

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326>

© КОНТАРОВ Н.А., ПОГАРСКАЯ И.В., ДОЛГОВА Е.И., КОНТАРОВА Е.О., ПОМАЗАНОВ В.В., МАРДАНЛЫ С.Г., ЮМИНОВА Н.В., 2025

Диагностика инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2) по изменению микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с фосфолипидными модификаторами на примере бесхолестериновых липосом

Контаров Н.А.^{1,2✉}, Погарская И.В.², Долгова Е.И.², Контарова Е.О.³, Помазанов В.В.⁴, Гафаров Р.Р.⁴, Марданлы С.Г.⁴, Юминова Н.В.²

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 115088, г. Москва, Россия;

³ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России, 115682, г. Москва, Россия;

⁴ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», 142611, г. Орехово-Зуево, Россия

Резюме

Введение. Противовирусное действие ряда препаратов связано с модификацией липидной мембраны вирусов вследствие их применения. Один из возможных механизмов такой модификации вирусной мембраны заключается в экстракции холестерина из мембран вирионов.

Цель работы. Изучить методику определения инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа птиц по изменению микровязкости вирусной мембраны после инкубации с фосфолипидными модификаторами – бесхолестериновыми липосомами, состоящими из фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина в мольном отношении 1 : 2, в течение 48 ч.

Материалы и методы. Процесс экстракции подтверждали двумя методами: гель-фильтрацией с радиоактивно мечеными липосомами и вирионами, а также по изменению величины поляризации флуоресцентного зонда 1-анилинонафталин-8-сульфонат-аниона (8-АНС) в вирусной мембране.

Результаты. Обнаружена корреляционная связь между изменением инфекционного и гемагглютинирующего титра и микровязкостью вирусной мембраны.

Заключение. Предложенная в работе методика позволяет проводить количественное определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса гриппа в зависимости от изменений микровязкости мембран вирусов после взаимодействия фосфолипидных модификаторов. Представляется возможным использовать выявленную зависимость для определения инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса гриппа в пределах одного серотипа в клинической лабораторной диагностике, применяя различные флуоресцентные зонды. В качестве липофильных модификаторов вирусной мембраны можно использовать не только липосомы определенного состава, но и такие соединения, как этиленгликоль, эритрит, глицерин.

Ключевые слова: бесхолестериновые липосомы; вирус гриппа; экстракция холестерина; микровязкость вирусной мембраны; лабораторная диагностика

Для цитирования: Контаров Н.А., Погарская И.В., Долгова Е.И., Контарова Е.О., Помазанов В.В., Гафаров Р.Р., Марданлы С.Г., Юминова Н.В. Диагностика инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2) по изменению микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с фосфолипидными модификаторами на примере бесхолестериновых липосом. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 471–476. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326> EDN: <https://elibrary.ru/atftvd>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326>

Method for determining infectious and hemagglutinating titer of influenza A/Mallard Pennsylvania/10218/84 (H5N2) virus by changing the microviscosity of the viral membrane after interaction with phospholipid modifiers using cholesterol free liposomes as an example

Nikolay A. Kontarov^{1,2✉}, Irina V. Pogarskaya², Ekaterina I. Dolgova², Elena O. Kontarova³, Vladimir V. Pomazanov⁴, Ramis R. Gafarov⁴, Sefaddin G. Mardanly⁴, Nadezhda V. Yuminova²

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 119991, Moscow, Russia;

²Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 115088, Moscow, Russia;

³Federal Scientific and Clinical Center of Federal Medical Biology Centre, 115682, Moscow, Russia;

⁴State University of Humanities and Technology, Russia, 142611, Orekhovo-Zuevo, Russia

Abstract

Introduction. The antiviral action of a number of drugs is associated with their modification of the lipid membrane of viruses. One of the possible mechanisms of such modification of the viral membrane is the extraction of cholesterol from the membranes of virions.

Objective of the study. A method has been developed for determining the infectious and hemagglutinating titer of avian influenza virus by changing the microviscosity of the viral membrane after incubation with phospholipid modifiers, using cholesterol-free liposomes consisting of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in a molar ratio of 1 : 2 for 48 hours as an example.

Materials and methods. The extraction process was confirmed by two methods: gel filtration with radioactively labeled liposomes and virions, and by changing the polarization value of the fluorescent probe 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate anion (8-ANS) in the viral membrane.

Results. A correlation was found between the change in infectious and hemagglutinating titer and the microviscosity of the viral membrane.

Conclusion. In this regard, it seems possible to use this dependence to determine the infectious and hemagglutinating activity of the influenza virus within one serotype in clinical laboratory diagnostics, using various fluorescent probes. It should be noted that not only liposomes of a certain composition can be used as lipophilic modifiers of the viral membrane, but also such compounds as ethylene glycol, erythritol, glycerol.

Keywords: *cholesterol-free liposomes; influenza virus; cholesterol extraction; microviscosity of the viral membrane, laboratory diagnostics*

For citation: Kontarov N.A., Pogarskaya I.V., Dolgova E.I., Kontarova E.O., Pomazanov V.V., Gafarov R.R., Mardanly S.G., Yuminova N.V. Method for determining infectious and hemagglutinating titer of influenza A/Mallard Pennsylvania/10218/84 (H5N2) virus by changing the microviscosity of the viral membrane after interaction with phospholipid modifiers using cholesterol free liposomes as an example. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 471–476. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326> EDN: <https://elibrary.ru/atftvd>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

На сегодняшний день имеется значительное количество работ, посвященных изучению противовирусного действия липосом в комплексе с разными химическими соединениями и методам изучения механизмов взаимодействия таких липосом с разными оболочечными вирусами [1–9]. Обмен липидами с липосомами приводит к изменению физических характеристик локального окружения белковых антигенов вируса гриппа и к невозможности изменения их конформации при взаимодействии с рецепторами клетки-хозяина. При этом в литературе отсутствует информация о наличии зависимости между величинами инфекционно-го и гемагглютинирующего титра вируса гриппа от фи-

зических характеристик вирусной мембраны. Одной из таких характеристик, которую достаточно просто определить, используя различные флуоресцентные зонды, является микровязкость, что может являться диагностическим признаком. Изменение микровязкости зависит от содержания холестерина в мембране.

Цель – разработать метод, позволяющий определять инфекционный и гемагглютинирующий титр вируса гриппа в зависимости от изменения микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с бесхолестериновыми липосомами.

Материалы и методы

Объектом исследования служил штамм вируса гриппа птиц А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2).

Вirus выращивали на 10-дневных куриных эмбрионах. Исходный инфекционный титр вируса составлял $7,0 \pm 0,2 \lg 50\%$ эмбриональных инфицирующих доз в 1 мл (ЭИД₅₀/мл). Изучение противовирусного действия вируса проводили в перевиваемой культуре клеток MDCK (клетки почек собаки Мадина–Дарби). Клетки линии MDCK высевали на 24-луночные планшеты и инкубировали 14–24 ч до формирования монослоя, занимающего от 80 до 90% ростовой поверхности. Затем вносили в лунки по 0,1 мл вирус-содержащей жидкости (множественность инфекции составляла 0,01 ТЦД₅₀/кл (50% тканевая цитопатическая доза на клетку)) в среде альфа-MEM и инкубировали в течение 72 ч в атмосфере CO₂ при 36 °C. После инкубации клетки промывали средой MEM и вносили бесхолестериновые липосомы в лунки планшетов с монослоем клеток в объеме 0,5 мл. Планшеты с клетками инкубировали в атмосфере CO₂ при 36 °C в течение 30 мин. Затем в культуральной жидкости определяли инфекционный и гемагглютинирующий титр вируса. Инфекционность вируса определяли по титрованию в 10-дневных куриных эмбрионах при их заражении в аллантоисную полость. Инфекционный титр рассчитывали по методу Рида–Менча. Реакцию гемагглютинации проводили стандартным образом с использованием куриных эритроцитов [10]. Исходный гемагглютинирующий титр составлял 2048 ГАЕ/мл. Липосомы получали по стандартному методу с незначительными модификациями [11]. Препарат фосфатидилхолина (Sigma, США) в концентрации 1–2 мг/мл в растворе 0,01 М KCl инкубировали при 70 °C в течение 10 мин, также использовали препараты смеси фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина (Sigma, США) в мольном соотношении 2 : 1. Размеры и частичную концентрацию липосом определяли спектрофотометрически с помощью фотозлектроколориметра (ФЭК) по методу Геллера [12]. Для стабилизации липосом добавляли полиэтиленгликоль 6000 (Sigma, США) в конечной концентрации 2,5 мМ. Распределение липосом из смеси фосфолипидов по размерам представляло собой гамма-распределение со средним радиусом липосом $\bar{R} = 85 \pm 2,5$ нм, средний индекс полидисперсности липосомальных дисперсий составлял менее 0,1. Средняя частичная концентрация липосом из смеси фосфолипидов составила $\bar{N} = (6,45 \pm 0,1) \times 10^{15}$ см³. Определение степени окисленности липосом проводили по общепринятой методике с расчетом индекса окисленности (ИО):

$$\text{ИО} = \frac{(D_{233} - D_{300})}{(D_{215} - D_{300})} \quad (1),$$

где D_{233} , D_{215} и D_{300} – оптическая плотность анализируемого образца, измеренная относительно 95% этилового спирта на спектрофотометре Anthos Zenyth 200th (Biochrom, Великобритания) при длинах волн 233, 215 и 300 нм соответственно. Стабильность липосомальной дисперсии оценивали по изменению размеров частиц в зависимости от срока хранения (при температуре 4 °C в течение 20 сут), свето-

пропусканию при длине волны 640 нм с помощью спектрофотометра Anthos Zenyth 200th (Biochrom, Великобритания) и дзета-потенциалу (ζ) который определяли по электрофоретической подвижности липосом в дисперсии методом микроэлектрофореза с помощью прибора Zetasizer-2 (Великобритания). С целью выявления экстракции холестерина липосомами применяли гель-фильтрацию и радиометрию меченных ¹⁴C-холестерином вирионов и ³H-инулином липосом в колонке для гель-фильтрации с сефарозой 4В (Sigma, США). Отсутствие вирионов в фильтрате в обоих случаях контролировали с помощью реакции гемагглютинации [10]. Радиометрию образцов осуществляли с помощью радиометра (БЛ-БДБ-2, РФ). Для определения изменения вязкости липидной мембраны вирионов и липосом применялся флуоресцентный зонд 8-АНС («Sigma», США) в конечной концентрации 10 мкМ. Для определения величины поляризации (P) использовали спектрофлюориметр Флюорат-02-Панорама (РФ), $\lambda_{\text{возб}} = 360$ нм, $\lambda_{\text{эмисс}} = 400\text{--}550$ нм. Величину P определяли по формуле Перрена–Яблонского:

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_0} + \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{\kappa T \tau_0}{V \eta} \quad (2),$$

где P – поляризация флуоресценции зонда в мембране; V – молярный объем зонда, τ_0 – время жизни флуоресценции, P_0 – предельная поляризация флуоресценции зонда, η – вязкость среды, R – газовая постоянная, T – температура среды, равная 298 К, κ – постоянная Больцмана. Поляризацию флуоресценции зонда в вирусном инокуляте определяли до добавления липосом и после инкубации с липосомами, как описано выше, в течение 48 ч. Контрольный препаратом являлся вирусный инокулят. Количественной оценкой противовирусного действия липосом являлась величина ΔT ($\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$), равная разности инфекционных титров до и после внесения липосом. Статистическую обработку результатов, полученных из 4-кратных повторов каждого эксперимента, проводили стандартными методами с помощью Microsoft Excel 2010 с проверкой выборки на нормальное распределение с помощью критерия Колмогорова и расчета t-критерия, различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты

На первом этапе исследований было проведено изучение стабильности липосомальных дисперсий. На рис. 1 представлена зависимость, отражающая стабильность липосомальных дисперсий в зависимости от срока хранения при 4 °C. На рисунке видно незначительное, в пределах ошибки, увеличение среднего радиуса липосом в дисперсии при хранении. Светопротекание липосомальной дисперсии при температуре 25 °C и длине волны 640 нм составляло 75%, что соответствует требованиям Государственной фармакопеи РФ. Известно, что устойчивость коллоидных растворов наблюдается при значениях дзета-потенциала более 30 мВ по абсолютному значению [13]. Среднее абсолютное значение дзета-потен-

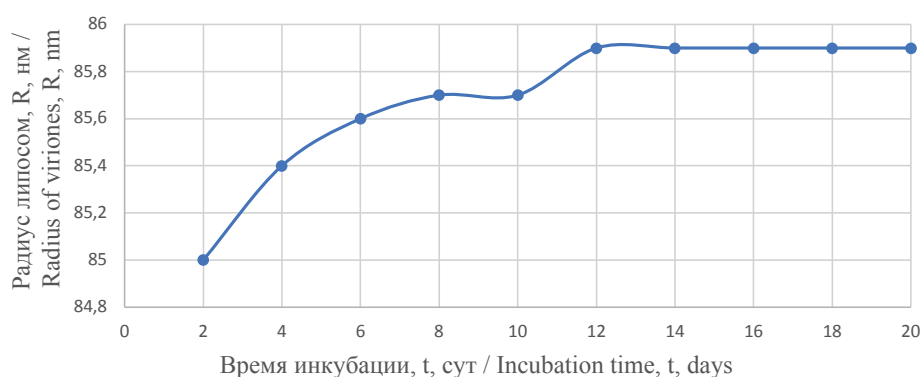
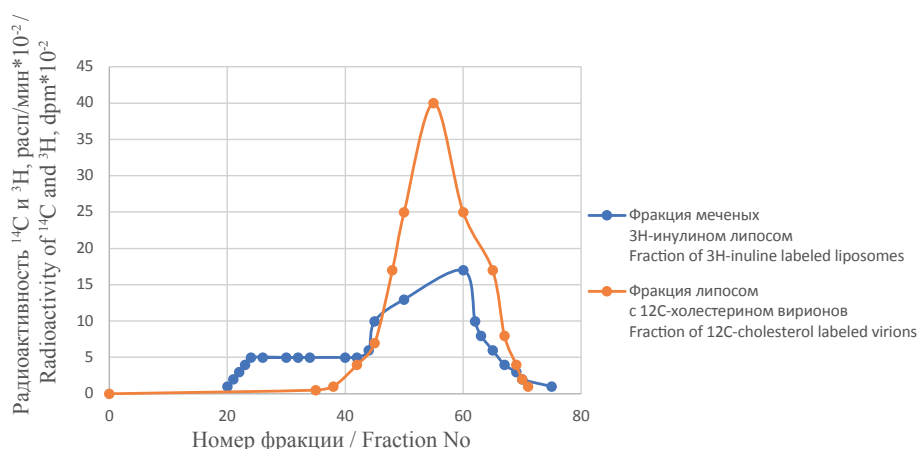


Рис. 1. Изменение размеров липосом при 4 °C в течение 20 сут.

Fig. 1. Change in liposome size at 4 °C for 20 days.

Рис. 2. Гель-фильтрация радиоактивно меченых ³H-инулином липосом без холестерина и ¹⁴C-холестерином вирионов гриппа.Fig. 2. Gel filtration of radioactively labeled ³H-inulin-free cholesterol-liposomes and ¹⁴C-cholesterol-labeled influenza virions.

циала липосом составило $\zeta = 65 \pm 1,5$ мВ. Значение ИО исходной дисперсии липосом составило 0,1, при хранении в течение 20 сут при температуре 4 °C ИО незначительно увеличился до 0,15. В обоих случаях ИО не превышал предельного значения, равного 0,4.

С целью проверить гипотезу экстракции холестерина из вирусной мембраны, после инкубации с вирионами, меченными ¹⁴C-холестерином в течение 5 ч, дисперсию с мечеными ³H-инулином липосомами фракционировали по размерам гель-фильтрацией на сефарозе 4В. Было обнаружено, что основная часть меченых липидов находится в составе частиц, совпадающих по своим размерам с исходными липосомами. Совпадали не только средние размеры, но и распределение по размерам. Небольшая фракция липосом в результате взаимодействия с вирионами превратилась в более крупные агрегаты. В их составе также присутствовал вирусный холестерин (рис. 2). Экстракция холестерина из вирионов возможна только при контактном взаимодействии липосом и вирионов. Такая ситуация может наблюдаться при разрушении двойного электрического слоя вирусных мембран липосомами. Экстракция холестерина бесхолестериновыми липосомами приводила к снижению микровязкости вирусных мембран, что было подтверждено с помощью определения величины поляризации

флуоресценции зондов по формуле (2). Расчеты показали уменьшение микровязкости вирусных мембран с $(5,0 \pm 0,4) \times 10^{-3}$ Па·с до $(1,0 \pm 0,05) \times 10^{-3}$ Па·с в течение 48 ч после инкубации с липосомами. В вирусном контроле уменьшение микровязкости мембран не происходило. На основании полученных результатов было сделано предположение о возможной корреляции инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса от микровязкости мембран вирионов, и, поскольку изменение микровязкости вирусной мембраны вызывает изменение пространственного расположения антигенных белков, последнее может быть использовано в качестве диагностического признака. Были получены зависимости инфекционного и гемагглютинирующего титра от микровязкости вирусных мембран с высоким коэффициентом корреляции. На рис. 3 представлена убывающая линейная зависимость инфекционного титра от микровязкости мембраны вируса. Для гемагглютинирующего титра была получена убывающая экспоненциальная зависимость (рис. 4). На графиках приведены уравнения линий тренда, по которым можно рассчитывать показатели инфекционной и гемагглютинирующей активности по экспериментально определенным значениям микровязкости мембран для конкретного штамма вируса гриппа.

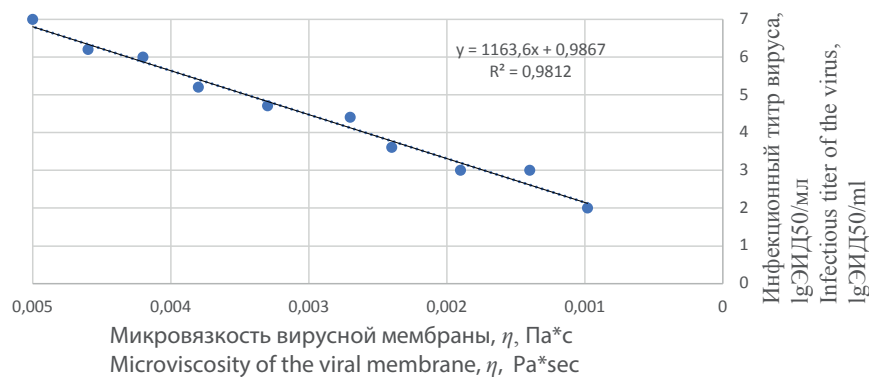


Рис. 3. Зависимость инфекционного титра вируса от микровязкости вирусной мембраны.

Fig. 3. Dependence of infectious titer of the virus on the microviscosity of the viral membrane.

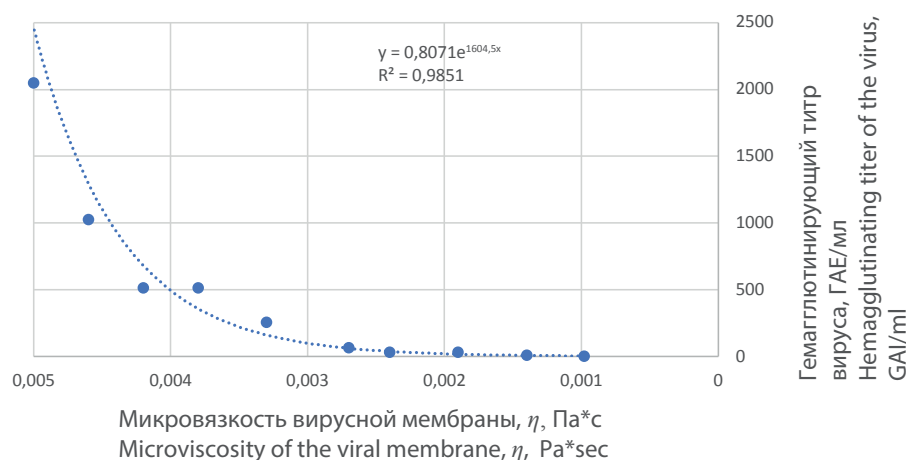


Рис. 4. Зависимость гемагглютинирующего титра вируса от микровязкости вирусной мембраны.

Fig. 4. Dependence of the hemagglutinating titer of the virus on the microviscosity of the viral membrane.

Заключение

Таким образом, предложенная в работе методика позволяет проводить количественное определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса гриппа в зависимости от изменений микровязкости мембран вирусов после взаимодействия фосфолипидных модификаторов. Данный метод может найти применение в вирусологических исследованиях и клинической лабораторной диагностике при определении инфекционной и гемагглютинирующей активности вирусов гриппа.

Следует отметить, что изменение микровязкости вирусной мембраны может происходить при взаимодействии с любыми другими фосфолипидными модификаторами, которые можно использовать для определения вышеуказанных титров вируса гриппа.

ЛИТЕРАТУРА

- Kingery-Wood J.E., Williams K.W., Sigal G.B., Whitesides G.M. The agglutination of erythrocytes by influenza virus is strongly inhibited by liposomes incorporating an analog of sialyl gangliosides. *J. Am. Chem. Soc.* 1992; 114(18): 7303–5. <https://doi.org/10.1021/ja00044a057>
- van Meer G., Davoust J., Simons K. Parameters affecting low pH-mediated fusion of liposomes with the plasma membrane of cells infected with influenza virus. *Biochemistry.* 1985; 24(14): 3593–602. <https://doi.org/10.1021/bi00335a030>
- Hendricks G.L., Weirich K.L., Viswanathan K., Li J., Shriver Z.H., Ashour J., et al. Sialylneolacto-N-tetraose c (LSTc)-bearing liposomal decoys capture influenza a virus. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(12): 8061–73. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.437202>
- White J., Helenius A. pH-dependent fusion between the Semliki Forest virus membrane and liposomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1980; 77(6): 3273–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.6.3273>
- Sulczewski F.B., Liszbinski R.B., Romão P.R.T., Rodrigues Junior L.C. Nanoparticle vaccines against viral infections. *Arch. Virol.* 2018; 163(9): 2313–25. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3856-0>
- Hernandez L.D., Peters R.J., Delos S.E., Young J.A., Agard D.A., White J.M. Activation of a retroviral membrane fusion protein: soluble receptor-induced liposome binding of the ALSV envelope glycoprotein. *J. Cell Biol.* 1997; 139(6): 1455–64. <https://doi.org/10.1083/jcb.139.6.1455>
- McGill A.R., Markoutsas E., Mayilsamy K., Green R., Sivakumar K., Mohapatra S., et al. Acetate-encapsulated linolenic acid liposomes reduce SARS-CoV-2 and RSV infection. *Viruses.* 2023; 15(7): 1429. <https://doi.org/10.3390/v15071429>
- Grünewald K. Viral fusion: how Flu induces dimples on liposomes. *EMBO J.* 2010; 29(7): 1165–6. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.35>
- Hendricks G.L., Velazquez L., Pham S., Qaisar N., Delaney J.C., Viswanathan K., et al. Heparin octasaccharide decoy liposomes inhibit replication of multiple viruses. *Antiviral Res.* 2015; 116: 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.01.008>
- Mahy B.W.J. *Virology: A Practical Approach*. IRL Press; 1985. <https://doi.org/10.1136/jcp.38.11.1319-a>
- Pagano R., Thompson T.E. Spherical lipid bilayer membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1967; 144(3): 666–9. DOI: 10.1016/0005-2760(67)90055-0

12. Контаров Н.А., Лотте В.Д., Контарова Е.О., Балаев Н.В., Юминова Н.В., Зверев В.В. New method for measurement of size and concentration of liposomes. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2009; 86(6): 95–8. <https://elibrary.ru/rcdmzz>
13. Sabin J., Prieto G., Ruso J.M., Hidalgo-Alvarez R., Sarmiento F. Size and stability of liposomes: A possible role of hydration and osmotic forces. *Eur. Phys. J. E. Soft Matter*. 2006; 20(4): 401–08. <https://doi.org/10.1140/epje/i2006-10029-9>
1. Kingery-Wood J.E., Williams K.W., Sigal G.B., Whitesides G.M. The agglutination of erythrocytes by influenza virus is strongly inhibited by liposomes incorporating an analog of sialyl gangliosides. *J. Am. Chem. Soc.* 1992; 114(18): 7303–5. <https://doi.org/10.1021/ja00044a057>
2. van Meer G., Davoust J., Simons K. Parameters affecting low pH-mediated fusion of liposomes with the plasma membrane of cells infected with influenza virus. *Biochemistry*. 1985; 24(14): 3593–602. <https://doi.org/10.1021/bi00335a030>
3. Hendricks G.L., Weirich K.L., Viswanathan K., Li J., Shriver Z.H., Ashour J., et al. Sialylneolacto-N-tetraose c (LSTc)-bearing liposomal decoys capture influenza A virus. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(12): 8061–73. <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.437202>
4. White J., Helenius A. pH-dependent fusion between the Semliki Forest virus membrane and liposomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1980; 77(6): 3273–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.6.3273>
5. Sulczewski F.B., Liszbinski R.B., Romão P.R.T., Rodrigues Junior L.C. Nanoparticle vaccines against viral infections. *Arch. Virol.* 2018; 163(9): 2313–25. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3856-0>
6. Hernandez L.D., Peters R.J., Delos S.E., Young J.A., Agard D.A., White J.M. Activation of a retroviral membrane fusion protein: soluble receptor-induced liposome binding of the ALSV envelope glycoprotein. *J. Cell Biol.* 1997; 139(6): 1455–64. <https://doi.org/10.1083/jcb.139.6.1455>
7. McGill A.R., Markoutsas E., Mayilsamy K., Green R., Sivakumar K., Mohapatra S., et al. Acetate-encapsulated linolenic acid liposomes reduce SARS-CoV-2 and RSV infection. *Viruses*. 2023; 15(7): 1429. <https://doi.org/10.3390/v15071429>
8. Grünwald K. Viral fusion: how Flu induces dimples on liposomes. *EMBO J.* 2010; 29(7): 1165–6. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.35>
9. Hendricks G.L., Velazquez L., Pham S., Qaisar N., Delaney J.C., Viswanathan K., et al. Heparin octasaccharide decoy liposomes inhibit replication of multiple viruses. *Antiviral Res.* 2015; 116: 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.01.008>
10. Mahy B.W.J. *Virology: A Practical Approach*. IRL Press; 1985. <https://doi.org/10.1136/jcp.38.11.1319-a>
11. Pagano R., Thompson T.E. Spherical lipid bilayer membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. 1967; 144(3): 666–9. DOI: 10.1016/0005-2760(67)90055-0
12. Kontarov N.A., Lotte V.D., Kontarova E.O., Balaev N.V., Yuminova N.V., Zverev V.V. New method for measurement of size and concentration of liposomes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2009; 86(6): 95–8. <https://elibrary.ru/rcdmzz> (in Russian)
13. Sabin J., Prieto G., Ruso J.M., Hidalgo-Alvarez R., Sarmiento F. Size and stability of liposomes: A possible role of hydration and osmotic forces. *Eur. Phys. J. E. Soft Matter*. 2006; 20(4): 401–08. <https://doi.org/10.1140/epje/i2006-10029-9>

REFERENCES

Информация об авторах:

Контаров Николай Александрович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории детских вирусных инфекций ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: kontarov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0030-4867>

Погарская Ирина Владимировна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: kozry81@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3580-6277>

Долгова Екатерина Игоревна – младший научный сотрудник отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: dolgovaev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8985-7569>

Контарова Елена Олеговна – канд. мед. наук, врач лучевой диагностики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия. E-mail: kontarova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5550-7875>

Помазанов Владимир Васильевич – д-р техн. наук, профессор ГОУ ВО МО ГГТУ, Орехово-Зуево, Россия. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>

Гафаров Рамис Рафикович – канд. биол. наук, ГОУ ВО МО ГГТУ, Орехово-Зуево, Россия. E-mail: gafarov68@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-2869-7421>

Марданлы Сейфадин Гашимович – д-р мед. наук, ГОУ ВО МО ГГТУ, Орехово-Зуево, Россия. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>

Юминова Надежда Васильевна – д-р биол. наук, главный научный сотрудник отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова Москва, Россия. E-mail: yuminova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7723-4038>

Участие авторов: Контаров Н.А., Юминова Н.В., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. – постановка задачи и руководство исследованием; Погарская И.В., Долгова Е.И., Гафаров Р.Р. – проведение экспериментов, работа с литературой; Контарова Е.О. – проведение расчетов, статистической обработки и построение графиков.

Поступила 25.06.2025
Принята в печать 22.08.2025
Опубликована 30.10.2025

Information about the authors:

Nikolay A. Kontarov – PhD (Biology), leading researcher at the laboratory of children's viral infections I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: kontarov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0030-4867>

Irina V. Pogarskaya – PhD (Biology), leading researcher Department of Virology named after O.G. Andzhapardze, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: kozry81@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3580-6277>

Ekaterina I. Dolgova – junior researcher Department of Virology named after O.G. Andzhapardze, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: dolgovaev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8985-7569>

Elena O. Kontarova – PhD (Medicine), radiologist, Federal Scientific and Clinical Center of Federal Medical Biology Centre, Moscow, Russia. E-mail: kontarova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5550-7875>

Vladimir V. Pomazanov – Dr Sci (Engineering), professor, State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>

Ramis R. Gafarov – PhD (Biology), State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-2869-7421>

Sefaddin G. Mardany – Dr Sci (Medicine), State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>

Nadezhda V. Yuminova – Dr Sci (Biology), chief researcher, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: yuminova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7723-4038>

Contribution: Kontarov N.A., Yuminova N.V., Mardany S.G., Pomazanov V.V. – formulation of the problem and management of the study; Pogarskaya I.V., Dolgova E.I., Gafarov R.R. – conducting experiments, working with literature; Kontarova E.O. – conducting calculations, statistical processing and plotting graphs.

Received 25 June 2025
Accepted 22 August 2025
Published 30 October 2025