

УДК 578.6

ВИРУСОЛОГИЯ

Ф. И. ЕРШОВ, А. Ф. БЫКОВСКИЙ, Л. В. УРЫВАЕВ, Т. М. СОКОЛОВА,
академик АМН СССР В. М. ЖДАНОВ

МОРФОЛОГИЯ ГИБРИДНЫХ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ (ПСЕВДОВИРУСОВ)

Как известно, в цитоплазматических экстрактах клеток животных содержится фракция высокомолекулярных белков, которая легко комплексируется с различными типами РНК и, в первую очередь, информационной РНК (¹). Ранее нами было установлено, что при добавлении инфекционной РНК вируса венозного энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ) к гиалоплазме (фракция S 105) фибробластов эмбриона кур наблюдается формирование гибридных РНК-комплексов (псевдовирюсов) (²). Последние состоят из вирусных РНК и белков клетки и отличаются от вирусных РНК седиментационным распределением, плавучей плотностью и

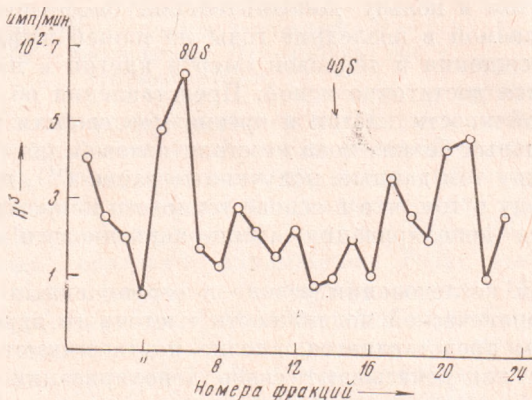


Рис. 1. Седиментационное распределение гибридных РНК комплексов в липейном градиенте плотности сахарозы 10—30% (центрифуга MSE Superspud-50, бакет-ротор 3 × 20 мл, 25 000 об/мин, 2,5 часа). В качестве маркера использовали меченую ³H-уридинную вирусную РНК, положение которой указано стрелкой

нечувствительностью к действию противовирусных антител. Вместе с тем они обладают инфекционной активностью (^{3,4}).

В настоящей работе методом электронной микроскопии изучены морфологические особенности псевдовирюсов. Инфекционную РНК вируса ВЭЛ выделяли из предварительно очищенного и концентрированного вируса фенол-детергентным методом при 65° (⁵). Для получения гиалоплазмы (фракция S 105) использовали дифференциальное центрифугирование (⁴). В ряде опытов белки, использовавшиеся для образования РНК-комплексов, очищали на колонках с ДЕАЕ-целлюлозой по методу (⁶).

В предварительных опытах было установлено, что оптимальное соотношение РНК : белок для получения комплексов составляет 1 : 4 (400 мкг РНК : 1,6 мг белка в пробе). После контакта инфекционной РНК вируса ВЭЛ с гиалоплазмой, образовавшиеся РНК-комплексы (псевдовирюсы) очищали центрифугированием в градиенте плотности сахарозы 10—30%, приготовленной на изотоническом фосфатном буфере (0,1 M NaCl, 0,01 M фосфатный буфер, pH 7,2). Фракции, соответствующие пику РНК-комплексов и имевшие коэффициент седиментации 80S (рис. 1), собирали, диализовали для освобождения от сахарозы и изучали под электронным микроскопом. В отдельных опытах фракции сахарозного градиента до-

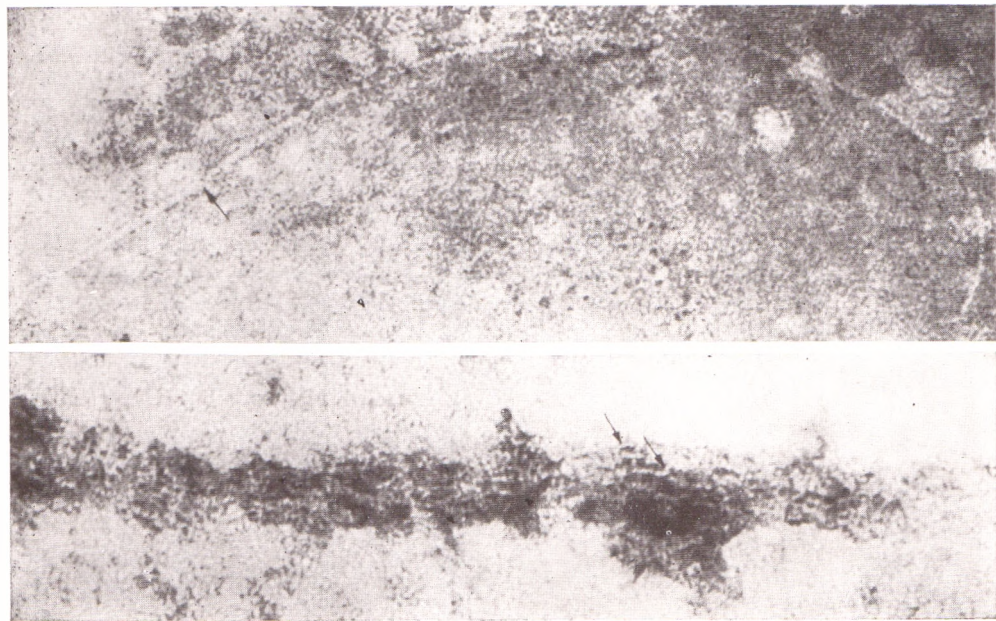


Рис. 2. Структура гибридных РНП комплексов. Вверху — тяж РНП (указано стрелкой), внизу — пучок ориентированных тяжей РНП. Фракции градиента сахарозы, соответствующие 80S, 400 000 \times

К статье В. М. Кочкиной и др., стр. 1211

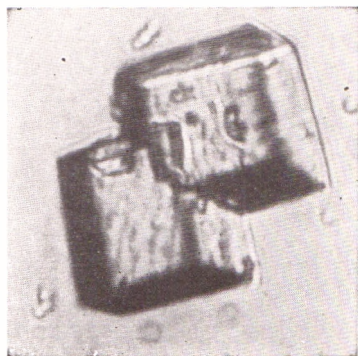


Рис. 1. Кристаллы аспартат-холо-трансаминазы. 400 \times

полнительно центрифугировали в градиенте плотности CsCl (ρ 1,2—1,6 г/см³). Комплексы оказались гетерогенными по плавучей плотности и давали основные пики в зоне 1,4 и 1,33 г/см³. Фракции градиента CsCl, содержащие РНП-комплексы, также исследовались под электронным микроскопом. Для этого материал наносили на формваровые пленки, контрастировали без предварительной фиксации или после 5-минутной фиксации в 1% глютаровом альдегиде на фосфатном буфере pH 7,2 1—3% водным раствором уранилацетата и изучали в электронном микроскопе JEM-7 при инструментальном увеличении 500 X и 700 X.

При электронномикроскопическом изучении гибридных РНП-комплексов (псевдовируса), полученных из градиентов сахарозы и CsCl, обнаружены единичные тяжи диаметром 25—30 Å (рис. 2, вверху) или пучки параллельно ориентированных тяжей того же диаметра (рис. 2, внизу). Указанные параметры и морфология искусственно полученных РНП-комплексов близки описанным ранее рибонуклеопротеидным структурам вируса ВЭЛ (⁷, ⁸) и отличаются от информофер (⁹).

Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
17 X 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. П. Овчинников, А. С. Спирин, Усп. совр. биол., 71, в. 1, 3 (1971).
² В. М. Жданов, Ф. И. Ершов, Л. В. Урываев, ДАН, 189, № 4, 882 (1969).
³ Ф. И. Ершов, В. М. Жданов, Л. В. Урываев, Вестн. АМН СССР, № 2, 32 (1971). ⁴ F. I. Jeršov, V. M. Zhdanov, L. V. Yuryayev, Arch. Ges. Virusforsch., 33, 1 (1971). ⁵ А. С. Агабалян, Л. К. Меньших, Ф. И. Ершов, Вопр. вирусол., № 5, 527 (1971). ⁶ D. Baltimore, A. S. Huang, J. Mol. Biol., 47, 263 (1970). ⁷ А. Ф. Вуковский, Ф. И. Ершов, В. М. Жданов, J. Virol., 4, 496 (1969). ⁸ А. Ф. Быковский, В. М. Жданов и др., Вопр. вирусол., № 2, 196 (1971). ⁹ О. П. Самарина, Е. М. Луканидин, Г. П. Георгиев, Молекулярная биология, 2, 79 (1968).