АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ: ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСОВ

ATOMIC FORCE MICROSCOPY: STUDY OF VIRUSES

И.В.Яминский[1, 2, 3, 4], д.ф.-м.н., проф. физического и химического факультетов МГУ имени М.В.Ломоносова, вед. научн. сотр. ИНЭОС РАН, директор Центра перспективных технологий, (ORCID: 0000-0001-8731-3947), А.И.Ахметова[1, 2, 3], инженер НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, ведущий специалист Центра перспективных технологий и Энергоэффективных технологий (ORCID: 0000-0002-5115-8030) / yaminsky@nanoscopy.ru

I.V.Yaminskiy[1, 2, 3, 4], Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, Leading Sci. of INEOS RAS, A.I.Akhmetova[1, 2, 3], Engineer of A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leading Specialist of Advanced Technologies Center and of Energy Efficient Technologies

DOI: 10.22184/1993-8578.2021.14.2.102.106

Получено: 29.03.2021 г.

Вирусы – это объекты природы размером в десятки-сотни нанометров. Они часто состоят из молекул всего лишь двух типов: нуклеиновой кислоты, ДНК или РНК и белков. Иногда добавляются и липиды. Вирусы не могут самостоятельно размножаться, как, например, бактерии. Репликацию вирусов проводит сама инфицированная клетка, для чего она нарабатывает много копий нуклеиновых кислот и белков. В статье мы рассмотрим в деталях с помощью атомно-силового микроскопа различные виды вирусов, увидим их структурные особенности, которые делают их неуязвимыми, и узнаем, может ли одна вирусная частица вызвать заболевание.

Viruses are nature objects of tens or hundreds nanometers. They often consist of only two types of molecules: nucleic acid, DNA or RNA, and proteins. Sometimes lipids are added. Viruses cannot reproduce independently, like bacteria. Replication of viruses is carried out by the infected cell itself by producing many copies of nucleic acids and proteins. In this paper we will study in details various types of viruses with the help of an atomic force microscope to see their structural features that make them invulnerable, and learn whether one viral particle can cause a disease.

Вирус табачной мозаики (ВТМ) – это первый вирус, открытый в 1898 году Мартином Бейеринком. За шесть лет до этого в 1892 году Дмитрий Ивановский опубликовал статью о небактериальном патогене растений табака, он предположил, что это либо яд, либо некие сверхмалые существа, которых не видно в микроскоп. Сегодня этот вирус является модельным объектом для многих исследований и одним из самых

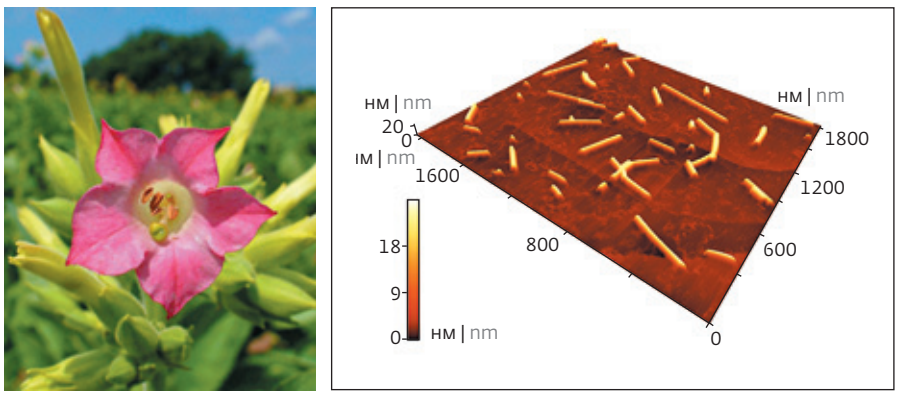


Рис.1. Изображения Nicotiana (табака) и вируса табачной мозаики
Fig.1. Images of Nicotiana (tobacco) and tobacco mosaic virus

1 МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow, Russia.
2 ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia.
3 ООО "Энергоэффективные технологии", Москва, Россия / Energy Efficient Technologies.
4 ИНЭОС РАН, Москва, Россия / INEOS RAS, Russia.

изученных вирусов. ВТМ имеет палочкообразную форму, диаметр частицы – 18 нм, длину – 300 мкм. Как он выглядит в атомно-силовом микроскопе, показано на рис.1.

Вирусы имеют простую геометрическую форму – в большинстве случаев, это икосаэдр или цилиндр (палочка).

Изображения вируса мятлика, штриховой мозаики ячменя, вируса мозаики костра представлены на рис.2.

Изображение вируса Менго представлено на рис.3.

Чтобы вирус заразил клетку, он должен раздеться, сбросить белковую оболочку и обнажить молекулу РНК. Посмотреть, как это происходит в лабораторных условиях, можно с помощью атомно-силового микроскопа. Подействовали на ВТМ диметилсульфоксидом, и мы уже видим, как из белковой оболочки освобождается РНК.

На рис.4 представлено изображение разрушенного X вируса картофеля: здесь и фрагменты оболочки, и вирусная РНК. Кстати, наблюдаемая высота РНК – всего лишь один нанометр. Это было сделано с помощью фосфорилирования, замены у белка оболочки атома водорода

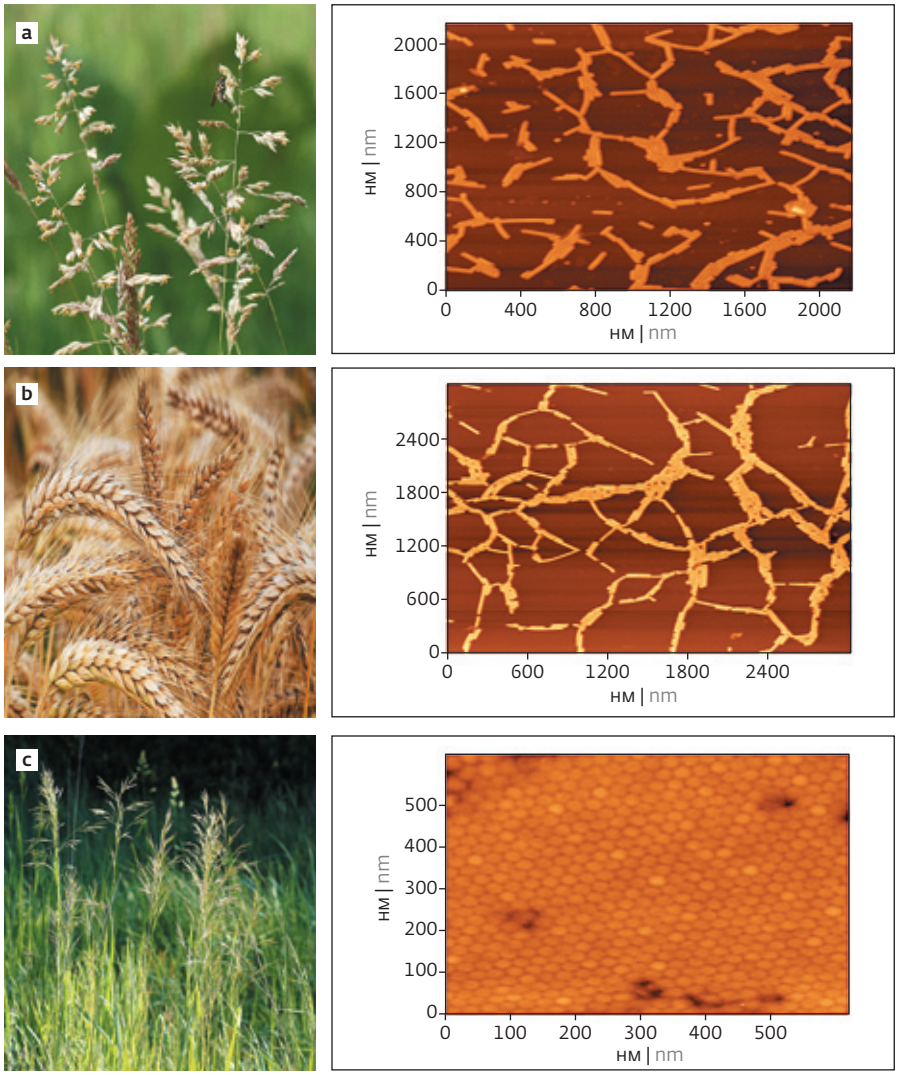


Рис.2. АСМ-изображения: a – полулатентного вируса мятлика; b – вируса штриховой мозаики ячменя; c – вируса мозаики костра

Fig.2. AFM Images: a – poa semilatent virus; b – barley stripe mosaic; c – brome mosaic virus

The tobacco mosaic virus (TMV) was the first virus discovered by Martin Beierink in 1898. Six years before that, in 1892, Dmitry Ivanovsky published an article on a non-bacterial pathogen of tobacco plants, he suggested that this is either poison or certain dwarf creatures that are not visible in the microscope. Nowadays this virus is a model object for many studies and one of the most studied viruses. TMV has a rod shape, a particle diameter of 18 nm, length – 300 microns. Virus image in the atomic force microscope is presented in Fig.1.

Usually viruses have a simple geometric shape – in most cases, it is an icosahedron or cylinder (rod).

Images of the virus of the poa semilatent virus, barley stripe mosaic, brome mosaic virus are presented in Fig.2.

The image of the Mengo virus is represented in Fig.3.

In order for the virus to infect the cell, it should undress, throw down the protein shell and expose the RNA molecule. It is possible to see how this happens in the laboratory using an atomic force microscope. Apply dimethyl sulfoxide on TMV, and we already see how RNA is released from the protein shell.

Figure 4 shows the image of a destroyed X virus of potatoes: here are the fragments of the shell, and viral RNA. By the way, the observed RNA height is just one nanometer. This was done by phosphorylation, replacement of the hydrogen atom in the shell protein for the residue

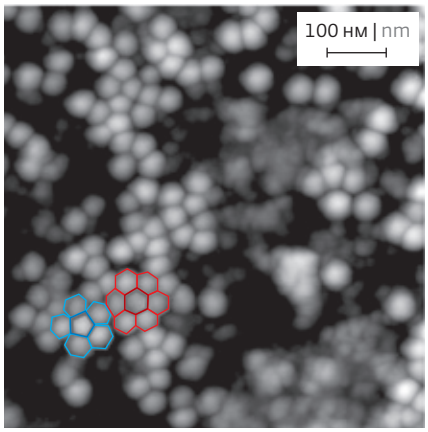


Рис.3. Атомно-силовая микроскопия вируса Менго. Частица вируса может иметь 6 (красное выделение) или 5 (синее выделение) ближайших соседей. Это указывает на икосаэдрическую форму вируса Менго. Данные получены А.Сушко с соавторами

Fig.3. Atomic force microscopy of the Mengo virus. A virus particle may have 6 (red selection) or 5 (blue selection) of the nearest neighbors. This indicates the icosahedral form of the Mengo virus. The data was obtained by A. Sushko et al.

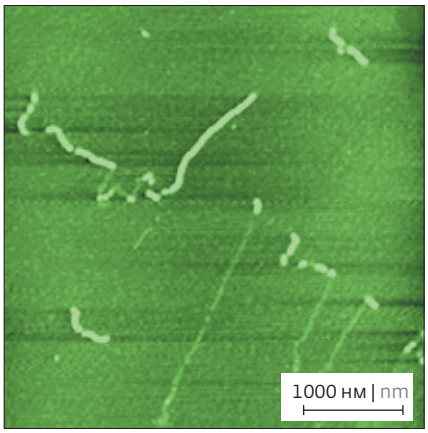


Рис.4. Изображение РНК и фрагментов белковой оболочки X вируса картофеля [2]

Fig.4. Image of RNA and protein coat of X potato virus [2]

на остаток фосфорной кислоты. Такой процесс происходит и в живой природе.

У бактерий тоже есть вирусы. Это бактериофаги. Взаимодействие бактериофага с бактериями *Escherichia coli* визуализировано с помощью атомно-силового микроскопа в работе [3].

С помощью атомно-силового микроскопа можно не только наблюдать форму вируса в трех измерениях, но и исследовать его механические и физико-химические свойства, жесткость, противодействие разрушению, адгезивные и фрикционные свойства, склонность к агрегации, способность кристаллизоваться.

Надавили кантилевером на частицу X вируса картофеля с разной силой и заметили, что высота вируса изменилась (рис.5). Теперь мы можем судить о жесткости вируса и даже понять, при какой силе воздействия он разрушается.

С помощью атомно-силовой микроскопии провели наблюдения коронавируса SARS-CoV-2 на воздухе при химическом и тепловом воздействии, в результате которого он погибает [5].

При чихании и кашле заболевшего человека вирусные частицы попадают в окружающий воздух и таким образом могут попасть к другому человеку. Больной человек при сильном кашле или чихании может выбросить

of phosphoric acid. Such a process occurs in wildlife.

Bacteria also have viruses. These are bacteriophages. Interaction of a bacteriophage with *Escherichia coli* bacteria is visualized by an atomic force microscope in [3].

With the help of an atomic force microscope, it is possible not only to observe the shape of the viruses in three dimensions, but also to investigate mechanical and physico-chemical properties of viruses, rigidity, counteracting destruction, adhesive and frictional properties, a tendency to aggregation, the ability to crystallize.

If we press a cantilever on a particle of potato virus X with a different force, we can notice that the height of the virus changes (Fig.5). Now we can judge the rigidity of the virus and even understand at what applied force the virus is destroyed.

With the help of atomic force microscopy coronavirus SARS-CoV-2 was studied in air under chemical and thermal exposure which resulted in its destruction [5].

When a sick person sneezes and coughs, viral particles enter the surrounding air and can get into another person. A sick person with a strong cough or sneezing can throw hundreds of thousands of viral particles, with a fluid droplets of about 4 μm, containing the virus that can stay in air for several hours. This means an air-drop infection. Larger drops settle on the surface – floor, tables or other items. Therefore, when touching such surfaces a man can also be infected. Consequently, the use of masks and gloves is a reasonable protection measure against coronavirus.

How many viruses are required for a person to get infected? Under laboratory conditions on the cell culture, it is shown that it is enough even one virus. One virus gets into a cell, the cell reproduces

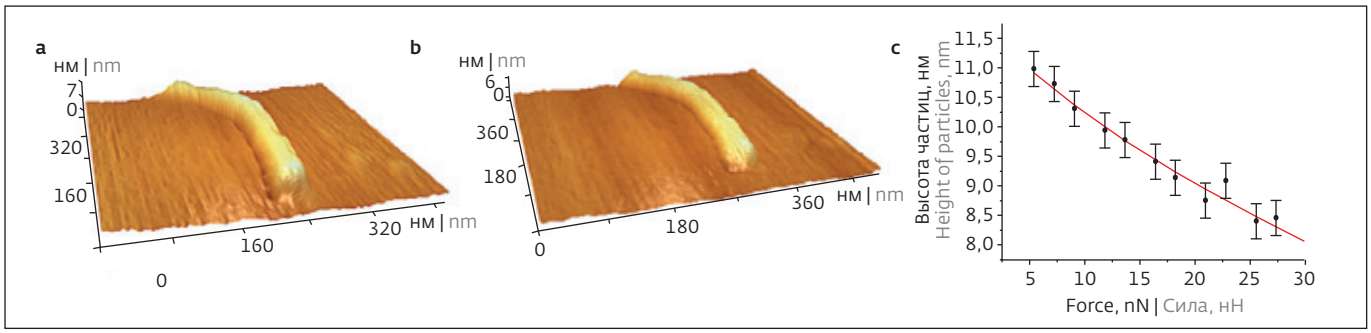


Рис.5. a – изображение вируса при прикладываемой силе в 5 нН, значение высоты 10,6 нм; b – изображение X вируса картофеля при прикладываемой силе в 25 нН, значение высоты 8,6 нм; c – график зависимости наблюдаемой высоты частиц X вируса картофеля от приложенной силы [4]

Fig.5. a – an image of the potato virus X with the applied force in 5 nN, of the its height is 10.6 nm; b – an image of the virus with the applied force in 25 nN, its height is 8.6 nm; c – a graph of the observed height of potato virus X particles versus the applied force [4]

сотни тысяч вирусных частиц, при этом капельки жидкости, размером около 4 мкм, содержащие вирус, могут находиться в воздухе в течение нескольких часов. Получается воздушно-капельное заражение. Капли большего размера оседают на поверхности – пол, столы или другие предметы. Поэтому при касании таких поверхностей тоже можно заразиться. Следовательно, применение масок и перчаток – это разумная мера защиты от коронавируса.

Сколько вирусов надо, чтобы заразиться? В лабораторных условиях на культуре клеток показано, что бывает достаточно и одного вируса. Один вирус попадает в клетку, клетка нарабатывает новые вирусы, они попадают в другие клетки и т. д. А как происходит в реальной жизни? Похоже на игру в рулетку, только подчас исход бывает смертельным.

Кто победит? Конечно, человек разумный. И в природе получается так, что вирус полностью не убивает всех своих носителей: будь то бактерии, растения, животные или люди. Ведь если погибают носители, то и полностью погибает вирус. Кстати, разобщение сильно препятствует распространению вируса, что как раз и делают локдаун, самоизоляция, удаленная работа и пр.

А бывает ли так, что кто-то вообще живет без вирусов? Оказывается, что да. Ученые до сих пор не обнаружили ни одного вируса у ели обыкновенной.

В наше время вирусы используют для борьбы с вирусами. Таким образом успешно работает вакцина

new viruses they get into other cells and so on. What happens in real life? It looks like a game of roulette, only sometimes the outcome is fatal.

Who will win? Of course, a homo sapience. It turns out in nature that the virus does not completely kill all its carriers: be it bacteria, plants, animals or people. After all, if the carriers die, the virus dies completely as well. By the way, separation greatly impedes a spread of viruses, which is what lockdown, self-isolation, distance work, etc. do.

Does it happen that someone generally lives without viruses? It turns out yes. Scientists have not yet found a single virus in European Spruce.

Nowadays, viruses are used to combat viruses. Thus, a vaccine Sputnik V against coronavirus, created on the basis of modified adenoviruses, is working successfully. In the first and second vaccinations different adenoviruses are used.

Take care of yourself. Soon, on the YouTube channel, we will talk about the atomic force microscopy of viruses. One can know more about the basics of the atomic force microscopy on the channel now: https://youtu.be/rhigj5eylsg.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Royal Society of London No. 21-58-10005, the Russian Science Foundation, project No. 20-12-00389, and the Russian Foundation for Basic Research, project No. 20-32-90036. ■

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.*

"Спутник V" против коронавируса, созданная на основе модифицированных аденовирусов. В первой и второй прививках используются разные аденовирусы.

Берегите себя. Скоро на канале YouTube мы расскажем об атомно-силовой микроскопии вирусов. Про основы атомно-силовой микроскопии можно посмотреть на канале уже сейчас: https://youtu.be/RHiGj5EYlsg.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Лондонского Королевского Общества № 21-58-10005, РНФ (проект № 20-12-00389) и РФФИ (проект № 20-32-90036).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **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 microscopy. Colloid Journal, 66(6) (2004) 673–678. https://doi.org/10.1007/s10595-005-0048-x.
2. **Kiselyova O.I., Nasikan N.S., Yaminsky I.V., Novikov V.K.** AFM imaging of PVX particles and PVX RNA. Physics of low-dimensional structures, 3/4 (2001) 167–174.
3. **Dubrovin E.V., Voloshin A.G., Kraevsky S.V., Ignatyuk T.E., Abramchuk S.S., Yaminsky I.V., Ignatov S.G.** Atomic force microscopy investigation of phage infection of bacteria. Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids, 24(22) (2008) 13068–13074. https://doi.org/10.1021/la8022612
4. **Kiselyova O.I., Gallyamov M.O., Nasikan N.S., Yaminsky I.V., Karpova O.V., Novikov V.K.** Scanning probe microscopy of biomacromolecules: nucleic acids, proteins and their complexes. In Frontiers of Multifunctional Nanosystems. V. 57. of NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry, (2002) 321–330. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, https://doi.org/10.1007/978-94-010-0341-4_24
5. **Celik U., Celik K., Celik S., Abayli H., Sahna K.C., Tonbak Ş., Toramand Z.A., Oral A.** Interpretation of SARS-CoV-2 behaviour on different substrates and denaturation of virions using ethanol: an atomic force microscopy study. RSC Adv., 10, (2020) 44079-44086. https://doi.org/10.1039/d0ra09083b

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

ОЭЗ "ТЕХНОПОЛИС "МОСКВА". ОБСУЖДЕНИЕ НОВЫХ ПРОФЕССИЙ В НАНОЭЛЕКТРОНИКЕ

Профессиональные стандарты в наноиндустрии обсудят на встрече ТехноКлуба ОЭЗ "Технополис "Москва", которая состоится 24 мая в рамках Года науки и технологий.

"В ОЭЗ столицы создан кластер микроэлектроники с участием производств, учебных и научных заведений, являющихся флагманами отрасли, задающими высокую планку в подготовке и развитии кадров. В ТехноКлубе эксперты рассмотрят основные аспекты развития Национальной системы квалификаций как базы для формирования рынка труда в высокотехнологичном секторе, обсудят профстандарты в наноиндустрии и презентуют проекты новых профстандартов по ряду специальностей микроэлектроники", – заявил генеральный директор столичной ОЭЗ Геннадий Дегтев.

По итогам онлайн-обсуждения проекты предложений по изменениям профстандартов будут переданы в Министерство труда и социальной защиты РФ. Ознакомиться с проектами можно на сайте ЦОК https://cokniime.ru.

ТехноКлуб приглашает к дискуссии разработчиков и производителей ИС и полупроводниковых приборов, экспертов в области проектирования и производства изделий микроэлектроники.

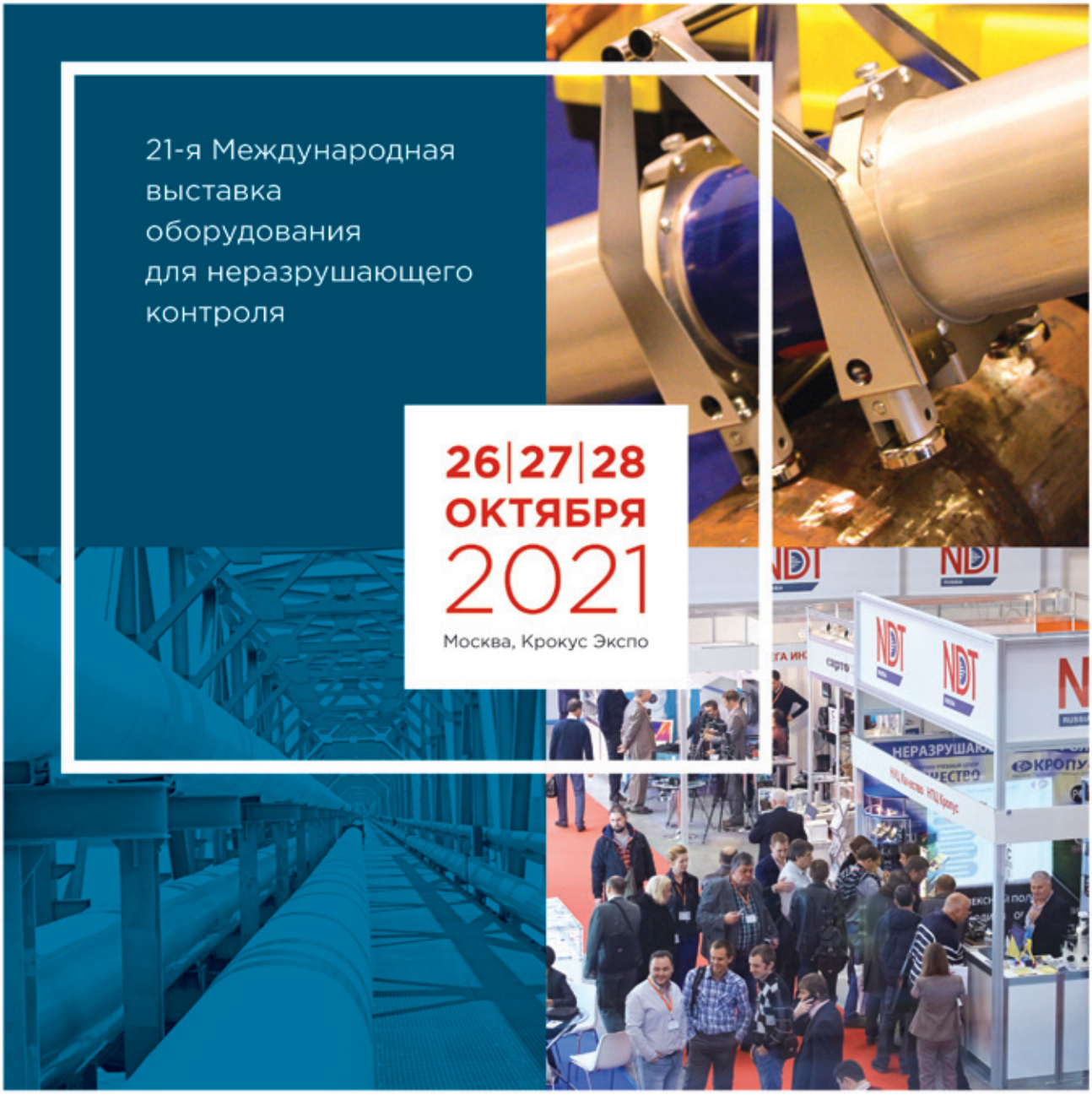
По материалам ОЭЗ "Технополис "Москва"

NDT RUSSIA

21-я Международная выставка оборудования для неразрушающего контроля

26|27|28 ОКТЯБРЯ 2021

Москва, Крокус Экспо



Организатор — компания MVK
Офис в Санкт-Петербурге

MVK Международная Выставочная Компания

+7 (812) 380 6000
ndt@mvk.ru

Подробнее о выставке:
ndt-russia.ru

12+