

ВИРУСОЛОГИЯ

УДК 578.2

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Н.А. Никитин*, Е.А. Трифонова, О.В. Карпова, И.Г. Атабеков

Кафедра вирусологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

* e-mail: nikitin@mail.bio.msu.ru

В последнее время вирионы и вирусоподобные частицы (ВПЧ) вирусов растений рассматриваются в качестве основы для создания новых биотехнологий в медицине и ветеринарии, в том числе для получения современных безопасных вакцин, систем адресной доставки и новых диагностических препаратов, а также для продукции терапевтических белков в растениях. Несмотря на то, что вирусы растений не могут размножаться в организме позвоночных, существуют данные, что они способны воспроизводить тот или иной этап инфекционного цикла в клетках млекопитающих. Более того, показано, что фитовирусы могут постоянно присутствовать в организме животных и человека, и могут использовать его в качестве переносчика. В обзоре представлены результаты по биосовместимости, токсичности, тератогенности и биораспределению вирусов растений. Основываясь на последних данных, можно утверждать, что фитовирусы безопасны для животных и человека. Показано, что вирионы биodeградируемы и легко выводятся из организма лабораторных животных. При этом вирионы и ВПЧ вирусов растений высокоиммуногенны и, при презентации антигенных детерминант патогенов человека и животных на их поверхности, позволяют смоделировать безопасную вирусную частицу, способную заменить живые аттенуированные вакцины.

Ключевые слова: вирусы растений, вирусоподобные частицы, биосовместимость, безопасность, токсичность, биораспределение, биodeградируемость, обзор.

В отличие от вирусов млекопитающих, фитопатогенные вирусы не могут размножаться в организме человека и других позвоночных животных, в основном, из-за отсутствия специфических рецепторов для распознавания и проникновения в клетки хозяев [1]. Однако существуют экспериментальные данные, которые не вполне согласуются с этой точкой зрения [2]. Известно, что частицы вируса мозаики коровьего горошка способны связываться с поверхностью и проникать в клетки млекопитающих [3], а РНК вируса табачной мозаики транслируется в клетках млекопитающих, в том числе, человека [4]. Имеющиеся результаты не подтверждают возможность продуктивной инфекции вирусов растений в клетках млекопитающих. Между тем, многие фитовирусы реплицируются в клетках беспозвоночных-переносчиков [5, 6].

Тем не менее, вирусы растений, заражающие многие сельскохозяйственные культуры, являются частью пищевой цепи и постоянно присутствуют в организме животных и человека [1]. Так, при анализе РНК-содержащих вирусов в образцах фекальных масс здоровых людей было найдено 35 видов вирусов растений, некоторые виды — в количестве до 10^9 вирионов на грамм сухого веса. Вирусы, выделенные из экскрементов людей, были инфекционны для растений-хозяев. По-видимому, люди и животные являются переносчиками вирусов растений и принимают участие в их распространении [7].

В последние годы вирусы растений находят все более широкое применение при разработке новых биотехнологий в медицине, в том числе вакцинологии, при доставке лекарств и диагностике [8]. Ряд вакцинных и диагностических препаратов на основе вирусов растений находятся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний [9]. Так, например, при доклинических исследованиях была показана возможность локализации икосаэдрических частиц вируса мозаики фасоли, связанных со специфическим пептидом, в клетках злокачественной опухоли толстой кишки человека [10]. Способность частиц вирусов растений, несущих на своей поверхности маркерные молекулы, адсорбироваться на трансформированной ткани была использована для визуализации опухоли предстательной железы *in vivo* [11]. В настоящее время проводятся клинические испытания вакцины против гриппа, созданной на основе вирусоподобных частиц спирального нитевидного вируса мозаики папайи [12].

Применение вирусов растений в медицине и фармакологии является быстро развивающейся областью науки. В связи с этим в обзоре рассматриваются данные о взаимодействии растительных вирусов с организмом животных и человека, включая изучение токсичности, биосовместимости и биораспределения.

Вирус табачной мозаики

В настоящее время вирус табачной мозаики (ВТМ) (семейство *Virgaviridae*, *род Tobamovirus*) является одним из основных вирусов растений, используемых при разработке новых биоматериалов для биотехнологий и медицины. Молекулярная структура и биофизические свойства палочковидных частиц ВТМ хорошо известны. Вирионы ВТМ имеют форму жестких цилиндров 300 нм в длину и 18 нм в диаметре. Вирионы состоят из 2130 субъединиц белка оболочки (БО), расположенных в виде спирали вокруг геномной (+) РНК [13]. ВТМ широко применяется для создания вирусных векторов с целью экспрессии белков фармацевтического назначения в растениях [14] и является многообещающей платформой для создания новых подходов при разработке кандидатных вакцин [15–22]. Показано успешное использование ВТМ в качестве молекулярных контрастирующих веществ [23, 24].

Известно, что вирионы ВТМ чрезвычайно стабильны и термостойки. Эти свойства позволяют им сохранять жизнеспособность в растительных остатках, в том числе в табачных сигарах и сигаретах [25–27]. Использование экстракта сигарет в качестве инфекционного инокулюма при заражении растений приводило к появлению симптомов ВТМ на листьях табака [28].

Балик с соавт. [2] обнаружили наличие полногеномной вирусной РНК ВТМ не только в образцах табачных изделий — в более чем половине исследуемых образцов слюны курящих людей был найден жизнеспособный вирус [2]. Также вирусная РНК ВТМ была обнаружена в фекальных массах курильщиков [7, 29].

Курение является причиной заболеваний сердца, легких, возникновения злокачественных опухолей [30, 31], тем не менее, получены доказательства того, что курильщики реже страдают от воспалительных и нейродегенеративных заболеваний [32]. Это связано с наличием гомологии шести последовательно расположенных аминокислотных остатков в БО ВТМ с белком человека ТОММ40L. Мутации и полиморфизм гена ТОММ40L могут увеличивать риск развития болезни Альцгеймера [33].

Существуют работы, описывающие присутствие ВТМ в клетках и органах позвоночных, в том числе человека. Эрикссон и соавт. продемонстрировали возможность длительного присутствия ВТМ в клетках печени мышей [34, 35]. Различные данные свидетельствуют о том, что ВТМ может быть обнаружен в легких курящих людей [36–38]. Лиу с соавт. [33] идентифицировали широкий спектр антител к ВТМ у всех испытуемых людей, независимо от того, курили ли они табак, нюхали или вообще не употребляли.

Возможность трансляции РНК ВТМ *in vitro* была описана в ооцитах лягушки *Xenopus laevis* и в лизате ретикулоцитов кролика [39–41]. Промо-

монстрирована возможность проникновения РНК ВТМ в изолированные митохондрии печени мыши, откуда в дальнейшем ее можно было выделить. В митохондриях также был обнаружен БО ВТМ [42]. При липосомной трансфекции также обнаружена возможность проникновения РНК ВТМ в клетки HeLa и ее трансляции в них с образованием БО ВТМ. Показано, что РНК ВТМ может вызвать аутофагию клеток HeLa [4].

Балик с соавт. [43] сообщили, что ВТМ может проникать через трахею и оставаться определенное время в легких мышей. Вирионы ВТМ, которые были локализованы в легочной ткани, после выделения были способны инфицировать растения. Кроме того, антитела к ВТМ были обнаружены в сыворотке крови этих мышей. Также показано, что после введения в макрофаги, полученные из костного мозга, вирионы ВТМ способны присутствовать в клетках в течение 15 сут [43]. В то же время существуют данные, что вирусоподобные частицы сферической формы, полученные из БО ВТМ при термической перестройке вирионов ВТМ [44], легко гидролизуются *in vitro* протеазами при низких (физиологических) концентрациях [45].

Брукман с соавт. [23] изучали биораспределение, биосовместимость и скорость выведения ВТМ у мышей. Исследование профиля биораспределения для вирионов ВТМ показало, что наиболее эффективно вирусные частицы накапливались в печени и селезенке, и оставались там даже спустя 96 ч после введения. При проведении анализов на биосовместимость с кровью препараты ВТМ не вызывали гемолиз или свертывание крови. Показано, что частицы ВТМ в плазме крови остаются стабильными. При этом в почках подопытных мышей вирус обнаружен не был, что косвенно свидетельствует о стабильности вирионов в организме животных. Аналогичные результаты были получены при анализе сферических частиц, полученных из БО ВТМ при термической перестройке ВТМ. Отличие сферических частиц от вирионов ВТМ заключалось в более быстром выведении их из организма лабораторных животных. Гистологические анализы показали, что ВТМ не индуцирует патологических изменений в тканях: признаков воспаления, апоптоза, дегенерации или некроза тканей обнаружено не было. В печени и селезенке ВТМ локализовался внутри макрофагов и В-клеток, что может также указывать на потенциальные иммуностимулирующие свойства вирионов.

Таким образом, частицы ВТМ представляют собой природный материал, который является одновременно биологически совместимым с клетками животных и биodeградируемым и, следовательно, может стать безопасной платформой для создания различных композиционных препаратов для медицины и фармакологии.

Х вирус картофеля

Х вирус картофеля (ХВК) принадлежит к роду *Potexvirus* семейства *Alphaflexiviridae* и представляет собой гибкие нитевидные частицы со спиральной структурой, длиной 515 нм и диаметром 13,5 нм. Около 1300 идентичных субъединиц БО формируют полярную спираль с шагом 3,6 нм. Вирусная РНК заключена между витками этой спирали, каждый виток спирали включает в себя 8–9 субъединиц БО [46].

На основе генома ХВК созданы генетические конструкции, которые при экспрессии в растении направляет образование вирионов, несущих на своей поверхности целевые пептиды. На лабораторных животных показана эффективность использования таких частиц в качестве кандидатных вакцин или терапевтических препаратов [47–51]. ХВК был успешно использован в качестве носителя для направленной доставки терапевтических или диагностических препаратов к опухолевым клеткам [52, 53].

При изучении биораспределения и выведения из организма вирионов ХВК показали, что в течение нескольких часов после введения в кровь мышей вирус выводился из кровообращения и накапливался в селезенке, печени и почках [48, 54]. Данные Шукла с соав. [48] свидетельствуют о том, что ХВК выводится из организма животных с помощью макрофагов. Спустя 24–48 ч вирионы в организме не обнаруживаются, что указывает на полное выведение вирусных частиц из организма мышей. При этом остаточное количество вирионов было обнаружено в фекальных массах животных, что также указывает на выведение вирионов из организма, в том числе, при помощи желчевыводящих путей.

В работе Бландино с соавт. [8] авторы изучали профиль безопасности двух различных по структуре вирусов растений — нитевидного ХВК и икосаэдрического вируса кустистой карликовости томатов (ВККТ) (семейство *Tombusviridae*, род *Tombusvirus*). Для оценки влияния вирусных частиц на эритроциты человека (цитотоксичность) использовался метод гемолитических бляшек. Показано, что добавление 10 мкг вируса *in vitro* к 9×10^7 эритроцитов не оказывало никакого влияния на целостность клеток. Однако при более высоких количествах ХВК, проявлялся небольшой зависимый от дозы уровень гемолиза (1,8 и 2,7% для 100 и 200 мкг, соответственно), что гораздо меньше допустимого порога в 5% в соответствии с международными стандартами. Для оценки токсичности и тератогенности *in vivo* авторы работы использовали куриных эмбрионов. Введение вирусов в дозах до 10 мкг на эмбрион не привело к появлению признаков токсичности и тератогенности. Таким образом, было показано, что ХВК и ВККТ не оказывают ни токсического, ни тератогенного воздействия на куриные эмбрионы. Кроме того, ХВК и ВККТ стабильны

в физиологических условиях и остаются инфекционными для растений после инкубации в сыворотке крови в течение 24 ч [8].

Вирус мозаики папайи

Вирус мозаики папайи (ВМП) (семейство *Alphaflexiviridae*, род *Potexvirus*) является одним из первых фитовирусов, для которого были продемонстрированы и изучены иммуностимулирующие свойства [55]. Вирионы ВМП представляют собой гибкие нитевидные частицы с длиной 530 нм и диаметром 13,5 нм. Вирусная частица состоит из 1410 субъединиц БО и геномной (+) РНК длиной 6656 нуклеотидов [56–58]. В настоящее время на животных и человеке изучаются несколько универсальных вакцин против вируса гриппа, в состав которых входят вирионы или вирусоподобные частицы (ВПЧ) вируса мозаики папайи в качестве платформы для презентации антигенных детерминант и адьюванта [9]. Показано, что кандидатная вакцина против гриппа, в которой ВПЧ ВМП использовались в качестве адьюванта, обладала 100% протективностью, тогда как в случае применения гидроксида алюминия — 80%, а при вакцинации без адьюванта — 40%. Также авторами было проведено сравнение токсичности ВПЧ ВМП и гидроксида алюминия в составе кандидатной вакцины. Было выяснено, что инъекция ВПЧ ВМП не приводила к развитию местных реакций, в то время как алюминиевый адьювант вызывал у мышей появление гранул в месте инъекции [59].

В другой работе той же группы была изучена токсичность кандидатной противогриппозной вакцины, в которой в качестве адьюванта были использованы ВПЧ ВМП [60]. Был проанализирован уровень секреции фактора некроза опухоли, связанный в большинстве случаев с воспалительными процессами. Показано, что ВПЧ ВМП не индуцирует секреции фактора некроза опухоли и не приводит к возникновению воспаления. Продемонстрировано, что после введения ВПЧ ВМП они полностью биodeградируют через 72 ч [60]. Отсутствие токсичности препаратов, содержащих ВПЧ ВМП, также было зафиксировано при интраназальной иммунизации лабораторных животных [12].

Таким образом, можно утверждать, что ВПЧ вируса мозаики папайи являются эффективными иммуностимуляторами, нетоксичны и безопасны при использовании в качестве основы для создания кандидатных вакцин против инфекций человека и животных.

Вирус мозаики коровьего горошка

Сферические (икосаэдрические) вирусы растений, а также ВПЧ на их основе также достаточ-

но часто применяются для создания различных биомедицинских материалов и технологий, в том числе в качестве платформы для презентации антигенных детерминант (эпитопов) и антигенов, а также для получения новых систем доставки лекарственных средств [61–64]. Выше обсуждалась работа, продемонстрировавшая безопасность использования икосаэдрического ВККТ для человека и животных [8].

Вирус мозаики коровьего горошка (ВМКГ) (семейство *Secoviridae*, род *Comovirus*) активно применяется для создания кандидатных вакцинных препаратов, систем адресной доставки лекарств и в качестве маркера при томографии сосудов [65–68]. Вирус имеет икосаэдрическую структуру, его диаметр составляет 31 нм, капсид состоит из 60 копий двух белков (L) и (S) [69]. Геном представлен двумя молекулами (+) РНК длиной 5804 и 3481 нуклеотид [70]. Вирионы ВМКГ высоко стабильны в различных условиях, в том числе в желудочном соке [71, 72]. Показано, что при пероральном введении ВМКГ, вирусные частицы способны транспортироваться через кишечный эпителий и перемещаться к различным тканям в организме животных [72]. Стабильность вирионов ВМКГ, возможность введения их как внутривенно, так и перорально делает этот вирус многообещающим объектом для использования в медицине и ветеринарии.

Сингх с соав. [68] показали, что при внутривенной инъекции мышам частицы ВМКГ быстро (в течение 30 мин) выводятся из системы кровообращения. После введения ВМКГ в кровь гематоглицинация не была зафиксирована. Однако было отмечено небольшое снижение количества лейкоцитов и нейтрофилов. После инъекции вирионы ВМКГ в основном скапливались в печени и селезенке животных [68]. ВМКГ были также обнаружены в почках, легких, желудке, тонкой кишке, лимфатических узлах, головном и костном мозге [72]. Препарат ВПЧ ВМКГ абсолютно нетоксичен для мышей при дозе 10^{16} частиц на кг массы тела. В первый день после введения вируса при гистологическом исследовании селезенки были обнаружены инфильтраты с повышенным количеством лимфоцитов, которые впоследствии исчезали. Микроскопический анализ показал отсутствие визуализируемой дегенерации или некрозов в других тканях лабораторных животных [68].

Таким образом, показано, что после внутривенного или перорального введения частицы ВМКГ стабильны, быстро выводятся из организма, не ток-

сичны, не вызывают патологических эффектов в органах и тканях и являются безопасной платформой для создания биомедицинских препаратов.

Вирус хлоротической крапчатости коровьего горошка

Другим икосаэдрическим вирусом растений, которому уделяется активное внимание при создании новых биотехнологий, является вирус хлоротической крапчатости коровьего горошка (ВХККГ) (семейство *Bromoviridae*, род *Bromovirus*). Его капсид состоит из 180 копий БО, который может самособирается в отсутствие вирусного генома с образованием ВПЧ с внешним диаметром 28 нм и внутренним диаметром 24 нм [63].

В работе Кайзер с соав. [73] было изучено биораспределение в организме лабораторных животных ВПЧ сферической формы, полученных на основе БО ВХККГ. При внутривенной инъекции ВПЧ ВХККГ показано быстрое (в течение 1 ч) появление частиц во всех исследованных тканях и органах (из них 20% в печени и 9% в мочевом пузыре). Через 24 ч большая часть ВПЧ (более 80% от количества, регистрируемого через 1 ч после инъекции) исчезла из всех органов, за исключением щитовидной железы. Также после однократного введения было продемонстрировано отсутствие явной токсичности. Эти результаты свидетельствуют о возможности ВПЧ, полученных на основе БО ВХККГ, служить безопасными, биосовместимыми платформами для применения в медицине.

Основываясь на представленных данных по изучению биосовместимости, токсичности, тератогенности, биораспределения вирусов растений, можно утверждать, что фитовирусы безопасны для животных и человека. Они биодegradуемы и легко выводятся из организма лабораторных животных. При этом вирионы и ВПЧ вирусов растений высокоиммуногенны и при презентации антигенных детерминант патогенов человека и животных на их поверхности позволяют смоделировать безопасную вирусную частицу, способную заменить живые аттенуированные вакцины. Таким образом, вирусы растений и их производные могут являться многообещающими объектами для создания новых биотехнологий в медицине и ветеринарии, включая получение современных безопасных вакцин, систем адресной доставки, продукции терапевтических белков и систем биоконтрастирования.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-24-00007).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Colson P., Richet H., Desnues C., Balique F., Moal V., Grob J.J., Berbis P., Lecoq H., Harle J.R., Berland Y., Raoult D. Pepper mild mottle virus, a plant virus associated with specific immune responses, Fever, abdominal pains, and pruritus in humans // *PLoS One*. 2010. Vol. 5. N 4. e10041.
2. Balique F., Colson P., Raoult D. Tobacco mosaic virus in cigarettes and saliva of smokers // *J. Clin. Virol.* 2012. Vol. 55. N. 4. P. 374–376.
3. Koudelka K.J., Destito G., Plummer E.M., Trauger S.A., Siuzdak G., Manchester M. Endothelial targeting of cowpea

- mosaic virus (CPMV) via surface vimentin // PLoS Pathogens. 2009. Vol. 5. N 5. e1000417.
4. Li L., Wang L., Xiao R., Zhu G., Li Y., Liu C., Yang R., Tang Z., Li J., Huang W., Chen L., Zheng X., He Y., Tan J. The invasion of tobacco mosaic virus RNA induces endoplasmic reticulum stress-related autophagy in HeLa cells // Biosci. Rep. 2012. Vol. 32. N 2. P. 171–186.
 5. Medeiros R.B., Resende Rde O., de Avila A.C. The plant virus Tomato Spotted Wilt Tospovirus activates the immune system of its main insect vector, *Frankliniella occidentalis* // J. Virol. 2004. Vol. 78. N 10. P. 4976–4982.
 6. Stafford C.A., Walker G.P., Ullman D.E. Infection with a plant virus modifies vector feeding behavior // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. Vol. 108. N 23. P. 9350–9355.
 7. Zhang T., Breitbart M., Lee W.H., Run J.Q., Wei C.L., Soh S.W., Hibberd M.L., Liu E.T., Rohwer F., Ruan Y. RNA viral community in human feces: prevalence of plant pathogenic viruses // PLoS Biol. 2006. Vol. 4. N 1. e3.
 8. Blandino A., Lico C., Baschieri S., Barberini L., Cirotto C., Blasi P., Santi L. *In vitro* and *in vivo* toxicity evaluation of plant virus nanocarriers // Colloids Surf. B. Biointerfaces. 2015. Vol. 129. P. 130–136.
 9. Lee K.L., Twyman R.M., Fiering S., Steinmetz N.F. Virus-based nanoparticles as platform technologies for modern vaccines // Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol. 2016. DOI: 10.1002/wnan.1383.
 10. Brunel F.M., Lewis J.D., Destito G., Steinmetz N.F., Manchester M., Stuhlmann H., Dawson P.E. Hydrazone ligation strategy to assemble multifunctional viral nanoparticles for cell imaging and tumor targeting // Nano Lett. 2010. Vol. 10. N 3. P. 1093–1097.
 11. Steinmetz N.F., Ablack A.L., Hickey J.L., Ablack J., Manocha B., Mymryk J.S., Luyt L.G., Lewis J.D. Intravital imaging of human prostate cancer using viral nanoparticles targeted to gastrin-releasing peptide receptors // Small. 2011. Vol. 7. N 12. P. 1664–1672.
 12. Rioux G., Mathieu C., Russell A., Bolduc M., Laliberté-Gagné M.E., Savard P., Leclerc D. PapMV nanoparticles improve mucosal immune responses to the trivalent inactivated flu vaccine // J. Nanobiotechnology. 2014. Vol. 12. N 1. P. 19.
 13. Caspar D. L. Assembly and stability of the tobacco mosaic virus particle // Adv. Protein. Chem. 1963. Vol. 18. P. 37–121.
 14. Folwarczna J., Moravec T., Plchova H., Hoffmeisterova H., Cerovska N. Efficient expression of Human papillomavirus 16 E7 oncoprotein fused to Cterminus of Tobacco mosaic virus (TMV) coat protein using molecular chaperones in *Escherichia coli* // Protein Expr. Purif. 2012. Vol. 85. N 1. P. 152–157.
 15. Karpova O., Nikitin N., Chirkov S., Trifonova E., Sheveleva A., Lazareva E. Atabekov J. Immunogenic compositions assembled from tobacco mosaic virus-generated spherical particle platforms and foreign antigens // J. Gen. Virol. 2012. Vol. 93. N 2. P. 400–407.
 16. Pascual D.W. Vaccines are for dinner // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Vol. 104. N 26. P. 10757–10758.
 17. Nochi T., Takagi H., Yuki Y., Yang L., Masumura T., Mejima M., Nakanishi U., Matsumura A., Uozumi A., Hiroi T., Morita S., Tanaka K., Takaiwa F., Kiyono H. Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Vol. 104. N 26. P. 10986–10991.
 18. Karasev A.V., Foulke S., Wellens C., Rich A., Shon K.J., Zwierzynski I., Hone D., Koprowski H., Reitz M. Plant based HIV-1 vaccine candidate: Tat protein produced in spinach // Vaccine. 2005. Vol. 23. N 15. P. 1875–1880.
 19. McCormick A.A., Corbo T.A., Wykoff-Clary S., Palmer K.E., Pogue G.P. Chemical conjugate TMV-peptide bivalent fusion vaccines improve cellular immunity and tumor protection // Bioconjug. Chem. 2006. Vol. 17. N 5. P. 1330–1338.
 20. Staczek J., Bendahmane M., Gilleland L.B., Beachy R.N., Gilleland H.E. Jr Immunization with a chimeric tobacco mosaic virus containing an epitope of outer membrane protein F of *Pseudomonas aeruginosa* provides protection against challenge with *P. aeruginosa* // Vaccine. 2000. Vol. 18. N 21. P. 2266–2274.
 21. Fujiyama K., Saejung W., Yanagihara I., Nakado J., Misaki R., Honda T., Watanabe Y., Seki T. In Planta production of immunogenic poliovirus peptide using tobacco mosaic virus-based vector system // J. Biosci. Bioeng. 2006. Vol. 101. N 5. P. 398–402.
 22. Yin Z., Nguyen H.G., Chowdhury S., Bentley P., Bruckman M.A., Miermont A., Gildersleeve J.C., Wang Q., Huang X. Tobacco mosaic virus as a new carrier for tumor associated carbohydrate antigens // Bioconjug. Chem. 2012. Vol. 23. N 8. P. 1694–1703.
 23. Bruckman M., Randolph L., VanMeter A., Hern S., Shoffstall A., Taurog R., Steinmetz N.F. Biodistribution, pharmacokinetics, and blood compatibility of native and PEGylated tobacco mosaic virus nano-rods and -spheres in mice // Virology. 2014. Vol. 449. P. 163–173.
 24. Niehl A., Appaix F., Boscá S., van der Sanden B., Nicoud J.F., Bolze F., Heinlein M. Fluorescent Tobacco mosaic virus-derived bio-nanoparticles for intravital two-photon imaging // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 6. P. 1244.
 25. Wahyuni W.S., Hanapi M., Hartana I. The Presence of tobacco mosaic virus in the compost extract of Cigar Tobacco Debris // HAYATI J. Biosci. 2008. Vol. 15. N 3. P. 118–122.
 26. Wetter C. Tobacco mosaic virus and para-tobacco mosaic virus in cigarettes // Naturwissenschaften. 1975. Vol. 62. N 11. P. 533.
 27. Bothwell P.W. Lung cancer and tobacco mosaic virus // Lancet. 1960. Vol. 275. N 7125. P. 657–658.
 28. Iftikhar Y., Jackson R., Neuman B.W. Detection of tobacco mosaic tobamovirus in cigarettes through RT-PCR // Pak. J. Agri. Sci. 2015. Vol. 52. N 3. P. 667–670.
 29. Nakamura S., Yang C.S., Sakon N., Ueda M., Togan T., Yamashita A., Goto N., Takahashi K., Yasunaga T., Ikuta K., Mizutani T., Okamoto Y., Tagami M., Morita R., Maeda N., Kawai J., Hayashizaki Y., Nagai Y., Horii T., Iida T., Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach // PLoS ONE 2009. Vol. 4. N 1. e4219.
 30. Hymowitz N. Smoking and cancer: a review of public health and clinical implications // J. Natl. Med. Assoc. 2011. Vol. 103. N 8. P. 695–700.
 31. Anthonisen N.R., Connett J.E., Kiley J.P., Altose M.D., Bailey W.C., et al. Effects of smoking intervention and the use of an inhaled anticholinergic bronchodilator on the rate of decline of FEV1. The Lung Health Study // J. Am. Med. Assoc. 1994. Vol. 272. N 19. P. 1497–1505.
 32. Powers K.M., Kay D.M., Factor S.A., Zabetian C.P., Higgins D.S., Samii A., Nutt J.G., Griffith A., Leis B., Roberts J.W., Martinez E.D., Montimurro J.S., Checkoway H., Payami H. Combined effects of smoking, coffee, and NSAIDs on Parkinson's disease risk // Mov. Disord. 2008. Vol. 23. N 1. P. 88–95.

33. Liu R., Vaishnav R.A., Roberts A.M., Friedland R.P. Humans have antibodies against a plant virus: evidence from Tobacco Mosaic Virus // PLoS ONE. 2013. Vol. 8. N 4. e60621.
34. Erickson J.O., Armen D.M., Libby R.L. The persistence of antigen in the mouse // J. Immunol. 1953. Vol. 71. P. 30–37.
35. Erickson J.O., Hensley T.J., Fields M., Libby R.L. Intracellular localization of tobacco mosaic virus in mouse liver // J. Immunol. 1957. Vol. 78. N 2. P. 95–103.
36. Bousbia S., Papazian L., La Scola B., Raoult D. Detection of plant DNA in the bronchoalveolar lavage of patients with ventilator-associated pneumonia // PLoS ONE. 2010. Vol. 5. N 6. e11298.
37. Le Clair R.A. Recovery of culturable tobacco mosaic virus from sputum and thoracentesis fluids obtained from cigarette smokers with a history of pulmonary disease // Am. Rev. Respir. Dis. 1967. Vol. 95. N 3. P. 510–511.
38. Katsilambros L. Tobacco mosaic virus and lung cancer // Lancet. 1960. Vol. 2. P. 934.
39. Knowland J. Protein synthesis directed by the RNA from a plant virus in a normal animal cell // Genetics. 1974. Vol. 78. N 1. P. 383–394.
40. Salomon R. Bar-Joseph M. Translational competition between related virus RNA species in cell-free systems // J. Gen. Virol. 1982. Vol. 62. N 2. P. 343–347.
41. Karpova O., Ivanov K., Rodionova N., Dorokhov Yu., Atabekov J. Nontranslatability and dissimilar behavior in plants and protoplasts of viral RNA and movement protein complexes formed in vitro // Virology. 1997. Vol. 230. N 1. P. 11–21.
42. Dimitriadis G.J., Georgatsos J.G. Synthesis of tobacco mosaic virus coat protein following migration of viral RNA into isolated mouse liver mitochondria // Nucleic Acids Res. 1975. Vol. 2. N 10. P. 1719–1726.
43. Balique F., Colson P., Barry A.O., Nappez C., Ferretti A., Moussawi K. A., Ngounga T., Lepidi H., Ghigo E., Mege J., Lecoq H., Raoult D. Tobacco Mosaic Virus in the Lungs of Mice following Intra-Tracheal Inoculation // PLoS ONE. 2013. Vol. 8. N 1. e54993.
44. Atabekov J., Nikitin N., Arkhipenko M., Chirkov S., Karpova O. Thermal transition of native tobacco mosaic virus and RNA-free viral proteins into spherical nanoparticles // J. Gen. Virol. 2011. Vol. 92. N 2. P. 453–456.
45. Nikitin N., Malinin A., Rakhnyanskaya A., Trifonova E., Karpova O., Yaroslavov A., Atabekov J. Use of a polycation spacer for noncovalent immobilization of albumin on thermally modified virus particles // Polym. Sci. Ser. A. 2011. Vol. 53. N 11. P. 1026–1031.
46. Atabekov J., Dobrov E., Karpova O., Rodionova N. Potato virus X: structure, disassembly and reconstitution // Mol. Plant Pathol. 2007. Vol. 8. N 5. P. 667–675.
47. Marusic C., Rizza P., Lattanzi L., Mancini C., Spada M., Belardelli F., Benvenuto E., Capone I. Chimeric plant virus particles as immunogens for inducing murine and human immune responses against human immunodeficiency virus type 1 // J. Virol. 2001. Vol. 75. N 18. P. 8434–8439.
48. Shukla S., Wen A.M., Commandeur U., Steinmetz N.F. Presentation of HER2 epitopes using a filamentous plant virus-based vaccination platform // J. Mater. Chem. B. 2014. Vol. 2. P. 6249–6258.
49. Lico C., Mancini C., Italiani P., Betti C., Boraschi D., Benvenuto E., Baschieri S. Plant-produced potato virus X chimeric particles displaying an influenza virus-derived peptide activate specific CD8⁺ T cells in mice // Vaccine. 2009. Vol. 27. N 37. P. 5069–5076.
50. Lico C., Benvenuto E., Baschieri S. The two-faced Potato Virus X: from plant pathogen to smart nanoparticle // Front. Plant Sci. 2015. Vol. 6. P. 1009.
51. Jobsri J., Allen A., Rajagopal D., Shipton M., Kanyuka K., Lomonosoff G.P., Ottensmeier C., Diebold S.S., Stevenson F.K., Savelyeva N. Plant virus particles carrying tumour antigen activate TLR7 and Induce high levels of protective antibody // PLoS One. 2015. Vol. 10. N 2. e0118096.
52. Steinmetz N.F., Mertens M.E., Taurog R.E., Johnson J.E., Commandeur U., Fischer R., Manchester M. Potato virus X as a novel platform for biomedical applications // Nano Lett. 2010. Vol. 10. N 1. P. 305–312.
53. Esfandiari N., Arzanani M.K., Soleimani M., Kohi-Habibi M., Svendsen W.E. A new application of plant virus nanoparticles as drug delivery in breast cancer // Tumour Biol. 2015. DOI:10.1007/s13277-015-3867-3.
54. Shukla S., Ablack A.L., Wen A.M., Lee K.L., Lewis J.D., Steinmetz N.F. Increased tumor homing and tissue penetration of the filamentous plant viral nanoparticle Potato virus X // Mol. Pharm. 2013. Vol. 10. N 1. P. 33–42.
55. Lebel M.É., Chartrand K., Leclerc D., Lamarre A. Plant Viruses as Nanoparticle-Based Vaccines and Adjuvants. Vaccines (Basel). 2015. Vol. 3. N 3. P. 620–637.
56. Tollin P., Bancroft J.B., Richardson J.F., Payne N.C., Beveridge T.J. Diffraction studies of papaya mosaic virus // Virology. 1979. Vol. 98. N 1. P. 108–115.
57. Sit T.L., Abouhaidar M.G., Holy S. Nucleotide sequence of papaya mosaic virus RNA // J. Gen. Virol. 1989. Vol. 70. N 9. P. 2325–2331.
58. Zhang H., Todderud E., Stubbs G. Crystallization and preliminary X-ray analysis of papaya mosaic virus coat protein // J. Mol. Biol. 1993. Vol. 234. N 3. P. 885–887.
59. Denis J., Acosta-Ramirez E., Zhao Y., Hamelin M.E., Koukavica I., Baz M., Abed Y., Savard C., Pare C., Lopez Macias C., Boivin G., Leclerc D. Development of a universal influenza A vaccine based on the M2e peptide fused to the papaya mosaic virus (PapMV) vaccine platform // Vaccine. 2008. Vol. 26. N 27–28. P. 3395–3403.
60. Savard C., Guerin A., Drouin K., Bolduc M., Laliberte-Gagne M.E., Dumas M.C., Majeau N., Leclerc D. Improvement of the trivalent inactivated flu vaccine using PapMV nanoparticles // PLoS One. 2011. Vol. 6. N 6. e21522.
61. Douglas T., Young M. Host-guest encapsulation of materials by assembled virus protein cages // Nature. 1998. Vol. 393. P. 152–158.
62. Gillitzer E., Willits D., Young M., Douglas T. Chemical modification of a viral cage for multivalent presentation // Chem. Commun. (Camb.). 2002. Vol. 21. P. 2390–2391.
63. Brumfield S., Willits D., Tang L., Johnson J.E., Douglas T., Young M. Heterologous expression of modified Cowpea chlorotic mottle bromovirus coat protein results in the assembly of protein cages with altered architectures and function // J. Gen. Virol. 2004. Vol. 85. N 4. P. 1049–1053.
64. Hassani-Mehraban A., Creutzburg S., van Heereveld L., Kormelink R. Feasibility of Cowpea chlorotic mottle virus-like particles as scaffold for epitope presentations // BMC Biotechnol. 2015. Vol. 15. P. 80.
65. Destito G., Yeh R., Rae C.S., Finn M.G., Manchester M. Folic acid-mediated targeting of cowpea mosaic virus particles to tumor cells // Chem. Biol. 2007. Vol. 14. N 10. P. 1152–1162.
66. Lewis J.D., Destito G., Zijlstra A., Gonzalez M.J., Quigley J.P., Manchester M., Stuhlmann H. Viral nanoparti-

cles as tools for intravital vascular imaging // *Nat. Med.* 2006. Vol. 12. N 3. P. 354–360.

67. *McLain L., Durrani Z., Wisniewski L.A., Porta C., Lomonosoff G.P., Dimmock N.J.* Stimulation of neutralizing antibodies to human immunodeficiency virus type 1 in three strains of mice immunized with a 22 amino acid peptide of gp41 expressed on the surface of a plant virus // *Vaccine.* 1996. Vol. 14. N 8. P. 799–810.

68. *Singh P., Prasuhn D., Yeh R.M., Destito G., Rae C.S., Osborn K., Finn M.G., Manchester M.* Bio-distribution, toxicity and pathology of cowpea mosaic virus nanoparticles *in vivo* // *J. Control Release.* 2007. Vol. 120. N 1–2. P. 41–50.

69. *Lin T., Chen Z., Usha R., Stauffacher C., Dai J., Schmidt T., Johnson J.* The refined crystal structure of cowpea mosaic virus at 2.8 Å resolution // *Virology.* 1999. Vol. 265. N 1. P. 20–34.

70. *Lomonosoff G., Johnson J.* The synthesis and structure of comovirus capsids // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1991. Vol. 55. N 2. P. 107–137.

71. *Wang Q., Kaltgrad E., Lin T., Johnson J., Finn M.* Natural supramolecular building blocks: wild-type cowpea mosaic virus // *Chem. Biol.* 2002. Vol. 9. N 7. P. 805–811.

72. *Rae C.S., Khor I.W., Wang Q., Destito G., Gonzalez M.J., Singh P., Thomas D.M., Estrada M.N., Powell E., Finn M.G., Manchester M.* Systemic trafficking of plant virus nanoparticles in mice via the oral route // *Virology.* 2005. Vol. 343. N 2. P. 224–235.

73. *Kaiser C.R., Flenniken M.L., Gillitzer E., Harmsen A.L., Harmsen A.G., Jutila M.A., Douglas T., Young M.J.* Biodistribution studies of protein cage nanoparticles demonstrate broad tissue distribution and rapid clearance *in vivo* // *Int. J. Nanomed.* 2007. Vol. 2. N 4. P. 715–733.

Поступила в редакцию 16.03.2016 г.

Принята в печать 31.05.2016 г.

VIROLOGY

BIOSAFETY OF PLANT VIRUSES FOR HUMAN AND ANIMAL

N.A. Nikitin, E.A. Trifonova, O.V. Karpova, J.G. Atabekov*

*Department of Virology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
Leninskiye gory 1-12, Moscow, 119234, Russia*

* e-mail: nikitin@mail.bio.msu.ru

Recently, virions and virus-like particles (VLP) of plant viruses are considered as a basis for the development of new biotechnologies for human and veterinary medicine, including preparation of modern and safe vaccines, novel targeted delivery systems and means of diagnostics, and for production of therapeutic proteins in plants. Despite the fact that plant viruses can not replicate in vertebrates, there is data demonstrating their ability to reproduce a particular stage of infectious cycle in mammalian cells. Moreover, plant viruses may constantly present in organisms of animals and humans and can use them as vectors. This review discusses data on biocompatibility, toxicity, teratogenicity and biodistribution of plant viruses. The obtained data indicates that plant viruses are safe for animals and human. Virions are biodegradable and easily eliminated by organism of laboratory animals. At the same time virions and VLP of plant viruses are high immunogenic and presentation of antigenic determinants of human and animal pathogens on their surface allow to simulate a safe viral particle that can replace live attenuated vaccines.

Keywords: *plant viruses, virus-like particles, biocompatibility, biosafety, toxicity, biodistribution, biodegradation. review.*

Сведения об авторах:

Никитин Николай Александрович — канд. биол. наук, зав. сектором прикладной фитовирусологии кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: nikitin@mail.bio.msu.ru

Трифорова Екатерина Алексеевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: trifonova@mail.bio.msu.ru.

Карпова Ольга Вячеславовна — докт. биол. наук, проф. кафедры вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-53-67; e-mail: okar@genebee.msu.ru

Атабеков Иосиф Григорьевич — докт. биол. наук, проф., зав. кафедрой вирусологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-55-34; e-mail: atabekov@genebee.msu.ru