

В. М. АНДРЕЕВ, В. Б. ГРИГОРЬЕВ, С. М. КЛИМЕНКО

СТРОЕНИЕ КАПСИДА БАКТЕРИОФАГА Т2

(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 22 V 1975)

По теории Каспара и Клуга ⁽¹⁾, которая подтверждается экспериментом, капсиды вирусов должны состоять из идентичных, квазиэквивалентно упакованных структурных единиц, и только в вершинах капсида могут находиться структурные единицы иного типа. В согласии с этой теорией на поверхности капсида с помощью электронной микроскопии обычно можно выявить регулярно упакованные морфологические единицы, или капсомеры. Ряды капсомеров на поверхности головок фага Т2 впервые удалось обнаружить Байеру и Ремзену ⁽²⁾, которые применили метод замораживания-травления. В настоящей работе метод замораживания-травления был использован для более детального изучения поверхностной структуры головок фага Т2. Использовали специально сделанную приставку к установке вакуумного распыления ЖЕЕ-4С ⁽³⁾. Режим работы: время травления 4 мин. при давлении $3 \cdot 10^{-6}$ тор, температура образца -100° . Образец представлял собой суспензию нефиксированного фага в 0,05 М К-На-фосфатном буфере, рН 7 с 0,4 М NaCl. Нанпыление производили смесью платина — углерод под углом 30° , реплику затем укрепляли углеродом и очищали от органических остатков 70%-ной серной кислотой в течение 6 час. при комнатной температуре. Препараты исследовали в электронном микроскопе JEM-100В при ускоряющем напряжении 80 кв. Результаты представлены на рис. 1 (см. вкл. к стр. 695).

Из рис. 1 можно извлечь некоторые сведения о комбинаторном типе капсида фага Т2. Как известно ⁽¹⁾, для изометрического капсида его комбинаторный тип определяется тремя целыми числами $h_1 \geq 1$, $k_1 \geq 0$, $j \geq 1$, где h_1 и k_1 взаимно просты. Эти числа определяют класс капсида $P = h_1^2 + -h_1 k_1 + k_1^2$ и его триангуляционное число $T = Pf^2$. При $h_1 \neq k_1 = 0$ соответствующее T называется косым: при $h_1 > k_1$ — левым (l), при $h_1 < k_1$ — правым (d) ⁽⁴⁾. Можно показать, что для капсидов, вытянутых или сжатых в одном направлении, комбинаторный тип определяется пятью целыми числами $h_1 \geq 1$, $k_1 \geq 0$, $j \geq 1$, $Q \geq 0$, $g \geq 1$, где h_1 и k_1 взаимно просты и $1 \leq g \leq f$. Выражения для P и T остаются прежними. Числа h_1 , k_1 , f определяют строение пирамидальных шапочек капсида (пентагональных пирамид). Число Q , введенное Муди ⁽⁵⁾, определяет высоту экваториального пояса капсида. При $Q < Pf$ капсид будет сжатым, при $Q = Pf$ — изометрическим, при $Q > Pf$ — вытянутым. Числа Q и g определяют угол поворота одной пирамидальной шапочки капсида относительно другой шапочки. Для экспериментального определения чисел h_1 , k_1 , f необходимо найти взаимное расположение в мозаике капсомеров двух соседних вершин (т. е. морфологических единиц, окруженных пятью капсомерами), принадлежащих одной и той же пирамидальной шапочке капсида ⁽⁴⁾, а для определения Q и g — взаимное расположение двух соседних вершин из противоположных пирамидальных шапочек. Однако на полученных нами снимках вершины капсида не видны. Поэтому для оценки чисел, определяющих тип капсида, необходимо использовать другие подходы, которые излагаются ниже.

а) Оценка триангуляционного числа. На цилиндрическом экваториальном поясе капсида капсомеры образуют спиральные ряды,

идущие в трех различных направлениях (рис. 16, 2). Углы захода этих спиралей, т. е. углы, которые они образуют с линией экватора на поверхности капсида, равны следующим выражениям:

$$\lambda = \arccos \frac{2h_1 + k_1}{21P}, \quad \delta = 60^\circ - \lambda, \quad \gamma = 60^\circ + \delta.$$

Угол γ относится к спиральям с наибольшим углом захода: эти спирали могут быть либо левыми ($\gamma > 90^\circ$), либо правыми ($\gamma < 90^\circ$). Если γ -спирали являются левыми (правыми), то и T является левым (правым). Углы λ и δ относятся к двум остальным типам спиралей с меньшими углами захода: λ — к левым, δ — к правым спиральям. Особые случаи: 1) при $k_1 = 0$ ($P = 1$) $\lambda = 0^\circ$, $\delta = 60^\circ$; 2) при $k_1 = h_1 = 1$ ($P = 3$) $\lambda = \delta = 30^\circ$, $\gamma = 90^\circ$. Из рис. 1 и 2 ясно, что $\lambda \neq 0$, $\delta \neq 0$ и $\delta \neq \lambda$. Отсюда следует, что число T для фага T2 — косое. Для определения его знака отметим, что γ -спирали на капсидах имеют знак, противоположный знаку спиралей на хвостовом чехле (рис. 1). Если принять, что спирали на хвостовом чехле являются правыми (²), то γ -спирали на капсиде должны быть левыми, т. е. триангуляционное число для фага T2 является левым.

Рис. 2. Вид капсида фаговой вириона, показанной на рис. 16. Через диаметр капсомеров на экваториальном поясе проведены прямые, показывающие направления γ -, λ - и δ -спиралей. Проекцией показана ось капсида

и экваториальный пояс

Теперь покажем, как оценить величину T . Отметим, что заходности γ -, λ - и δ -спиралей (т. е. их суммарное число по всей окружности экваториального пояса) равны $n_\gamma = 5(h_1 + k_1)f$, $n_\lambda = 5k_1f$, $n_\delta = 5h_1f$. Через заходности можно выразить длину окружности капсида по экватору: $p = n_\gamma a_\gamma = n_\lambda a_\lambda = n_\delta a_\delta$. Здесь a_γ , a_λ , a_δ — расстояния между соседними γ -, λ -, δ -рядами, соответственно, на поверхности капсида по направлению, параллельному линии экватора. Фотография дает нам параллельную проекцию капсида на плоскость. Можно показать, что $5(W - 2c) \cdot 1.618 \leq p \leq 5W/1.538$, где W — ширина проекции капсида, c — толщина капсида. Отсюда следует, что

$$\begin{aligned} 0.618(W - 2c)/a_\gamma &\leq (h_1 + k_1)f \leq 0.650W/a_\gamma, \\ 0.618(W - 2c)/a_\lambda &\leq k_1f \leq 0.650W/a_\lambda, \\ 0.618(W - 2c)/a_\delta &\leq h_1f \leq 0.650W/a_\delta. \end{aligned} \quad (1)$$

При проектировании расстояния a_γ , a_λ , a_δ переходят в $\bar{a}_\gamma$, $\bar{a}_\lambda$, $\bar{a}_\delta$, которые уменьшаются по мере приближения к краям проекции капсида. Однако вблизи осевой линии проекции капсида величины $\bar{a}_i$ приблизительно равняются соответствующим a_i , независимо от угла наклона оси капсида к плоскости проекции. В таком случае для оценки чисел h_1 , k_1 , f в формулу (1) вместо a_γ , a_λ , a_δ можно подставить измеренные расстояния $\bar{a}_\gamma$, $\bar{a}_\lambda$, $\bar{a}_\delta$. Эти вычисления были сделаны для капсида, показанного на рис. 16. На этом снимке, к сожалению, видимые ряды капсомеров находятся сбоку от оси капсида, поэтому полученные оценки a_γ , a_λ , a_δ могут быть несколько занижены. Значение W взяли из того же снимка, разность $W - 2c$ заменили на $7/8W$, поскольку $c \approx 5$ нм (⁶), $W \approx 80$ нм. Получили результат: $h_1f = 2$, $k_1f = 3$, что дает $P = T = 19$, $f = 1$, $g = 1$. Если оценки расстояний a_γ , a_λ , a_δ были существенно занижены, то истинное T может равняться 13, если же на рис. 16 в действительности выявляется не вся ширина капсида (что кажется маловероятным), то T может оказаться равным 21. В любом случае остается в силе вывод, что $f = 1$, $g = 1$.

Независимую оценку T можно получить из литературных данных. Можно показать, что имеют место неравенства

$$\left(\frac{W-2c}{1,618a}\right)^2 \leq T \leq \left(\frac{W}{1,538a}\right)^2, \quad (2)$$

где a — расстояние между двумя соседними (эквивалентными) капсомерами. Примем $a=12$ нм ⁽⁷⁾, $c=5$ нм ⁽⁸⁾, $W=77$ нм ⁽⁸⁾ и $W=82$ нм ⁽⁹⁾. Подставив эти значения в формулу (2), получим: $11,9 \leq T \leq 17,4$ для $W=77$ нм, $13,7 \leq T \leq 19,8$ для $W=82$ нм. Объединив обе оценки, получим $11,9 \leq T \leq 19,8$. Таким образом, возможны следующие значения $T=13$, 19 , $(21?)$. Оценка $T=21$ получена в работе ⁽¹⁰⁾ на основании аналогичных, но менее строгих соображений.

б) Оценка Q . Для оценки Q можно воспользоваться следующими неравенствами (L — длина капсида):

$$\frac{L}{W} \leq 0,66 + 0,54 \frac{Q}{Pf} \leq \frac{L-2c}{W-2c}. \quad (3)$$

Примем $L=111-112$ нм, $W=79-82$ нм ⁽⁹⁾, т. е. $L/W=1,35-1,42$. Используя формулу (3), получим

$$\begin{aligned} \text{для } P=13 \quad & 16,6 \leq Q \leq 19,8 \quad Q=17, 18, 19, (20); \\ \text{для } P=19 \quad & 24,3 \leq Q \leq 28,9, \quad Q=25, 26, 27, 28, (29); \\ \text{для } P=21 \quad & 26,8 \leq Q \leq 31,9, \quad Q=27, 28, 29, 30, 31, (32). \end{aligned}$$

Когда настоящая работа была уже подготовлена к печати, нам стала известна аналогичная работа Брэнтона и Клуга ⁽¹¹⁾, где для фага T2 найдено: $T=13$, $Q=17$ (в статье ⁽¹¹⁾ ошибочно указано $Q=34$). Эти числа согласуются с нашими оценками, полученными другим методом. Брэнтону и Клугу удалось определить числа T и Q стандартным методом ⁽⁴⁾ благодаря тому, что головки фага на их снимках имели капсомеры характерной формы («брови»), отмечающие положения вершин капсида. На наших снимках таких капсомеров практически не было видно. Брэнтон и Клуг указали, что число T для фага T2 является правым. На приведенных ими снимках, как и в нашей работе, знак γ -спиралей на капсидах противоположен знаку спиралей на хвостовых чехлах. Следовательно, Брэнтон и Клуг считают, что спираль на хвостовых чехлах — левые (такое же утверждение сделано в предыдущей работе Клуга и Де Розье ⁽¹²⁾), по данным Байера и Ремзена ⁽²⁾, на которые мы опирались, они — правые. К сожалению, в работе Брэнтона и Клуга это противоречие не обсуждается.

Институт химической физики
Академии наук СССР

Поступило
17 V 1975

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

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ D. L. D. Caspar, A. Klug, Cold Spring Harb. Symp., v. 27, 1 (1962). ² M. E. Bayer, C. C. Remsen, Virology, v. 40, 703 (1970). ³ Э. И. Заичкин, Б. А. Фукс, Лаб. дело, т. 12, 741 (1971). ⁴ A. Klug, J. T. Finch, J. Mol. Biol., v. 11, 403 (1965). ⁵ M. F. Moody, Virology, v. 26, 567 (1965). ⁶ F. A. Eiserling, E. P. Geiduschek et al., J. Virol., v. 6, 865 (1970). ⁷ M. E. Bayer, A. F. Bocharov, Virology, v. 54, 465 (1973). ⁸ G. Mosig, J. R. Carnighan et al., J. Virol., v. 9, 857 (1972). ⁹ R. B. Luftig, J. Ultrastr. Res., v. 23, 178 (1968). ¹⁰ D. H. Walker jr., G. Mosig, M. E. Bayer, J. Virol., v. 9, 872 (1972). ¹¹ D. Branton, A. Klug, J. Mol. Biol., v. 92, 559 (1975). ¹² D. J. De Rosier, A. Klug, Nature, v. 217, 130 (1968).