

## АРХИТЕКТУРА СФЕРИЧЕСКИХ ВИРУСОВ

© 2002 г.

В. А. КОСТЮЧЕНКО,

В. В. МЕСЯНЖИНОВ

*Институт биоорганической химии  
им. М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

I. Введение. II. Простейшие капсиды содержат одну полипептидную цепь в асимметричной ячейке. III. Сложные вирусы содержат в асимметричной ячейке более чем одну полипептидную цепь. IV. Капсиды пикорнавирусов. V. Роль вспомогательных белков в формировании сложных капсидов. VI. Сведения о структуре вирусов важны для разработки новых противовирусных препаратов. VII. Заключение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

Изучение структуры вирусов и особенностей их формирования необходимо для разработки новых подходов в борьбе с вирусными инфекциями. Кроме того, вирусы являются удобной экспериментальной модельной системой для изучения механизмов ассоциации субъединиц белков и формирования сложных биологических структур клетки, таких как жгутики, ядерные поры, центриоли, компоненты мышечных филаментов.

Вирусная частица (вирион) обычно содержит одну молекулу генома, которая представлена одним типом нуклеиновой кислоты — одно- или двунитевой ДНК у одних, или РНК у других. В то же время у некоторых вирусов, например, у вирусов гриппа, геном сегментирован и содержит несколько молекул РНК, кодирующих индивидуальные белки. Белковая оболочка, окружающая геном вируса, называется капсидом; капсид построен либо из идентичных субъединиц, продуктов одного вирусного гена, либо из капсомеров — ассоциаций нес-

---

*Принятые сокращения:* СВНТ — сателлитный вирус некроза табака; ВККТ — вирус кустистой карликовости томатов; ВТМ — вирус табачной мозаики.

Данная работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (02-04-50012) и Howard Hughes Medical Institute (55000324).

*Адрес для корреспонденции:* e-mail: kvic@molbio.siobc.ras.ru; vvm@ibch.ru

кольных белков, являющихся продуктами одного или нескольких генов. Внутри капсида может находиться еще один слой белка — нуклеокапсид, непосредственно окружающий геном. Многие вирусы животных содержат также внешнюю липидную оболочку, заимствованную из клеточной или ядерной мембраны хозяйской клетки, в которую встроены вирусные белки. Капсид и липидная оболочка защищают геном от воздействия внешней среды и обеспечивают его доставку в клетку.

Несмотря на морфологическое разнообразие вирусов, этапы их воспроизведения сходны. Во-первых, геном вируса, иногда вместе со вспомогательными вирусными белками, должен проникнуть в хозяйскую клетку. При этом белки вириона распознают специфические рецепторы на поверхности клетки, обеспечивают прикрепление вирусной частицы и последующее введение вирусного генома. Во-вторых, после введения генома, биосинтетические машины клетки перестраиваются на производство вирусных белков и нуклеиновых кислот. И, наконец, из синтезированных компонентов осуществляется сборка новых вирусных частиц. Затем они покидают клетку, которая при этом часто разрушается.

Вирусы имеют различные размеры и форму (рис. 1). Ряд вирусов, как например, бактериофаг (вирус бактерий) Т4, инфицирующий *Escherichia coli*, имеют очень сложное строение и содержат несколько структурных элементов, таких, как фибриллы, отвечающие за распознавание клетки-хозяина и сократимый хвост, обеспечивающий инъекцию вирусной ДНК в клетку. Сложность строения вируса обычно пропорциональна размеру его генома, который варьирует от сотен до сотен тысяч пар оснований, кодируя от нескольких до сотен различных белков. Так, фаг Т4 содержит в геноме около 230 генов [17], тогда как геном сателлитного вируса некроза табака (СВНТ) кодирует всего лишь один белок [28].

Капсидам вирусов свойственны два основных типа архитектуры. Это — палочковидная, как например у вируса табачной мозаики (ВТМ), где капсид построен из упакованных по спирали идентичных субъединиц белка, взаимодействующих с геномной РНК по всей длине частицы (рис. 1 а), и сферическая с икосаэдрическим типом симметрии (рис. 1 б, в).

Икосаэдр имеет 20 идентичных граней, каждая из которых является равносторонним треугольником, 12 вершин, и обладает осями симметрии 5, 3 и 2 порядка (симметрия типа 532, рис. 2 а). Икосаэдр имеет 6 осей симметрии 5 порядка, проходящих через вершины, 10 осей симметрии 3 порядка, проходящих через середину каждой грани, и 15 осей симметрии 2 порядка, проходящих через середины ребер. Крик и Уотсон впервые рассчитали, что для построения сферы с

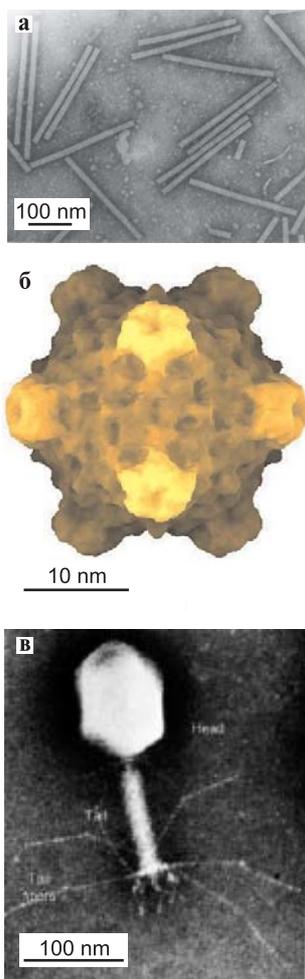


Рис. 1. Примеры трех типов строения вирусных частиц.  
 а) Палочкообразный спиральный капсид — ВТМ.  
 б) Изометричный икосаэдрический капсид — бактериофаг phiX174.  
 в) Сложный капсид, построенный на основе удлинения икосаэдра — бактериофаг Т4.

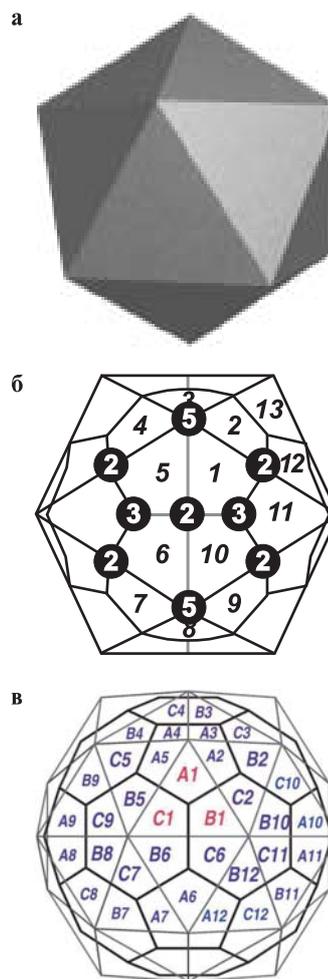


Рис. 2. Симметрия регулярного икосаэдра и числа триангуляции Т.  
 а) Икосаэдр, внешний вид.  
 б) Икосаэдр, разделенный на асимметрические ячейки с  $T = 1$ . Указаны оси вращательной симметрии 2, 3 и 5 порядка.  
 в) Икосаэдр с  $T = 3$ . Показаны грани икосаэдра и вписанного в него додекаэдра, грани которого образованы пентамерами и гексамерами асимметричных участков частицы икосаэдра.

симметрией типа 532 необходимо как минимум 60 субъединиц белка, каждая из которых будет находиться в идентичном окружении с соседями (асимметричная ячейка), и ни одна из них не будет совпадать с осями симметрии [8], (рис. 2 б). Асимметричной ячейкой (или асимметричной частью) называется такой участок поверхности икосаэдра, который не содержит в себе осей симметрии икосаэдра. Таких асимметричных участков должно быть 60 — по числу осей симметрии в икосаэдре. Асимметричная часть может содержать молекулы, симметричные друг другу, но оси этих симметрий не должны совпадать с осями симметрии икосаэдра.

В настоящее время с помощью рентгеноструктурного анализа кристаллов вирионов установлены детали строения многих сферических вирусов на атомном уровне. Кроме того, развитие новых методов электронной криомикроскопии позволяет изучать особенности структуры вирусов с высоким разрешением. При криомикроскопии образец заключен в тонкий слой аморфного льда, что позволяет проводить изучение препарата без использования дополнительных контрастирующих агентов при минимальных дозах облучения. В настоящее время с помощью криомикроскопии достигнуто разрешение ниже 10 Е [4, 6, 9], что является принципиально важным этапом в микроскопии, поскольку выше данного разрешения можно идентифицировать некоторые элементы структуры белка, такие, например, как кластеры альфа-спиралей [6] и даже проследить детали хода полипептидной цепи [4]. Кроме того, криомикроскопия позволяет изучать динамику формирования и конформационные изменения капсомеров в процессе созревания вирионов, и, кроме того, позволяет проводить в высоком разрешении трехмерную реконструкцию интермедиатов [7].

## **II. ПРОСТЕЙШИЕ КАПСИДЫ СОДЕРЖАТ ОДНУ ПОЛИПЕПТИДНУЮ ЦЕПЬ В АСИММЕТРИЧНОЙ ЯЧЕЙКЕ**

В 1956 г. Френсис Крик и Джеймс Уотсон постулировали, что геномы вирусов, вследствие небольшого размера, не могут кодировать много белков, и поэтому их капсиды должны строиться преимущественно из множества копий одного или нескольких типов белков [8]. Капсиды вирусных частиц имеют регулярные геометрические формы, несмотря на то, что молекулы белков, из которых они построены, асимметричны. Каким же образом удается сформировать такие структуры? Исходя из геометрических построений, Крик и Уотсон заключили, что молекулы белка при эквивалентных (идентичных) взаимодействиях друг с другом должны формировать сферу с элементами кубической симметрии. Позднее было подтверждено что, в архитек-

туре сферических вирусов доминирует один из типов симметрии — икосаэдрическая, а капсид простейших сферических вирусов является икосаэдром, построенным на основе эквивалентных взаимодействий идентичных субъединиц белка.

Примером простейшего сферического вируса, капсид которого построен из 60 идентичных мономеров белка, является сателлитный вирус некроза табака (СВНТ). Небольшая геномная РНК СВНТ кодирует только один белок, содержащий 195 аминокислотных остатков [28]. СВНТ не может размножаться без помощника — вируса некроза табака, обеспечивающего репликативные функции, которые геном СВНТ не кодирует, например, вирусную полимеразу [2]. Строе-ние СВНТ было изучено с помощью рентгеноструктурного анализа с разрешением в 2,5 Е группой Бро Страндберга в Швеции [16]. Как и ожидалось, капсид вируса обладает строгой икосаэдрической симметрией, а в асимметричной ячейке расположена одна полипептидная цепь белка (рис. 3 а). Субъединицы СВНТ формируют тесные контакты на поверхности частицы вблизи осей симметрии 5-го порядка. (рис. 3 б). На внутренней стороне капсида субъединицы образуют контакты по осям симметрии 3-го порядка. Все эти контакты формируют «каркас», прочно связывающий все субъединицы капсида. Внешний диаметр капсида СВНТ составляет примерно 180 Е, а внутренний — около 125 Е. Подобный принцип простой архитектуры свойственен также и представителям рода *Parvovirus* — парвовирусам, небольшой геном которых содержит однонитевую ДНК. Парвовирусы являются патогенами млекопитающих, включая человека. Капсид парвовирусов имеет диаметр около 255 Е и также построен из 60 копий одного белка (рис. 3 в).

### **III. СЛОЖНЫЕ ВИРУСЫ СОДЕРЖАТ В АСИММЕТРИЧНОЙ ЯЧЕЙКЕ БОЛЕЕ ЧЕМ ОДНУ ПОЛИПЕПТИДНУЮ ЦЕПЬ**

Объем икосаэдра СВНТ, построенного из 60-ти идентичных копий белка, достаточен для упаковки небольшого генома РНК, кодирующего только один полипептид, а геном большего размера в нем не поместится. Геномы более сложных и самостоятельно реплицирующихся вирусов имеют значительно большие размеры чем геном СВНТ. Каким образом можно построить более вместительный капсид при ограничениях, накладываемых икосаэдрической симметрией? Увеличение молекулярного веса субъединиц белка дает небольшой прирост объема сферы, т.к. по мере увеличения размера субъединиц растет толщина слоя белка в капсиде. Данная проблема решается за счет увеличения числа субъединиц в асимметричной ячейке — это позво-

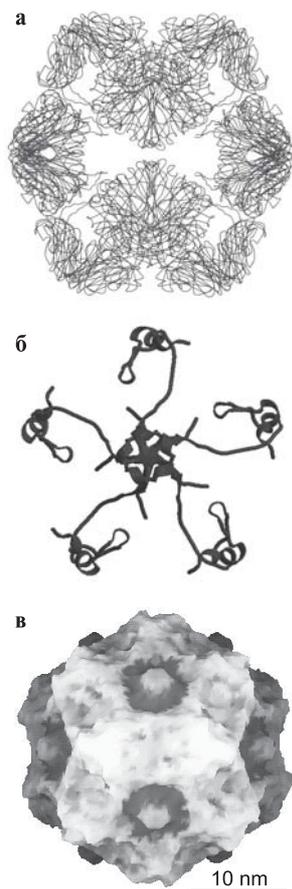


Рис. 3. Вирусы с  $T = 1$ .

- а) СВНТ, схематичное изображение расположения полипептидных цепей в капсиде, ориентация осей симметрии как показано на рис. 2 б.
- б) Пентамер белка капсида СВНТ, вид вдоль оси симметрии 5-го порядка.
- в) Частица парвовируса, трехмерная реконструкция по данным электронной микроскопии.

ляет из относительно небольших субъединиц белка строить сравнительно тонкие капсомеры, которые позволяют существенно увеличить внутренний объем капсида. При 60 асимметричных ячейках общее количество субъединиц белка в капсиде должно быть кратно 60-ти. Практика показывает, что субъединицы капсомеров могут быть как одинаковыми — продуктами одного гена, так и различными, когда капсомеры состоят из нескольких различных белков.

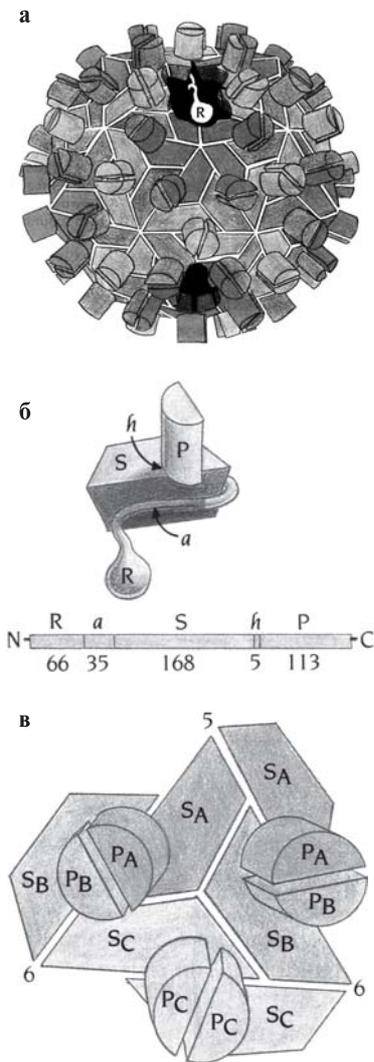
Любое ли количество идентичных субъединиц может быть заключено в асимметричной ячейке при условии сохранения симметрии икосаэдра? Ответ на этот вопрос дали в 1962 году Дон Каспар и Аарон Круг [5]. Они постулировали возможность квазиэквивалентной упаковки идентичных элементов в структуре изометричных вирусов и определили возможные типы икосаэдров в терминах структурных единиц — чисел триангуляции  $T$ . Формально число  $T$  означает количество субъединиц в асимметричной ячейке икосаэдра; таким образом каждая грань икосаэдра должна содержать  $3T$  субъединиц. Значения  $T$  могут быть 1, 3, 7, 13, 19, 21, 31 и т.д., — их возможные значения можно определить с помощью формулы  $T = h^2 + hk + k^2$ , где  $h$  и  $k$  — натуральные числа. С увеличением  $T$  увеличивается размер и объем капсида. Каждый капсид вируса содержит  $60T$  субъединиц, представленных 12 пентамерами и  $10Ч(T - 1)$  гексамерами.

Таким образом, у рассмотренных выше капсидов СВНТ и парвовирусов  $T = 1$  (рис. 3). Каспар и Круг пришли к заключению, что икосаэдрический капсид с  $T > 1$  невозможно построить из субъединиц белка строго эквивалентным образом,

поскольку в таких структурах взаимодействие белковых субъединиц внутри асимметричной ячейки будет отличаться от взаимодействий на границах капсомера [5]. Однако упаковка белка возможна при допущении незначительно отличающихся (или квазиэквивалентных) взаимодействий субъединиц. При квазиэквивалентной упаковке субъединицы белка или ассоциации субъединиц должны проявлять конформационный полиморфизм и формировать различные типы олигомеров в соответствии с положением субъединицы капсомера относительно осей симметрии икосаэдра. Концептуальная основа квазиэквивалентности в сборке вирусных капсидов – способность одного типа субъединиц формировать как гексамеры так и пентамеры. Каспар и Клуг постулировали, что идентичные субъединицы можно разместить вокруг как осей симметрии 5-го порядка, так и псевдосимметрии 6-го порядка с незначительными отклонениями взаимодействий за счет конформационной гибкости участка белка, как молекулярного переключателя, помогающего подстроить структуру субъединицы под требуемое взаимодействие.

Как пример капсида с квазиэквивалентной организацией мы рассмотрим упаковку субъединиц ВККТ с  $T = 3$ . В структуре  $T = 3$ , имеющей 180 субъединиц (3Ч60), каждая асимметричная ячейка содержит три идентичные субъединицы — А, В, С в гетерологичном окружении. Субъединицы А взаимодействуют друг с другом вокруг осей симметрии 5-го порядка, а В и С сближены вокруг осей симметрии 3-го порядка (рис. 4 а). Наряду с истинной симметрией, когда симметричные друг другу объекты совпадают до мельчайших подробностей, можно ввести понятие псевдосимметрии, когда симметричные объекты похожи друг на друга до определенного предела, после которого симметрия нарушается. В случае вирусных капсидов псевдосимметрия 6-го порядка является истинной до степени детализации в пределах десятков ангстрем, т.е. в рамках общей формы и основных внешних черт объектов, связанных этой симметрией. Истинной симметрией в данном случае является симметрия 3-го порядка. Таким образом, 6 субъединиц (3В и 3С) расположены псевдосимметрично вокруг осей симметрии 3-го порядка, которые, следовательно, являются также осями псевдосимметрии 6-го порядка.

Подход Каспара-Клуга оказался весьма плодотворным и квазиэквивалентность взаимодействий субъединиц в капсидах вирусов в настоящее время доказана с помощью рентгеноструктурного анализа [16, 24]. На основе структурных данных стала понятна и природа молекулярных переключателей. Как правило, это небольшой сегмент (10–30 аминокислотных остатков) полипептидной цепи, который упорядочен на одних и разупорядочен на сходных (квазиэквивалентных) поверхностях, что способствует образованию как гексамеров



так и пентамеров, которые и формируют икосаэдрический капсид. Конформация белка зависит от условий сборки капсида, и таких факторов, как ионы металлов, рН, и других, которые изменяют характер взаимодействий белка и, в результате, на основе квазиэквивалентных взаимодействий формируется капсид, построенный из 60Т субъединиц. Капсид вируса кустистой карликовости томатов, ВККТ, имеет  $T = 3$ , диаметр около 330 Е, построен из 180 идентичных субъединиц белка, содержащих по 386 аминокислотных остатков.

Увеличение объема капсида означает, что вирус может вместить примерно в 4 раза большую по размеру геномную молекулу РНК по сравнению с СВНТ. Структура ВККТ определена в 1983 г. с разрешением 2,9 Е в лаборатории Стива Харрисона [20]. Субъединицы ВККТ формируют капсид на основе взаимодействий, предсказанных теорией Каспара и Клуга. Белок ВККТ имеет сложную доменную структуру (рис. 4 б). Домены Р и S, расположенные на поверхности капсида, соединены гибкой петлей, а внутренний домен R частично разупорядочен. Три идентичные субъединицы — А, В и С ВККТ, расположенные в асиммет-

Рис. 4. Архитектура частицы ВККТ.

- а) Общая схема строения капсида. Мономеры выделены белыми линиями.
- б) Схематическое изображение мономера белка капсида ВККТ, указаны домены белка, ответственные за взаимодействия с соседними белками в капсиде (а, Р, S). Домен R взаимодействует с геномной РНК.
- в) Схематическое изображение грани капсида ВККТ с указанием осей симметрии 3, 5 и псевдо-6 порядка

ричной ячейке, имеют различные контакты. В субъединице С, за счет изменения конформации петли, домены S и Р имеют ориентацию, отличную от субъединиц А и В. Кроме того, петля упорядочена в субъединице С, но разупорядочена в А и В. Хотя конформация субъединиц А и В практически идентична, в участках их взаимодействия проявляются локальные структурные различия. Домены Р контактируют попарно по осям симметрии 2-го порядка и формируют выступы на поверхности капсида. Капсид содержит 30 осей симметрии 2-го порядка, образованных доменами Р субъединиц С и, кроме того, 60 осей симметрии псевдо-2-го порядка, относящихся к субъединицам А и В. Поэтому 180 доменов субъединиц Р формируют 90 димерных выступов на поверхности капсида. Таким образом, путем небольших конформационных изменений полипептидной цепи, идентичные субъединицы способны сохранять квазиэквивалентность при построении капсида.

#### IV. КАПСИДЫ ПИКОРНАВИРУСОВ

Сборка капсида из идентичных субъединиц белка — простой и экономичный способ для упаковки и хранения вирусного генома. Однако, имеются другие типы организации поверхностной решетки капсида, подобные, например, пикорнавирусам. Это сравнительно большое семейство патогенов, вызывающих заболевания человека и животных, такие как полиомиелит (полиовирусы), простуду (риновирусы) и ящур у животных (афтовирусы). Геномная РНК пикорнавирусов содержит около 10 000 нуклеотидов, а диаметр вирусной частицы составляет примерно 300 Е при средней толщине слоя белка около 30 Е, что сравнимо с толщиной капсида СВНТ, диаметр которого почти вдвое меньше. В настоящее время установлена рентгеновская структура нескольких пикорнавирусов. В лаборатории Майкла Россманна определена структура риновируса человека (тип 14) с разрешением 2,6 Е [24]. Структура полиовируса определена группой Джеймса Хогла [11], и структура вируса ящура решена группой Дэвида Стюарта [1].

Капсиды пикорнавирусов, построенные из 180 субъединиц белка, построены удивительно сходно с капсидами вирусов растений с  $T = 3$ . Однако, квази-эквивалентная упаковка у пикорнавирусов достигается не путем конформационных изменений идентичных субъединиц, как у рассмотренных выше вирусов растений, а за счет использования трех различных полипептидов, по 60 копий каждого из белков VP1, VP2 и VP3. Асимметричная ячейка капсида пикорнавирусов содержит одну копию каждой из субъединиц белков VP1, VP2, VP3 и небольшого белка VP4. Однако, VP4 спрятан внутри капсида и не достигает его

поверхности. Упаковка белков VP1, VP2, VP3 на поверхности капсида показана на рис. 5 а, б. Капсид построен из 3-х белков способом, аналогичным рассмотренным для 3-х различных конформаций А, В и С одной и той же полипептидной цепи ВККТ. Капсид пикорнавирусов собирается из 12-ти компактных пентамерных блоков, где каждый пентамер сформирован тримерами, содержащими по одной копии каждого из белков VP1, VP2, VP3. Белок VP1, который может соответствовать субъединицам А вирусов растений с  $T = 3$ , сгруппирован вокруг осей симметрии 5-го порядка и значительно выступает над поверхностью капсида; субъединицы VP2 и VP3 из различных пентамеров чередуются вокруг осей симметрии 3-ого порядка, как и субъединицы В и С вирусов растений. Поскольку VP2 и VP3 — продукты различных генов, они не могут быть строго симметричными относительно друг друга, но часто эти белки имеют сходные пространственные структуры, т.е., можно утверждать, что они псевдосимметричны. Для таких вирусов ось симметрии 3-го порядка является, таким образом, еще и осью псевдосимметрии 6-ого порядка. Конечно, псевдосимметрия ближе к истинной у вирусов растений, где все 6 субъединиц гексамеров химически идентичны.

#### **V. РОЛЬ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ В ФОРМИРОВАНИИ СЛОЖНЫХ КАПСИДОВ**

По теории Каспара-Клуга, на основе квазиэквивалентной упаковки субъединиц белка можно сформировать капсиды любого размера. На практике, самые большие изометричные капсиды вирусов, собранные из идентичных субъединиц, имеют  $T = 7$  [27]. Капсиды с  $T > 7$  часто строятся из заранее сформированных модулей: для формирования гексамеров и пентамеров либо используются продукты различных генов, либо в сборке участвуют вспомогательные белки. Вспомогательные белки выполняют различные функции и могут включаться в формирование капсида на различных стадиях. У многих ДНК-содержащих бактериофагов, таких как P22, φ29 или T4, и у вирусов герпеса, первоначально формируется внутреннее белковое ядро (scaffold), на котором и собирается прокапсид, а затем обычно путем протеолиза вирус-специфическими протеазами внутреннее ядро удаляется [17]. Прокапсид в несколько последовательных стадий конвертирует в зрелый капсид. При этом основные субъединицы белка подвергаются значительным конформационным изменениям, что приводит к расширению поверхностной решетки и, следовательно, к увеличению объема сферы. На заключительном этапе осуществляется упаковка в капсид геномной ДНК. Иницирующей стадией для сборки белкового ядра часто является формирование на клеточной

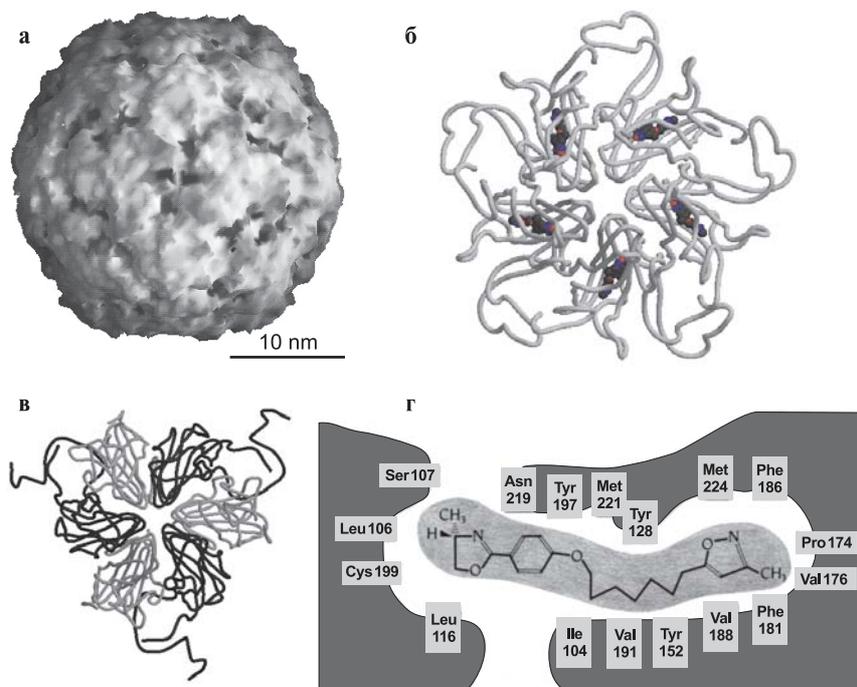


Рис. 5. Риновирус. ( $T = 3$ ). Три различных белка в асимметричной ячейке.  
 а) внешний вид вируса (трехмерная реконструкция по данным электронной микроскопии).  
 б) Взаимодействие соединения WIN51711 с пентамером VP1.  
 в) Гексамер VP2 и VP3. Темными линиями выделен белок VP3.  
 г) Схема взаимодействия соединения WIN51711 с VP1.

мембране одной из вершин прокапсида (коннектора) через который затем и осуществляется упаковка ДНК вируса. Элементы совмещения типов симметрии являются особенностью строения вершин сложных капсид. При симметрии 5-го порядка, в вершинах могут находиться олигомеры с другой симметрией — 12-го или 13-го порядка, как в случае коннекторов бактериофагов [25] или с симметрией 3-го порядка для присоединения фибрилл аденовируса [26].

Помимо внутреннего ядра, как основы для сборки капсида, некоторые вирусы используют и внешние вспомогательные элементы. Например, капсид бактериофага фХ174 ( $T = 1$ ) содержит три разных белка: F — основной белок капсида, G — белок, образующий «шипы» вокруг осей симметрии пятого порядка, и J — белок, участвующий в

упаковке ДНК. Для правильной сборки капсида необходимы дополнительные белки, отсутствующие в зрелом вирионе как, например, белок D, несимметрично расположенный на поверхности прокапсида, а также белок B, находящийся внутри прокапсида и вытесняемый белком J при упаковке ДНК. Белок D не образует симметричных тетрамеров, но существует в виде слегка различающихся димеров. Предположительно, процесс образования капсида протекает следующим образом: белки капсида F и G образуют пентамеры, с которыми взаимодействуют димеры белка D. Такие пентамеры способны формировать правильные капсиды, после чего молекулы белка D диссоциируют с поверхности прокапсида. По-видимому, димеры белка D помогают избежать ассоциации пентамеров в неправильные структуры за счет ограничения подвижности пентамеров относительно друг друга [9].

Интересным примером сборки является бактериофаг НК97 [27], капсид которого ( $T=7$ ), собирается без внутреннего ядра из идентичных субъединиц белка ( $M_w 42$  кДа). Субъединицы формируют прокапсид с асимметричными гексамерами (рис. 6 а). Затем субъединицы ковалентно связываются в кольца (катенаны), которые переплетаются, как кольца в кольчуге, и придают капсиду значительную прочность. После этого вирус-кодируемая протеиназа, несколько молекул которой включается внутрь прокапсида, отщепляет от аминоконца белка небольшой пептид, вызывая процесс конверсии прокапсид - капсид. В процессе трансформации гексамеры реорганизуются, и за счет их поворота в поверхностной решетке существенно увеличивается объем капсида (рис. 6 б). Получается большой (660 E), очень тонкий (18 E), но очень прочный капсид, который, благодаря сцепленным катенанам, не разрушается даже при кипячении.

Несмотря на общий характер построений Каспара-Клуга, существуют и исключения. Капсиды вирусов полиомы и папилломы ( $T=7$ ), следуя икосаэдрической симметрии, должны были быть построены из 60 гексамеров и 12 пентамеров, состоящих из идентичных субъединиц белка. Однако капсиды этих вирусов содержат только 72 пентамера (рис. 6 в), которые занимают в поверхностной решетке позиции как пентамеров, так и гексамеров [18, 21]. Такой уникальный характер взаимодействий осуществляется за счет конформационной гибкости карбоксильных частей субъединиц белка.

Наиболее ярким примером структурной сложности формирования большого капсида является реовирус синего языка. Этот капсид состоит из двух слоев с разными числами триангуляции: внешнего с  $T=13$ , и внутреннего – с неканоническим  $T=2$ . Эта наибольшая из известных на сегодня надмолекулярных структур, определенных на атомном уровне и содержит свыше 49 000 атомов,  $M_w = 5400$  МДа. (рис. 7 а, б). Ядро частицы, которое служит контейнером для реплика-

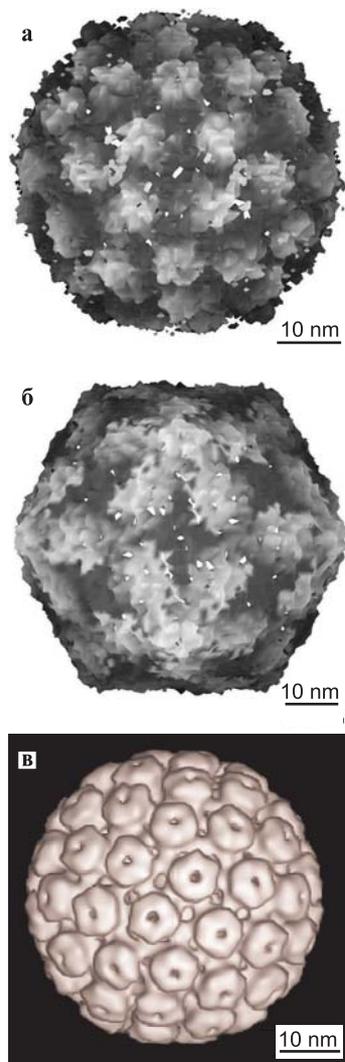


Рис. 6. Бактериофаг НК97, T=7.  
 а) Прокапсид.  
 б) Зрелый капсид.  
 в) Вирус папилломы.

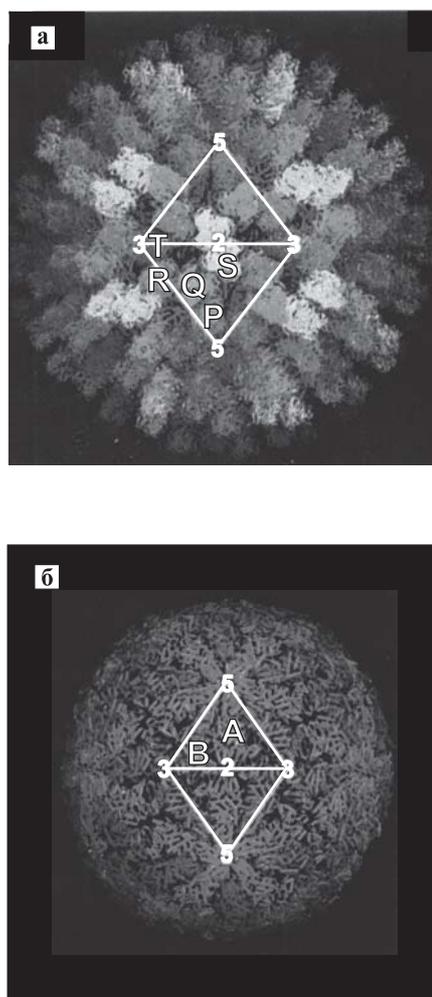


Рис. 7. Вирус синего языка.  
 а) Внешний капсид с T=13.  
 б) Нуклеокапсид, T=2.

ции вирусной геномной РНК, строится из 120 субъединиц очень большого белка VP3 (Мв субъединицы = 100 кДа), и является икосаэдром, построенным из асимметричных димеров (неканоническое  $T = 2$ ). Внутренний слой служит матрицей для построения внешнего слоя и на его локальных участках поверхности (тримеры VP3) инициируется сборка второго слоя, состоящего из 780 субъединиц белка VP7 (Мв субъединицы = 37 000 Да).

#### **VI. СВЕДЕНИЯ О СТРУКТУРЕ ВИРУСОВ ВАЖНЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

В 1986 г. М. Россман сообщил об избирательном связывании вещества, названного WIN 51711, с риновирусом человека и кристаллографическом анализе данного взаимодействия [23]. Препарат WIN 51711 связывается с субъединицами VP1, которые образует пентамеры вокруг осей симметрии 5-го порядка вирусного капсида (рис. 5 в). У риновирусов основание белка VP1 формирует так называемый «каньон» (рис. 5 г), рядом с которым находятся участки молекулы, взаимодействующие с адгезиновым рецептором ICAM-1 на поверхности хозяйской клетки. Антитела к участкам VP1 вблизи каньона блокируют адсорбцию вируса. Связывание вещества WIN 51711 с полостью каньона (рис 5 в) также подавляет инфекционность вируса. Недавно, на основании данных рентгеновской структуры риновируса и белка VP1, были синтезированы новые соединения, более прочно связывающиеся с вирусом чем WIN 51711. Таким образом, детальное знание структуры вирусов и их белков несомненно необходимо для создания новых эффективных противовирусных препаратов. Особенно интенсивно сейчас проводится синтез соединений, блокирующих адсорбцию вирусов гриппа [13] и иммунодефицита человека [10].

#### **VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Факт, что сферические вирусы как растений, так и животных построены на основе икосаэдрической симметрии, не позволяет предполагать наличие у них общего эволюционного предка, поскольку закономерности формирования капсидов носят общий характер. Однако, удивительное сходство структуры субъединиц белков многих вирусов указывает на возможность эволюционного родства (см., например, [15]).

В настоящее время известна пространственная структура более 50 капсидных белков различных вирусов (<http://mmtsh.scripps.edu/viper.html>). Большинство из них представляют характерный тип архитектуры (фолд), известный как «вирусный бета-баррель» (viral  $\beta$ -barrel

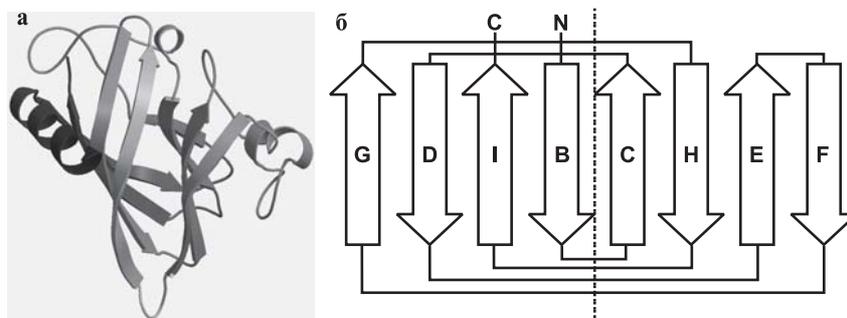


Рис. 8. Структура капсидного белка «вирусный бета-баррель».

а) Кристаллографическая модель структуры белка.

б) Топология полипептидной цепи. Буквы обозначают ход бета-тяжей.

fold [19]), содержащий восемь антипараллельных бета-тяжей со специфической топологией их соединения (рис. 8). Вирусы, которые построены из белка с таким фолдом, включают вирусы растений (TBSV, TYMV и другие), животных (SV40, риновирус, полиовирус и другие) и бактерий (бактериофаг  $\phi$ X174). Кроме того, обнаружено, что главный белок оболочки P3 бактериофага PRD1 *E. coli*, молекула которого содержит два 8-антипараллельных бета-барреля, структурно сходен с белком гексона аденовируса [3]. Оба вируса имеют сходную общую архитектуру с близкими параметрами решетки и содержат при вершинах белки рецепции. Данное наблюдение указывает, по мнению авторов, на возможное эволюционное родство данных вирусов.

Способность к формированию капсидов с икосаэдрической симметрией не является уникальным свойством вирусных белков. Сложные ферменты клетки, такие, например, как пируват дегидрогеназа *Bacillus stearothermophilus* [14] и рибофлавин синтетаза *Bacillus subtilis*, [22] образуют *in vivo* сферические комплексы с  $T = 1$ . Принципы ассоциации субъединиц белка, аналогичные происходящим при сборке капсидов вирусов, по-видимому, контролируют многие фундаментальные биологические процессы, такие как направленный транспорт веществ и многокаскадные процессы передачи сигнала в клетке, реализуемые сложными комплексами, состоящими из нескольких или множества различных субъединиц белка.

Родство вирусных белков и белков хозяйских клеток в способности формировать сферические капсиды, по-видимому, затрудняет поиск избирательных препаратов для антивирусной терапии на стадии сборки вириона. Необходимо проведение структурных исследований для обнаружения критичных стадий в строении и сборке вирусных

частиц. Удобной мишенью для подавления инфекционности больших вирусов, таких как аденовирусы и вирусы герпеса, может явиться процесс упаковки ДНК в сформированные прокапсиды.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Acharya R., Fry E., Stuart D., Fox G., Rowlands D., Brown F. // *Nature*. 1989. Vol. 337. P. 709–716.
2. Andriessen M., Meulewaeter F., Cornelissen M. // *Virology*. 1995. Vol. 212. P. 222–224.
3. Benson S., Bamford J., Bamford D., Burnett R. // *Cell*. 1999. Vol. 98. P. 825–833.
4. Bottcher B., Wynne S., Crowther R. // *Nature*. 1997. Vol. 386. P. 88–91.
5. Caspar D.L.D., Klug A. // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1962. Vol. 27. P. 1–24.
6. Conway J., Cheng N., Zlotnick A., Wingfield P., Stahl S., Steven A. // *Nature*. 1997. Vol. 386. P. 91–94.
7. Conway J., Duda R., Cheng N., Hendrix R., Steven A. // *J. Mol. Biol.* 1995. Vol. 253. P. 86–99.
8. Crick F.H., Watson J.D. // *Nature*. 1956. Vol. 177. P. 473–475.
9. Dokland T., McKenna R., Ilag L., Bowman B., Incardona N., Fane B., Rossmann M. // *Nature*. 1997. Vol. 389. P. 308–313.
10. Eckert D., Malashkevich V., Hong L., Carr P., Kim P. // *Cell*. 1999. Vol. 99. P. 103–115.
11. Grant R., Hiremath C., Filman D., Syed R., Andries K., Hogle J. // *Curr. Biol.* 1994. Vol. 4. P. 784–797.
12. Grimes J., Burroughs J., Gouet P., Diprose J., Malby R., Zientara S., Mertens P., Stuart D. // *Nature*. 1998. Vol. 395. P. 470–478.
13. Gubareva L., Webster R., Hayden F. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001. Vol. 45. P. 3403–3408.
14. Henderson C., Perham R., Finch J. // *Cell*. 1979. Vol. 17. P. 85–93.
15. Hendrix R., Smith M., Burns R., Ford M., Hatfull G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. Vol. 96. P. 2192–2197.
16. Jones T., Liljas L. // *J. Mol. Biol.* 1984. Vol. 177. P. 735–767.
17. Karam J.D., editor // *Molecular biology of bacteriophage T4.*, 1994.
18. Kiselev N., Klug A. // *J. Mol. Biol.* 1969. Vol. 40. P. 155–171.
19. Liljas L. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1999. Vol. 9. P. 129–134.
20. Olson A., Bricogne G., Harrison S. // *J. Mol. Biol.* 1983. Vol. 171. P. 61–93.
21. Rayment I., Baker T., Caspar D., Murakami W. // *Nature*. 1982. Vol. 295. P. 110–115.
22. Ritsert K., Huber R., Turk D., Ladenstein R., Schmidt-Base K., Bacher A. // *J. Mol. Biol.* 1995. Vol. 253. P. 151–167.
23. Rossmann M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988. Vol. 85. P. 4625–4627.
24. Rossmann M., Arnold E., Erickson J., Frankenberger E., Griffith J., Hecht H., Johnson J., Kamer G., Luo M., Mosser A., et al. // *Nature*. 1985. Vol. 317. P. 145–153.
25. Valpuesta J., Carrascosa J. // *Q. Rev. Biophys.* 1994. Vol. 27. P. 107–155.
26. van Oostrum J., Burnett R. // *J. Virol.* 1985. Vol. 56. P. 439–448.
27. Wikoff W., Liljas L., Duda R., Tsuruta H., Hendrix R., Johnson J. // *Science*. 2000. Vol. 289. P. 2129–2133.
28. Ysebaert M., van Emmelo J., Fiers W. // *J. Mol. Biol.* 1980. Vol. 143. P. 273–287.
29. Zhou Z., Dougherty M., Jakana J., He J., Rixon F., Chiu W. // *Science*. 2000. Vol. 288. P. 877–880.