

УДК 578.2

СТРУКТУРНО МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЧАСТИЦЫ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ И БАКТЕРИОФАГОВ СО СПИРАЛЬНОЙ СТРУКТУРОЙ. СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ

Обзор

© 2022 О.А. Кондакова, Е.А. Евтушенко*, О.А. Баранов, Н.А. Никитин, О.В. Карпова

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет
119234 Москва, Россия; электронная почта: trifonova.katerina@gmail.com

Поступила в редакцию 21.04.2022

После доработки 16.05.2022

Принята к публикации 16.05.2022

Структурно модифицированные частицы, полученные в процессе термического или химического воздействия на палочковидные или нитевидные вирионы вирусов растений и бактериофагов, в последнее время заслужили пристальное внимание исследователей как перспективные биогенные частицы для создания новых биотехнологий. В настоящем обзоре представлены литературные данные, посвящённые получению, структуре и свойствам структурно модифицированных частиц, в том числе их биобезопасности для животных, а также основные направления применения таких частиц в биомедицине. Отдельный раздел посвящён одному из наиболее актуальных и перспективных направлений использования структурно модифицированных вирусов растений – созданию вакцинных кандидатов на их основе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: структурно модифицированные вирусы, сферические частицы, вирусы растений, бактериофаги, вакцины, биотехнология, биомедицина.

DOI: 10.31857/S0320972522060033, **EDN:** AUCYWZ

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие структурно модифицированные частицы, полученные на основе вирусов растений или бактериофагов, становятся всё более привлекательной белковой платформой для различных применений в биотехнологии и биомедицине [1–8]. Такие частицы получают в процессе термического или химического воздействия на вирионы вирусов с палочковидной и нитевидной формой [9–12].

Изучение процесса происходящей структурной перестройки вирионов, свойств образующихся частиц, их взаимодействия с клетками/организмом млекопитающих имеют как фун-

даментальное, так и прикладное значение для создания новых биотехнологических платформ, в том числе для презентации антигенов, доставки лекарственных препаратов, получения биомаркёров.

Структурный переход от «палочек» к «сферам» для вируса табачной мозаики (ВТМ) (сем. *Virgaviridae*, род *Tobamovirus*) был впервые описан в 1956 г. Hart [13], однако детально изучен значительно позже на кафедре вирусологии биологического факультета МГУ [1, 10]. Эти исследования послужили толчком для дальнейших научных экспериментов и биомедицинских разработок в РФ и других странах [2–4, 7, 14–22]. Так, американские исследователи сообщили об использовании структурно модифицированных частиц ВТМ для создания контрастирующих агентов для магнитно-резонансной томографии (МРТ) [2], а также доставки лекарств к опухолевой ткани при химиотерапии [3].

Большинство результатов, связанных со структурно модифицированными вирусами, получено с использованием ВТМ, хотя возмож-

Принятые сокращения: БО – белок оболочки; ВМАльт – вирус мозаики альтернантеры; ВМД – вирус мозаики долихоса; ВТМ – вирус табачной мозаики; ВШМЯ – вирус штриховатой мозаики ячменя; МРТ – магнитно-резонансная томография; СЧ – структурно модифицированные частицы сферической формы; ХВК – Х-вирус картофеля, β -CD – β -циклодекстрин; Gd – ион гадолиния (III).

* Адресат для корреспонденции.

ность структурной модификации продемонстрирована и для других вирусов растений [11, 12, 23], а также для бактериофагов [9, 24].

Структурная модификация вирионов позволяет получить дополнительные фундаментальные знания о строении и стабильности вирусов, так как условия структурной модификации могут отличаться для вирусов с идентичной морфологией.

Настоящий обзор посвящён анализу накопившихся на текущий момент данных о структуре, свойствах, безопасности и возможностях практического применения структурно модифицированных вирусов растений и бактерий.

СТРУКТУРНО МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЧАСТИЦЫ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ

Структурно модифицированные частицы вируса табачной мозаики. Характеристика и свойства. Вирус табачной мозаики представляет собой палочковидный вирус длиной 300 нм и диаметром 18 нм. Капсид ВТМ состоит из 2130 идентичных субъединиц белка оболочки (БО), которые собираются вокруг вирусной одноцепочечной РНК, образуя спиральную структуру с центральной полостью диаметром 2 нм [25]. ВТМ — классический объект вирусологии с момента её возникновения и один из наиболее изученных вирусов. Исследования ВТМ в значительной степени определили фундаментальные представления современной молекулярной вирусологии. Накопленные знания позволили создать на основе ВТМ новые платформы для использования в прикладных целях — медицине и биотехнологии [26].

В 1956 г. Hart [13], изучая методом электронной микроскопии морфологические изменения, вызванные нагреванием препарата ВТМ, сообщил, что инкубация при температуре 80–98 °С в течение 10 с приводила к набуханию частиц ВТМ на одном или обоих концах с последующим превращением в «шаровидные частицы» (ball particles), причём объём частиц был сопоставим с объёмом исходной «палочки». Эти исследования не были продолжены и, можно сказать, про них «забыли» до 2011 г., когда была опубликована статья Atabekov et al. [10], в которой такие частицы вновь были получены и исследованы с использованием современных экспериментальных методов и подходов. Эта публикация стала первой в цикле работ, где были подробно изучены условия образования, физико-химические свойства и структура полученных в ходе термической перестройки ВТМ частиц, которые получили название «сферические частицы» (СЧ) или «spherical particles» (SPs) [1, 10, 27–31]. Проведённые исследования продемонстрировали, что в результате термического воздействия на нативные частицы вируса могут быть получены СЧ ВТМ заданного размера. Структурно модифицированные частицы ВТМ изучались с использованием различных методов (электронная микроскопия, метод анализа траекторий наночастиц, метод динамического рассеяния света), дополняющих друг друга, что позволило дать точную характеристику СЧ. Структурный переход вирионов ВТМ в СЧ происходит через промежуточные формы. На первом этапе формируются гантелевидные структуры, которые в дальнейшем трансформируются в сферические частицы. СЧ ВТМ являются однородными по форме и обладают высокой ста-

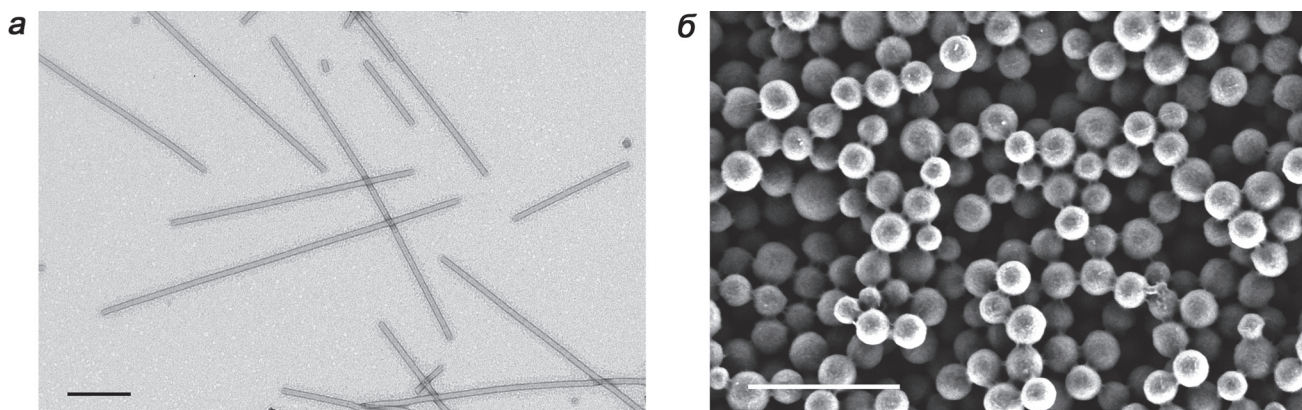


Рис. 1. Структурно модифицированные частицы, полученные при термической перестройке вирионов ВТМ. *а* — ВТМ, просвечивающая электронная микроскопия, контрастирование 2%-ным раствором уранилацетата, размер метки — 200 нм; *б* — СЧ ВТМ, сканирующая электронная микроскопия, размер метки — 2 мкм. Изображения получены на кафедре вирусологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

бильностью. Они не образуют агрегатов и не меняют размеры и формы при хранении в течение не менее 6 месяцев, а также при различных воздействиях, включая осаждение центрифугированием при 10 000 g, повторный нагрев до температуры 98 °С и охлаждение, многократное замораживание до –20 °С с последующим оттаиванием [10]. В ряде работ продемонстрирована возможность получения СЧ ВТМ в препаративных количествах [19, 32]. Важным свойством СЧ ВТМ является то, что их размеры зависят от концентрации исходного препарата вируса, что позволяет получать СЧ ВТМ заданного диаметра (рис. 1) [10, 32].

В отличие от вирионов ВТМ, СЧ ВТМ не содержат РНК, а белок, выделенный из них, не может быть собран в регулярную структуру, что указывает на то, что термическая денатурация является необратимой [10]. Структурные характеристики белка СЧ ВТМ, полученные методами кругового дихроизма, спектроскопии комбинационного рассеяния и флуоресцентной спектроскопии, имеют значительные отличия от структуры БО в составе нативного ВТМ. Перестройка вирионов ВТМ в СЧ сопровождается увеличением плотности частиц и переходом субъединиц БО к структуре с низким содержанием α -спиралей и значительной долей β -структур. СЧ ВТМ также демонстрируют сильную реакцию с тиофлавином Т, что свидетельствует о появлении кросс- β -структур [28]. Сравнительное исследование аминокислотного состава поверхности СЧ и вирионов ВТМ методом тритиевой планиграфии установило, что сборка из термически денатурированных белковых субъединиц делает поверхность СЧ существенно более гидрофобной [31]. Таким образом, в условиях термической денатурации субъединицы БО ВТМ приобретают специфическую конформацию, благоприятную для сборки стабильных СЧ, при этом аминокислотный состав поверхности СЧ значительно отличается от вирионов ВТМ.

В результате термической перестройки СЧ ВТМ приобретают свойства отличные от вирионов, в частности, уникальные адсорбционные возможности. СЧ ВТМ обладают способностью адсорбировать на своей поверхности белковые молекулы различного размера и состава (в том числе антигены патогенов человека), полимеры и нативные вирусные частицы небольшого размера сферической формы [1, 4, 7, 27, 29, 30, 33–35]. При этом процесс получения комплексов СЧ с целевыми агентами чрез-

вычайно прост и представляет собой короткую инкубацию (10–15 мин), необходимую для связывания молекул или вирионов с поверхностью СЧ за счёт нековалентных связей. Другое свойство СЧ ВТМ, продемонстрированное нашей группой в нескольких работах, – усиление иммунного ответа на антигены различной природы и молекулярной массы, адсорбированные на их поверхности [1, 4, 7, 34].

Все эти свойства позволили рассматривать возможность использования СЧ ВТМ как биогенной белковой платформы и разрабатывать подходы для их практического применения.

Применение СЧ ВТМ при создании вакцинных препаратов. Ключевой особенностью современной вакцинологии, которая широко использует рекомбинантные бактериальные и вирусные антигены, является поиск новых безопасных адъювантов с целью улучшить иммуногенность антигенов, снизить дозу активных веществ вакцины и стоимость её производства. Адъюванты не только усиливают иммунный ответ и его продолжительность, но также могут влиять на тип ответа (гуморальный и/или клеточный). Известно, что адъюванты стимулируют иммунный ответ на различные антигены с различной эффективностью и, как сообщается, например, для адъювантов на основе соединений алюминия, в некоторых случаях являются малоэффективными [36–39].

СЧ ВТМ, безусловно, имеют потенциал для разработки вакцин и были использованы для получения комплексов с рекомбинантными антигенами коронавируса [7], вируса краснухи [4], ротавируса [40], возбудителя сибирской язвы [35] и вируса птичьего гриппа [41] (табл. 1).

Полученные комплексы СЧ ВТМ с антигенами (вакцинные кандидаты) находятся на различных стадиях разработки, но во всех случаях методами флуоресцентной микроскопии, иммуноэлектронной и/или иммунофлуоресцентной микроскопии показана возможность адсорбции рекомбинантных антигенов и антигенная специфичность белков в составе комплексов. В недавно опубликованной работе СЧ ВТМ использованы в качестве платформы (депо) и адъюванта при разработке вакцины против COVID-19. Показано, что СЧ ВТМ значительно усиливают иммуногенность (общие титры IgG) рекомбинантных антигенов в составе композиций и способствуют стимуляции сбалансированного Th1/Th2-иммунного ответа. Вакцинный кандидат при иммунизации сирийских хомяков индуцирует выработку антител, ней-

Таблица 1. Прототипы вакцинных кандидатов, полученных с использованием СЧ ВТМ

Вакцинный кандидат	Валентность	Антиген	Ссылки
Вирус краснухи	моновалентная	эпитоп белка E1	[4]
Вирус гриппа птиц	поливалентная	эпитопы белков HA и M2	[41]
Вирус бешенства	моновалентная	инактивированный вирион	[42]
Ротавирус	моновалентная	эпитоп белка VP6	[40]
Вирус Пуумала (хантавирус)	моновалентная	инактивированный вирион	[38]
Коронавирус SARS-CoV-2	поливалентная	RBD-домен, консервативные фрагменты S2-субъединицы	[7]
Бактерия <i>Bacillus anthracis</i>	моновалентная	протективный антиген – PA	[35]

трализирующих SARS-CoV-2, что свидетельствует о перспективности данного подхода [7]. В других исследованиях также показаны адъювантные свойства СЧ ВТМ. Вакцинный кандидат против краснухи, представляющий собой комплексы антигена (тетраэпитопа А гликопротеина E1) с СЧ ВТМ, обеспечивал значительное увеличение титров антител (примерно в 10 раз) по сравнению с иммунизацией только одним антигеном или смесью антигена с адъювантом на основе гидроксида алюминия [4]. В настоящее время успешно завершены доклинические испытания вакцинного кандидата против краснухи на основе СЧ ВТМ.

СЧ значительно усиливают гуморальный иммунный ответ при иммунизации животных инактивированной вакциной против вируса Пуумала и обладают адъювантной активностью в отношении продукции цитокинов IL-12 и IFN- γ [38]. Показано, что СЧ усиливают протективные свойства широко используемой российской безадъювантной антирабической вакцины «Рабикан», полученной из инактивированного вируса бешенства. Результаты продемонстрировали усиление протективной активности вакцины «Рабикан» при совместном применении с СЧ ВТМ, сопоставимое с эффектом неполного адъюванта Фрейнда [42] (табл. 1).

В ряде работ продемонстрировано, что при иммунизации животных вакцинными кандидатами на основе СЧ ВТМ большая часть антител вырабатывается на целевой антиген, а не на белковую частицу, используемую в качестве адъюванта [4, 7].

Другое применение СЧ ВТМ при разработке вакцинных препаратов – использование

их для стабилизации антигенов при хранении. Известно, что белки – компоненты лекарственных препаратов – могут подвергаться спонтанной деградации в процессе производства и хранения. В наших работах, в частности, продемонстрирована возможность стабилизации протективного антигена – основного антигена возбудителя сибирской язвы – за счёт адсорбции на поверхности СЧ ВТМ. Рекомбинантный протективный антиген (rPA) является главным компонентом практически всех разрабатываемых в настоящее время вакцин. Нестабильность этого белка связана главным образом с наличием сайтов протеолиза и спонтанным дезамидированием остатков аспарагина в составе белка, что приводит к его деградации. Скорость дезамидирования значительно увеличивается, когда гидроксид алюминия используется в качестве адъюванта, что в конечном итоге значительно снижает протективные свойства вакцин при хранении и клинических применениях [43, 44]. В проведённых исследованиях показано, что rPA с внесёнными аминокислотными заменами сайтов, ответственных за дестабилизацию белка, и адсорбированный на поверхности СЧ ВТМ проявляет высокую стабильность при хранении [8, 35].

Применение СЧ ВТМ в качестве носителя для функционально-активных молекул и в противоопухолевой терапии. В ряде исследований разработаны методы для ковалентного связывания функционально активных молекул с СЧ ВТМ, а также методы их инкапсуляции во время термической перестройки.

В работе исследовательской группы под руководством Dr. N.F. Steinmetz показана способность эффективной биоконъюгации за счёт

функциональных групп аминокислотных остатков лизина (аминогруппа), аспарагиновой и глутаминовой кислот (карбокисильная группа) и цистеина (тиоловая группа) на поверхности СЧ ВТМ [3]. Химическая модификация СЧ ВТМ расширяет возможности их применения при создании комплексов с функционально-активными соединениями для различных биомедицинских приложений. Так, показана возможность конъюгации СЧ ВТМ за счёт ковалентного связывания карбокисильной группы глутаминовых кислот с химиотерапевтическим препаратом доксорубицином. Параллельно авторы проверяли возможность нековалентной инкапсуляции доксорубицина при его простом добавлении к вирионам ВТМ в процессе термической перестройки. При использовании двух линий раковых клеток молочной железы оба подхода продемонстрировали эффективную доставку лекарственного препарата (поглощение клетками) и уничтожение раковых клеток.

В другой работе той же группой учёных проведён сравнительный анализ способности вирионов ВТМ и СЧ ВТМ стимулировать противоопухолевый ответ на клетках меланомы В16F10, высокоагрессивной и слабоиммунной модели опухоли, широко используемой для исследований различных препаратов в иммунотерапии [22]. Ранее на этой модели была показана противоопухолевая активность различных вирусов растений, от икосаэдрического вируса мозаики коровьего горошка (ВМКГ) до нитевидных X-вирусов картофеля (ХВК) и вируса мозаики папайи [45–47]. На экспериментальной мышинной модели с индуцированной меланомой продемонстрировано, что интратуморальное введение суспензии ВТМ и СЧ ВТМ приводит к снижению скорости роста опухоли и увеличению времени выживания животных. Однако сравнительный анализ обоих препаратов на основе ВТМ показал более низкую эффективность в экспериментах по сравнению с ВМКГ. Тем не менее авторы отмечают, что в работе использованы СЧ ВТМ с достаточно большим диаметром частиц для подобных исследований (около 250 нм), и допускают формирование более эффективной защиты при использовании частиц меньшего размера [22].

В работе Wu et al. [20] использован β -циклодекстрин (β -CD) для химической модификации поверхности вирионов ВТМ. При термической перестройке таких частиц образовывались СЧ, имеющие средний диа-

метр 88 нм. Продемонстрирована возможность образования комплекса СЧ, модифицированного β -CD, с адамантаном (химическое соединение и его аналоги, применяемые в терапии различных заболеваний) [20]. Учитывая тот факт, что ранее эти же авторы изучили возможность сборки подобных комплексов на основе модифицированных β -CD нативных вирионов ВТМ, в которые, помимо адамантана, входили фолиевая кислота, родамин В, доксорубицин и полиэтиленгликоль [48], учёные предположили, что такой подход имеет перспективы для сборки супрамолекулярных комплексов.

В ряде работ продемонстрирована возможность иммобилизации наночастиц золота и серебра на поверхности СЧ ВТМ [21, 49]. Результаты этих исследований могут иметь потенциальное применение, например, при разработке биосенсоров, а также в противоопухолевой и антибактериальной терапии. К сожалению, несмотря на представленные результаты, демонстрирующие возможность модификации поверхности СЧ ВТМ различными металлами, новые публикации этих научных коллективов отсутствуют. Многообещающие результаты по иммобилизации на поверхности СЧ ВТМ ионов металлов получены научной группой под руководством Dr. N.F. Steinmetz. Учёные модифицировали внутреннюю поверхность вирионов ВТМ хелатными комплексами гадолиния (III) (Gd), широко используемыми в клинической практике в качестве контрастных агентов при проведении МРТ. Полученные комплексы СЧ ВТМ–Gd (диаметром 170 нм) обеспечивали более высокое время релаксации по сравнению со свободным хелатным комплексом Gd и ВТМ–Gd, сопоставимое с такими высоко контрастирующими агентами для МРТ, как синтетические дендримеры, конъюгированные с хелатным комплексом с Gd [2, 14]. Чтобы пролонгировать действие таких комплексов в организме, учёные покрыли комплексы СЧ ВТМ–Gd (диаметром 75 нм) биологически инертным и стабильным кремнезёмом (диоксид кремния). Минерализация СЧ ВТМ–Gd привела к почти трёхкратному увеличению времени релаксации. При этом такие комплексы, в отличие от СЧ ВТМ–Gd без кремнезёма, быстрее поглощались макрофагами и были защищены от распознавания антител. Авторы заключили, что СЧ ВТМ–Gd, покрытые кремнезёмом, могут найти применение в МРТ-диагностике заболеваний, связанных с воспалительным процессом [18].

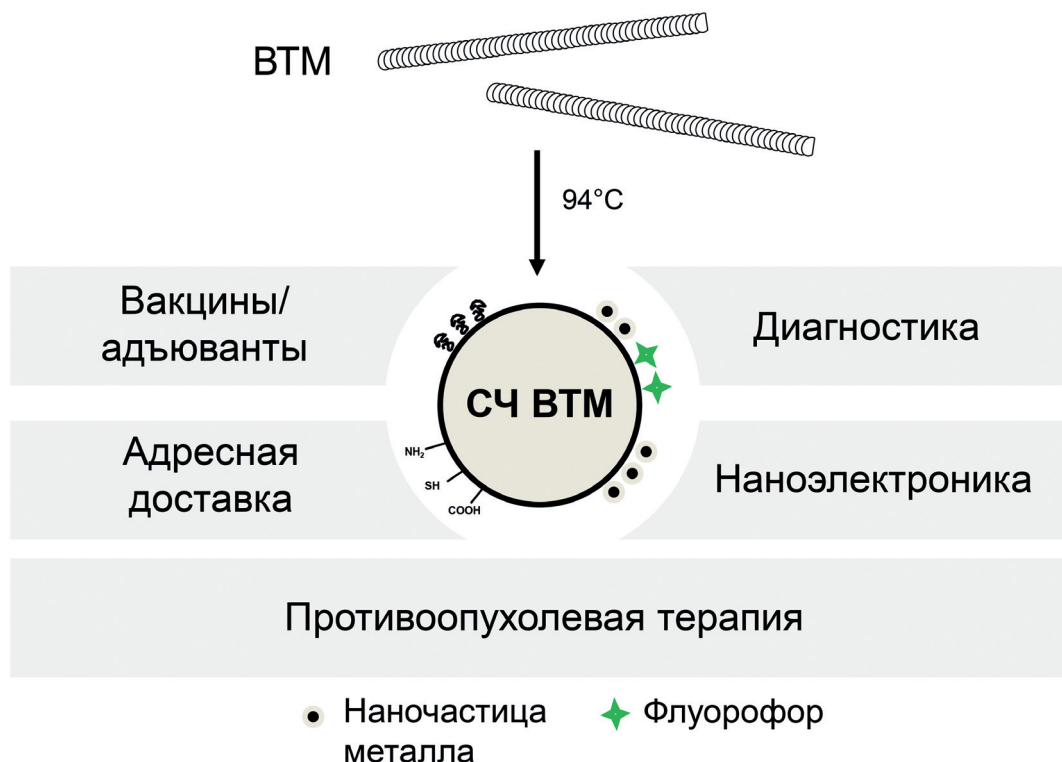


Рис. 2. Возможные области применения СЧ ВТМ

При исследовании возможных применений СЧ ВТМ в биотехнологии и медицине используется большой арсенал подходов, ранее опробованных и изученных на примере различных вирионов вирусов растений. Способность СЧ ВТМ проникать в клетки вместе с возможностью химической биоконъюгации и нековалентной инкапсуляции различных терапевтически значимых соединений позволяют рассматривать их как привлекательную платформу для доставки лекарственных и маркерных средств и могут найти своё применение в медицине. Основные возможные направления практического применения СЧ ВТМ представлены на рис. 2.

Структурно модифицированные частицы на основе вирусов растений с различной морфологией. В настоящее время именно ВТМ чаще других фитовирусов представлен в биотехнологических и биомедицинских исследованиях. Однако и другие вирусы растений, обладающие отличной от ВТМ морфологией/строением, могут быть структурно модифицированы при физическом воздействии. Структурно модифицированные частицы сферической формы были получены при термической обработке палочковидных вирионов представителя рода тобамовирусов — вируса мозаики долохо-

са (ВМД), гордеивирусов — вируса штриховатой мозаики ячменя (ВШМЯ) [23], нитевидных вирионов потивирусов — А-вируса картофеля (АВК) [50] и потексвирусов: вируса мозаики альтернантеры (ВМАльт) [12] и Х-вируса картофеля (ХВК) [11]. Следует отметить, что попытки воздействовать температурой на вирионы вирусов растений с икосаэдрическим типом симметрии не увенчались успехом. Так, при термической обработке сферических вирионов вируса мозаики цветной капусты (ВМЦК) и вируса мягкой мозаики фасоли (ВММФ) структурная модификация не происходит, изменений в морфологии и размерах вирионов не обнаружено [23].

Термическая перестройка вирионов у других фитовирусов с палочковидной или нитевидной формой, относящихся к различным таксономическим группам, в сферические частицы происходит так же, как и у ВТМ: в два этапа через образование промежуточных форм. Полная структурная перестройка у ВШМЯ, ВМД и ВМАльт происходит при температуре 94 °С, а у ХВК — при 90 °С (табл. 2).

Различия в температурах и условиях термической перестройки морфологически сходных вирусов растений (ХВК и ВМАльт) свидетельствуют о различиях в структуре и стабиль-

Таблица 2. Возможность термической перестройки вирусов растений и свойства СЧ, полученных из них

Название	ВТМ	ВМД	ВШМЯ	ВМАльт	ХВК	АВК	ВММФ	ВМЦК
Семейство, Род	Virgaviridae, <i>Tobamovirus</i>	Virgaviridae, <i>Tobamovirus</i>	Virgaviridae, <i>Hordeivirus</i>	Alphaflexi- viridae, <i>Potexvirus</i>	Alphaflexi- viridae, <i>Potexvirus</i>	Potyviridae, <i>Potyvirus</i>	Tombus- viridae	Caulimo- viridae, <i>Caulimovirus</i>
Морфология вириона	палочко- видный	палочко- видный	палочко- видный	нитевидный	нитевидный	нитевидный	сфери- ческий	сфери- ческий
Геном	РНК	РНК	РНК	РНК	РНК	РНК	РНК	ДНК
Трансформация в СЧ	да	да	да	да	да	да	нет	нет
Температура структурного перехода, °С	94	94	94	94	90	60*	—	—
Зависимость размера от концентрации	да	да	нет	да	да	н/а	—	—
Наличие в СЧ кросс-β- структур	да	н/а	н/а	да	да	да	—	—
Изменение аминокислот- ного состава поверхности	да	н/а	н/а	да	н/а	н/а	—	—
Адсорбционные свойства	да	н/а	н/а	да	да	н/а	—	—

Примечание. н/а – не анализировали.

* Условия формирования СЧ отличаются от условий получения СЧ из других вирусов растений.

ности вирионов. Для СЧ ХВК и СЧ ВМАльт показано, что они не содержат РНК. Исследования структуры белка в составе СЧ ХВК и СЧ ВМАльт выявили различия во вторичной и третичной структурах БО СЧ и БО в нативных вирионах [11, 12]. Аналогично в СЧ ВТМ структурный переход сопровождается появлением большего количества β-структур в составе белка по сравнению с вирионами. Проанализированы адсорбционные свойства СЧ и способность связывать модельные антигены на своей поверхности. Полученные характеристики СЧ ХВК и СЧ ВМАльт указывают на потенциальную возможность их применения в качестве платформ для презентации целевых антигенов и создания функционально активных комплексов. Также для СЧ ВМАльт показано наличие химически реактивных поверхностных аминокислот [12].

Исследования структурно модифицированных частиц сферической формы, полученных из различных представителей фитовирусов, должны быть продолжены. Весьма вероятно, что их свойства и особенности, отличающие их от СЧ ВТМ, найдут своё применение при создании биогенных платформ и дадут дополнительную информацию о строении вирионов.

Безопасность применения СЧ. Вирусы растений безопасны для млекопитающих, они не являются для них патогенными и не могут размножаться в клетках человека [51]. В исследовании *in vitro* возможности биодеградации белка в составе СЧ продемонстрировало, что СЧ ВТМ подвергаются полному протеолизу в присутствии протеиназы К, в то время как нативные вирионы остаются устойчивыми к воздействию фермента [27]. Исследование профиля биораспределения СЧ ВТМ с диаметром около 50 нм

у мышей показало, что они накапливаются преимущественно в селезёнке и печени через 4 ч после инъекции и выводятся из циркуляции макрофагами. Через 24 ч после введения СЧ не обнаруживаются в тканях животных, что даёт преимущество перед синтетическими материалами небиологического происхождения, которые могут сохраняться в тканях в течение длительного периода и биодegradация которых сопровождается побочными продуктами, приводящими к индукции окислительного стресса, а также апоптоза [52]. СЧ ВТМ демонстрируют хорошую совместимость с кровью (не вызывают гемолиз или свёртывание) и тканями (отсутствие признаков воспаления, апоптоза, дегенерации или некроза) [15]. В результате дальнейших исследований, проведённых на трёх видах животных (мыши, крысы, кролики), при введении СЧ ВТМ диаметром 300 нм внутримышечно или внутрибрюшинно установлено, что СЧ не обладают токсичными свойствами. Оценка включала доклинические исследования местной переносимости после однократного введения, а также местных и системных эффектов после многократного введения СЧ, в том числе физиологические, гистологические и гематологические изменения, а также исследования токсичности для репродуктивной системы [53, 54]. Безопасность СЧ в составе вакцинного кандидата против краснухи также продемонстрирована в доклинических исследованиях на трёх видах животных (мыши, крысы, кролики) [4].

Таким образом, в ряде работ показано, что СЧ ВТМ биологически совместимы с клетками животных, биоразлагаемы и безопасны.

СТРУКТУРНО МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЧАСТИЦЫ БАКТЕРИОФАГОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

Возможность получения структурно модифицированных сферических частиц продемонстрирована для бактериофага М13 (семейство *Inoviridae*, род *Inovirus*). Вирионы М13 имеют нитевидную форму длиной 880 нм и диаметром 6,5 нм [55]. В состав вириона бактериофага М13 входит одноцепочечная кольцевая ДНК (6407 нт), которая упакована примерно в 2700 копий основного белка капсида р8 [5, 24, 56]. Белок р8 практически на 100% состоит из α -спиралей [9]. В состав капсида также входят минорные белки р3, р6, р5 и р9 [5]. Интересно

отметить, что в данном случае структурный переход происходил не под воздействием высокой температуры, а при кратковременной обработке суспензии фаговых частиц равным объёмом хлороформа при температуре 24 °С [9]. Возможность структурной модификации также продемонстрирована и для других представителей рода *Inovirus*: для бактериофагов fd и f1 [24, 57]. Показано, что при обработке хлороформом происходят изменения в гидрофобных взаимодействиях между субъединицами белка р8, а 2/3 вирусной ДНК высвобождается через пору, образованную пятью субъединицами минорного белка р3. Таким образом, обработка хлороформом вирионов нитевидных бактериофагов приводит к формированию сферических частиц с асимметричным расположением белков р8 и р3 [5, 9, 57]. Размер сферических частиц, формирующихся в результате структурной перестройки бактериофага М13 (СЧ М13), по данным просвечивающей электронной микроскопии, составляет около 39 нм и сохраняется стабильным в течение 12 ч при инкубации во льду или при комнатной температуре. Однако при более длительной инкубации размер СЧ М13 становится более переменным и может увеличиваться [24]. При структурной модификации М13, как и в случае с белком оболочки ВТМ, наблюдается понижение содержания α -спиралей в составе белка р8 [9]. Контрастирование сферических частиц, образующихся из фага М13 (СЧ М13), с помощью фосфовольфрамовой кислоты позволило продемонстрировать наличие полости в данных наночастицах [24]. Следует отметить, что СЧ ВТМ, в отличие от СЧ М13, не являются полыми [32]. Понижение температуры обработки хлороформом до 2 °С позволило зафиксировать образование промежуточной формы при структурном переходе нитевидных вирионов в СЧ М13. Переходная форма представлена палочковидной частицей длиной 250 нм и шириной 15 нм, имеющей полый центральный канал и уширение на одном конце, увеличение которого впоследствии и приводит к формированию сферической частицы [9].

Возможность структурной модификации нитевидных бактериофагов под действием хлороформа была продемонстрирована ещё в начале 80-х гг. XX века [9]. Однако только в 2007 г. появилась публикация Olsen et al. [58], посвящённая возможности использования сфероидов из нитчатых бактериофагов семейства *Inoviridae* в качестве компонентов биосенсоров



Рис. 3. Возможные области применения СЧ М13

к *Salmonella typhimurium*. Для этого методом фагового дисплея были получены нитчатые бактериофаги, аффинные к *S. typhimurium*, которые после обработки хлороформом превращались в сферические частицы. Полученные СЧ в дальнейшем использовались для создания аффинного монослоя биосенсора. Описанная выше работа, а также ряд публикаций по СЧ ВТМ и демонстрации их биотехнологического потенциала возродили интерес к СЧ на основе нитчатых бактериофагов [1, 2, 10, 58]. Группой учёных из университета Калифорнии опубликован ряд работ, посвящённых получению и применению СЧ М13, аффинных к золоту [6, 55, 59]. Для промежуточных форм СЧ М13 и для СЧ М13, покрытых золотом, продемонстрирована возможность выступать в качестве фототермически индуцированного антибактериального агента на примере клеток *Escherichia coli*. Интересно, что размер образующихся промежуточных форм (161 ± 33 нм) и СЧ (60 нм), несущих в составе белка р8 пептид, аффинный к золоту, отличался от СЧ и промежуточных форм из нативного М13. Стоит отметить, что минорный белок капсида р3 в составе промежуточных форм и СЧ М13 сохраняет свою способность к связыванию с рецепторами *E. coli*,

что позволяет рассматривать данные частицы в качестве направленного антибактериального агента, способного осуществлять фототермический лизис бактериальных клеток. Авторы данного исследования предполагают, что, модифицируя белок р3, можно расширить спектр бактерий, с которыми будут связываться структурно модифицированные частицы на основе М13, покрытые золотом [6]. В другой работе этой же научной группы благодаря одновременной модификации белков р8 (модифицирован пептидом, аффинным к золоту) и р3 (модифицирован пептидом, аффинным к цинку) бактериофага М13 и последующей обработке хлороформом удалось получить бифункциональные СЧ М13. В дальнейшем на поверхности бифункциональных СЧ М13 проводился синтез Au и ZnS, и таким образом были получены гибридные наноструктуры, асимметрично покрытые золотом и сульфидом цинка [5]. Ранее было показано, что наночастицы Au/ZnS могут рассматриваться в качестве регенерируемых катализаторов для фотокаталитических реакций [60].

Принимая во внимание рассмотренные результаты, можно предположить, что СЧ, полученные путём обработки нитевидных бак-

териофагов семейства Inoviridae, могут найти применение при разработке бактерицидных агентов, биосенсоров для диагностики, а также в качестве каркаса для создания гибридных наноструктур (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Через полвека после обнаружения структурной перестройки при термической обработке палочковидных вирионов ВТМ в частицы сферической формы интенсивное развитие биомедицины вызвало интерес к более детальному изучению данного феномена и привело к многочисленным публикациям, посвящённым свойствам и применению структурно модифицированных вирусных частиц. Изучение условий и особенности структурной модификации морфологически сходных вирусных частиц может позволить получить важные фундаментальные знания о строении, структуре и стабильности вирионов. Основные исследования, посвящённые характеристике и потенциальным областям применения структурно модифицированных частиц вирусов растений, выполнены на СЧ ВТМ. Уникальные адсорбционные свойства СЧ ВТМ и эффективные иммуностимулирующие свойства, а также широкие возможности модификации поверхности СЧ ВТМ делают их перспективной платформой для создания различных биотехнологий. Важную роль для возможного использования СЧ в медицине играют такие свойства, как биосовместимость, безопасность и биоразлагаемость. В литературе описаны результаты исследований, убедительно продемонстрировавшие, что СЧ ВТМ обладают противоопухолевой активностью, могут стать платформой/адъювантом для создания вакцинных кандидатов против вирусных и бактериальных инфекций, а также найти применение в диагностике и микроэлектронике.

Однако не стоит ограничивать исследования возможности применения структурно модифицированных вирусных частиц только СЧ ВТМ. Нельзя исключить, что подобные частицы, полученные из вирионов других вирусов растений, позволят получить биогенные платформы с новыми свойствами, отличными от СЧ ВТМ. Простота выделения и очистки вирусов растений, потенциальные возможности масштабирования их коммерческого производства, а также безопасность для человека и животных представляют собой важные преи-

мущества СЧ вирусов растений по сравнению с другими биополимерами и синтетическими наноматериалами.

Помимо структурно модифицированных частиц вирусов растений, внимания заслуживают работы по получению СЧ из нитевидных бактериофагов. Был предложен целый ряд направлений их возможного применения. Так, СЧ М13 представляют особый интерес в качестве фототермических бактерицидных агентов и каркаса/носителя для создания комплексов с различными соединениями металлов. Уже появились эффективные методы получения бактериофага М13 в необходимых для практического использования количествах и с высокой степенью очистки [61], что позволяет рассматривать его как перспективный объект для будущих разработок.

Стоит отметить, что в настоящее время спектр направлений практического применения структурно модифицированных вирусных частиц соотносится с подходами, предложенными ранее для вирионов и вирусоподобных частиц вирусов растений [62–64]. Разработки, осуществлённые на нативных вирионах вирусов растений и бактериофагах, сыграли существенную роль при проведении работ со структурно модифицированными частицами. Можно ожидать, что благодаря своим уникальным характеристикам эти частицы могут найти применение и в новых направлениях биотехнологии и медицины.

Приведённые данные позволяют, на наш взгляд, сделать однозначный вывод, что изучение структурно модифицированных вирусных частиц представляет собой актуальное и перспективное направление. Результаты таких исследований могут иметь практическое приложение в современной вирусологии и биотехнологии.

Вклад авторов. О.В. Карпова, Н.А. Никитин – концепция обзорной статьи; О.А. Кондакова, Е.А. Евтушенко, О.А. Баранов и Н.А. Никитин – сбор и анализ литературы, написание текста; Е.А. Евтушенко, Н.А. Никитин и О.В. Карпова – редактирование текста обзора; О.А. Баранов и Н.А. Никитин – создание иллюстраций.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках приоритетного направления деятельности РНФ «Проведение фундаментальных научных

исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (грант № 18-14-00044).

Благодарности. Исследование было выполнено в рамках научного направления Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или иной сфере.

Соблюдение этических норм. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждения, в котором проводились исследования, и утверждённым правовым актам РФ и международных организаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Karpova, O., Nikitin, N., Chirkov, S., Trifonova, E., Sheveleva, A., et al. (2012) Immunogenic compositions assembled from tobacco mosaic virus-generated spherical particle platforms and foreign antigens, *J. Gen. Virol.*, **93**, 400-407, doi: 10.1099/vir.0.036293-0.
2. Bruckman, M. A., Hern, S., Jiang, K., Flask, C., Yu, X., et al. (2013) Tobacco mosaic virus and spheres as supramolecular high-relaxivity MRI contrast agents, *J. Mat. Chem. B*, **1**, 1482-1490, doi: 10.1039/C3TB00461A.
3. Bruckman, M. A., Czapar, A. E., VanMeter, A., Randolph, L. N., and Steinmetz, N. F. (2016) Tobacco mosaic virus-based protein nanoparticles and nanorods for chemotherapy delivery targeting breast cancer, *J. Control Rel.*, **231**, 103-113, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.02.045.
4. Trifonova, E. A., Zenin, V. A., Nikitin, N. A., Yurkova, M. S., Ryabchevskaya, E. M., et al. (2017) Study of rubella candidate vaccine based on a structurally modified plant virus, *Antiviral Res.*, **144**, 27-33, doi: 10.1016/j.antiviral.2017.05.006.
5. Plank, J. M., Alibay, Z., Ngo-Duc, T. T., Lai, M., Mayes, E. A. S., et al. (2020) Bifunctional M13 bacteriophage nanospheroids for the synthesis of hybrid noncentrosymmetric nanoparticles, *ACS Appl. Nano Mater.*, **3**, 10668-10677, doi: 10.1021/acsanm.0c01876.
6. Ngo-Duc, T. T., Alibay, Z., Plank, J. M., Cheeney, J. E., and Haberer, E. D. (2020) Gold-decorated M13 I-forms and S-forms for targeted photothermal lysis of bacteria, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **12**, 126-134, doi: 10.1021/acsnami.9b15682.
7. Kovalenko, A. O., Ryabchevskaya, E. M., Evtushenko, E. A., Manukhova, T. I., Kondakova, O. A., et al. (2022) Vaccine candidate against COVID-19 based on structurally modified plant virus as an adjuvant, *Front. Microbiol.*, **13**, 1-15, doi: 10.3389/fmicb.2022.845316.
8. Ryabchevskaya, E. M., Granovskiy, D. L., Evtushenko, E. A., Ivanov, P. A., Kondakova, O. A., et al. (2022) Designing stable bacillus anthracis antigens with a view to recombinant anthrax vaccine development, *Pharmaceutics*, **14**, 806, doi: 10.3390/pharmaceutics14040806.
9. Manning, M., Chrysogelos, S., and Griffith, J. (1981) Mechanism of coliphage M13 contraction: intermediate structures trapped at low temperatures, *J. Virol.*, **40**, 912-919, doi: 10.1128/JVI.40.3.912-919.1981.
10. Atabekov, J., Nikitin, N., Arkhipenko, M., Chirkov, S., and Karpova, O. (2011) Thermal transition of native tobacco mosaic virus and RNA-free viral proteins into spherical nanoparticles, *J. Gen. Virol.*, **92**, 453-456, doi: 10.1099/vir.0.024356-0.
11. Nikitin, N., Ksenofontov, A., Trifonova, E., Arkhipenko, M., Petrova, E., et al. (2016) Thermal conversion of filamentous potato virus X into spherical particles with different properties from virions, *FEBS Lett.*, **590**, 1543-1551, doi: 10.1002/1873-3468.12184.
12. Manukhova, T. I., Evtushenko, E. A., Ksenofontov, A. L., Arutyunyan, A. M., Kovalenko, A. O., et al. (2021) Thermal remodelling of Alternanthera mosaic virus virions and virus-like particles into protein spherical particles, *PLoS One*, **16**, e0255378, doi: 10.1371/journal.pone.0255378.
13. Hart, R. G. (1956) Morphological changes accompanying thermal denaturation of tobacco mosaic virus, *Biochim. Biophys. Acta*, **20**, 388-389.
14. Bruckman, M. A., Yu, X., and Steinmetz, N. F. (2013) Engineering Gd-loaded nanoparticles to enhance MRI sensitivity via T(1) shortening, *Nanotechnology*, **24**, 462001, doi: 10.1088/0957-4484/24/46/462001.
15. Bruckman, M. A., Randolph, L. N., VanMeter, A., Hern, S., Shoffstall, A. J., Taurog, R. E., et al. (2014) Biodistribution, pharmacokinetics, and blood compatibility of native and PEGylated tobacco mosaic virus nano-rods and -spheres in mice, *Virology*, **449**, 163-173, doi: 10.1016/j.virol.2013.10.035.
16. Bruckman, M. A., and Steinmetz, N. F. (2014) Chemical modification of the inner and outer surfaces of Tobacco Mosaic Virus (TMV), *Methods Mol. Biol.*, **1108**, 173-185, doi: 10.1007/978-1-62703-751-8_13.
17. Bruckman, M. A., Jiang, K., Simpson, E. J., Randolph, L. N., Luyt, L. G., et al. (2014) Dual-modal magnetic resonance and fluorescence imaging of atherosclerotic plaques in vivo using VCAM-1 targeted tobacco mosaic virus, *Nano Lett.*, **14**, 1551-1558, doi: 10.1021/nl404816m.

18. Bruckman, M. A., Randolph, L. N., Gulati, N. M., Stewart, P. L., et al. (2015) Silica-coated Gd(DOTA)-loaded protein nanoparticles enable magnetic resonance imaging of macrophages, *J. Mater. Chem. B*, **3**, 7503-7510, doi: 10.1039/C5TB01014D.
19. Bruckman, M. A., VanMeter, A., and Steinmetz, N. F. (2015) Nanomanufacturing of Tobacco Mosaic virus-based spherical biomaterials using a continuous flow method, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **1**, 13-18, doi: 10.1021/ab500059s.
20. Wu, Y., Zhao, X., Hu, J., Lin, Y., and Wang, Q. (2017) Preparation and characterization of functional Tobacco Mosaic virus spherical nanoparticles, *Chinese J. Appl. Chem.*, **34**, 379-384, doi: 10.11944/j.issn.1000-0518.2017.04.160302.
21. Rodríguez-Galvan, A., Martínez-Loran, E., Naveja, J. J., Ornelas-Soto, N., Basiuk, V., et al. (2017) *In situ* metallization of thermally-treated tobacco mosaic virus using silver nanoparticles, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **17**, 4740-4747, doi: 10.1166/jnn.2017.13714.
22. Murray, A. A., Wang, C., Fiering, S., and Steinmetz, N. F. (2018) *In situ* vaccination with Cowpea vs Tobacco Mosaic Virus against melanoma, *Mol. Pharm.*, **15**, 3700-3716, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00316.
23. Трифонова Е. А., Никитин Н. А., Архипенко М. В., Донченко Е. К., Атабеков И. Г., и др. (2017) Сравнительное изучение термической перестройки вирусов с икосаэдрическим и спиральным типом симметрии, *Вестник МГУ, Серия 16, Биология*, **4**, 209-214.
24. Griffith, J., Manning, M., and Dunn, K. (1981) Filamentous bacteriophage contract into hollow spherical particles upon exposure to a chloroform-water interface, *Cell*, **23**, 747-753, doi: 10.1016/0092-8674(81)90438-4.
25. Butler, P. J. (1999) Self-assembly of tobacco mosaic virus: The role of an intermediate aggregate generating both specificity and speed, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **354**, 537-550, doi: 10.1098/rstb.1999.0405.
26. Lomonosoff, G. P., and Wege, C. (2018) TMV particles: the journey from Fundamental studies to bionanotechnology applications, *Adv. Virus. Res.*, **102**, 149-176, doi: 10.1016/bs.aivir.2018.06.003.
27. Никитин Н. А., Малинин А. С., Рахнянская А. А., Трифонова Е. А., Карпова О. В., и др. (2011) Использование поликатионного спейсера для нековалентной иммобилизации альбумина на термически модифицированных вирусных частицах, *Высокомолекулярные соединения, Серия А*, **53**, 1885-1891.
28. Dobrov, E. N., Nikitin, N. A., Trifonova, E. A., Parshina, E. Y., Makarov, V. V., et al. (2014) β -structure of the coat protein subunits in spherical particles generated by tobacco mosaic virus thermal denaturation, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **32**, 701-708, doi: 10.1080/07391102.2013.788983.
29. Nikitin, N., Trifonova, E., Karpova, O., and Atabekov, J. (2013) Examination of biologically active nanocomplexes by nanoparticle tracking analysis, *Microsc. Microanal.*, **19**, 808-813, doi: 10.1017/S1431927613000597.
30. Nikitin, N. A., Malinin, A. S., Trifonova, E. A., Rakhnyanskaya, A. A., Yaroslavov, A. A., et al. (2014) Proteins immobilization on the surface of modified plant viral particles coated with hydrophobic polycations, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **25**, 1743-1754, doi: 10.1080/09205063.2014.946877.
31. Ksenofontov, A. L., Fedorova, N. V., Badun, G. A., Serebryakova, M. V., Nikitin, N. A., et al. (2019) Surface characterization of the thermal remodeling helical plant virus, *PLoS One*, **14**, e0216905, doi: 10.1371/journal.pone.0216905.
32. Трифонова Е. А., Никитин Н. А., Кирпичников М. П., Карпова О. В., Атабеков И. Г. (2015) Способ получения и характеристика сферических частиц – новых биоинженерных платформ, *Вестник МГУ, Серия 16, Биология*, **4**, 46-50.
33. Trifonova, E. A., Nikitin, N. A., Gmyl, A. P., Lazareva, E. A., Karpova, O. V., et al. (2014) Complexes assembled from TMV-derived spherical particles and entire virions of heterogeneous nature, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **32**, 1193-1201, doi: 10.1080/07391102.2013.816868.
34. Evtushenko, E. A., Ryabchevskaya, E. M., Nikitin, N. A., Atabekov, J. G., and Karpova, O. V. (2020) Plant virus particles with various shapes as potential adjuvants, *Sci. Rep.*, **10**, 10365, doi: 10.1038/s41598-020-67023-4.
35. Ryabchevskaya, E. M., Evtushenko, E. A., Granovskiy, D. L., Ivanov, P. A., Atabekov, J. G., et al. (2021) Two approaches for the stabilization of Bacillus anthracis recombinant protective antigen, *Hum. Vaccine Immunother.*, **17**, 560-565, doi: 10.1080/21645515.2020.1772632.
36. Phillips, B., Van Rompay, K., Rodriguez-Nieves, J., Lorin, C., Koutsoukos, M., et al. (2018) Adjuvant-dependent enhancement of HIV Env-specific antibody responses in infant rhesus macaques, *J. Virol.*, **92**, e01051-18, doi: 10.1128/JVI.01051-18.
37. Wang, Z. B., and Xu, J. (2020) Better adjuvants for better vaccines: Progress in adjuvant delivery systems, modifications, and adjuvant-antigen codelivery, *Vaccines*, **8**, 128, doi: 10.3390/vaccines8010128.
38. Kurashova, S. S., Ishmukhametov, A. A., Dzagurova, T. K., Egorova, M. S., Balovneva, M. V., et al. (2020) Various adjuvants effect on immunogenicity of Puumala Virus Vaccine, *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **10**, 545371, doi: 10.3389/fcimb.2020.545371.
39. Danielsson, R., and Eriksson, H. (2021) Aluminium adjuvants in vaccines – a way to modulate the immune response, *Semin. Cell Dev. Biolol.*, **115**, 3-9, doi: 10.1016/j.semcd.2020.12.008.
40. Рябчевская Е. М., Евтушенко Е. А., Архипенко М. В., Манухова Т. И., Донченко Е. К., и др. (2020) Новый подход к разработке кандидатной вакцины против ротавируса на основе двух вирусов растений, *Сельхоз. биол.*, **55**, 1004-1017,

- doi: 10.15389/agrobiology.2020.5.1004rus.
41. Кондакова О. А., Трифонова Е. А., Архипенко М. В., Никитин Н. А., Карпова О. В., и др. (2017) Разработка вакцины против птичьего гриппа на основе структурно модифицированных вирусов растений, *Сельхоз. биол.*, **52**, 731-738, doi: 10.15389/agrobiology.2017.4.731rus.
 42. Nikitin, N. A., Matveeva, I. N., Trifonova, E. A., Puhova, N. M., Samuylenko, A. Y., et al. (2018) Spherical particles derived from TMV virions enhance the protective properties of the rabies vaccine, *Data Brief*, **21**, 742-745, doi: 10.1016/j.dib.2018.10.030.
 43. Kondakova, O. A., Nikitin, N. A., Evtushenko, E. A., Ryabchevskaya, E. M., Atabekov, J. G., et al. (2019) Vaccines against anthrax based on recombinant protective antigen: Problems and solutions, *Expert Rev. Vaccines*, **18**, 813-828, doi: 10.1080/14760584.2019.1643242.
 44. Кондакова О. А., Никитин Н. А., Евтушенко Е. А., Грановский Д. Л., Атабеков И. Г., и др. (2021) Сибирская язва: жизненный цикл, механизмы патогенеза и новые концепции в развитии ветеринарных вакцин, *Сельхоз. Биол.*, **56**, 415-433, doi: 10.15389/agrobiology.2021.3.415rus.
 45. Lizotte, P. H., Wen, A. M., Sheen, M. R., Fields, J., Rojasanospondist, P., et al. (2016) *In situ* vaccination with cowpea mosaic virus nanoparticles suppresses metastatic cancer, *Nat. Nanotechnol.*, **11**, 295-303, doi: 10.1038/nnano.2015.292.
 46. Lebel, M. E., Chartrand, K., Tarrab, E., Savard, P., Leclerc, D., et al. (2016) Potentiating cancer immunotherapy using papaya mosaic virus-derived nanoparticles, *Nano Lett.*, **16**, 1826-1832, doi: 10.1021/acs.nanolett.5b04877.
 47. Lee, K. L., Murray, A. A., Le, D., Sheen, M. R., Shukla, S., et al. (2017) Combination of plant virus nanoparticle-based *in situ* vaccination with chemotherapy potentiates antitumor response, *Nano Lett.*, **17**, 4019-4028, doi: 10.1021/acs.nanolett.7b00107.
 48. Chen, L., Zhao, X., Lin, Y., Huang, Y., and Wang, Q. (2013) A supramolecular strategy to assemble multifunctional viral nanoparticles, *Chem. Commun.*, **49**, 9678-9680, doi: 10.1039/c3cc45559a.
 49. Shah, S., Shah, S., and Heddle, J. (2012) Wild-type tobacco mosaic virus (TMV) as a scaffold for gold nanoparticle fabrication, *Proc. 6th Int. Conf. Gold Sci. Technol. Its Appl.*, 2P-072, Tokyo.
 50. Ksenofontov, A. L., Parshina, E. Y., Fedorova, N. V., Arutyunyan, A. M., Rumvolt, R., et al. (2016) Heating-induced transition of Potyvirus Potato Virus A coat protein into β -structure, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **34**, 250-258, doi: 10.1080/07391102.2015.1022604.
 51. Никитин Н. А., Трифонова Е. А., Карпова О. В., Атабеков И. Г. (2016) Биобезопасность вирусов растений для человека и животных, *Вестник МГУ, Серия 16, Биология*, **3**, 20-26.
 52. Nkanga, C. I., and Steinmetz, N. F. (2021) The pharmacology of plant virus nanoparticles, *Virology*, **556**, 39-61, doi: 10.1016/j.virol.2021.01.012.
 53. Nikitin, N. A., Zenin, V. A., Trifonova, E. A., Ryabchevskaya, E. M., Kondakova, O. A., et al. (2018) Assessment of structurally modified plant virus as a novel adjuvant in toxicity studies, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **97**, 127-133, doi: 10.1016/j.yrtph.2018.06.010.
 54. Nikitin, N. A., Zenin, V. A., Trifonova, E. A., Ryabchevskaya, E. M., Yurkova, M.S., et al. (2018) Data in support of toxicity studies of structurally modified plant virus to safety assessment, *Data Brief*, **21**, 1504-1507, doi: 10.1016/j.dib.2018.10.102.
 55. Ngo-Duc, T. T., Zaman, M. S., Moon, C. H., and Haberer, E. D. (2014) Morphology manipulation of M13 bacteriophage template for nanostructure assembly, *Proc. SPIE*, **9171**, 91710X, doi: 10.1117/12.2062417.
 56. Rakonjac, J., Russel, M., Khanum, S., Brooke, S. J., and Rajič, M. (2017) Filamentous phage: structure and biology, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1053**, 1-20, doi: 10.1007/978-3-319-72077-7_1.
 57. Lopez, J., and Webster, R. E. (1982) Minor coat protein composition and location of the A protein in bacteriophage ϕ 1 spheroids and I-forms, *J. Virol.*, **42**, 1099-1107, doi: 10.1128/JVI.42.3.1099-1107.1982.
 58. Olsen, E. V., Sykora, J., Sorokulova, I., Neely, W., Petrenko, V., et al. (2007) Phage fusion proteins as bioselective receptors for piezoelectric sensors, *ECS Transact.*, **2**, 9-25, doi: 10.1149/1.2408983.
 59. Ngo-Duc, T. T., Plank, J. M., Chen, G., Harrison, R. E., Morikis, D., et al. (2018) M13 bacteriophage spheroids as scaffolds for directed synthesis of spiky gold nanostructures, *Nanoscale*, **10**, 13055-13063, doi: 10.1039/C8NR03229G.
 60. Madkour, M., and Sagheer, F. A. (2017) Au/ZnS and Ag/ZnS nanoheterostructures as regenerated nanophotocatalysts for photocatalytic degradation of organic dyes, *Opt. Mater. Express*, **7**, 158-169, doi: 10.1364/OME.7.000158.
 61. Passaretti, P., Khan, I., Dafforn, T. R. Oppenheimer, P. G. (2020) Improvements in the production of purified M13 bacteriophage bio-nanoparticle, *Sci. Rep.*, **10**, 18538, doi: 10.1038/s41598-020-75205-3.
 62. Shukla, S., Hu, H., Cai, H., Chan, S. K., Boone, C. E., et al. (2020) Plant viruses and bacteriophage-based reagents for diagnosis and therapy, *Annu. Rev. Virol.*, **7**, 559-587, doi: 10.1146/annurev-virology-010720-052252.
 63. Chung, Y. H., Cai, H., and Steinmetz, N. F. (2020) Viral nanoparticles for drug delivery, imaging, immunotherapy, and theranostic applications, *Adv. Drug Del. Rev.*, **156**, 214-235, doi: 10.1016/j.addr.2020.06.024.
 64. Balke, I., and Zeltins, A. (2019). Use of plant viruses and virus-like particles for the creation of novel vaccines, *Adv. Drug Del. Rev.*, **145**, 119-129, doi: 10.1016/j.addr.2018.08.007.

STRUCTURALLY MODIFIED PLANT VIRUSES AND BACTERIOPHAGES. PROPERTIES AND APPLICATIONS

Review

O. A. Kondakova, E. A. Evtushenko*, O. A. Baranov, N. A. Nikitin, and O. V. Karpova

*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
119234 Moscow, Russia; e-mail: trifonova.katerina@gmail.com*

Structurally modified particles obtained by thermal or chemical treatment of rod-shaped or filamentous virions of plant viruses and bacteriophages have recently earned close attention of researchers as promising biogenic particles for design new biotechnologies. This review presents data on the preparation, structure, and properties of structurally modified particles, including their biosafety for animals, as well as the same areas of application of these particles in biomedicine. A special section is devoted to one of the most relevant and promising areas for the use of structurally modified plant viruses – the development of vaccine.

Keywords: structurally modified viruses, spherical particles, plant viruses, bacteriophages, vaccines, biotechnology, biomedicine