

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ПОТЕКСВИРУСОВ

Богачева Е.Н.<sup>1</sup>, Долгов А.А.<sup>1</sup>, Ксенофонтов А.Л.<sup>2</sup><sup>1</sup>Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

ул. Косыгина, 4, Москва, 119991, РФ: e-mail: bogen\_chph@mail.ru

<sup>2</sup>НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова

ул. Ленинские горы, 1, 119992, Москва, РФ: e-mail: ksenofon@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию: 29.06.2018

**Аннотация.** Метод тритиевой планиграфии нашел применение к решению широкого круга задач современной биофизики, структурной химии, молекулярной и физико-химической биологии. Он основан на неселективном замещении водорода в углеводородных фрагментах молекул на его радиоактивный изотоп - тритий. Данные, полученные этим методом, в сочетании с разработанным нами имитационным алгоритмом тритиевой бомбардировки использованы для получения информации о пространственной организации белков и их комплексов. На примере потексвируса картофеля X показана методика определения ориентации субъединиц в вирусе относительно оси спирали и их укладки при известной структуре субъединицы с учетом пространственных ограничений и экспериментальных данных тритиевой планиграфии. Это позволяет детализировать четвертичную структуру вируса и существенно сократить выбор возможных ориентаций субъединиц в вирионе.

**Ключевые слова:** структура потексвирусов, X-вирус картофеля, тритиевая планиграфия.

Прямые данные о структуре вирионов гибких нитевидных вирусов растений или их белков оболочки в свободном состоянии в высоком разрешении отсутствовали до недавнего времени. В связи с этим, гибкие спиральные вирусы растений изучали структурными методами с более низким разрешением, такими как электронная микроскопия, тритиевая планиграфия и различные оптические методы [1-3]. Трудности в изучении структуры гибких спиральных вирусов растений методами высокого разрешения (рентгеноструктурный анализ, криоэлектронная микроскопия) связаны прежде всего с лабильностью структуры этих вирусов, обусловленной содержанием в составе их белковой оболочки значительной доли неупорядоченных элементов. Только в 2012 г. удалось получить с помощью рентгеноструктурного анализа структуру белковой оболочки потексвируса мозаики папайи в высоком разрешении, а немного позднее получены структуры еще двух – вируса мозаики бамбука и вируса мозаики пепино [4-6]. Белковая оболочка этих потексвирусов состоит из семи альфа-спиралей, расположенных в довольно сложной топологии. Все они характеризуются межсубъединичным контактом на внешней поверхности вириона между N-концевым участком одной молекулы белковой оболочки и гидрофобным карманом коровой части другой белковой субъединицы, а также они формируют сложную сеть гидрофобных контактов на внутренней поверхности вириона, образованных C-концевыми участками белка.

Цель работы – создание метода определения ориентации субъединиц в вирионе, их укладки в спираль с учетом пространственных ограничений и установления зон контакта между субъединицами. Полученные варианты укладки сопоставлены с экспериментальными данными метода тритиевой планиграфии, позволяющего изучать поверхностный слой объекта с точностью до нескольких Å<sup>2</sup>.

Согласно работе Стаббса и соавт. [2] по криоэлектронной микроскопии вириона X-вируса картофеля (ХВК) с разрешением 14 Å, в вирионе около 1300 идентичных субъединиц белковой оболочки, расположенных в спирали с диаметром 130 Å и шагом 35 Å, и вирусная РНК, расположенная внутри витков спирали. Каждый виток спирали состоит из 8,9 субъединиц, с каждой белковой субъединицей связаны пять нуклеотидов. РНК расположена на 33-35 Å от оси вириона. Первичная структура белка ХВК содержит 236 аминокислот и имеет значительную гомологию корового фрагмента с другими представителями рода потексвирусов, что и позволило предположить высокую гомологию их пространственных структур.

Метод тритиевой планиграфии нашел применение при решении широкого круга задач современной биофизики, структурной химии, молекулярной и физико-химической биологии. Он основан на неселективном замещении водорода в углеводородных фрагментах молекул на его радиоактивный изотоп - тритий. Малые размеры атома трития (0,9 Å), используемого в качестве нанозонда, позволяют обнаружить участки, локализованные в поверхностном слое макромолекулы. Получаемые с помощью этого метода данные о стерической доступности компонентов системы (макромолекулы в составе комплекса, аминокислотных остатков и даже отдельных атомных групп в макромолекуле) характеризуют структуру всего объекта. Метод применим к веществам, находящимся в различном фазовом состоянии, не имеет ограничений по молекулярной массе мишени. Тритиевую планиграфию с равным успехом можно использовать как для кристаллов, так и для растворов, метод позволяет изучать тонкие изменения структуры, а его высокая чувствительность может фиксировать такие конформационные переходы, которые “не чувствуют” другие методы, включая спектральные. В основе метода лежат химические реакции с участием горячих атомов трития. Энергетическая зависимость сечения химической реакции для горячих атомов водорода (трития) и оценка термализующей способности разных сред позволили выбрать условия, при которых реакция, приводящая к включению метки, происходит при однократном столкновении и характеризует стерическую доступность связи С-Н в составе

молекулы. Метод тритиевой планиграфии [7] успешно использовали для получения информации о пространственной организации белков, их комплексов и таких сложноорганизованных биологических объектов, как рибосома [8], нуклеосома [9], растительные [3, 10] и животные [11] вирусы. Бомбардировка исследуемого объекта пучком горячих атомов трития с последующим анализом внутримолекулярного распределения метки позволяет определить доступные фрагменты – остатки аминокислот, отдельные компоненты комплекса, составляющие его «поверхность», тесно связанную с пространственной структурой [9]. Построение модели пространственной структуры на основе данных о стерической доступности требует учета ряда экранирующих факторов: взаимной экранировки соседних по цепи остатков аминокислот, т.е. остатков в положениях  $i \pm 1$ ; экранировки остатков, сближенных при образовании вторичной структуры. В  $\alpha$ -спирали, например, это остатки в положениях  $i \pm 3$ ,  $i \pm 4$ . Учитывая эти факторы, можно определить вклад в экранировку остатков, вносимый третичной структурой за счет сближения элементов вторичной структуры. Как первый, так и второй вклад, можно количественно определить с помощью компьютерного алгоритма, имитирующего условия бомбардировки.

Суть алгоритма состояла в следующем:

1. Макромолекулу представляли в виде совокупности атомов, аппроксимируемых ван-дер-ваальсовыми сферами. Координаты центров атомов брали из банка пространственных структур PDB. Размеры сфер увеличивали на эффективный радиус трития, равный  $0,9 \text{ \AA}$  т.е.  $R = R_a + 0,9 \text{ \AA}$ .

2. Из всех атомов макромолекулы выделяли ковалентно связанные с атомами водорода ( $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ), способными замещаться на тритий с образованием продукта, в котором тритий не может обмениваться на водород.

3. Ван-дер-ваальсовы сферы разбивали на элементарные площадки с площадью  $dS = 4\pi R^2 / m$ , где  $m$  – число разбиений,  $R$  – радиус сферы. Ориентация площадки задавалась нормалью  $\mathbf{n}_i$ .

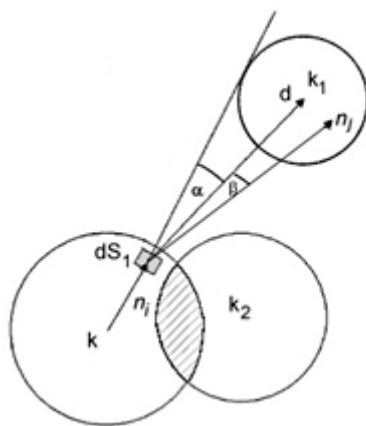
4. Из расчетов исключали площадки, находящиеся в области перекрывания сфер. Составлялся список  $F_k$  номеров площадок  $k$ -го атома, не попавших в зоны перекрытия.

5. Доступную площадь уменьшали пропорционально ослаблению доли потока, падающей с направления  $\mathbf{n}_j$ , обусловленному затенением от атомов, видимых с площадки, что выполняется при  $(\mathbf{n}_i \cdot \mathbf{n}_j) < 0$ ,  $z_j < 0$ . Если  $\mathbf{d}$  – вектор, соединяющий центр площадки с центром видимого с площадки атома с номером  $k_1$  (рис. 1) и  $\alpha$  – угол между касательной к этой сфере, проведенной из центра площадки, и направлением потока, то доступное направление  $\mathbf{n}_j$  определяется из условия  $\mathbf{d} \cdot \mathbf{n}_j > d \cos(\alpha)$ . Если направление оказывалось недоступным, то оно вычеркивалось из списка  $h_{k_i}$  разрешенных направлений прилета атомов к  $i$ -той элементарной площадке на поверхности  $k$ -го атома.

6. Площадь доступной поверхности атома находили суммированием площадей доступных элементарных площадок, умноженных на  $f_{k_{ij}}$  – коэффициент ослабления, обусловленный затенением от видимых с  $i$ -той элементарной площадки на поверхности  $k$ -го атома несмежных атомов молекулы в  $j$ -том направлении.

Алгоритм может быть использован для имитации эксперимента как на уровне целой макромолекулы, так и изолированных элементов вторичной структуры:  $\alpha$ -спиралей,  $\beta$ -складок. Последние могут быть построены с помощью стандартных для таких структур межатомных расстояний и углов  $\varphi$  и  $\psi$ . Как показывает расчет, различия между такими искусственно построенными и реальными структурами не очень существенны. Для тестирования имитационного алгоритма проводили сравнения расчетного и наблюдаемого в эксперименте распределения метки. На примере ряда белков показано, что компьютерный алгоритм адекватно описывает эксперимент с атомарным тритием.

В основе численного моделирования тритиевой бомбардировки лежит расчет потока для активных (способных к замещению водорода на тритий) атомов с учетом экранирования от других атомов. Если раньше такие задачи решались для биомолекул, то теперь это стало возможно и для более сложных объектов – вирусов, где необходимо учитывать и экранирование от других субъединиц.



**Рисунок 1.** К расчету доступной площади (заштрихованные участки поверхности активного атома не учитываются) и экранирования потока другими атомами

Основное допущение при интерпретации данных тритиевой планиграфии – пропорциональность активности  $A$  и расчетного потока  $J$ :

$$J = \int j(\mathbf{n})(\mathbf{n} \cdot d\mathbf{S})d\Omega,$$

где  $j(\mathbf{n})$  – распределение потока в направлении, заданном единичным вектором  $\mathbf{n}$ ;  $d\Omega$  – элемент телесного угла, соответствующий заданному направлению; интегрирование ведется по всем доступным направлениям и площади ван-дер-ваальсовых сфер атома за вычетом смежных областей. В самом деле, для активных атомов  $i$  и  $k$  скорость реакции замещения пропорциональна потоку  $J$  и по правилу Лопиталя:

$$\frac{n_i(t)}{n_k(t)} = \frac{\frac{dn_i}{dt}}{\frac{dn_k}{dt}} = \frac{J_i}{J_k},$$

здесь  $n(t)$  – число прореагировавших с тритием атомов типа  $i$  и  $k$ .

При моделировании использовали:

1. Данные криоэлектронной микроскопии [1], из которых следует, что вирионы ХВК представляют собой гибкие нитевидные частицы длиной 5150 Å. 1270 субъединиц белковой оболочки образуют спираль с диаметром 130 Å, шагом 34,5 Å и 8,89 витков на оборот.

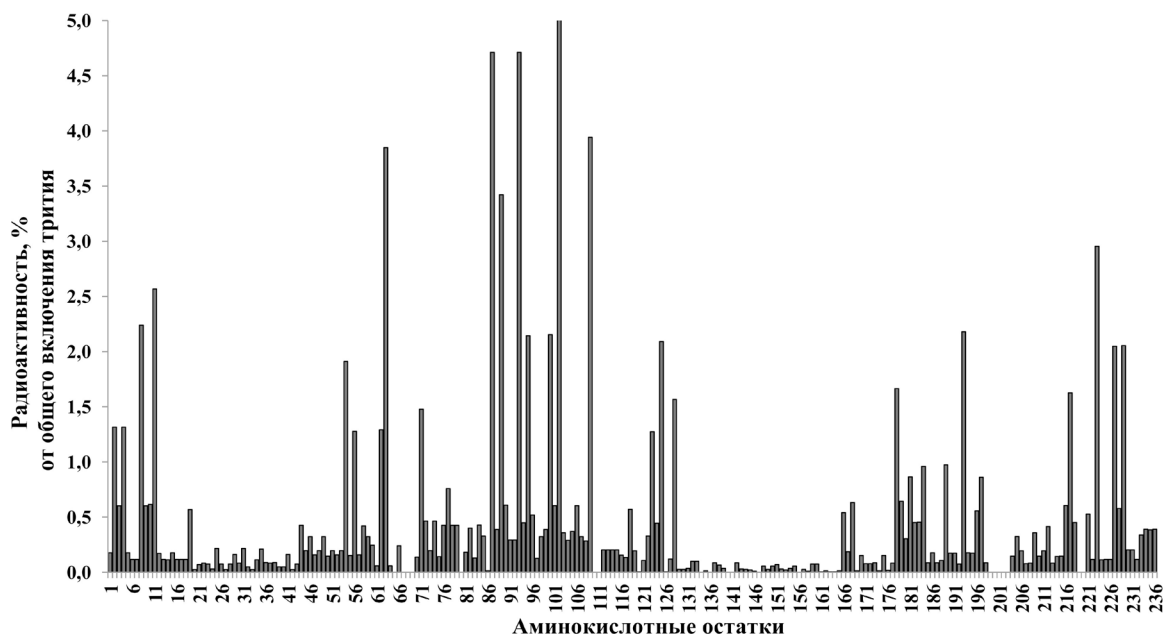
2. Модельный файл белковой оболочки ХВК субъединицы, содержащий координаты центров атомов, полученный на основе гомологичного моделирования белков оболочки потексвирусов с помощью программы Modeller [12].

3. Экспериментальные данные тритиевой планиграфии [3, 7, 10].

Ниже приведено распределение радиоактивности по аминокислотным остаткам белковой оболочки (рис. 2), полученное по данным тритиевого мечения вирионов ХВК, с последующей фрагментацией белковой оболочки и разделением на пептиды, их кислотным гидролизом и аминокислотным анализом с одновременным определением радиоактивности из работы [10].

На основе этих данных решали задачу о нахождении общей ориентации субъединиц по отношению к оси спирали, максимально близких к данным тритиевой планиграфии – распределению активности тритиевой метки по аминокислотным остаткам  $RA_i$ . Для ее решения в силу трансляционной инвариантности достаточно выделить фрагмент, состоящий из базовой и смежных с ней субъединиц и далее в исходной системе координат, сдвинутой в центр базовой субъединицы, определять направления оси спирали и радиального направления от этой оси.

Тритиевая бомбардировка вируса из-за экранирования смежными субъединицами существенно отличается от опыта с отдельными субъединицами растворе, когда каждая ориентация молекулы равновероятна. Это дает возможность выделить ориентации белка в спирали, наиболее соответствующие эксперименту. Поэтому разработанный ранее алгоритм имитации бомбардировки изотропным потоком атомов трития одной биомолекулы [13] модифицирован новым фрагментом, учитывающим при расчете потока экранирование «соседями».



**Рисунок 2.** Распределение радиоактивности по аминокислотным остаткам субъединиц белковой оболочки [10]

В итоге разработанный для определения ориентации субъединиц с учетом пространственных ограничений алгоритм содержал следующие критерии:

1. Выполнение необходимых пространственных ограничений при спиральной укладке:

1.1. Расстояние до оси спирали меньше радиуса спирали  $D/2 = 6,5$  нм, что выполняется, если модуль проекции вектора, соединяющего центры двух атомов на радиальное направление, меньше радиуса спирали:  $|(r_i - r_j, e_\rho)| < D/2$ .

1.2. Модуль проекции на азимутальное направление меньше хорды  $L$ :  $|(r_i - r_j, e_\phi)| < L = 2R \cdot \sin(\pi/n) = 45 \text{ \AA}$ .

1.3. Модуль проекции на ось спирали больше шага спирали  $H = 34,5 \text{ \AA}$ :  $(r_i - r_j, e_z) > H$ . (значения параметров – из работы [1],  $e$  – единичные векторы в соответствующем направлении,  $r$  – векторы центров атомов субъединицы).

1.4. Ван-дер-ваальсовы сферы атомов из различных субъединиц не должны пересекаться:  $|r_i - r_k| < R_i + R_k$ ,  $r$  – радиус-вектор,  $R$  – ван-дер-ваальсов радиус.

1.5. Каждый атом одной субъединицы транслируется в соответствующий атом следующей поворотом относительно оси спирали на угол  $\alpha = 2\pi/n$  и подъемом на  $H/n$ . При этом должно выполняться необходимое условие 1.4: транслированный атом должен быть вне исходной субъединицы.

2. Наилучшее соответствие опытным данным тритиевой планиграфии по коэффициенту корреляции между активностями аминокислотных остатков белка и расчетным потоком  $J$ .

Расчет  $J$  осуществляли по ранее разработанной методике имитации бомбардировки изотропным потоком атомов трития [13].

При определении смежных остатков, каждый из них аппроксимировали сферой, центр которой находился в геометрическом центре,  $rc_i = \langle r \rangle$  ( $\langle r \rangle$  – среднее значение векторов центров атомов остатка  $RA_i$ ); радиус сферы  $R_i = \max(|rc_i - r_j|) + r_{aj}$ , где  $r_{aj}$  – радиус ван-дер-ваальсовой сферы  $j$ -го атома,  $r_j$  – векторов его центра. Остатки могут находиться в контакте, если расстояние между их центрами меньше суммы радиусов аппроксимирующих сфер,  $|rc_i - rc_k| < R_i + R_k$ .

Расчеты проводили в исходной системе координат с началом, сдвинутым в геометрический центр субъединицы. Программа написана на языке Maple.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее, в работе с нашим участием, проведено гомологичное моделирование структуры белковой оболочки в составе вирионов ХВК на основе известных структур высокого разрешения для вирионов мозаики папайи и мозаики бамбука, результаты которого показали, что структура основной (коровой) части, в составе вирионов у всех трех оболочек близки [12]. Белковая оболочка потексвирусов обладает глобулярным ядром и неупорядоченными N- и C- концевыми доменами. Вместе с тем, необходимо было подтвердить каким-либо прямым экспериментальным методом структуру белковой оболочки ХВК и его пространственную ориентацию в вирионе.

При поиске ориентации субъединиц из множества возможных направлений оси спирали и поворотов в перпендикулярной к этой оси плоскости отобраны удовлетворяющие вышеуказанным пространственным ограничениям: из 12000 вариантов осталось всего 122, т.е.  $\approx 1\%$ . Для 26 наиболее активных остатков рассчитывали поток и сравнивали с экспериментом. В силу трансляционной инвариантности достаточно ограничиться рассмотрением комплекса из одной субъединицы и примыкающих к ней (максимум 8 – предыдущая и последующая по ходу спирали, и по 3 на верхнем и нижнем витке). При расчете потока выбрасывали области пересечения смежных ван-дер-ваальсовых сфер, моделирующих атомы, и учитывали экранирование потока от несмежных атомов на пути потока. Рассчитанное значение коэффициента корреляции между расчетным потоком и данными тритиевой планиграфии составило 0,79-0,84.

При рассмотрении четвертичной структуры вируса для каждого варианта ориентации можно выделить группы остатков, входящие в зону контакта со смежными субъединицами, а также наиболее экспонированных к потоку. Для каждого варианта можно выделить группы остатков, наиболее экспонированных потоку и контактирующих с соседними по ходу спирали и находящимися сверху и снизу субъединицами. Отбирались группы остатков с наибольшими значениями проекций координат СА-атомов на выбранное направление, после чего находились общие для разных вариантов остатки.

Результаты сведены ниже в таблицу 1, где  $N$  – № направления;  $RA$  – номер остатка  $Z_{\max}$ ,  $Z_{\min}$  – остатки, контактирующие с верхним и нижним витком спирали соответственно,  $r_{\max}$  – максимально экспонированные навстречу потоку,  $y_{\max}$ ,  $y_{\min}$  – контактирующие с последующей и предыдущей субъединицей.

Нумерация направлений  $n = [\cos\phi \cdot \sin\theta, \sin\phi \cdot \sin\theta, \cos\theta]$  проведена по  $\phi$  и  $\cos\theta$ . Направления соседствуют, если разница их номеров 1 или 25. Видно, что направления образуют довольно компактную область.

Таким образом, для повторяющегося фрагмента вируса, состоящего из субъединицы и ее примыкающих предыдущего и последующего по ходу спирали соседа, и пар субъединиц, расположенных сверху и снизу, т.е. с номерами  $i, i-1, i+1, i+8, i+9, i-8, i-9$ , определены ориентации, число смежных субъединиц и зоны контакта.

**Таблица 1.** Группы остатков, наиболее экспонированные потоку трития, и контакты с соседними по ходу спирали и контакты с нижним и верхним витками

	N	RA
Z <sub>max</sub>	45-48,69-72,95,96	10-14
Z <sub>min</sub>	45-48,70-72	104,105,177,181
	83,149,154-156	10-15
Г <sub>max</sub>	45,46,69-72	104,105,177,181
	108,109,134,135,159,160	230-231,233-237
У <sub>max</sub>	46-48,70,71	69,70,101,106,108,109
	72,83,95,96,107	7-10
	133-135,158-160	218-220,222,234-237
У <sub>min</sub>	45-47,69,70,159,160	32-35,37,38
	48,71,72,95,96	185-191,193

## ВЫВОДЫ

Предложена методика определения ориентации субъединиц и определения зон контакта смежных субъединиц в вирусе с использованием данных тритиевой планиграфии, что позволяет детализировать четвертичную структуру вируса, существенно сократить выбор возможных ориентаций и уменьшить время расчетов другими методами.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 18-04-00525а) и финансирования ИХФ РАН (тема 0082-2014-0001, № АААА-А17-117040610310-6).

### Список литературы / References:

- Kendall A., McDonald M., Bian W. [et al.] Structure of Flexible Filamentous Plant Viruses. *Virology*, 2008, vol.82, pp. 9546-9554.
- Parker L., Kendall A., Stabbs G., Surface Features of Potato Virus X from Fiber Diffraction. *Virology*, 2002, vol. 300, Issue 2, pp. 291-295.
- Baratova L.A., Grebenschikov. N. I., Dobrov E. N., Gedrovich A. V., Kashirin I. A., Shishkov A. V., Efimov A. V., Järvekülg L., Radavsky Y. L., Saarma M. 1992. The organization of potato virus X coat proteins in virus particles studied by tritium planigraphy and model building. *Virology*, vol. 188, iss. 1, pp. 175-180.
- Agirrezabala X., Méndez-López E., Lasso G., Amelia Sánchez-Pina M.A., Aranda M., Valle M. The near-atomic cryoEM structure of a flexible filamentous plant virus shows homology of its coat protein with nucleoproteins of animal viruses. *eLife*, 2015, vol. 4, p. e11795, DOI: 10.7554/eLife.11795L.
- DiMaio F., Song Y., Li X., Brunner M.J., Xu C. Atomic-accuracy models from 4.5-Å cryo-electron microscopy data with density-guided iterative local refinement. *Nature Methods*, 2015, vol. 12, pp. 361-365.
- Yang S., Wang T., Bohon J., Gagne M.E., Bolduc M., Leclerc D, Li H. Crystal Structure of the Coat Protein of the Flexible Filamentous Papaya Mosaic Virus. *J. Mol. Biol.*, 2012, vol. 422, iss. 2, pp. 263-273.
- Баратова Л.А., Богачева Е.Н., Гольдманский В.И., Колб В.А., Спирин А.С., Шишков А.В. *Тритиевая планиграфия биологических макромолекул*. М.: Наука, 1999, 175 с. [Baratova L.A. Bogacheva E.N., Goldanskiy V.I., Kolb V.A., Spirin A.S., Shishkov A.V. *Tritium planigraphy biological macromolecules*. Moscow: Nauka, 1999, 175 p. (In Russ.)]
- Shishkov A.V., Bogacheva E.N. Tritium planigraphy of biological macromolecules. *Methods in Protein Structure and Stability Analysis: Conformational Stability, Size, Shape and Surface of Protein Molecules*, N.-Y.: Nova Science Publishers, 2007, pp. 317-353.
- Богачева Е.Н., Долгов А.А., Чуличков А.Л., Шишков А.В. Применение тритиевой планиграфии в фундаментальных исследованиях в области биофизики. *Сб. докладов XII Международной научной конференции «Физико-химические процессы при селекции атомов и молекул и в лазерных, плазменных и нанотехнологиях»*, 31.03.2008-04.04.2008, г. Звенигород (Ершово), с. 368. [Bogacheva E.N., Dolgov A.A., Chulichkov A.L., Shishkov A.V. The use of tritium planigraphy in basic research in the field of biophysics. *In digest of XII International Scientific Conference "Physico-chemical processes in the selection of atoms and molecules in laser, plasma and nanotechnologies"*, 31.03.2008-04.04.2008, Zvenigorod (Ershovo), p. 368. (In Russ.)]
- Lukashina E., Ksenofontov A., Fedorova N. et al. Analysis of the role of the coat protein n-terminal segment in potato virus x virion stability and functional activity. *Molecular Plant Pathology*, 2012, vol. 13, pp. 38-45.
- Shishkov A.V., Goldanskii V.I., Baratova L.A., Fedorova N.V., Ksenofontov A.L., Zhirnov O.P., Galkin A.V. The *in situ* spatial arrangement of the influenza A virus matrix protein M1 assessed by tritium bombardment. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, no. 14, pp. 7827-7830.
- Семенюк П.И., Карпова О.В., Ксенофонтов А.Л. [и др.] Структурные особенности белков оболочки потексвирусов, выявляемые оптическими методами. *Биохимия*, 2016, т. 82, вып. 12, с. 1836-1846. [Semenyuk P.I., Karpova O.V., Ksenofontov A.L. [et al.] Structural features of the plexvirus membrane proteins, detected by optical methods. *Biochemistry*, 2016, vol. 86, iss. 12, pp. 1836-1846. (In Russ.)]

13. Богачева Е.Н., Богачев А.Н., Дмитриев И.Б., Долгов А.А., Чуличков А.Л., Шишков А.В., Баратова Л.А. Построение моделей пространственной структуры белков по данным тритиевой планиграфии. *Биофизика*, 2011, т. 56, № 6, с. 1024-1037. [Bogacheva E.N., Bogacheva A.N., Dmitriev I.B., Dolgov A.A., Chulichkov A.L., Shishkov A.V., Baratova L.A. Construction of models of the spatial structure of proteins according to tritium planigraphy. *Biophysics*, 2011, vol. 56, no. 6, pp. 1024-1037 (In Russ.)]

#### MODELING POTEXVIRUSES SPATIAL STRUCTURE

**Bogacheva E.N.<sup>1</sup>, Dolgov A.A.<sup>1</sup>, Ksenofontov A.L.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>N.N. Semenov Institute of Chemical Physics RAS

*Kosygin str., 4, Moscow, 119991 Russia; e-mail: bogen\_chph.ras.ru*

<sup>2</sup>Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology of Moscow State University,

*Leninskie Gory str., 1, Moscow, 119992, Russia; e-mail: ksenofon@belozersky.msu.ru*

**Abstract.** The method of tritium planigraphy has applied to solving a wide range of problems of modern biophysics, structural chemistry, molecular and physico-chemical biology. It is based on a non-selective substitution of hydrogen in hydrocarbon fragments of molecules for its radioactive isotope-tritium. The data obtained by this method, in combination with our imitation algorithm of tritium bombardment, was successfully used to obtain information on the spatial organization of proteins and their complexes. Details of the structure of the potexviruses are currently unknown. The example of potato virus X shows a technique for determining the orientation of subunits in the virus relative to the axis of the helix and their placement under a known subunit structure, taking into account spatial limitations and experimental data of tritium planigraphy. This allows us to detail the quaternary structure of the virion and significantly reduce the choice of subunits possible orientations in the virion.

**Key words:** *spatial structure of potato virus X, tritium planigraphy.*