

УДК 616-092:612.017.1-064

## ПРОБЛЕМЫ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ВИРУСА ГРИППА А

*Мацаберидзе М.И.*

Грузинский технический университет, г.Тбилиси

Известно три серотипа вируса гриппа – А, В и С. Вирус гриппа В характеризуется меньшей эпидемиологической способностью до пяти раз, чем вирус гриппа А, а вирус гриппа С – поражает исключительно детей младшего возраста.

Вирионы семейства ортомиксовирусов (*Orthomyxoviridae*) и рода *Influenzavirus* (вирусы гриппа А и В), также вирус гриппа С имеют плеоморфные липидосодержащие наружные оболочки с большими поверхностными выступами.

На сегодняшний день роль поверхностных гликопротеинов в развитии инфекции изучена в большей степени потому, что из всех вирусных белков они (поверхностные гликопротеины) являются наиболее активными антигенами.

Поверхностные выступы образованы двумя гликопротеинами: гемагглютинином НА (от *Haemagglutinin*) и нейраминидазой НА (от *Neuraminidase*). Гемагглютинин принимает участие в прикреплении вируса к клетке и в проникновении внутрь нее, а нейраминидаза определяет выход вируса из клетки.

Белок НА вируса гриппа хорошо изучен как в структурном, так и в функциональном отношении [1]. Это главный вирусный антиген, против которого направлены защитные антитела, и его варибельность является основной движущей силой эволюции вируса в ходе эпидемий. НА – первый мембранный белок, структура которого была установлена методами рентгеноструктурных исследований [2]. Этими же методами установлена трехмерная структура головки НА [3].

Гемагглютинин вируса гриппа штамма Aichi/68, выделенного в 1968 году, синтезируется как единая полипептидная цепь, состоящая из 550 аминокислот. В результате последующего рас-

щепления с удалением остатка Arg-329 образуются две цепи НА1 и НА2, ковалентно объединенные дисульфидной связью между позициями 14 в НА1 и 137 в НА2. Эти двухцепочечные мономеры объединяются с помощью нековалентных связей в тримеры и располагаются на поверхности мембран. При обработке вируса бромелаином получают растворимые тримеры внеклеточных участков гемагглютина, содержащие целый НА1 и первые 174 из 221 аминокислотных остатков НА2. Таким образом, бромелаин удаляет закоривающий пептид [1]. Пространственная структура именно этого тримера установлена авторами с использованием рентгеноструктурного анализа [2].

Мономер гемагглютина – протяженная структура, выступающая из мембраны на 135Е. Она содержит стволовой участок и глобулярную структуру на вершине. Эта структура образована частью цепи НА1, а «ствол» содержит часть цепи НА1 и всю цепь НА2. Полипептид имеет необычайно растянутую конфигурацию. Прежде чем образовать первую компактную складку, 63N-концевые аминокислоты вытягиваются вверх от мембраны на 96Е. Глобула на вершине содержит **b**-слой из восьми антипараллельных цепей. Этот домен формирует участок связывания с сиаловой кислотой, являющейся необходимой составной частью клеточного рецептора вируса гриппа [1]. Остальная часть НА1 возвращается к «стволу» и идет почти антипараллельно начальному отрезку НА1. N-конец НА2 и С-конец НА1 разделены расстоянием 22Å. Это свидетельствует о том, что расщепление на две полипептидные цепи сопровождается конформационными изменениями. Прежде чем обернуться подобно поясу вокруг мономера, гидрофобный аминоконцевой пептид НА2, который участвует в слиянии мембран [1], проходит через поверхность раз-

дела мономеров в тримере. Основной структурной особенностью НА2 является наличие шпилькообразной петли из двух **a**-спиралей. Вторая спираль длиной 80Å является основой “ствола”.

Тример образуется путем ассоциации длинных **a**-спиралей НА2 одного мономера с соответствующими симметричными спиральями двух других мономеров. К аспарагиновым остаткам НА1 присоединены шесть олигосахаридных цепей, а к НА2 – одна. Все они, кроме присоединенных к остаткам 81 и 165, представляют собой процессированные сложные олигосахариды. Самым необычным в структуре углеводов, входящих в состав НА, является их распределение. Все участки присоединения, кроме 165, находятся на боковых поверхностях молекулы. Один расположен у самого конца молекулы НА1 вблизи мембраны. Олигосахарид в позиции 165 играет стабилизирующую роль для олигомерных контактов между глобулами на вершине структуры.

Для инициации инфекции гликопротеин вируса гриппа должен связаться с поверхностным рецептором клетки-мишени. Вирус связывается с рецептором, содержащим сиаловую кислоту, с помощью участка, расположенного на дальнем конце НА. Исходно этот участок на основании данных о группировке полностью консервативных остатков был локализован в поверхностном кармане (по результатам определения аминокислотных последовательностей): Tyr-98, His-183, Trp-153, Leu-194, Glu-190 и др. [2].

Представление о том, что гемагглютинин вируса гриппа – это единственный белок, необходимый для слияния вируса с клеткой хозяина, получило окончательное подтверждение в опытах по молекулярному клонированию и экспрессии гена НА в культуре клеток почек обезьян [1, 4]. Для проявления фузионной активности НА, а следовательно, его способности обеспечивать инфекционность вируса необходимо, чтобы белок-предшественник НА0 расщепился на НА1 и НА2 [1]. N-концевая последовательность НА2 называется фузионным пептидом, или пептидом слияния, является самым длинным в этой молекуле сегментом, состоящим из консервативных остатков, а также наиболее гидрофобным после сигнального пептида и C-концевого якорного участка.

Аминокислотные последовательности пептидов вирусов гриппа гидрофобны и обогащены глицином. Фузионный пептид на N-конце НА2 располагается между мономерами в тримере

НА. Он находится на расстоянии 35E от конца молекулы, направленного в сторону вирусной мембраны, и на расстоянии 100E от противоположного конца, несущего участок, который связывается с сиаловой кислотой на мембране клетки-мишени. Такая локализация предполагает, что при низком рН молекула претерпевает конформационные изменения, вследствие которых происходят экспонирование фузионного пептида и сближение вирусной мембраны с мембраной клетки-мишени [2].

Конформационные изменения, наблюдаемые в ВНА (это гемагглютинин, получающийся при обработке вирионов бромелаином, который удаляет заякоривающий пептид) происходят при том же самом, оптимальном для слияния низком значении рН [5]. При рН 5,0 фузионный пептид ВНА экспонируется и получает возможность вступать в новые гидрофобные взаимодействия. *In vitro* ВНА при низком рН агрегирует с образованием белок-белковых мицелл, сходных с теми, которые формируют мембранные белки, несущие интактный заякоривающий пептид. Агрегацию ВНА при низком рН можно предотвратить, включив его в мицеллы неионного детергента или в липидные везикулы. Если удалить фузионный пептид, то не происходит агрегации ВНА, а также связывания с мицеллами детергента или с липидным бислоем. Обработка ВНА термолизом в конформации, свойственной ему при низком рН, приводит к отщеплению аминокислот 1-23, а также к утрате приобретенных при низком рН гидрофобных свойств [6]. Это прямо указывает на то, что N-концевой фузионный пептид НА2 является гидрофобным участком, который экспонируется в результате конформационных изменений при низких рН. Дальнейшие подтверждения важной роли конформационных изменений ВНА при низком рН были получены в опытах по расщеплению ВНА трипсином, показавших, что пептидные связи в позициях 27 и 224 НА1, обычно спрятанные в структуре тримера, экспонируются при низком рН. Фактически всю верхнюю часть молекулы НА1 (с 28 по 328 остаток) можно отделить от нерастворимого НА2 и части НА1 (остатки 1-27) после обработки трипсином белка, находящегося в конформации, принимаемой им при низком рН [5]. Эти результаты позволяют предположить, что конформационные изменения, активирующие слияние мембран, захватывают как ту стволовую часть молекулы НА2, где N-конец погружается во внутреннюю область тримера, так и участки НА1,

контактирующие со «стволом».

Поскольку вирус гриппа может сливаться с искусственными липосомами, не имеющими белков и рецепторов, несущих сиаловую кислоту, можно допустить, что мембрана-мишень распознается непосредственно пептидом слияния [7]. Таким образом, НА становится как бы интегральным мембранным белком обеих мембран вируса и клетки, удерживаясь в первой своим закоривающим пептидом, а во второй – пептидом слияния. При заражении клетки вирусом с оболочкой иммунная система клетки образует антитела против вирусных мембранных гликопротеинов. Эти антигены служат также мишенями для сывороточных антител, формирующихся в результате вакцинации [1].

Расшифровка структуры гликопротеинов вируса гриппа [2] позволила не только выявить распознаваемый антителами участок этого гликопротеина, но и понять, как антигенные вариации изменяют распознавание.

Все антитела, нейтрализующие вирус гриппа, являющиеся антителами к НА. Вследствие антигенной изменчивости НА, возникают повторные эпидемические вспышки гриппа [1]. После первого выделения вируса гриппа в 1933 году (штамм Н1) были зарегистрированы пандемии – в 1957 и 1968 годах. В обоих случаях антигенные свойства НА вирусов, вызвавших пандемии, заметно различались. Соответствующие варианты получили обозначения Н2 и Н3. Первый из них, “азиатский”, включал штаммы, ответственные за вспышки гриппа с 1957 по 1968 г., а второй, «гонконгский», – штаммы, появившиеся в 1968 году и преобладающие до сих пор, к примеру А/Н3Н2/Sydney/97/ и А/Н3Н2/Moscow/99/.

В каждую из этих пандемических эр периодически (с интервалом в несколько лет) регистрировались эпидемии, вызванные вирусами, которые подверглись антигенному дрейфу по отношению к прототипным штаммам. Установлено, что у вирусов гриппа А существует 14 вариантов гемагглютинаина (НА) и 9 вариантов нейраминидазы (НА). Все эти белки обнаружены в вирусах, выделенных из организма птиц различных видов; часть из них найдена в составе вирусов, полученных от инфицированных млекопитающих. У вирусов гриппа А человека известны только три комбинации поверхностных белков: Н1Н1, Н2Н2 и Н3Н2 [8]. В первой из них различают три серотипа по старым классификациям:  $H_{sw}1N1$ , который имел вирус “испанки”, Н0Н1 и Н1Н1, по мнению ученых, ими ограничен набор виру-

сов гриппа А, имеющих эпидемическое распространение среди людей [8].

Результаты определения аминокислотных последовательностей НА природных и отобранных в лаборатории антигенных вариантов вирусов гриппа подтипа Н3 позволили предположить, что за взаимодействие антителами ответственные области трехмерной структуры НА, которые во время антигенного дрейфа подвергаются структурным изменениям [9]. Установлено, что молекула НА имеет четыре основных антигенных участка [1]. Участок А находится на выступающей петле, образованной аминокислотами 140-146. Участок В включает выступающую петлю над остатком 155 и наружные остатки 187-198 вокруг **a**-спирали на дистальном конце молекулы. Участок С (остатки 53, 54, 275, 278) представляет собой выпуклость в третичной структуре, расположенную ниже глобулярного домена. Участок D (остатки 207, 174) охватывает остатки на поверхности НА, а также возможно, некоторые аминокислоты на поверхности, разделяющей мономеры.

На основании проведенных исследований [9] было сделано заключение, что вирусы, вызвавшие в определенный период эпидемии, имели по крайней мере по одной мутации в каждом из четырех описанных выше антигенных участков для того, чтобы вирус мог избежать нейтрализации антителами. Такие результаты подтвердились при исследовании НА вируса А/Bangkok/1/79/, вызвавшего эпидемию гриппа в 1979 г. В процессе этих опытов были выявлены дополнительные изменения в каждом из предполагаемых антигенных участков [10]. В результате анализа большого количества вариантов НА 1968 г., отобранных с помощью моноклональных антител, было прямо подтверждено наличие участков А и В и установлено, что антитела распознают также участок Е [11].

Особое значение имеет моноклональное антитело, с помощью которого отобран вариант с заменой 63 Asp на Asn в позиции, поскольку в результате в эту позицию вводится олигосахарид. Это подтверждает, что углеводы могут влиять на иммунологическое распознавание структуры гликопротеина путем стерического маскирования поверхности белковой молекулы. Углеводы могут моделировать распознавание гемагглютинаина, маскируя часть антигенных зон некоторых штаммов [9]. На это указывает наличие в НА других подтипов возможных мест присоединения олигосахаридов, расположенных на тех участках, которые в НА подтипа Н3 рассматриваются как антигенные.

Исходя из гомологии аминокислотных последовательностей HA1(35%) и HA2(53%), а также консервативности дисульфидных связей, можно полагать, что структуры HA у вирусов подтипов H3 (1968-1983) и H1(1933-1956) в целом сходны [1].

Антигенные участки – петли, спирали и т.д., окружены у штаммов подтипов H3 консервативными остатками, которые имеются также у штаммов H1, что свидетельствует о сохранении даже этих деталей. Отмечено и интересное различие: участок 165-167, являющийся продолжением участка В в HA вируса 1934 г., замаскирован в HA 1968 года олигосахаридной цепью, вследствие чего в этом штамме он не распознается антителами. Аналогичное наблюдается и для штаммов вируса гриппа типа В.

Существуют разные стратегии индукции антител против вирусных мембранных гликопротеинов, но в связи с этим следует иметь в виду следующее: в процессе распознавания антителом может измениться локальную структуру белкового антигена [1].

При рассмотрении первичной структуры HA вируса A/Aichi/68(H3), можно отметить несколько значимых участков: на N-конце расположен сигнальный пептид из 16 гидрофобных аминокислот.

Эта короткая последовательность, типичная для мембранных гликопротеинов, ответственна за внедрение в эндоплазматический ретикулум новосинтезированной полипептидной цепи, но удаляется в ходе процессинга. Последующий участок из 550 аминокислот содержит субъединицу HA1(328 остатков), один аргининовый остаток, удаляемый экзопептидазой после протеолитического расщепления на HA1 и HA2, и, наконец, субъединицу HA2 (221 остаток). HA1 и HA2 даже после расщепления остаются тесно связанными не только многочисленными нековалентными связями, но и дисульфидным мостиком между цистеином в 14-м положении HA1 и цистеином в 137-м положении HA2. Есть и другие дисульфидные мостики, участвующие в стабилизации третичной структуры. Молекула HA закрепляется в мембране карбоксильным концом HA2. При этом его гидрофобные остатки (со 185-го по 211-й) пронизывают липидный бислой, а последние 10 остатков, преимущественно гидрофильных, выступают в цитоплазму. По мере процессинга полипептида HA с образованием гликопротеина к определенным аспарагиновым остаткам присоединяются с по-

мощью долихолфосфата олигосахаридные цепи [12].

Связь между первичной структурой белка и его трехмерной конфигурацией весьма сложна. Авторы работы [1] остановились на этом вопросе вкратце и для полного ознакомления с ним отсылают читателя к оригинальной работе [2].

Каждый мономер HA, содержащий сцепленные субъединицы HA1 и HA2, образует структуру, состоящую из «стебля» длиной 80Е, на одном конце которого находится большая глобулярная структура диаметром 40Е, а у другого конца, закоренного в мембране, – глобула диаметром 10Е. В этой глобуле расположен N-конец HA1. Отсюда аминокислотная цепь идет по стеблю и, восемь раз круто изменив направление (не считая нескольких промежуточных петель), формирует большую глобулу. Далее полипептидная цепь HA1 возвращается назад по стеблю антипараллельно своей N-концевой области и заканчивается на расстоянии 20Е от поверхности мембраны. Субъединица HA2 располагается в пределах стебля и маленькой глобулы на поверхности мембраны.

Каждый гликопротеиновый шип, различимый на электронных микрофотографиях вируса гриппа, представляет собой тример молекулы HA. Основные силы, стабилизирующие этот тример, приложены к области стебля, где молекулы повернуты друг к другу гидрофобными участками, поэтому тример обладает большей стабильностью и жесткостью, чем составляющие его мономеры.

По мнению авторов, [1] участки взаимодействия с клеточными рецепторами локализуются в верхней части больших глобул. Здесь складки каждой белковой цепи образуют небольшой «карман», приспособленный для связывания сиаловой кислоты, входящей в состав гликопротеинового рецептора клетки-хозяина. Большая глобула, с точки зрения авторов [1], содержит также все сайты, участвующие в нейтрализации вируса; четыре основных сайта расположены там, где аминокислотная цепь образует петли, выступающие из поверхности глобулы. Такие петли не влияют на четвертичную структуру шипов, поэтому в них могут накапливаться мутации, определяющие широкую антигенную вариабельность вирусов гриппа А.

Большинство олигосахаридных цепей присоединено к стеблю, повышая гидрофильность его наружной поверхности и увеличивая жесткость. Три из семи цепей, обычно присутствующих в молекуле HA, расположены на большой глобуле. Авторы [1] допускают их участие во взаимо-

действию между тримером НА и рецепторами на клеточной поверхности.

К моменту, когда молекула НА в ходе вирусного биогенеза достигает поверхности зараженной клетки, она приобретает нужную конформацию, модифицируется всеми необходимыми олигосахаридными остатками и вместе с двумя другими мономерами формирует тример. При этом протеолитическое расщепление, приводящее к отделению НА1 от НА2, происходит вне клетки и осуществляется трипсин-подобными ферментами. Эти протеазы в избытке обнаруживаются в межклеточном пространстве дыхательных путей, где и реплицируется вирус гриппа. Их очень много как в куриных эмбрионах, так и в культуре клеток птиц. Однако вирус гриппа А может размножаться также в культуре клеток млекопитающих, не обладающих протеазной активностью; в них образуются вирионы с нерасщепленным НА. Они способны нормально прикрепляться к клеткам-хозяевам и агглютинировать эритроциты, но не инфекционны. Следовательно, аминоконцевой фрагмент НА2, образующийся в результате процессинга, играет существенную роль на второй стадии инфекционного цикла – слияния вирусной оболочки с мембраной клетки. После протеолиза N-конец НА2 обнаруживается на расстоянии  $21\text{\AA}$  от C-конца НА1, что указывает на серьезные конформационные перестройки, которые претерпевает трехмерная структура молекулы НА. В ходе этого процесса N-конец НА2 отходит от стебля и становится доступным для взаимодействия с поверхностью зараженной клетки. Двадцать аминокислот, непосредственно примыкающих к появившемуся N-концу, представляют собой самую консервативную последовательность в составе НА.

Гидрофобность этой последовательности облегчает ее внедрение в липидный бислой клеточной мембраны, что в свою очередь инициирует процесс слияния. Наиболее загадочная особенность структуры НА – это удаленность N-конца НА2 (на расстояние  $100\text{\AA}$ ) от сайта связывания рецептора в верхней части мономера и близость его (до  $35\text{\AA}$ ) к поверхности вирусной оболочки. По мнению авторов [5, 13], возможно, после прикрепления к клеточному рецептору структура НА претерпевает дополнительную существенную перестройку, в результате которой N-конец НА2 начинает контактировать с липидным бислоем клеточной мембраны. Эта перестройка может индуцироваться низким значением во внутриклеточных везикулах (эндосомах), которые транспортиру-

ют инфекционный вирион в клетку.

Вирус гриппа А стал первым выявленным патогенным вирусом человека и первым вирусом эукариот, который исследовали количественными генетическими методами [14]. Впоследствии оказалось, что высокая частота рекомбинаций объясняется сегментацией вирусного генома. Если заразить клетку двумя штаммами вируса гриппа, сегменты их реплицирующихся геномов будут смешиваться в любых сочетаниях, поэтому дочерние вирусные частицы будут содержать разные наборы генов от каждого из родителей. Такое комбинирование сегментов вирусной РНК называется генетической перетасовкой (реассортацией) [1], чтобы подчеркнуть его несоответствие традиционным представлениям о генетической рекомбинации, в ходе которой генетический материал перестраивается или по механизму кроссинговера, или по механизму смены матрицы. Повышенная по сравнению с классической рекомбинацией частота генетической реассортации играет главную роль в высоком уровне изменчивости вирусов гриппа с вытекающими из сказанного проблемами для разработки эффективных лекарственных препаратов.

С другой стороны, более десяти лет интенсивно разрабатывается научное направление, названное авторами “Обратная структурная задача” [15], которое связано с проблемой структурной организации пептидов и белков и включающей в себя две противоположные по постановке задачи. Первая – прямая структурная задача – связана с установлением пространственного строения и конформационных, динамических свойств пептидной молекулы по известной аминокислотной последовательности.

Общая цель второй структурной задачи, названной авторами [15] “обратной”, состоит в целенаправленном конструировании химического строения молекулы по заранее заданной пространственной структуре – для осознанного количества изучения на молекулярном уровне механизмов функционирования природных пептидов и белков, для поиска соответствующих искусственных гормональных и лекарственных препаратов, а также субстратов, ингибиторов, антител, делая этот поиск целенаправленным, включающим предварительное теоретическое моделирование.

Метод “обратной структурной задачи” был применен для брадикининпотенцирующего пентапептида,  $\alpha$ -пептида сна [15] и ряда других природных объектов.

На протяжении истории человечества происходили изменения в структуре самих природных вирусных инфекций, в последнее время исчезла оспа, но появился СПИД. В настоящее время распространение многих классических вирусных инфекций: полиомиелита, кори, краснухи и др. в значительной степени ограничено широким применением эффективных вакцин, тогда как распространение других, например, вызванных респираторно-синцитиальным вирусом, все еще не поддается эффективной профилактики.

Важные исследования в области молекулярной генетики эукариот, замечательные открытия в молекулярной биологии, успехи в рамках общей и частной вирусологии, которые по существу являются фундаментальными открытиями, показавшими принципиально новые пути создания вакцин, а в биохимических исследованиях удалось решить многие классические проблемы эпидемиологии и патогенеза вирусных болезней. Но всех этих успехов удалось достичь лишь после неисчислимых человеческих потерь, продолжающихся и по сей день — пример СПИДа и гриппа.

Эпидемия СПИДа — одна из важнейших трагических проблем человечества в конце XX века — сегодня стала почти не решимой в большей степени из-за отсутствия опережающей стратегий в исследовании теоретически ожидаемых вирусных инфекций и опережающего стратегического плана в разработке рекомендаций для производства перспективных лекарственных средств против новых ожидаемых инфекционных заболеваний. Если мы не будем следовать по указанному пути, человечество ждет много новых “СПИДов”.

Сегодня имеются фундаментальные базисные знания для начала исследований по прогнозированию ожидаемых новых инфекционных заболеваний. К примеру, общая вирусология располагает исчерпывающими данными по принципам структурной организации вирусов, таким качеством могут гордиться молекулярная вирусология, молекулярная генетика, молекулярная биология, биохимия, геновая инженерия, биофизика, то есть отрасли науки, составляющие “базу данных” для прогнозирования ожидаемых новых инфекционных заболеваний разработки рекомендаций для производства новейших лекарственных средств. С другой стороны, имеются современные системы программного обеспечения для многопараметрных сложных динамических систем прогнозирования и разработки рекомендаций по мно-

гим направлениям.

Симбиоз двух аспектов, фундаментальных знаний и математического обеспечения за короткое время может решить обсуждаемую проблему.

На современном этапе решающую роль в решении многих глобальных проблем играет область искусственного интеллекта. Известный специалист по экспертным системам Д. Уотермен (Donald A. Waterman) указывает:

*“Экспертные системы — это сложные программы, которые манипулируют знаниями в целях получения удовлетворительного и эффективного решения в узкой предметной области. Как и настоящий человек — эксперт, эти системы используют символическую логику и эвристики — эмпирические правила — чтобы найти решения. И (как настоящие эксперты) они могут ошибаться, но обладают способностью учиться на своих ошибках. Однако у этой искусственной экспертизы есть некоторые преимущества перед человеческой экспертизой. Она постоянна, непротиворечива, легко передается, документируется и уточняется. В итоге, связывая мощные компьютеры с богатством человеческого опыта, экспертные системы повышают ценность экспертных знаний, делая их широко применимыми”* (Д. Уотермен. Руководство по экспертным системам/ Пер. с англ., М.: Изд. «Мир», 1989).

Экспертная система SYNCHEM2 синтезирует сложные органические молекулы без помощи и указаний со стороны специалиста-химика. Она пытается найти последовательность реакции синтеза органических соединений, превращающих набор доступных исходных материалов в молекулу-цель. SYNCHEM2 использует знания о химических реакциях для составления плана создания молекулы — цели из молекул — «строительных блоков». Система пытается найти оптимальную схему синтеза целевого соединения из исходных материалов, применяя эвристики, ограничивающие поиск маршрутами, удовлетворяющими ограничениям задачи. Эти ограничения могут включать информацию об условиях токсичности реакций, о качестве и выходе требуемого продукта. Система реализована на языке PL/1. Она разработана в Университете штата Нью-Йорк (США).

На протяжении долгого времени различные методы борьбы с вирусом гриппа А не дали должного эффекта в рамках нейтрализации вируса в большинстве случаев из-за метода «проб и ошибок» в исследованиях; с другой стороны, современный уровень фундаментальных знаний, в том числе относительно вируса гриппа

А, а также возможности программного обеспечения в виде экспертных и интеллектуальных систем (экспертная система реализованная в аппаратуре) дают возможность, за короткое время, получить средства против вируса гриппа А и разработать технологические подходы к промышленной реализации такой продукции.

**Топология основных подходов к нейтрализации вируса гриппа А включает в себя следующие этапы:**

1. Анализ (методами обратной структурной задачи) всех основных антигенных участков, всех 14 вариантов гемагглютинаина (НА) вируса гриппа А, начиная с трех комбинаций поверхностных белков H1N1, H2N2 и H3N2, известных только для вирусов гриппа А человека.

2. Разработка условий синтеза всех сайтов нейтрализации вируса гриппа А с применением экспертных систем.

3. Разработка технологических подходов к промышленной реализации средств против вируса гриппа типа А.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Fundamental Virology./Chief editors: Bernard N.Fields, M.D,David M.Knipe, Ph.D. -RAVEN PRESS, NEW YORK, 1986.
2. Wilson I.A., Skehel J.J., Wiley D.C. Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 E resolution. -Nature,1981.-V.289.-P.366-373.
3. Colman P.M., Varghese J.N., Laver W.G. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. -Nature, 1983.-V.303.-P.41-47.
4. Gething M.J., Sambrook J. Cell-surface expression of influenza haemagglutinin from a cloned DNA copy of the RNA gene. -Nature,1981.-V.293.-P.620-625.
5. Skehel J.J., Bayley P.M., Brown E.B., Martin S.R., Waterfield M.D., White J.M., Wilson I.A., Wiley D.C. Changes in the conformation of influenza virus haemagglutinin at the pH optimum of virus-mediated membrane fusion. //Proc.Natl.Acad.Sci. USA.-1982.-V.79.-P.968-972.
6. Daniels R.S., Douglas A.R., Skehel J.J., Waterfield M.D., Wilson I.A., Wiley D.C.; Studies of the influenza virus haemagglutinin in the pH5 conformation. /In: The Origin of Pandemic Influenza Viruses. /Ed.by G.W.Laver and C.M.Chu. -Elsevier-North Holland. -New-York, 1984.
7. White J., Killian M., Helenius A. Membrane fusion proteins of enveloped animal viruses. // Quart.Rev.Biophys.-1983.- V.16.-P.151-195.
8. Шварцман Я.С., Иванников Ю.Г. Вернется ли «испанка»? /В мире науки. 1991. -№12. -С.88-99.
9. Wiley D.C.; Wilson I.A., Skehel J.J. Structural identification of the antibody-binding sites of Hong Kong influenza haemagglutinin and their involvement in antigenic variation.// Nature. -1981.-V.289.-P.373-378.
10. Sleight M.J., Both G.W., Underwood P.A., Bender V.J. Antigenic drift in the haemagglutinin of the Hong Kong influenza subtype: correlation of amino acid changes with alterations in viral antigenicity// J.Virol.-1981.-V.37.-P.845-853.
11. Daniels R.S., Douglas A.R., Gonsalves-Scarano F., Palu G., Skehel J.J., Brown E., Khossow M., Wilson I.A., Wiley D.C. Antigenic structure of influenza virus haemagglutinin. /In: The origin of Pandemic Influenza Viruses. / Ed.by G.W.Laver and C.M.Chu. - Elsevier-North Holland, New-York, 1984.
12. Hubbard S.C., Ivatt R.J. Synthesis and processing of asparagine – linked oligosaccharides. // Annu.Rev.Biochem. -1981.-V.50.-P.555-583.
13. Huang R.T.C., Rott R., Klenk H.-D. Influenza viruses cause hemolysis and fusion of cells. /Virology. -1981. -V.110. -P.243-247.
14. Burnet F.M., Edney M. Recombinant viruses obtained from double infections with the influenza A viruses MEL and Neuro-WS. // Aust. J.Exp.Biol.Med.Sci. -1951. -V.39.-P.353-362.
15. Попов Е.М. Структурная организация белков. - М.: Наука, 1989.