



УДК 578.811

СТРУКТУРА ЦИАНОФАГОВ *AS-1L*, *AS-1K* и *S-8K*

В. А. Горюшин, А. А. Аверкиев, О. А. Шаинская

Несмотря на то, что структура бактериофагов относительно хорошо изучена, о чем свидетельствуют данные обзора Eiserling [1], по ультраструктуре цианофагов имеются лишь отдельные сообщения [2—5]. Целью данного исследования явилось сравнительное изучение структуры двух штаммов цианофага *AS-1* [6] — *AS-1L* [7] и *AS-1K* [8], а также цианофага *S-8K* [9], ранее выделенных нами. Последние обладают идентичным кругом хозяев, но различаются между собой по одноклеточному циклу развития и серологически. Исследуемые цианофаги относятся к вирусам, поражающим одноклеточные цианобактерии рода *Synechococcus*.

Материалы и методы. В опытах использовали цианофаг *AS-1L*, выделенный из водосмов в районе Лейпцига, и цианофаги *AS-1K* и *S-8K*, обнаруженные в окрестностях Кисва [7—9].

Цианофаги накапливали на культуре *Synechococcus cedrorum* PCC 6908 в среде BG-11 [10] при температуре 30—35 °С, освещенности 2000 лк и непрерывной аэрации воздухом.

Свежеприготовленные фаголизаты вначале обрабатывали хлороформом в соотношении 50:1, а затем их осветляли центрифугированием при 5600 г в течение 20 мин и наносили на дырчатые коллоидные пленки. Препараты контрастировали 2 %-ным водным раствором уранилацетата и исследовали в электронном микроскопе ЭМВ 100БР. Калибровку микроскопа осуществляли с помощью частиц латекса диаметром 150 нм.

Число капсомеров, расположенных на ребре икосаэдра (n), вычисляли из отношения расстояния между соседними капсомерами к максимальному диаметру икосаэдра, ориентированному в направлении оси симметрии третьего порядка (CV) [11]. Число капсомеров на ребре октаэдра определяли визуально.

Общее число капсомеров для икосаэдрического капсида вычисляли по формуле $N=10x(n-1)^2+2$, а для октаэдрического капсида — по формуле $N=4x(n-1)^2+2$, где N — общее число капсомеров, x — класс многогранника, n — число капсомеров на ребре многогранника [12].

Результаты и обсуждение. Электроно-микроскопическое исследование препаратов цианофагов *AS-1L* и *AS-1K* позволило установить, что они имеют головки икосаэдрической конструкции с осями симметрии 5:3:2 (рис. 1, а—в, д). Диаметр капсида цианофагов измеряли у частиц, головки которых ориентированы относительно пленки-подложки только осью третьего порядка. Он оказался равным $85,6 \pm 2,7$ нм для цианофага *AS-1L* и $88,1 \pm 3,9$ нм для цианофага *AS-1K*, а расстояние между центрами соседних капсомеров $8,4 \pm 0,6$ и $8,3 \pm 0,5$ нм соответственно. Отношение CV, вычисленное экспериментально, равно 0,098 для *AS-1L* и 0,093 для *AS-1K*. Теоретическое значение отношения CV равно 0,103—0,118; 0,087—0,098; 0,074—0,084 при n , равном 6, 7 и 8 соответственно [11]. Следовательно, на ребрах головок данных цианофагов расположено по семь капсомеров. Головки цианофагов *AS-1L*

и *AS-1K* относятся к классу 1 многогранников (на электронографиях прослеживается исчерченность головок, параллельная ребрам) с числом триангуляции 36. Общее число капсомеров в таком многограннике равно 362. Если из общего количества вычесть 5% капсомеров, приходящихся на место присоединения отростка к головке, то число капсомеров на головке должно составить 346.

Отростки цианофагов *AS-1L* и *AS-1K* имеют сложное строение

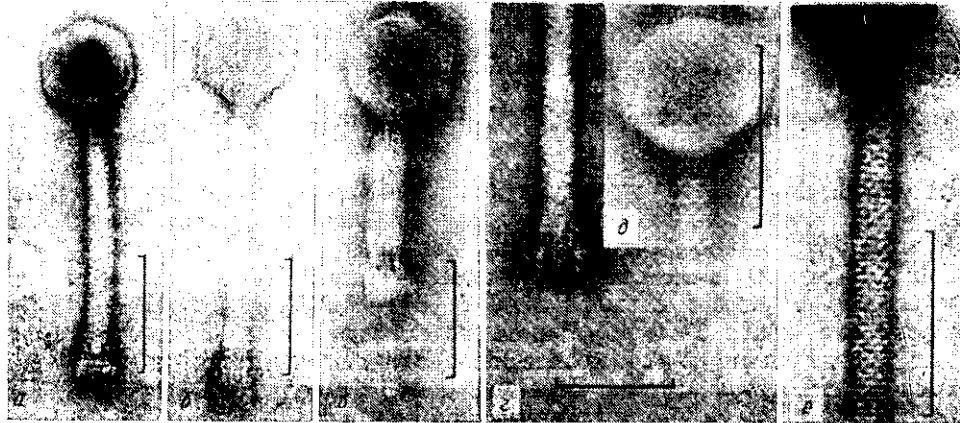


Рис. 1. Электронографии цианофагов *AS-1L* и *AS-1K*: а — вирусная частица *AS-1L* с несокращенным чехлом отростка; б — вирусная частица *AS-1K* с несокращенным чехлом отростка; в — вирусная частица *AS-1K* с сокращенным чехлом отростка; г — нити отростка *AS-1K*; д — головка *AS-1K*; е — отросток *AS-1L*. Длина масштабной линии 100 нм.

Fig. 1. Electron micrographs of cyanophages *AS-1L* and *AS-1K*: а — *AS-1L* virus particle with extended sheath; б) *AS-1K* virus particle with extended sheath; в) *AS-1K* virus particle with contracted sheath; г) *AS-1K* tail fibres; д) *AS-1K* head; е) *AS-1L* tail. Bar — 100 nm.

(рис. 1, е). Длина наружного чехла отростка равна $216,2 \pm 6,7$ и $224,6 \pm 9,2$ нм, а толщина — $25,2 \pm 2,3$ и $24,8 \pm 1,7$ нм соответственно для цианофагов *AS-1L* и *AS-1K*. Внутренний диаметр чехла составляет $10,3 \pm 2,3$ нм. На проксимальном конце отростка располагается шейка длиной $10,4 \pm 0,6$ нм и диаметром $19,1 \pm 1,6$ нм у *AS-1L*; длиной $11,0 \pm 0,6$ нм и диаметром $20,7 \pm 1,4$ нм у *AS-1K* (рис. 1, д). Коннектор, соединяющий головку с хвостовым отростком, по-видимому, сходен с таковым бактериофагов. Чехол имеет поперечную исчерченность (52 ± 2 и 54 ± 2 поперечные полосы в интактном состоянии соответственно для *AS-1L* и *AS-1K*) и состоит из 312 ± 12 и 324 ± 12 морфологических субъединиц соответственно (рис. 1, а, б, е). Расстояние между центрами соседних морфологических субъединиц равно $4,1 \pm 0,8$ нм. Анализ электронографий позволил предположить, что хорошо различимая спиралевидная упаковка кольцевых структур чехла отростка (appuli) подобна обнаруженной у фага *T4* [13]. Однако угол наклона спирали, состоящей из таких кольцевых структур, точно определить не удалось. Поэтому на рис. 3 представлена условная схема упаковки субъединиц хвостового отростка цианофагов. В сокращенном состоянии чехол отростка цианофага *AS-1L* имеет длину $98,7 \pm 4,5$ нм и диаметр $29,9 \pm 1,5$ нм; цианофага *AS-1K* — длину $107,7 \pm 2,9$ нм и диаметр $32,1 \pm 1,9$ нм (рис. 1, в). Базальные пластинки цианофагов *AS-1L* и *AS-1K* (рис. 1, а, б, г) представляют собой своеобразную структуру с симметрией шестого порядка, диаметром $38,7 \pm 3,6$ и $42,1 \pm 5,1$ нм и высотой $28,8 \pm 3,6$ и $29,3 \pm 2,0$ нм соответственно. К ней присоединено шесть шипов и шесть длинных нитей (рис. 1, г). Как видно из рис. 1, в, при сокращении чехла структура базальной пластинки резко меняется; при этом можно предположить, что ее симметрия шестого порядка сохра-

няется. Подобные изменения базальной пластинки свидетельствуют, по-видимому, об ее участии в процессе сокращения чехла отростка.

Цианофаг *S-8K* по своей морфологии подобен бактериофагу *SPO1* [14]. В отличие от штаммов *AS-1L* и *AS-1K* он имеет октаэдрическую головку с осями симметрии 4:3:2 (рис. 2, *a—д*). Длина ребра головки равна $97,7 \pm 1,9$ нм. На ребре капсида цианофага *S-8K* расположено 11 капсомеров. Исчерченность граней, перпендикулярная ребру, указы-

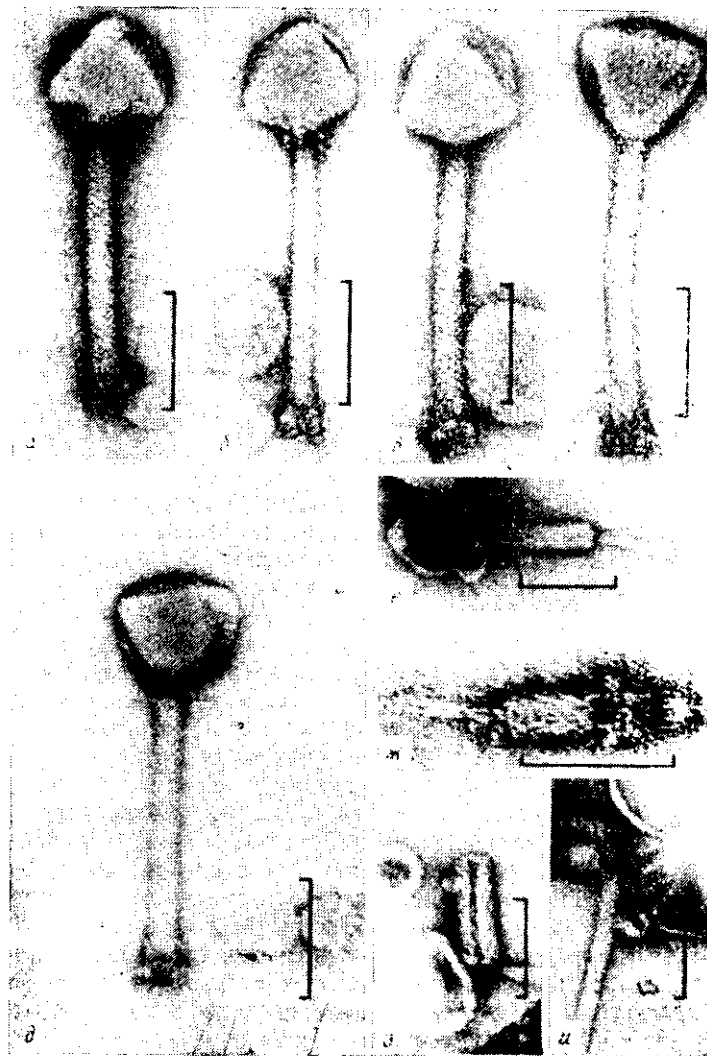


Рис. 2. Электронографии цианофага *S-8K*: *a—д* — вирусная частица с несокращенным чехлом отростка; *e* — вирусная частица с сокращенным чехлом отростка; *ж—и* — сокращенный чехол отростка. Длина масштабной линии 100 нм.

Fig. 2. Electron micrographs of cyanophage *S-8K*: *a—д*) virus particle with extended sheath; *e*) virus particle with contracted sheath; *ж-и*) contracted sheath. Bar — 100 nm.

вает на то, что головка цианофага *S-8K* относится к классу 3 многогранников. Число триангуляции равно 100, общее количество капсомеров на таком октаэдре равно 1202. За вычетом 5% капсомеров, приходящихся на присоединение отростка, головка цианофага *S-8K* должна содержать 1142 капсомера. На проксимальном конце отростка имеется воротничок, состоящий из четырех морфологических субъединиц, прилегающих к граням головки (рис. 2, *в—д*). Цианофаги с октаэдрическим типом симметрии головки встречаются крайне редко. Так, Мен-

джул с соавт. [5] обнаружили цианофаг *A-2* с октаэдрической головкой, поражающий нитчатую цианобактерию *Anabaena variabilis*. Среди вирусов одноклеточных цианобактерий *S-8K* является пока единственным цианофагом с октаэдрическим типом симметрии.

Отросток цианофага *S-8K* состоит из наружного чехла длиной $233,2 \pm 8,5$ нм и толщиной $25,4 \pm 1,1$ нм (рис. 2, *a-d*) с внутренним диаметром $10,1 \pm 1,1$ нм. Чехол имеет поперечную исчерченность (54 ± 1 поперечную полосу). Расстояние между центрами соседних морфологических субъединиц равно $4,4 \pm 0,3$ нм. Всего на чехле насчитывается

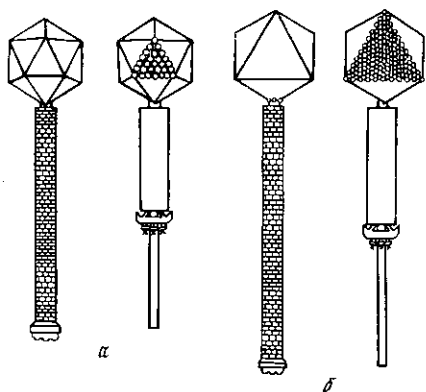


Рис. 3. Схема строения цианофагов *AS-1L* и *AS-1K* (*a*) и *S-8K* (*b*). Слева — частица с несокращенным чехлом отростка, справа — частица с сокращенным чехлом отростка. Нити отростка не указаны.

Fig. 3. Schematic structure of cyanophages *AS-1L* and *AS-1K* (*a*), and *S-8K* (*b*). On the left — virus particles with extended sheath, on the right — virus particles with contracted sheath. The tail fibres are not indicated.

324 ± 6 морфологических субъединиц. Анализ электронографий цианофага *S-8K* позволил предположить, что спиралевидная упаковка субъединиц чехла сходна с таковой у цианофагов *AS-1L* и *AS-1K*. В сокращенном состоянии чехол хвостового отростка цианофага *S-8K* имеет длину $111,1 \pm 5,3$ нм и диаметр $30,5 \pm 1,0$ нм (рис. 2, *e*). Спиралевидное строение сокращенного чехла хорошо различимо в тех случаях, когда он лишен стержня (рис. 2, *з, и*). В сокращенном состоянии в чехле насчитывается 23 ± 3 поперечные полосы. Сокращенные чехлы, расположенные торцом на пленке-подложке (рис. 2, *и*), сходны с таковыми у фага *T4*, если последние слабо контрастированы уранилацетатом [15]. У цианофага *S-8K* на торце сокращенного чехла выявляются 12 морфологических субъединиц. Базальная пластинка *S-8K* сходна с таковой у *AS-1L* и *AS-1K* и имеет диаметр $43,5 \pm 3,8$ нм, высоту $29,9 \pm 3,8$ нм и шесть коротких шипов (рис. 2, *a, б, г, д, ж*) с нитями (рис. 2, *a*).

В отличие от Sherman и Brown [16], отмечавших отсутствие нитей у цианофага *AS-1*, нам удалось у исследуемых цианофагов обнаружить тонкие гибкие нити, отходящие от базальной пластинки. Данные нити отличаются от таковых *T*-четных фагов тем, что они не имеют жесткой структуры. Авторы [17] ранее также сообщили о наличии у цианофага *AS-1* с трудом обнаруживаемых очень тонких и гибких нитей.

На основании полученных данных предложены схематические модели строения цианофагов *AS-1L*, *AS-1K* и *S-8K* (рис. 3, *a, б*).

По размеру, сложности строения чехла и типу его сокращения, а также симметрии головки цианофаги *AS-1L*, *AS-1K* и *S-8K* можно отнести к семейству *Myoviridae*, роду *Cyanomyovirus* [18].

STRUCTURE OF CYANOPHAGES *AS-1L*, *AS-1K* and *S-8K*

V. A. Goryushin, A. A. Averkiev, O. A. Shainskaya

Institute of Microbiology and Virology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

Structural characteristics of two strains of cyanophage *AS-1*, *AS-1L* and *AS-1K*, and of cyanophage *S-8K* are presented; these cyanophages have the same host range, but differ in their one-step growth cycle and serological relationships. *S-8K* has an octahedral head, *AS-1L* and *AS-1K* an icosahedral one. All the three cyanophages have a long, contractile tail. The size and arrangement of the head capsomeres are determined; the sheath structure of these cyanophages is supposed to be similar with that of bacteriophage *T4*. Schematic models are given for the structure of the cyanophages. Cyanophages *AS-1L*, *AS-1K* and *S-8K* belong to the family *Myoviridae* of the genus *Cyanomyovirus*.

1. Eiserling F. A. Bacteriophage structure // *Compreh. Virol.*—1979.—13.—P. 543—580.
2. Luftig R., Haselkorn R. Studies on the structure of blue-green algae virus *LPP-1* // *Virology*.—1968.—34, N 4.—P. 664—674.
3. Adolph K. W., Haselkorn R. Comparison of the structures of blue-green algae viruses *LPP-1M* and *LPP-2* and bacteriophage *T7* // *Ibid.*—1972.—47, N 3.—P. 701—710.
4. Менджул М. І., Жигір В. В. Електронномікроскопічне вивчення структури хвостового відростка ізолята вірусу *LPP-1* // *Мікробіол. журн.*—1971.—33, № 4.—С. 460—465.
5. Виявлення вірусу синьозелених водоростей з октаедричним типом симетрії / М. І. Менджул, Т. Г. Лисенко, С. П. Бобровник та ін. // *Мікробіол. журн.*—1975.—37, № 6.—С. 713—717.
6. Isolation and characterization of *AS-1*, a phycovirus infecting the blue-green algae, *Anacystis nidulans* and *Synechococcus cedrorum* / R. S. Safferman, T. O. Diener, P. R. Desjardins, M. E. Morris // *Virology*.—1972.—47, N 1.—P. 105—113.
7. Gorjušin V. A., Stenz E., Averkiev A. A. *AS-1L* — ein neuer in der DDR aufgefundener Stamm des Cyanophages *AS-1* // *Z. Allg. Mikrobiol.*—1982.—22, N 3.—S. 205—209.
8. Горюшин В. А., Шаинская О. Л. Выделение и характеристика штамма цианофага *AS-1* — *AS-1K* // *Мікробіол. журн.*—1984.—46, № 1.—С. 70—76.
9. Горюшин В. А., Аверкиев А. А. Цианофаг *S-8K* — новый вирус одноклеточных цианобактерий // *Докл. АН УССР. Сер. Б.*—1982.—№ 8.—С. 63—66.
10. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order *Chroococcales*) / R. Y. Stanier, R. Kunisawa, M. Mandel, G. Cohen-Bazire // *Bacteriol. Rev.*—1971.—35, N 2.—P. 171—205.
11. Hosaka Y. A criterion for evaluating the number of capsomeres of icosahedral capsids // *Biochim. et biophys. acta.*—1965.—104, N 1.—P. 261—273.
12. Вайнштейн Б. К., Киселёв Н. А. Строение вирусов // *Вирусология и иммунология.*—М.: Наука, 1964.—С. 7—48.
13. Moody M. F. Structure of the sheath of bacteriophage *T4*. II. Rearrangement of the sheath subunits during contraction // *J. Mol. Biol.*—1967.—25, N 2.—P. 201—208.
14. Parker M. L., Eiserling F. A. Bacteriophage *SP01* structure and morphogenesis. I. Tail structure and length regulation // *J. Virol.*—1983.—46, N 1.—P. 239—249.
15. Moody M. F. Structure of the sheath of bacteriophage *T4*. I. Structure of the contracted sheath and polysheath // *J. Mol. Biol.*—1967.—25, N 2.—P. 167—200.
16. Sherman L. A., Brown R. M. Cyanophages and viruses of eukaryotic algae // *Compreh. Virol.*—1978.—12.—P. 145—234.
17. Desjardins P. R., Safferman R. S., Barkley M. B. Further studies on the structure of the phycovirus, *AS-1*, and its adsorption to host cells // 2nd Int. Congr. Plant Pathol.: Abstracts.—Minneapolis, 1973.—P. 81.
18. Classification and nomenclature of viruses of cyanobacteria / R. S. Safferman, R. E. Cannon, P. R. Desjardins et al. // *Intervirology*.—1983.—19, N 2.—P. 61—66.

Ин-т микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного АН УССР, Киев

Получено
15.10.84