УДК 576.315.42

Искусственные вирусоподобные частицы, полученные *in vitro* из белка оболочки Х-вируса картофеля и чужеродных вирусных РНК

М. В. Архипенко[1], Е. К. Петрова[1], Н. А. Никитин[1], А. Д. Протопопова[2,3], Е. В. Дубровин[3], И. В. Яминский[2,3], Н. П. Родионова[1], О. В. Карпова[1*], И. Г. Атабеков[1,4]

[1]Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

[2]«Центр перспективных технологий», 119311, Москва, ул. Строителей, 4, корп. 5

[3]Физический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

[4]Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40

*E-mail: okar@genebee.msu.su

Поступила в редакцию 21.04.2011 г.

РЕФЕРАТ Х-вирус картофеля (ХВК) и ряд других потексвирусов способны к реконструкции *in vitro* из вирусного белка оболочки и РНК. Белок оболочки потексвирусов способен образовывать вирусные рибонуклеопротеиды (вРНП) не только с гомологичной РНК, но и с гетерологичными нуклеиновыми кислотами. В представленной работе изучены структура и свойства вРНП, полученных *in vitro* при инкубации белка оболочки ХВК с РНК вирусов растений и животных, относящихся к различным таксономическим группам. Показано, что при инкубации с белком оболочки ХВК различных чужеродных (гетерологичных) РНК образуются вРНП, морфологически и по трансляционным свойствам подобные гомологичным вРНП (РНК ХВК – белок оболочки ХВК). Можно предположить, что инициация сборки «смешанных» вРНП *in vitro* так же, как и гомологичных, начинается с 5'-концевого района РНК, и при взаимодействии гетерологичных РНК с белком оболочки ХВК образуется белковая оболочка, сходная по структуре с оболочкой гомологичных частиц. По-видимому, образование *in vitro* гетерологичных вРНП с участием белка оболочки ХВК не зависит от специфической нуклеотидной последовательности 5'-конца РНК, и белок оболочки ХВК способен упаковать чужеродный генетический материал различного размера и состава в вирусоподобные искусственные частицы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА вирусы растений, РНК, вирусные рибонуклеопротеиды, трансляционные свойства.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ХВК – Х-вирус картофеля; вРНП – вирусный рибонуклеопротеид; ТБ – транспортный белок.

ВВЕДЕНИЕ

Белковый капсид многих фитовирусов состоит из идентичных субъединиц белка оболочки, упакованных на основе спиральной симметрии. Геномная вирусная РНК спирально расположена между витками субъединиц белка оболочки и следует их укладке. Важной особенностью ряда вирусов является возможность обратимой диссоциации вирионов на белки оболочки и РНК с последующей самосборкой вирусных рибонуклеопротеидов (вРНП) *in vitro*. В результате удается восстановить структуру и биологическую активность вируса [1, 2]. Самосборка (реполимеризация) низкомолекулярного белка оболочки может происходить и в отсутствие РНК с образованием частиц, по структуре идентичных вирусным, но не ограниченных по длине [3].

Процедура самосборки позволяет получать «смешанные» вРНП, состоящие из вирусного белка оболочки и ряда гетерологичных РНК [4, 5]. Доступность конструирования вирусов, содержащих чужеродные РНК, открывает определенные перспективы применения «смешанных» искусственных вРНП для доставки чужеродных РНК в клетки-мишени и органы растений и, возможно, животных. Вирусы растений удобны для формирования «смешанных» вРНП, по-

скольку они отличаются высокой стабильностью, полной биологической безопасностью (растения и животные не имеют общих патогенов) и низкой себестоимостью процедуры сборки вРНП. Последнее обусловлено исключительно высоким уровнем накопления ряда вирусов в зараженном растении (4–10 г/кг листьев).

Другое преимущество вРНП состоит в возможности контролируемой активации трансляции РНК, инкапсидированной в белок оболочки. Вирусы и «смешанные» вРНП могут структурно изменяться под воздействием ряда факторов (pH, фосфорилирование, присутствие определенных вирус-специфических белков-активаторов).

При конструировании вРНП наиболее предпочтительны спиральные вирусы растений, весьма стабильные в условиях высоких температур, нефизиологических значений pH среды, а также в присутствии гидролитических ферментов. Кроме того, длина спирального вируса зависит от размера нуклеиновой кислоты, что, в отличие от изометрических вирусов, не накладывает жестких ограничений на длину РНК, включаемой в вРНП при сборке *in vitro*. Несколько опережая развитие событий, логично предположить, что модифицированные и «смешанно» реконструированные спиральные вирусы растений могут служить контейнерами для хранения и доставки в клетки «терапевтических» генов и лекарственных средств [3].

Один из представителей фитовирусов со спиральной структурой – Х-вирус картофеля (ХВК), типичный представитель рода *Potexvirus* семейства *Flexiviridae*. Вирионы ХВК представляют собой гибкие нитевидные частицы длиной 515 нм и диаметром 13.5 нм. Вирусная частица содержит около 1350 идентичных субъединиц белка оболочки, упакованных в виде спирали, между оборотами которой заключена вирусная РНК [6]. Оборот первичной спирали ХВК состоит из 8.9 субъединиц белка оболочки. Геном ХВК представлен одноцепочечной «плюс» РНК длиной 6345 н. [7]. Геномная РНК содержит на 5'-конце кеп, а на 3'-конце – поли(А)-последовательность [8]. РНК ХВК кодирует пять белков: вирусную репликазу массой 165 кДа и четыре белка, ответственных за межклеточный и системный транспорт инфекционного материала – три транспортных белка (ТБ1, ТБ2, ТБ3 – продукты «тройного блока генов», с массами 25, 12 и 8 кДа соответственно) и белок оболочки массой 25 кДа [8].

Ранее было показано, что белок оболочки потексвирусов способен *in vitro* образовывать вРНП не только с гомологичной РНК, но и с некоторыми гетерологичными РНК [9, 10].

Цель настоящей работы состояла в изучении особенностей структуры и свойств вРНП, полученных *in vitro* при инкубации белка оболочки ХВК с РНК ряда вирусов растений и животных, принадлежащих к различным таксономическим группам. В качестве гетерологичных РНК использовали РНК потексвирусов (ВМН – вирус мозаики нарцисса, ВАМК – вирус аукуба мозаики картофеля, ВМАльт – вирус мозаики альтернантеры), тобамовируса (ВТМ – вирус табачной мозаики), бромовируса (ВМК – вирус мозаики костра) и пикорнавируса Менго (вирус животных).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выделение препарата ХВК, белка оболочки и РНК ХВК и ТБ1

Препарат ХВК (Русский штамм) выделяли из зараженных растений *Datura stramonium* L. согласно Атабекову и соавт. [11]. Белок оболочки ХВК получали методом солевой депротеинизации [12]. РНК выделяли фенольным методом [13] с некоторыми модификациями. Рекомбинантный белок ТБ1 получен как описано ранее [14].

Получение вРНП *in vitro*

Для получения вРНП смешивали РНК и белок оболочки в весовом соотношении (w/w) РНК : белок оболочки = 1 : 10. Инкубацию проводили в стандартных условиях [15]: в 20 мкл 0.01 М трис-HCl-буфера pH 7.5 при комнатной температуре в течение 20 мин. Реакцию останавливали, добавляя бромфеноловый синий или перенося инкубационную смесь на лед (0°C).

Трансляция *in vitro*

Трансляцию РНК в бесклеточной белоксинтезирующей системе из экстракта зародышей пшеницы проводили, как описано ранее [14], в присутствии ^{35}S-метионина в течение 60 мин при 25°C. Количество РНК в пробе составляло 40 мкг/мкл (в случае РНК вируса Менго – 25 мкг/мкл). Рекомбинантный ТБ1 для трансляционной активации РНК в составе вРНП добавляли в молярном соотношении ХВК : ТБ1 = 1 : 100, т.е. на 1 мкг РНК (20 мкг вируса) 1.4 мкг ТБ1.

Просвечивающая электронная микроскопия

Образцы (15 мкл) сорбировали на медных сетках для электронной микроскопии, покрытых формваровой пленкой (при нанесении пленки использовали 0.5% раствор формвара в дихлорэтане) в течение 15–20 с, после чего образцы на сетках контрастировали 2% раствором уранилацетата и просматривали на электронном микроскопе JEOL JEM-1011 («JEOL», Япония) при 80 кВ. Изображения получали с помощью цифровой камеры Gatan Erlangshen ES500W

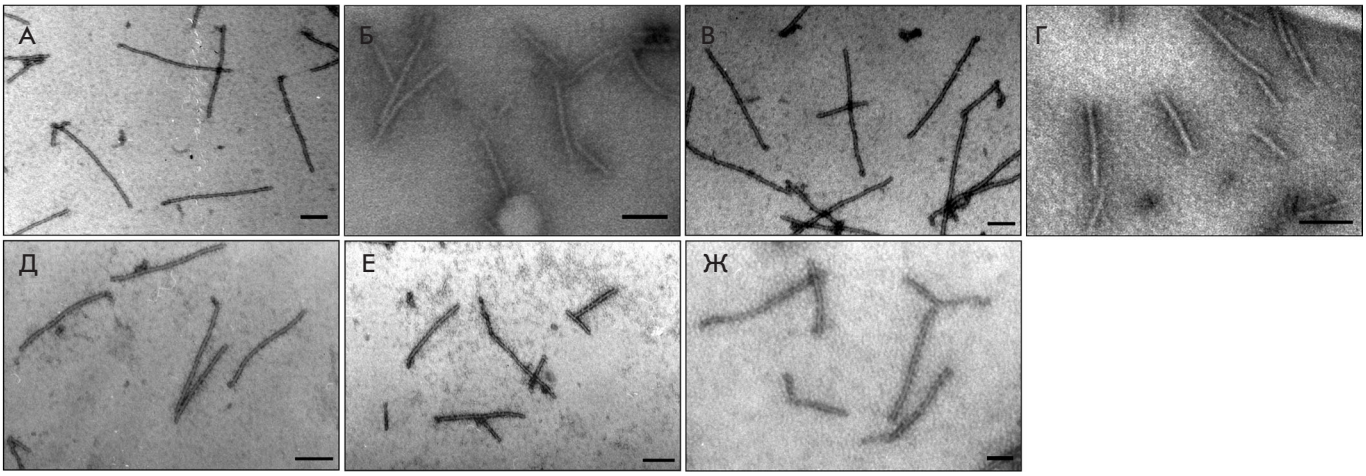

Рис. 1. Электронная микрофотография вРНП, собранных *in vitro* при инкубации белка оболочки ХВК и гомологичной и гетерологичных РНК. *А* – РНК ХВК; *Б* – РНК ВМН; *В* – РНК ВАМК; *Г* – суммарная РНК ВМК; *Д* — РНК вируса Менго; *Е* – РНК ВТМ; *Ж* – РНК ВМАльт. Весовое соотношение РНК : белок оболочки = 1 : 10. Образцы обрабатывали 2% уранилацетатом. Масштабные отрезки 100 нм.

с использованием программного обеспечения «Gatan Digital Micrograph»™.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ)

Сканирование проводили на микроскопах Nanoscope 3a («Digital Instruments», Santa Barbara, США) и SmartSPM («Аист-НТ», Россия) в резонансном режиме на воздухе. Типичная скорость сканирования – 1 Гц. Использовали кантилеверы fpN01S с резонансной частотой 118–190 кГц, жесткостью 5.3 Н/м и гарантированным радиусом закругления иглы 10 нм (НИИФП им. Ф.В. Лукина, Россия). Для обработки и представления АСМ-изображений использовали программу ФемтоСкан Онлайн (ЦПТ, Россия). Для приготовления образцов на свежесколотую слюду или высокоориентированный пиролитический графит на 5–10 мин наносили 5–10 мкл препарата требуемой концентрации. Затем образец 2 раза промывали в капле дистиллированной воды и высушивали на воздухе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом сборки *in vitro* получен ряд вРНП из белка оболочки ХВК и РНК вирусов, принадлежащих к различным таксономическим группам. В качестве гетерологичных использовали РНК вирусов, перечисленных выше: четырех потексвирусов (ХВК, ВМН, ВАМК, ВМАльт), тобамовируса (ВТМ), бромовируса (ВМК, икосаэдрический вирус с функционально фрагментированным геномом) и пикорнавируса Менго (вирус животных). В качестве контроля использовали гомологичную РНК ХВК.

Известно, что белок оболочки ХВК не способен сформировать вирусоподобные агрегаты в отсутствие РНК [16]. Из *рис. 1* следует, что при инкубации белка оболочки ХВК с гетерологичными РНК различных вирусов в соотношении РНК : белок оболочки = 1 : 10 (w/w) в просвечивающем электронном микроскопе (ПЭМ) можно наблюдать частицы (*рис. 1Б–Ж*), морфологически неотличимые от частиц, полученных при реконструкции белка оболочки ХВК с гомологичной РНК ХВК (*рис. 1А*). Ранее мы показали, что гомологичные вРНП «РНК ХВК – белок оболочки ХВК», образованные при инкубации РНК и белка оболочки ХВК, идентичны по своей структуре нативным вирионам ХВК [15].

Морфологию вРНП анализировали с применением высокоразрешающей АСМ. Методом АСМ были исследованы частицы вРНП, содержащие гомологичные и гетерологичные РНК. Изображения вРНП, полученных при инкубации белка оболочки ХВК с гетерологичными РНК (*рис. 2Б–Е*), идентичны изображениям гомологичных вРНП (*рис. 2А*). По данным АСМ средняя высота гомологичного комплекса составила 10.0 ± 0.6 нм, гетерологичных – 9.9 ± 0.9 нм (*рис. 3*). В пределах погрешности эти значения совпадают между собой и соответствуют высоте нативного ХВК (данные не приведены). Как отмечалось выше, диаметр вириона ХВК равен 13.5 нм [6]. Результаты определения высоты гомологичных комплексов методом АСМ согласуются с этой величиной [17]. Однако высота и ширина вирусной частицы, определенные методом АСМ, могут варьировать в зависимости от типа использованного зонда, способа приго-

товления образца и величины силового воздействия. Как правило, при измерениях на воздухе высота вирионов ХВК оказывается заниженной и составляет 10–11 нм. Это связано с тем, что в ходе сканирования зонд микроскопа оказывает давление на образец и слегка сплющивает его [18].

Ранее с применением ПЭМ и АСМ [15] были выявлены «однохвостые частицы» (single tailed particles, STPs) с 3'-концом РНК ХВК, свободным от белка оболочки, и палочковидными «головками», сформированными в результате спиральной упаковки белка оболочки на 5'-концевом фрагменте РНК.

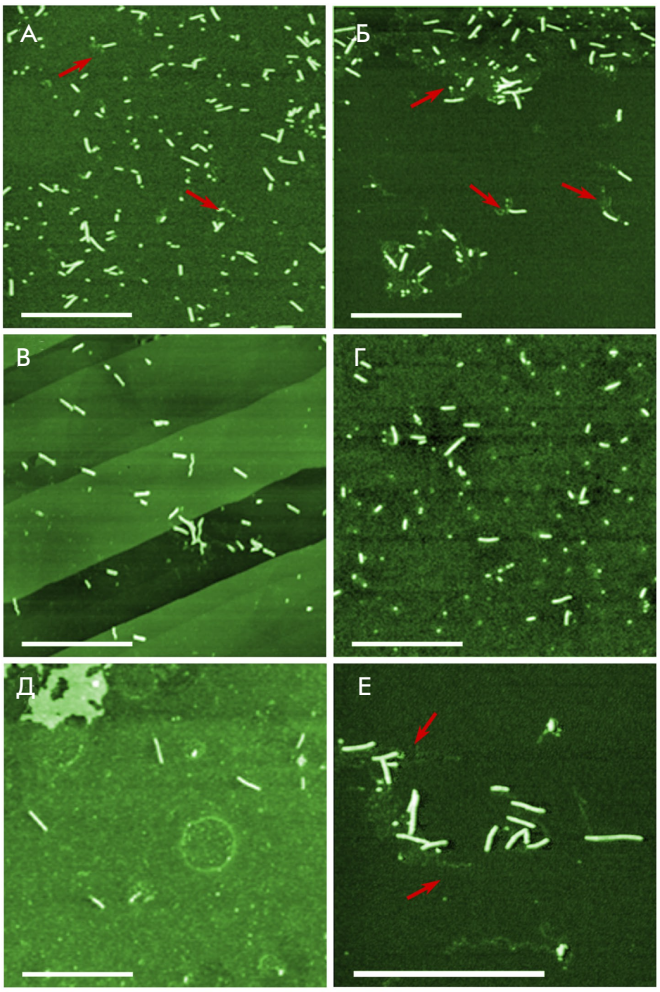

Рис. 2. АСМ-изображения вРНП, собранных *in vitro* при инкубации белка оболочки ХВК с гомологичной и гетерологичными РНК. *А* — РНК ХВК на слюде; *Б* — РНК ВТМ на слюде; *В* — РНК ВМН на графите; *Г* — суммарная РНК ВМК на слюде; *Д* — РНК вируса Менго на слюде; *Е* — РНК ВАМК на слюде. Весовое соотношение РНК : белок оболочки = 1 : 10. Образцы высушивали на воздухе. Частота колебаний консоли 300–350 кГц. Стрелками указаны участки РНК в составе вРНП, свободные от белка оболочки ХВК. Масштабные отрезки 1 мкм.

Соотношение РНК : белок оболочки = 1 : 10 (w/w) в инкубационной смеси при сборке вРНП гарантирует отсутствие избытка свободного белка оболочки на поверхности образцов. С другой стороны, этого количества белка оболочки недостаточно для инкапсидации всей РНК. В результате АСМ выявляет частицы, у которых часть молекулы РНК в составе вРНП остается свободной от белка оболочки (*рис. 2А,Б,Е*). Следует отметить, что свободные «хвосты» РНК имеют не все короткие вРНП (*рис. 2В–Д*). Это может быть следствием гидролиза свободного от белка оболочки 3'-конца РНК рибонуклеазами в растворе или при помещении суспензии частиц на поверхность слюды перед анализом.

В процессе самосборки РНК с вирусным белком оболочки образуется гетерогенный по длине набор вРНП (*рис. 3*). Частицы, содержащие полностью инкапсидированную РНК, не выявлены даже при анализе гомологичного варианта (*рис. 3А*). Длина наиболее полно реконструированных вРНП ХВК достигала 300 нм, в то время как модальная длина нативных вирионов составляет 515 нм. По-видимому, уменьшение длины вРНП обусловлено недостатком белка оболочки в инкубационной среде (соотношение РНК : белок оболочки составляло 1 : 10 вместо 1 : 20, используемого при реконструкции полноразмерных частиц ХВК).

Увеличение количества белка в инкубационной смеси (в расчете на молекулу РНК) приводит к увеличению длины «смешанных» (гетерологичных) частиц. Так при соотношении РНК : белок оболочки = 1 : 10 гетерологичные частицы, образованные после «одевания» белком РНК потексвирусов ВМН, ВАМК и тобамовируса ВТМ, имели среднюю длину 200 нм и были аналогичны по длине вРНП ХВК (*рис. 3А*). Размер РНК этих вирусов сопоставим с размером РНК ХВК. При применении более коротких вирусных РНК (суммарный препарат РНК ВМК состоит из четырех РНК длиной от 800 до 3234 н.) молярное соотношение РНК : белок оболочки уменьшалось, и возрастало количество коротких частиц (80–100 нм) (*рис. 3Б*). С другой стороны, при инкубации с белком оболочки ХВК РНК вируса Менго (8400 н.) молярное соотношение увеличивалось, и средний размер частиц увеличивался до 400–450 нм (*рис. 3В*).

Ранее мы показали, что, в отличие от ВТМ и ряда других вирусов, молекула РНК в составе нативных частиц ХВК и гомологичных «однохвостых» вРНП (РНК ХВК – белок оболочки ХВК) недоступна для трансляции. Однако трансляция РНК активируется при фосфорилировании белка оболочки ХВК

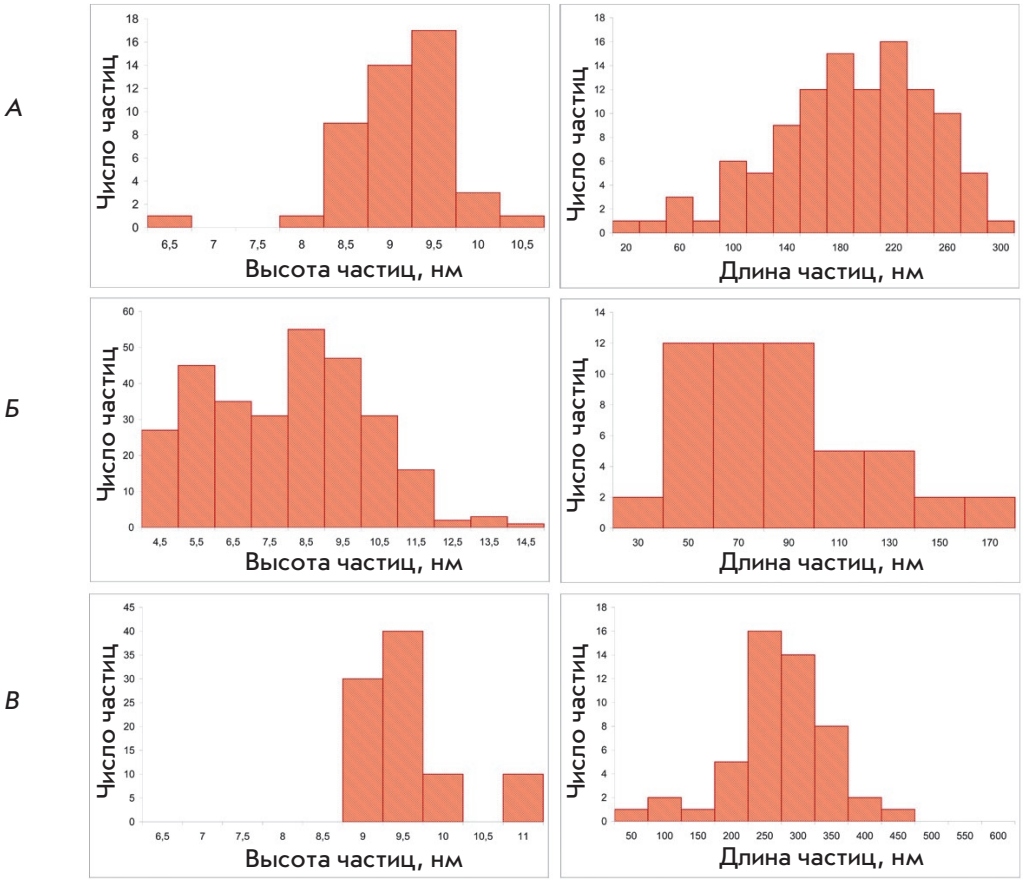

Рис. 3. Гистограммы распределения высоты и длины полученных вРНП, составленные по данным АСМ. Белок оболочки ХВК инкубировали с РНК при весовом соотношении 10 : 1. *А* — РНК ХВК; *Б* — суммарная РНК ВМК; *В* — РНК вируса Менго.

или при образовании комплекса вириона или вРНП с ТБ1 ХВК [11, 15, 19].

В настоящей работе мы изучали трансляционные свойства и специфичность активации трансляции «смешанных» вРНП с применением ТБ1.

В контрольных опытах было показано, что взаимодействие РНК ХВК с белком оболочки ХВК приводит к ингибированию трансляции РНК в составе вРНП по сравнению со свободной РНК (*рис. 4А, 1, 2*). Наблюдаемый фоновый уровень трансляции (*рис. 4А, 2*) можно объяснить присутствием свободной РНК в условиях недостатка белка оболочки при инкубации [15]. При увеличении молярного соотношения РНК : белок оболочки количество свободной РНК уменьшается, и уровень фоновой трансляции падает [15].

С другой стороны, взаимодействие с ТБ1 вРНП, состоящих из гомологичных белков оболочки и РНК, приводит к эффективной активации трансляции инкапсидированной РНК ХВК (*рис. 4А, 1, 3*).

Важно отметить, что аналогичные результаты получены при анализе трансляционной активности гетерологичных РНК в составе вРНП, реконструированных с белком оболочки ХВК (*рис. 4Б–Е*). При добавлении белка оболочки ХВК к РНК при соотношении 10 : 1 (w/w) в инкубационной смеси наблюдается заметное подавление трансляции РНК ВМК (*рис. 4Б, 1, 2*), РНК ВАМК (*рис. 4В, 1, 2*), РНК ВМН (*рис. 4Г, 1, 2*), РНК ВТМ (*рис. 4Д, 1, 2*) и РНК Менго (*рис. 4Е, 1, 2*) в составе вРНП по сравнению с тем же количеством свободной РНК. Если количество белка оболочки увеличить до соотношения РНК : белок оболочки = 1 : 30, то удается добиться практически полного подавления трансляции инкапсидированной РНК. На *рис. 4* представлены результаты для РНК ВМК (*рис. 4Б, 4*), ВМН (*рис. 4Г, 4*) и ВТМ (*рис. 4Д, 4*). При добавлении ТБ1 к «смешанным» вРНП происходит трансляционная активация (*рис. 4Б–Е, 3*), и эффективность трансляции восстанавливается до уровня свободной РНК (*рис. 4Б–Е, 1*). Из *рис. 4* следует, что набор пептидов, образующихся при трансляции РНК в составе ТБ1-активированных вРНП, идентичен продуктам трансляции свободной РНК. Полученные результаты предполагают, что структура белковой оболочки «смешанных» (гетерологичных) и гомологичных вРНП весьма сходна.

Ранее мы показали, что при ТБ1-зависимой активации трансляции РНК в составе вирусных частиц или гомологичных вРНП решающую роль играют белок-белковые взаимодействия белок оболочки–ТБ1 [15, 20]. Основная роль во взаимодействии белка оболочки с ТБ1, по-видимому, принадлежит С-концевой области белка оболочки ХВК [21].

Результаты трансляционной активации гетерологичных РНК в составе «смешанных» искусственных вРНП служат новым доказательством главной роли белка оболочки в этом феномене.

Специфическое узнавание вирусных РНК структурным белком играет ключевую роль в инкапсидации вирусных РНК-геномов при сборке вирусной частицы. В молекулах РНК ряда вирусов растений (ВТМ, ВМК, вируса морщинистости турнепса) идентифицированы сигналы сборки с белком оболочки (origin of assembly, OAS) [22–25]. В частности, показана важность 5'-концевой области геномной РНК в процессах сборки вируса и репликации РНК потексвирусов [26].

Kwon и соавт. [27] идентифицировали участок инициации сборки ХВК *in vitro* в составе 5'-концевого фрагмента РНК ХВК (51–84 н.), образующего структуру в виде «петли со шпилькой» (stem-loop 1, SL1). Кроме того, регуляторные элементы, необходимые для связывания РНК с белком оболочки, локализованы в области 1–107 н. РНК ХВК [28]. Полученные нами результаты анализа трансляционных свойств гетерологичных вРНП позволяют допустить, что инициация сборки гетерологичных вРНП *in vitro* также начинается с 5'-концевого района РНК и продолжается в 5'–3'-направлении. Этот вывод правомерен для РНК потексвирусов (ВМН, ВАМК). Однако сигнал для специфической сборки ВТМ расположен в 3'-концевой области, а у ВМК в инициации сборки играют роль тРНК-подобная 3'-концевая структура и элементы гена полимеразы. РНК вируса Менго (род *Cardiovirus* семейство *Picornaviridae)* длиной 8400 н. содержит на 5'-конце вирус-специфический белок VPg [29], присоединенный к РНК фосфодиэфирной связью, а ее 3'-конец полиаденилирован [30]. Не совсем понятно, какие сайты узнает белок оболочки ХВК при инициации одевания гетерологичных РНК, хотя, исходя из результатов трансляционной активации, наиболее вероятно, что одевание начинается с 5'-конца. Особенно удивительно, что трансляция РНК вируса Менго, которая имеет внутренний сайт инициации трансляции, также ингибируется при связывании с белком оболочки ХВК и активируется при добавлении ТБ1. Таким образом, можно думать, что инициация образования вРНП определяется белком, по крайней мере, в случае белка оболочки ХВК и, вероятно, белка оболочки вируса мозаики папайи по данным Abouhaidar и Bancroft [31]. Сборка белка оболочки ХВК и гетерологичных РНК начинается с участков, значительно отличающихся по локализации и составу от сайтов инициации сборки в том случае, когда РНК взаимодействует с собственным белком.

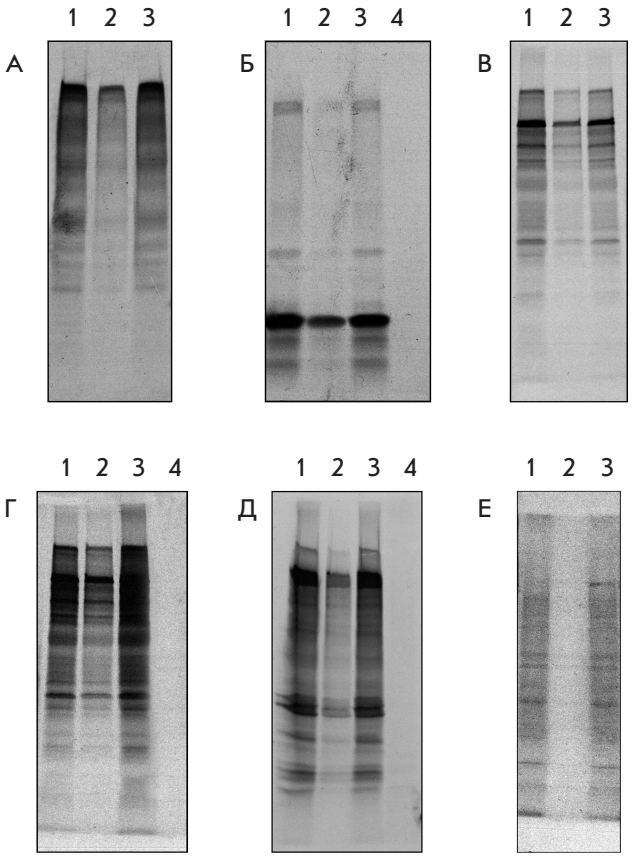

Рис. 4. Трансляционная активация РНК в составе вРНП *in vitro*. вРНП образованы при инкубации белка оболочки ХВК с гомологичной и гетерологичными РНК при весовом соотношении 10 : 1, за исключением дорожки *4* на частях *Б*, *Г*, *Д*, где соотношение белок оболочки : РНК = 30 : 1. Электрофоретический анализ в 8–20% денатурирующем полиакриламидном геле меченных ^{35}S продуктов трансляции в экстракте из зародышей пшеницы. *А* — РНК ХВК; *Б* — суммарная РНК ВМК; *В* — РНК ВАМК; *Г* — РНК ВМН; *Д* — РНК ВТМ; *Е* — РНК вируса Менго. *1* — РНК; *2* — РНК + белок оболочки ХВК; *3* — (РНК + белок оболочки ХВК) + ТБ1 ХВК.

Можно предположить, что в условиях нашего эксперимента белок оболочки ХВК узнает не специфическую нуклеотидную последовательность в молекуле РНК, а определенную структуру 5'-концевого района РНК, инициирующую образование вРНП.

ВЫВОДЫ

Показано, что при инкубации с белком оболочки ХВК различных чужеродных гетерологичных РНК *in vitro* образуются вРНП, которые по своей морфологии и трансляционным свойствам подобны гомологичным вРНП (РНК ХВК – белок оболочки ХВК). Можно предположить, что при взаимодействии гетерологичных РНК с белком оболочки ХВК образуется белковая оболочка, сходная по структуре с оболочкой гомологичных частиц. По-видимому, образование гетерологичных вРНП *in vitro* с участием белка оболочки ХВК инициируется на 5'-конце молекулы РНК и не зависит от специфической нуклеотидной последовательности 5'-концевого района РНК. В результате белок оболочки ХВК способен упаковать чужеродный генетический материал различного размера в вирусоподобную искусственную частицу. В составе вРНП гетерологичная РНК так же, как и гомологичная, недоступна для рибосом. Однако она становится трансляционно активной при инкубации полученных вРНП с ТБ1 ХВК. Связывание ТБ1 с одним из концов вириона ХВК индуцирует конформационные изменения в терминальных субъединицах белка оболочки, что приводит к дестабилизации (ремоделированию) и переходу белковой спирали в метастабильное состояние. Последующая ТБ1-зависимая трансляционная разборка частиц ХВК происходит быстро и, вероятно, кооперативно с высвобождением свободной РНК и субъединиц белка на ранних стадиях трансляции [20]. Весьма вероятно, что подобный механизм реализуется в описанных выше примерах трансляционной активации «смешанных» вРНП с участием ТБ1.

Белки оболочки вирусов растений со спиральной структурой в перспективе, вероятно, могут применяться для создания и введения в органы-мишени искусственных «гибридных» наночастиц (вРНП), способных разбираться *in vivo* под контролем различных факторов. ●

Работа частично поддержана грантами РФФИ (№ 10-04-000-89а) и Министерства образования и науки РФ (ГК № 02.740.11.0789). Выражаем благодарность компании AIST-NT и лично М. Савватееву за анализ образцов методом АСМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Butler P.J.G. // Philos. Trans. R. Soc. London. B. 1999. V. 354. P. 537.
2. Klug A. // Philos. Trans. R. Soc. London B. 1999. V. 354. P. 531.
3. Атабеков И.Г. // Российские нанотехнологии. 2008. Т. 3. № 1–2. С. 130–139.
4. Atabekov J.G., Novikov K., Vishnichenko K., Kaftanova A.S. // Virology. 1970. V. 41. P. 519.
5. Fraenkel-Conrat H., Singer B. // Philos. Trans. R. Soc. London. B. 1999. V. 354. P. 583.
6. Tollin P., Wilson H.R. // The Filamentous Plant Viruses in the Plant Viruses 4 / Ed. Milne R.C. New York: Plenum Press, 1988. P. 51–83.
7. Skryabin K.G., Morozov S.Yu., Kraev A.S., Rozanov M.N., Chernov B.K., Lukasheva L.I., Atabekov J.G. // FEBS Lett. 1988. V. 240. P. 33–40.
8. Morozov S.Yu., Miroshnichenko N.A., Zelenina D.A., Fedorkin O.N., Solovyev A.G., Lukasheva L.I., Karasev A.V., Dolja V.V., Atabekov J.G. // J. Gen. Virol. 1991. V. 72. P. 2039–2043.
9. Новиков В.К., Кимазев В.З., Атабеков И.Г. // ДАН. 1972. Т. 204. С. 1259–1262.
10. Erickson J.W., Bancroft J.B. // Virology. 1978. V. 90. P. 60–66.
11. Atabekov J.G., Rodionova N.P., Karpova O.V., Kozlovsky S.V., Poljakov V.Y. // Virology. 2000. V. 271. № 2. P. 259–263.
12. Goodman R.M., Horne R.W., Hobart J.M. // Virology 1975. V. 68. P. 299–308.
13. Fraenkel-Conrat H., Singer B., Tsugita A. // Virology. 1961. V. 14. P. 54–58.
14. Karpova O.V., Ivanov K.I., Rodionova N.P., Dorokhov Yu.L., Atabekov J.G. // Virology. 1997. V. 230. P. 11–21.
15. Karpova O.V., Zayakina O.V., Arkhipenko M.V., Sheval E.V., Kiselyova O.I., Poljakov V.Yu., Yaminsky I.V., Rodionova N.P., Atabekov J.G. // J. Gen. Virol. 2006. V. 87. № 9. P. 2731–2740.
16. Kaftanova A.S., Kiselev N.A., Novikov V.K., Atabekov J.G. // Virology. 1975. V. 65. P. 283–287.
17. Kiseleva O.I., Yaminsky I.V., Karpova O.V., Rodionova N.P., Kozlovsky S.V., Arkhipenko M.V., Atabekov J.G. // J. Mol. Biol. 2003. V. 332. № 2. P. 321–325.
18. Никитин Н.А., Сушко А.Д., Архипенко М.В., Родионова Н.П., Карпова О.В., Яминский И.В. // Коллоидн. журн. 2011. Т. 73. № 4. С. 512–519.
19. Карпова О.В., Архипенко М.В., Заякина О.В., Никитин Н.А., Киселева О.И., Козловский С.В., Родионова Н.П., Атабеков И.Г. // Молекуляр. биология. 2006. Т. 40. № 4. С. 703–710.
20. Rodionova N.P., Karpova O.V., Kozlovsky S.V., Zayakina O.V., Arkhipenko M.V., Atabekov J.G. // J. Mol. Biol. 2003. V. 333. № 3. P. 565–572.
21. Zayakina O., Arkhipenko M., Kozlovsky S., Nikitin N., Smirnov A., Susi P., Rodionova N., Karpova O., Atabekov J. // Mol. Plant. Pathol. 2008. V. 9. № 1. P. 37–44.
22. Butler P.J. // J. Gen. Virol. 1984. V. 65. № 2. P. 253–279.
23. Choi Y.G., Rao A.L. // J. Virol. 2003. V. 77. № 18. P. 9750–9757.
24. Miller E.D., Plante C.A., Kim K.H., Brown J.W., Hemenway C. // J. Mol. Biol. 1998. V. 284. № 3. P. 591–608.
25. Qu F., Morris T.J. // J. Virol. 1997. V. 71. № 2. P. 1428–1435.
26. Sit T.L., Leclerc D., AbouHaidar M.G. // Virology. 1994. V. 199. № 1. P. 238–242.
27. Kwon S.J., Park M.R., Kim K.W., Plante C.A., Hemenway C.L., Kim K.H. // Virology. 2005. V. 334. № 1. P. 83–97.
28. Lough T.J., Lee R.H., Emerson S.J., Forster R.L., Lucas W.J. // Virology. 2006. V. 351. № 2. P. 455–465.
29. Lee Y.F., Nomoto A., Detjen B.M., Wimmer E. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. № 1. P. 59–63.
30. Yogo Y., Wimmer E. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1972. V. 69. № 7. P. 1877–1882.
31. Abouhaidar M.G., Bancroft J.B. // Virology. 1980. V. 107. № 1. P. 202–207.