

## ОБЗОРЫ

© ЖИРНОВ О.П., 2016  
УДК 578.832.1:578.32:581.1

*Жирнов О.П.*

### АСИММЕТРИЧНАЯ СТРУКТУРА ВИРУСА ГРИППА А И НОВАЯ ФУНКЦИЯ МАТРИКСНОГО БЕЛКА М1

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Вирус гриппа А относится к оболочечным вирусам. Структура вируса включает 2 основных модуля: наружную липопротеидную оболочку и внутренний рибонуклеопротеид (РНП), содержащий геномную негативно-полярную РНК. В состав липопротеидной оболочки входят 4 вирусных белка: наружные гликопротеиды гемагглютинин (НА), нейраминидаза (НА), трансмембранный белок ионных каналов М2 и минорное количество белка ядерного экспорта NEP. РНП состоит из вирусной РНК и четырех полипептидов: главного нуклеокапсидного белка NP и трех полимеразных белков PB1, PB2, PA. Оба модуля соединены в вирусной частице сетью белкового матрикса М1, который поддерживает структурную целостность вириона – так называемая функция структурной интеграции вириона. В соответствии со структурной функцией белки NP и М1 доминируют в вирионе и содержатся в количестве 1000 и 3000 молекул соответственно. Помимо структурной функции матриксный белок выполняет ряд функций по регуляции внутриклеточного транспорта и ядерного экспорта вирусного РНП и сборки вирусных частиц (budding) на плазматической мембране в инфицированных клетках. В статье рассматривается биполярная структура вирусной частицы с асимметричной локализацией вирусных РНП и неравномерной сетью матрикса М1 и белка ионных каналов М2. Обсуждается роль матриксного белка М1 в поддержании асимметричной локализации вирусных РНП в вирусной частице и регуляции их транспорта внутри вирусной частицы из головного вирусного домена к месту выхода из вириона. Приведены первые экспериментальные данные о том, что транспорт вирусных РНП внутри вирусной частицы направляется белком М1, и этот транспорт необходим для завершения процесса “раздевания” вируса и инициации инфекционного процесса в клетке-мишени. Высказана идея о создании нового класса антивирусных химиопрепаратов, активирующих АТФазы ранних эндосом в клетке-мишени.

*Ключевые слова:* вирус гриппа; структура; проникновение вируса; М1; кислый pH.

*Для цитирования:* Жирнов О.П. Асимметричная структура вируса гриппа А и новая функция матриксного белка М1. *Вопросы вирусологии.* 2016; 61 (4): 149-154. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-4-149-154

*Zhirnov O.P.*

### ASYMMETRIC STRUCTURE OF THE INFLUENZA A VIRUS AND NOVEL FUNCTION OF THE MATRIX PROTEIN M1

D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation

Influenza virus is an enveloped virus. It comprises two major modules: external lipoprotein envelope and internal ribonucleoprotein (RNP) containing the genomic negative-strand RNA. Lipoprotein envelope contains four vital proteins: hemagglutinin (HA), neuraminidase (NA), transmembrane ionic channel M2, and minor amounts of nuclear export protein NEP. RNP contains RNA and four polypeptides: major nucleocapsid protein NP and three polymerase subunits PB1, PB2, PA. Both modules are linked with each other by matrix M1 maintaining the virus integrity. According to the structural function, NP and M1 are predominant in virus particle in the amounts of 1000 and 3000 molecules, respectively. In addition to the structural function, M1 plays a role in regulation of intracellular and nuclear migration of viral RNP and virus assembly, referred as budding process, at the plasma membrane in infected cells. The bipolar structure of the influenza virus characterized by asymmetric location of RNP and nonregular distribution of M1 and M2 inside the virion is reviewed. The role of M1 in maintaining the asymmetric structure of the virus particle and regulation of RNP transport inside virus particle is considered. First experimental data confirming (i) intravirion RNP transport and its outside exit directed by the M1 and (ii) the importance of this process in virus uncoating and initiation of infection in target cell are discussed. A novel class of antiviral agents activating ATP-ase of the early endosome compartment in the target cell is discussed.

*Key words:* influenza virus; structure; virus entry; M1; acidic pH.

This paper is dedicated to a great Russian scientist, Academician N.V. Kaverin.

*For citation:* Zhirnov O.P. Asymmetric structure of the influenza A virus and novel function of the matrix protein M1. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal).* 2016; 61(4): 149-154. (In Russ.).

DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-4-149-154

*Для корреспонденции:* Жирнов Олег Петрович, д-р биол. наук, проф., зав. лаб. вирусного патогенеза, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, E-mail: zhirnov@inbox.ru

**For correspondence:** Oleg P. Zhirnov, Doctor of Biological Sciences, professor, head of the laboratory of viral pathogenesis D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation, E-mail: zhirnov@inbox.ru

**Acknowledgments.** The author is grateful to Professor A. A. Manykin for participation in electron microscopy studies.

**Funding.** This work was supported by grants RFBR No. 13-04-001824, 16-54-12063 .

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 23 July 2015  
Accepted 19 November 2015

## Введение

Структура вируса гриппа А включает 2 основных модуля: наружную липопротеидную оболочку и внутренний рибонуклеопротеид (РНП), содержащий вирусную РНК негативной полярности. Липопротеидная оболочка сформирована липидным бислоем, в который погружены 3 трансмембранных белка: гемагглютинин (HA), нейраминидаза (NA) и белок ионных каналов M2. РНП состоит из 8 сегментов РНК, упакованной основным вирусным белком NP и тремя полипептидами вирусной полимеразы PB1, PB2, PA. Белок NP является одним из главных структурных белков и присутствует в количестве около 1000 молекул на вирион [1]. Оба модуля связаны в вирусной частице белковым матриксом M1, который количественно превосходит другие вирусные белки и присутствует в виде 3000 молекул [1].

Вирус гриппа А имеет 2 класса частиц: сферические диаметром около 100 нм и филаментозные в виде тяжелой диаметром около 100 нм и длиной, достигающей 20 мкм [2]. Сферический и филаментозный фенотипы вируса обусловлены особенностями вирусного матрикса M1 и трансмембранного белка ионных каналов M2, которые влияют на взаимодействие вирусного РНП с липидной мембраной в составе вируса и клеточной мембраной при сборке вируса в инфицированных клетках [3–7], а также клеточными факторами Rab-11 [8]. Обе морфологические формы имеют высокую инфекционную активность [3]. Настоящая работа сфокусирована на рассмотрении структуры вируса гриппа А сферической формы. Этот тип вирионов доминирует в вирусных препаратах при пассировании вируса в клеточных культурах и куриных эмбрионах [9].

До настоящего времени модель строения вируса гриппа А представляется в форме симметричного шара. Согласно этой модели, вирус имеет шаровидную форму со случайным распределением компонентов как в липидной оболочке, так и во внутренней полости, которую, как считается, равномерно заполняют 8 сегментов РНП, а внутренняя сфера вириона симметрично выстлана матриксным белком M1 [10, 11]. На рис. 1 (см. вторую полосу обложки) изображена традиционная симметричная модель вируса гриппа А. Однако в последнее время накапливаются данные, позволяющие пересмотреть указанную симметричную модель. В этом плане можно рассматривать 3 группы наблюдений, которые ставят под сомнение симметричную модель вируса:

- данные о структурной перестройке вируса под влиянием кислого pH и ее влиянии на функциональные свойства вируса;

- данные о механизме почкования вирусных частиц в инфицированных клетках;
- данные о локализации сегментов РНП в вирусных частицах.

## 1. Структурные и функциональные превращения вируса гриппа под влиянием кислого pH

Вирус гриппа имеет 2 функциональных состояния, которые определены структурной формой поверхностного гликопротеида HA. Вирусный гликопротеид существует в форме нерасщепленного белка HA0 с мол. массой 75 кД и в расщепленной форме в виде двух субъединиц HA1 (55 кД) и HA2 (20 кД), связанных дисульфидной связью. Расщепление HA0 → HA1 + HA2 осуществляют мембранно-связанные протеазы клетки-хозяина. Вирионы, содержащие HA0, – неинфекционные и не могут инициировать инфекцию клеток-мишеней, а вирионы с HA1/HA2 обладают полноценной инфекционностью [12]. Оказалось, что эти классы вирионов по-разному чувствительны к обработке кислым pH в диапазоне 4,0–5,0 и различным образом изменяют свою структуру. После обработки кислым pH в вирионах обоих классов обнаруживались выпячивания (пузыри) липидной оболочки по одному на вирион, которые имели размер около 25–30 нм и были лишены наружных поверхностных шипов HA и NA [13, 14]. Через эти везикулы внутрь вириона входил краситель при инкубации в кислой среде, что указывало на их проницаемость для ионов. Важным оказалось наблюдение специфической проницаемости оболочки вируса только у вирионов класса HA1/HA2, тогда как вирионы с HA0 оказались непроницаемыми в кислой среде [14].

Возникал вопрос: будет ли закисление среды оказывать влияние на внутреннюю структуру вируса? Исследования с помощью электронной микроскопии показало

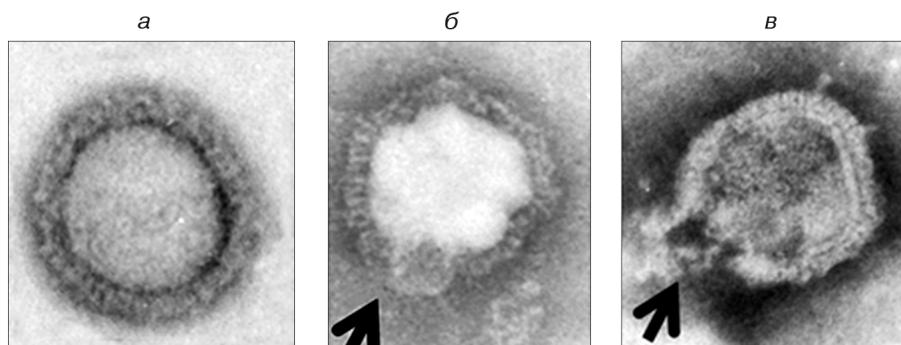


Рис. 2. Морфология вируса гриппа А после экспозиции в кислой среде.

Вирус A/Aichi/2/68 (H3N2) выращивали в культуре клеток МДСК-Н в присутствии трипсина для расщепления вирусного белка HA0 → HA1 + HA2 (HA1/HA2) и синтезированный вирус экспонировали при pH 4,5. Образцы исследовали в электронном микроскопе с помощью негативного контрастирования фосфорно-вольфрамовой кислотой (ФВК).

*a* – исходный вирус; *б* – начальное закисление и вход ФВК через наружный пузырь; *в* – терминальная стадия закисления и распад вириона в зоне пузыря. Стрелкой показана зона пузыря.

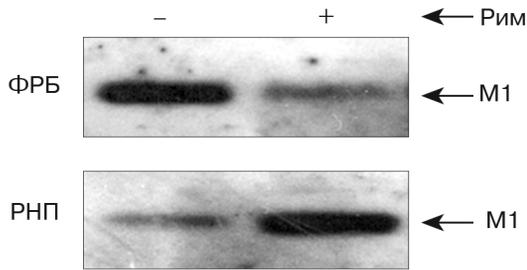


Рис. 3. Комплексообразование РНП с белком М1 в вирусе после экспозиции в кислой среде в присутствии римантадина.

Вирус A/Aichi/2/68 (H3N2) выращивали в культуре клеток МДСК-Н в присутствии трипсина для расщепления вирусного белка HA0 → HA1 + HA2 (HA1/HA2) и синтезированный вирус экспонировали при pH 4,5. Далее вирус инкубировали в кислой среде, разрушали липидную оболочку неионным детергентом NP-40 и разделяли на фракции РНП и фракцию растворимых белков (ФРБ). Белки идентифицировали с помощью метода вестерн-блот. При экспозиции в кислой среде белок переходит из фракции РНП во фракцию растворимых белков. При инкубации в присутствии римантадина М1 сохраняет связь с РНП и обнаруживается во фракции РНП.

ли, что внутренняя полость вируса с HA1/HA2 быстро закисляется, вызывая распад вирусных частиц в зоне пузыря (рис. 2). При распаде освобождались структуры свободного вирусного РНП, что говорило о разрушении связи М1-РНП внутри вируса. Напротив, вирионы с HA0 имели полную непроницаемость и сохраняли структурную целостность в кислой среде. Эти наблюдения дали основание считать, что ионные каналы М2 у вируса с HA0 находились в неактивном закрытом состоянии. У вируса с HA1/HA2 каналы М2 обладали проницаемостью для протонов, что приводило к закислению внутри вируса и потере структурной целостности внутренней структуры вируса.

Для проверки этого предположения проводили эксперименты с римантадином – ингибитором ионных каналов М2 вируса гриппа А [15]. В качестве критерия внутренней целостности исследовали комплексообразование РНП с белковым матриксом М1. Оказалось, что предобработка вируса HA1/HA2 с римантадином полностью предотвращала нарушение связи М1 с РНП при инкубации в кислой среде (рис. 3). Напротив, у вируса HA1/HA2, не обработанного римантадином, экспозиция в кислой среде полностью разрушала взаимодействие М1-РНП. Эти наблюдения указывают на то, что, во-первых, эффект внутреннего закисления вируса опосредован каналом М2, и, во-вторых, такое закисление приводит к дезинтеграции матрикса М1 с РНП внутри вирусной частицы.

Вполне естественно возник вопрос о влиянии кислого pH на биологические свойства вируса, в частности на инфекционную активность вируса и полимеразную активность его внутреннего РНП. Влияние кислого pH на эти активности оказалось зависимым от формы белка HA в вирусе. Вирус с HA0 сохранял инфекционность после кислотной обработки, тогда как вирус с HA1/HA2 быстро терял инфекционность уже после 5–10-минутной экспозиции в кислой среде. Кроме этого, такая кислотная экспозиция оказывала избирательное действие на полимеразную активность РНП внутри вируса. Если полимеразная активность РНП внутри вируса с HA0 была на низком уровне и практически не изменялась после кислотной обработки, активность РНП в вирусе с HA1/HA2 значительно возрастала в 5–10 раз (рис. 4). В со-

вокупности эти, на первый взгляд, парадоксальные данные имели следующее логическое объяснение. При кислотной обработке вируса с HA1/HA2 происходит закисление его внутреннего объема, которое ведет к распаду комплекса М1-РНП и освобождению вирусного РНП от ингибиторного воздействия белка М1 [16–18], что приводило к экзальтации его полимеразной активности. Напротив, у вируса с HA0 вследствие закупорки ионных каналов М2 не происходит внутреннего закисления и сохраняется контакт белка М1 с РНП, препятствующий полимеразной функции РНП.

Важный вопрос, требующий объяснения: почему вирус с HA1/HA2 и активированным РНП не имел инфекционной активности? Наиболее логичным представляется предположение о том, что РНП не может самостоятельно выходить из вириона в клетке-мишени. Для этого ему нужен контакт с матриксом М1. В этом процессе М1, вероятно, играет роль моторного белка, осуществляющего активный выход вирусного РНП из вириона. В вирусных частицах с асимметричной структурой сегменты РНП, локализованные в головном домене, должны выходить с противоположного (анального) полюса. Такой внутривирионный транспорт РНП может происходить по каналам белкового матрикса М1 посредством последовательного перескока. Возможно, вирусный белок NEP, который обнаруживается в вирионном матриксе М1 [19], участвует в этом транспорте в кооперации с М1. При нарушении М1-зависимого транспорта вирус терял инфекционность, несмотря на высокую полимеразную активность РНП. Схематично этот процесс проиллюстрирован на рис. 5 (см. на вторую полосу обложки).

**2. Формирование асимметричной структуры вируса гриппа А при его сборке и почковании на плазматической мембране клетки**

Важные данные, подтверждающие концепцию асимметричной структуры вируса гриппа, представлены в работе японских авторов [11, 20]. С помощью метода электронной томографии авторы установили неравномерное распределение сегментов РНП внутри вирусной частицы. Все сегменты группировались в виде грозди, которая прикреплялась к матриксу М1 в определенном сайте внутренней сферы вириона. Свободные концы РНП свешивались внутрь полости вириона на различную глубину в зависимости от длины сегмента. Асим-

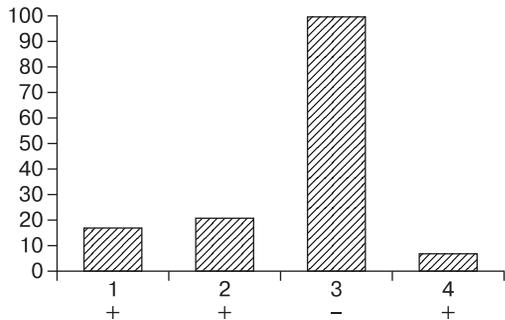


Рис. 4. Полимеразная и инфекционная активность вирусного РНП после экспозиции с кислым pH.

Вирус гриппа А с HA0 (1, 2) или HA1/HA2 (3, 4) инкубировали в кислой среде с pH 4,5 (1, 3). Далее исследовали полимеразную активность вирионного РНП. Знаками «+» и «-» показан инфекционный и неинфекционный вирус соответственно.

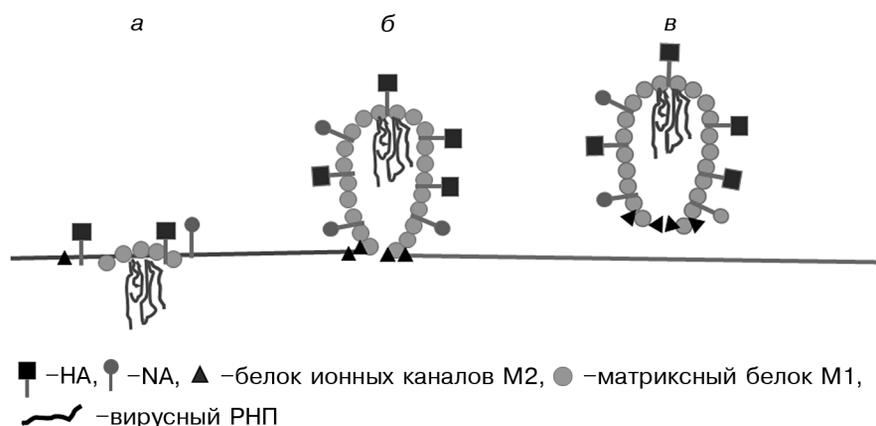


Рис. 7. Схема почкования вируса гриппа А на плазматической мембране клетки-мишени.

Показаны последовательные стадии асимметричного образования вириона: а – образование липидного микродомена на плазматической мембране; б – фаза инвагинации вирусного РНП; в – фаза отщуровывания и почкования вириона.

метричная локализация сегментов РНП внутри вируса имеет важные характеристики, связанные с их функцией и процессом сборки вируса на клеточной мембране.

Как известно, сегменты РНП вируса гриппа, имеющие форму «сковородки с ручкой», формируются из закрученной самой на себя спирали РНК в комплексе с главным нуклеокапсидным белком NP. 3'- и 5'-концевые участки РНК сохранены на конце «ручки», и на них локализованы субъединицы вирусной полимеразы. Как сказано выше, сегменты РНП в составе вируса не активны в РНК-полимеразной реакции, и на этом основании можно предположить, что РНП-сегменты связаны с матриксом М1 посредством своей «ручки», содержащей субъединицы полимеразы. Такая связь М1 с полимеразой сохраняла РНП в неактивном состоянии. Инкубация вируса с HA1/NA2 в кислой среде разрушает этот комплекс, что ведет к активации полимеразной функции свободного РНП в составе вируса (см. рис. 4).

Вторая важная характеристика внутривирионной локализации комплексов РНП связана с их участием в сборке вируса (так называемом почковании) на плазматической мембране в инфицированной клетке. Известно, что процесс почкования начинается с подбора 8 сегментов и их концентрации на определенном участке плазматической мембраны, так называемом «плотике» [21–23]. Далее происходит инвагинация комплекса («грозди») РНП клеточной мембраной, содержащей вирусные белки HA, NA и M2. Завершается процесс выпячиванием (так называемый budding), замыканием липидной мембраны в кольцо и отщуровыванием частицы вируса. В зоне отщуровывания вириона концентрируется вирусный белок M2 (и, возможно, NA), которому приписывают ключевую роль в процессе отпочкования вириона от мембраны клетки (рис. 6, см. на второй полосе обложки). В результате почкования формируется асимметричная (ракетообразная) структура вируса, когда в головном домене сконцентрирован комплекс РНП, а в анальном полюсе сконцентрирован отщуровывающий белок M2, повышенное количество NA и брешь в белковом матриксе М1 (рис. 6, 7).

Важная особенность асимметричной структуры вируса гриппа заключается в неравномерном распределении

белкового матрикса М1 в вирионе. В частности, внутри белкового матрикса обнаруживались небольшие брешь, лишенные белка М1 [24, 25]. Такую брешь авторы связывали с участком отщуровывания при почковании вириона на плазматической мембране. Наши наблюдения формирования пузырей на поверхности вирионов в кислой среде полностью согласуются с таким предположением. Наиболее вероятно, такая брешь в М1-матриксе соответствует участку образования пузыря в вирионе при кислотной экспозиции. Именно по причине отсутствия белкового матрикса в зоне пузыря происходит его преимущественный разрыв по сравнению с соседними ригидными участками, покрытыми матриксом М1. Отсутствие матрикса М1 в зоне пузыря согласуется также с наблюдением отсутствия шипов HA и NA

на его поверхности, поскольку шипы этих гликопротеинов, как известно, закорены своими трансмембранными концами в белковый матрикс М1 [26].

### 3. Роль асимметричной структуры вируса на этапе внедрения в клетку и новые химиотерапевтические мишени

Главным механизмом внедрения вируса гриппа А в клетку-мишень при ее инфекции служит клатрин-зависимый клеточный рецепторный эндоцитоз [27]. В качестве возможных второстепенных механизмов для внедрения вируса гриппа А могут использоваться также пиноцитоз или кавеолин-зависимый путь [28]. В ходе рецепторного эндоцитоза вирус входит в фазу ранних эндосом, имеющих рН около 6,0, и далее переходит в поздние эндосомы с рН в диапазоне 4,4–5,0, где завершается процесс освобождения от липопротеидной оболочки и освобождения РНП. Вышедшие свободные РНП взаимодействуют с клеточными медиаторами («карго»), осуществляющими внутриядерный транспорт, и уже в ядре на матрице РНП начинается репликативная фаза синтеза вирусных РНК. Преодолевая последовательно фазу ранних и поздних эндосом, вирус гриппа претерпевает воздействие градиента рН от слабोकислого 6,0 до кислого 4,5. Более того, на этом маршруте вирус проходит смену концентрации  $K^+$  от низкой в ранних эндосомах до высокой в поздних эндосомах [29].

Преодолевая кислую среду эндосом и калиевый шифт, вирус гриппа должен избежать преждевременного закисления внутренней полости вириона, вызывающего дестабилизацию М1-РНП-связи и ингибирование его инфекционности (см. выше раздел 1). Чтобы согласовать эти, на первый взгляд, противоречивые данные, мы предположили, что М1-регулируемый транспорт РНП из головной части в анальный домен внутри вируса происходит на этапе ранних эндосом еще до момента более мощного закисления в поздних эндосомах (см. рис. 5). В поздних эндосомах происходит разрыв связи РНП с матриксом М1, который реализуется уже в анальном домене вириона в зоне пузыря и легко освобождает РНП для взаимодействия с клеточными белками-перевозчиками, осуществляющими его транспорт в клеточное ядро. Таким образом, асимметричная структура вируса позволя-

ет вирусному РНП до последнего момента оставаться в защищенном состоянии, что, вероятно, предохраняет его от контакта с клеточными антивирусными белками, так называемыми паттерн-распознающими рецепторами (PPR), включая RIG-I-хеликазы, TLR-рецепторы (toll-like receptors), NLR-рецепторы (nucleotide-binding and leucine-rich receptors) [30, 31].

Результаты, касающиеся быстрой потери инфекционности вируса под действием кислого pH 4,0–5,0, создают платформу для поиска и конструирования нового класса противовирусных химиопрепаратов, способных влиять на pH среды вне или внутри клетки-мишени. Это предположение вытекает из концепции об активной роли матричного белка M1 в выходе РНП из вирусной частицы и разрушении этого процесса при преждевременном закислении. К 1-й группе можно отнести вещества, способные понижать pH среды, в которой находится вирус, например в назобронхиальном сурфактанте, до 4,0–5,0. В этом случае продуцируемый эпителием вирус будет быстро инактивироваться и терять способность заражать новые клетки. 2-ю группу могут составить вещества, способные понижать кислотность ранних внутриклеточных эндосом. Логично предположить, что понижения pH эндосом можно достичь с помощью агентов, способных активировать АТФазный протонный насос ранних эндосом и уменьшать pH с 6,0 до 5,0 и ниже в этом клеточном компартменте. В этом случае у вируса гриппа при вхождении в клетку уже в зоне ранних эндосом будет реализовываться преждевременное разрушение связи M1-РНП, делающее невозможным выход РНП в поздних эндосомах и ведущее к инактивации вируса, как это представлено на рис. 5. По механизму действия активаторы протонного насоса можно рассматривать как патогенетические антагонисты таких препаратов, как амантадин и римантадин, которые, напротив, блокируя вирусные каналы M2, как бы замораживают дезинтеграцию вируса в клетке-мишени и останавливают инфекционный процесс [15].

### Заключение

Исследования последних лет позволяют рассматривать асимметричную структуру вируса гриппа А, состоящую из головного домена, в котором сконцентрирован комплекс из 8 сегментов вирусного РНП и локализованного на противоположном полюсе вириона кольцевого участка (анального домена), лишенного белкового матрикса M1 и окруженного по периферии скоплением белка M2 и, возможно, NA. Асимметричность структуры вируса гриппа А формируется в стадии сборки вируса на плазматической мембране клетки-мишени, когда комплекс РНП инициирует выпячивание и последующую инвагинацию вирусной частицы фрагментом клеточной липидной мембраны. Процесс выпячивания (budding) завершается перетяжкой мембраны и отшнуровыванием зрелой вирусной частицы от клеточной мембраны, его главным медиатором выступает вирусный белок ионного канала M2, а белок M1 образует кольцевую брешь (анус) в этом участке вирусной частицы. По этой причине зона ануса является наиболее слабым местом в вирусной оболочке. Анальный домен вируса может наиболее легко разрушаться при вхождении и разведении вируса в эндосоме клетки-мишени и через образовавшийся разрыв РНП выходит в цитоплазму и затем мигрирует в ядро, чтобы инициировать процесс вирусной репликации. Транспорт РНП из головного в анальный домен

вируса для выхода из вируса, вероятно, осуществляется матричным белком M1 (возможно, в кооперации с вирусным NEP). Этот транспорт РНП внутри вириона важен для запуска инфекции в клетке-мишени, и его повреждение ведет к потере вирусом инфекционности. Преждевременное закисление можно рассматривать как платформу для создания нового класса антивирусных химиопрепаратов.

*Автор благодарит проф. А.А. Манькина за помощь в проведении электронно-микроскопических исследований.*

**Автор посвящает статью памяти великого российского ученого – академика РАН Каверина Н.В.**

**Финансирование.** Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-001824, 16-54-12063.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА (пп. 2–12, 14–15, 17–31 см. REFERENCES)

1. Жирнов О.П., Букринская А.Г. Белки вируса гриппа. Включение вновь синтезированных вирусных белков в вирионы. *Вопросы вирусологии.* 1982; (5): 549–56.
13. Жирнов О.П., Манькин А.А. pH-зависимые перестройки в структуре вируса гриппа А. *Вопросы вирусологии.* 2014; 59 (3): 41–6.
16. Жирнов О.П. Белки вируса гриппа: соллобилизация *in vitro* матричного белка M1 вириона зависит от протеолитического нарезания гематоглинина и от pH. В кн.: Каверин Н.В., ред. *Молекулярная биология и генетическая инженерия вирусос.* М.; 1989: 50–7.

### REFERENCES

1. Zhirnov O.P., Bukrinskaya A.G. The proteins of influenza virus. Inclusion of newly synthesized viral proteins into virions. *Voprosy Virusologii.* 1982; (5): 549–56. (in Russian)
2. Kilbourne E.D., Murphy J.S. Genetic studies of influenza viruses. I. Viral morphology and growth capacity as exchangeable genetic traits. Rapid *in ovo* adaptation of early passage Asian strain isolates by combination with PR8. *J. Exp. Med.* 1960; 111: 387–406.
3. Roberts P.C., Lamb R.A., Compans R.W. The M1 and M2 proteins of influenza A virus are important determinants in filamentous particle formation. *Virology.* 1998; 240 (1): 127–37.
4. McCown M.F., Pekosz A. The influenza A virus M2 cytoplasmic tail is required for infectious virus production and efficient genome packaging. *J. Virol.* 2005; 79 (6): 3595–605.
5. Iwatsuki-Horimoto K., Horimoto T., Noda T., Kiso M., Maeda J., Watanabe S. et al. The cytoplasmic tail of the influenza A virus M2 protein plays a role in viral assembly. *J. Virol.* 2006; 80 (11): 5233–40.
6. Elleman C.J., Barclay W.S. The M1 matrix protein controls the filamentous phenotype of influenza A virus. *Virology.* 2004; 321 (1): 144–53.
7. Roberts K.L., Leser G.P., Ma C., Lamb R.A. The amphipathic helix of influenza A virus M2 protein is required for filamentous bud formation and scission of filamentous and spherical particles. *J. Virol.* 2013; 87 (18): 9973–82.
8. Bruce E.A., Digard P., Stuart A.D. The Rab11 pathway is required for influenza A virus budding and filament formation. *J. Virol.* 2010; 84 (12): 5848–59.
9. Choppin P.W., Murphy J.S., Tamm I. Studies of two kinds of virus particles which comprise influenza A2 virus strains. III. Morphological characteristics: independence to morphological and functional traits. *J. Exp. Med.* 1960; 112: 945–52.
10. McHardy A.C., Adams B. The role of genomics in tracking the evolution of influenza A virus. *PLoS Pathog.* 2009; 5 (10): e1000566.
11. Einfeld A.J., Neumann G., Kawaoka Y. At the centre: influenza A virus ribonucleoproteins. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13 (1): 28–41.
12. Zhirnov O.P., Klenk H.D., Wright P.F. Aprotinin and similar protease inhibitors as drugs against influenza. *Antiviral. Res.* 2011; 92 (1): 27–36.
13. Zhirnov O.P., Manykin A.A. pH-dependent adjustment in the

- structure of the influenza virus A. *Voprosy virusologii*. 2014; 59 (3): 41–6. (in Russian)
14. Zhirnov O.P., Manykin A.A. Abnormal morphological vesicles in influenza A virus exposed to acid pH. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015; 158 (6): 776–80.
  15. Pinto L.H., Lamb R.A. The M2 proton channels of influenza A and B viruses. *J. Biol. Chem.* 2006; 281 (14): 8997–9000.
  16. Zhirnov O.P. The proteins of influenza virus: solubilization in vitro matrix protein M1 virion depends on proteolytic cutting hemagglutinin and the pH. In: Kaverin N.V., ed. *Molecular Biology and Genetic Engineering of Viruses [Molekulyarnaya biologiya i geneticheskaya inzheneriya virusov]*. Moscow; 1989: 50–7. (in Russian)
  17. Zhirnov O.P. Solubilization of matrix protein M1/M from virions occurs at different pH for orthomyxo- and paramyxoviruses. *Virology*. 1990; 176 (1): 274–9.
  18. Zhirnov O.P. Isolation of matrix protein M1 from influenza viruses by acid-dependent extraction with nonionic detergent. *Virology*. 1992; 186 (1): 324–30.
  19. Yasuda J., Nakada S., Kato A., Toyoda T., Ishihama A. Molecular assembly of influenza virus: association of the NS2 protein with virion matrix. *Virology*. 1993; 196 (1): 249–55.
  20. Noda T., Sugita Y., Aoyama K., Hirase A., Kawakami E., Miyazawa A. et al. Three-dimensional analysis of ribonucleoprotein complexes in influenza A virus. *Nat. Commun.* 2012; 3: 639.
  21. Nayak D.P., Balogun R.A., Yamada H., Zhou Z.H., Barman S. Influenza virus morphogenesis and budding. *Virus Res.* 2009; 143 (2): 147–61.
  22. Rossman J.S., Lamb R.A. Influenza virus assembly and budding. *Virology*. 2011; 411 (2): 229–36.
  23. Rossman J.S., Jing X., Leser G.P., Lamb R.A. Influenza virus M2 protein mediates ESCRT-independent membrane scission. *Cell*. 2010; 142 (6): 902–13.
  24. Harris A., Cardone G., Winkler D.C., Heymann J.B., Brecher M., White J.M. et al. Influenza virus pleiomorphy characterized by cryoelectron tomography. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2006; 103 (50): 19123–7.
  25. Barman S., Nayak D.P. Lipid raft disruption by cholesterol depletion enhances influenza A virus budding from MDCK cells. *J. Virol.* 2007; 81 (22): 12 169–78.
  26. Ali A., Avalos R.T., Ponimaskin E., Nayak D.P. Influenza virus assembly: effect of influenza virus glycoproteins on the membrane association of M1 protein. *J. Virol.* 2000; 74 (18): 8709–19.
  27. Helenius A. Unpacking the incoming influenza virus. *Cell*. 1992; 69 (4): 577–8.
  28. Siczakarski S.B., Whittaker G.R. Influenza virus can enter and infect cells in the absence of clathrin-mediated endocytosis. *J. Virol.* 2002; 76 (20): 10 455–64.
  29. Stauffer S., Feng Y., Nebioglu F., Heilig R., Picotti P., Helenius A. Stepwise priming by acidic pH and a high K<sup>+</sup> concentration is required for efficient uncoating of influenza A virus cores after penetration. *J. Virol.* 2014; 88 (22): 13 029–46.
  30. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006; 124 (4): 783–801.
  31. Moore C.B., Ting J.P. Regulation of mitochondrial antiviral signaling pathways. *Immunity*. 2008; 28 (6): 735–9.

Поступила 23.07.15  
Принята в печать 19.11.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016  
УДК 615.371:578.823.91

*Алексеев К.П., Кальнов С.Л., Гребенникова Т.В., Алипер Т.И.*

## РОТАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ ЧЕЛОВЕКА. СТРАТЕГИИ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Ротавирус был впервые выделен в 1973 г. от больных диареей детей в Австралии. В развивающихся странах сотни тысяч детей ежегодно погибают от этого вируса, пик смертности приходится на самые бедные страны. По данным ВОЗ, ротавирусная инфекция уносит ежегодно около 440 тыс. детских жизней, являясь по важности третьей после пневмонии и малярии причиной смертности. Ротавирус распространен повсеместно и к 5 годам почти каждый ребенок на планете хотя бы раз сталкивался с этим патогеном. Ротавирус отличается высоким генетическим и антигенным разнообразием. Наибольшее значение для человека имеет ротавирус группы А, а наиболее распространенными на сегодняшний день генотипами являются G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] и в меньшей степени G12P[8]. Выделяют 3 устойчивых сочетания генов ротавируса, обозначаемых Wa, Ds-1 и AU-1. Предполагают их происхождение от ротавирусов свиней, крупного рогатого скота (КРС), собак и кошек соответственно. Описаны случаи межвидовых переходов ротавируса от животных к человеку. Первые вакцины против ротавирусной инфекции были основаны на естественно аттенуированном вирусе животного происхождения. Их эффективность, особенно в развивающихся странах, оказалась недостаточной, однако сегодня в Китае и Индии применяются вакцины на основе ротавирусов животного происхождения. Методом реассортации на основе ротавируса КРС WC3 была получена успешно применяемая сегодня пентавалентная вакцина против основных серотипов ротавируса человека RotaTeq. Способность ротавируса обеспечивать защиту и против гетерологичных изолятов учли при разработке другой вакцины – Rotarix, созданной на основе генотипа G1P1A[8]. Эффективность этих вакцин в развивающихся странах значительно снижена (до 51%), стоимость дозы высока, поэтому поиски более эффективных, безопасных и недорогих вакцин против ротавирусной инфекции продолжают во всем мире.

Ключевые слова: обзор; ротавирус; вакцина; межвидовые переходы.

*Для цитирования:* Алексеев К.П., Кальнов С.Л., Гребенникова Т.В., Алипер Т.И. Ротавирусная инфекция человека. Стратегии вакцинопрофилактики. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61 (4): 154–159. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-4-154-159

*Для корреспонденции:* Алексеев Константин Петрович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. прикладной вирусологии и биотехнологии, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, E-mail: kkendwell@mail.ru