

PACS numbers: 07.60.-j, 42.60.-v, 42.62.-b, 82.70.Rr, 87.15.-v, 87.64.-t, 87.80.-y

Оптична ультраструктурна вірометрія з використанням оптико-електронних аерозольних лічильників, а також лазерних аерозольних спектрометрів: чи можлива коректна постановка проблеми?

О. В. Градов¹, Ю. В. Жуланов², П. Ю. Макавеев²

¹Федеральний дослідний центр хімічної фізики ім. М. М. Семенова РАН,
вул. Косигіна, 4,
119991 Москва, Росія

²Науково-дослідний фізико-хімічний інститут імені Л. Я. Карпова,
вул. Воронцове Поле, 10,
105064 Москва, Росія

Поряд з оптичною цитометрією, що ґрунтується на аналізі флюоресцентного світлового сигналу, останніми роками набуває ефективності комплекс методів вірометрії, зокрема, за аналогією із проточною цитометрією, проточною вірометрією. Як наслідок цього, основний акцент робиться на молекулярно-біологічному аспекті, а не на ультраморфологічних і розмірних (дисперсних) відмінностях вірусів. Універсальний метод не може бути заснований на селективних (у молекулярно-біологічному аспекті) носіях, особливо — для супрамолекулярних систем з високою специфічністю комплементарної фіксації, до яких належать генетичні механізми вірусів. Створити систему, що еквівалентно розпізнає всі типи вірусів у принципі неможливо. Віруси з неідентичними за геометричними критеріями діаграмами розсіяння, тобто різним морфологічним геометричним типом капсид (спіральним, ікосаедричним, довгастим і комплексним), можна розрізнити лише в межах апроксимації — дифракційного фінгерпринтингу, погодженого з відповідною геометрією вірусу, при калібруванні з використанням адекватних йому за геометрією та метрологією (розмірами) тестових частинок. Незважаючи на поширене спрощення, що зводиться до екстраполяції інтерпретацій теорії розсіяння світла за Мі практично на весь діяпазон розмірів частинок, включаючи Фраунгоферову дифракцію як окремий випадок, добре відома неправомірність теорії Мі у разі малих параметрів дифракції. Дифузійний аерозольний спектрометр моделю DAS Model 2702 може працювати в режимі моніторингу, охоплюючи діяпазон розмірів від 3 до 200 нм. Отже, за розмірів більшості вірусів від 20 нм до 300 нм немає принципових обмежень для міряння в широкому діяпазоні більшості поширених вірусів. Що ж стосується резидуалів за межею 200 нм, а також екстремальних випадків мікронних агрегатів (*Pandoravirus*

sp., *Pithovirus sp.*, *Filoviridae* та ін.), то, наприклад, модель 2702-м має можливість оснащення модулем міряння субмікронних частинок у діяпазоні від 0,2 до 10 мкм. Відповідно, якби був достатньо широкодіапазонний метод мірянь з калібруванням за конкретними геометричними прототипами, що забезпечує дискретність визначення розмірів, достатню для визначення якихось типорозмірів вірусних, агрегаційних та інших частинок, у межах статистичного відхилення, то технікою, що забезпечує подібну аерозольну вірусну дисперсно-морфологічну аналізу, у принципі, була б вичерпана більша частина випадків типових вірусів.

Along with the optical cytometry based on the analysis of a fluorescent light signal, in recent years, a complex of virometry methods has emerged, in particular, flow virometry (by analogy with flow cytometry). Because of this, the main emphasis is usually made on the molecular-biological aspects, rather than on ultramorphological and dimensional (size) differences of viruses. However, the universal method cannot be based on the specific selective carriers, especially for the supramolecular systems with a high specificity of complementary binding, which include the genetic mechanisms of viruses. It is impossible to create a system capable recognizing all types of viruses. Viruses with non-identical scattering indicatrices, *i.e.*, with different morphological and geometrical capsid types (spiral, icosahedral, elongated and complex ones) can be recognized/distinguished only within the approximation—diffraction fingerprinting, matching the corresponding virus geometry as a result of the calibration process using the test particles with adequate size and geometry. Despite the widespread simplification extrapolating the Mie theory of the light scattering to the almost full range of particle sizes, including Fraunhofer diffraction as a special case, it is well known that the Mie theory is invalid at small diffraction parameters. Diffusion Aerosol Spectrometer DAS model 2702 can operate in the monitoring mode, including the particle size range from 3 to 200 nm. Since the size of most viruses ranges from 20 nm to 300 nm, there are no fundamental limitations for measuring a wide range of the most common viruses. As for the particles beyond 200 nm, as well as the extreme cases of the micron aggregates (*Pandoravirus sp.*, *Pithovirus sp.*, *Filoviridae*, etc.), the DAS 2702-m model can be equipped with the submicron particle measurement module operating in the range from 0.2 to 10 microns. Accordingly, if there was a sufficiently wide-range measurement method with the calibration for specific geometric prototypes, then the technique providing an aerosol dispersed viral morphological analysis would have covered most of the typical viruses.

Ключові слова: оптична вірометрія, методи проточної вірометрії, розміри вірусів, дифузійний аерозольний спектрометр, лазерна аерозольна спектрометрія, рівняння Стокса–Айнштейна, розсіяння світла в рамках теорії Мі, Фраунгоферова дифракція, кваліметричний критерій, оптико-електронний аерозольний лічильник.

Key words: optical virometry, flow virometry, virus sizing, diffusion aerosol spectrometer, laser aerosol spectrometer, Stokes–Einstein equation, Mie scattering theory, Fraunhofer diffraction, qualimetric criteria, optoelectronic aerosol counter.

(Отримано 21 жовтня 2020 р.; після доопрацювання — 25 вересня 2021 р.)

1. ВСТУП

1.1. Оптична вірометрія та її обмеження

Поряд з оптичною цитометрією, що ґрунтується на аналізі флюоресцентного (або такого, що розсіюється клітиною [1, 2]) світлового сигналу, останніми роками набуває ефективності комплекс методів вірометрії, зокрема, за аналогією із проточною цитометрією (FACS, FCM), проточної вірометрії [3, 4]. Комплекс технологій вірометрії позиціонується на цей час як унікальний засіб аналізування інфекційних профілів [5], антигенних спектрів [6], кінетичного аналізування вірусного інфікування, а також конформаційної кінетики та компаративної аналізу хемізму відгуку у порівнянні з нормою реакції [7]. Як наслідок цього, основний акцент робиться на молекулярно-біологічному аспекті, а не на ультраморфологічних і розмірних (дисперсних) відмінностях вірусів. Крім того, у межах поточної політики Національних інститутів здоров'я США акцент робиться на рахунковій кількості вірусів, особливо на вірусі HIV-1, який відповідає за пандемію СНІД, що належить до підроддини ретровірусів *Lentiviridae* [8], тобто фактично мова йде про надзвичайно таксономічно обмежену підмножину релевантних аналітів і препаратів, а також рівнозначно обмежену номенклатуру варіацій вірусів [9–11]. Через це говорити про універсальність цього методу в діагностичній вірусології, мабуть, не доводиться. Універсальний метод не може бути заснований на селективних, у молекулярно-біологічному аспекті, носіях, особливо — для супрамолекулярних систем з високою специфічністю комплементарної фіксації, до яких належать генетичні механізми вірусів. Створити систему, що еквівалентно розпізнає всі типи вірусів (як ДНК-, так і РНК-; з однитковим або двонитковим ДНК-геномом або односпіральним чи то двоспіральним РНК-геномом; для всіх форм капсомерів, тобто білкових субодиниць/протомірів капсид — зовнішніх вірусних оболонок; з урахуванням ймовірностей виявлення в пробах як непокритих додатковою оболонкою [*viral envelope*] вірусів, так і вірусів із ксеногенним ліпідним суперкапсидом), у принципі неможливо. Постановка настільки універсалізованого завдання суперечить філетичному різноманіттю молекулярної таксономії вірусів.

Зазначимо, що селективні флюоресцентні методи проточної вірометрії також не можуть бути універсальним засобом виявлення геометрично різних вірусів у силу нерозрізненості їхнього сигналу за субдовгохвильового розміру вірусів, крім PALM/STORM-подібних мікрофлюорометричних методів. Віруси з неідентичними за геомет-

ричними критеріями діаграмами розсіяння, тобто різним морфологічним, *in adjecto* — геометричним типом капсид (спіральною, ікосаедричним, довгастим і комплексним), можна розрізнити лише в межах апроксимації — дифракційного фінгерпринтингу, погодженого з відповідною геометрією вірусу, при калібруванні з використанням адекватних йому за геометрією та метрологією (розмірами) тестових частинок, в ідеалі — автоморфних до нього (наприклад, вірусу тієї ж морфології, тобто геометрії, але інактивованого або непатогенного) або гомеоморфних йому. Морфізм, що не забезпечує взаємно однозначної відповідності між структурою досліджуваного та каліброваного вірусу/каліброваної частинки через «морфологічні» причини, не цілком достатній для ідентифікації. Але й у рамках відповідності морфізмів категорій структур, у разі збереження ідентичних груп симетрії в каліброваних і вимірюваних у проточній вірометрії частинок, можливість двоякої апроксимації окремих структур, у принципі, може бути джерелом артефактів. Хрестоматійний приклад — ротавірус, що має ікосаедричну симетрію, але ефективно апроксимований сферичним патерном, завдяки великій кількості капсомерів (пентонів і гексонів), що «замоцують поверхню» (т.зв. пертайлінг [12]). «Перехід кількісного в якісне» при введенні в систему додаткової кількості капсомерів, як правило, позначається на патерні дифракції ще й через об'єктивне збільшення розмірів частинок щодо тієї або іншої використовуваної довжини хвилі, оскільки за інваріантних розмірів капсомерів, зумовлених розміром білкової частинки, збільшення числа капсомерів на поверхні, за визначенням, спричинює наближення форми до більш гладкої (аналогічно наближенням, використовуваним у методах сіток у науковій візуалізації та тривимірній графіці).

Загальновідомо, що розміри вірусів у різних таксономічних групах відрізняються на порядки величин: від 20 до 300 нм (хоча деякі представники сімейства *Filoviridae* з одноланцюгової РНК негативної полярності мають довжину до 1,4 мкм за поперечника у 0,08 мкм, а в *Pandoravirus sp.* і *Pithovirus sp.* рівень компактизації генома, у принципі, фізично допускає вихід далеко за мікронні межі — 1,0–0,5 мкм і 1,5–0,5 мкм відповідно), з чого випливає якісна відмінність метрології та принципів аналізу для цих якісно відмінних груп. Незважаючи на розповсюджене спрощення, що зводиться до екстраполяції інтерпретацій теорії розсіяння світла за Мі практично на весь діапазон розмірів частинок, включаючи Фраунгоферову дифракцію як окремий випадок, добре відома неправомірність теорії Мі у разі малих параметрів дифракції. Обчислювальні можливості, забезпечувані теорією Мі, допускають застосування одного (універсально інтерпретованого у межах вищевказаної екстраполяційної омани) методу/алгоритму розрахунків для адитивного спектру дисперсності, тобто розмірів частинок. Але фактично це озна-

чає, що частина проби буде обчислена неправильно, оскільки майже неможливо (якщо не йдеться про монодисперсні калібровані середовища, наприклад, спеціальні латекси, що не мають гетероскедастичности розподілів) заздалегідь передбачити концентрації окремих частинок і внесок дисперсних фракцій (або розмірів ультраструктурних і мікроструктурних одиниць біоматеріалу, відмінних як за статичною геометрією, так і за динамічними морфометричними параметрами, які в нормі реакції є нестационарним корелятом загальної реактивності протоплазми та поширення збудження в ній [13, 14]), а кваліметричний ваговий критерій у таких завданнях складно розрахувати через відмінності у геометріях («формфакторів») частинок. Говорять, що, «якщо всі частинки в пробі більше довжини хвилі світла, частина Фраунгоферової теорії домінує в теорії Мі під час розрахунку розмірів частинок», але, враховуючи анізотричні частинки (до яких належать і віруси — ті ж *Filoviridae* з неймовірним коефіцієнтом «прозенхімності», як називалася б ця властивість у випадку цитометрії клітин рослин, за Тахтаджяном — від 1,4 до 0,08), говорити про об'єктивне чисельне вираження зазначеного домінування (особливо без урахування орієнтації) не доводиться в більшості фактично реалізованих випадків. Очевидно, що, оскільки машинно-розв'язувані абстрактні моделі, застосовні для обчислення розподілів, ґрунтуються на допущенні про сферичну, тобто найпростішу, форму частинок, розподіл частинок за розміром, одержуваний в результаті аналізування, насправді є розподілом «еквівалентних сферичних частинок», а не реальних частинок аналізу (класична задача електродинаміки, розв'язана в 1908 році Густавом Мі розвиненням електромагнетного поля за сферичними гармоніками).

Для відмінних за морфологією та генетичним або еволюційним походженнями вірусів геометричні відхилення від сфери будуть різними; тому еквівалентні міряння будуть по-різному ефективні для систематично різних вірусів. Говорити про універсальну технологію «функціональної вірометрії» у такому випадку неможливо, оскільки розміри номенклатури навіть найпоширеніших або релевантних для інфекціоністів вірусів (отже, дифракційні межі та межі оптимумів застосовності того або іншого математичного підходу, у тому числі відмінного від теорії Мі) екстремально варіюються, а функціональна активність вірулентно різних форм, як правило, порівняно слабо корелюючи з усередненою морфологією, що обчислюється під час потокової обробки даних з детектора проточного обладнання (навіть прийнявши, що міряння вірусів ведуться не на дисперсних носіях, а в абстрактному порожньому середовищі за відсутності адсорбувальних агентів), не може бути виявлена в такий спосіб [15]. Якщо говорити про недостатність інформації для функціональної ідентифікації, то слід також згадати, що теорія Мі вима-

гає знати коефіцієнти заломлення та поглинання зразка (очевидно, неідентичного для різних потенційних вірусів) і «дисперсійного середовища», яке в нативному випадку також характеризується деякою невизначеністю, оскільки необхідно аналізувати зразки з різних середовищ.

Очевидно, що у випадку аналізування нативних середовищ можливості фарбування вірусних, особливо, інактивованих (наприклад, попереднім нагріванням до 80–90 градусів, для фарбування SyBR green-I [16, 17]), не фіксованих на дисперсних частинках (нанозолота тощо) або в агарозних іммобілізувальних кульках [18], немодифікованих генетично для експресії флюоресцентних білків після проникнення в клітину [19, 20] і т. ін. частинок, як правило, істотно обмежені. Особливо складно ідентифікувати, аналізувати та міряти в природньому середовищі поширення інфекційні вірусні агенти, які передаються аерозольним/повітряно-крапельним шляхом. До таких з найбільш відомих, поширених і легко диференційованих захворювань (легко порівнюваних з якимось конкретним вірусом), що мають виражену етіологію, належить надзвичайно істотний шар інфекцій, починаючи з ГРВІ (Upper Respiratory Tract Infections—URTI), що поєднує в собі респіраторно-синцитіальну вірусну інфекцію, риновірусну й аденовірусну інфекції, що потребують патогномонічної ідентифікації, реалізованої з використанням вірометрії, закінчуючи грипом/парагрипом, кором, епідемічним паротитом, аденовірусною інфекцією тощо. Визначення вірусів без культивування може бути реалізоване тільки в абіогенному середовищі їхнього поширення. Тому для інфекцій, що передаються повітряно-крапельним (аерозольним) шляхом, необхідне впровадження методу, що забезпечує аналізування із захопленням частинок у природній атмосфері.

У той же час, як правило, у фізіологічних аерозолях розмір крапель може істотно перевищувати самі розміри вірусів; однак і в стандартній вірометрії відомий ефект агрегації вірусів, у силу наявності якого на стандартних проточних цитометрах (FACS) реалізується метод «вірусної агрегометрії», за допомогою якого здійснюється детектування HSV-1 і низки інших специфічно або «хемічно» агрегуючих вірусних частинок з розмірами агрегатів вище межі 300–500 нм, актуальної для більшості цитометрів з ненадроздільною оптикою та фабричними налаштуваннями програмного забезпечення. Відповідно, якби існував достатньо широкодіапазонний метод мірян з калібруванням за конкретними геометричними прототипами, що забезпечує дискретність визначення розмірів, достатню для визначення якихось типорозмірів вірусних, агрегаційних і інших частинок, у межах статистичного відхилення, що зумовлюється відмінністю орієнтації анізотропних частинок при прокачуванні «газометрованої» атмосфери крізь проточний об'єм на оптич-

ному тракті з наступним осадженням частини вірусів на селективних «ситах» для подальшої валідації розмірного визначення, то технікою, що забезпечує подібну аерозольну вірусну дисперсно-морфологічну аналізу, у принципі, було б вичерпано більшу частину випадків типових інфекційних епідемій/пандемій захворювань, що поширюються повітряно-крапельним шляхом.

1.2. Дифузійні аерозольні спектрометри й області їхнього впровадження, близькі до вірометрії

Промислово вироблених систем вірометрії такого призначення немає. Через субдовгохвильовий розмір більшості вірусів біомедичні інженери, як правило, просто не акцентують увагу на подібних завданнях як заздалегідь провальних або надто дорогих, але не факт, що працюючих пристроях (так, так званий «мікроскоп із надроздільною здатністю» Скринника, позиціонований у 2015 р. як засіб реалізації зазначених цілей візуалізації субдовгохвильових біооб'єктів без використання барвників [21], у теорії, що уможливорює реалізувати це, незважаючи на екстремальне за російськими мірками фінансування на рівні грантів РНФ і «Сколково» в обсязі близько 3 млн. руб. тільки на компоненти оптичної установки, на даний момент так і не видав надвисокої роздільної здатності ультраструктурного або цитометричного рівня). Однак із цього не випливає, що сама ідеологія міряння подібного роду не має права на існування. Ще в 1970-і рр. у СРСР були розроблені системи аерозольної спектрометрії для лазерно-резонаторних міряннь частинок [22], у тому числі з можливістю обчислення їхнього гідродинамічного радіуса [23] (радіуса Стокса–Айнштайна у сферичному наближенні, хоча такі ж обчислення можливо провести й для несферичних частинок за Кункелем [24]), мультиплексних і ймовірно-статистичних аналітичних досліджень [25, 26]. Лазерні аерозольні та гідрозольні лічильники були застосовані в аналізі формування конденсаційних ядер, сумірних за розмірами [27] з вищезгаданими агрегатами вірусів, і формування в природньому середовищі субмікронних аерозолів [28, 29], також сумірних за дисперсності з великими вірусами та вірусними агрегатами. Простота калібрування фотоелектричних, але по суті фотоелектронних лічильників (регульованих живленням фотоелектронних помножувачів) [30] і можливість дослідження типово гігієнічних завдань (наприклад міряння коефіцієнта проскакування фільтра — відношення контамінації повітря коло виходу фільтра до контамінованості на його вході або аналогічного коефіцієнта фільтра, що визначає відношення запиленості повітря на виході до запиленості на вході [31]) з фізичних і ергономічних причин роблять раціональним використання в ролі прототипів для деякого відмінного класу вірометрів.

Дифузійний аерозольний спектрометр моделю DAS Model 2702 може працювати в режимі моніторингу, охоплюючи діапазон розмірів від 3 до 200 нм, імплементуючи при цьому не тільки міряння повної концентрації та розподілу за розмірами наночастинок або «ультрамікрочастинок» у цьому діапазоні, але й параметрів середовища (температура повітря або газу-носія, його тиск і вологість). Отже, за розмірів більшості вірусів від 20 нм до 300 нм немає принципних обмежень для міряння в широкому діапазоні більшості поширених вірусів. Що ж стосується резидуалів за межею 200 нм, а також екстремальних випадків мікронних агрегатів (*Pandoravirus sp.*, *Pithovirus sp.*, *Filoviridae* тощо), то, наприклад, модель 2702-м уможливило оснащення модулем міряння субмікронних частинок у діапазоні від 0,2 до 10 мкм. Більше того, для будь-яких фізично припустимих частинок реалізовано укрупнення частинок (модулем-укрупнювачем до оптично активного розміру). Потенціал застосовності аерозольних і гідрозольних оптичних рахункових систем, що спричинює істотний резонанс з 1970-х рр. [32], може бути імплементований у вірометрії субмікронного діапазону в будь-яких за фізичними дескрипторами умовах середовища, що сприяють розмноженню вірусного матеріалу або перешкоджають такому: субмікронні частинки жаркої (аридної) зони та варіації аерозольних параметрів у високогірних умовах (з відповідною горам атмосферною обстановкою, включаючи відмінні тиск і інсоляцію, тобто енергетичне опромінення природнього джерела) вимірювалися на однотипному устаткованні в 1980-і рр. [33, 34].

Більш того, лазерна аерозольна спектрометрія може бути застосовною також і до проблеми виживаності генетичного вірусного матеріалу в космічних умовах, а також до суміжних проблем космічної біології/астробіології та так званого «космічного абіогенезу» на базі зольних частинок [35, 36] або вірусоопосередкованої панспермії (або астрозольного переносу [37, 38]) та інших проблем газозольної екзобіології [39, 40] (зазвичай на основі реакційних принципів газозольної й аерозольної органічної хемії [41, 42]). Так, у 1980-і рр. аерозольні лічильники Жуланова працювали на Венері на радянських космічних апаратах ВЕГА-1 і ВЕГА-2 [43]; за їхньою допомогою було вивчено структуру хмарних шарів і розмірний розподіл аерозолів венеріанської атмосфери в них [44, 45], вивчено механізм виникнення хмарних шарів [46]. З конструкторської точки зору, це завдання містило в собі створення спеціалізованого фотоелектричного перетворювача та передавача сигналу [47]. Тому аналіза дисперсності та спектрів розмірів органічних аерозолів, до яких за адитивним хемізмом (складаючись переважно з органігенів) належать і біоаерозолі [48, 49] (у тому числі ті, що містять нуклеїнові кислоти, як і віруси [50]), за допомогою лазерних аерозольних спектрометрів є, зрозуміло, як у нативних (земних), так і в ксенобіотичних/екзо-

біологічних умовах контролю. У наш час очевидно, що використання лазерного випромінення може бути корисним в даному методі не тільки як джерело метрологічної інформації про Стоксів радіус частинок/вірусів, але і як джерело десорбції-йонізації для лазерноопосередкованої (зокрема, LAMMA-подібної, MALDI/ELDI-подібної тощо) мас-спектрометрії таких частинок, що ефективно заміщає піролітичні методи міряння вірусної інфекції, які застосовувалися на більших масштабах семплірування культурального аналізу [51]. Отже, з позицій верифікації вірусних концепцій абіогенезу й еволюції (чл.-кор. РАН В. І. Агол [52] та ін.) лазерна аерозольна спектрометрія також є гарним інструментальним засобом.

2. МАТЕРІЯЛИ ТА МЕТОДИ

Використовували аерозольні спектрометричні установки (Жуланова та Макавеева) на основі оптико-електронного аерозольного лічильника ОЭАС-05 (з ПЗ ЛАС-0.15) і МАС-10.3. Підключення до ПК здійснювалося через COM-порт (RS-232) або з конвертором на універсальну серійну шину (USB). Оскільки потенційні об'єкти дослідження, як правило, різняться за розмірами (від 20 до 300 нм, хоча деякі представники сімейства *Filoviridae* досягають 1,4 мкм, а в *Pandoravirus sp.* і *Pithovirus sp.* мікронні межі 1,0–0,5 мкм і 1,5–0,5 мкм не є рідкістю), що є критерієм їхньої різниці, дискримінація та сепарація за розмірами здійснювалася в широкому діапазоні. Програмне забезпечення лічильника видавало в окремі стовпці результати мірянь за наступними розмірними класами (дисперсністю): > 0,15 мкм, 0,15–0,2 мкм, 0,2–0,25 мкм, 0,25–0,3 мкм, 0,3–0,4 мкм, 0,4–0,5 мкм, 0,5–0,7 мкм, 0,7–1,0 мкм, 1,0–1,5 мкм, > 1,5 мкм, як у режимі нагромадження статистики (рис. 1, рис. 2), так і в

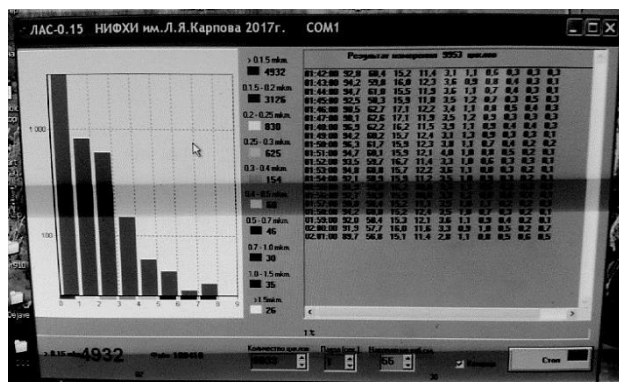


Рис. 1. Приклад видачі багатоциклічної гістограми та первинних експериментальних даних із сепарацією за розмірами частинок.¹

Время	>0.15	0.15-0.2	0.2-0.25	0.25-0.3	0.3-0.4	0.4-0.5	0.5-0.7	0.7-1.0
01:42:00	92,8	60,4	15,2	11,4	3,1	1,1	0,6	0,3
01:43:00	94,2	59,8	16,0	12,3	3,6	0,9	0,7	0,4
01:44:00	94,7	61,0	15,5	11,9	3,6	1,1	0,7	0,4
01:45:00	92,5	58,3	15,9	11,8	3,5	1,2	0,7	0,3
01:46:00	98,5	62,7	17,1	12,2	3,4	1,1	0,8	0,5
01:47:00	98,1	62,6	17,1	11,9	3,5	1,2	0,9	0,3
01:48:00	96,9	62,2	16,2	11,5	3,9	1,1	0,9	0,4
01:49:00	94,2	60,2	15,7	12,4	3,1	1,3	0,9	0,3
01:50:00	96,3	61,7	15,9	12,3	3,8	1,1	0,7	0,4
01:51:00	94,7	60,1	15,9	12,1	4,0	1,0	0,8	0,5
01:52:00	93,5	59,7	16,7	11,4	3,3	1,0	0,6	0,3
01:53:00	94,8	60,8	15,7	12,2	3,6	1,1	0,8	0,3
01:54:00	92,1	58,9	15,9	11,2	3,5	1,0	0,9	0,3
01:55:00	91,9	59,0	16,2	10,8	3,3	1,1	0,6	0,3
01:56:00	92,7	59,9	15,9	10,8	3,3	1,2	0,8	0,4
01:57:00	90,8	58,4	15,2	11,1	3,5	1,0	1,1	0,2
01:58:00	94,2	60,8	15,2	12,4	3,5	1,0	0,7	0,3
01:59:00	92,0	58,4	15,3	12,1	3,6	1,1	0,9	0,4
02:00:00	91,9	57,7	16,0	11,6	3,3	0,9	1,0	0,5
02:01:00	89,7	56,8	15,1	11,4	2,8	1,1	0,8	0,5
02:02:00	3101	3259	839	616	176	53	24	36
02:03:00	5097	3261	845	626	184	66	31	27
02:04:00	5288	3315	893	668	196	47	61	37
02:05:00	5411	3428	899	679	192	63	62	21
02:06:00	5462	3453	901	716	182	67	56	30
02:07:00	5689	3615	980	703	219	62	33	20

Рис. 2. Таблиця з видачею експериментального розрахунку: індекси більш дрібних частинок ($> 0,15$ мкм) майже стабільно перевищують 90 (в першій модальності мірянъ) і 5000 (у другій модальності мірянъ), тоді як розподіл більших частинок (наприклад, 0,25–0,3 мкм) не перевищує 12,5 (в першій модальності) і 720 (у другій), а адитивна частка всіх частинок від 0,3 мкм до 1,5 мкм і вище, концентрації яких коливаються від 0,1 до 2–3 (в першій модальності) та стабільно < 200 (у другій модальності), не перевищує 10 (в першій модальності) або $n \cdot 100$ (у другій модальності).²

динамічному режимі (рис. 3). Для аналізу використовувалося програмне забезпечення версій 2016 і 2017 років (що відображено, як правило, на рисунках, яких наведено в цій статті).

Каліброваними джерелами виступали латекси відомого розміру, а в експерименті на MAC-10.3 — селективні цитометричні гранули для мультиплексного детектування декількох імунохемічних аналітів в об'ємах зразків, надмірно малих для стандартних методів імунохемічної аналізи (cytometric beads), люб'язно надані нам колегами з Центральної науково-дослідної лабораторії (РНДМУ ім. М. І. Пирогова) і з кафедри імунології МБФ РНДМУ ім. М. І. Пирогова. У першому випадку для перевірки можливості детектування частинок «вірусних розмірів» з атмосфери застосовували безпосереднє непримусове введення з атмосфери, а під час використання MAC-10.3 застосовували також ультразвукове розпорошення з використанням небулайзера фірми AND, що забезпечує широкий розподіл краплинних розмірів, дисперсності аерозолів, що давало змогу згодом витягати сигнал на тлі шумів, які на порядок перевищували його за адитивною потужністю розподілів, використовуючи цей «тест грубої надійності» (робастности) для виявлення тонких розподілів окремих типів частинок у крайніх зонах. За необхідності на деяких типах лічильників і геометрій тракту могло бути реалізованим багатоканальне детектування, також реалізоване як у режимі накопичення, так і в динамічному режимі (приклад графі-

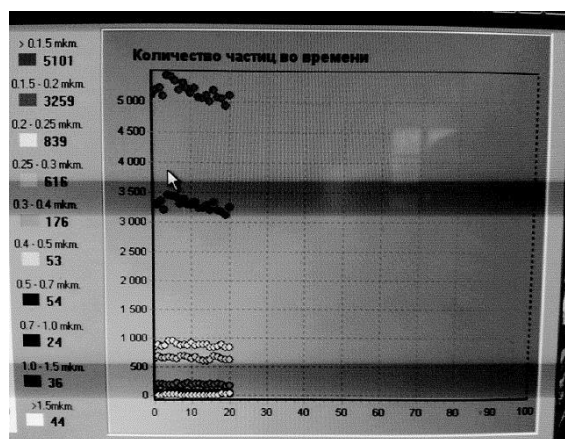


Рис. 3. Динамічний режим розрахунку, що уможливило також корелювати тренди для частинок різних розмірів.³



Рис. 4. Приклад вікна графічного інтерфейсу користувача багатоканального розрахунку (для 4 каналів і 2 компаративних вікон).⁴

чного інтерфейсу для цих цілей надано на рис. 4).

Нами було проведено калібровані експерименти кілька років тому, однак через економність російського замовника було заблоковано інші роботи в цьому напрямі. Спроби знайти можливість продовження робіт у цій області регулярно відкидалися через необхідність вкладання більш істотних коштів у проведення біомедичної частини досліджень і розробок, аніж можна було б знайти на повному самозабезпечуванні, на якому доти перебували всі розробки. Ми, у принципі, не планували публікації незавершених робіт, однак розвиток пандемії в поточних умовах змусив нас відмовитися від цього вимушеного обмеження.

На жаль, обставини, пов'язані з фізичним розгромом московської частини НДФХІ в 2019 р., обтяжені режимом допуску на територію в період пандемії, не дають змогу нам навести свіжі дані й зняти оцифровані спектри. Тому в даній статті наведено калібровані результати, одержані в минулі роки, з візуалізацією не у формі табличних даних, а у формі світлин екрана з відеопротоколів експериментів. У випадку продовження робіт, у наступних статтях за цією тематикою буде наведено більш репрезентативні вибірки даних і зображення.

У дослідженні використовуються також дані електронної мікроскопії, одержані в ЦНДІПМШШ (Центральний науково-дослідний інститут плівкових матеріалів і штучної шкіри), ймовірно, на електронному мікроскопі фірми TESLA; однак через тогочасне припинення існування цього Інституту та його інфраструктури, а також у зв'язку з відходом кадрів, які могли б дати більш точні дані, ми не конкретизуємо цю частину робіт і свідомо просимо вибачення в того, хто впізнає, якщо залишився в живих, ці кадри (але невідомий нам як оператор даної апаратури на момент одержання цих зображень).

3. РЕЗУЛЬТАТИ

3.1. Міряння з ЛАС-0.15

Міряння з ЛАС-0.15 показують істотне превалювання дрібнодисперсних частинок, як це показано на гістограмі мультициклічного розрахунку на рис. 1 і в таблиці із двома градаціями розрахунку на рис. 2. Разом з тим, рівень розкиду статистики розрахунку частинок $> 0,15$ мкм у кінетичному режимі (рис. 3) істотно перевищує флюктуації для більших частинок, особливо у діяпазоні від 0,2 мкм до 1,5 мкм і більше. Більш того, не є складним виявлення зменшення рівня кореляцій між динамікою розрахунку порівняно зі збільшенням розмірів частинок: якщо між групами $> 0,15$ мкм і $0,15-0,2$ мкм можна, за відомих математичних обробок, знайти високий рівень трендів збігу (в умовах солідного відставання останніх від перших за статистиками розрахунку — 5000 проти 3500 для груп $> 0,15$ мкм і $0,15-0,2$ мкм відповідно), то для кожної з цих груп і кожної з більших («грубодисперсних», особливо $> 0,5$ мкм), трендово скорельованих вибірок для заданих часових вікон знайдено бути не може. Інакше кажучи, можна досягти високого рівня статистичної дискримінації та кластеризації, достатньої для розрізнення розмірно неідентичних груп вірусів і інших біочастинок.

3.2. Міряння з ОЭАС-05

Міряння з ОЭАС-05, зроблені з використанням ультразвукового ін-

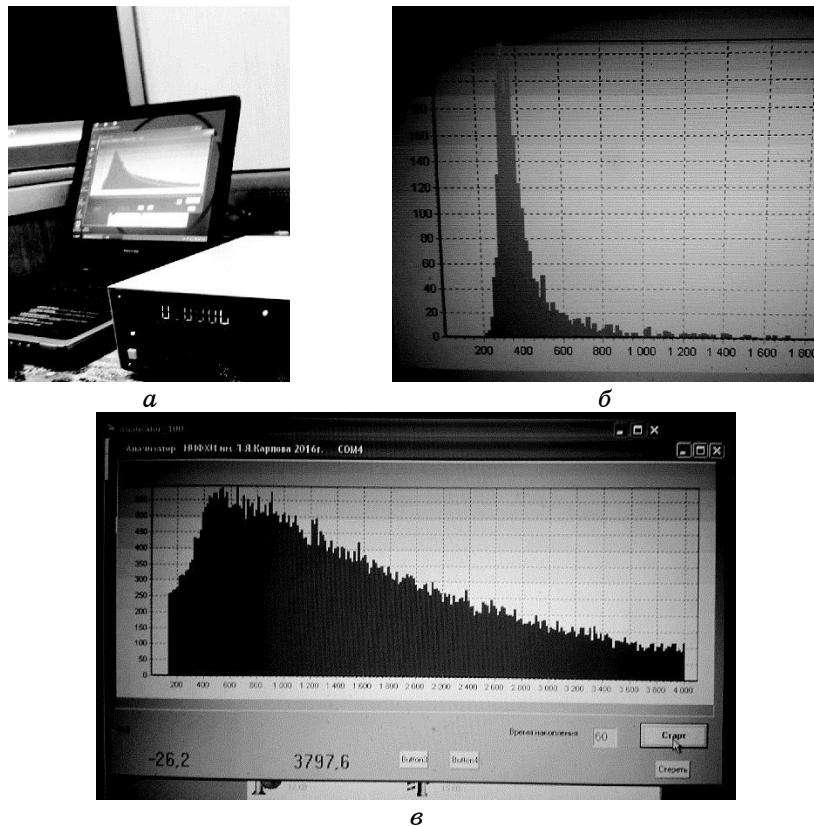


Рис. 5. Процес накопичення сигналу (а), вузький калібрований розподіл (атмосферні умови) (б), широкий і високошумовий розподіл (в) для аерозольних частинок з атмосфери в умовах ультразвукового диспергування.⁵

ґалятора/небулайзера як системи розпорощення (рис. 5, а), показують, по-перше, наявність чітких каліброваних розподілів, одержуваних в атмосферних умовах (рис. 5, б), та, по-друге, широкий високошумовий розподіл для аерозольних частинок з атмосфери в присутності ультразвукового аерозольного диспергування в атмосферу небулайзером.

Послідовними циклами накопичення (позначеними різними кольорами діаграми на рис. 6) можуть бути візуалізовані відмінності, що зумовлені різними режимами подачі аерозолю, або у природних умовах — окремими подіями поширення інфекційного агента (events), зокрема за передачі повітряно-крапельним шляхом. У такому випадку поширення окремих за розмірами частинок може бути пов'язане з такими подіями, відтворювано виділяючись над тлом або стандартно апроксимуючись (у загальній вибірці, що віднімається)

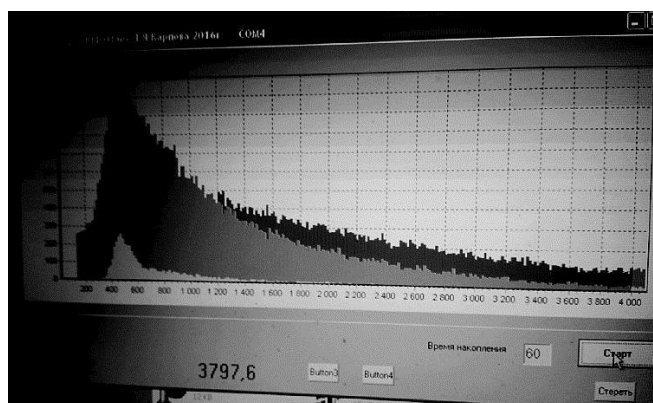


Рис. 6. Послідовні цикли накопичення зазначаються різними кольорами.⁶

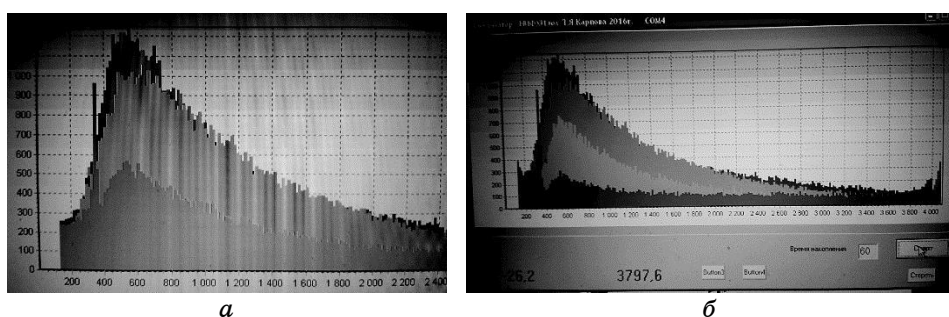


Рис. 7. Відтворення прикладів визначення подій на тлі приблизно ідентично апроксимованих вибірок стандартного нормального стану в даних атмосферно-аерозольних умовах.⁷

компонентами аерозольно-спектроскопічного сигналу.

На рисунку 7 наведено два приклади такого підняття над тлом. У деяких моделях збору подій, які відрізняються типами (events), що відбиваються на грубодисперсній компоненті/великих розмірах частинок або мікрокрапель (що характерно для модельованого стану інфікування гострими респіраторними захворюваннями), можна спостерігати виражене підняття в одній або двох групах (піддіапазонах) частинок у правій області графіка з 2–3-кратним перевищенням над тлом (рис. 8).

Між тим, істотні розкиди (як у випадку латексного калібрування, так і у випадках використання цитометричних гранул під час міряння) говорять про те, що критерієм специфічного за розмірами біологічного, зокрема, вірусного, матеріалу може бути «гомодисперсність» (з позицій лічильника аерозолів) розмірних діпазонів для окремого класу частинок, яких детектують, або видів систематично

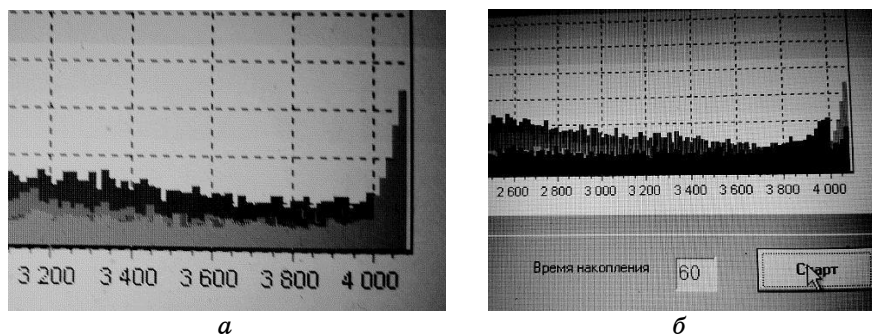


Рис. 8. Аномальні піки у вкрай правій частині «спектру».⁸

різних інфекційних агентів; у той час як для небіологічного матеріалу (у якого, на відміну від вірусів, розміри частинок не відтворюються та не успадковуються генетично), включаючи калібровані латекси, можуть бути показані відмінності в розмірах і морфометричних коефіцієнтах, що перевищують статистично коректно відпрацьовану дев'яцять детектування. Для контролю цього були наведені дані з використанням електронно-мікроскопічного контролю морфології та розміру латексів як потенційно застосовних каліброваних і тестових за розміром матеріалів.

3.3. Електронно-мікроскопічні мірвання

Як показує електронна мікроскопія, можливим джерелом артефактів, як у процесі подачі каліброваних латексів, так і в процесі приготування їх, можуть бути: їхні відмінності за розмірами (гетеродисперсність) і відхилення від сферичної форми (як то показано на рис. 9, а); злипання частинок між собою й адгезія до субстрату, у тому числі з формуванням «шлейфів» адгезованого матеріалу (подібних філоподіям клітин), як це показано на рис. 9, б (вочевидь, що агрегати двох частинок система інтерпретує як одну подовжену частинку вдвічі більшого розміру); наявність частинок, що лопаються, не включаючи тих, що вже лопнули, здвоєних (рис. 9, в) і деформованих в процесі експлозії або імплузії частинок (рис. 9, г); наявність аномальних ланцюгових агрегатів, що містять від трьох і більше частинок різного розміру та різного ступеня еліптичності (рис. 9, д), а також частинок із зовнішніми (часто постімплузійними або постексплозійними) оболонками (рис. 9, б-д); наявність початково анізотропних або приховано анізотропних частинок за статистично виконаного контролю серії/партії, що видають близькі до норми показники розмірів і форми, але насправді, як це показується при напорошенні, вони дають відмінні від сфер тіні, що й виявляють істотні, достатньо

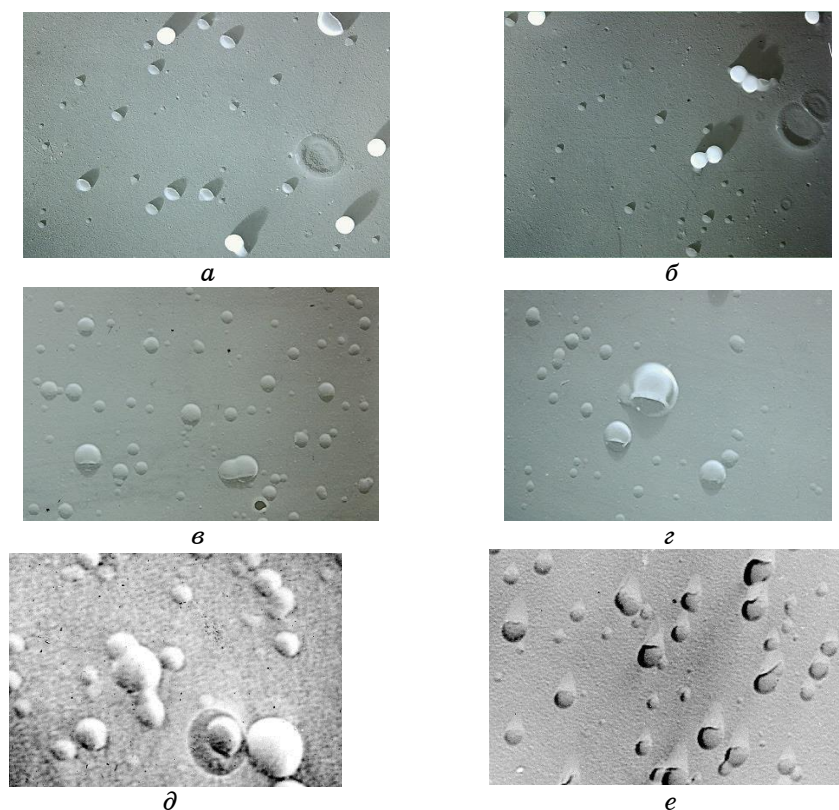


Рис. 9. Причини артефактів розрахунку при використанні калібрувальних латексів: *a* — відмінності за розмірами (гетеродисперсність) і відхилення від сферичної форми; *б* — злипання частинок між собою і адгезія до субстрату, в тому числі з формуванням «шлейфів» адгезивного матеріалу (очевидно, що агрегати двох частинок система інтерпретує як одну подовжену частинку вдвічі більшого розміру); *в* — наявність здвоєних частинок, що лопаються; *г* — наявність тих, що лопнули та деформованих в процесі експлозії або імпульзії частинок; *д* — наявність аномальних ланцюгових агрегатів, що містять від трьох і більше частинок різного розміру та різного ступеня еліптичності, а також частинок із зовнішніми оболонками; *е* — наявність спочатку анізотропних або приховано анізотропних частинок за статистично виконаного контролю серії/партії, що демонструють близькі до норми показники розмірів і форми, але, насправді, як це показується при напорошенні, дають тіні, що відрізняються від сфер, і виявляють істотні, достатньо ефектно контрастивні спотворення поверхні.⁹

ефектно контрастивні викривлення поверхні (рис. 9, *е*).

Цілком очевидно, що ці структури можуть бути джерелами артефактів під час калібрування й у модельних експериментах. Звідси впливає раціональне рішення у вигляді кореляційного багатокана-

льного розрахунку, розглянуте вище.

На жаль, більш конкретні методи аналізування виявилися непридатними через організаційні умови; тому в обговоренні ми даємо лише теоретичний підхід до деяких фундаментальних проблем розрізнення небіологічних і біологічних, а також негенетичних і генетичних ультраструктур/наноструктур на оптимальному для детектування вірусів рівні, наближеному до молекулярного.

4. ОБГОВОРЕННЯ: ЯК ПЕРЕВЕСТИ МЕТОД НА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНИЙ РІВЕНЬ АНАЛІЗУВАННЯ?

Розширені можливості оптичної вірометрії, що ґрунтуються на еволюційно-дивергентній аналізі семантид і епісемантид

Ґрунтуючись на концепціях сучасної молекулярної генетики, що позиціонує у границі дивергентний старт еволюції ензиматичних функцій [53, 54], сполучених, як правило, з експресією генома (починаючи із проторибозимів, що об'єднували в собі функції РНК і ферментів), доцільно порушити питання про можливість розподілу функцій і відповідних їм форм біохемічних агентів з використанням аналізу розмірних/дисперсних параметрів частинок, що забезпечували процеси транскрипції та трансляції. У цьому сенсі фундаментальне значення має поділ вірусних (які нездатні до автономної реплікації, але й не є «клітинною машинерією»/епісемантидами для обслуговування реплікації інших елементів — так званих первинних і вторинних «семантид» [55] (за визначенням авторів терміна, «Episemantides are molecules, precursors of which often are taken up from the environment and modified, built up, or combined, through enzymatic action, into other molecular units. Semantides are informational macromolecules» [56])) і нативних носіїв коду — «семантид», з одного боку, і семантид і епісемантид як малих молекул і окремих ензимів і алостеричних регуляторів, з іншого боку, відповідно до їхніх розмірів. Існує гранична ефективна величина мінімально можливої клітини, що лежить у субмікронному діапазоні [57, 58], заснована на компактній локалізації мінімуму компонент, що забезпечують ще функції експресії генома. Неможливо зменшити її, виключаючи можливості сполучення функцій у єдиній структурі (такій як пептидна нуклеїнова кислота, що сполучає «семантичні»/нуклеїново-кислотні й «епісемантичні»/пептидні елементи будови [59]).

Факти мінімуму розмірів функціональної структури, постаченої зчитуваним генетичним матеріалом, можуть бути витлумачені тільки з погляду еволюційної цитометрії, у межах забезпечення розподілу певних семантид і епісемантид (за Стоксовим радіусом й дескрипторами еліптичності).

Враховуючи дебати, що точаться близько п'ятдесятьох років [60,

61], про походження й еволюцію генетичного коду з негенетичних прекурсорів, а також інтенсивний розвиток концепції «вірусного світу», що став важливим кроком у цій еволюції [62, 63], яка відбувалася не як «автономна еволюція вірусного генома», а як коеволюція капсид, що самостійно збираються, власне вірусів або безкапсидних елементів [64], логічно аналізувати методами оптичної вірометрії (враховуючи не тільки ДНК- та РНК-віруси, а й можливі їхні аналоги/попередники з ксенонуклеїнових кислот [65], які існували в періоді «XNA world» [66], що передував «світу РНК» {«RNA world»}) ті структури, які брали участь у дивергентній еволюції організованих елементів з різними розмірами та природою семантид і стерично пов'язаних з ними епісемантид (на зразок РНК-подібних аналогів вірусних частинок, здатних до кооперативного самоскладання [67]).

Доцільність використання дескриптора Стоксового радіуса для характеристики епісемантид і третинних семантид (білків) прямо впливає з принципів динамічного світлорозсіювання та перерахування низки класів епісемантид і третинних семантид, Стоксів радіус яких був вимірний і обчислений, починаючи з 1960-х рр.:

- ферменти: глутаматдегідрогенази (*L*-глутамат: NAD-оксидоредуктаза 1.4.1.2) [68], катехолоксидази винограду [69];
- гормони: гіпофізарні гормони [70], мічені йодтироніни [71];
- вітаміни: наприклад, вітамін В12 *vs.* транскобаламін [72], у тому числі мічений радіокобальтом [73, 74] для паралельної гель-фільтрації на сефадексах;
- глобулярні білки — сферопротейни (наприклад, білки молока [75, 76]);
- антитіла/імуноглобуліни [77];
- секретовані білки, трансмембранні білки плазматичної мембрани та білки лізосом, що дозрівають в апараті Гольджі [78];
- йонні канали: наприклад, ГАМК_A-рецептор — ліганд-залежний канал, відомий також як бензодіазепінові рецептори [79];
- нейроферменти (наприклад, ацетилхолінестераза [80]) і рецептори нейромедіаторів (наприклад, мускаринів рецептор — серпентинів рецептор, що здійснює передачу сигналу через гетеротримерні *G*-білки [81]);
- агенти супрамолекулярної біокоординаційної металоорганічної хемії або біонеорганічної хемії та металоміки: наприклад, хелатори — металотіонеїни [82], висококонсервативний кальційзв'язувальний білок кальмодулін [83].

Розміри вірусів, вочевидь, також мірялися. При цьому спостерігалася якісна відповідність між даними, одержаними методами динамічного світлорозсіювання як такого [84] і даними, одержаними з

використанням хроматографії (із застосуванням агарозного гелю) [85]. Строго кажучи, з позицій крос-валідації для більшості випадків одержання неоднозначних даних такого типу необхідне використання незалежних, тобто працюючих на інших фізичних принципах, методів мірювання гідродинамічного радіуса. У зв'язку із цим доцільно вказати на наявність таких методів мірювання цього дескриптора, як капілярний електрофорез, часозалежний градієнтний електрофорез [86, 87], близькі до них методи, що базуються на ізоелектричній точці (ізофокусування й аналогічні) [88]; гель-фільтрація [89] на неорганічних і органічних носіях (від звичайних сефадексів [90] до кремнійвмісних пористих гелів [91]) або хроматографія виключеного об'єму [92]; часопротітні методи (переважно для наноструктур на зразок фуллеренів [93, 94]; різноманітні варіанти діялізу [95], у тому числі під дією зовнішніх полів. Єдина проблема — більшість методів не дає змогу оцінювати на стадії мірювання асиметрію молекул [96]. А це може бути критичним; довгаста молекула, з погляду гідродинаміки, буде поводитися як сферична молекула, але більшого радіуса й, відповідно, більшої маси. Сила тертя залежить від площі поверхні частинки, що рухається; тому у разі збільшення поверхні сила тертя, як фізичний критерій зазначених методів, не буде залишатися постійною у разі стискання тієї або іншої молекули (наприклад, у низці методів з використанням пористих носіїв). Але без виконання умови еквівалентності форми молекул і їхньої щільності інтерполяцією за масами молекул неможливо замінити метрику за радіусами, що фіксується за допомогою гель-фільтрації. Додатково, тому що внесок у конформацію фіксується й від оточення — розчинника (наприклад, може відбуватися гідратація молекул, що вірогідна майже для всіх біорелевантних йонів епісемантид, не менших за 5–6 ангстремів), зіставляти дані оптико-електронних мірювань гідродинамічного радіуса з даними хроматографії й електрохімічних методів, у принципі, неможливо без дотримання еквівалентностей в аспекті властивостей середовища (а у випадку тонкошарових методів — і підкладки). Поляризація сама по собі також може впливати на симетрію/асиметрію.

Через реактивність параметрів біомакромолекул (як первинних або вторинних, так і третинних семантид, а також епісемантид) стосовно чинників середовища, методу експерименту із програмувальними умовами середовища можливо надавати також характер експерименту, що моделює аналогічні зміни середовища в протобіологічних або ранніх хеміко-еволюційних умовах. Тому доцільно у зв'язку із цим зазначити, що для варійованих умов середовища більш важливе використання методів моніторингу (не статичного мірювання в точці) гідродинамічного радіуса ряду біорелевантних або модельних/біоміметичних молекул не для *структур*, а для *процесів* (курсив наш). Наприклад, з погляду аналізування причин само-

організації передбіологічних частинок (зокрема, що лежить в основі формування вірусних структур або частинок, що самоорганізуються [97, 98], а також магнетних гібридних «металоорганічних» вірусних частинок [99]), доцільне дослідження агрегації та дисоціації частинок, що характеризуються методами мірювання гідродинамічного радіуса [100, 101]. З погляду мембраноміметики, особливо еволюційної мембраноміметики й еволюційної мембранної біоміметики, можна розглядати дані про процеси транспортування «біозасвоєваних» частинок через мембрани та мембранні моделі. Поки роботи в цьому плані просувалися винятково в аспектах біомедичного, ветеринарного застосування, що використовують діалізовані еритроцити овець [102, 103] і мембрани Бруха (склоподібні пластинки очей) [104], хоча біохемічні та цитологічні причини для дослідження довільних мембран з використанням тих або інших міток, що дають невеликий внесок у результат мірювань [105], є очевидними, принаймні, з початку 1980-х рр.

5. ВИСНОВКИ

Можливо, доцільно залучити принципи дослідження молекулярного, а точніше супрамолекулярного, самоскладання як способи демаркації цільових агентів і тієї частини сигналу, яка, не виступаючи, в точному значенні слова, шумом, превалює над тими цільовими сигналами, які можуть бути ототожнені з вірусами. Наприклад, у випадку нанотехнологічної синтези штучних вірусів [106, 107] часто використовують принципи самоскладання [108]. «Самозбираються» супрамолекулярні полімерні міметики вірусів, таких, наприклад, як вірус тютюнової мозаїки [109]; можливе самоскладання синтетичних вірусних капсидних структур на 24-вимірній пептидній основі [110]. Засновником даних робіт вважається чл.кор. АН СРСР Б. Ф. Поглазов, який виконував відповідні роботи зі штучної реконструкції вірусних частинок в Інституті молекулярної біології Академії наук СРСР, на кафедрі біохемії біолого-ґрунтового факультету МДУ, і в Міжфакультетській проблемній науково-дослідній лабораторії молекулярної біології та біоорганічної хемії МДУ (відомій нині як НДІ фізико-хемічної біології імені А. М. Белозерського МДУ). Однак, як наслідок самоорганізації, для самоскладальних вірусних частинок, починаючи з нанорозмірного рівня, часто характерний структурний поліморфізм [111], подібний спостережуваному для каліброваних частинок при лазерно-аерозольно-спектрометричних розвідках (як то було показано й у цій роботі). Однак, через ідентичність механізмів самоорганізації, він набагато менший, аніж розкид механічно одержуваних латексних або інших каліброваних частинок. Інакше кажучи, сама статистична близькість розмірів самоскладальних структур може бути у

низці випадків дескриптором їхньої приналежності до біологічного або біоміметичного вірусного матеріалу. Показники нев'язки або гетероскедастичності вибірки, за даними реєстрації оптичного сигналу, можуть бути критеріями відмінності від референсного еталонного біоматеріалу.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. V. P. Maltsev, A. V. Chernyshev, K. A. Sem'yanov, and E. Soini, *Applied Optics*, **35**, No. 18: 3275 (1996); <https://doi.org/10.1364/AO.35.003275>
2. A. N. Shvalov, I. V. Surovtsev, A. V. Chernyshev, J. T. Soini, and V. P. Maltsev, *Cytometry: Journal of the International Society for Analytical Cytology*, **37**, No. 3: 215 (1999); [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19991101\)37:3%3C215::AID-CYTO8%3E3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19991101)37:3%3C215::AID-CYTO8%3E3.0.CO;2-3)
3. J. L. R. Zamora and H. C. Aguilar, *Methods*, **134**: 87 (2018); <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2017.12.011>
4. S. Zicari, A. Arakelyan, W. Fitzgerald, E. Zaitseva, L. V. Chernomordik, L. Margolis, and J. C. Grivel, *Virology*, **488**: 20 (2016); <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.10.021>
5. R. Gaudin and N. S. Barteneva, *Nature Communications*, **6**: 6022 (2015); <https://doi.org/10.1038/ncomms7022>
6. A. Arakelyan, W. Fitzgerald, S. Zicari, M. Vagida, J. C. Grivel, and L. Margolis, *Journal of Visualized Experiments*, **119**: 55020 (2017); <https://doi.org/10.3791/55020>
7. M. Landowski, J. Dabundo, Q. Liu, A. V. Nicola, and H. C. Aguilar, *Journal of Virology*, **88**, No. 24: 14197 (2014); <https://doi.org/10.1128/JVI.01632-14>
8. M. M. Bonar and J. C. Tilton, *Virology*, **505**: 80 (2017); <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.02.016>
9. M. C. DeSantis, J. H. Kim, H. Song, P. J. Klasse, and W. Cheng, *Journal of Biological Chemistry*, **291**, No. 25: 13088 (2016); <https://doi.org/10.1074/jbc.m116.729210>
10. A. Arakelyan, W. Fitzgerald, D. King, V. Barreto-de-Souza, S. Zicari, J. C. Grivel, R. Shattock, and L. Margolis, *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, **71**: 68 (2016); <https://doi.org/10.1097/01.qai.0000479702.25456.61>
11. A. Arakelyan, W. Fitzgerald, D. F. King, P. Rogers, H. M. Cheeseman, J. Grivel, R. J. Shattock, and L. Margolis, *Scientific Reports*, **7**, No. 1: 948 (2017); <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00935-w>
12. M. Schroeder, *Fractals, Chaos, Power Laws* (Mineola, New York: Dover: 2009), p. 430.
13. D. N. Nasonov, *Mestnaya Reaktsiya Protoplazmy i Rasprostranyayushcheyesya Vozbuzhdenie* [Local Reaction of Protoplasm and Gradual Excitation] (Moscow–Leningrad: Izdatel'stvo AN SSSR: 1962) (in Russian).
14. D. N. Nasonov, *Local Reaction of Protoplasm and Gradual Excitation* (Washington, D.C., USA: National Science Foundation: 1962), p. 425.
15. R. Lippé, *Journal of Virology*, **92**, No. 3: e01765-17 (2018); <https://doi.org/10.1128/JVI.01765-17>
16. D. Marie, C. P. D. Brussaard, R. Thyraug, G. Bratbak, and D. Vaultot, *Applied Environmental Microbiology*, **65**: 45 (1999);

- <https://doi.org/10.1128/AEM.65.1.45-52.1999>
17. C. P. Brussaard, *Applied Environmental Microbiology*, **70**: 1506 (2004); <https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1506-1513.2004>
 18. M. S. Rappé and S. J. Giovannoni, *Annual Reviews in Microbiology*, **57**: 369 (2003); <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090759>
 19. S. Loret, N. El Bilali, and R. Lippé, *Cytometry A*, **81**: 950 (2012); <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22107>
 20. N. El Bilali, J. Duron, D. Gingras, and R. Lippé, *Journal of Virology*, **91**: E00320 (2017); <https://doi.org/10.1128/JVI.00320-17>
 21. A. Skrynnik, *Proc. of Symp. 'Super-Resolution in Different Dimensions' (June 2–3, 2015)* (Moscow: OJSC Human Stem Cell Institute: 2015), p. 87.
 22. Yu. V. Zhulanov, B. F. Sadovskii, and I. V. Petryanov, *Soviet Physics Doklady*, **20**, No. 6: 437 (1975).
 23. Yu. V. Zhulanov, B. F. Sadovskii, and I. V. Petryanov, *Colloid Journal of the USSR*, **40**, No. 4: 637 (1978).
 24. W. B. Kunkel, *Journal of Applied Physics*, **19**, No. 11: 1056 (1948); <https://doi.org/10.1063/1.1698010>
 25. Yu. V. Zhulanov, A. A. Lushnikov, and I. A. Nevskiy, *Izvestiya, Atmospheric and Oceanic Physics*, **21**, No. 11: 885 (1985).
 26. Yu. V. Zhulanov, A. A. Lushnikov, and I. A. Nevskiy, *Izvestiya: Atmospheric and Oceanic Physics*, **22**: 39 (1986).
 27. Yu. V. Zhulanov, I. V. Petryanov, and B. F. Sadovskii, *Fizika Atmosfery i Okeana (Akademii Nauk SSSR)*, **14**, No. 6: 520 (1978) (in Russian).
 28. Yu. V. Zhulanov, B. F. Sadovskii, O. N. Nikitin, and I. V. Petryanov, *Doklady Akademii Nauk SSSR*, **242**, No. 4: 800 (1978) (in Russian).
 29. Yu. V. Zhulanov and I. V. Petryanov, *Doklady Earth Sciences*, **253**, No. 4: 845 (1980) (in Russian).
 30. Yu. V. Zhulanov, *Measurement Techniques*, **22**, No. 9: 1138 (1979).
 31. N. Yu. Karneeva, Yu. V. Zhulanov, S. V. Belov, G. P. Pavlikhin, and K. A. Krasovitskaya, *Journal of Engineering Physics (Inzh.-Fiz. Zhurn.)*, **41**, No. 3: 548 (1981) (in Russian).
 32. Yu. V. Zhulanov, B. F. Sadovskii, and I. V. Petryanov, *Doklady Earth Sciences*, **240**, No. 1: 1329 (1978) (in Russian).
 33. Yu. V. Zhulanov, V. Zagaynov, S. Yu, I. A. Nevskiy, and L. D. Stulov, *Izvestiya Akademii Nauk SSSR. Fizika Atmosfery i Okeana*, **22**: 29 (1986) (in Russian).
 34. V. Zagajnov, Yu. V. Zhulanov, A. A. Lushnikov, L. D. Stulov, I. Osidze, and M. Tsitskishvili, *Izvestiya Akademii Nauk SSSR. Fizika Atmosfery i Okeana*, **23**, No. 12: 1323 (1987) (in Russian).
 35. D. J. Donaldson, H. Tervahattu, A. F. Tuck, and V. Vaida, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, **34**, Nos. 1–2: 57 (2004); <https://doi.org/10.1023/B:ORIG.0000009828.40846.b3>
 36. H. Tervahattu, A. Tuck, and V. Vaida, *Cellular Origin and Life in Extreme Habitats and Astrobiology*, **6**: 153 (2004); https://doi.org/10.1007/1-4020-2522-X_10
 37. V. O. Targulian, N. S. Mergelov, and S. V. Goryachkin, *Eurasian Soil Science*, **50**, No. 2: 185 (2017); <https://doi.org/10.1134/S1064229317020120>
 38. G. Certini, R. Scalenghe, and R. A. Amundson, *European Journal of Soil Science*, **60**, No. 6: 1078 (2009); <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2009.01173.x>
 39. C. P. McKay, C. R. Stoker, J. Morris, G. Conley, and D. Schwartz, *Advances in Space Research*, **6**, No. 12: 195 (1986); <https://doi.org/10.1016/0273->

- 1177(86)90086-4
40. P. Coll, D. Coscia, N. Smith, M. C. Gazeau, S. I. Ramirez, G. Cernogora, G. Israel, and F. Raulin, *Planetary and Space Science*, **47**, Nos. 10–11: 1331 (1999); [https://doi.org/10.1016/S0032-0633\(99\)00054-9](https://doi.org/10.1016/S0032-0633(99)00054-9)
 41. F. Raulin, *Huygens: Science, Payload and Mission*, **1177**: 219 (1997).
 42. F. Raulin, P. Coll, N. Smith, Y. Benilan, P. Bruston, and M. C. Gazeau, *Advances in Space Research*, **24**, No. 4: 453 (1999); [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(99\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(99)00087-3)
 43. Yu. V. Zhulanov, L. M. Mukhin, and D. F. Nenarokov, *Pisma v Astronomicheskii Zhurnal*, **12**, No. 2: 123 (1986) (in Russian).
 44. Yu. V. Zhulanov, L. M. Mukhin, D. F. Nenarokov, A. A. Lushnikov, and I. V. Petryanov, *Doklady Earth Sciences (Doklady of the USSR Academy of Sciences: Earth Science Sections)*, **292**, No. 6: 1329 (1987) (in Russian).
 45. Yu. V. Zhulanov, L. M. Mukhin, D. F. Nenarokov, A. A. Lushnikov, and I. V. Petryanov, *Doklady Earth Sciences (Doklady of the USSR Academy of Sciences: Earth Science Sections)*, **295**, No. 1: 67 (1987) (in Russian).
 46. Yu. V. Zhulanov, L. M. Mukhin, and D. F. Nenarokov, *Doklady Earth Sciences (Doklady of the USSR Academy of Sciences: Earth Science Sections)*, **295**, No. 2: 330 (1987) (in Russian).
 47. Yu. V. Zhulanov, *Colloid Journal of the USSR*, **50**, No. 2: 228 (1988).
 48. B. U. Lee, *Aerosol and Air Quality Research*, **11**, No. 7: 921 (2011); <https://doi.org/10.4209/aaqr.2011.06.0081>
 49. H. Zhen, T. Han, D. E. Fennell, and G. A. Mainelis, *Journal of Aerosol Science*, **70**: 67 (2014); <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2014.01.002>
 50. M. D. King and A. R. McFarland, *Aerosol Science and Technology*, **46**, No. 1: 82 (2012); <https://doi.org/10.1080/02786826.2011.605400>
 51. A. J. Madonna, K. J. Voorhees, T. L. Hadfield, and E. J. Hilyard, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **10**, No. 6: 502 (1999); [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(99\)00023-9](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(99)00023-9)
 52. V. I. Agol, *Origins of Life*, **7**, No 2: 119 (1976); <https://doi.org/10.1007/BF00935656>
 53. Y. Yoshikuni, T. E. Ferrin, and J. D. Keasling, *Nature*, **440**, No. 7087: 1078 (2006); <https://doi.org/10.1038/nature04607>
 54. J. A. Gerlt and P. C. Babbitt, *Annual Review of Biochemistry*, **70**, No. 1: 209 (2001); <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.209>
 55. E. Zuckerkandl and L. Pauling, *Journal of Theoretical Biology*, **8**, No. 2: 357 (1965); [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(65\)90083-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(65)90083-4)
 56. E. Zuckerkandl, *Journal of Molecular Evolution*, **14**, No. 4: 311 (1979); <https://doi.org/10.1007/BF01732498>
 57. A. C. Forster and G. M. Church, *Molecular Systems Biology*, **2**: 45 (2006); <https://doi.org/10.1038/msb4100090>
 58. M. Porcar, A. Danchin, V. de Lorenzo, V. A. Dos Santos, N. Krasnogor, S. Rasmussen, and A. Moya, *Systems and Synthetic Biology*, **5**, Nos. 1–2: 1 (2011); <https://doi.org/10.1007/s11693-011-9084-5>
 59. E. Uhlmann, A. Peyman, G. Breipohl, and D. W. Will, *Angewandte Chemie International Edition*, **37**, No. 20: 2796 (1998); [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19981102\)37:20%3C2796::AID-ANIE2796%3E3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19981102)37:20%3C2796::AID-ANIE2796%3E3.0.CO;2-K)
 60. C. R. Woese, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **54**, No. 6: 1546 (1965);

- <https://doi.org/10.1073/pnas.54.6.1546>
61. T. H. Jukes, *Nature*, **246**, No. 5427: 22 (1973); <https://doi.org/10.1038/246022a0>
 62. E. V. Koonin, T. G. Senkevich, and V. V. Dolja, *Biology Direct*, **1**, No. 1: 29 (2006); <https://doi.org/10.1186/1745-6150-1-29>
 63. D. M. Kristensen, A. R. Mushegian, V. V. Dolja, and E. V. Koonin, *Trends in Microbiology*, **18**, No. 1: 11 (2010); <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.11>
 64. E. V. Koonin and V. V. Dolja, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **78**, No. 2: 278 (2014); <https://doi.org/10.1128/MMBR.00049-13>
 65. P. Hunter, *EMBO Reports*, **14**, No. 5: 410 (2013); <https://doi.org/10.1038/embor.2013.42>
 66. V. B. Pinheiro and P. Holliger, *Current Opinion in Chemical Biology*, **16**, Nos. 3–4: 245 (2012); <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.05.198>
 67. M. Cao, N. Wang, P. Zhou, Y. Sun, J. Wang, S. Wang, and H. Xu, *Science China Chemistry*, **59**, No. 3: 310 (2016); <https://doi.org/10.1007/s11426-015-5495-6>
 68. M. Page and C. Godin, *Journal of Chromatography A*, **50**: 66 (1970); [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)97917-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)97917-2)
 69. H. R. Lerner and A. M. Mayer, *Phytochemistry*, **14**, No. 9: 1955 (1975); [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(75\)83104-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(75)83104-9)
 70. R. J. Ryan, *Biochemistry*, **8**, No. 2: 495 (1969); <https://doi.org/10.1021/bi00830a006>
 71. M. T. C. P. Ribela and P. Bartolini, *Analytical Biochemistry*, **174**, No. 2: 693 (1988); [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90075-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90075-9)
 72. E. Hippe, *Biochimica et Biophysica Acta*, **208**: 337 (1970); [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(70\)90255-2](https://doi.org/10.1016/0304-4165(70)90255-2)
 73. B. L. Hom, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Protein Structure*, **175**, No. 1: 20 (1969); [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(69\)90140-8](https://doi.org/10.1016/0005-2795(69)90140-8)
 74. H. Olesen, J. Rehfeld, B. L. Hom, and E. Hippe, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Protein Structure*, **194**, No. 1: 67 (1969); [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(69\)90180-9](https://doi.org/10.1016/0005-2795(69)90180-9)
 75. G. I. Tanev, *Zhivotnovudni Nauki*, **4**: 123 (1967) (in Bulgarian).
 76. S. Kaur and K. L. Bhatia, *Indian Journal of Dairy Science*, **43**, No. 3: 411 (1990).
 77. K. G. Chandy, R. A. Stockley, and D. Burnett, *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie*, **361**, No. 12: 1855 (1980).
 78. B. Bendiak, L. D. Ward, and R. J. Simpson, *European Journal of Biochemistry*, **216**, No. 2: 405 (1993); <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18158.x>
 79. J. P. Ray, S. T. Mernoff, L. Sangameswaran, and A. L. de Blas, *Neurochemical Research*, **10**, No. 9: 1221 (1985); <https://doi.org/10.1007/BF00964841>
 80. S. Bon, F. Rieger, and J. Massoulié, *European Journal of Biochemistry*, **35**, No. 2: 372 (1973); <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1973.tb02849.x>
 81. L. Kalinoski and L. T. Potter, *FASEB Proceedings*, **39**, No. 3: 1008 (1980).
 82. J. L. Phillips, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **114**, No. 3: 998 (1983); [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(83\)90659-9](https://doi.org/10.1016/0006-291X(83)90659-9)
 83. B. R. Sorensen and M. A. Shea, *Biophysical Journal*, **71**, No. 6: 3407 (1996); [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79535-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79535-8)
 84. C. J. Oliver, K. F. Shortridge, and G. Belyanin, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*, **437**, No. 2: 589 (1976); [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(76\)90026-X](https://doi.org/10.1016/0304-4165(76)90026-X)
 85. K. F. Shortridge, G. Belyavin, and C. J. Oliver, *Microbiology Letters*, **2**, No. 5: 33 (1976).

86. M. Castagnola, D. V. Rossetti, L. Cassiano, F. Misiti, L. Pennacchietti, B. Giardina, and I. Messina, *Electrophoresis*, **17**, No. 12: 1925 (1996); <https://doi.org/10.1002/elps.1150171220>
87. G. M. Rothe, *Electrophoresis*, **9**, No. 7: 307 (1988); <https://doi.org/10.1002/elps.1150090705>
88. K. Felgenhauer, *Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie*, **9**, No. 5: 455 (1971).
89. K. Horiike, H. Tojo, T. Yamano, and M. Nozaki, *Journal of Biochemistry*, **93**, No. 1: 99 (1983); <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a134183>
90. M. Pagé and C. Godin, *Biochimica et Biophysica Acta*, **194**, No. 1: 329 (1969); [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(69\)90212-8](https://doi.org/10.1016/0005-2795(69)90212-8)
91. K. Horiike, *Biochemistry International*, **4**, No. 5: 477 (1982).
92. B. Sablonniere, P. Lefebvre, P. Formstecher, and M. Dautrevaux, *Journal of Chromatography A*, **403**: 183 (1987); [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)96352-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)96352-0)
93. S. K. Lim, M. E. Burba, and A. C. Albrecht, *Chemical Physics Letters*, **216**, Nos. 3–6: 405 (1993); [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(93\)90117-J](https://doi.org/10.1016/0009-2614(93)90117-J)
94. M. E. Burba and S. K. Lim, *Journal of Physical Chemistry*, **99**, No. 31: 11839 (1995); <https://doi.org/10.1021/j100031a009>
95. C. A. Lantz, *Isolation and Partial Physicochemical Characterization of a Peptic Fragment (Residues 307-385) of Bovine Serum Albumin Which Exhibits Steroid-Binding Activity. Estimation of Its Stokes (Molecular) Radius by a Novel Thin-Film Dialysis Technique* (PhD Thesis) (Chapel Hill, North Carolina, USA: University of North Carolina at Chapel Hill: 1979).
96. S. Demassie and J. P. Lachance, *Journal of Chromatography*, **89**, No. 2: 251 (1974); [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)99400-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)99400-2)
97. L. Yang, H. Liang, T. E. Angelini, J. Butler, R. Coridan, J. X. Tang, and G. C. Wong, *Nature Materials*, **3**, No. 9: 615 (2014); <https://doi.org/10.1038/nmat1195>
98. Q. Zhao, W. Chen, Y. Chen, L. Zhang, J. Zhang, and Z. Zhang, *Bioconjugate Chemistry*, **22**, No. 3: 346 (2011); <https://doi.org/10.1021/bc1002532>
99. X. Huang, L. M. Bronstein, J. Retrum, C. Dufort, I. Tsvetkova, S. Aniagyei, B. Stein, G. Stucky, B. McKenna, N. Remmes, D. Baxter, C. Kao, and B. Dragnea, *Nano Letters*, **7**, No. 8: 2407 (2007); <https://doi.org/10.1021/nl071083l>
100. M. Le Maire, B. Arnou, C. Olesen, D. Georgin, C. Ebel, and J. V. Møller, *Nature Protocols*, **3**, No. 11: 1782 (2008); <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.177>
101. M. Castagnola, D. V. Rossetti, F. Misiti, L. Cassiano, B. Giardina, and I. Messina, *Journal of Chromatography A*, **792**, Nos. 1–2: 57 (1997); [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00920-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00920-5)
102. J. R. DeLoach and K. Andrews, *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **8**, No. 6: 537 (1986).
103. J. R. DeLoach and K. Andrews, *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **8**, No. 6: 546 (1986).
104. A. Zayas-Santiago, A. D. Marmorstein, and L. Y. Marmorstein, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **52**, No. 7: 4907 (2011); <https://doi.org/10.1167/iovs.10-6595>
105. S. Aimoto and F. M. Richards, *Journal of Biological Chemistry*, **256**, No. 10: 5134 (1981).
106. G. Zuber, E. Dauty, M. Nothisen, P. Belguise, and J. P. Behr, *Advanced Drug*

- Delivery Reviews*, **52**, No. 3: 245 (2001); [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00213-7](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00213-7)
107. E. Mastrobattista, M. A. Van Der Aa, W. E. Hennink, and D. J. Crommelin, *Nature Reviews Drug Discovery*, **5**, No. 2: 115 (2006); <https://doi.org/10.1038/nrd1960>
108. Y. B. Lim, E. Lee, Y. R. Yoon, M. S. Lee, and M. Lee, *Angewandte Chemie International Edition*, **47**, No. 24: 4525 (2008); <https://doi.org/10.1002/anie.200800266>
109. V. Percec, J. Heck, M. Lee, G. Ungar, and A. Alvarez-Castillo, *Journal of Materials Chemistry*, **2**, No. 10: 1033 (1992); <https://doi.org/10.1039/JM9920201033>
110. K. Matsuura, K. Watanabe, T. Matsuzaki, K. Sakurai, and N. Kimizuka, *Angewandte Chemie International Edition*, **49**, No. 3: 9662 (2010); <https://doi.org/10.1002/anie.201004606>
111. H. D. Nguyen and C. L. Brooks, *Nano Letters*, **8**, No. 12: 4574 (2008); <https://doi.org/10.1021/nl802828v>

¹*N. N. Semenov Federal Research Centre for Chemical Physics, R.A.S., 4, Kosygin Str., 119991 Moscow, Russian Federation*

²*Scientific Research Institute of Physical Chemistry named after L. Ya. Karpov, 10, Vorontsovo Field Str., 105064 Moscow, Russian Federation*

¹ Fig. 1. An example of the output of a multicycle histogram and the raw experimental data with the separation by the particle size.

² Fig. 2. A table with the experimental data: the counting indices of the smaller particles ($d > 0.15 \mu\text{m}$) almost stably exceed 90 (in the first measurement mode) and 5000 (in the second measurement mode), while the large particle (of $0.25\text{--}0.3 \mu\text{m}$) distribution does not exceed 12.5 (in the first measurement mode) and 720 (in the second measurement mode). The additive fraction of the particles with d from $0.3 \mu\text{m}$ to $1.5 \mu\text{m}$ and higher, whose concentrations' range from 0.1 to 2–3 (in the first measurement mode) and are stably less than 200 (in the second measurement mode), does not exceed 10 (in the first measurement mode) or $n \cdot 100$ (in the second measurement mode).

³ Fig. 3. Dynamic mode of counting of the particles with different sizes, allowing establishing cross-correlations between the counting trends for the particles of different sizes.

⁴ Fig. 4. Example of the graphical user-interface window for multichannel counting (4 channels and two comparison windows).

⁵ Fig. 5. Accumulation of the particle counting signal (*a*); narrow calibration particle size distribution (beads) (*b*); a wide noisy particle size distribution (*c*) for aerosol particles after ultrasonic dispersion in a nebulizer.

⁶ Fig. 6. Sequential signal accumulation cycles indicated by the different colours in the software.

⁷ Fig. 7. Reproducibility of the particle counting statistics approximation for equivalent atmospheric conditions.

⁸ Fig. 8. Abnormal peaks on the right side of the 'spectrum' with the large particle sizes.

⁹ Fig. 9. The possible sources of the counting artefacts when using calibration latexes: (*a*) particle size difference (heterodispersity) and deviation of the particle shape from the spherical one; (*b*) particle aggregation and adhesion to the surface, including the formation of 'plumes' of the adhered material (the counter registers two aggregated particles as one large particle); (*c*) the presence of binary particles, some of which are 'broken'/'burst'; (*d*) the presence of broken and deformed particles during explosion or implosion; (*e*) the presence of anomalous chain aggregates containing three or more particles of different sizes and varying degrees of ellipticity, as well as the particles with the outer shells; (*e*) the presence of anisotropic particles with the sputtering shadows significantly differing from those obtained from the spherical particles.