

Структурные особенности нуклеопротеиновых частиц вируса гриппа А/Н3N2 дикого типа и его холодоадаптированного штамма по данным малоуглового рассеяния

Егоров В.В.^{1,5}, , Радулеску А.², Шалджян А.А.⁵, Горшков А.Н.⁵, Забродская Я.А.⁵, Сергеева М.В.⁵, Куклин А.И.^{3,4}, Плотникова М.А.⁵, Комиссаров А.Б.⁵, Некрасов П.А.⁵, Клотченко С.А.⁵, Васин А.В.^{5,6}, Исаев-Иванов В.В.¹, Цыбалова Л.М.⁵, Лебедев Д.В.¹

¹НИЦ Курчатовский институт, ОМРБ ФГБУ ПИЯФ, Гатчина, Россия
²Jülich Centre for Neutron Science, Munich, Germany
³Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
⁴Московский физико-технический институт (государственный университет), Научно-образовательный центр «Бионанофизика», Долгопрудный, Россия
⁵ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия
⁶Институт прикладной математики и механики Санкт-Петербургского государственного политехнического университета, Санкт-Петербург, Россия

Белок NP является одним из восьми структурных белков вируса гриппа. В составе РНК-белкового комплекса он принимает участие как в упаковке генетического материала вируса, так и в репликации. В вакцинном штамме, полученном в процессе холодовой адаптации вируса гриппа А/Н3N2/НК/68, была обнаружена аминокислотная замена E292G. Можно предположить, что наличие такой замены влияет на структуру рибонуклеинового комплекса при различных температурах.

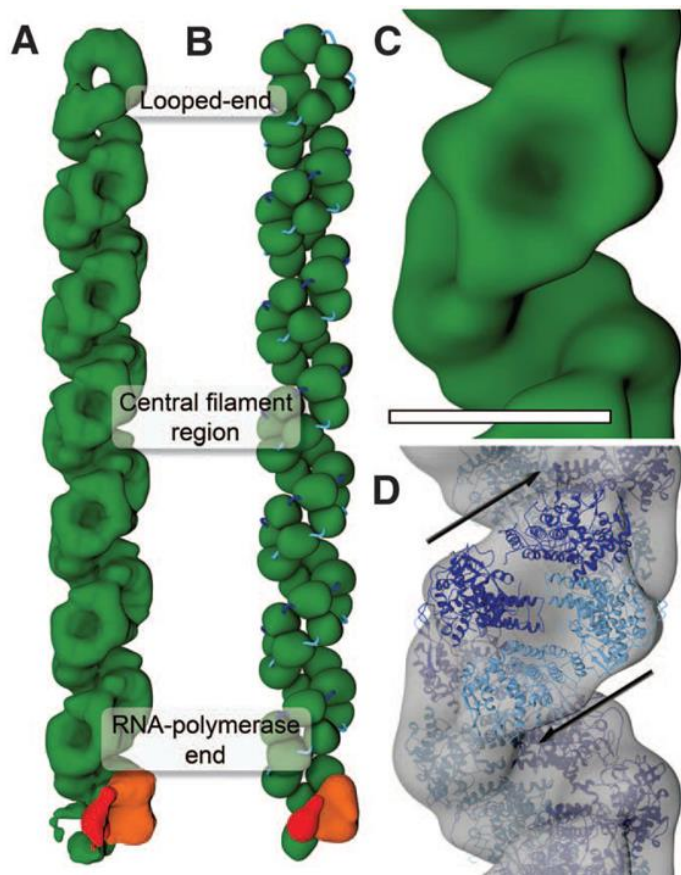


Рисунок 2. Структура нуклеопротеинового комплекса вируса гриппа А (по Science. 2012 Dec 21; 338(6114):1631-4. doi: 10.1126/science.1227270)

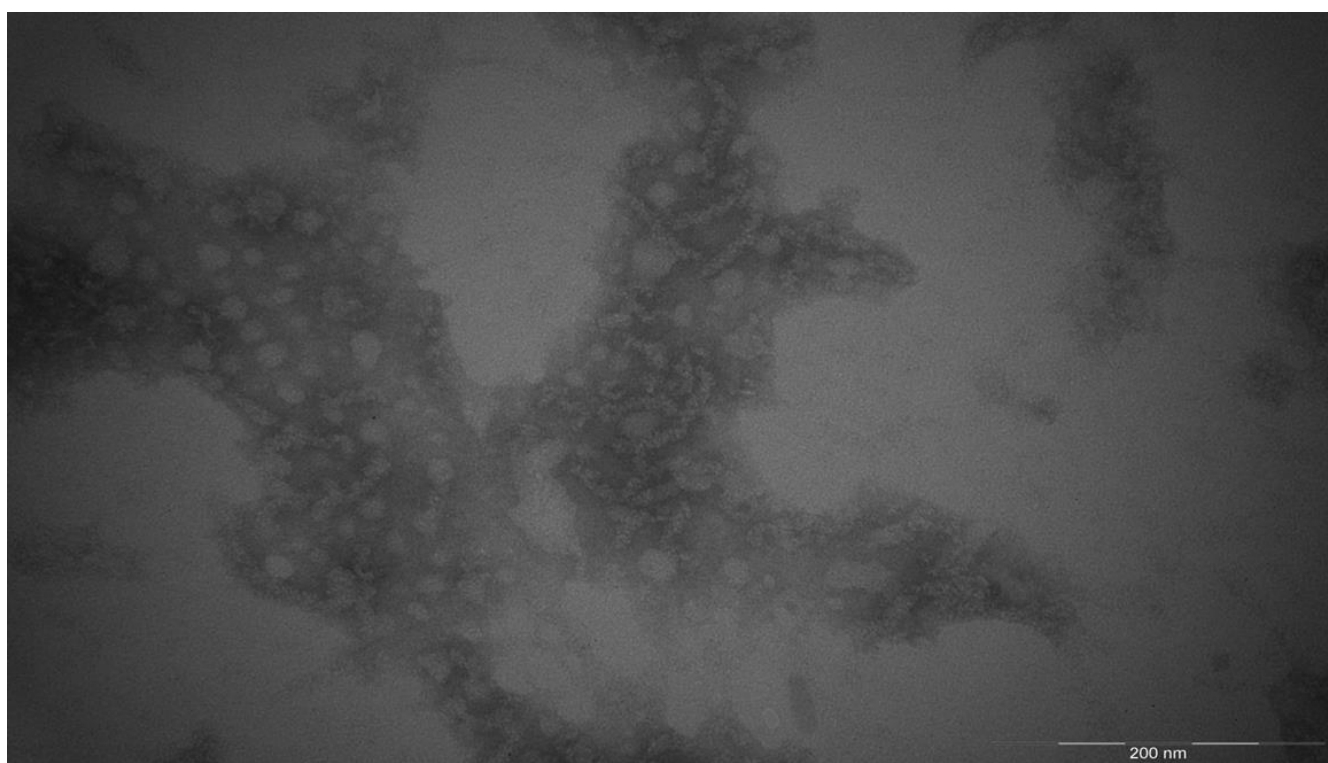


Рисунок 3. Электронная микроскопия нуклеопротеинового комплекса вируса гриппа А

Методами малоуглового рентгеновского и нейтронного рассеяния было показано, что в диапазоне температур от 15 до 37°C структуры рибонуклеиновых частиц вирусов гриппа штаммов, основанных на А/НК/68, - как нормального, так и холодоадаптированного, - претерпевают значительные изменения.

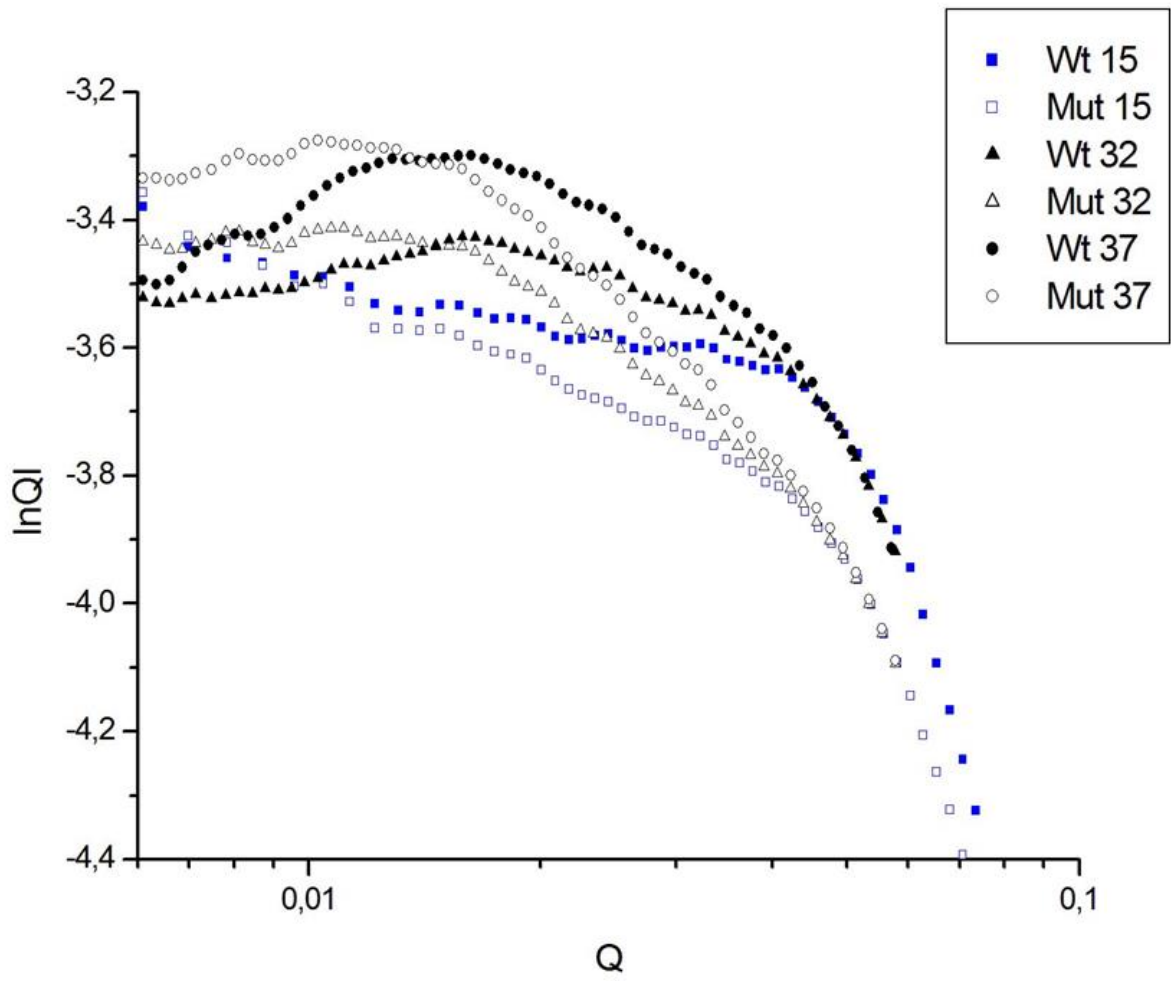


Рисунок 5. Результаты МУРН мутантного и нормального нуклеопротеинового комплекса вируса гриппа А при 15°C, 32°C и 37°C

Полученные данные свидетельствуют о возможности применения метода МУРН для изучения структуры нуклеопротеинового комплекса вируса гриппа А, что особенно важно при изучении штаммов вируса гриппа, по-разному ведущих себя в организмах с различной температурой тела. Кроме того, методы малоуглового рентгеновского и нейтронного рассеяния могут быть применены при изучении искусственной холодовой адаптации вирусов, связанной с аминокислотными заменами в NP, проводимой при создании новых вакцин.

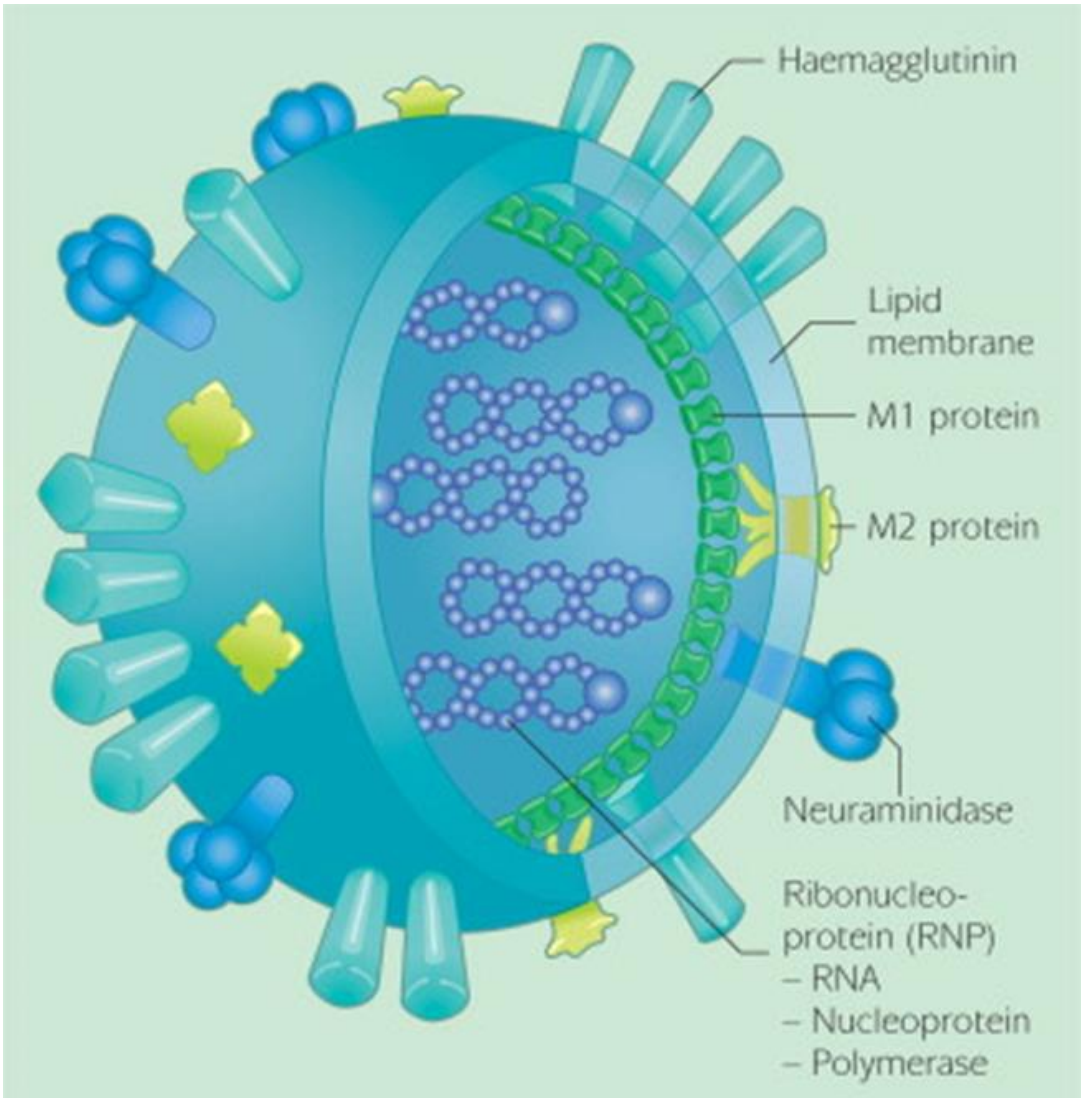


Рисунок 1. Структура вируса гриппа А

(no <http://www.rapidreferenceinfluenza.com/chapter/B978-0-7234-3433-7.50009-8/aim/influenza-virus-structure>)

При 15°C данные МУР могут быть интерпретированы в рамках модели сильно вытянутых частиц с поперечным радиусом гирации около 40 Å для обычного и 50 Å для холодоадаптированного штамма. Эти результаты близки к структуре двойной спирали комплекса NP из вируса гриппа H1N1, предложенной ранее рядом авторов по данным криоэлектронной микроскопии.

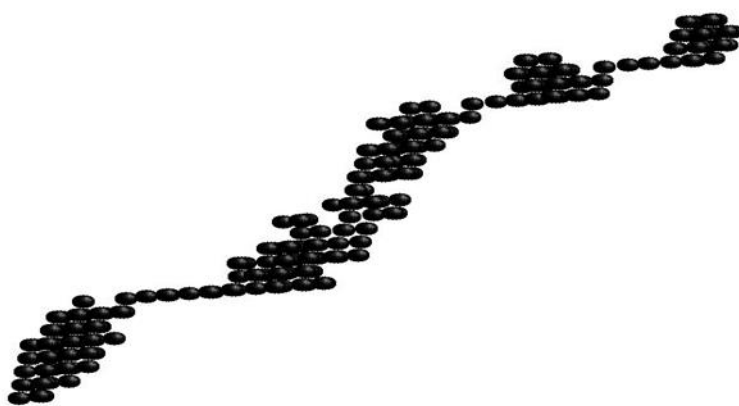


Рисунок 4. Результаты *Ab initio* реконструкции расположения рассеивающих центров нуклеопротеинового комплекса вируса гриппа А при 15 °C (D. I. Svergun (1999) Restoring low resolution structure of biological macromolecules from solution scattering using simulated annealing. Biophys J. 2879-2886)

Повышение температуры с 15 до 32 и 37°C приводит к значительным изменениям в спектрах МУРН, при этом наблюдаются заметные отклонения от закона Гинье в малых углах, что, вероятнее всего, обусловлено возросшей полидисперсностью рибонуклеиновых частиц. На основании анализа данных МУРН с использованием методов *ab-initio* восстановления формы частиц можно предположить, что рибонуклеопротеиновые комплексы Н3N2 имеют тенденцию к диссоциации в отдельные спиралевидные филаменты, что частично подтверждается измерениями с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Различия в спектрах МУРН рибонуклеиновых частиц нормального и холодоадаптированного штаммов, наблюдаемые при 32 и 37°C, указывают на роль мутации холодовой адаптации в стабильности комплексов NP.