



Получено: 22.09.2023 г. | Принято: 25.09.2023 г. | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.6.338.344>

Научная статья

3D-ВИЗУАЛИЗАЦИЯ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ БИОНАНОСКОПИИ

А.И.Ахметова¹, к.ф.-м.н., мл. науч. сотр., ORCID: 0000-0002-5115-8030

Н.А.Никитин², д.б.н., проф., ORCID: 0000-0001-9626-2336

М.В.Архипенко², к.б.н., ст. науч. сотр., ORCID: 0000-0002-5575-602X

О.В.Карпова², д.б.н., проф., зав. каф., ORCID: 0000-0002-0605-9033

И.В.Яминский¹, д.ф.-м.н., проф., ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Аннотация. Вирусы растений не имеют общих патогенов с млекопитающими, в связи с чем в последние годы разработки медицинских и ветеринарных биотехнологий на их основе получили активное развитие. К таким разработкам относится создание платформ для функционально-активных молекул, средств доставки лекарственных препаратов и биококонтрастирующих агентов. Изучение структуры, морфологии и особенностей строения поверхности вирусных частиц является важным направлением, позволяющим разрабатывать новые эффективные методы борьбы с вирусными инфекциями и сопутствующие инструменты молекулярной медицины. В данной работе методом АСМ были исследованы структура и свойства частиц вируса табачной мозаики в качестве модельного объекта. Продемонстрировано, что метод АСМ является подходящим инструментом для изучения вирусных частиц.

Ключевые слова: вирус табачной мозаики, вирион, физика живых систем, сканирующая зондовая микроскопия, бионаноскопия

Для цитирования: А.И. Ахметова, Н.А. Никитин, М.В. Архипенко, О.В. Карпова, И.В. Яминский. 3D-визуализация и характеристика вирусов растений методами бионаноскопии. НАНОИНДУСТРИЯ. 2023. Т. 16, № 6. С. 338-344. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.6.338.344>

Received: 22.09.2023 | Accepted: 25.09.2023 | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.6.338.344>

Original paper

3D VISUALIZATION OF VIRIONS BY ATOMIC FORCE AND MICROLENS MICROSCOPY

A.I.Akhmetova¹, Cand. of Sci. (Physics and Mathematics), Junior Researcher, ORCID: 0000-0002-5115-8030

N.A.Nikitin², Doct. of Sci. (Biology), Prof., ORCID: 0000-0001-9626-2336

M.V.Arkhpenko², Cand. of Sci. (Biology), Senior Researcher, ORCID: 0000-0002-5575-602X

O.V.Karpova², Doct. of Sci. (Biology), Head of Chair, ORCID: 0000-0002-0605-9033

I.V.Yaminsky¹, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Abstract. Plant viruses do not have common pathogens with mammals, and therefore in recent years the development of medical and veterinary biotechnologies based on them has been actively developed. Such developments include the creation of platforms for functionally active molecules, drug delivery vehicles and biocontrast agents. The study of the structure, morphology and structural features of the surface of viral particles is an important area that makes it possible to develop new effective methods for combating viral infections and related tools of

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical department, Moscow, Russia

² МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Biological department, Moscow, Russia



molecular medicine. In this work, the structure and properties of tobacco mosaic virus particles as a model object were studied using AFM. AFM has been demonstrated to be a suitable tool for studying viral particles.

Keywords: tobacco mosaic virus, virion, physics of living systems, scanning probe microscopy, bionanoscopia

For citation: A.I. Akhmetova, N.A. Nikitin, M.V. Arkhipenko, O.V. Karpova, I.V. Yaminsky. 3D visualization of virions by atomic force and microlens microscopy. NANOINDUSTRY. 2023. V. 16, no. 6. PP. 338–344. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.6.338.344>.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус табачной мозаики (ВТМ) является эталонным образцом для многих исследований, он поражает растения семейства пасленовых, такие как табак, томат или перец, вызывая характерные мозаичные узоры, особенно на растениях табака, но безвреден для млекопитающих. ВТМ представляет собой вытянутую полую частицу длиной 300 нм, высотой 18 нм, в которой капсид, состоящий из 2130 субъединиц белка оболочки, образует спираль, внутрь которой заключена геномная одноцепочечная РНК [1]. Благодаря простоте структуры, безопасности для человека, устойчивости и доступности ВТМ является излюбленным объектом исследования для различных областей науки, включая молекулярную вирусологию, структурную биологию, биоинженерию и многих других.

Изучение взаимосвязи между механическими свойствами, структурой и функциями вирусных частиц открывает способы их применения в новом качестве в биотехнологиях. Последние исследования демонстрируют возможность использования ВТМ в качестве микроэлектронных устройств, компонентов вакцин и систем доставки лекарств для лечения рака [2–6]. Атомно-силовая микроскопия является хорошим инструментом, который позволяет получать 3D-изображение объектов и выполняет роль контроля чистоты и качества препарата для целей биомедицины. С помощью атомно-силовой микроскопии исследовались особенности адгезии вируса табачной мозаики к слюде и графиту, взаимная ориентация вирусных частиц на подложке и ее возможное влияние на вирус, рассматривались различные варианты химической модификации поверхности слюды для усиления адгезии вирусных частиц [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус табачной мозаики (ВТМ), штамм U1 из коллекции кафедры вирусологии МГУ, был накоплен в растениях табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта Samsun. Растения *N. tabacum* выращивали до стадии формирования 5–6 больших листьев в теплице

INTRODUCTION

Tobacco mosaic virus (TMV) is a reference model for many studies, it infects plants of the solanaceae family, such as tobacco, tomato or pepper, causing characteristic mosaic patterns, especially on tobacco plants, but is harmless to mammals. TMV is an elongated hollow particle 300 nm long, 18 nm high, in which a capsid composed of 2130 capsid protein subunits forms a helix, inside which genomic single-stranded RNA is enclosed [1]. Due to its simple structure, safety for humans, stability, and accessibility, TMV is a favorite object of study for various fields of science, including molecular virology, structural biology, bioengineering, and many others.

The study of the relationship between the mechanical properties, structure, and functions of viral particles opens up ways to utilize them in a new capacity in biotechnology. Recent studies demonstrate possibility of using TMVs as microelectronic devices, vaccine components, and drug delivery systems for cancer treatment [2–6]. Atomic force microscopy is a good tool that allows 3D imaging of objects and serves as a purity and quality control of the drug for biomedical purposes. Atomic force microscopy has been used to study tobacco mosaic virus adhesion to mica and graphite, the mutual orientation of viral particles on the substrate and its possible effect on the virus, and various variants of chemical modification of the mica surface to enhance viral particles adhesion [7].

MATERIALS AND METHODS

Tobacco mosaic virus (TMV), strain U1 from the collection of the Department of Virology of Moscow State University was accumulated in tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L. cv Samsun). *N. tabacum* plants were grown to the stage of 5–6 large leaves formation in a greenhouse with additional lighting (high-pressure sodium lamps) at 22–25 °C. Plants were infected by mechanical inoculation. A suspension of previously isolated and purified virus at a concentration of 50 µg/mL was used as the infectious material. In 1–2 weeks after infection, symptoms of systemic plant damage developed: mosaic symptoms in the form of alternating light-green and dark-green areas were observed, often accompanied by the appearance

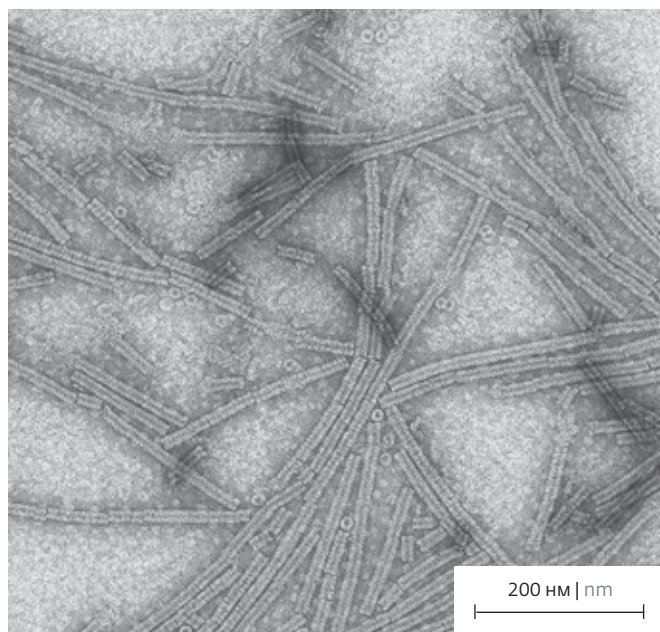


Рис.1. Электронная микрофотография вируса табачной мозаики. На изображении обнаруживаются как сами частицы, так и 20S-диски. Контрастирование 2%-ным уранилацетатом

Fig.1. Electron micrograph of tobacco mosaic virus. Both the particles themselves and 20S disks are detected in the image. Contrasting was performed with 2% uranyl acetate

с дополнительным освещением (натриевые лампы высокого давления) при температуре 22–25 °С. Растения инфицировали методом механической инокуляции. В качестве инфекционного материала использовали суспензию ранее выделенного и очищенного вируса в концентрации 50 мкг/мл. Через 1–2 недели после заражения развиваются симптомы системного поражения растения: наблюдаются мозаичные симптомы в виде чередующихся светло-зеленых и темно-зеленых участков, часто сопровождаемые появлением аномалий в виде локальных вздутий, четко наблюдаемое при сравнении с контрольным здоровым растением. Листья зараженных растений собирали через три недели после заражения, фасовали и замораживали (–18 °С). ВТМ был выделен и очищен с помощью метода дифференциального центрифугирования как описано ранее [8].

Вирусный осадок растворяли в 0,01 М трис-НС1 рН 7.8. Раствор ВТМ осветляли при помощи низкоскоростного центрифугирования при 10000 g 15 мин. Проводили отбор пробы объемом 0,05 мл для определения концентрации ВТМ и чистоты препарата.

Качество выделенного препарата ВТМ (наличие примесей, морфология и размеры частиц)

of abnormalities in the form of local swellings, clearly observed when compared with a control healthy plant. Leaves of infected plants were collected three weeks after infection, packed and frozen (–18 °С). TMV was isolated and purified by differential centrifugation as described previously [8].

Viral precipitate was dissolved in 0.01 M Tris-HCl pH 7.8. The TMV solution was clarified by low-speed centrifugation at 10000 g for 15 minutes. A 0.05 mL sample was taken to determine the concentration of TMV and preparation purity.

Quality of TMV isolated preparation (presence of impurities, morphology and particle size) was controlled by spectrophotometry, electrophoretic analysis and transmission electron microscopy (TEM). For analysis by transmission electron microscopy, TMV preparation was sorbed on copper grids for electron microscopy coated with collodion film additionally stabilized by carbon sputtering, negatively contrasted with 2 % uranyl acetate solution, and analyzed using a JEM-1011 electron microscope (JEOL, Japan). Size analysis was performed using ImageJ software (NIH, USA).

3D morphology of viral particles was studied using FemtoScan SPM in air on graphite and mica substrates in resonance mode, NSG10 cantilever, and image processing was performed in FemtoScan Online software [9].

RESULTS

Careful sample preparation is very important in the study of TMV by AFM. It is necessary to immobilize particles on the substrate correctly, and it is often necessary to repeatedly wash the sample, which leads to a possible change in particle geometry and its size ratio due to virus-substrate interactions [10, 11].

TEM analysis of the TMV preparation confirmed bacilliform particles presence with an average length of about 300 nm and a diameter of about 18 nm (Fig.1). No contamination of the preparation with plant or viral material of other nature was detected.

TMV concentration in purified preparation was determined using the extinction coefficient: $E_{260\text{ nm}} 0.1\% = 3.0$. The A_{260}/A_{280} ratio was 1.2, which characterizes highly purified preparations of TMV and indicates that preparation consists of 95% protein and 5% RNA.

In the analysis of TMV by electrophoresis in a denaturing gradient polyacrylamide gel, one protein band corresponding to electrophoretic mobility of the TMV. In the analysis of TMV by electrophoresis in a denaturing gradient polyacrylamide gel, one protein band corresponding to electrophoretic mobility of the TMV envelope protein was detected (Fig.2, track 2). No other protein bands were detected in gel stained with Coomassie G-250.

Three-dimensional images of viruses in air on graphite and on mica samples at concentration of



контролировали методами спектрофотометрии, электрофоретического анализа и трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Для анализа методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) препарат ВТМ сорбировали на медных сетках для электронной микроскопии, покрытых коллоидной пленкой, дополнительно стабилизированной напылением углерода, проводили негативное контрастирование 2%-ным раствором уранилацетата и анализировали с помощью электронного микроскопа JEM-1011 (JEOL, Япония). Анализ размеров проводили с помощью программного обеспечения ImageJ (NIH, США).

3D-морфология вирусных частиц исследовалась с помощью СЗМ "ФемтоСкан" на воздухе на подложках из графита и слюды в резонансном режиме, кантилевер NSG10, обработка изображений осуществлялась в ПО "ФемтоСкан Онлайн" [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании ВТМ методом АСМ очень важна тщательная пробоподготовка. Требуется правильно иммобилизовать частицы на подложке, зачастую необходима неоднократная отмывка образца, что приводит к возможному изменению геометрии частицы и изменению соотношения ее размеров из-за взаимодействий вирус-подложка [10, 11].

Анализ препарата ВТМ методом ТЭМ подтвердил наличие частиц палочковидной формы со средней длиной около 300 нм и диаметром около 18 нм (рис.1). Какой-либо контаминации препарата растительным или вирусным материалом другой природы не обнаружено.

Концентрацию ВТМ в очищенном препарате определяли, используя коэффициент экстинкции: $E_{260} \text{ нм } 0.1\% = 3.0$. Соотношение A_{260}/A_{280} составило 1,2, что характеризует высокоочищенные препараты ВТМ и свидетельствует о том, что препарат состоит из 95%-ного белка и 5%-ного РНК.

При анализе ВТМ методом электрофореза в денатурирующем градиентном полиакриламидном геле детектировалась одна белковая полоса, соответствующая по электрофоретической подвижности белку оболочки ВТМ (рис.2, дорожка 2). Других белковых зон в геле, окрашенном Кумасси G-250, обнаружено не было.

Методом АСМ получены трехмерные изображения вирусов на воздухе на графите и на слюде образца в концентрации 0,1 мг/мл (рис.3 и 4). Для получения хороших изображений потребовалась неоднократная промывка, характер которой значительно влияет на количество вирусных частиц, адсорбированных на поверхности.

Высота вирусных частиц на слюде и на графите составляет в среднем $16 \text{ нм} \pm 0,8$. Длина вирусных

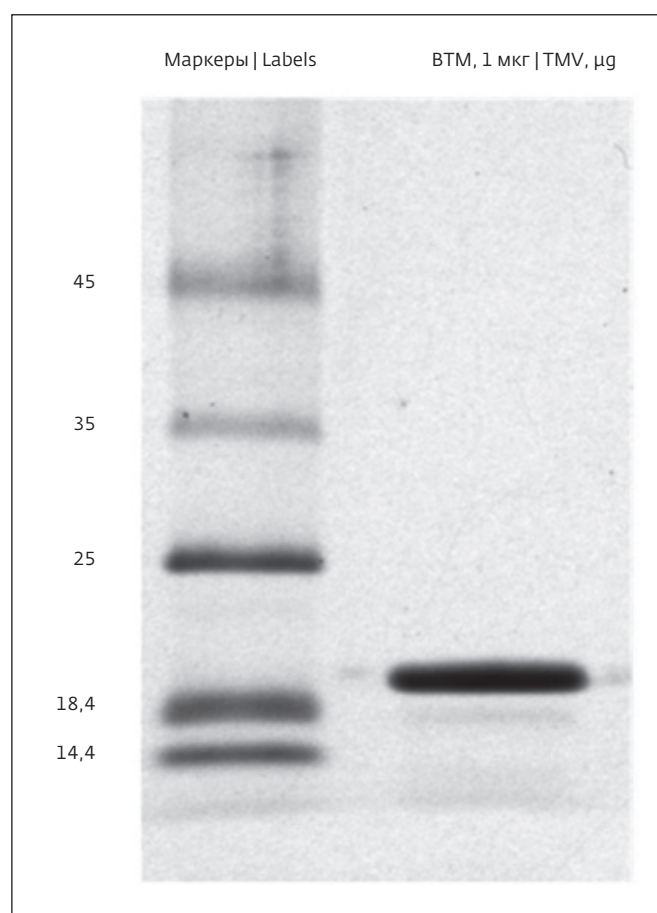


Рис.2. Анализ выделенного препарата ВТМ из зеленого материала, инфицированного ВТМ, методом электрофореза в денатурирующем ПААГ. Состав проб: маркерные белки (1), выделенный препарат ВТМ (2). Гель окрашивали Кумасси G-250 в течение 20 мин, отмывали и фотографировали

Fig.2. Analysis of isolated preparation of TMV from green material infected with TMV by electrophoresis in denaturing polyacrylamide gel. Sample composition: marker proteins (1), isolated preparation of TMV (2). The gel was stained with Coomassie G-250 for 20 min, washed and photographed

0.1 mg/mL were obtained by the AFM method (Fig.3 and Fig.4). Repeated washing was required to obtain good images, and its nature significantly affects the number of virus particles adsorbed on the surface.

The height of viral particles on mica and on graphite averages $16 \text{ nm} \pm 0.8$. The length of the viral particles varies from 200 nm to $2 \mu\text{m}$ because these particles can break during sample preparation and line up butt to each other.

The graphite images show not only the virus itself but also segments of destroyed viral particles, the height of the segments varying from $0.8 - 2.8 \pm 0.3 \text{ nm}$, and radius $22-36 \pm 3 \text{ nm}$ (Fig.3).

частиц варьируются от 200 нм до 2 мкм, так как частицы могут ломаться в процессе пробоподготовки и выстраиваются встык друг другу.

На изображениях на графите виден не только сам вирус, но и сегменты разрушенных вирусных частиц, высота сегментов варьируется 0,8–2,8 нм, радиус 22–36 нм (рис.3).

Известно, что при выделении и очистке ВТМ вирусные частицы могут разрушаться с образованием более коротких фрагментов спирали, вплоть до мономеров белка оболочки. В отсутствие нуклеиновой кислоты основным типом агрегатов, образующихся из белка оболочки ВТМ в условиях низкой ионной силы раствора и нейтрального значения pH, являются 20S-диски (короткие двухслойные фрагменты спирали) из 34 субъединиц белка оболочки [12]. Вероятно, данный тип частиц и наблюдается в поле зрения АСМ, помимо вирусных частиц ВТМ, поскольку они располагаются на поверхности торцевой части спиральной структуры.

АСМ позволяет идентифицировать вирусные частицы на поверхности подложек в виде трехмерных изображений. Вместе с тем, следует заметить, что наблюдаемые в АСМ размеры претерпевают изменения. Из-за взаимодействия вирусной частицы с подложкой и зондом АСМ дает несколько заниженное значение высоты частицы. При этом наблюдаемая ширина вирусной частицы по этим же причинам является завышенной.

ВЫВОДЫ

В рамках данной работы был получен препарат ВТМ и охарактеризован различными методами. На примере модельного фитовируса – вируса табачной мозаики – продемонстрирована возможность применения метода атомно-силовой микроскопии для исследования вирусных частиц.

Методом АСМ были получены трехмерные изображения вирусных частиц ВТМ на подложках графита и слюды в резонансном режиме, получены размеры и характер адсорбции частиц, а также сегментов вируса. В работе оценили чистоту образца, характерные геометрические размеры частиц, склонность частиц к разрушению в зависимости от используемой подложки.

Показано, что на графите частицы больше склонны к разрушению. Характер адсорбции частиц и качество изображения сильно зависят от процесса отмывки.

В дальнейшем методом АСМ планируется провести детальный анализ структуры поверхности вирусных частиц различной природы и измерение совокупности физико-химических свойств частиц, определенных с нанометровым пространственным

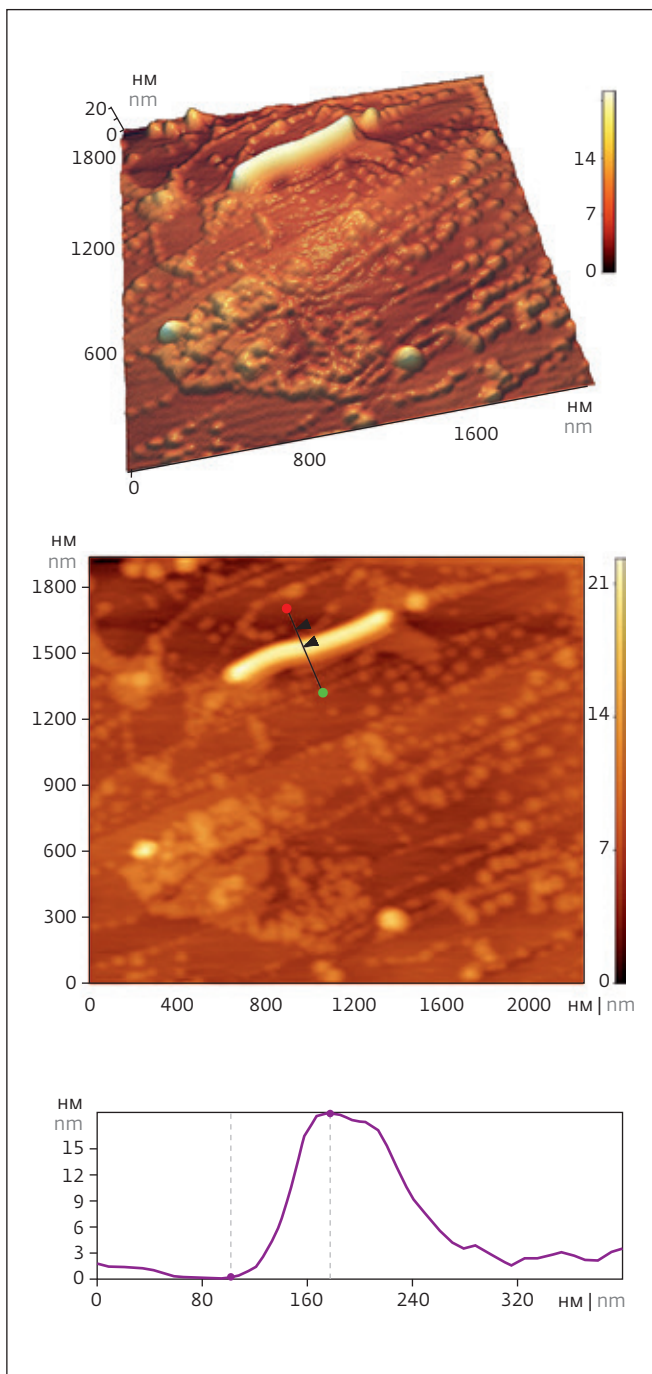


Рис. 3. 2D- и 3D-изображение ВТМ на подложке из графита на воздухе, высота частицы по данным сечения 16,7 нм
Fig.3. 2D and 3D image of TMV on graphite substrate in air, particle height based on cross-sectional data is 16.7 nm

It is known, that during isolation and purification of TMV, viral particles can break down to form shorter helix fragments, up to monomers of the envelope protein. In the absence of nucleic acid, the main type of aggregates formed from the envelope protein of TMV



разрешением с целью выявления возможности использования вирусных частиц при создании биотехнологий: носители, контейнеры для функционально активных молекул, вакцины.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, проект № 23-Ш04-04

ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы, а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Alonso J.M., Gorzny M.L., Bittner A.M. The physics of tobacco mosaic virus and virus-based devices in biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 2013. Vol. 31. PP. 530–538.
2. Czapar A.E., Zheng Y.R., Riddell I.A., Shukla S., Awuah S.G., Lippard S.J., Steinmetz N.F. Tobacco mosaic virus delivery of phenanthriplatin for cancer therapy. *ACS Nano*. 2016. Vol. 10. PP. 4119–4126.
3. Nikitin N.A., Vasiliev Y.M., Kovalenko A.O., Ryabchevskaya E.M., Kondakova O.A., Evtushenko E.A., Karpova O.V. Plant viruses as adjuvants for next-generation vaccines and immunotherapy. *VACCINES*. 11. 2023. Vol. 8. P. 1372. <https://doi.org/10.3390/vaccines11081372>
4. Evtushenko E.A., Ryabchevskaya E.M., Nikitin N.A., Atabekov J.G., Karpova O.V. Plant virus particles with various shapes as potential adjuvants. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10. P. 10365. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67023-4>
5. Karpova O.V., Nikitin N.A. Plant viruses: new opportunities during a pandemic. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. 2022. Vol. 92. PP. 731–736. <https://doi.org/10.31857/S0869587322080072>
6. Kondakova O.A., Evtushenko E.A., Baranov O.A., Nikitin N.A., Karpova O.V. Structurally Modified Plant Viruses and Bacteriophages with Helical Structure. Properties and Applications. *Biochemistry*. 2022. Vol. 87. PP. 727–739. <https://dx.doi.org/10.1134/S0006297922060062>
7. Dubrovin E.V., Kirikova M.N., Novikov V.K., Drygin Y.F., Yaminsky I.V. Study of the peculiarities of adhesion of tobacco mosaic virus by atomic force

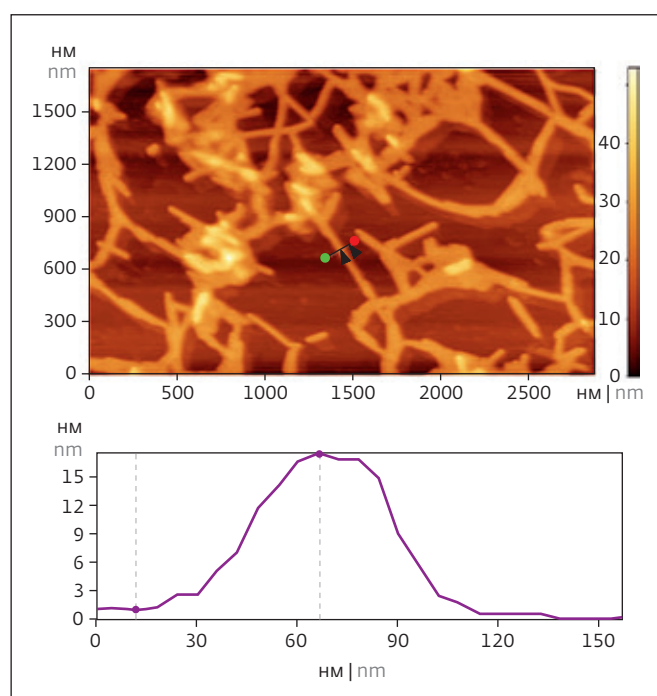


Рис.4. 2D-визуализация и сечение, ВТМ на воздухе на слюде. Высота частицы по данным сечения 16,5 нм
Fig.4. 2D visualization and cross section, TMV on air on mica. Particle height from cross section data is 16.5 nm

ПРОЕКТНО-КОНСТРУКТОРСКОЕ БЮРО
АСЕПТИКА

ЛАМИНАРНЫЕ УКРЫТИЯ НА ЗАКАЗ
www.aseptica.biz
Тел.: (495) 585-88-15, (495) 274-01-02 E-mail: asep5858815@gmail.com

- microscopy. Colloid Journal. 2004. Vol. 66, no. 6. PP. 673-678. <https://doi.org/10.1007/s10595-005-0048-x>
8. Trifonova E.A., Nikitin N.A., Kirpichnikov M.P., Karpova O.V., Atabekov I.G. Obtaining and characterization of spherical particles-new biogenic platforms. Bulletin of Moscow University. Series 16: Biology. 2014. Vol. 70. PP. 194-197.
 9. Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. FemtoScan Online software in virus research. NANOINDUSTRY. 2021. Vol. 14, no. 1. PP. 62-67. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2021.14.1.62.67>
 10. Dubrovin E.V., Drygin Y., Novikov V.K., Yaminsky I.V. Atomic force microscopy as a tool of inspection of viral infection. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine. 2007. Vol. 3, no. 2. PP. 128-131. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2007.01.005>
 11. Dubrovin E., Meshkov G., Yaminskiy I. Observation of the tobacco mosaic virus in the laboratory course of scanning probe microscopy. NANOINDUSTRY. 2014. Vol. 48, no. 2. PP. 46-48.
 12. Di'az-Avalos R., Caspar D.L. Structure of the stacked disk aggregate of tobacco mosaic virus protein. Biophys J 74. 1998. PP. 595-603. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(98\)77818-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(98)77818-X)

under conditions of low ionic strength of solution and neutral pH value are 20S disks (short bilayer helix fragments) of 34 subunits of the envelope protein [12]. Probably, this type of particles is observed in the AFM field of view in addition to TMV viral particles, because they are located on the surface by the end part of the helical structure.

AFM allows to identify the virus particles on substrates surface in the form of three-dimensional images. At the same time, it should be noted that the dimensions observed in AFM undergo changes. Due to interaction of the viral particle with the substrate and probe, the AFM gives a slightly underestimated value of the particle height. At the same time, the observed width of the virus particle is overestimated for the same reasons.

CONCLUSIONS

Within the framework of this work, a preparation of TMV was obtained and characterized by various methods. On the example of a model phytovirus, tobacco mosaic virus, possibility of using atomic force microscopy to study viral particles was demonstrated.

Three-dimensional images of TMV virus particles on graphite and mica substrates in the resonance mode were obtained by the AFM method, the sizes and character of particles adsorption and virus segments were obtained. The sample purity, characteristic geometric dimensions of particles, and propensity of particles to destruction depending on the substrate used were evaluated in this work.

It is shown, that particles on graphite are more prone to destruction. Nature of particle adsorption and image quality strongly depend on the washing process.

In future it is planned to carry out a detailed analysis of the surface structure of viral particles of different nature by the AFM method and to measure totality of physical and chemical properties of particles determined with nanometer spatial resolution in order to identify possibility of using viral particles in biotechnologies development: carriers, containers for functionally active molecules, vaccines.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the MSU Development Program, project No. 23-SH04-04.

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.



ЭЛЕКТРОНИКА НАНОТЕХНОЛОГИИ ФОТОНИКА ТЕРМАТИКА АНАЛИТИКА СЕРВИСЫ

ИНФОПРОСТРАНСТВО ФЕССИОНАЛОВ

ТЕХНОСФЕРА

Мы на  YouTube



Подписывайтесь

25^{YEARS} pharmtech
& ingredients

25-я Юбилейная
Международная
выставка оборудования,
сырья и технологий
для фармацевтического
производства

**Забронируйте
стенд**

**21–24
ноября
2023**

Москва, Крокус Экспо

pharmtech-expo.ru

+7 (495) 799-55-85
pharmtech@ite.group

ITE ОРГАНИЗАТОР
ORGANISER

