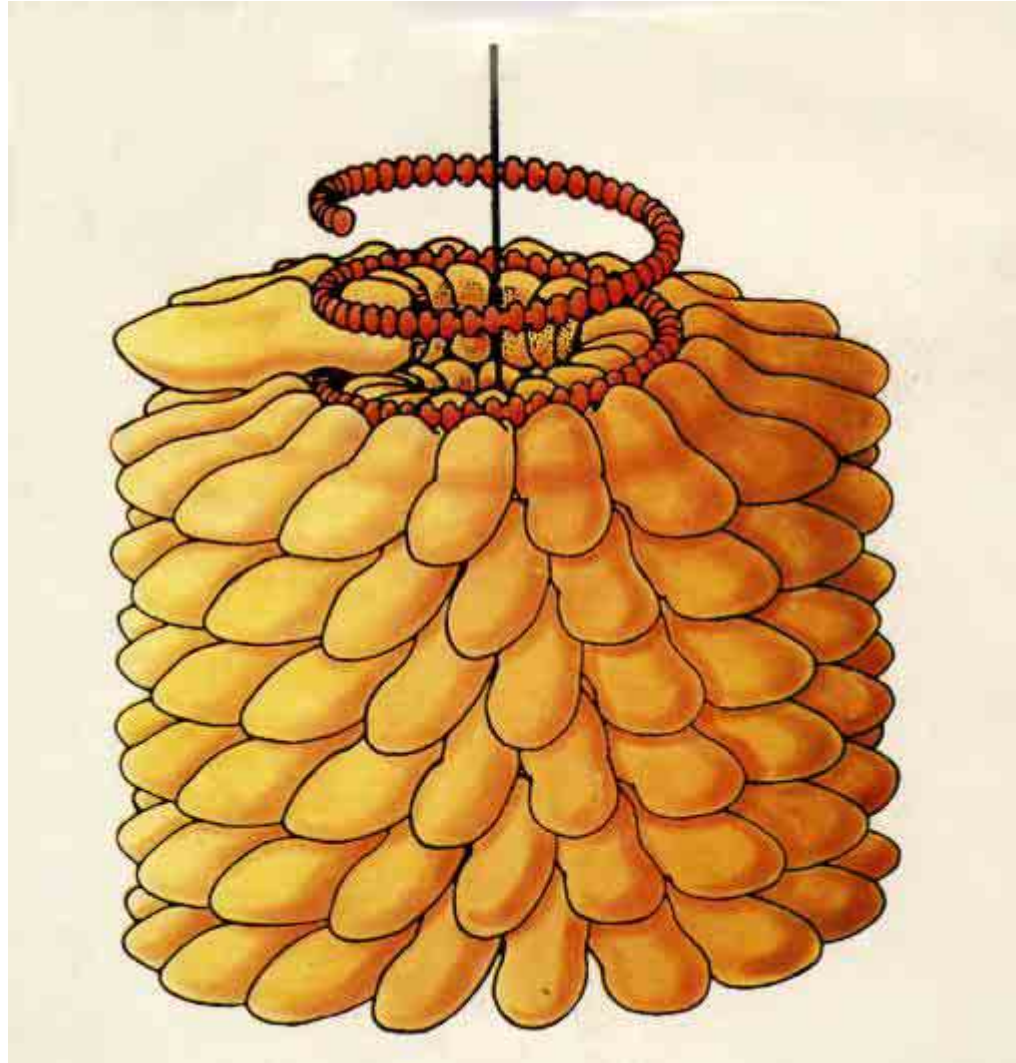
**ВТМ**

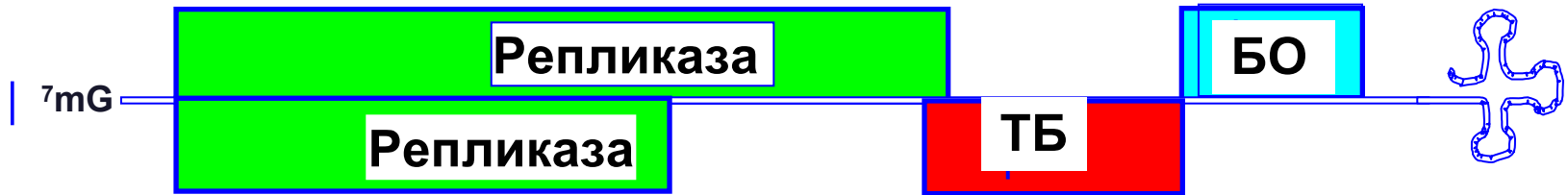


# ВИРУС ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ (ВТМ)



# СТРУКТУРА ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ.





## СТРУКТУРА ГЕНОМА ВТМ

**Репликаза – фермент синтеза вирусной РНК**

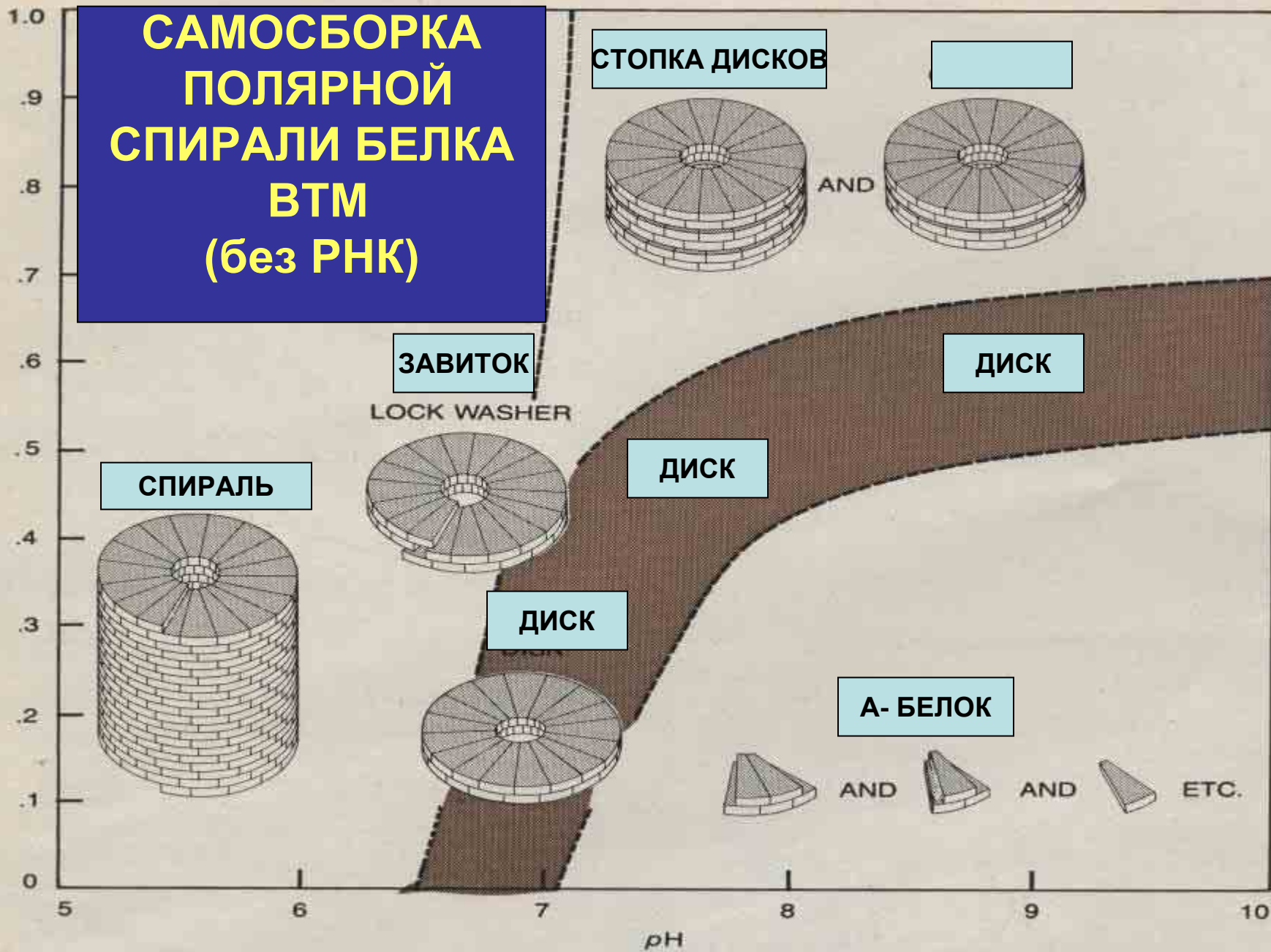
**ТБ – ген транспортного белка**

**БО – ген белка оболочки вируса**



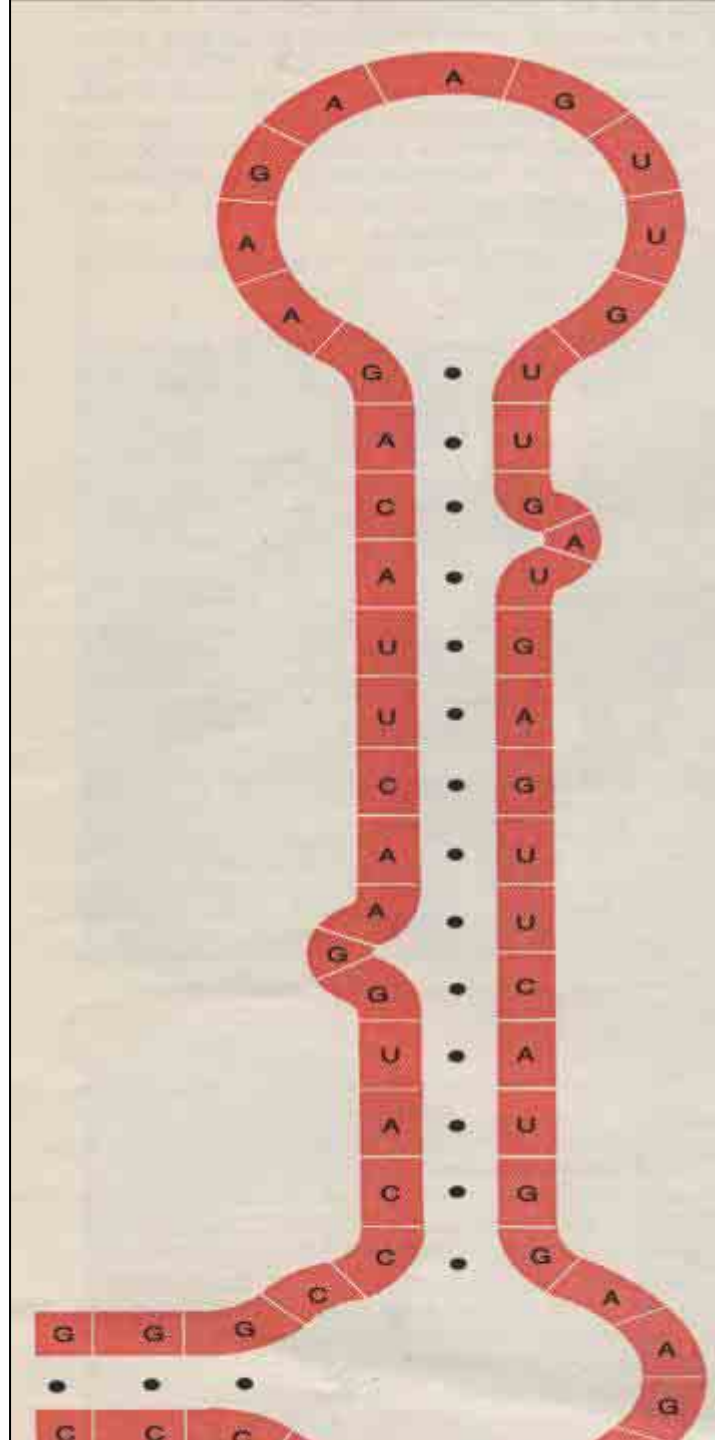
**САМОСБОРКА  
ПОЛЯРНОЙ  
СПИРАЛИ БЕЛКА  
ВТМ  
(без РНК)**

IONIC STRENGTH (MOLES PER LITER)



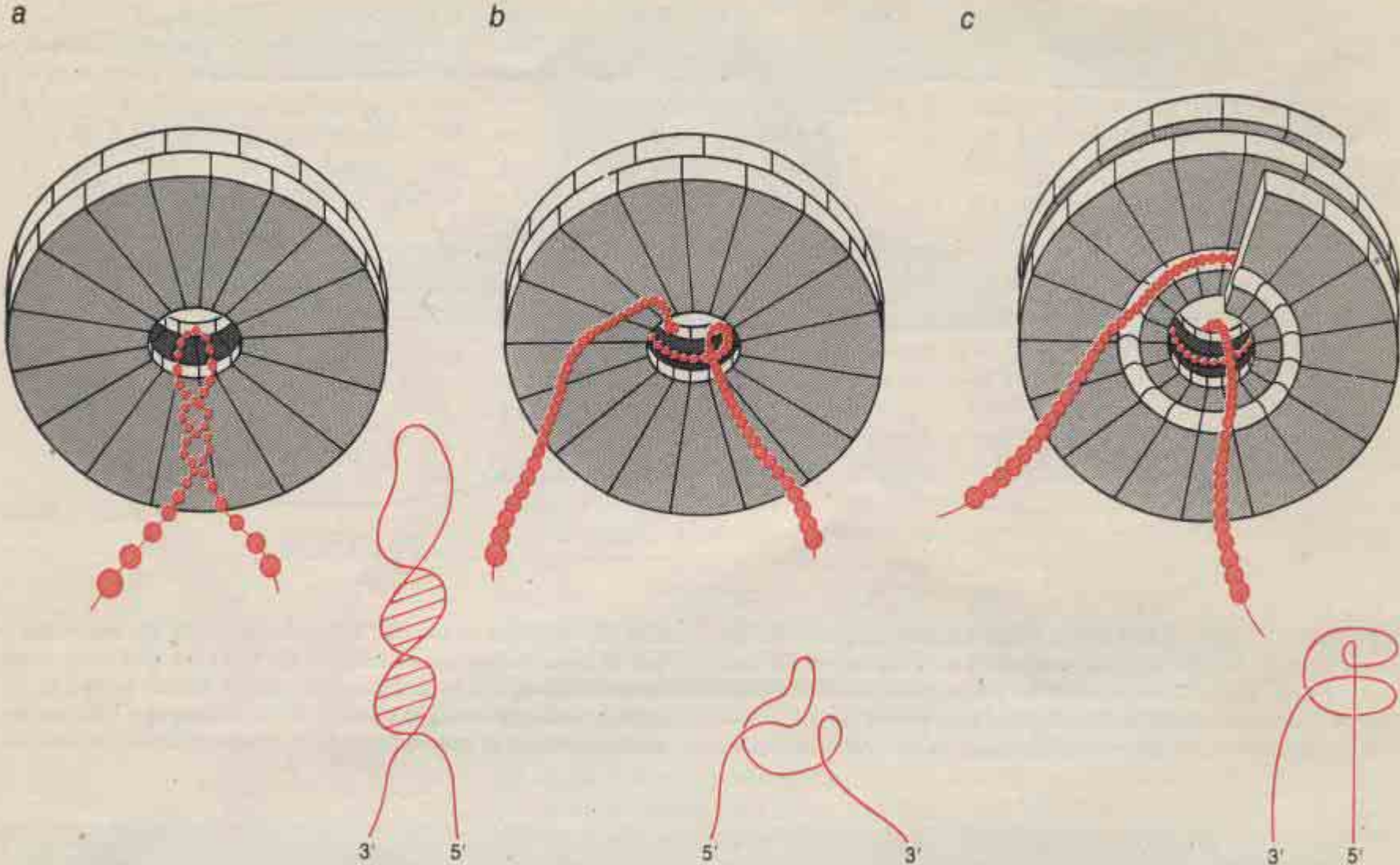
# САМОСБОРКА ВТМ (белок + РНК).

УЧАСТОК  
РНК,  
ИНИЦИАЦИИ  
СБОРКИ НАНОЧАСТИЦ  
ВТМ

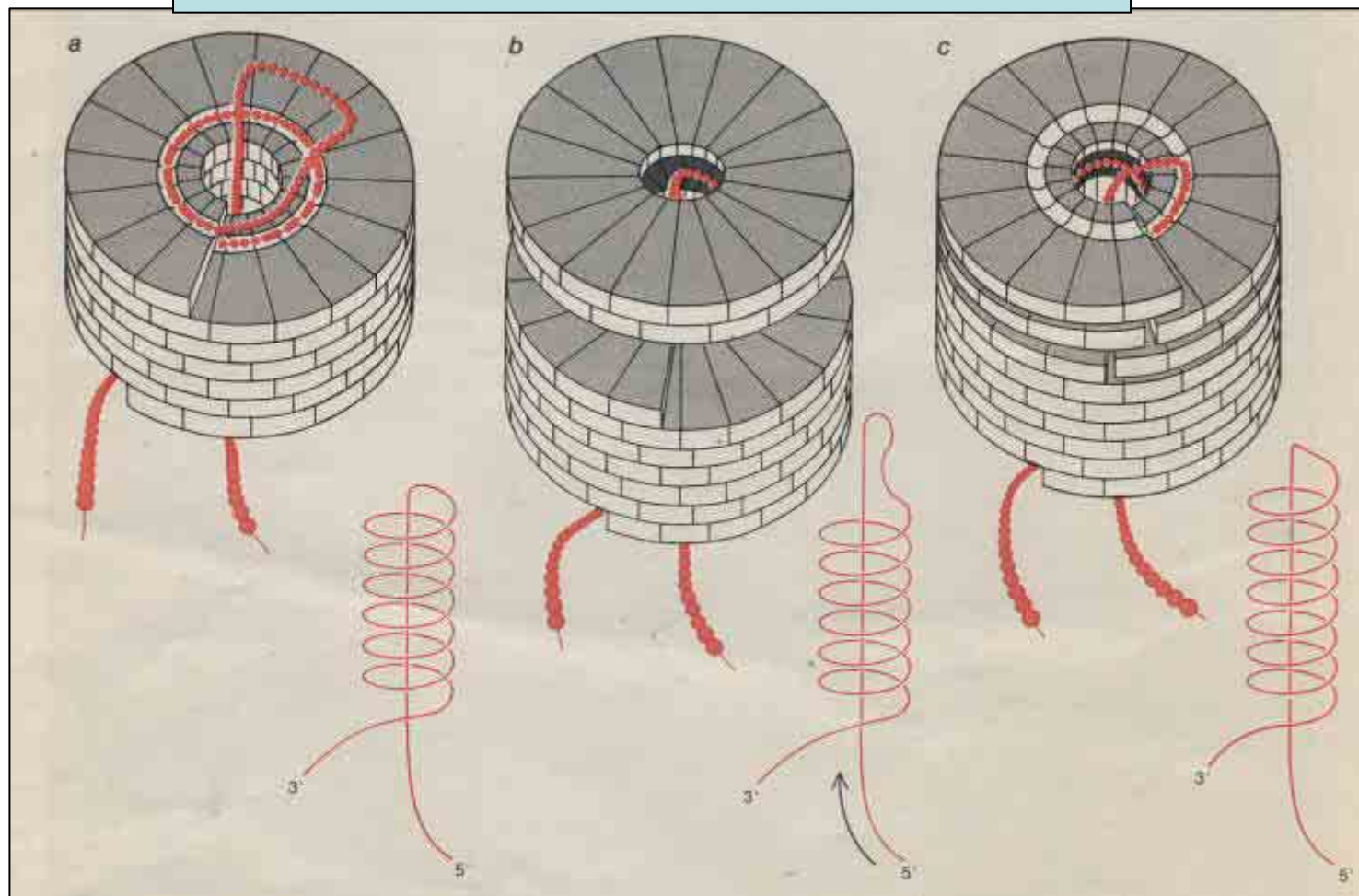




# ИНИЦИАЦИЯ СБОРКИ ВТМ

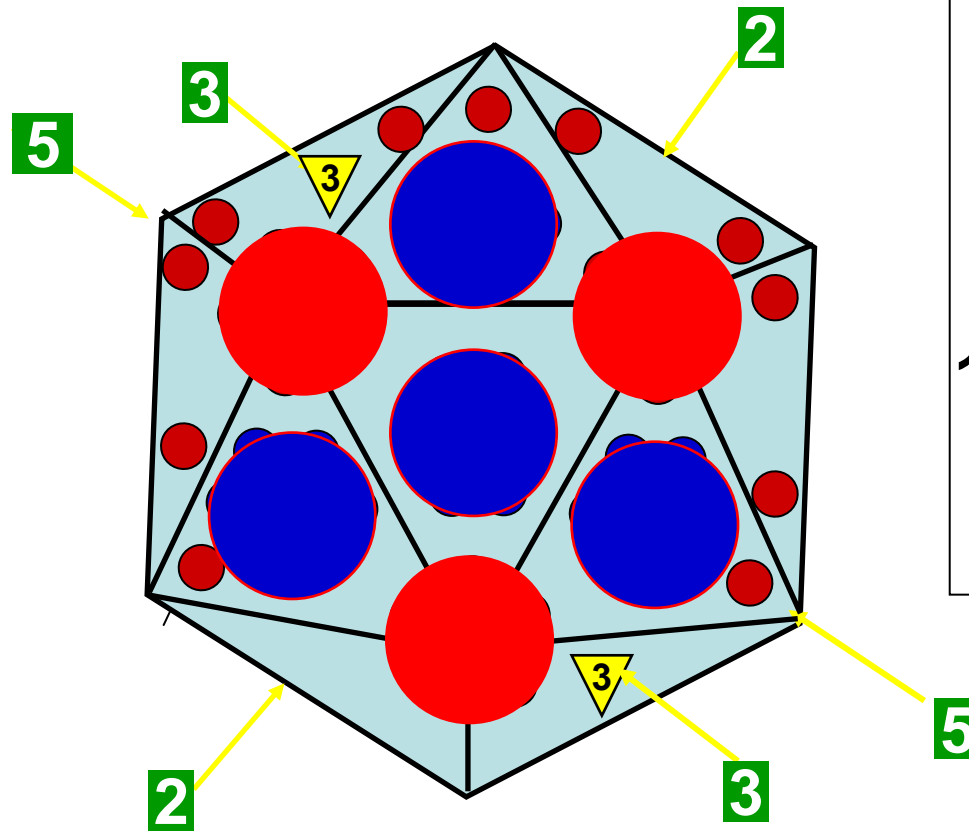


# ЭЛОНГАЦИЯ СБОРКИ ВТМ



# 2:3:5

## СИММЕТРИЯ ИКОСАЭДРА.



**ПРОСТЕЙШИЙ  
ИКОСАЭДР.  
20 ГРАНЕЙ.**

**1). 60 субъединиц,  
12 капсомеров;**

**2). 180 субъединиц,  
12+20=32 капсомера.**

**Оси симметрии:**

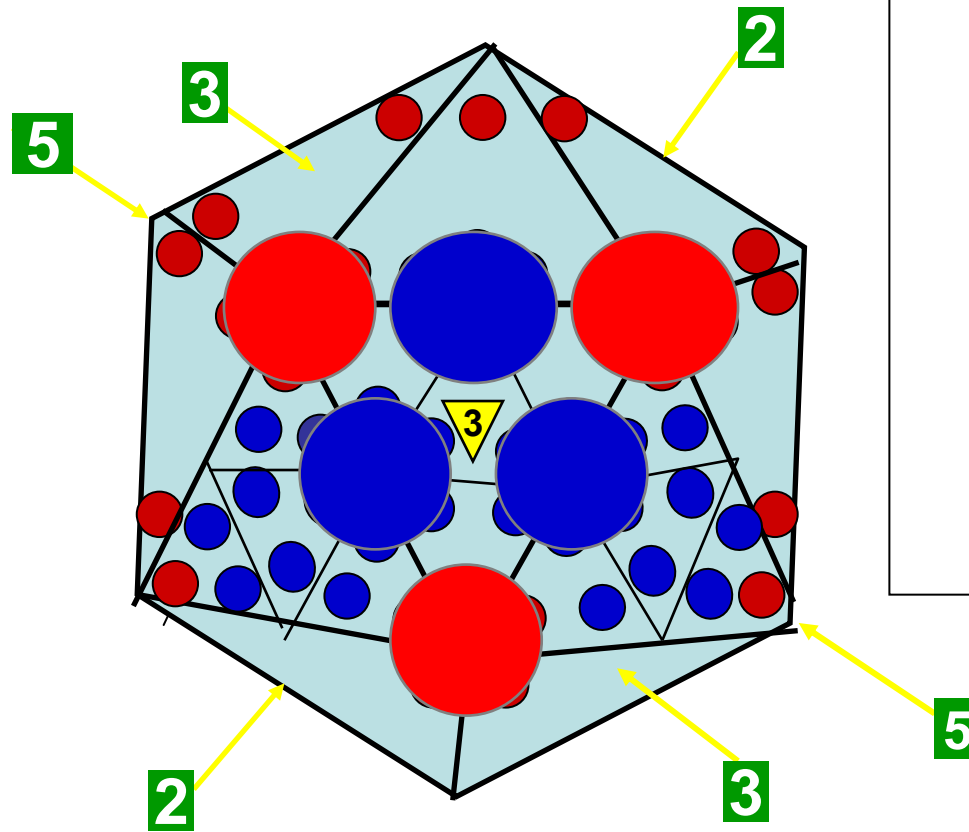
**15 осей 2 порядка**

**10 осей 3 порядка**

**6 осей 5 порядка.**

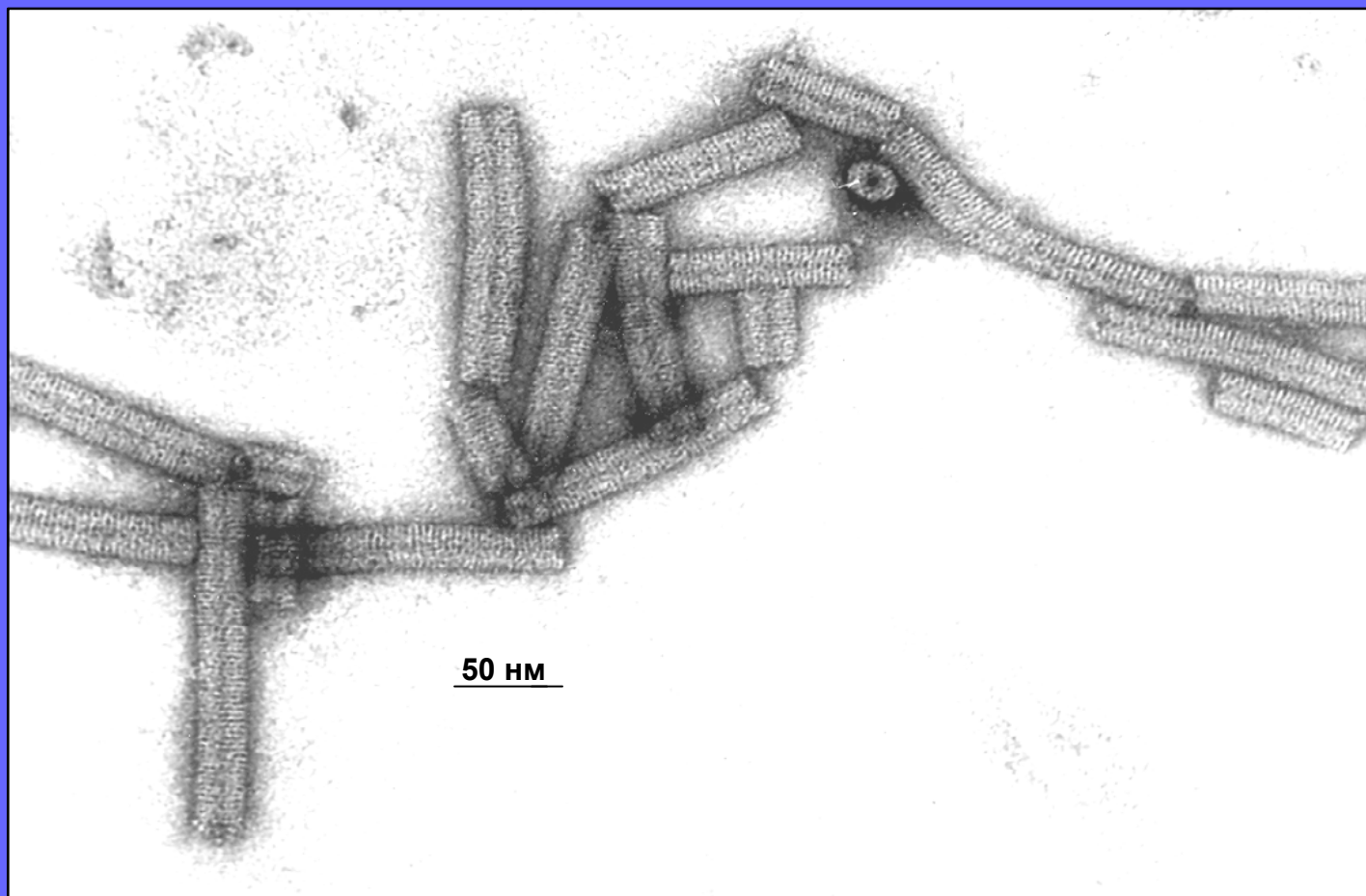
# 2:3:5

## СИММЕТРИЯ ИКОСАЭДРА.



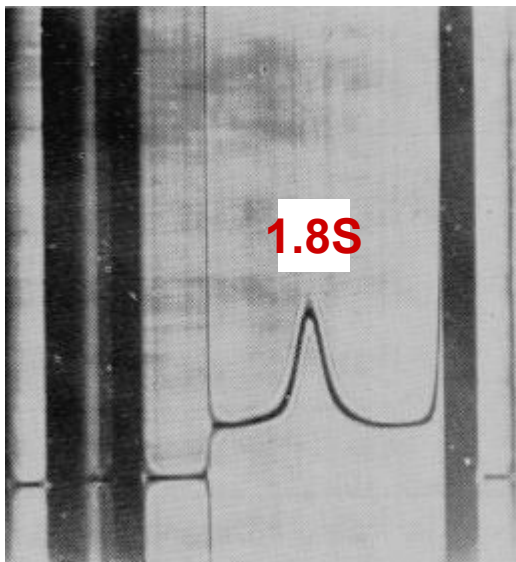
**ИКОСАЭДР,  
80 граней,  
240 субъединиц.  
12+30=42 капсомера.**

# ГОРДЕИВИРУС (ВШМЯ)

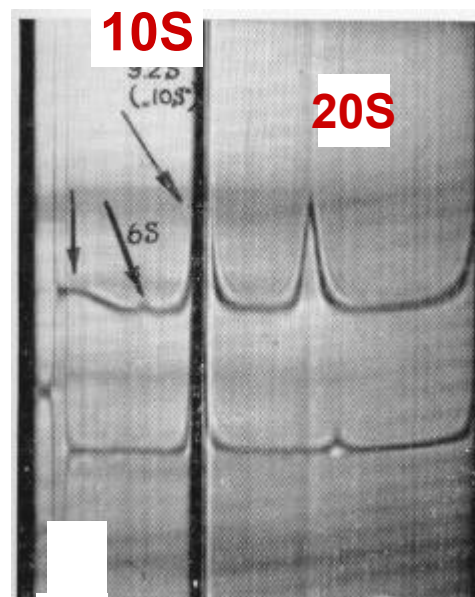


# СЕДИМЕНТАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ САМОСБОРКИ БЕЛКА ВШМЯ

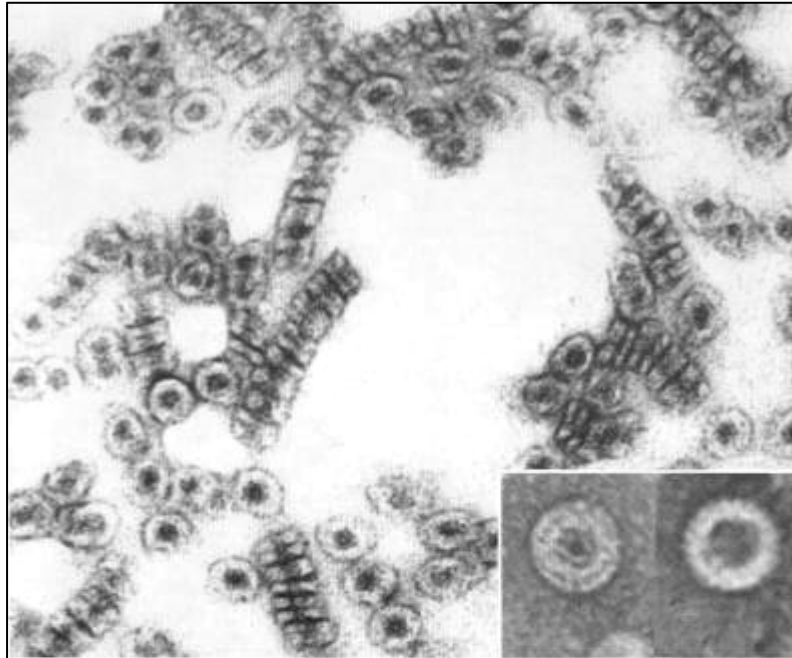
ЯЧЕЙКА С СИНТЕТИЧ.ГРАНИЦЕЙ,  
42,040 об/мин, 20 мин.



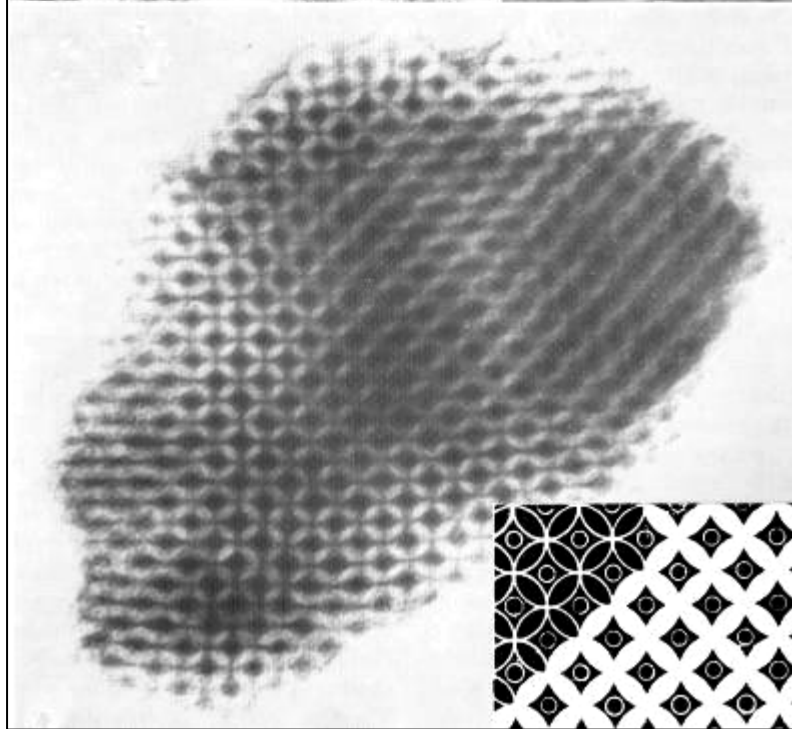
59,780 об/мин; 25 мин.

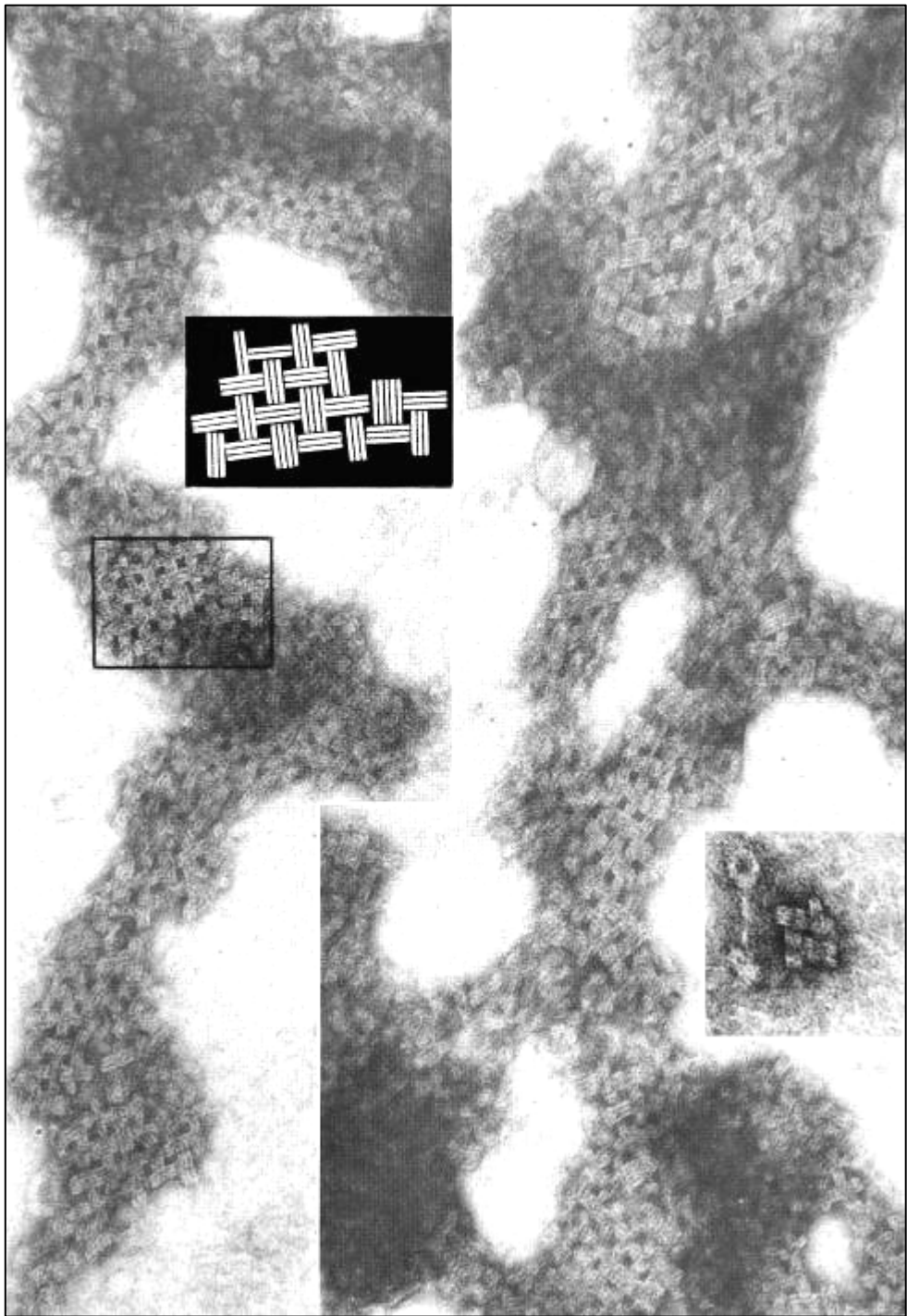




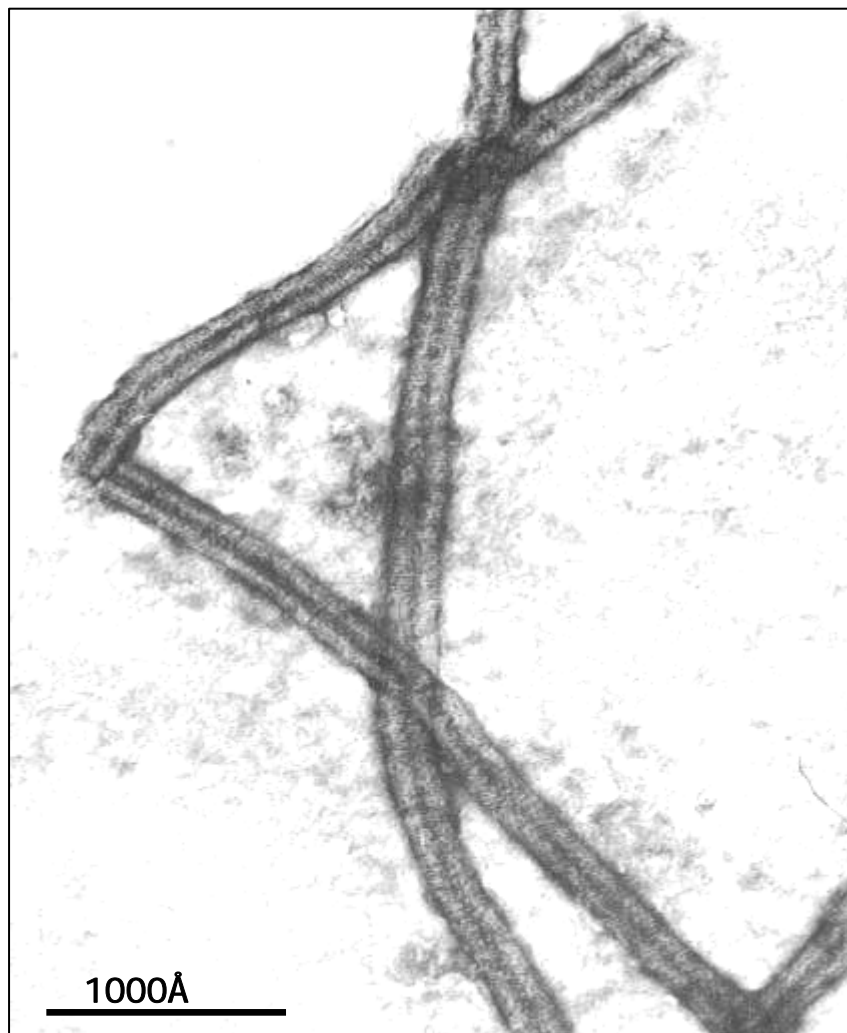


**20S –  
АГРЕГАТЫ  
БЕЛКА  
ВШМЯ**



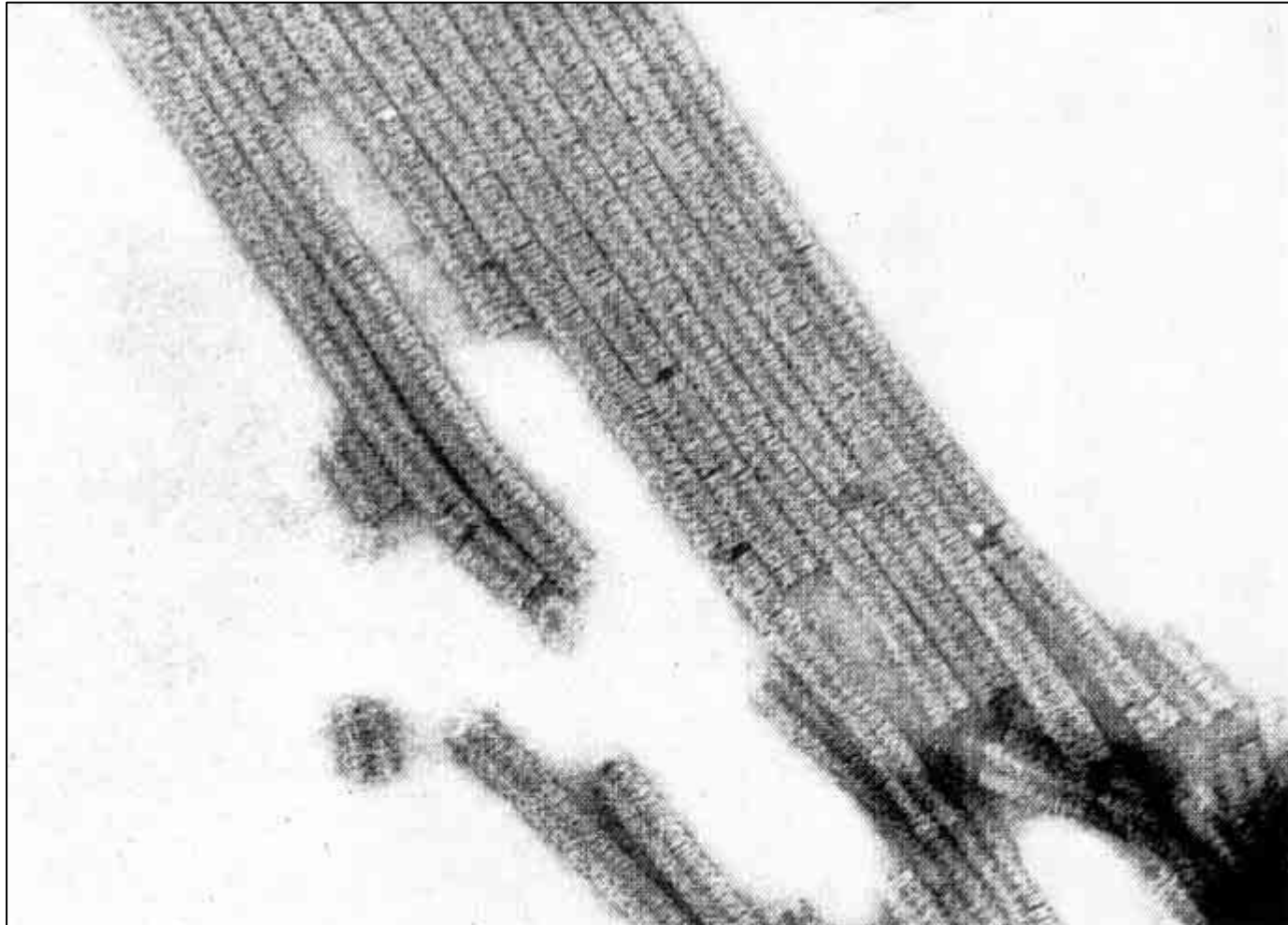


**СБОРКА  
ВШМЯ-  
ПОДОБНЫХ  
НАНОЧАСТИЦ В  
ОТСУТСТВИЕ  
РНК**

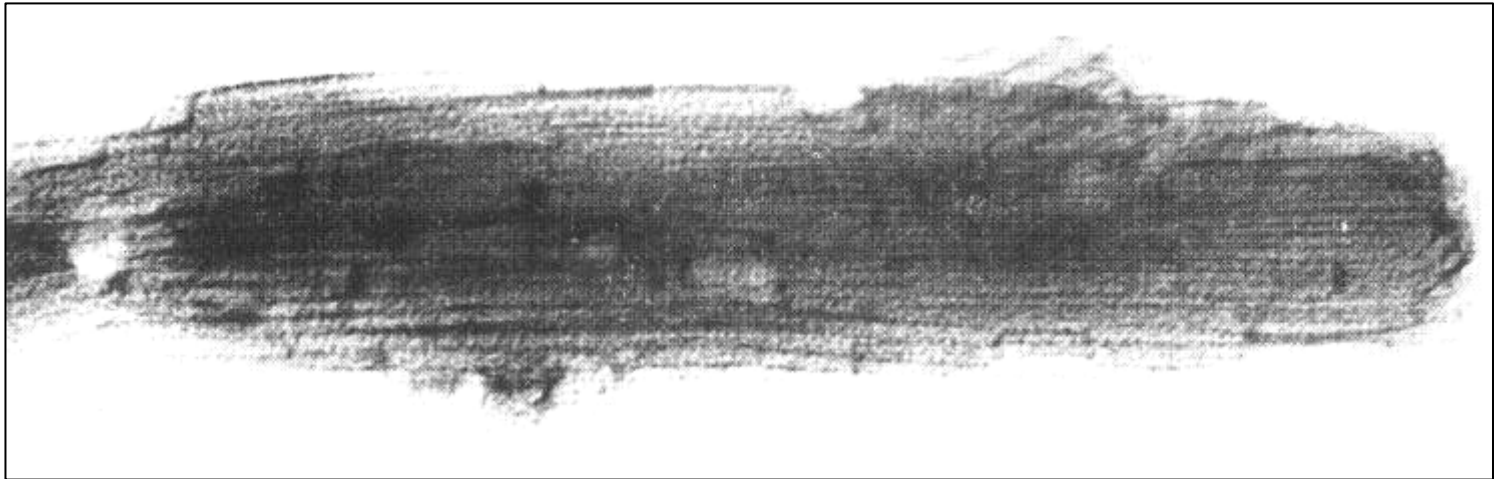


# СБОРКА ВИРУСО-ПОДОБНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ОТСУТСТВИЕ РНК (белок ВШМЯ).

Kiselev N., DeRosier D., Atabekov J. 1970, *J.Mol. Biol.*

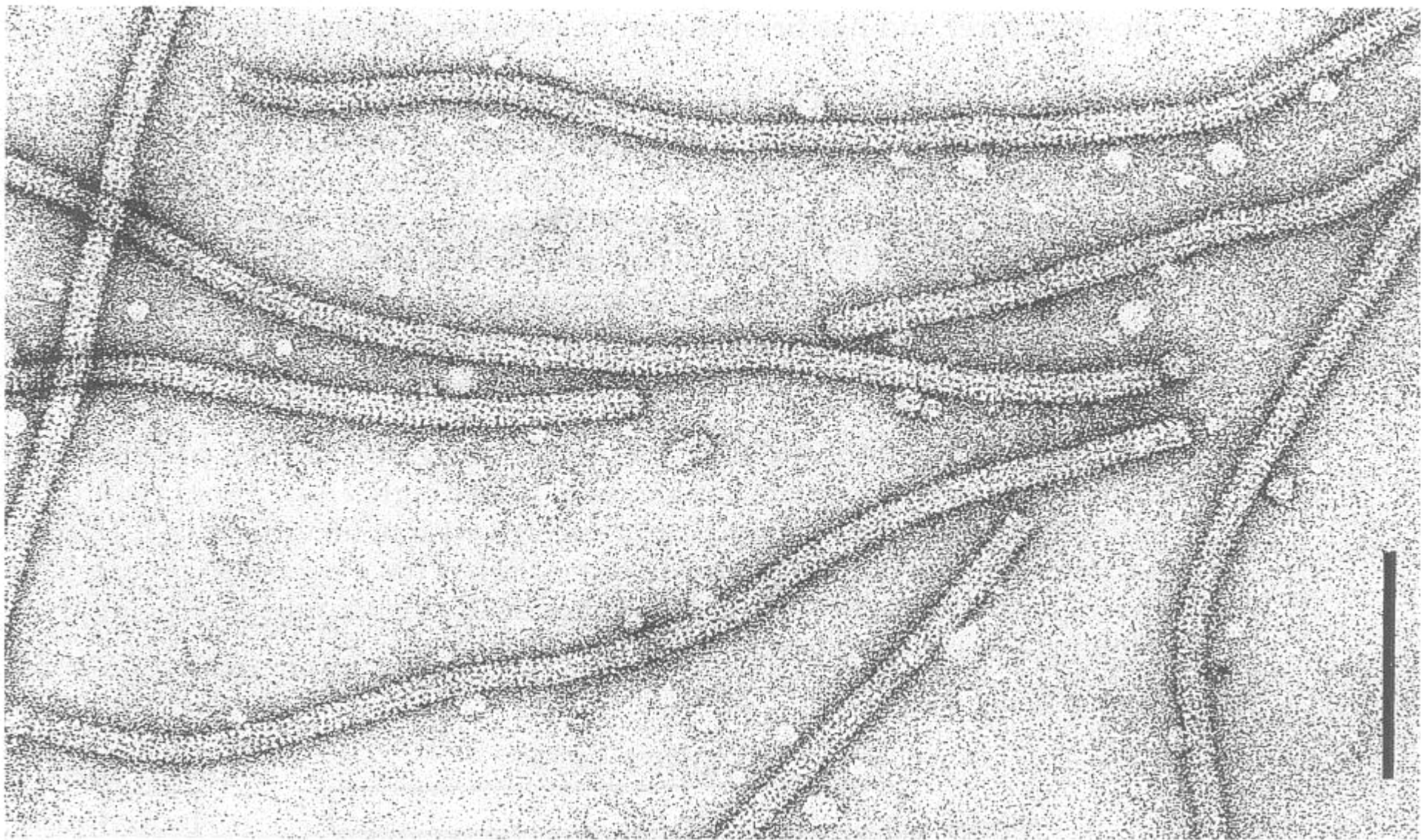


# Паракристалл-самосборка вирусного белка

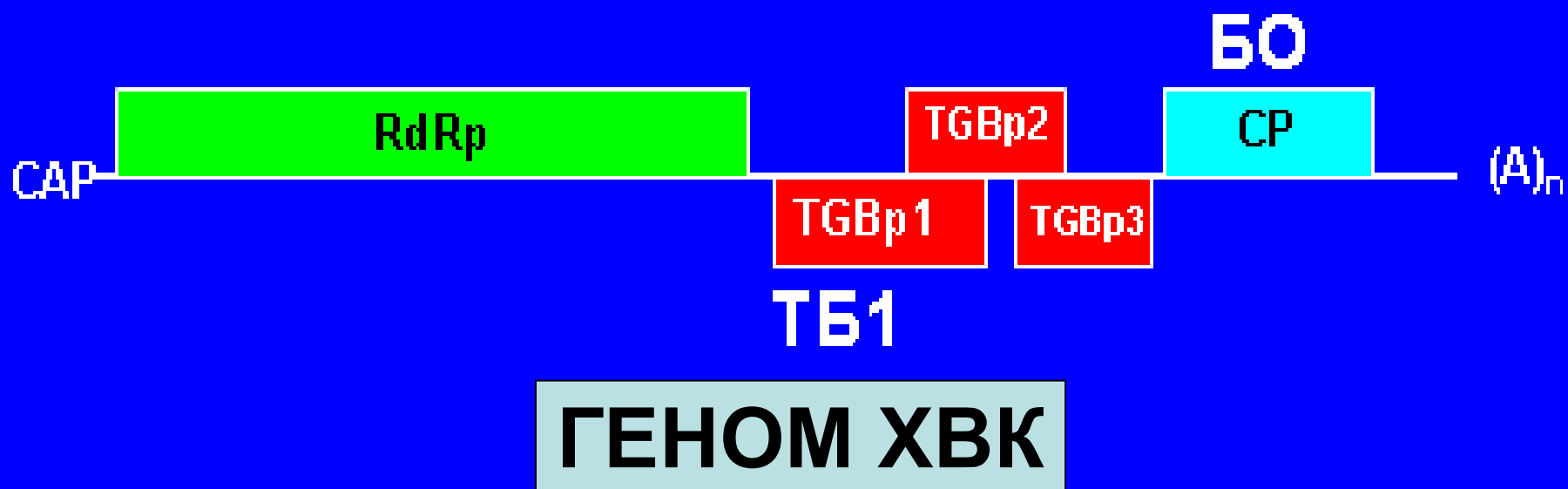




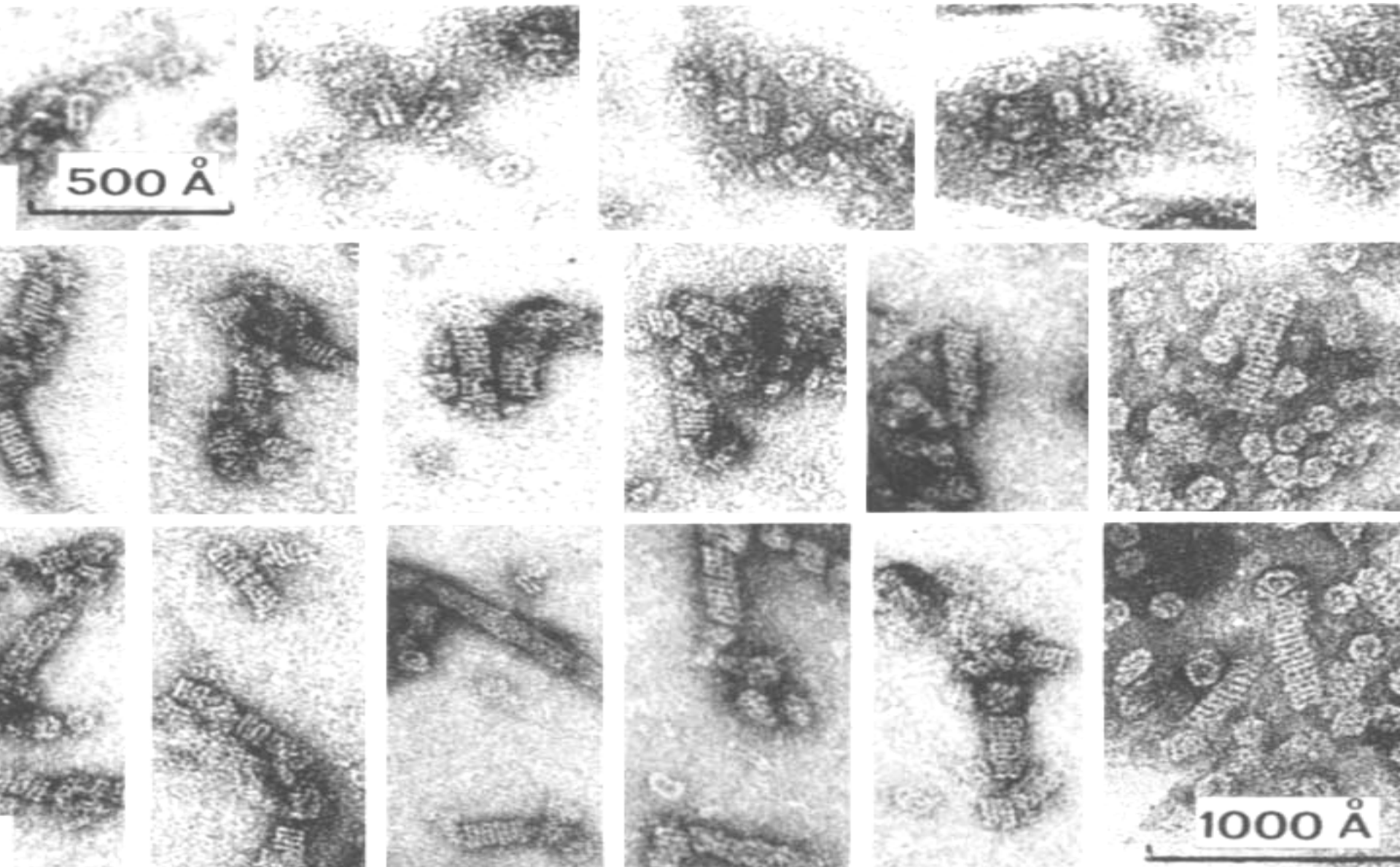
# Вирионы X вируса картофеля (ХВК)







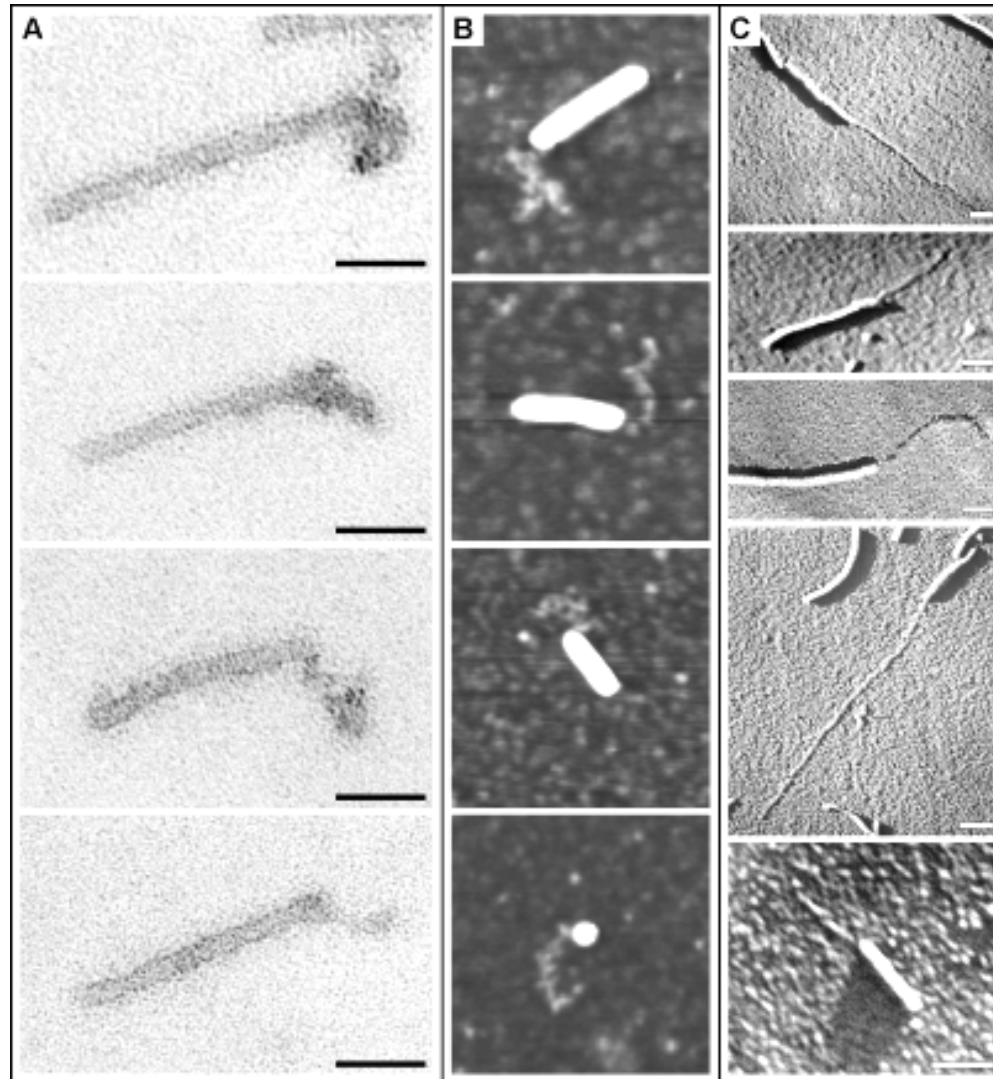
# РЕПОЛИМЕРИЗАЦИЯ БЕЛКА ХВК В ОТСУТСТВИЕ РНК



# «ХВОСТАТЫЕ» ЧАСТИЦЫ – ПРОДУКТЫ СБОРКИ *IN VITRO* ХВК (БЕЛОК+РНК)

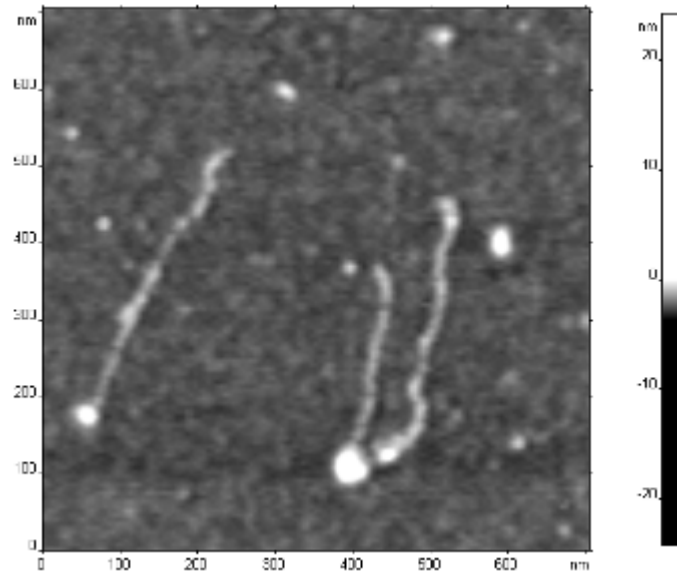
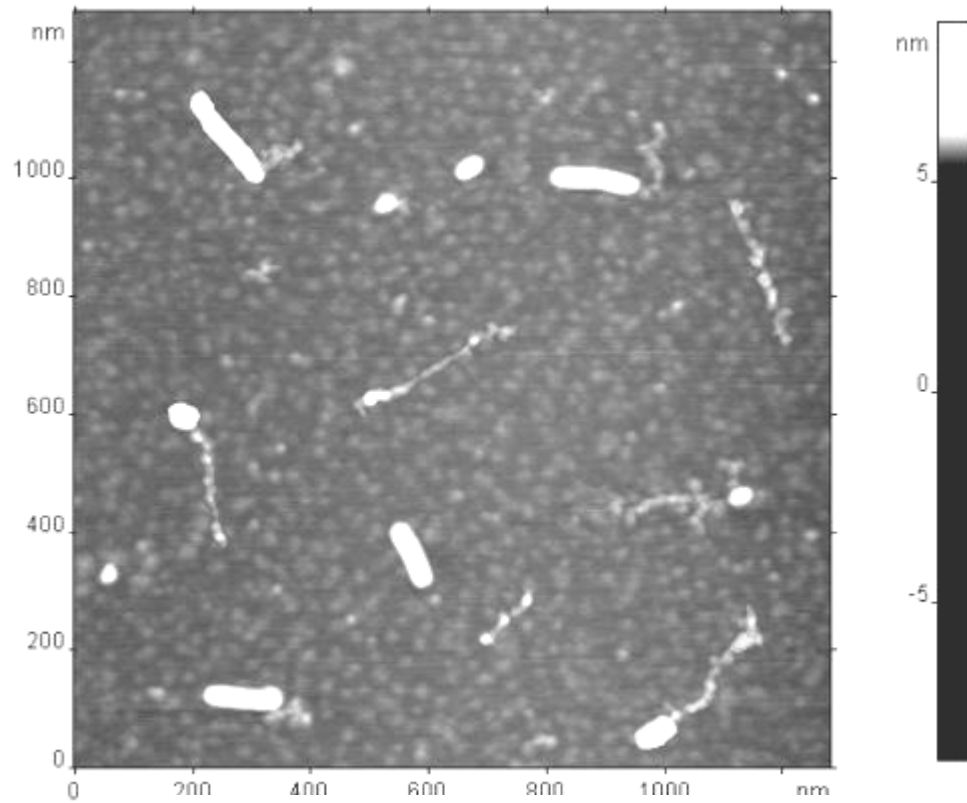
## AFM

EM  
negative  
staining



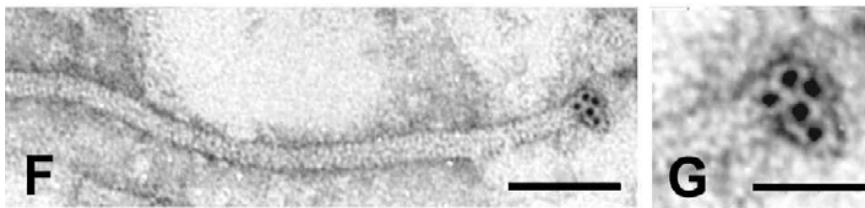
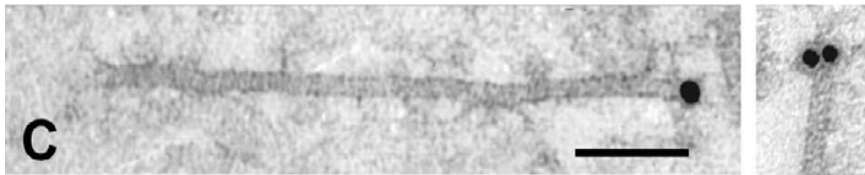
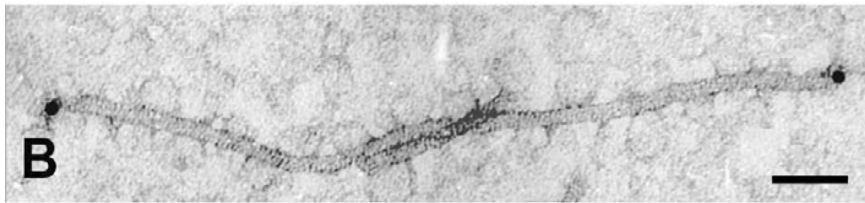
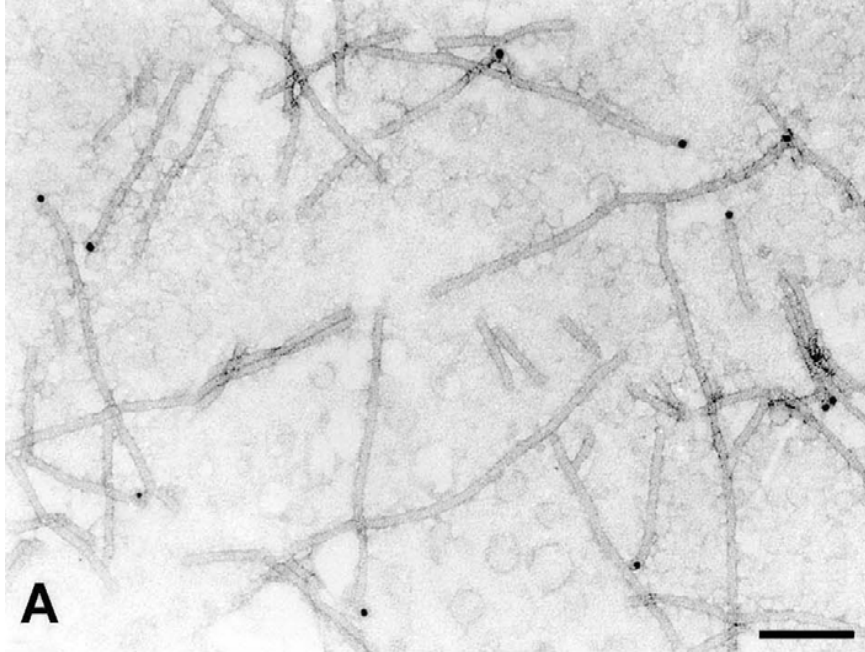
EM  
shadowing  
with  
platinum

**ACM**





**СВЯЗЫВАНИЕ  
ТРАНСПОРТНОГО БЕЛКА ТБ1  
С ОДНИМ ИЗ  
КОНЦОВ ЧАСТИЦЫ ХВК  
(ИЭМ).**



**SCALE BARS :**

**A – 100 nm;**

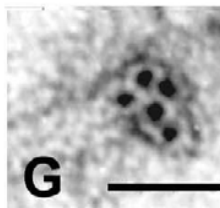
**B - F – 50 nm;**

**G – 25 nm.**

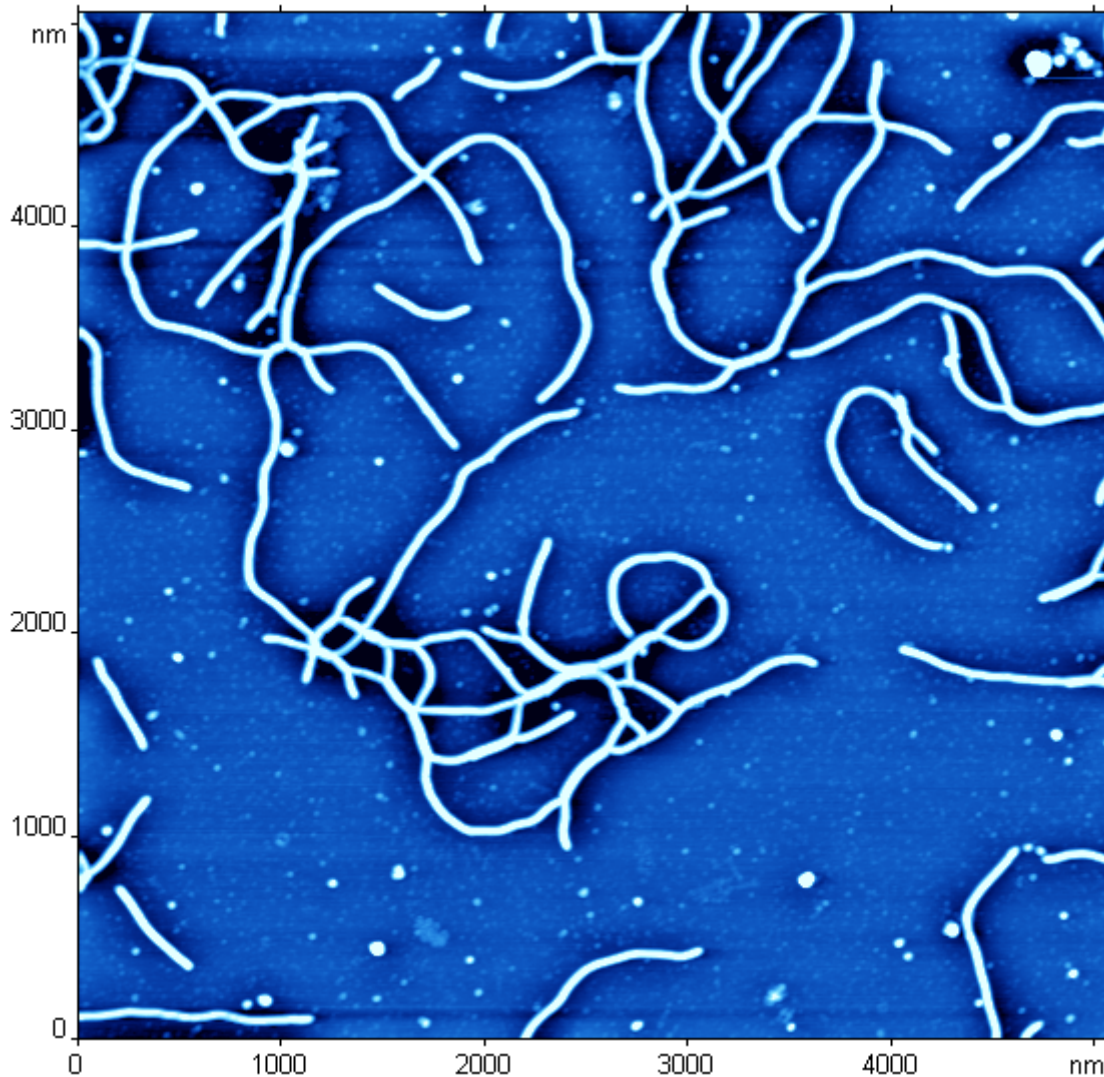
**SIZE OF GOLD PARTICLES:**

**A – E – 10 nm;**

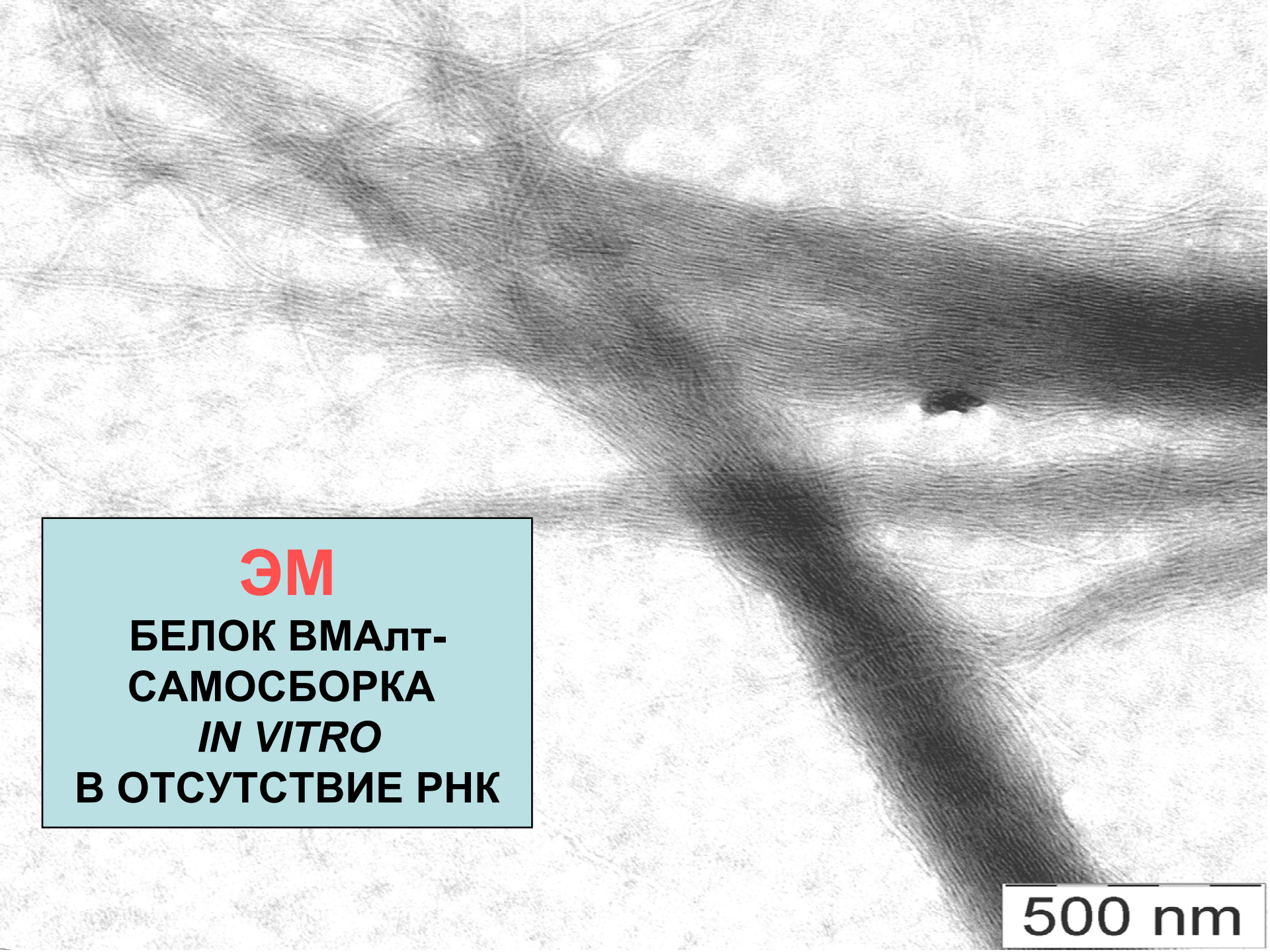
**F, G – 5 nm.**



**АСМ- ИЗОБРАЖЕНИЕ НАТИВНЫХ ЧАСТИЦ ВИРУСА  
МОЗАИКИ *Alternanthera pungens*; сем. *Amaranthaceae*  
(ВМАЛЫТ).**





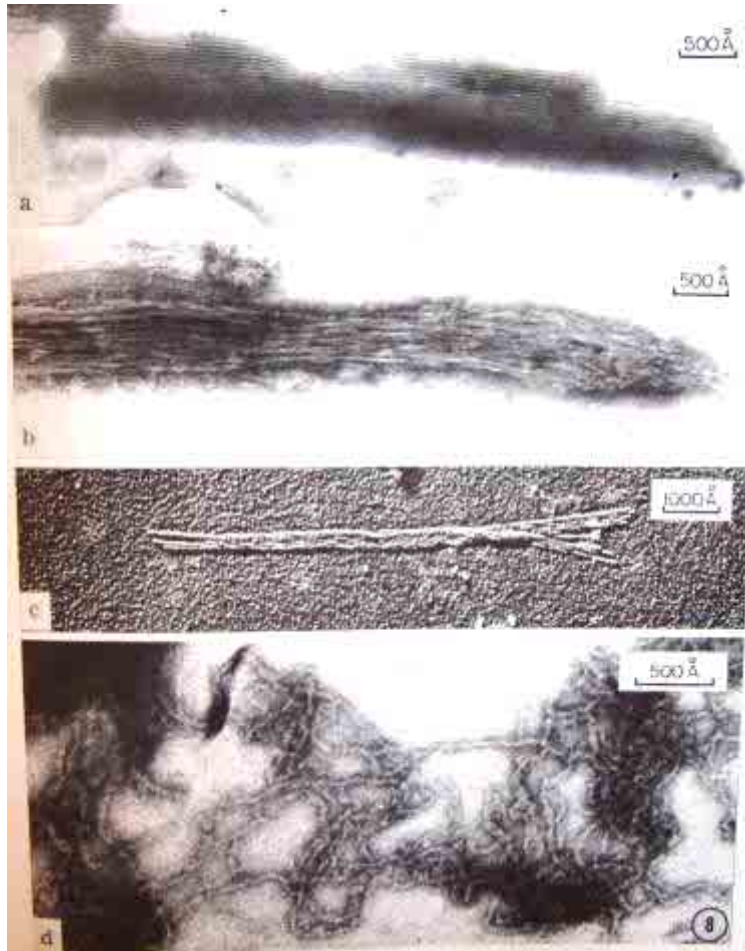


**ЭМ**

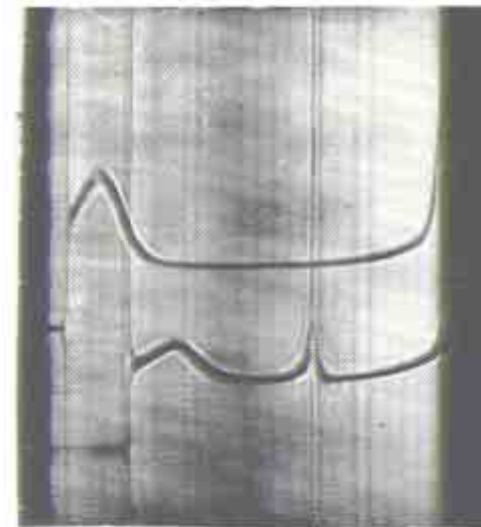
**БЕЛОК ВМАЛТ-  
САМОСБОРКА  
*IN VITRO*  
В ОТСУТСТВИЕ РНК**

**500 nm**

# F-ФОРМА АНТИГЕНА ВМП

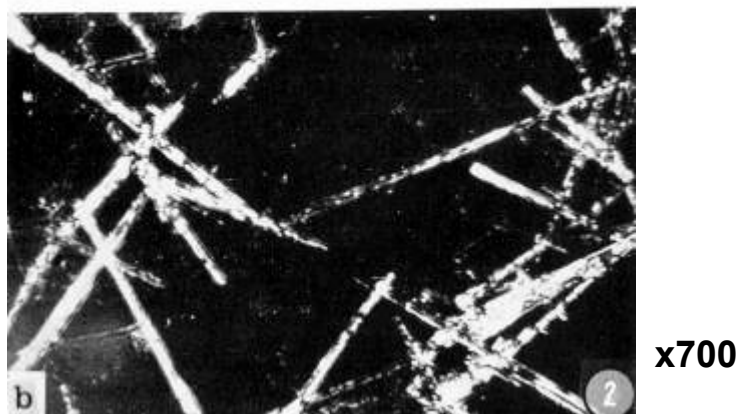
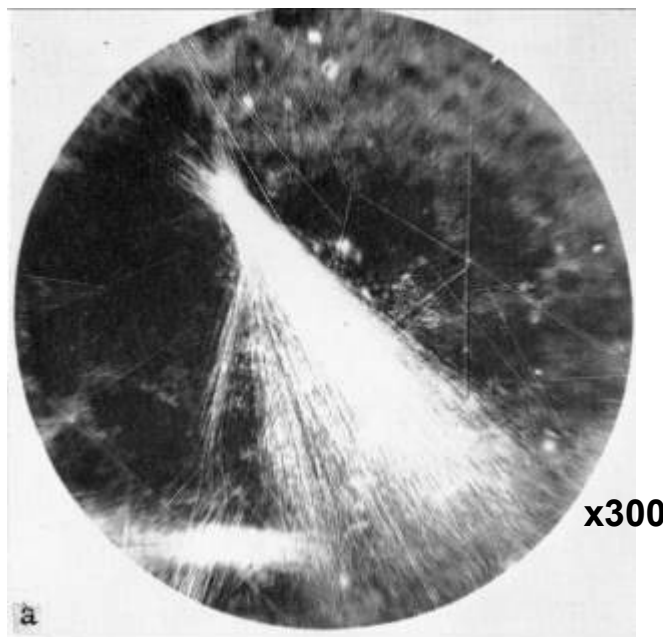


d- плавление паракристалла  
50°C 10 мин



АУЦФ  
ВЕРХ: 5S G- ФОРМА  
НИЗ: 40S F- ФОРМА,

# ПАРАКРИСТАЛЛЫ АНТИГЕНА ВМГ



# САМОСБОРКА «СМЕШАННЫХ» ВИРУСОВ ИЗ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ БЕЛКА ОБОЛОЧКИ (БО) И РНК.

	БО ХВК	БО ВМАльт	БО ВТМ	БО ВОМ 4	БО ВШМЯ
РНК ХВК	+	+	+	+	
РНК ВТМ	+	+	+	+	+
РНК ВОМ 4			+	+	+
РНК ВМАльт	+	+			
РНК ВМН	+	+			
РНК ВАМК	+	+			
РНК ВШМЯ			+	+	+
РНК ВМК <b>тотальная</b>	+	+	+		
РНК 1+2 ВМК	+				
РНК 3 ВМК	+				
РНК 4 ВМК	+				
РНК вируса Менго	+				
ds ДНК (300-5500 bp)	+	+			
ss ДНК бактериофага M13	+				
poly C, poly A	+				

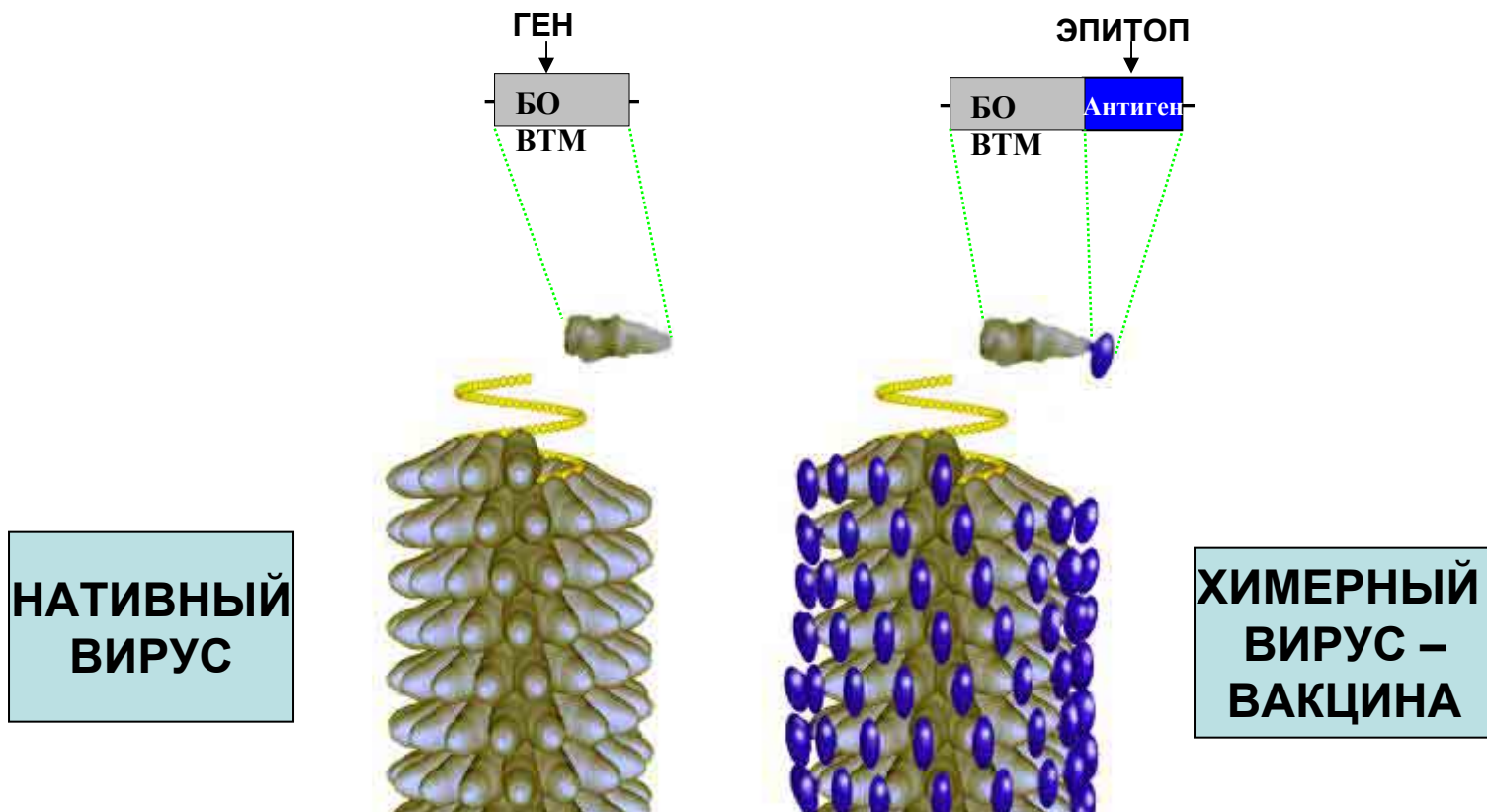
**ХВК**      Х вирус картофеля  
**ВТМ**      вирус табачной мозаики  
**ВОМ 4**    вирус огуречной мозаики  
**ВМАльт**   вирус мозаики альтернантеры

**ВМН**      вирус мозаики нарцисса  
**ВАМК**    вирус аукубы мозаики картофеля  
**ВШМЯ**    вирус штриховатой мозаики ячменя  
**ВМК**      вирус мозаики костра безостого

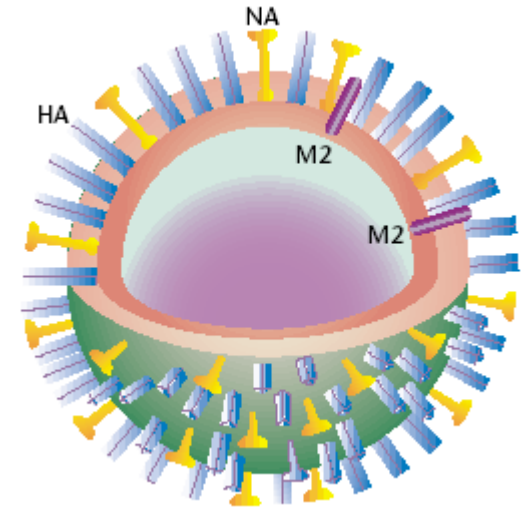


**Химерные вирусные  
наночастицы,  
несущие на поверхности чужеродные  
эпитопы.**

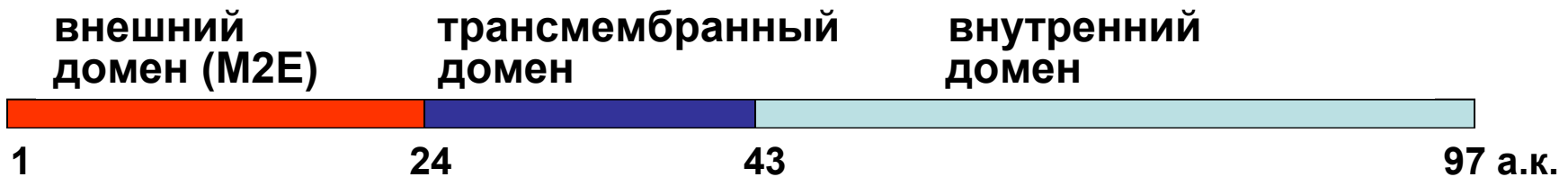
**СОЗДАНИЕ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ИЗ ХИМЕРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ БО, СЛИТЫХ С ЭПИТОПОМ ВАКЦИННОГО БЕЛКА**



# Структура М2 белка вируса гриппа



14-68 М2 белков на вирион



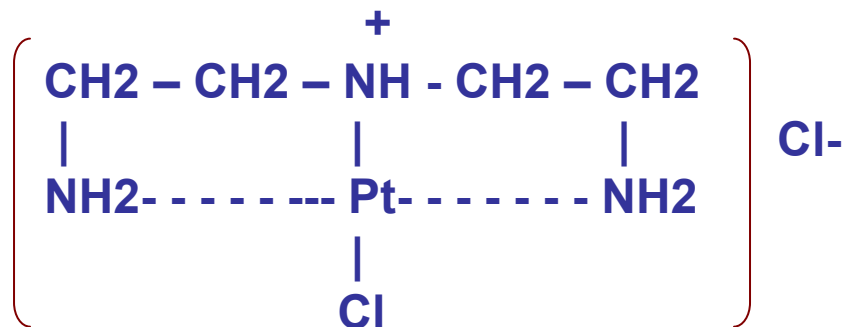
<sup>1</sup> S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D  
<sup>20</sup>  
E G  
% 100 100 100 100 100 100 100 100 84 98 100 100 100 78 100 98 100 100 78 100 100 100  
24 24

Консенсусная последовательность М2Е на основе анализа 55 изолятов вируса гриппа типа А, выделенных начиная с 1933 г.

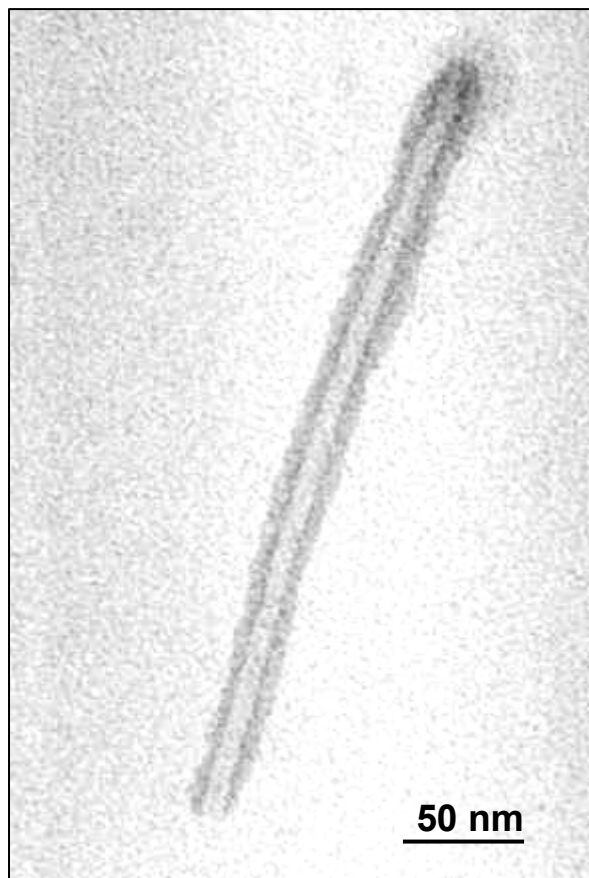
**МЕТАЛЛИЗАЦИЯ/  
МАГНИТИЗАЦИЯ  
ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ**



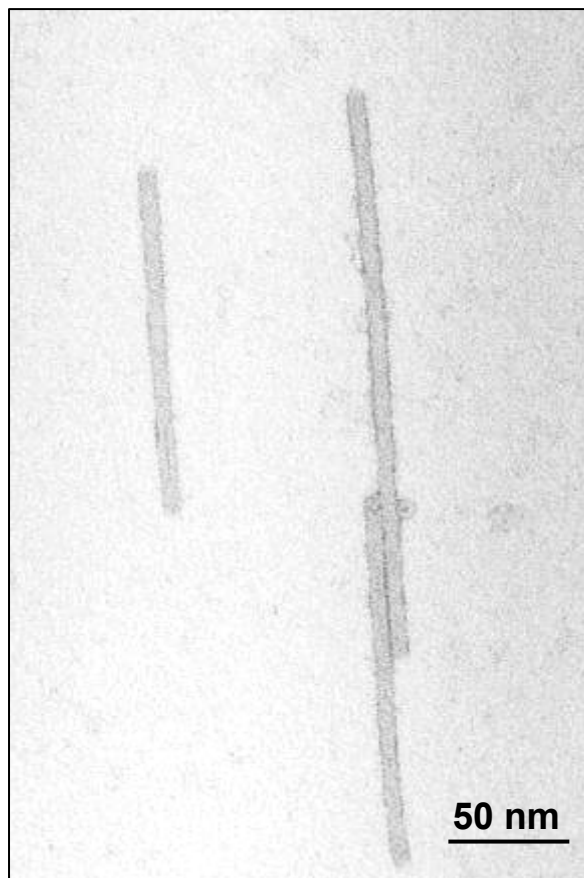
# Хлордиэтилентриаминоплатина хлористая (диен-платина), (dien)Pt.



**Платинированная  
частица ВТМ**

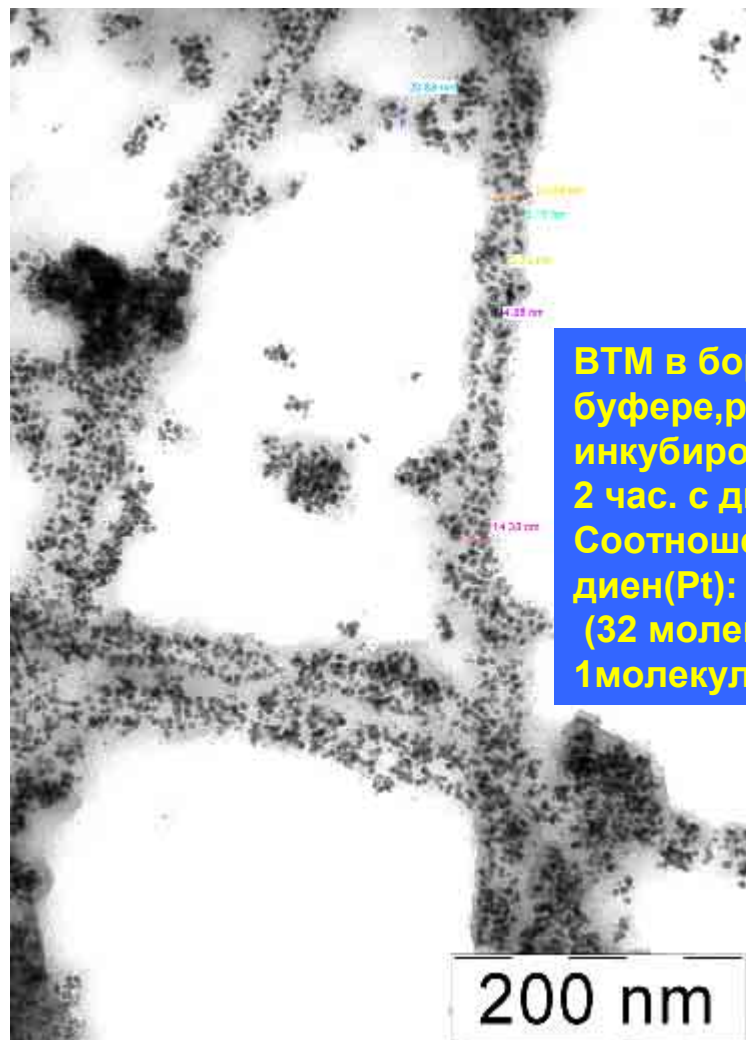


**ВТМ, контроль, негативное  
контрастирование  
уранил ацетатом**

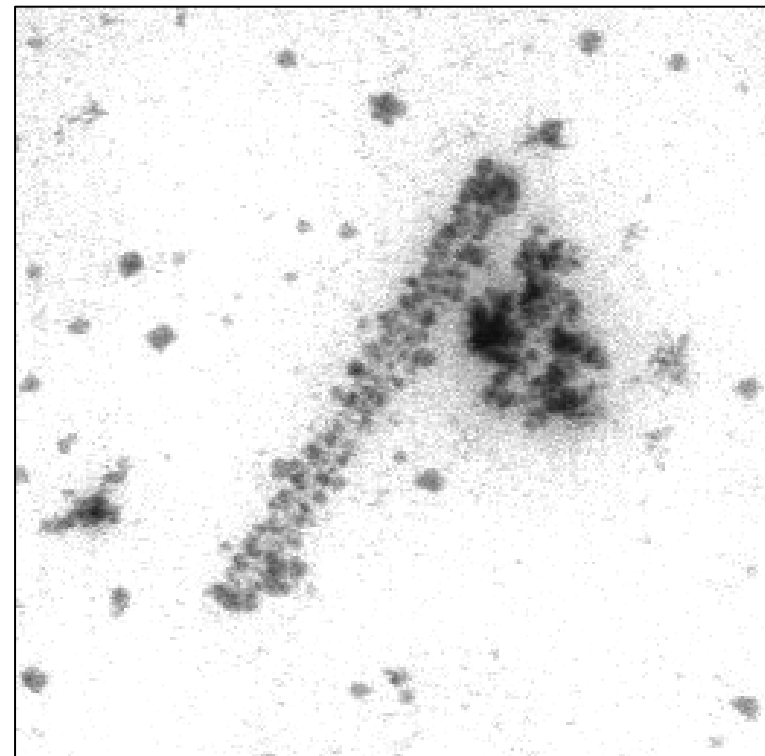


**Время инкубации ВТМ с (диен)Pt 6 час.  
Соотношение (Pt: БО ВТМ) 200:1.**

# Декорирование ВТМ кластерами восстановленных атомов платины



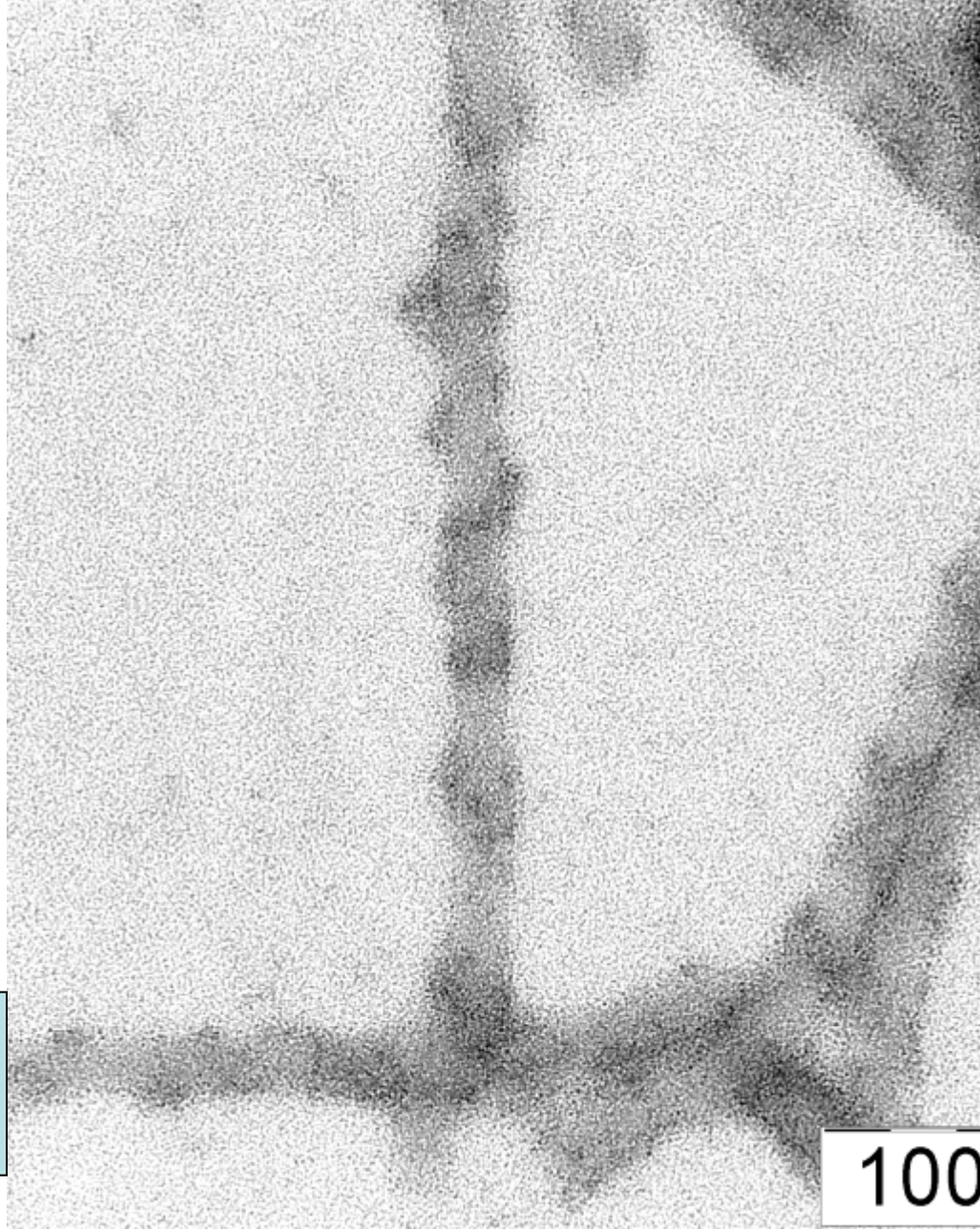
ВТМ в боратном  
буфере, pH 8.3,  
инкубировали  
2 час. с диен(Pt)  
Соотношение  
диен(Pt): БО:  
(32 молекулы на  
1 молекулу БО).



Время инкубации 1 час  
Соотношение  
диен(Pt): БО 200:1.

**TMV-Ni**

**100**

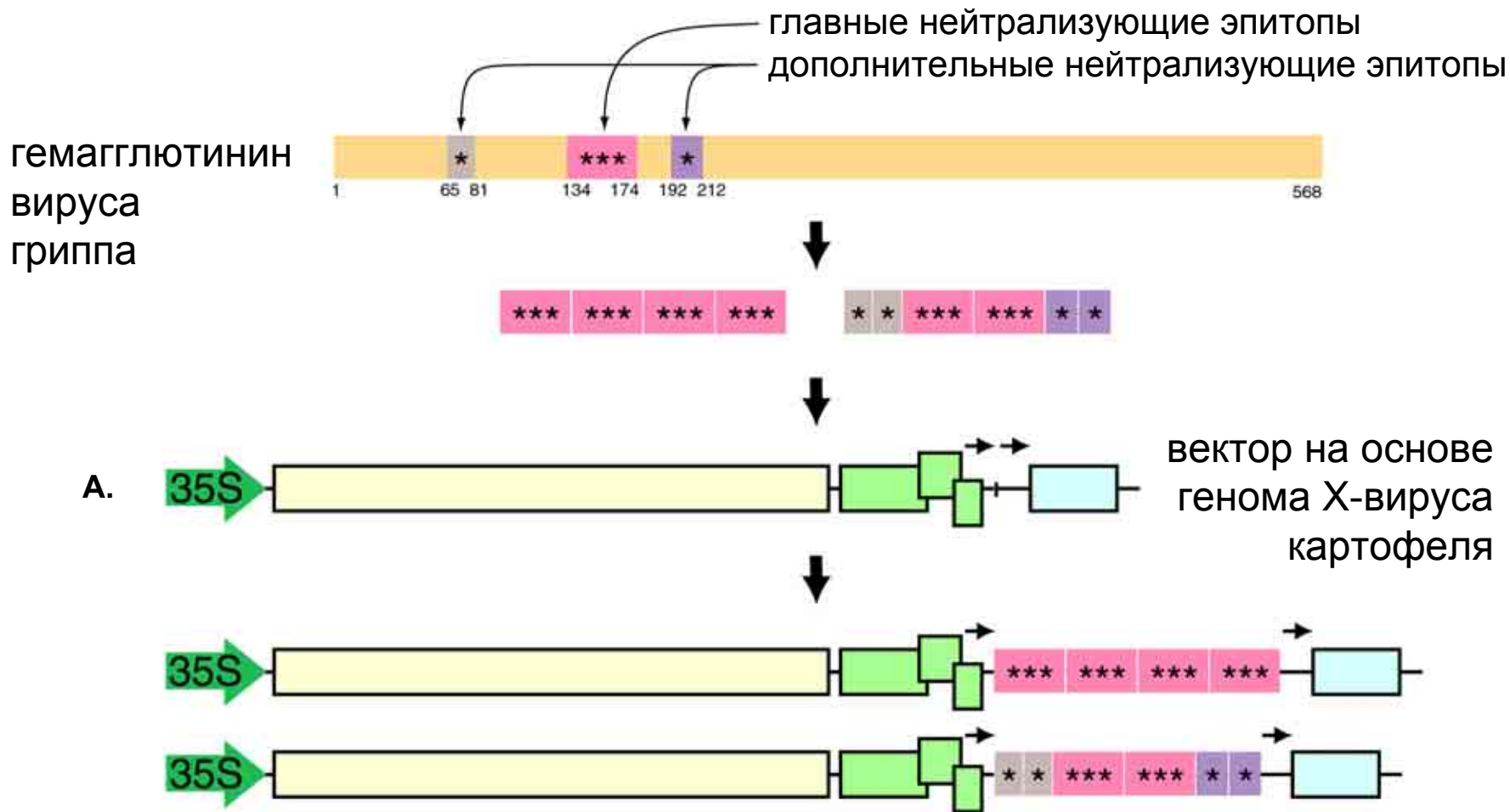


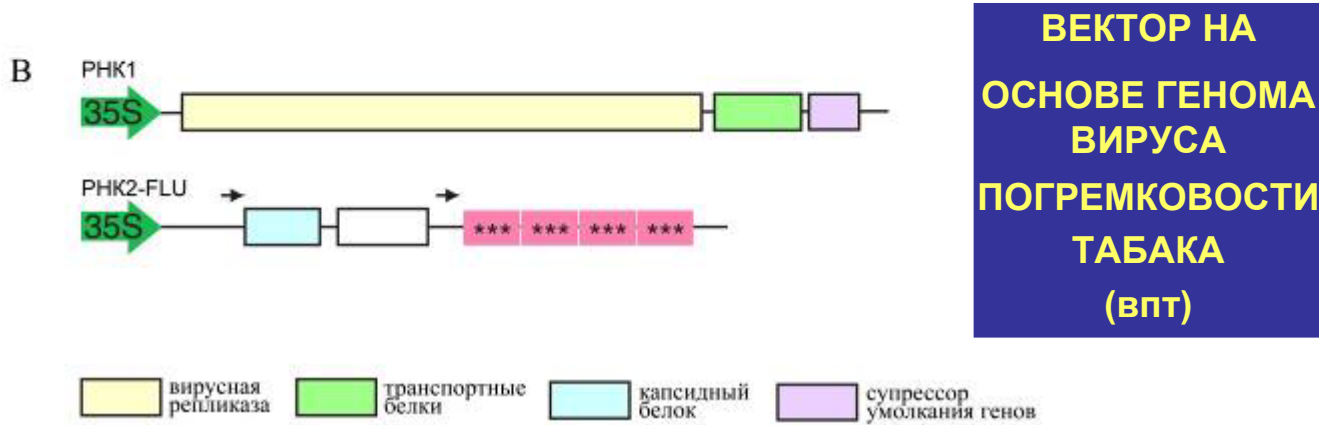
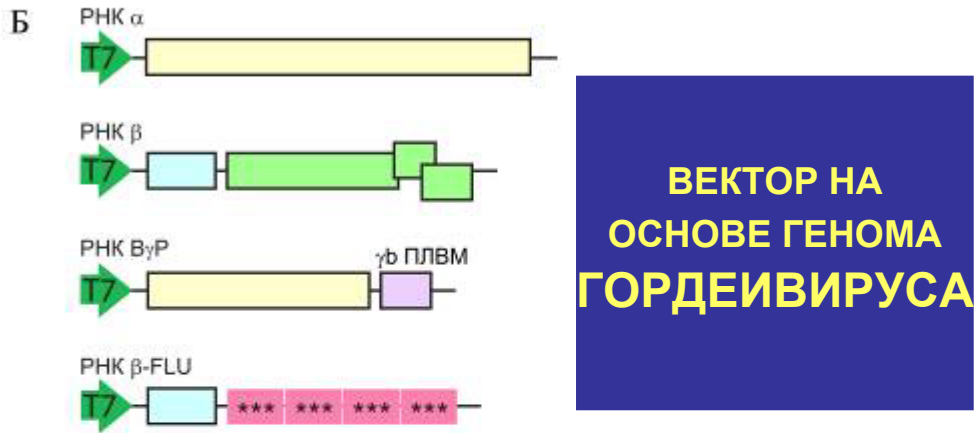


## **Продукция в растениях полиэпитопных вакцинных вариантов гемагглютинаина вируса гриппа птиц.**

- 1. Сконструированы тандемно-повторяющиеся  
эпитопные последовательности гемагглютинаина  
гриппа (H5).**
- 2. Конструкции продуцируют полиэпитопные белки  
в растениях, зараженных вирусом – вектором.**
- 3. Антитела активно реагируют с тетрамером и  
димером главного антигенного района ГА вируса  
гриппа.**

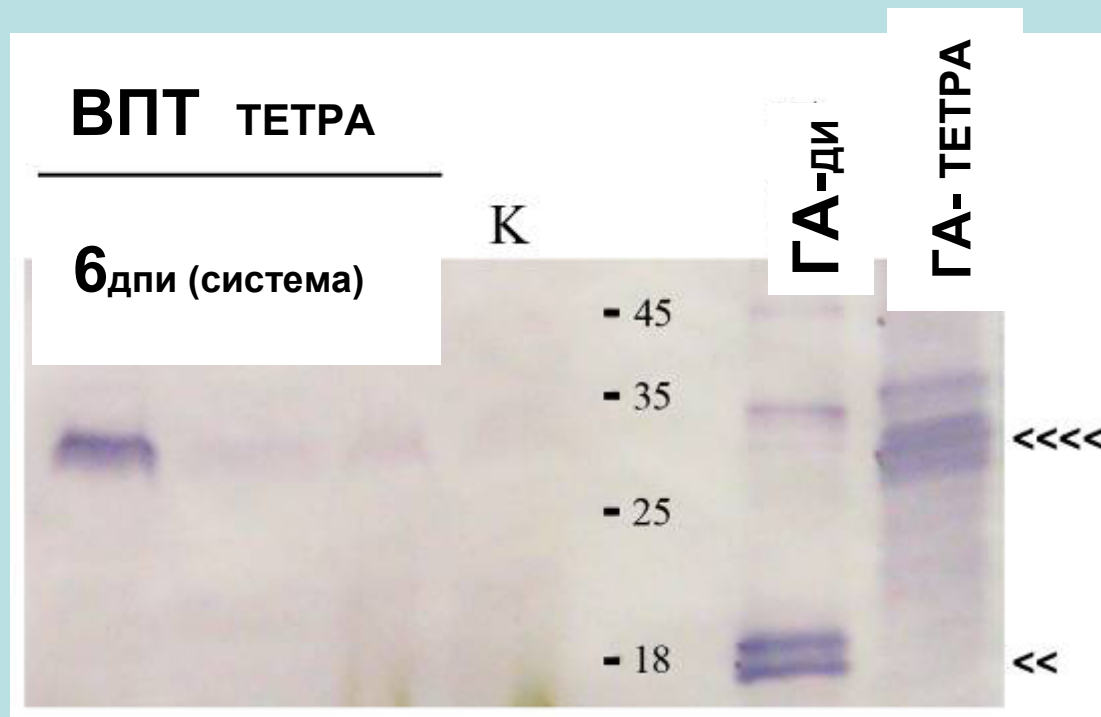
# Схема и локализация экспрессированных полиэпитопов ГА вируса гриппа.





**Схемы вирусных векторов на основе геномов гордеи- и тобравирусов: синтез полиэпитопных белков.**

# Экспрессия полиэпитопного варианта гемагглютинаина H5 в клетках растения.



Продукция полиэпитопного белка вектором **ВПТ**.

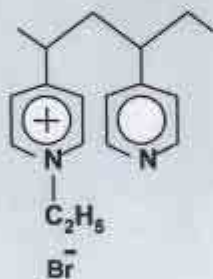
Получены антисыворотки с **ТИТРОМ 70,000** в реакции с  
ГЕМАГГЛЮТИНИНОМ (ГА) ВИРУСА ГРИППА

**«БЛОЧНАЯ» СБОРКА  
НАНОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ  
СПИРАЛЬНЫХ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ**

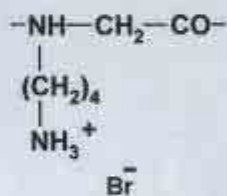


# Полимеры с ионогенными группами (полиэлектролиты, ПЭ)

## Катионные полимеры



Поли-4-винилпиридин,  
алкилированный бромистым  
этилом (96%), П2

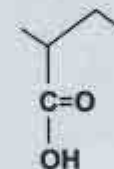


Полилизина  
гидробромид, PL

## Анионные полимеры

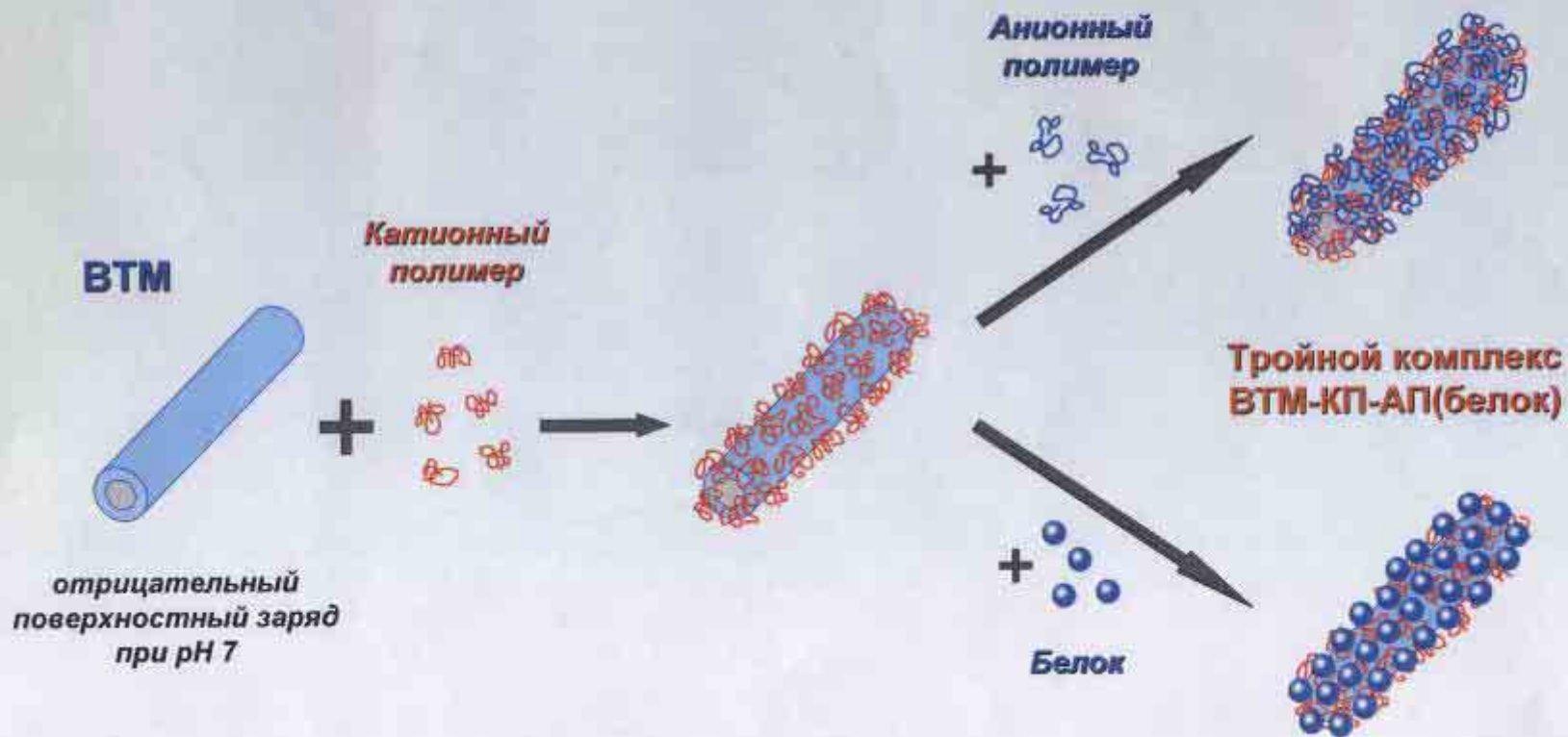


Полистиролсульфо-  
кислота, ПССК



Полиакриловая  
кислота, ПАК

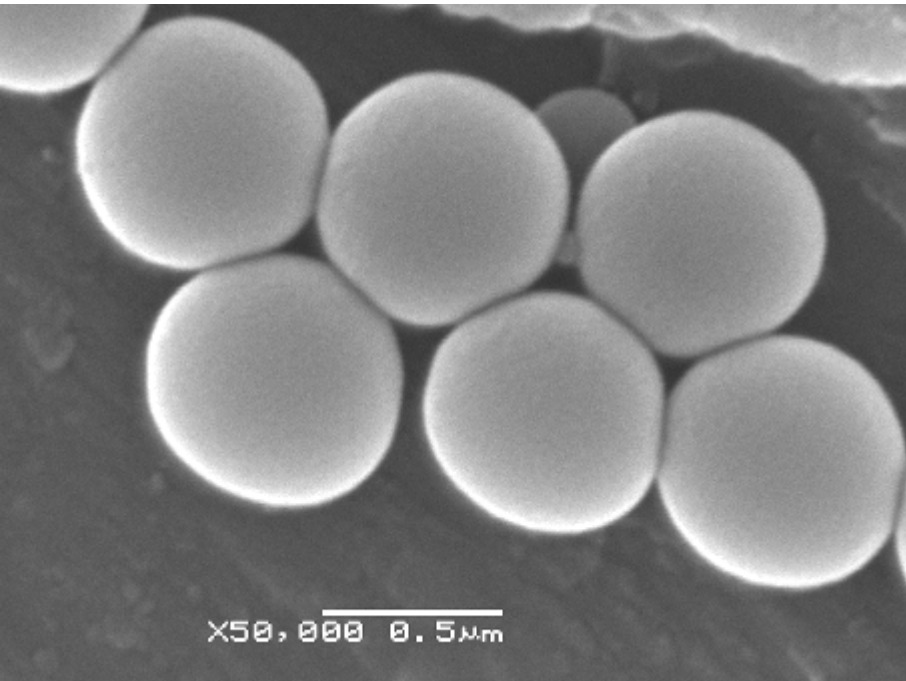
# Модификация ВТМ (схема процесса)



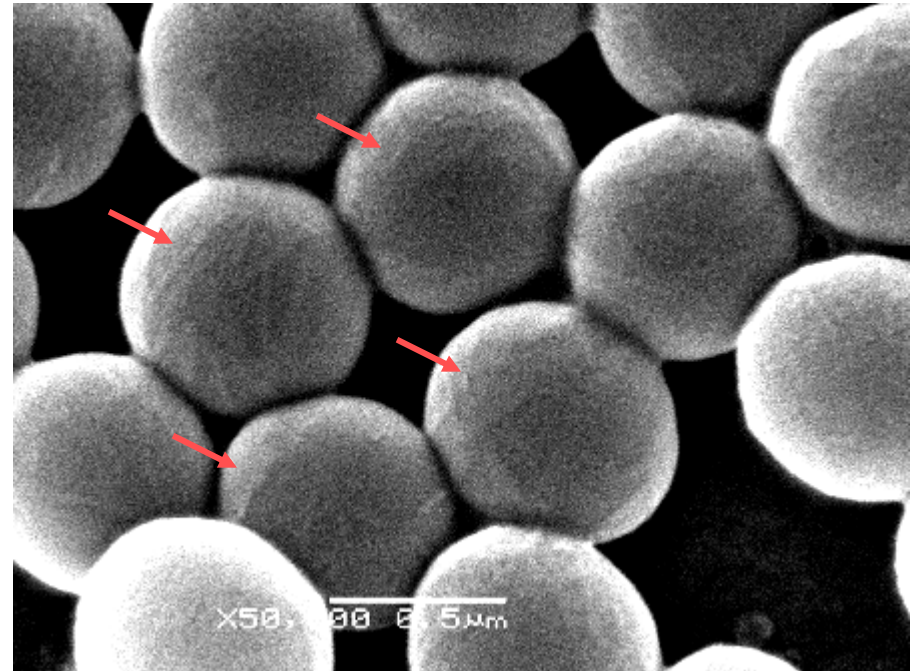
# **КОМПЛЕКСЫ ВТМ С ЧАСТИЦАМИ ЛАТЕКСА**

# Частицы латекса покрыты поликатионом и адсорбированным на них ВТМ

(сканирующая электронная микроскопия)



латекс + поликатион



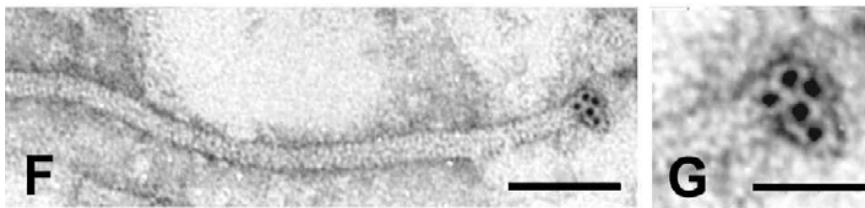
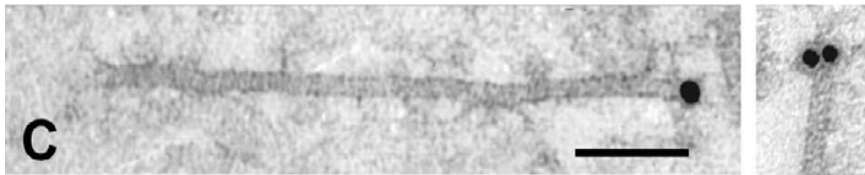
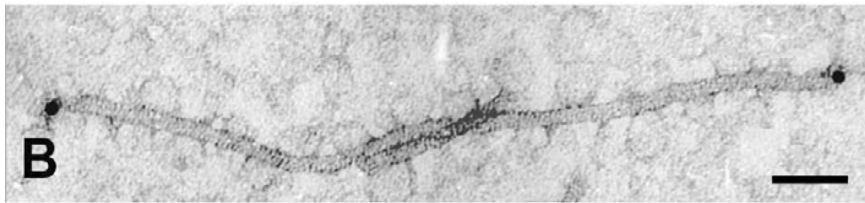
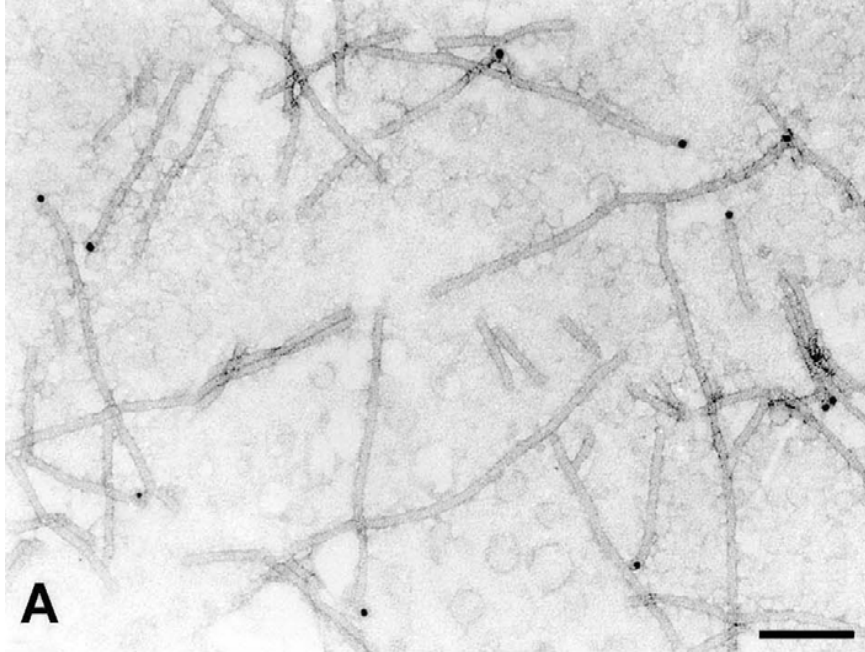
латекс+ поликатион +ВТМ

**ЛИНЕЙНАЯ ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ  
СПИРАЛЬНОГО ВИРУСА ПРИ  
ВЗАИМОДЕЙСТВИИ МОЛЕКУЛ ТБ1 С  
ОДНИМ ИЗ КОНЦОВ ВИРИОНА.**

**КОНТРОЛИРУЕМАЯ  
ДИССОЦИАЦИЯ ВИРУСНЫХ  
НАНОЧАСТИЦ.**



**СВЯЗЫВАНИЕ  
ТРАНСПОРТНОГО БЕЛКА ТБ1  
С ОДНИМ ИЗ  
КОНЦОВ ЧАСТИЦЫ ХВК  
(ИЭМ).**



**SCALE BARS :**

**A – 100 nm;**

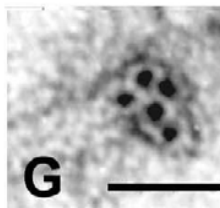
**B - F – 50 nm;**

**G – 25 nm.**

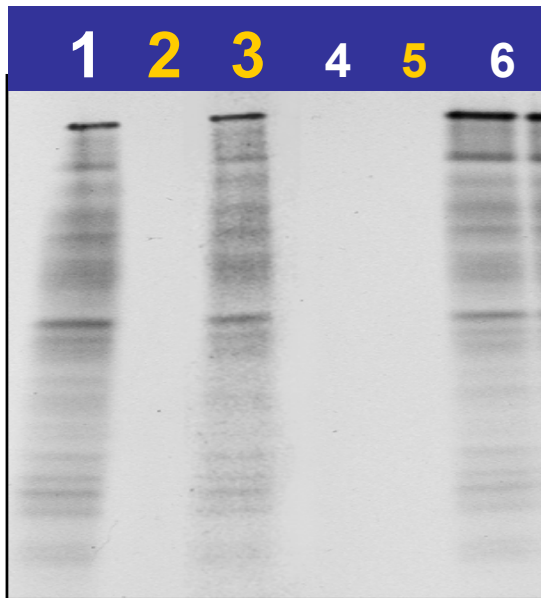
**SIZE OF GOLD PARTICLES:**

**A – E – 10 nm;**

**F, G – 5 nm.**



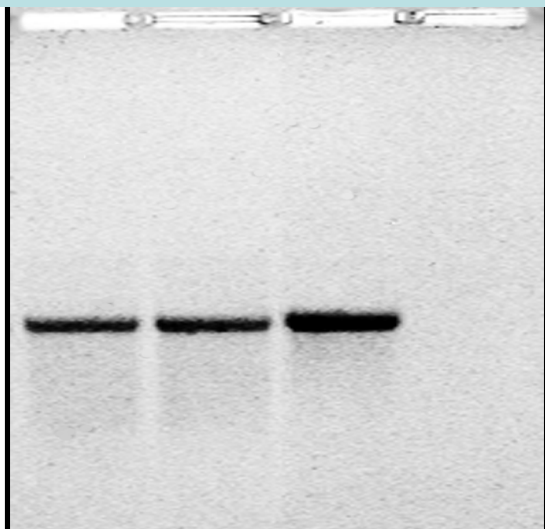
# ТРАНСЛЯЦИОННАЯ АКТИВАЦИЯ ИНКАПСИДИРОВАННОЙ РНК ХВК ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ТРАНСПОРТНЫМ БЕЛКОМ ТБ1



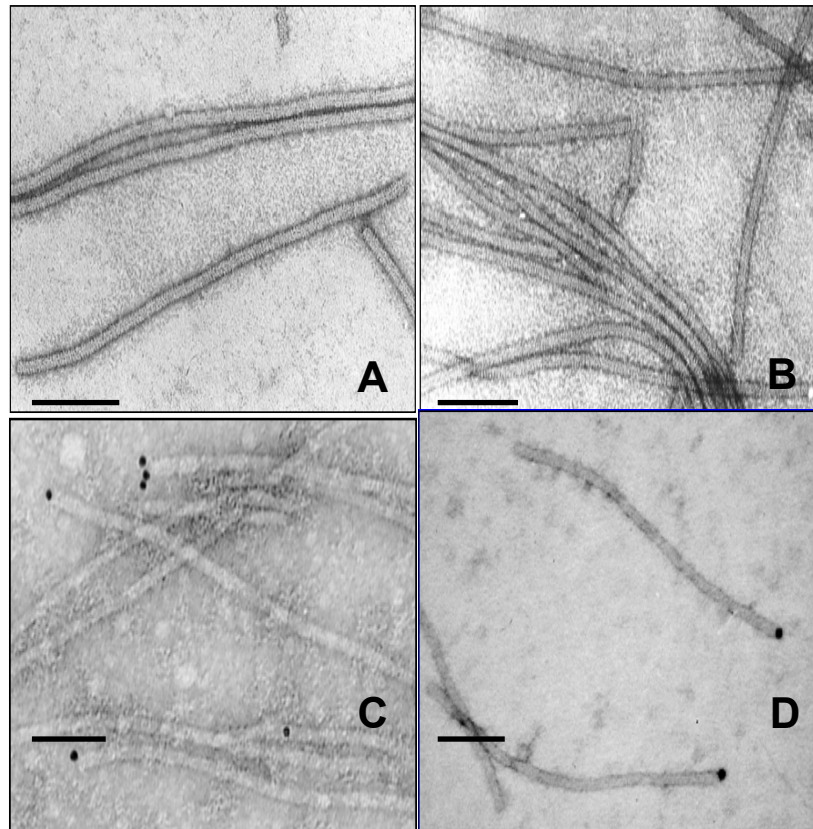
1. РНК ХВК.
2. НАТИВНЫЙ ХВК.
3. “ТБ1-ХВК” КОМПЛЕКС.
4. НАТИВНЫЙ ХВК ПОСЛЕ 0,5% SDS (КОНТРОЛЬ).
5. -ТБ1 УДАЛЁН ИЗ “ТБ1-ХВК” КОМПЛЕКСА.
6. -ТБ1 ВНОВЬ ДОБАВЛЕН К ХВК

# ОБРАБОТАННЫЕ РНКазой ХВК<sup>РНК-ДЕГ</sup> ЧАСТИЦЫ И ИХ КОМПЛЕКСЫ С ТБ1

1 2 3 4

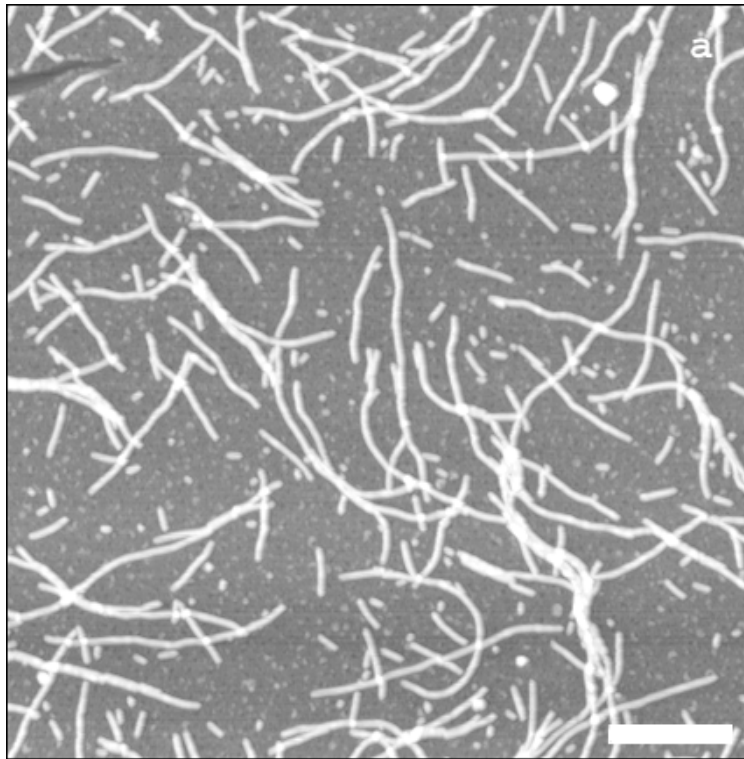


1. Native TMV
2. RNase- treated TMV
3. Native PVX
4. RNase- treated PVX

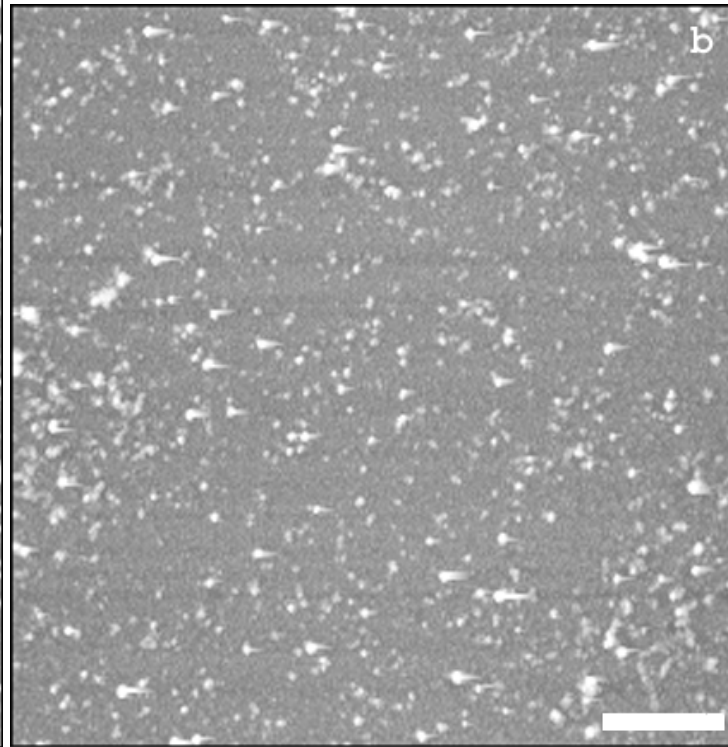


- A. ХВК    B. ХВК<sup>РНА-ДЕГ</sup>  
C. ТБ1-ХВК  
D. ТБ1-ХВК<sup>РНА-ДЕГ</sup>

# ТБ1- ЗАВИСИМАЯ РАЗБОРКА ХВК<sup>РНК-ДЕГ</sup> ЧАСТИЦ ПРИ УСЛОВИЯХ АСМ



**ХВК<sup>РНК-ДЕГ</sup>**



**ТБ1- ХВК<sup>РНК-ДЕГ</sup>**

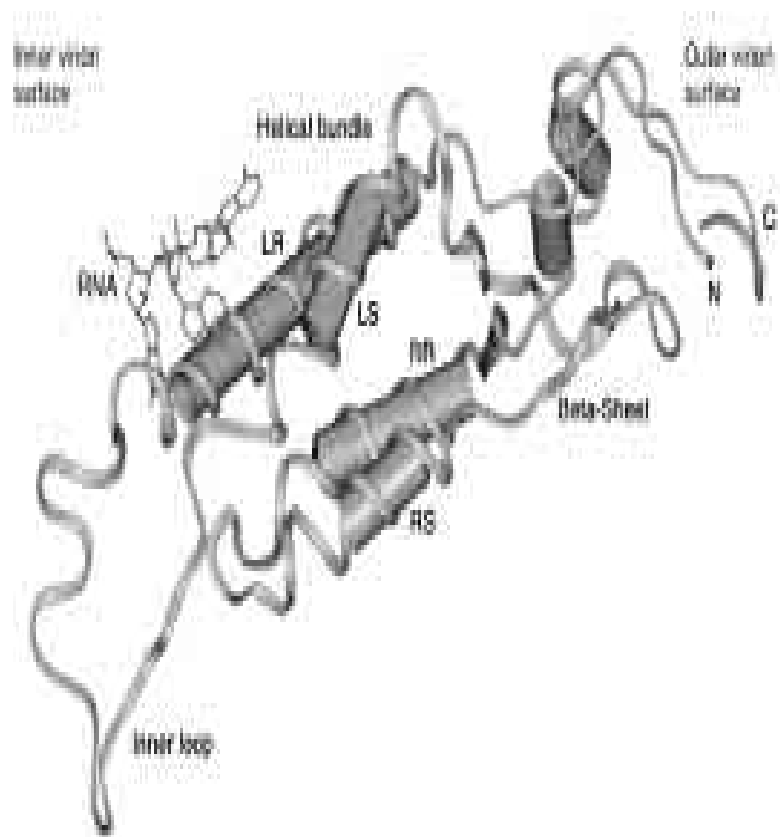
**ПРЕДПОЛАГАЕТСЯ:**

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛ ТБ1 С  
ОДНИМ ИЗ КОНЦОВ ВИРИОНА ХВК  
ВЫЗЫВАЕТ ЛИНЕЙНУЮ ПЕРЕДАЧУ  
КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ  
БЕЛКОВЫХ СУБЪЕДИНИЦ ВДОЛЬ  
ВСЕЙ ПОЛЯРНОЙ СПИРАЛИ,  
ПЕРЕВОДЯ ЕЁ В  
МЕТАСТАБИЛЬНУЮ ФОРМУ.**

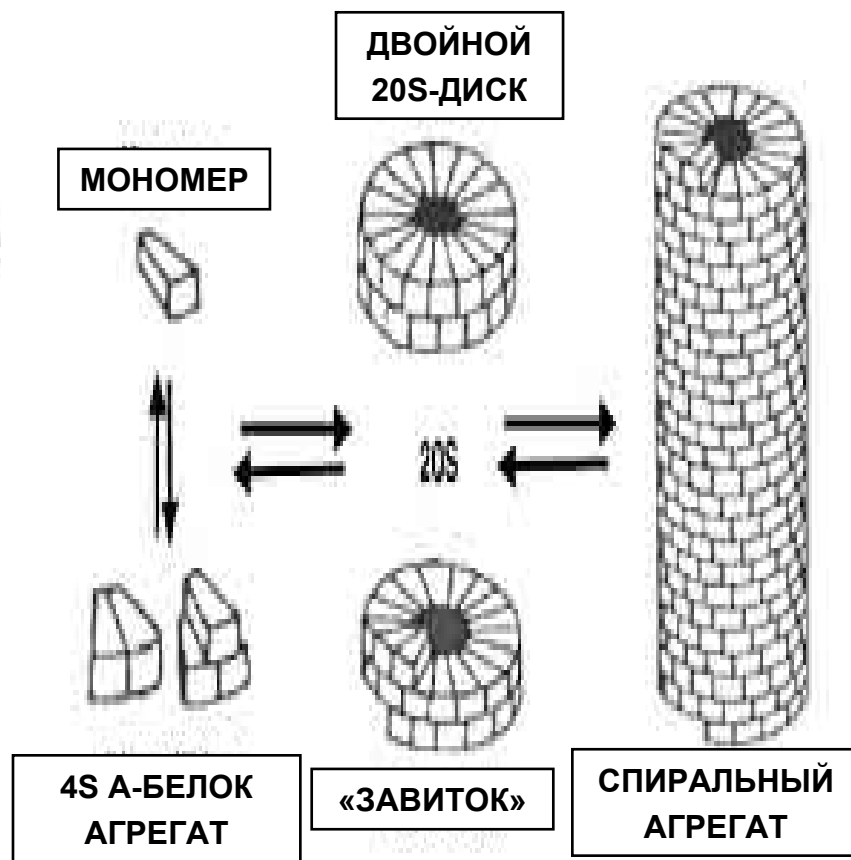


**СПАСИБО**

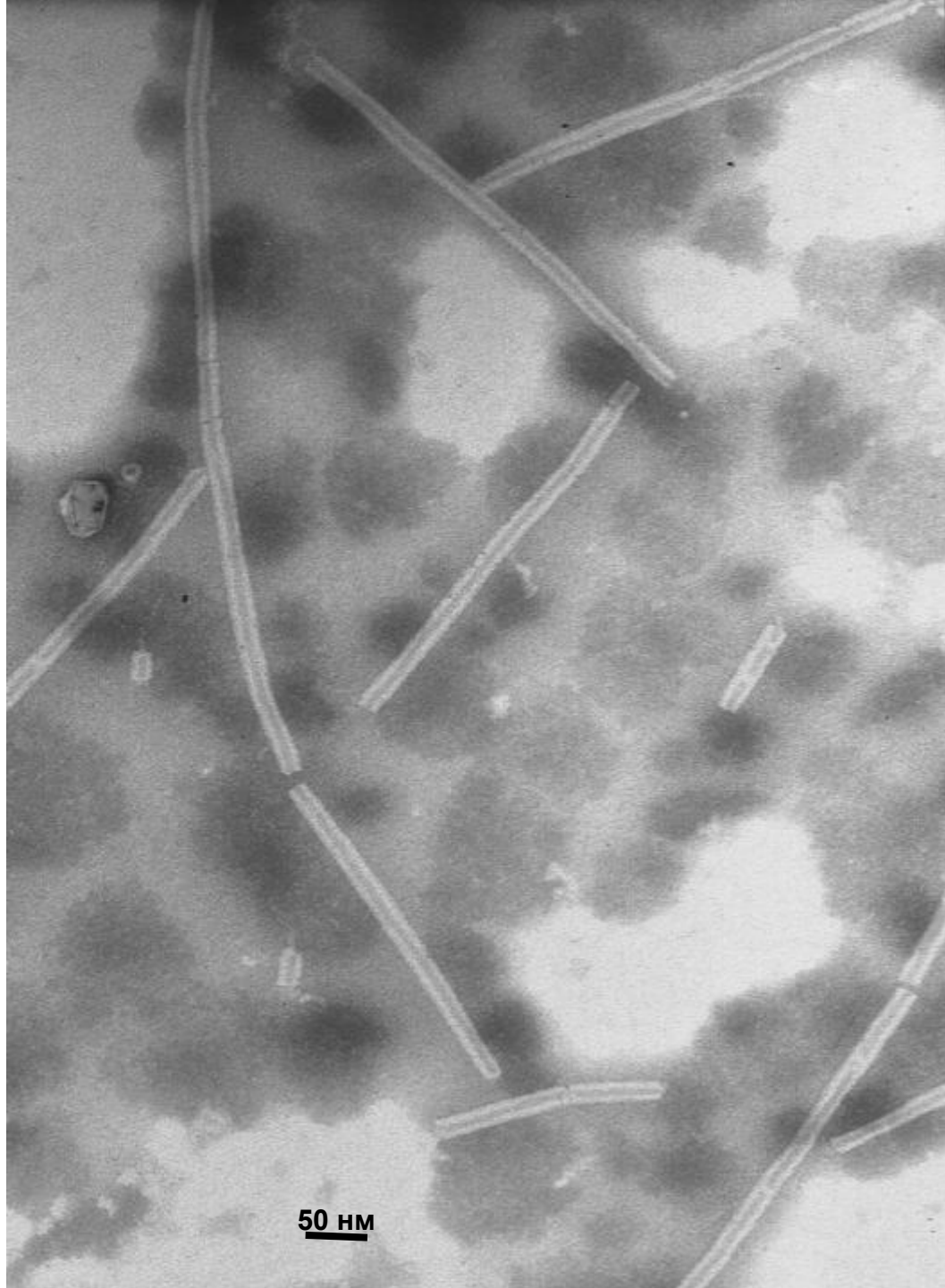
# САМОСБОРКА БЕЛКА ВТМ



**A**



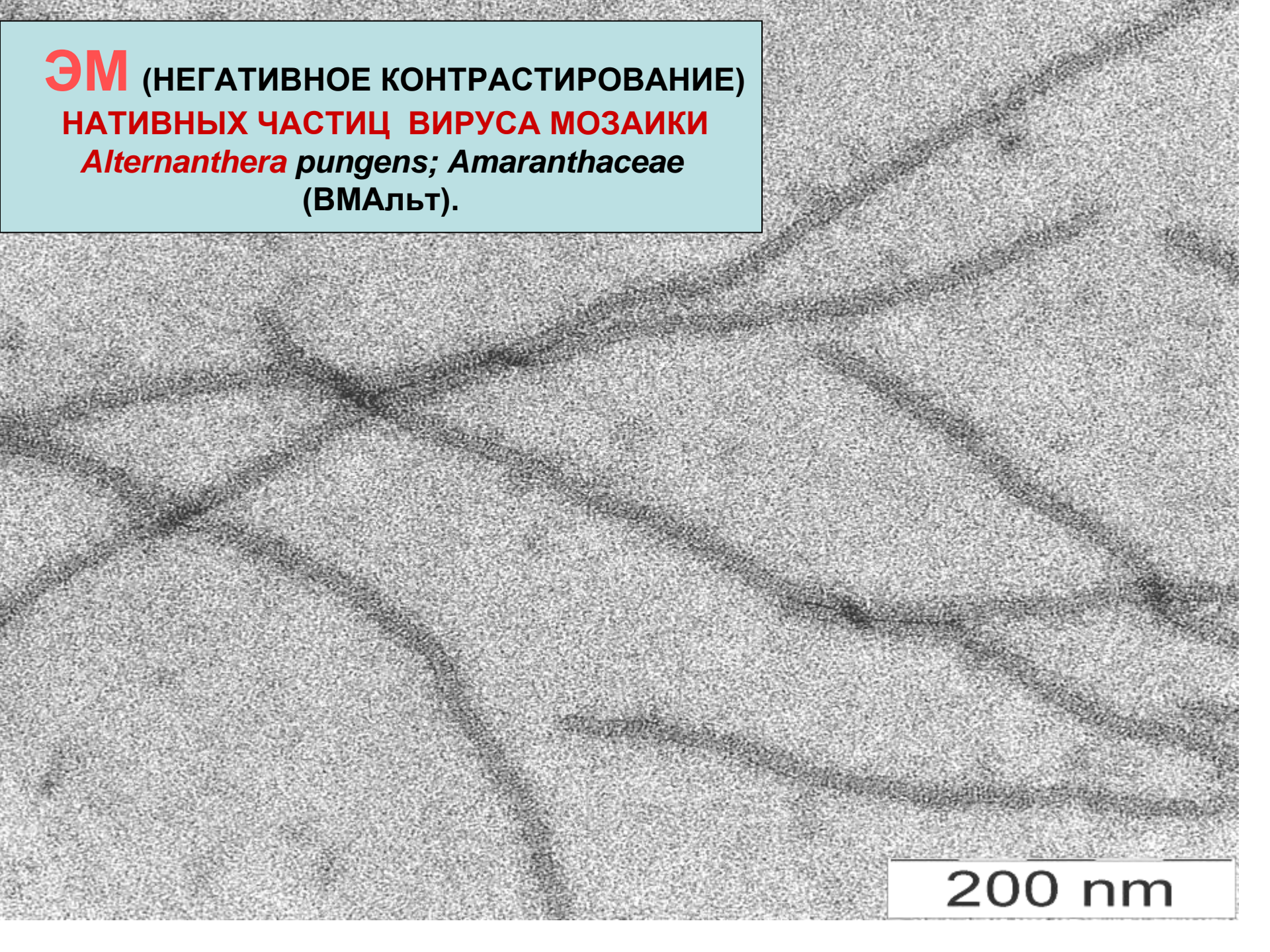
**B**



**СБОРКА  
ВШМЯ-ПОДОБНЫХ  
НАНОЧАСТИЦ В  
ОТСУТСТВИЕ РНК**



**ЭМ** (НЕГАТИВНОЕ КОНТРАСТИРОВАНИЕ)  
**НАТИВНЫХ ЧАСТИЦ ВИРУСА МОЗАИКИ**  
*Alternanthera pungens*; *Amaranthaceae*  
(ВМАЛЬТ).

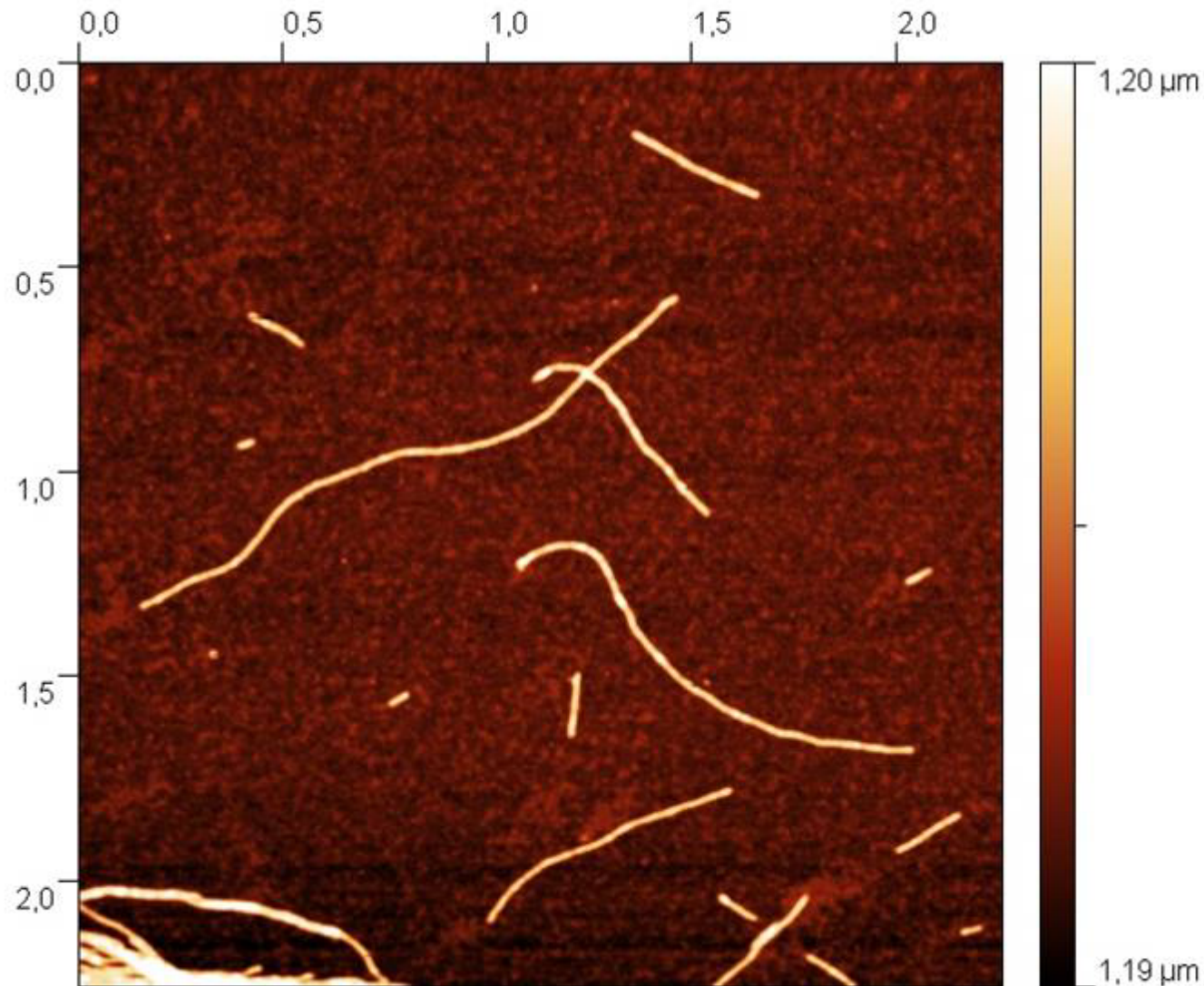


200 nm



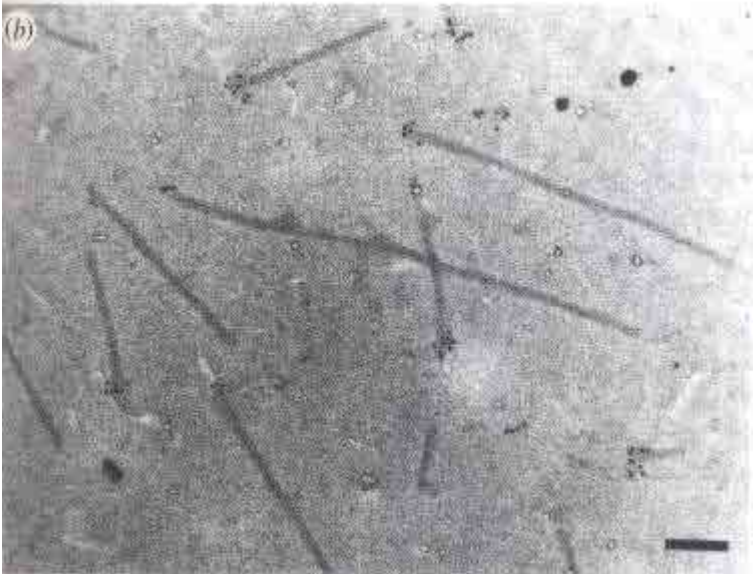
# АСМ

## БЕЛОК ВМАЛЬТ-САМОСБОРКА *IN VITRO* В ОТСУТСТВИЕ РНК

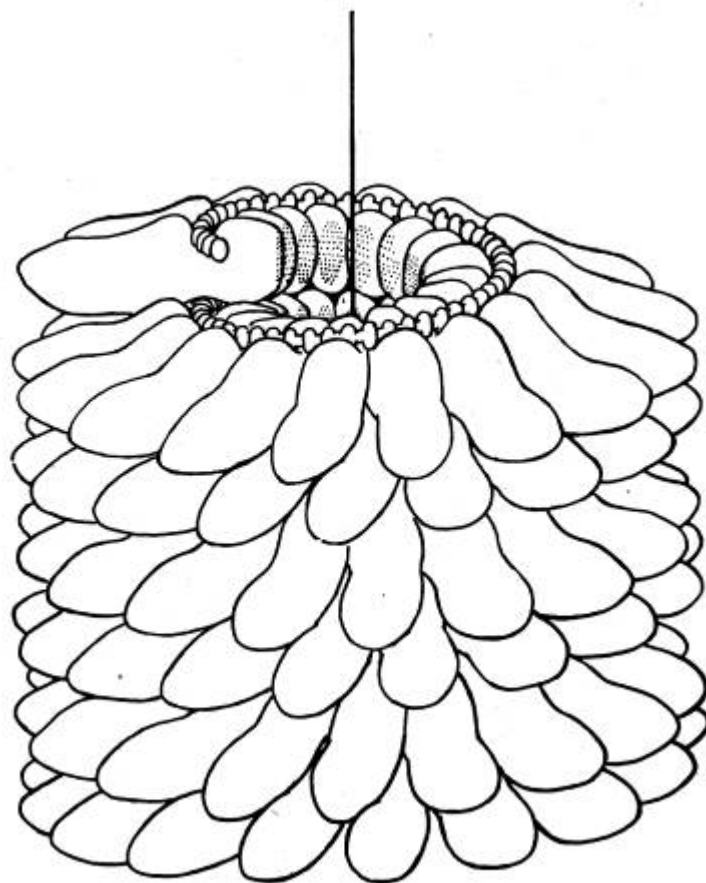




**ИЭМ  
ВТМ**

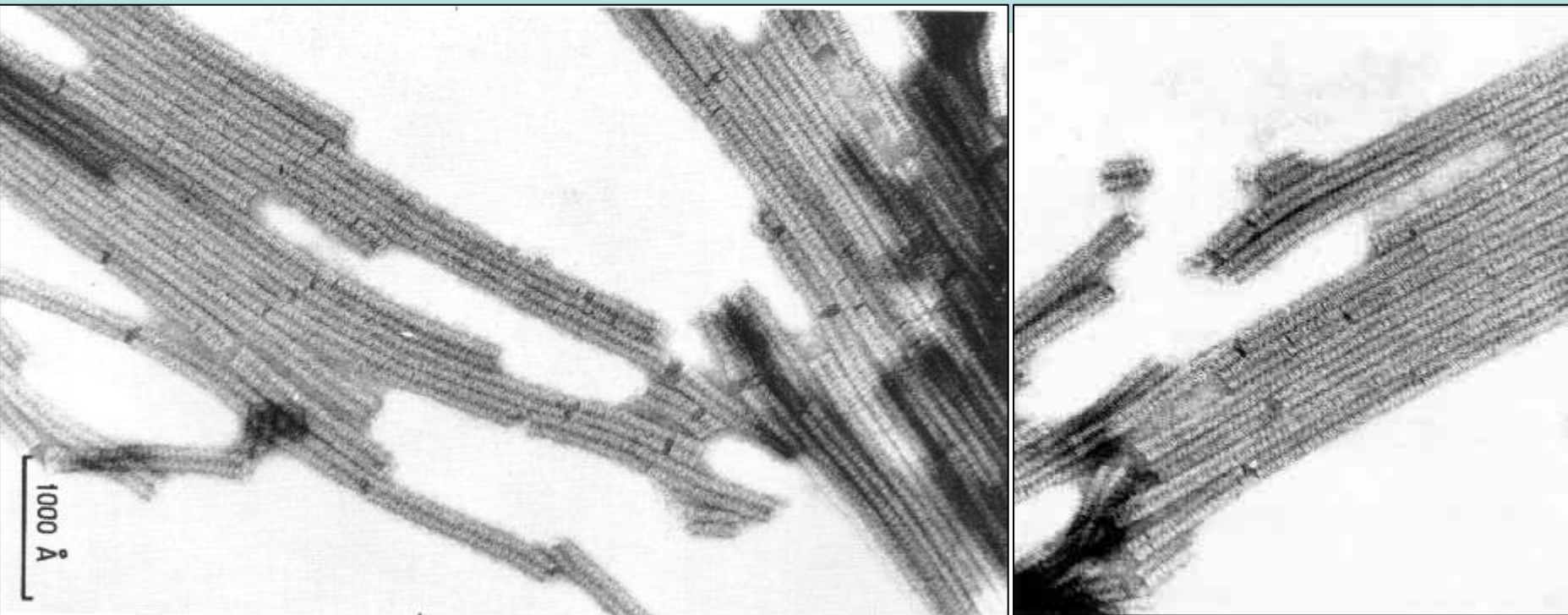


# Структура вируса табачной мозаики (ВТМ)



# СБОРКА ВИРУСО-ПОДОБНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ОТСУТСТВИЕ РНК (белок ВШМЯ).

Kiselev N., DeRosier D., Atabekov J. 1970, *J.Mol. Biol*



**БАКТЕРИОФАГ Т4 *E. coli* (в рамке) и «ТЕНЬ»  
ФАГА ПОСЛЕ ОСМОТИЧЕСКОГО ШОКА И  
ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ДНК.**

