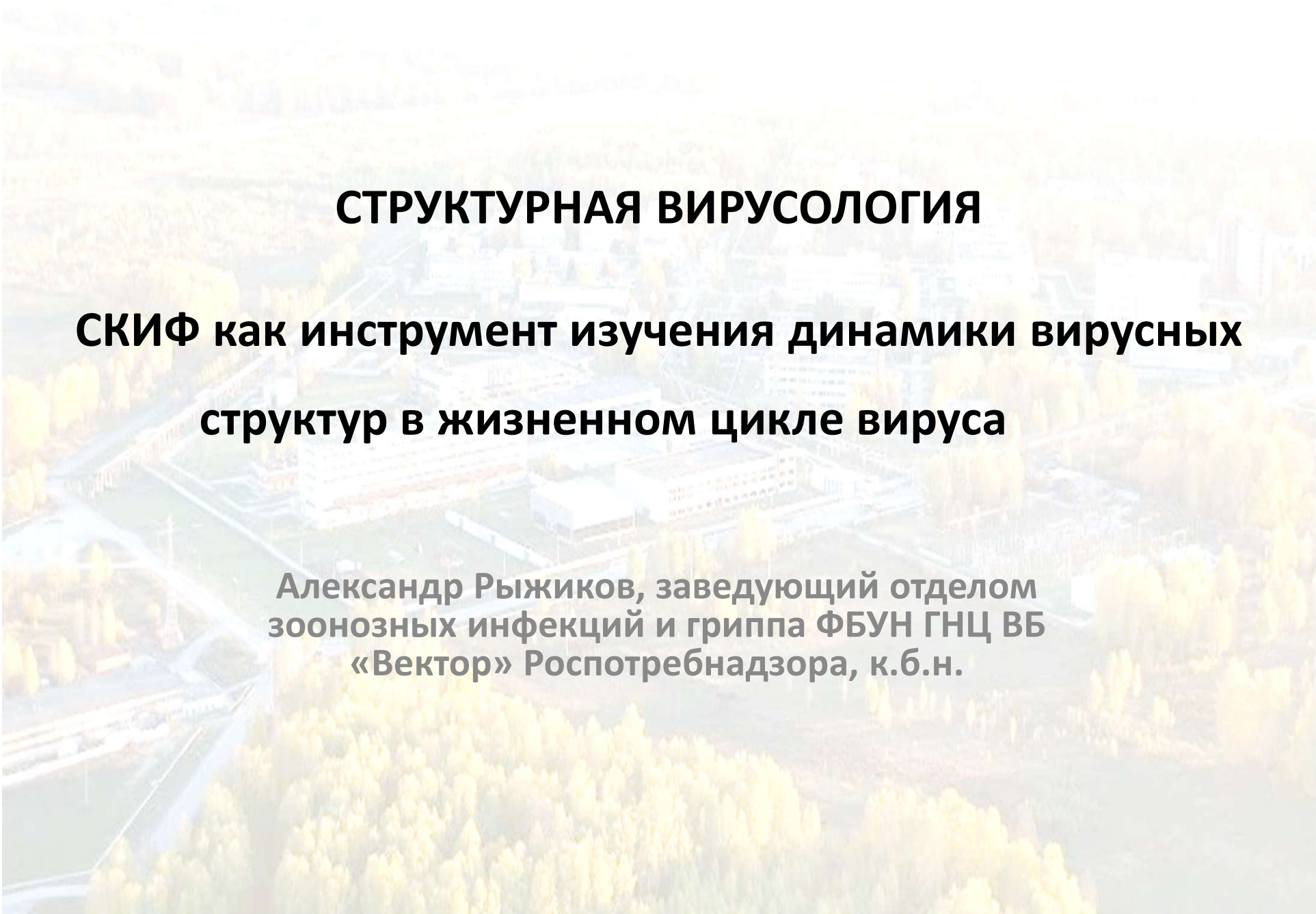




СТРУКТУРНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

**СКИФ как инструмент изучения динамики вирусных
структур в жизненном цикле вируса**

**Александр Рыжиков, заведующий отделом
зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ
«Вектор» Роспотребнадзора, к.б.н.**

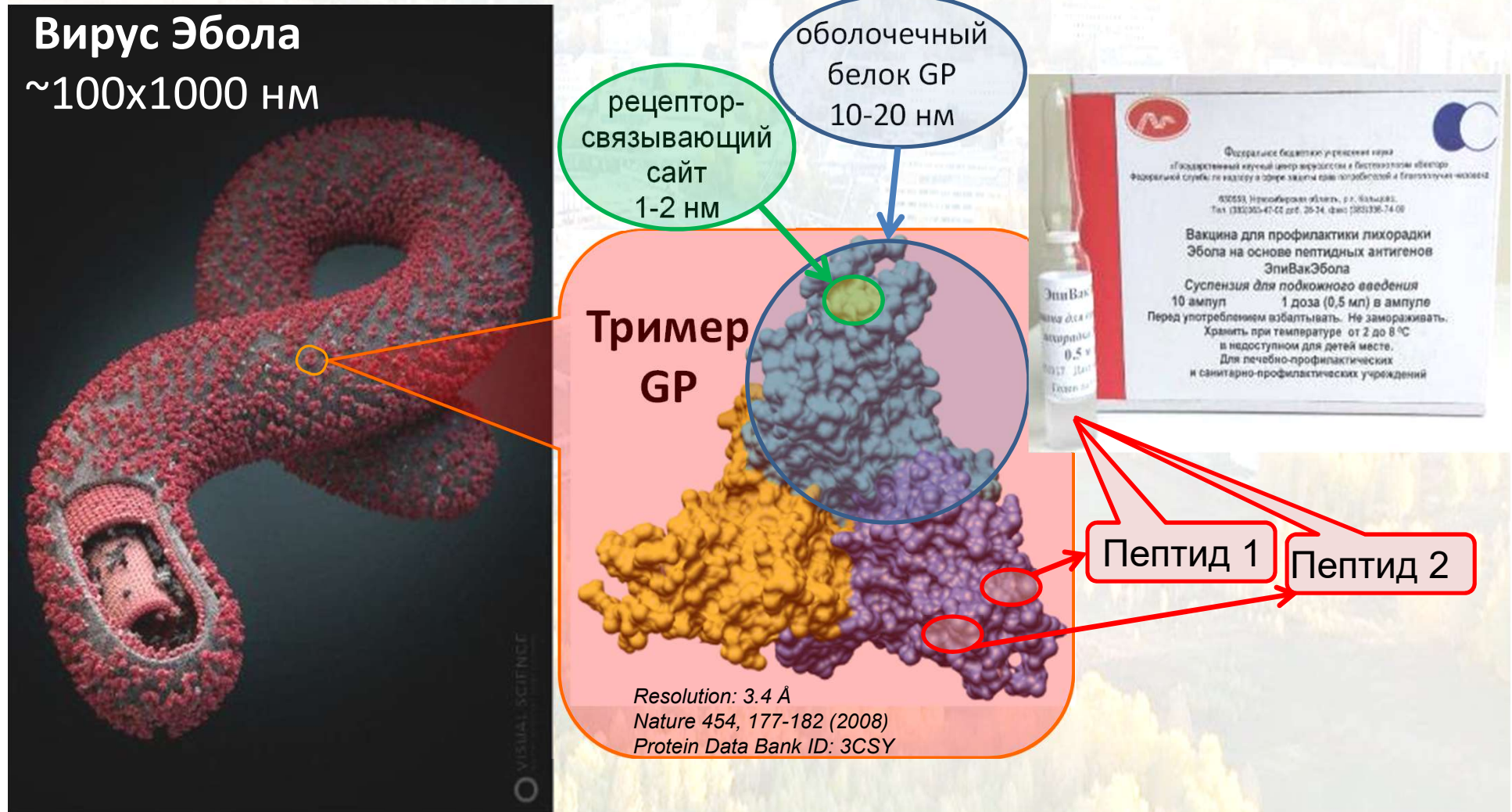
Цель и задачи исследования

Цель – изучение структуры вирусных частиц и динамики структурных изменений на различных этапах жизненного цикла вируса с целью создания противовирусных лекарственных препаратов

- **Этапы жизненного цикла**
 - трансмиссивность
 - рецепторное связывание
 - проникновение генома в клетку-мишень
 - репликация
 - сборка вирусной частицы и выход из клетки
- **Вирусные структуры**
 - рецептор-связывающий белок и оболочечные белки
 - необолочечные белки и вирусные ферменты
 - нуклеиновые кислоты
 - гликозилированные вирусные белки
- **Задачи**
 1. Структура оболочечных белков и рецепторное связывание с клеткой
 2. Конформационные переходы оболочечных вирусных белков на этапе проникновения в клетку-мишень
 3. Конформационные переходы вирусных белков на этапе сборки и выхода из клетки
 4. Структура вирусных ферментов и их активность
 5. Гликозилированные вирусные белки

Задача 1. Структура оболочечных вирусных белков и рецепторное связывание

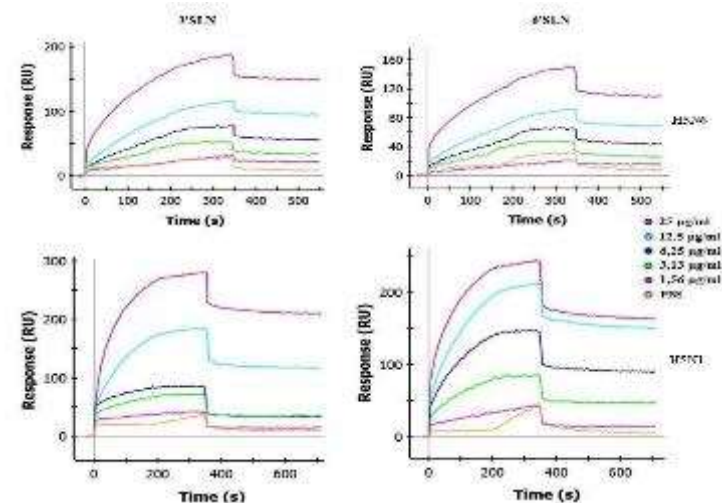
- Перед инфицированием клетки-мишени происходит связывание вируса с рецепторами клеточной мембраны
- Рецептор-связывающий сайт и нейтрализация вирусной активности

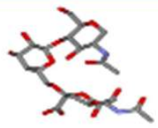
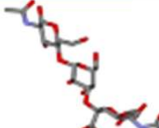


Задача 1. Взаимодействие с рецепторами

Сенсограммы взаимодействия
вирусов с сиаозидами

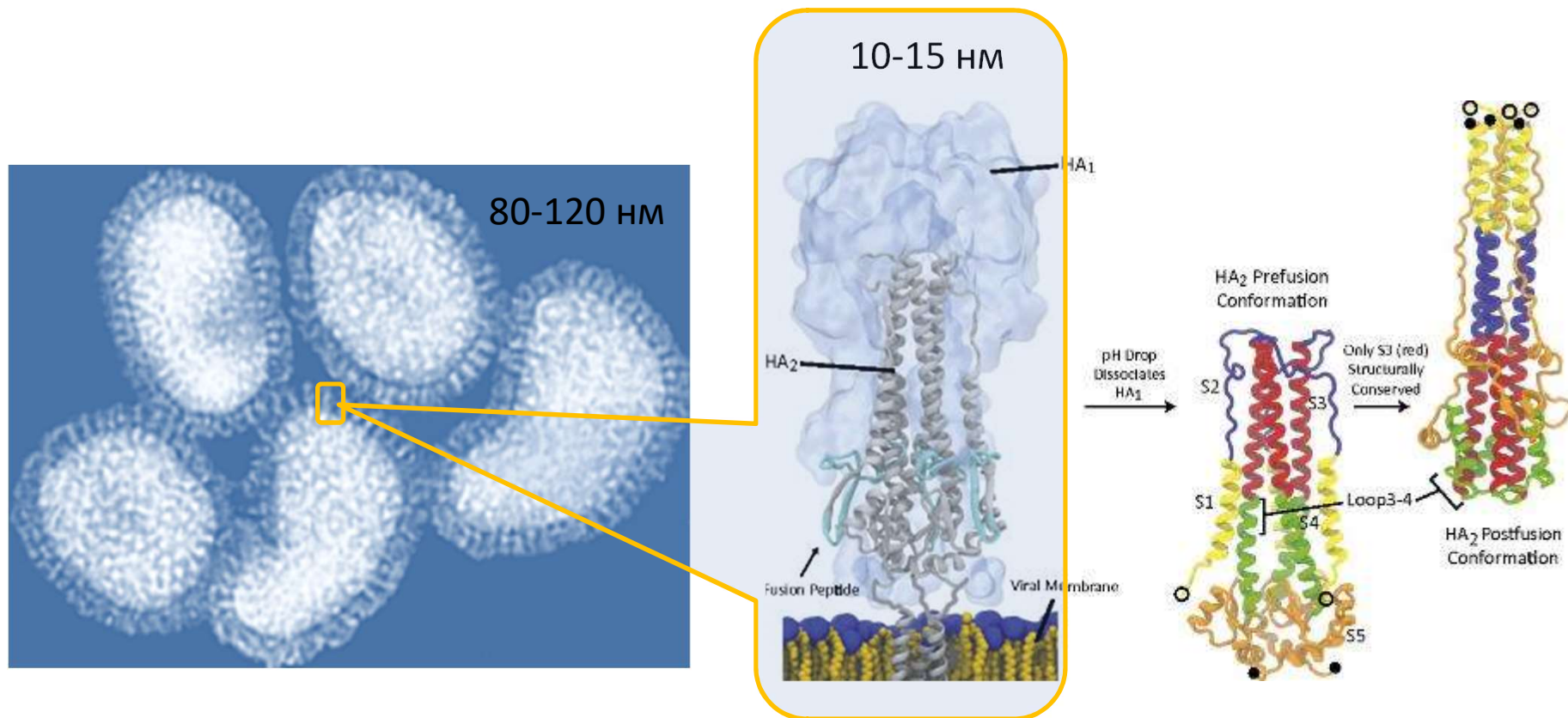
Поверхностный плазмонный
резонанс



Штамм	«человеческий» тип рецептора (6'SLN)	«птичий» тип рецептора (3'SLN)
		
	K_D , M	K_D , M
A/common gull/ Saratov/ 1676/2018 (H5N6)	$(4,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$	$(1,2 \pm 0,07) \cdot 10^{-8}$
A/rook/Chany/32/2015 (H5N1)	$(6,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-6}$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-7}$

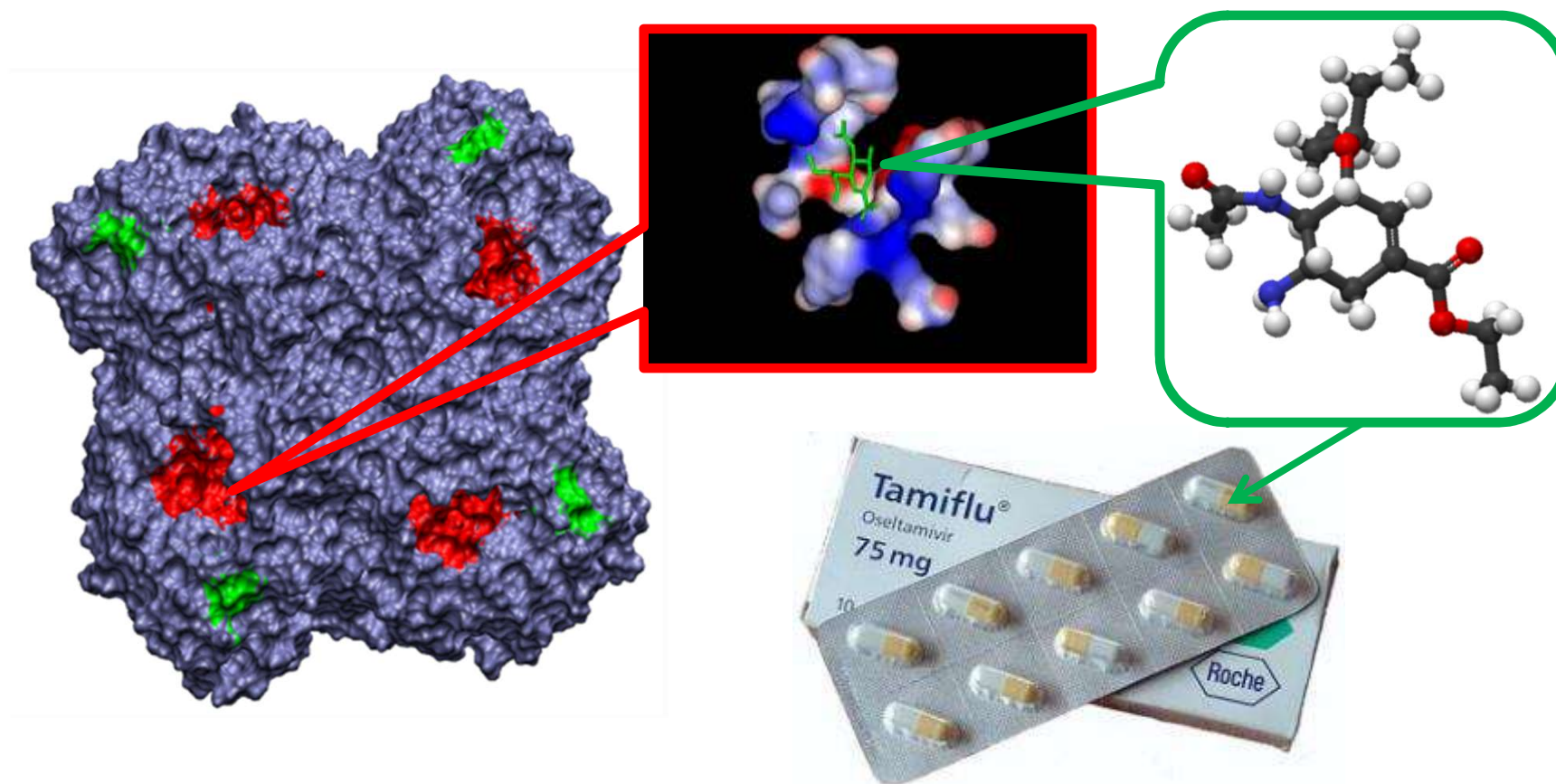
Задача 2. Конформационные переходы вирусных белков на этапе инфицирования

- Вирусы при проникновении в клетку используют механизм pH-зависимого конформационного перехода белков оболочки для обеспечения доставки вирусного генома в цитоплазму клетки
- Универсальная вакцина против гриппа и структура «ножки» гемагглюнина

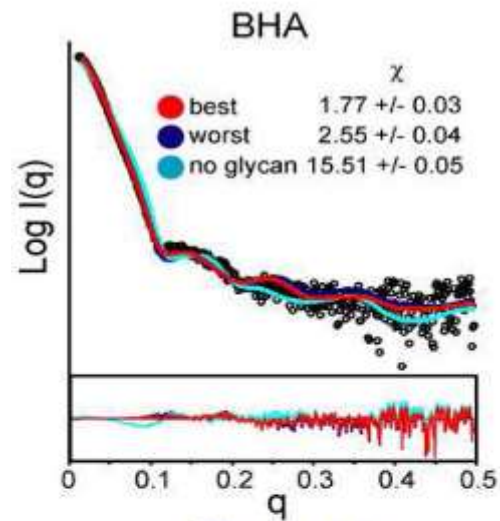


Задача 4. Структура вирусных ферментов и их активность

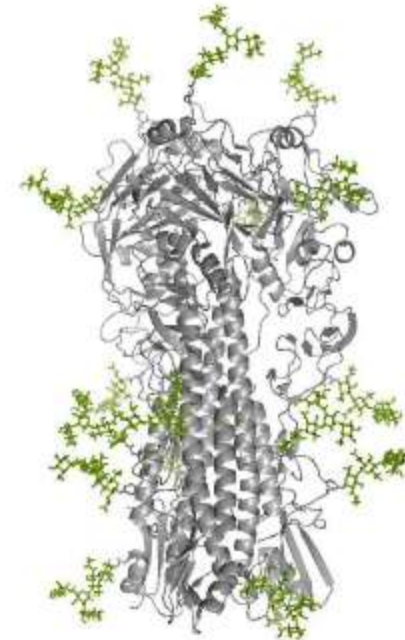
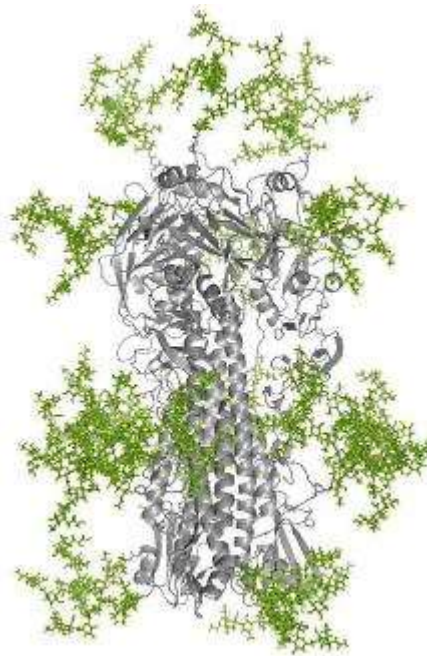
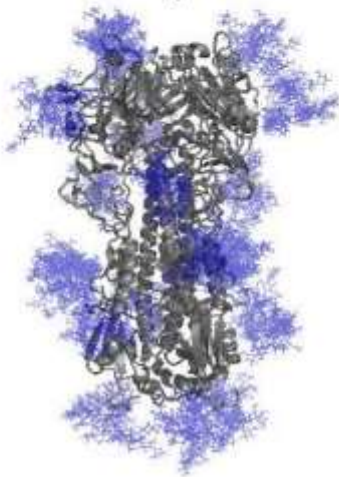
- Вирусы при репликации и сборке вирусных частиц используют различные вирусные ферменты
- Структура активных участков вирусных ферментов и «блокаторы» ферментативной активности



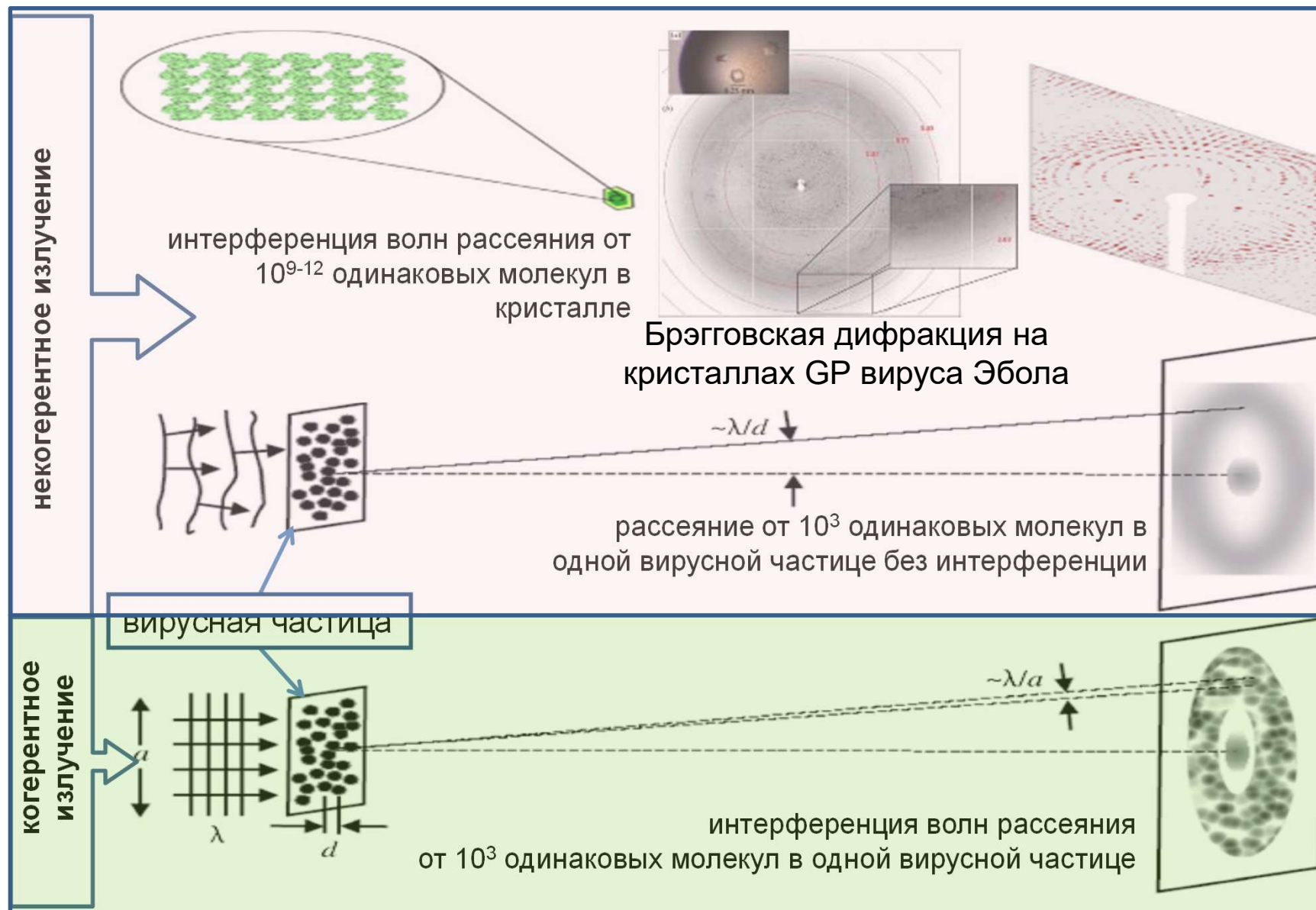
Задача 5. Гликозилированные вирусные белки



- Гликозилирование вирусных белков зависит от происхождения клеток, в которых нарабатывается вирус.
- Структура гликозилирования и эффективность противовирусных вакцин



Некогерентная и когерентная дифракция нанообъектами



Большее разрешение требует большей дозы облучения

Требуемое разрешение, nm	Необходимая энергия фотонов, keV	Необходимая плотность фотонов, μm^{-2}	Диаметр пучка, μm	Количество фотонов в импульсе
0,2	10	$7 \cdot 10^{17}$	0,01	$7 \cdot 10^{13}$
0,2	10	$7 \cdot 10^{17}$	0,1	$7 \cdot 10^{15}$
2	1	10^{13}	0,1	10^{11}
20	1	10^9	0,1	10^7

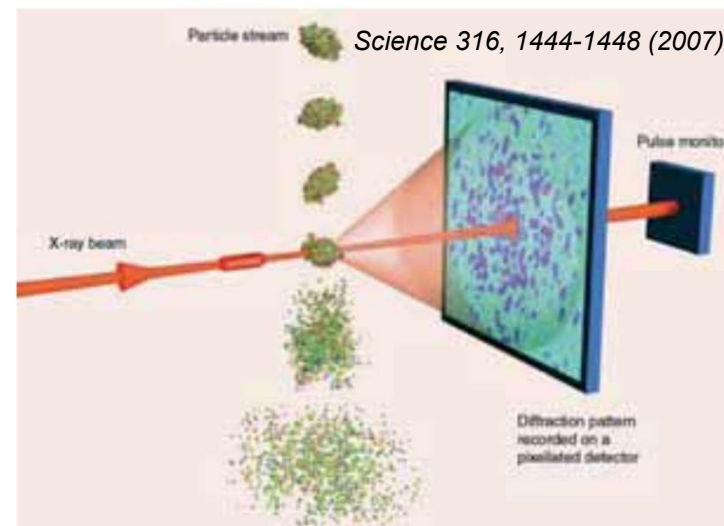
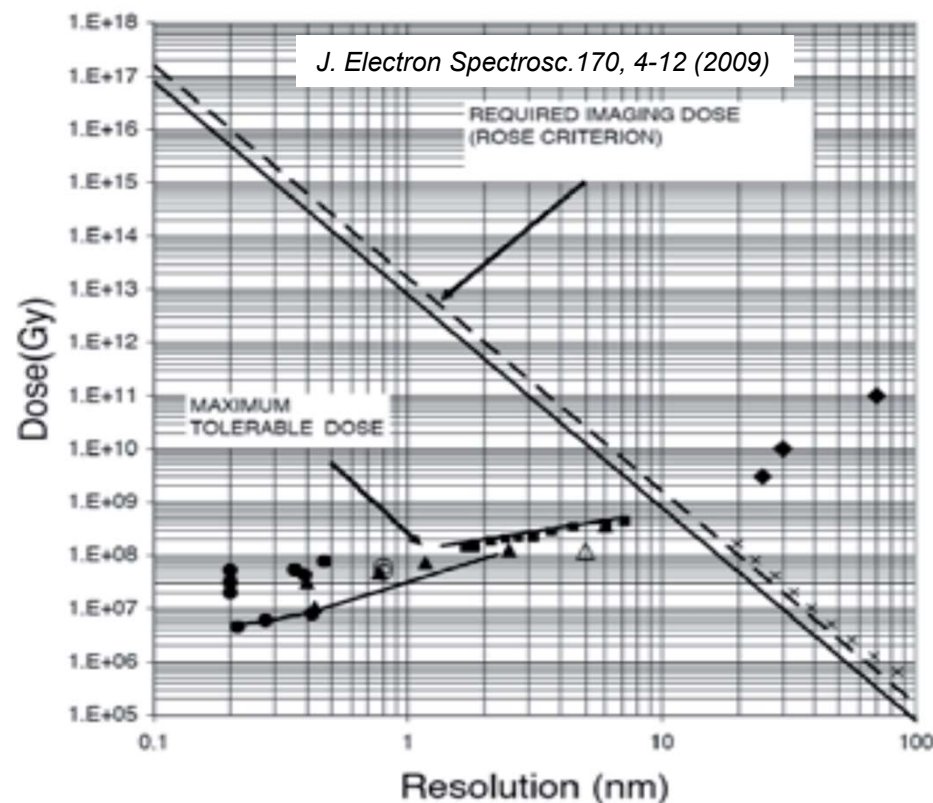


Fig. III.6. A schematic representation of a lensless imaging experiment on a single biomolecule [6]. The intention is to collect sufficient scattered photons before Coulomb explosion destroys the molecule.

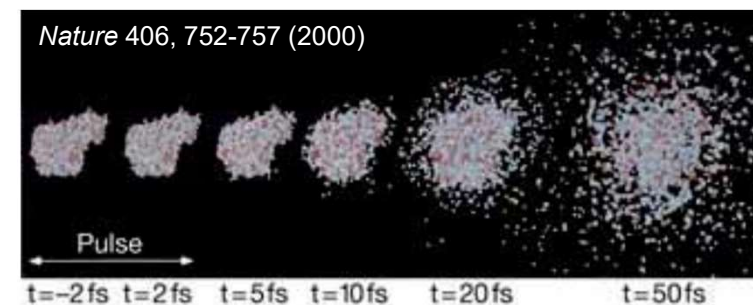
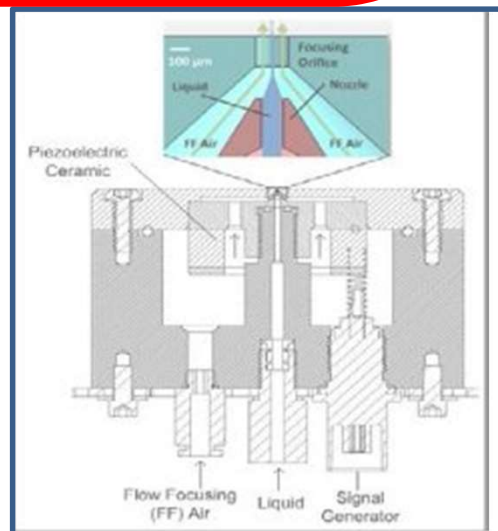
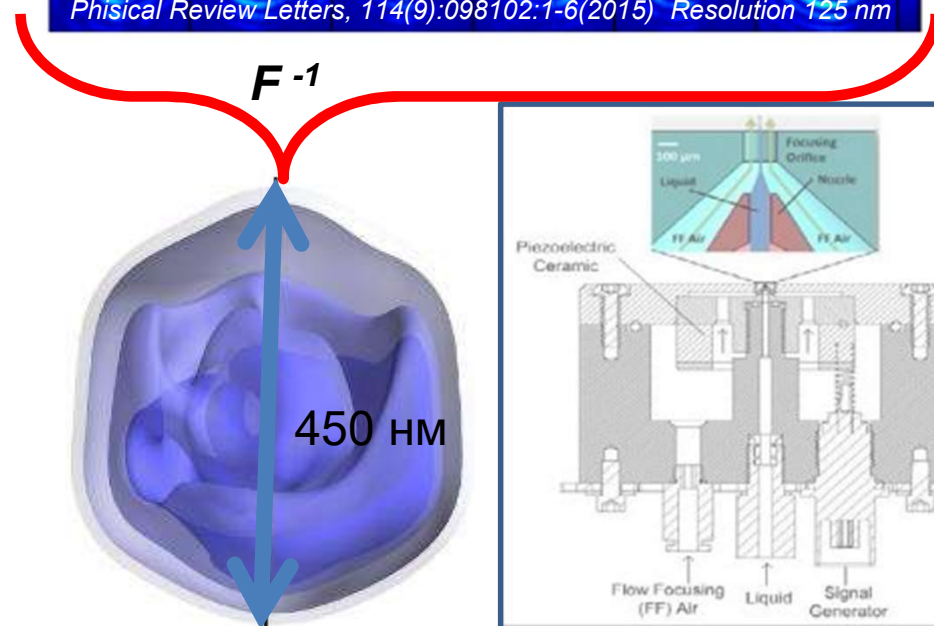
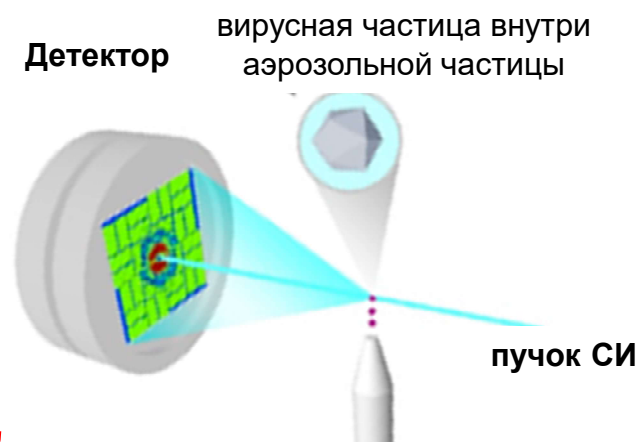
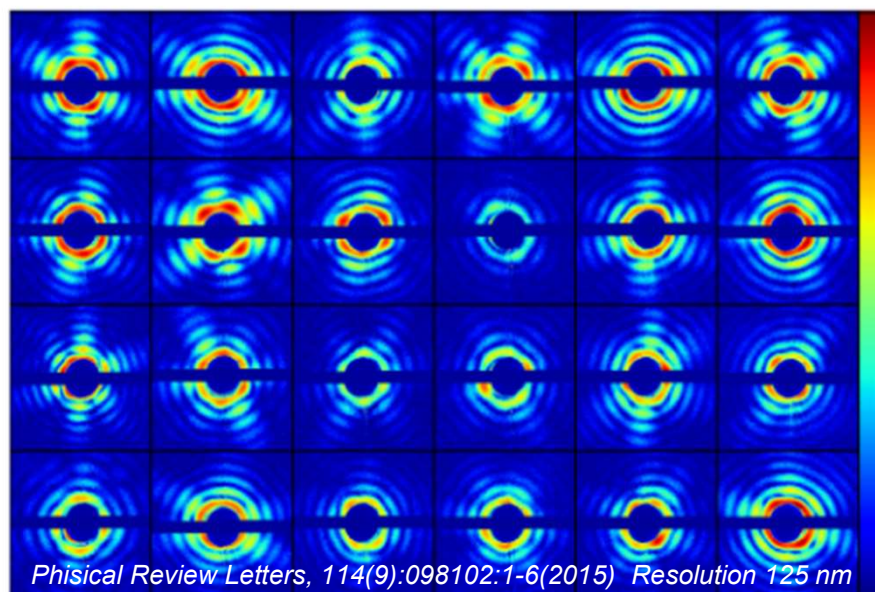


Fig. III.7. The simulated Coulomb explosion [7] of a lysozyme protein molecule exposed to a 12 keV XFEL pulse with 3×10^{12} photons focused to a 100 nm diameter spot, and with a FWHM duration of 2 fs.

Дифракция СИ на отдельной вирусной частице



Задачи структурной вирусологии

- **Разработка алгоритмов виртуальной оптики**
 - компьютерная модель вирусной частицы
 - фурье-образ компьютерной модели вирусной частицы
 - обратное фурье-преобразование картины дифракции СИ на вирусной частице
 - случайная ориентация вирусной частицы к плоскости поляризации пучка СИ
- **Разработка систем подготовки образца**
 - моделирование физиологических условий жизненного цикла вируса
 - инъекция отдельных вирусных частиц или инфицированных клеток в пучок СИ
 - скорость инъекции (10^9 нм/сек) и длительность импульса СИ (10^{-11} сек)
 - временное разрешение динамики процессов жизненного цикла вирусов
 - синхронизация частоты импульсов СИ и частоты инъекции образца
- **Оптимизация источника СИ**
 - энергия фотонов СИ (1-20 keV)
 - плотность фотонов в импульсе (10^{11} фотонов/(100 нм²))
 - диаметр пучка (10 и 100 нм)
 - длина и радиус когерентности
- **Оптимизация системы регистрации**
 - скорость регистрации и период импульсов СИ
 - динамический диапазон детектора
 - чувствительность
 - регистрируемый угол дифракции
 - обработка в реальном времени