

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-184

**ИНТЕГРАЦИЯ МЕТОДОВ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ,
МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ И РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА
ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ НУКЛЕОПРОТЕИНОВ НЕДАВНО ОБНАРУЖЕННЫХ ВИРУСОВ
(*BEIJI NAIROVIRUS* И *SONGLING VIRUS*)***

**INTEGRATION OF COMPUTATIONAL MODELING, SMALL-ANGLE X-RAY SCATTERING
AND X-RAY CRYSTALLOGRAPHY TO STUDY THE STRUCTURE OF NUCLEOPROTEINS
OF NEWLY DISCOVERED VIRUSES (*BEIJI NAIROVIRUS* AND *SONGLING VIRUS*)**

А. О. Яншин^{1,2}, А. В. Гладышева¹

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово
²Новосибирский государственный университет

A. O. Yanshin^{1,2}, A. V. Gladysheva¹

¹State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo
²Novosibirsk State University

✉ a.yanshin@g.nsu.ru

Аннотация

За последние годы выявлены новые вирусы семейства *Nairoviridae* — *Beiji nairovirus* (BJNV) и *Songling virus* (SGLV), вызывающие тяжелые заболевания. В работе впервые изучены структуры их нуклеопротеинов с помощью нейросети AlphaFold 3, малоуглового рентгеновского рассеяния и рентгеноструктурного анализа на синхротронном излучении.

Abstract

In recent years, new viruses of the *Nairoviridae* family have been identified — *Beiji nairovirus* (BJNV) and *Songling virus* (SGLV), which cause severe diseases. In this work, the structures of their nucleoproteins were studied for the first time using the Alpha-fold 3, small-angle X-ray scattering, and X-ray structural analysis on synchrotron radiation.

За последние годы с применением современных методов секвенирования было обнаружено множество новых клещевых вирусов семейства *Nairoviridae*, включая *Beiji nairovirus* (BJNV) и *Songling virus* (SGLV), вызывающих эпидемические вспышки и серьезные заболевания у людей и животных [1, 2]. Изучение структурных особенностей нуклеопротеинов, обеспечивающих защиту и репликацию вирусного генома, является ключевым для разработки эффективных вакцин и противовирусных препаратов. В настоящее время структурные данные по нуклеопротеинам этих вирусов полностью отсутствуют, что ограничивает возможности создания действенных средств борьбы с этими вирусами. В этой связи использование синхротронного излучения (СИ) становится критически важным и на сегодняшний день единственным методом для получения достоверной трехмерной структуры белков новых вирусов на атомном уровне. Современные достижения в области нейросетей дают возможность с высокой точностью предсказывать третичную структуру белков на основе анализа больших биологических баз данных, значительно упрощая интерпретацию дифракционных экспериментов. Таким образом, интеграция синхротронных технологий и искусственного интеллекта представляет собой новый, современный подход для изучения структуры нуклеопротеинов новых опасных для человека вирусов, что имеет решающее значение для разработки профилактических и терапевтических средств в борьбе с новыми вирусными угрозами.

Целью работы является комплексное изучение структуры нуклеопротеинов недавно обнаруженных вирусов *Beiji nairovirus* и *Songling virus* посредством интеграции современных методов вычислительного моделирования, малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) и рентгеноструктурного анализа (РСА) с использованием СИ.

В результате исследования впервые получены модели третичных структур нуклеопротеинов SGLV и BJNV с помощью нейросети AlphaFold 3, выявлены их конформационные особенности и РНК-связывающие участки, важные для вирусной функции. Нуклеопротеины BJNV и SGLV обладают двухдоменной структурой, один из которых содержит «карман» для связывания РНК и является «жестким», а второй обладает большой гибкостью

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение от 30.05.2025 № 075-15-2025-452).

в конформационных изменениях, что может приводить к различиям в специфичности и эффективности вирусной репликации. По данным гель-эксклюзионной хроматографии и динамического рассеяния света установлено, что нуклеопротеины существуют в мономерной форме в растворе, размер мономера SGLV составил $6,02 \pm 1,8$ нм, тогда как размер мономера BJNV — $8,47 \pm 2,05$ нм. Впервые разработаны оптимальные условия кристаллизации: кристаллы с белковой дифракцией, протестированные на станции СИ — BL17 SSRF (г. Шанхай, Китай), получены при температуре 20 °C, в растворе 20 mM Tris and 150 mM NaCl, pH 7,5 с концентрацией белка 26 mg/ml и использовании подбора условий кристаллизации с помощью роботизированной системы Mosquito Xtal3, рост кристаллов продолжался в течение одной недели наблюдений. Несколько кристаллов обеспечивали дифракцию до разрешения 2,5 Å, выращивание которых происходило при условиях: кристаллизационный набор Morheus II, соли: 90 mM LiNaK 0,1 M, буфер — pH 6,5, MOPSO, Bis-Tris, 50 % v/v, смесь осадительных агентов 1–30 % w/v PEG 3000, 40 % v/v 1, 2, 4-Butanetriol, 2 % w/v NDSB 256, путем смешивания 150 нл белка с равным объемом кристаллизационного раствора, смесь осадительных агентов 2–25% w/v PEG 4000, 40 % w/v 1,2,6-Hexanetriol в пропорции 200 нл раствора белка с 100 нл кристаллизационного раствора. Экспериментальные профили МУРР, собранные на станции СИ BL19U2 SSRF (г. Шанхай, Китай), позволили определить радиус вращения белковых молекул (R_g) равный $2,7 \pm 0,1$ — $3,1 \pm 0,1$ нм, линейный молекулярный размер (D_{max}) приблизительно 9–10 нм и молекулярную массу 47,6–62,0 кДа, которая незначительно варьируется в зависимости от концентрации. Также впервые были восстановлены структуры низкого разрешения нативных конформаций N SGLV и N BJNV растворе. Эти данные подтвердили предсказанные нейросетью AlphaFold 3 модели. Полученные результаты имеют принципиальное значение для разработки превентивных мер противодействия вирусным угрозам. В частности, выявленные РНК-связывающие области и конформационные особенности нуклеопротеинов могут служить мишенями для создания новых вакцин и противовирусных препаратов.

Литература

1. Ma J. et al. Identification of a new orthonairovirus associated with human febrile illness in China // *Nat. Med.* 2021. Vol. 27, No. 3. P. 434–439.
2. Wang Y.C. et al. A new nairo-like virus associated with human febrile illness in China // *Emerging Microbes Infections.* 2021. Vol. 10, No. 1. P. 1200–1208.