

Академік НАН України В. С. Підгорський, О. Г. Коваленко,
П. М. Болтовець, Б. А. Снопко, О. М. Поліщук

Формування комплексу глюкуронооксиломанану *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. з вірусом тютюнової мозаїки як один із можливих механізмів антивірусної дії полісахариду

Встановлено, що глюкуронооксиломанан (ГКМ), виділений із культуральної рідини базидіального гриба Tremella mesenterica Ritz. Fr. (Basidiomycota), пригнічує інфекційність вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ). Інактивация вірусу є зворотною, оскільки зменшується при розведенні інокулюма, до якого був доданий ГКМ. За допомогою методу поверхневого плазмонного резонансу показано, що ГКМ взаємодіє з вірусними частками in vitro. Причиною зниження інфекційності вірусу в присутності ГКМ може бути агрегація віріонів, яка виявляється при ультрацентрифугуванні суміші в градієнті густини сахарози та за допомогою трансмісивної електронної мікроскопії.

Серед завдань прикладної фітовірусології важливим є пошук речовин — можливих засобів захисту рослин від вірусних інфекцій. За типом активності антивірусні препарати поділяють на інактиватори, що впливають безпосередньо на вірус, інгібітори інфекції і репродукції вірусів та індуктори вірусостійкості рослин. Серед інгібіторів вірусів відомі білки, полісахариди, аналоги нуклеотидів, нуклеїнових кислот, нуклеозидів, неорганічні сполуки тощо [1].

Останнім часом в галузі пошуку антивірусних препаратів все більше уваги приділяється індукторам стійкості рослин, які пригнічують розвиток вірусної інфекції у рослин внаслідок активації захисних механізмів хазяїна [2]. Здатність індукувати вірусостійкість у рослин виявлено у ряду нуклеїнових кислот, білків та полісахаридів [3, 4]. Серед останніх найбільший інтерес становлять глікополімери, що легко утилізуються рослиною та мікроорганізмами і тому є нешкідливими як для самої рослини, так і для довкілля в цілому. Так, на прикладі вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) показано, що нейтральні манани, продуковані дріжджами, можуть перешкоджати утворенню вірусіндукованих локальних некрозів у надчутливого сорту тютюну, але не впливають на розвиток первинних центрів інфекції у сприйнятливого сорту [3]. На підставі цих та інших даних авторами було висунуто припущення, що антивірусні властивості таких полісахаридів зумовлені їх здатністю сприяти активації захисних механізмів, що базуються на білок-вуглеводній взаємодії, яка не потребує активації клітинного геному та синтезу нових речовин у клітині [4]. З іншого боку, деякі вуглеводні сполуки, як наприклад, глікопротеїн, виділений з плодів гриба *Agrocybe aegerita*, що має лектинові властивості, можуть пригнічувати розвиток ВТМ-інфекції у рослинах *Nicotiana glutinosa* завдяки прикріпленню до вірусної частки та перешкодженню процесу інфікування рослинної клітини вірусом [5].

Дослідження антифітовірусних властивостей глюкуронооксиломанану (ГКМ), виділеного з культуральної рідини *Tremella mesenterica*, показали, що даний глікан може пригнічувати ВТМ-інфекцію у надчутливих рослин як при додаванні його до суспензії вірусу, так

і при введенні його в міжклітинний простір листка [6]. Причому остання активність частково блокується в присутності інгібітора транскрипції РНК на матриці ДНК актиноміцину Д [7]. Це дало можливість припустити, що ГКМ впливає як на вірус *in vitro*, так і на процеси клітинного метаболізму, що призводять до активації вірусостійкості рослин *de novo*.

Ми ставили за мету вивчення взаємодії ГКМ з віріонами (антигеном) ВТМ як умови, за якої може відбуватися інактивація вірусу завдяки утворенню неінфекційних комплексів *in vitro*.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були: ВТМ, штам U₁ та полісахарид ГКМ, виділений з культуральної рідини гриба *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. (Heterobasidiaceae) за методикою [8] з деякими модифікаціями.

Біологічні дослідження. Для визначення антивірусної активності ГКМ використовували рослини дурману (*Datura stramonium* L.), вирощені в теплиці за природних умов освітлення, вологості та температури. У досліді використовували рослини у віці 4–6 справжніх листків.

Для дослідження здатності ГКМ взаємодіяти з ВТМ *in vitro*, полісахарид (2 мг/мл) додавали до водної суспензії вірусу (20 мкг/мл) та витримували різні проміжки часу (0, 5, 10, 15, 30 с та 1, 5, 10 хв), після чого інокулювали ліві половинки листків дурману. Праві половинки, які слугували контролем, інокулювали вірусом без препарату.

Зворотність інактивації вірусу в присутності полісахариду вивчали за допомогою послідовних п'ятикратних розведень інкубованої протягом 30 хв суміші ГКМ (5 мг/мл) — ВТМ (2 мг/мл). Праві половинки інокулювали вірусом у відповідному розведенні без додавання препарату.

Ступінь пригнічення вірусної інфекції розраховували за кількістю некрозів на дослідній і контрольній половинках листків за формулою [9]

$$I = \frac{K - D}{K} \cdot 100\%,$$

де I — ступінь інгібування вірусу, %; K — кількість некрозів у контролі; D — кількість некрозів у досліді.

Результати підрахунку некрозів та достовірність отриманих результатів піддавали статистичній обробці загальновідомими методами. На графіках подавали відхилення середньої величини відношення кількості некрозів у досліді до такої у контролі.

Метод поверхневого плазмонного резонансу (ППР). Для вивчення утворення комплексу між полісахаридом та віріонами ВТМ *in vitro* застосовували метод ППР [10]. Для реалізації методу ми використовували специфічність білка А *Staphylococcus aureus* до Fc-фрагменту імуноглобуліну, з одного боку [11], та формування попередньо утвореного комплексу вірусу з вірусспецифічними антитілами, з іншого. Залежно від відносної концентрації вірусних часток та вірусспецифічних антитіл, комплекси IgG–вірус можуть мати різну кількість IgG на один віріон, що обумовлює варіації щільності як всередині самого комплексу, так і в їх упаковці на поверхні; при цьому середня товщина всього комплексу буде приблизно однаковою внаслідок статистичного характеру взаємодії антивірусних імуноглобулінів із системою відповідних епітопів на поверхні вірусної частки (близько 800 для ВТМ). Тобто в цьому випадку зсув ППР може залежати від параметрів шарів вже в горизонтальній площині. Це дає можливість встановити концентрацію вірусних часток у пробі відповідно до калібрувальної кривої [11, 12].

Для біосенсорних досліджень використовували вищезгаданий препарат ВТМ, специфічну до нього поліклональну кролячу антисироватку (Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН України) та білок А *S. aureus* ("Sigma"). Вірус (100 мкг/мл), білок А (50 мкг/мл) і антисироватку (розведення від 1 : 25 до 1 : 1600) розчиняли в сольовому фосфатному буфері (PBS) рН 7,4, ГKM (300 мкг/мл) та KNCS (10^{-2} М, 7 мкл HCl на 1 мл водного розчину), що використовувався нами для захисту білкових молекул від денатурації та надання поверхні додаткового негативного заряду [11]. Дослідження проводили за допомогою сканувального SPR спектрометра "BioHelper-01" [12]. Скляні пластинки $20 \times 20 \times 1$ мм з тонким (40 нм) шаром золота, нанесеним через адгезивний шар хрому (2 нм), фіксували на підтримуючій скляній призмі за допомогою імерсійної рідини (поліфеніловий ефір), показник заломлення якої близький до показника заломлення скла.

Преінкубацію компонентів досліджуваної суміші здійснювали при кімнатній температурі. Для виявлення впливу ГKM на подальшу взаємодію вірусних часток з антитілами вірус інкубували з полісахаридом протягом 30 хв, після чого до суміші додавали антитіла й інкубували ще 30 хв. У контрольних варіантах досліду для дотримання відповідного співвідношення між компонентами реакційної суміші замість полісахариду додавали воду. Час інкубації цієї суміші становив також 30 хв. Виміри здійснювали в проточному режимі. Швидкість потоку становила 50 мкл/хв. Для видалення органічних забруднень поверхню чіпа обробляли сумішшю HCl/H₂O₂/H₂O (40 мкл HCl, 40 мкл H₂O₂, 200 мкл H₂O, співвідношення компонентів 15/15/70). Після ретельного промивання водою наносили розчин KNCS, який потім змивали, після чого наносили буферний розчин для подальшого нормування отриманих результатів. Відтак на поверхню сенсора наносили розчин білка А, а після нього — досліджувану суміш антитіл і вірусу за наявності (дослід) або відсутності (контроль) полісахариду. Після іммобілізації комплексу і промивання поверхні PBS її обробляли гліциновим буфером (рН 2,2), який руйнує зв'язки антигену та антитіл.

Центрифугування в градієнті густини сахарози. Для вивчення взаємодії ВТМ та ГKM застосовували метод центрифугування в градієнті густини сахарози. Для цього в центрифужних пробірках формували лінійний градієнт сахарози від 15 до 45% та наносили на поверхню розчину препарат ВТМ (6 мг/мл) у суміші з ГKM (2 мг/мл) та без нього і піддавали високошвидкісному центрифугуванню при 22 000 об/хв (центрифуга Beckman, ротор SW40). Після центрифугування визначали наявність флуоресціювальних зон в ультрафіолетовому світлі та наявність і стан вірусних часток у зонах та в осаді, що виникли в результаті центрифугування, методом трансмісивної електронної мікроскопії.

Електронна мікроскопія. З метою візуалізації комплексоутворення між ВТМ та ГKM нами було проведено електронно-мікроскопічні дослідження, що дають можливість оцінити стан вірусу в суспензії з полісахаридом. Дослідження виконані на електронному мікроскопі JEM 1400. Для електронної мікроскопії використовували мідні сіточки з формваровою плівкою-підкладкою, які вносили в краплю досліджуваного матеріалу, витримували 1,5 хв та проводили негативне контрастування 2% розчином фосфорно-вольфрамової кислоти (ФВК).

Результати та обговорення. З огляду на особливості хімічної будови досліджуваного нами ГKM, який у своєму складі, поряд з нейтральними моносахаридами манозою та ксилозою, містить у бокових ланцюгах глюкуронову кислоту [14], можна було припустити, що наявність аніонних груп у глікану може сприяти утворенню комплексу його з віріонами ВТМ, зокрема з катіонними групами амінокислот капсидного білка.

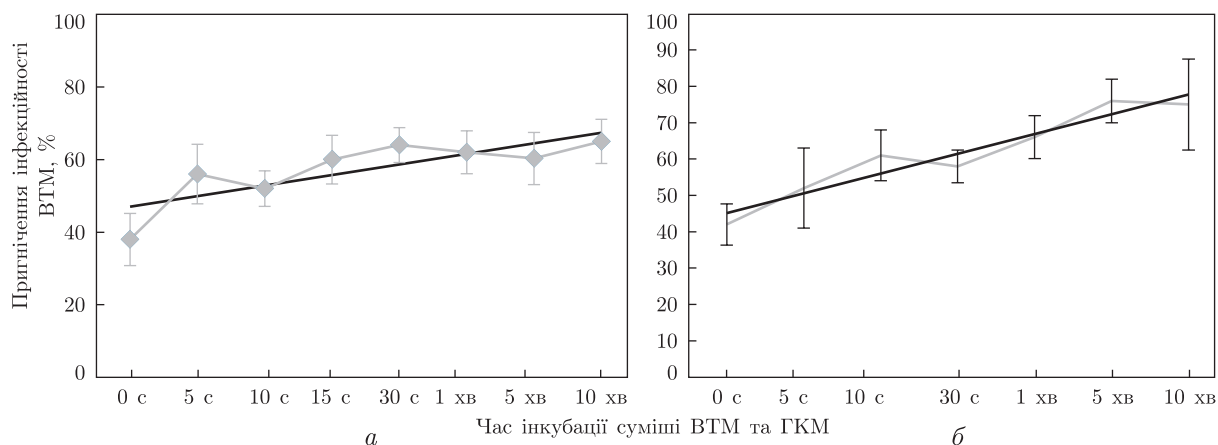


Рис. 1. Пригнічення інфекційності ВТМ на рослинах *D. stramonium* залежно від часу інкубації його з ГКМ та фізіологічного стану листя. а — інтактні рослини, б — ізольовані листки

Для перевірки цієї гіпотези нами проведено ряд біологічних, фізичних та фізико-хімічних експериментів. Спершу необхідно було встановити, чи знижується інфекційність ВТМ залежно від часу інкубації його з полісахаридом. Для цього суспензію ВТМ (20 мкг/мл) змішували з розчином ГКМ і суміш, нанесену на листя рослини-індикатора — дурману, інкубували протягом різного часу. У “нульовий” термін, інюкуляція рослин проходила одночасно зі змішуванням препарату, що виключало реакцію вірусу та глікану поза клітиною. В інші терміни, а саме 5, 10, 30 с, 15 та 10 хв, препарати змішували і реакція відбувалася на поверхні листка. В одному досліді інфікували інтактні рослини, в іншому — ізольовані листки дурману. Встановлено, що в обох випадках з подовженням часу інкубації вірусу з гліканом інактивація ВТМ має тенденцію до зростання, особливо у випадку використання для тестування інфекційності ізольованих листків, хоча найбільше достовірне відхилення точки від наступних точок на прямій у першому випадку спостерігається в “нульовий” час інкубації вірусу та інгібітора (рис. 1). Останнє може вказувати на те, що реакція між вірусом і полісахаридом проходить досить швидко — за 5–30 с, і вже в інші терміни випробування інфекційності інюкулюма переважають інші механізми його антивірусної дії, зокрема активація захисних механізмів рослини, що веде до локалізації вірусної інфекції та розвитку індукованої ним вірусної резистентності клітин хазяїна. Останню думку підтверджує той факт, що крива пригнічення інфекційності ВТМ на ізольованих листках, де вірусіндуковані механізми стійкості ослаблені завдяки фізіологічному стресу (ізоляція листків), має більш крутий нахил, ніж така для інтактних рослин.

Для виявлення міцності можливого комплексу ГКМ–ВТМ та зворотності його утворення нами було зроблено серію п’ятикратних розведень вихідної суміші компонентів, що інкубувалась при кімнатній температурі протягом 30 хв, з наступним тестуванням інфекційності вірусу на тій самій рослині-індикаторі — дурмані. Встановлено, що при розведенні суміші і, отже, зменшенні концентрації вірусу та ГКМ у ній антивірусна активність полісахариду поступово знижується (рис. 2). Так, пригнічення інфекційності вірусу в нерозведених суміші становить майже 80%, у розведеннях 1 : 5, 1 : 25, 1 : 125 — 58, 48 та 20% відповідно. При цьому концентрація в суміші ГКМ/ВТМ при однаковому співвідношенні взаємодіючих компонентів (1 : 2,5) становила 5000/2000, 1000/400, 200/80, 40/16 мкг/мл відповідно.

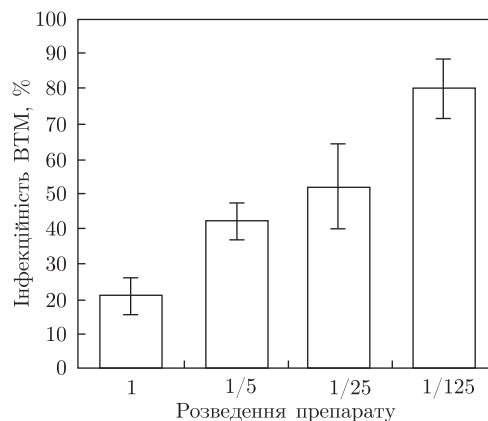
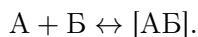


Рис. 2. Зворотність інактивації ВТМ у присутності ГKM (5 мг/мл), виявлена при розведенні інкубаційної суміші

Отже, ГKM може утворювати нетривкі комплекси з віріонами ВТМ *in vitro*. Така взаємодія істотно не впливає на структурно-функціональну цілісність віріону, на що вказує збереження інфекційної активності ВТМ при розведенні суміші. В умовах нашого експерименту у водному середовищі між взаємодіючими компонентами — ГKM та ВТМ, вірогідно, встановлюється динамічна рівновага за типом зворотної фізико-хімічної взаємодії:



При наявності надлишку одного з компонентів, а саме ГKM, фізико-хімічна реакція іде у напрямку утворення комплексу АБ. При зменшенні концентрації ГKM в суміші комплекс розпадається, тобто утворення його, а отже, і сама інактивація вірусу має зворотний характер. Найімовірніше, у даному випадку, має місце електростатична взаємодія *in vitro* між карбоксильними групами залишків глюкуронової кислоти ГKM та протилежними зарядженими групами амінокислот білка оболонки ВТМ. Такий механізм інактивації вірусу відомий для полілізину, полівініламіну тощо [15].

Для підтвердження утворення комплексу ГKM та ВТМ *in vitro* у подальших експериментах було проведено дослідження можливої взаємодії компонентів методом ППР. Аналізуючи концентраційну залежність для ВТМ у сталій концентрації 100 мкг/мл і набору розведень специфічних антитіл від 1 : 25 до 1 : 1600, можна зазначити, що при оптимальному для детекції співвідношенні між антитілами і вірусом (у досліджуваному випадку воно відповідає розведенню сироватки 1 : 200) комплекси антиген-антитіло утворюють на поверхні найбільш щільну структуру і сигнал при цьому закономірно досягає свого максимуму (рис. 3). При надмірній кількості (малі розведення) або нестачі (великі розведення) антитіл сигнал закономірно знижується. Сильні сигнали при малих розведеннях обумовлені утворенням багатокомпонентних комплексів антитіла — ВТМ, які відповідають формуванню на поверхні асоціатів [13].

Коли в систему додається такий чинник, як аніонний полісахарид ГKM, величина сигналу знижується. Таким чином, внаслідок взаємодії полісахариду з поверхнею вірусної частки кількість антитіл, які сполучаються з ВТМ, істотно зменшується, що призводить як до зменшення величини сигналу ППР (приблизно у 2 рази в максимумі), так і до зміни положення цього максимуму до 1 : 800. Це може свідчити про те, що внаслідок селективної взаємодії з білком оболонки вірусу ГKM, з одного боку, зменшує кількість можливих сайтів

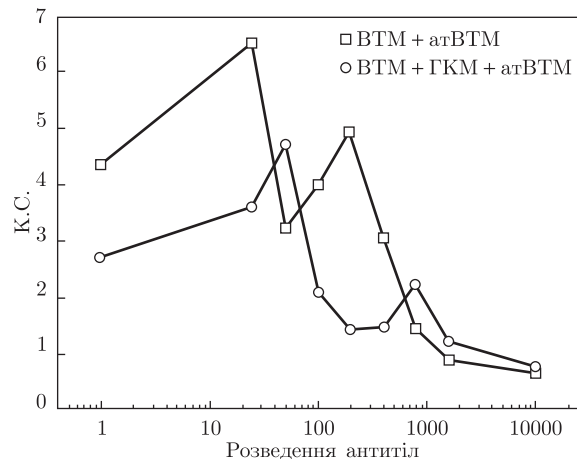


Рис. 3. Результати вивчення утворення комплексу ВТМ–ГКМ методом ППР: залежність величини резонансного кута від концентрації антитіл до ВТМ (атВТМ) в суміші за відсутності та наявності ГКМ

зв'язування антигену з антитілами, з іншого — надає вірусній частці додатковий від'ємний заряд.

Ця думка підтверджується також даними про структуру молекули ГКМ (молекулярна маса $(1,3-1,5) \cdot 10^6$ Да), що складається з лінійного каркасу α -(1→3) зв'язаної D-манози у головному ланцюгу та ксилози і глюкуронової кислоти у бокових ланцюгах полімеру. Остання завдяки негативно зарядженим карбоксильним групам обумовлює аніонну структуру полісахариду [14].

Оскільки структурно-функціональна цілісність віріонів у присутності ГКМ не порушувалася, важливо було дослідити, чи здатний цей глікополімер призводити до агрегації вірусних часток, що також може бути чинником, що спричиняє зменшення інфекційності інокулюма. Для дослідження можливості агрегації віріонів під впливом ГКМ нами використано метод центрифугування в градієнті густини сахарози в поєднанні з електронною мікроскопією. Для цього до суспензії ВТМ (2 мг/мл) додавали ГКМ до кінцевої концентрації 5 мг/мл, суміш інкубували протягом 30 хв, вносили в центрифужну пробірку зі сформованим лінійним градієнтом концентрації сахарози (15–45%) та піддавали центрифугуванню. Контролем служив такий же препарат ВТМ без полісахариду. В процесі центрифугування вірус як у досліді, так і в контролі розділювався на дві зони: на дні пробірки та в зоні, що відповідала 25%-й сахарозі (дані не наведено). Той факт, що опалесцювальна зона вірусу в досліді і контролі мала однакове положення, може свідчити про неможливість виділення комплексу ВТМ з ГКМ із загальної маси вірусу методом центрифугування в градієнті густини сахарози, очевидно, завдяки тому, що молекулярна маса вірусу і комплексу його з полісахаридом різниться мало. Проте, за допомогою електронної мікроскопії встановлено, що в осаді вірус, оброблений ГКМ, на відміну від необробленого контролю, мав агрегований стан (рис. 4, б). Причому агрегація віріонів “бік-в-бік” спостерігалася також у опалесцювальній зоні (див. рис. 4, в). Тобто під впливом ГКМ може мати місце агрегація вірусних часток, що призводить до зменшення інфекційності вірусного інокулюма в присутності ГКМ.

Отже, наші біологічні досліді та перевірка їхніх результатів методами ППР та електронної мікроскопії показують, що екзоцелюлярний полісахарид ГКМ *Tremella mesenterica* може утворювати комплекси з віріонами ВТМ, обумовлюючи агрегацію віріонів *in vitro*,

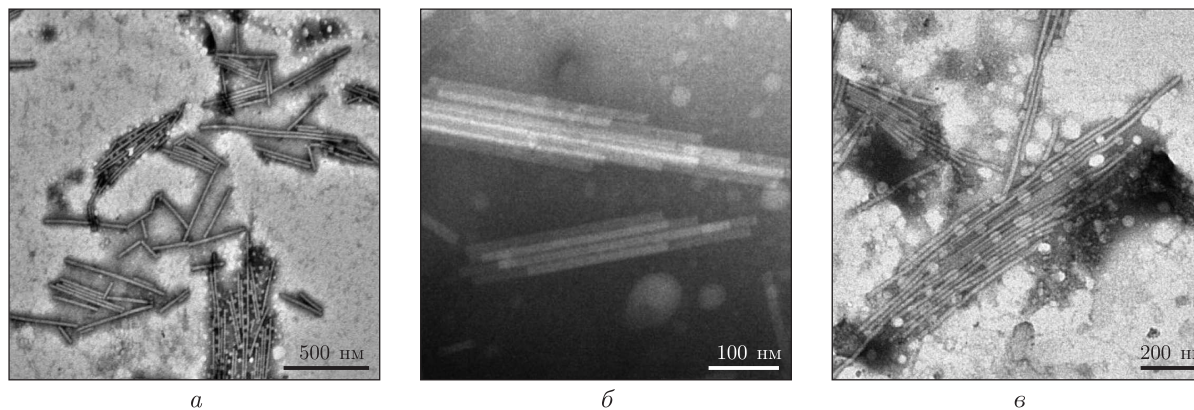


Рис. 4. Електронна мікроскопія ВТМ, отриманого з опалесцювальної зони, що формувалася після центрифугування в градієнті густини сахарози: *а* — вірус після центрифугування без ГКМ; *б, в* — вірус після центрифугування в присутності ГКМ

вірогідно, завдяки іонній взаємодії між карбоксильними групами уронової кислоти та протилежно зарядженими групами капсидного білка вірусу. Оскільки відомо, що ГКМ може пригнічувати розвиток вірусної інфекції в рослинах тютюну та дурману [8, 9], даний ефект може відігравати певну роль у реалізації антивірусної активності полісахариду. В результаті адсорбції ГКМ на віріоні, ймовірно, блокується взаємодія вірусу з клітиною, а також сам процес її інфікування. Подальші дослідження в цьому напрямку можуть дати важливу інформацію щодо дії глікополімерів на перебіг вірусного патогенезу і функціонування механізмів вірусостійкості у рослин.

Робота виконана за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (проект ДЗ/479-2009) та Українського науково-технологічного центру України (проект 4973).

1. Дьяков Ю. Т., Коваленко А. Г. Механизмы устойчивости растений к вирусам и грибам. – Москва: ВИНТИ, 1983. – 167 с.
2. Kovalenko A. G., Grabina T. D., Kolesnik L. V. et al. Virus resistance induced with mannan sulphates in hypersensitive host plants // J. Phytopathol. – 1993. – **137**. – P. 133–147.
3. Коваленко О. Г., Телегеева Т. А., Штакун А. В., Погоріла З. О. Вплив деяких моно- і полісахаридів на локалізацію вірусної інфекції та індуковану вірусостійкість у рослин // Біополімери і клітина. – 2000. – **16**, № 2. – С. 53–59.
4. Коваленко А. Г. Белок-углеводное взаимодействие в реализации устойчивости растений к вирусам // Микробиол. журн. – 1993. – **55**, № 6. – С. 76–91.
5. Sun H., Zhao C. G., Tong X., Qi Y. P. A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushroom *Agrocybe aegerita* // J. Biochem. and Molec. Biol. – 2003. – **36**, No 2. – P. 214–222.
6. Коваленко О. Г., Поліщук О. М. Вплив глюкуроноксилومانану *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. (Basidiomycota) на стійкість рослин до вірусу тютюнової мозаїки // Микробиол. журн. – 2009. – **71**, № 1. – P. 50–56.
7. Kovalenko O. G., Polishchuk O. M., Wasser S. P. Virus resistance induced with glucuronoxylomannan of *Tremella mesenterica* Ritz.: Fr. (Heterobasidiomycetes) in the hypersensitive host plants // Int. J. Med. Mushrooms. – 2009. – **2**. – P. 199–205.
8. Kakuta M., Sone Y., Umeda T., Misaki A. Comparative structural studies on acidic heteropolysaccharides isolated from “Shirokikurage”, fruit body of *Tremella fuciformis* Berk, and the growing culture of its yeast-like cells // Agric. Biol. Chem. – 1979. – **43**, No 8. – P. 1659–1668.
9. Коваленко О. Г. Пригнічення системної індукованої стійкості рослин до вірусів при зануренні первинно інокульованих листків у воду // Микробиол. журн. – 1988. – **50**, No 4. – P. 62–68.

10. Boltovets P. M., Polishchuk O. M., Kovalenko O. G., Snopok B. A. A simple SPR-based method for the quantification of the effect of potential virus inhibitors // *Analyst.* – 2013. – **138.** – P. 480–486.
11. Lee H. J., Yan Y., Marriott G., Corn R. M. Quantitative functional analysis of protein complexes on surfaces // *J. Physiology.* – 2005. – **15.** – P. 61–71.
12. Boltovets P. M., Boyko V. R., Kostikov I. Yu., Dyachenko N. S., Snopok B. A., Shirshov Yu. M. Simple method for plant virus detection: effect of antibody immobilization technique // *J. Virol. Methods.* – 2002. – **105,** No 1. – P. 141–146.
13. Snopok B., Yurchenko M., Szekeley L. et al. SPR based immuno-capture approach for in vitro analysis of protein complex formation: mapping of MRS18–2 binding site on retinoblastoma protein // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2006. – **386.** – P. 2063–2073.
14. Vinogradov E., Petersen B., Duubs J. O., Wasser S. The structure of glucuroxylomannan produced by culinary-medicinal yellow brain mushroom (*Tremella mesenterica* Ritz.: Fr., Heterobasidiomycetes) grown as on cell biomass in submerged culture // *Carbohydrate Research.* – 2004. – **339.** – P. 1483–1489.
15. Stahmann M. A., Cothoskar S. S. The inhibition of the infectivity of tobacco mosaic virus by some synthetic and natural polyelectrolytes // *Phytopathology.* – 1958. – **48.** – P. 362–365.

Інститут мікробіології і вірусології
і.м. Д. К. Заболотного НАН України, Київ
Інститут фізики напівпровідників
і.м. В. Є. Лашкарьова НАН України, Київ

Надійшло до редакції 08.05.2013

Академик НАН України В. С. Подгорский, А. Г. Коваленко, П. Н. Болтовец,
Б. А. Снопок, Е. Н. Полищук

Формирование комплекса глюкуронооксиломаннана *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. с вирусом табачной мозаики как один из возможных механизмов антивирусного действия полисахарида

Установлено, что глюкуронооксиломаннан (ГКМ), выделенный из культуральной жидкости базидиального гриба *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. (Basidiomycota), подавляет инфекционность вируса табачной мозаики (ВТМ). Инактивация вируса обратима, поскольку она уменьшается при разведении инокулюма, к которому добавлялся ГКМ. С помощью метода поверхностного плазмонного резонанса показано, что ГКМ взаимодействует с вирусными частицами *in vitro*. Причиной снижения инфекционности вируса в присутствии ГКМ может быть агрегация вирионов, которая выявляется при ультрацентрифугировании смеси в градиенте плотности сахарозы и с помощью трансмиссивной электронной микроскопии.

Academician of the NAS of Ukraine V. S. Podgorsky, A. G. Kovalenko,
P. N. Boltovets, B. A. Snopok, E. N. Polishchuk

Formation of a complex of glucuronoxylomannan *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. with tobacco mosaic virus as one of the possible mechanisms of polysaccharide's antiviral activity

It is found that glucuronoxylomannan (GXM) obtained from basidiomycetes *Tremella mesenterica* Ritz. Fr. (Basidiomycota) culture liquid inhibits the infectivity of tobacco mosaic virus (TMV). Virus inactivation is invertible, since it reduces after inoculum containing GXM is diluted. By the method of surface plasmon resonance, it has been shown that GXM interacts with viral particles *in vitro*. The reason for a decrease in the infectivity of viral particles in the presence of GXM can be the virion aggregation, which is detected by centrifugation of a mixture under a sucrose density gradient and by using transmissive electron microscopy.