



МРНТИ 34.15

Б.Б. Ильясова, С.Б. Жангазин
А. Мадиров, А.Ж. Акбасова,
А.Б. Дилдабек, Ж.Б. Тлеукулова
З.Б. Стамгалиева, Р.Т. Омаров

Евразийский Национальный Университет имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан
(E-mail: bayansulu.ilyasova@gmail.com)

Свойства и функции вирусных белков и белка-супрессора РНК-интерференции Р19 вируса ТBSV в активации иммунных механизмов растений против вирусной инфекции

Аннотация. Развитие вирусных инфекции является одной из главных причин потери урожая с/х культур. В настоящее время ведутся биохимические исследования механизмов иммунного ответа растений при вторжении патогенов. Изучение молекулярных взаимодействий между растениями и патогенами имеет огромное значение в создании методологических подходов для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур. Вирусы могут заражать все типы форм жизни, от животных и растений до микроорганизмов. Они встречаются почти в каждой экосистеме на Земле. В настоящее время известно огромное количество вирусов, поражающих большинство растений. Вирус кустистой карликовости томатов является удобной моделью для исследований взаимосвязи растений и вирусов. Научное направление относится к области молекулярной биологии, биохимии, вирусологии.

Ключевые слова: вирус кустистой карликовости томатов, Р19 белок-супрессор, вирусная инфекция, репликазные белки, РНК-интерференция.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-133-4-7-15>

Введение. РНК-интерференция принимает участие в физиологических процессах живых существ, а молекулярные посредники – короткие РНК – по разнообразию и специфичности не уступают антителам крови. У простейших РНК-и обеспечивает иммунитет (защиту от вирусов), а у более развитых организмов этот механизм участвует в борьбе с внешними и внутриклеточными паразитами, также является регулятором активности генов.

Вирус кустистой карликовости томатов (ТBSV) используется в работах по изучению молекулярных взаимодействий растений и вирусов [1]. Tomato bushy stunt virus (ТBSV) представитель рода Tombusvirus, семейства Tombusviridae. Tombusvirus является одной из 16 групп растительных вирусов, впервые утвержденных в 1971 [2]. Определение полной нуклеотидной последовательности

довательности РНК нескольких видов семейства предоставило информацию об организации генома и экспрессии генов. Белок-супрессор Р19, кодируемый геномом TBSV обеспечивает защиту геномной РНК вируса путем связывания коротких интерферирующих РНК дуплексов, тем самым блокируя РНК-интерференцию на начальном этапе инфекции [3].

Цель. Изучение функций вирусных белков, взаимодействия репликазных белков вируса кустистой карликовости томатов (Tomato bushy stunt virus), характеристик РНК-связывающих доменов в белках репликазы TBSV и Р19 – вирусного белка-супрессора, как инструмента для исследования малых РНК.

Молекулярная структура TBSV вируса. Геном tombusvirus состоит из линейной (+) одноцепочечной РНК-молекулы, длиной около 4700 нуклеотидов, которая содержит по меньшей мере пять открытых рамок считывания (ORF), кодирующих белки с молекулярной массой 33К, 92К, 41К, 22К, и 19К [2]. Открытая рамка считывания 1, которой предшествует нетранслируемая последовательность, кодирует белок с молекулярной массой около 33К. Посредством трансляционного считывания стоп-кодона Р33 синтезируется 92К белок (ORF 2). Р33 и Р92 транслируются непосредственно из геномной РНК. Небольшая область отделяет ORF 2 от открытой рамки считывания 3, которая кодирует 41К белок оболочки вируса из субгеномной РНК1. Другая часть разделяет ORF 3 от ORFs 4 и 5. Открытая рамка считывания 4 кодирует белок размером 22К, а ORF 5, перекрывающая ORF 4, кодирует полипептид около 19К. За 5 открытой рамкой следует 3'-некодирующая область ~ 350 нт. 3' конец не является полиаденилированным.

Молекулярные функции вирусных белков TBSV. Роль белка р22 – в передвижении вирусной РНК между клетками, р19 является супрессором РНК-интерференции и патогенным фактором при развитии системной инфекции [3]. Синтез р92 белка осуществлялся посредством трансляционного считывания стоп-кодона р33 и изучался в исследованиях трансляции *in vitro* Hayes et al. (1988) с использованием геномной мРНК TBSV. Экспрессия белка р33 необходима для репликации РНК, так как сдвиг в ORF 1 с образованием стоп-кодона в положении 650 приводит к синтезу 16К белка, а замена стоп-кодона в положении 1048 метионином не продуцирует инфекцию [4]. РНК-полимеразный мотив Gly-Asp-Asp (GDD) [18] находится в области трансляционного считывания 92К томбусвирусов. Nabil и Symons (1989) определили в одном и том же регионе два мотива хеликазы нуклеиновой кислоты, но их интерпретация несколько противоречива, поскольку другие авторы утверждают, что вирусы с геномами менее 6 кб лишены хеликазной активности [5]. СР (coat protein) – белок оболочки специфически реагировал с антителами против вирусных частиц, аминокислотная последовательность совпадает с химическим анализом СР-субъединиц TBSV-BS3 [6]. Поскольку белок оболочки имеет дополнительные функции помимо защиты вирусного генома от внешней среды, в разных лабораториях разрабатывались мутанты, которые не экспрессируют данный белок, также исследовалось влияние мутации на репликацию и передвижение вируса. В целом, результаты, полученные с использованием СР мутантов томбусвирусов, приводят к следующим выводам: 1. Ген СР необязателен при репликации. 2. В зависимости от хозяина и вируса, при перемещении на дальние расстояния необходимы вирионы. РНК томбусвируса в комплексе с белком 22К проходит через плазмодесматы от инфицированной клетки к следующей до сосудистых тканей для распространения на большие расстояния. Однако движение через сосудистую систему подвергает РНК-белковый комплекс воздействию нуклеазных атак, что объясняет неэффективность системной инвазии *N. benthamiana* мутантом с удаленной частью гена СР [2]. Johnston и Rochon (1990) предоставили доказательства того, что природная и синтетическая формы субгеномной РНК (sg 2) продуцируют два белка, соответствующие по размеру полипептидам, кодируемыми ORF 4, 5 [7]. Репликация мутанта 22К в протопластах и отсутствие инфекции доказывают, что белок вовлечен в межклеточное распространение вируса [4]. Это было подтверждено компьютерным сравнением полипептида 22К томбусвирусов с белками передвижения других (+) ssRNA вирусов [2].

РНК репликация и взаимодействие репликазных белков Tomato bushy stunt virus. Идеальной системой для исследования индивидуальных детерминант процесса репликации (+) РНК-вирусов является бесклеточный экстракт [8]. *In vitro* транслированные белки р33 и р92 образуют вирусную репликазу. Интересным исследованием является, что в данной системе процессы трансляции и репликации РНК функционально не связаны, поскольку образование вирусной репликазы происходит и без одновременного синтеза белка. Вирусные РНК и белки образуют мембранно-связанные репликационные комплексы, которые катализируют транскрипцию (-) РНК-интермедиатов. (-) посредник действует как матрица для синтеза (+) РНК молекул, субгеномных (sg) мРНК, кодирующих дополнительные вирусные белки [9]. Молекулярные механизмы способствуют взаимодействиям между вирусными репликационными белками, вирусной РНК и мембранами. Экспериментальная система - бесклеточный цитоплазматический экстракт, воспроизводящий трансляцию белка и репликацию РНК с добавлением *in vitro* транскрибированной вирусной РНК [8]. Исследования репликации томбусвирусов также включают в себя изучение дефектных интерферирующих (DI) вирусных РНК [10]. DI РНК не кодируют вирусные белки, но содержат элементы РНК (впоследствии «элементы репликации»), которые необходимы для процесса репликации. Эти элементы функционально определены в исследованиях репликации томбусвируса в растениях и протопластах [11] [12] [13] [14], а также *in vitro* данные с предварительно собранной репликазой томбусвируса [15] [16] [17]. Последовательность р33 перекрывается с N-концевым доменом р92, который также содержит мотивы РНК-зависимых РНК-полимераз (RdRps) в неперекрывающейся С-концевой части. Последовательность в 33К белке, участвующая в белковых взаимодействиях, картирована в С-концевой области, содержащая РНК-связывающий сайт. Мутации в р33 / р92 снижали репликацию дефектной интерферирующей РНК TBSV в дрожжах, тем самым демонстрируя значение белковых взаимодействий в репликации томбусвируса. При репликации вирусной РНК требуется сборка репликазного комплекса в инфицированных клетках. Известно, что репликазные комплексы, находящиеся в характерных мембраносодержащих структурах (везикулярные тела), содержат матрицу вирусной РНК и белки [18]. Эти факторы, вероятно, имеют белковые и РНК-белковые взаимодействия в комплексе репликазы. Р33 участвует в репликации РНК, так как связывается с вирусной РНК *in vitro* [19]. РНК-связывающая область в р33 и перекрывающаяся (предварительно считываемая) область в р92 сопоставлена с аргинин-пролин мотивом (мотив RPR, рис. 1).

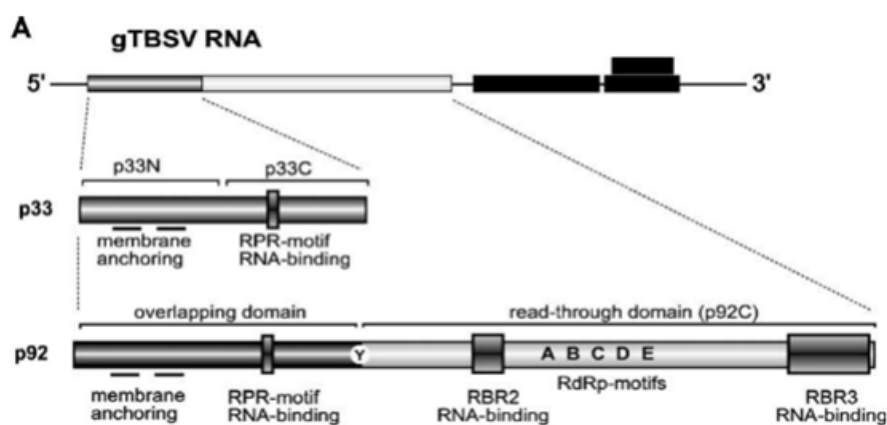


Рисунок 1. Схематическое изображение белков репликазы TBSV [20]

Мутации в RPR-мотиве 33К влияют на синтез гРНК и субгеномной (sg) РНК, рекомбинацию РНК [21], р33 является многофункциональным белком. Мотив RPR является значительным в функции р92 [22]. Кроме того, белки репликазы TBSV, вероятно, связываются с внутриклеточны-

ми мембранами, основываясь на исследованиях близкородственных белков репликаз Carnation Italian ringspot virus, Cymbidium ringspot virus, которые локализуются в везикулярных телах [23] [24]. Прямое взаимодействие р33, р92 белков способствует стабильности комплекса RdRp. Чтобы проверить эту гипотезу, исследовалось взаимодействие р33 и р92, используя анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с очищенными рекомбинантными белками. Р33 взаимодействует с р92 и другими молекулами р33 (межмолекулярное взаимодействие). Были идентифицированы две короткие области в С-концевой части р33, способствующие вышеупомянутым взаимодействиям. Их значимость (р33: р33; р33: р92) подтверждена в модельной системе репликации tombusvirus экспрессией белков 33К и 92К с сайт-специфическими мутациями в области, необходимой для взаимодействия белков. Репликазные белки TBSV взаимодействуют друг с другом и данное взаимодействие имеет значение в их функциях во время инфекции томбусвирусом [20].

Характеристика РНК-связывающих доменов в белках репликазы TBSV. При проведении дополнительных исследований, используя производные делеции рекомбинантных белков, экспрессируемых в *Escherichia coli*, в анализах Northwestern демонстрируется, что р33 и перекрывающийся домен р92 содержат аргинин-пролин-РНК-связывающий мотив (последовательность RPRRRP). Неперекрывающийся С-концевой домен р92 содержит дополнительные РНК-связывающие области [19]. Интересная особенность томбусвирусов заключается в том, что белок репликазы экспрессируется из геномной РНК через рибосомальный механизм терминирующего кодона р33 [25]. Оба белка локализованы на мембранных структурах в инфицированных клетках - предполагаемых сайтах репликации томбусвируса [23]. Вирусная геномная РНК комплектуется в вирусном репликальном комплексе после трансляции [26]. Кроме того, вирусный репликальный комплекс, который, вероятно, содержит как вирусные, так и кодируемые хозяином белки, синтезирует комплементарную (-)РНК на геномной (+)РНК. Это сопровождается устойчивым синтезом (+)РНК с использованием промежуточных (-)продуктов [27]. Томбусвирусы также синтезируют субгеномные РНК для экспрессии 3'-проксимальных генов [2].

Р19 – вирусный белок-супрессор. TBSV и р19 белок – эффективные инструменты в молекулярных исследованиях взаимодействия растений и вирусов [28]. Данный белок является супрессором РНК-интерференции и участвует в системной инфекции [29]. Белок защищает вирусную геномную РНК от механизма РНКи связыванием киРНК дуплексов, блокируя РНК-интерференцию в модельном растении *Nicotiana benthamiana* [3]. Супрессия РНКи – основная функция р19 белка, также является элиситором гиперсенситивного ответа [30]. Аккумуляция 19К определяет тяжесть симптомов инфекции и стабильность вирусной РНК [31]. Две независимые группы провели рентгеноструктурные анализы и выявили комплекс р19-киРНК, конформацию с триптофановыми остатками на субъединицах димеров белка, связывающих 21-нуклеотидные киРНК дуплексы [32]. При TBSV инфекции супрессор связывается с циркулирующими Tombusvirus-киРНК, не включая в RISC-комплекс, таким образом происходит системное распространение вирусной РНК [3]. Функциональность белка определяется биохимическими свойствами: образование димеров, структурное расположение аминокислот для связывания киРНК [33].

Заключение. Таким образом, связывание киРНК – ключевое свойство при системной инфекции TBSV-вируса в растениях. Исследования демонстрируют, что распространение вируса и супрессия РНК-интерференции зависят от относительно высокой экспрессии р19-го [34]. Разработка мутантных белков без экспрессии Р19-го белка представляет научный интерес в области исследований РНК-интерференции.

Материалы подготовлены в рамках проекта №AP05135633 «Влияние детерминант вирусного белка на приобретенную резистентность растений и генерацию семенного материала с пре-программированной устойчивостью к вирусной инфекции», программы NoBR05236574

«Использование адаптивных механизмов растений в разработке современных технологий получения сельскохозяйственных культур устойчивых к стрессовым факторам», NoBR05236574 «Исследования защитных антивирусных механизмов растений при воздействии солевого стресса у *N.benthamiana* и ячменя».

Список литературы

1. Yergaliyev T. M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., et al. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection // *Plant Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol. 109. – P. 36-44. doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.001.
2. Russo M., Burgyan J., Martelli G. P. Molecular Biology of Tombusviridae // *Adv. Virus Res.* – 1994. – Vol. 44. – P. 381-428. doi.org/10.1016/S0065-3527(08)60334-6.
3. Omarov R. T., Scholthof H. B. Biological chemistry of virus-encoded suppressors of RNA silencing: An overview // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 894. – P. 39-56.
4. Dalmay T., Rubino L., Burgyán J., Kollár A., Russo M. Functional analysis of cymbidium ringspot virus genome // *Virology.* - 1993. – Vol. 194. – P. 697-704.
5. Koonin E. V., Dolja V. V., Morris T. J. Evolution and taxonomy of positive-Strand RNA viruses: Implications of comparative analysis of amino acid sequences // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 1993. – Vol. 28. № 5. – P. 375-430. doi.org/10.3109/10409239309078440.
6. Hopper P., Harrison S. C., Sauer R. T. Structure of tomato bushy stunt virus. V. Coat protein sequence determination and its structural implications // *J. Mol. Biol.* - 1984. – Vol. 177. № 4. – P. 701-713. doi.org/10.1016/0022-2836(84)90045-7.
7. Rochon D. M., Tremaine J. H. Complete nucleotide sequence of the cucumber necrosis virus genome // *Virology.* - 1989. – Vol. 169. № 2. – P. 251-259. doi.org/10.1016/0042-6822(89)90150-5.
8. Gursinsky T., Schulz B., Behrens S. E. Replication of Tomato bushy stunt virus RNA in a plant in vitro system // *Virology.* – 2009. – Vol. 390. № 2. – P. 250-260. doi.org/10.1016/j.virol.2009.05.009.
9. Ahlquist P., Noueiry A. O., Lee W-M., Kushner D. B., Dye B. T. Host Factors in Positive-Strand RNA Virus Genome Replication // *J. Virol.* - 2003. – Vol. 77. № 15. – P. 8181-8186. DOI: 10.1128/JVI.77.15.8181-8186.2003.
10. Knorr D. A., Mullin R. H., Hearne P. Q., Morris T. J. De novo generation of defective interfering RNAs of tomato bushy stunt virus by high multiplicity passage // *Virology.* - 1991. – Vol. 181. № 1. – P. 193-202. doi.org/10.1016/0042-6822(91)90484-5.
11. Fabian M. R., Na H, Ray D., White K. A. 3'-Terminal RNA secondary structures are important for accumulation of tomato bushy stunt virus DI RNAs // *Virology.* - 2003. – Vol. 313. № 2. – P. 567-580. doi.org/10.1016/S0042-6822(03)00349-0.
12. Monkewich S., Lin H-X, Fabian M. R., et al. The p92 Polymerase Coding Region Contains an Internal RNA Element Required at an Early Step in Tombusvirus Genome Replication // *J. Virol.* - 2005. – Vol. 79. № 8. – P. 4848-4858. doi:10.1128/JVI.79.8.4848-4858.2005.
13. Park J-W, Desvoyes B., Scholthof H. B. Tomato Bushy Stunt Virus Genomic RNA Accumulation Is Regulated by Interdependent cis-Acting Elements within the Movement Protein Open Reading Frames // *J. Virol.* - 2002. – Vol. 76. № 24. – P. 12747-12757. DOI: 10.1128/JVI.76.24.12747-12757.2002.
14. Ray D., White K. A. An Internally Located RNA Hairpin Enhances Replication of Tomato Bushy Stunt Virus RNAs // *J. Virol.* - 2003. – Vol. 77. № 1. – P. 245-257. DOI: 10.1128/JVI.77.1.245-257.2003.
15. Nagy P. D., Pogany J. Partial purification and characterization of Cucumber necrosis virus and Tomato bushy stunt virus RNA-dependent RNA polymerases: Similarities and differences in template usage between tombusvirus and carmovirus RNA-dependent RNA polymerases // *Virology.* - 2000. – Vol. 276. № 2. – P. 279-288. doi.org/10.1006/viro.2000.0577.
16. Panavas T., Nagy P. D. The RNA Replication Enhancer Element of Tombusviruses Contains Two Interchangeable Hairpins That Are Functional during Plus-Strand Synthesis // *J. Virol.* - 2003. – Vol. 77. № 1. – P. 258-269. DOI: 10.1128/JVI.77.1.258-269.2003.
17. Panaviene Z., Panavas T., Serva S., Nagy P. D. Purification of the Cucumber Necrosis Virus Replicase from Yeast Cells: Role of Coexpressed Viral RNA in Stimulation of Replicase Activity // *J. Virol.* - 2004. – Vol. 78. № 15. – P. 8254-8263. DOI: 10.1128/JVI.78.15.8254-8263.2004.

18. Buck K. W. Comparison of the replication of positive-stranded RNA viruses of plants and animals // *Adv. Virus Res.* - 1996. – Vol. 47. – P. 159-251. doi.org/10.1016/S0065-3527(08)60736-8.
19. Rajendran K. S., Nagy P. D. Characterization of the RNA-Binding Domains in the Replicase Proteins of Tomato Bushy Stunt Virus // *J. Virol.* - 2003. – Vol. 77. № 17. – P. 9244-9258. DOI: 10.1128/JVI.77.17.9244-9258.2003.
20. Rajendran K. S., Nagy P. D. Interaction between the replicase proteins of Tomato Bushy Stunt virus in vitro and in vivo // *Virology.* – 2004. – Vol. 326. № 2. – P. 250-261. doi.org/10.1016/j.virol.2004.06.018.
21. Panaviene Ž., Nagy P. D. Mutations in the RNA-binding domains of tombusvirus replicase proteins affect RNA recombination in vivo // *Virology.* - 2003. – Vol. 317. № 2. – P. 359-372. doi.org/10.1016/j.virol.2003.08.039.
22. Panaviene Ž., Baker J. M., Nagy P. D. The overlapping RNA-binding domains of p33 and p92 replicase proteins are essential for tombusvirus replication // *Virology.* - 2003. – Vol. 308. № 1. – P. 191-205. doi.org/10.1016/S0042-6822(02)00132-0.
23. Burgyan J., Rubino L., Russo M. The 5'-terminal region of a tombusvirus genome determines the origin of multivesicular bodies // *J. Gen. Virol.* - 1996. – Vol. 77. № 8. – P. 1967-1974. doi.org/10.1099/0022-1317-77-8-1967.
24. Rubino L., Weber-Lofti F., Dietrich A., Stussi-Garaud C., Russo M. The open reading frame 1-encoded ('36K') protein of Carnation Italian ringspot virus localizes to mitochondria // *J. Gen. Virol.* - 2001. – Vol. 82. № 1. – P. 29-34. doi.org/10.1099/0022-1317-82-1-29.
25. Scholthof KBG, Scholthof H. B., Jackson A. O. The tomato bushy stunt virus replicase proteins are coordinately expressed and membrane associated // *Virology.* - 1995. – Vol. 208. № 1. – P. 365-369. doi.org/10.1006/viro.1995.1162.
26. Ahlquist P. RNA-dependent RNA polymerases, viruses, and RNA silencing // *Science.* - 2002. – Vol. 296. № 5571. – P. 1270-1273. DOI: 10.1126/science.1069132.
27. Kao C. C., Singh P., Ecker D. J. De novo initiation of viral RNA-dependent RNA synthesis // *Virology.* - 2001. – Vol. 287. № 2. – P. 251-260. doi.org/10.1006/viro.2001.1039.
28. Yergaliyev T. M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., et al. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection // *Plant Physiol. Biochem.* - 2016. – Vol. 109. – P. 36-44. doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.001.
29. Turina M., Omarov R., Murphy J. F., Bazaldua-Hernandez C., Desvoyes B., Scholthof H. B. A newly identified role for Tomato bushy stunt virus P19 in short distance spread // *Mol. Plant Pathol.* - 2003. – Vol. 4. № 1. – P. 67-72.
30. Omarov R. T., Ciomperlik J. J., Scholthof H. B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex // *Proc. Natl Acad. Sci. U S A.* - 2007. – Vol. 104. № 5. – P. 1714-1719. doi.org/10.1073/pnas.0608117104.
31. Scholthof H. B., Desvoyes B., Kuecker J., Whitehead E. Biological activity of two tombusvirus proteins translated from nested genes is influenced by dosage control via context-dependent leaky scanning // *Mol. Plant. Microbe Interact.* - 1999. – Vol. 12. № 8. – P. 670-679.
32. Ye K., Malinina L., Patel D. J. Recognition of small interfering RNA by a viral suppressor of RNA silencing // *Nature.* - 2003. – Vol. 426. – P. 874-878.
33. Vargason J. M., Szittyá G., Burgyán J., Tanaka Hall T. M. Size Selective Recognition of siRNA by an RNA Silencing Suppressor // *Cell.* - 2003. – Vol. 115. № 7. – P. 799-811. doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00984-X.
34. Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H. B. Biological Relevance of a Stable Biochemical Interaction between the Tombusvirus-Encoded P19 and Short Interfering RNAs // *J. Virol.* - 2006. – Vol. 80. № 6. – P. 3000-3008. doi:10.1128/JVI.80.6.3000-3008.2006.

**Б.Б. Ильясова, С.Б. Жангазин, А. Мадиров, А.Ж. Акбасова, А.Б. Ділдабек,
Ж.Б. Глеукулова, З.Б. Стамгалиева, Р.Т. Омаров**

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

**Вирустық инфекцияларға қарсы өсімдіктердің иммундық тетіктерін
белсенділендіруге вирустық ақуыздар мен «РНК-интерференция»
механизмді сөндіретін Р19 протеиннің қасиеттері мен функциялары**

Аңдатпа. Вирустық инфекциялардың дамуы ауылшаруашылық дақылдарының жоғалуының негізгі себептерінің бірі болып табылады. Қазіргі уақытта өсімдіктердің қоздырғыштардың шабуылына иммун-

дық жауап беру механизмдеріне биохимиялық зерттеулер жүргізілуде. Өсімдіктер мен қоздырғыштардың арасындағы молекулалық өзара әрекеттесуді зерттеу ауылшаруашылық дақылдарының өнімділігін арттырудың әдіснамалық тәсілдерін жасауда үлкен маңызға ие. Вирустар жануарлар мен өсімдіктерден микроорганизмдерге дейінгі барлық тіршілік формаларын жұқтыруы мүмкін. Олар жер бетіндегі барлық дерлік экожүйелерде кездеседі. Қазіргі уақытта көптеген өсімдіктерді жұқтыратын көптеген вирустар белгілі. Қызанақ бұталы ергежейлі вирус өсімдіктер мен вирустар арасындағы қатынасты зерттеу үшін қолайлы модель болып табылады. Ғылыми бағыт молекулалық биология, биохимия, вирусология салаларына қатысты.

Түйін сөздер: TBSV, P19 супрессорлы ақуыз, вирустық инфекция, репликаза ақуыздары, РНК-интерференция.

**B.B. Ilyassova, S.B. Zhangazin, A. Madirov, A.Zh. Akbassova,
A.B. Dildabek, Zh.B. Tleukulova, Z.B. Stamgaliyeva, R.T. Omarov**
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Properties and functions of viral proteins and P19 protein – suppressor of RNA interference in activating immune mechanisms of plants against viral infection

Abstract. The development of viral infections is one of the main reasons for the loss of agricultural crops. At present, biochemical studies of the plant's immune response mechanisms to the invasion of pathogens are being in progress. The study of molecular interactions between plants and viruses has the significant importance in the development of methodological approaches to increase the productivity of agricultural crops. Viruses can infect all types of life forms, from animals and plants to microorganisms. They are found in almost every ecosystem on Earth. A huge number of viruses are known to affect most plants. Tomato bushy stunt virus is a convenient model for studying the interaction between plants and viruses. The scientific field relates to the molecular biology, biochemistry, virology.

Key words: Tomato bushy stunt virus, P19 suppressor protein, viral infection, replicase proteins, RNA interference.

References

1. Yergaliyev T. M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., et al. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection, *Plant Physiol. Biochem.*, 109, 36-44(2016).
2. Russo M., Burgyan J., Martelli G. P. *Molecular Biology of Tombusviridae*, *Adv. Virus Res.*, 44, 381-428(1994).
3. Omarov R. T., Scholthof H. B. Biological chemistry of virus-encoded suppressors of RNA silencing: An overview, *Methods Mol. Biol.*, 894, 39-56(2012).
4. Dalmay T., Rubino L., Burgyán J., Kollár A., Russo M. Functional analysis of cymbidium ringspot virus genome, *Virology*, 194, 697-704(1993).
5. Koonin E. V., Dolja V. V., Morris T. J. Evolution and taxonomy of positive-Strand RNA viruses: Implications of comparative analysis of amino acid sequences, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 28, 5, 375-430(1993).
6. Hopper P., Harrison S. C., Sauer R. T. Structure of tomato bushy stunt virus. V. Coat protein sequence determination and its structural implications, *J. Mol. Biol.*, 177, 4, 701-713(1984).
7. Rochon D. M., Tremaine J. H. Complete nucleotide sequence of the cucumber necrosis virus genome, *Virology*, 169, 2, 251-259(1989).
8. Gursinsky T., Schulz B., Behrens S. E. Replication of Tomato bushy stunt virus RNA in a plant in vitro system, *Virology*, 390, 2, 250-260(2009).
9. Ahlquist P., Noueir A. O., Lee W-M., Kushner D. B., Dye B. T. Host Factors in Positive-Strand RNA Virus Genome Replication, *J. Virol.*, 77, 15, 8181-8186(2003).
10. Knorr D. A., Mullin R. H., Hearne P. Q., Morris T. J. De novo generation of defective interfering RNAs of tomato bushy stunt virus by high multiplicity passage, *Virology*, 181, 1, 193-202(1991).
11. Fabian M. R., Na H, Ray D., White K. A. 3'-Terminal RNA secondary structures are important for accumulation of tomato bushy stunt virus DI RNAs, *Virology*, 313, 2, 567-580(2003).
12. Monkewich S., Lin H-X, Fabian M. R., et al. The p92 Polymerase Coding Region Contains an Internal RNA Element Required at an Early Step in Tombusvirus Genome Replication, *J. Virol.*, 79, 8, 4848-4858(2005).

13. Park J-W, Desvoyes B., Scholthof H. B. Tomato Bushy Stunt Virus Genomic RNA Accumulation Is Regulated by Interdependent cis-Acting Elements within the Movement Protein Open Reading Frames, *J. Virol.*, 76, 24, 12747-12757(2002).
14. Ray D., White K. A. An Internally Located RNA Hairpin Enhances Replication of Tomato Bushy Stunt Virus RNAs, *J. Virol.*, 77, 1, 245-257(2003).
15. Nagy P. D., Pogany J. Partial purification and characterization of Cucumber necrosis virus and Tomato bushy stunt virus RNA-dependent RNA polymerases: Similarities and differences in template usage between tombusvirus and carmovirus RNA-dependent RNA polymerases, *Virology.*, 276, 2, 279-288(2000).
16. Panavas T., Nagy P. D. The RNA Replication Enhancer Element of Tombusviruses Contains Two Interchangeable Hairpins That Are Functional during Plus-Strand Synthesis, *J. Virol.*, 77, 1, 258-269(2003).
17. Panaviene Z., Panavas T., Serva S., Nagy P. D. Purification of the Cucumber Necrosis Virus Replicase from Yeast Cells: Role of Coexpressed Viral RNA in Stimulation of Replicase Activity, *J. Virol.*, 78, 15, 8254-8263(2004).
18. Buck K. W. Comparison of the replication of positive-stranded RNA viruses of plants and animals, *Adv. Virus Res.*, 47, 159-251(1996).
19. Rajendran K. S., Nagy P. D. Characterization of the RNA-Binding Domains in the Replicase Proteins of Tomato Bushy Stunt Virus, *J. Virol.*, 77, 17, 9244-9258(2003).
20. Rajendran K. S., Nagy P. D. Interaction between the replicase proteins of Tomato Bushy Stunt virus in vitro and in vivo, *Virology.*, 326, 2, 250-261(2004).
21. Panaviene Ž., Nagy P. D. Mutations in the RNA-binding domains of tombusvirus replicase proteins affect RNA recombination in vivo, *Virology.*, 317, 2, 359-372(2003).
22. Panaviene Ž., Baker J. M., Nagy P. D. The overlapping RNA-binding domains of p33 and p92 replicase proteins are essential for tombusvirus replication, *Virology.*, 308, 1, 191-205(2003).
23. Burgyan J., Rubino L., Russo M. The 5'-terminal region of a tombusvirus genome determines the origin of multivesicular bodies, *J. Gen. Virol.*, 77, 8, 1967-1974(1996).
24. Rubino L., Weber-Lofti F., Dietrich A., Stussi-Garaud C., Russo M. The open reading frame 1-encoded ('36K') protein of Carnation Italian ringspot virus localizes to mitochondria, *J. Gen. Virol.*, 82, 1, 29-34(2001).
25. Scholthof KBG, Scholthof H. B., Jackson A. O. The tomato bushy stunt virus replicase proteins are coordinately expressed and membrane associated, *Virology.*, 208, 1, 365-369(1995).
26. Ahlquist P. RNA-dependent RNA polymerases, viruses, and RNA silencing, *Science.*, 296, 5571, 1270-1273(2002).
27. Kao C. C., Singh P., Ecker D. J. De novo initiation of viral RNA-dependent RNA synthesis, *Virology.*, 287, 2, 251-260(2001).
28. Yergaliyev T. M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., et al. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection, *Plant Physiol. Biochem.*, 109, 36-44(2016).
29. Turina M., Omarov R., Murphy J. F., Bazaldua-Hernandez C., Desvoyes B., Scholthof H. B. A newly identified role for Tomato bushy stunt virus P19 in short distance spread, *Mol. Plant Pathol.*, 4, 1, 67-72(2003).
30. Omarov R. T., Ciomperlik J. J., Scholthof H. B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex, *Proc. Natl Acad. Sci. U S A.*, 104, 5, 1714-1719(2007).
31. Scholthof H. B., Desvoyes B., Kuecker J., Whitehead E. Biological activity of two tombusvirus proteins translated from nested genes is influenced by dosage control via context-dependent leaky scanning, *Mol. Plant. Microbe Interact.*, 12, 8, 670-679(1999).
32. Ye K., Malinina L., Patel D. J. Recognition of small interfering RNA by a viral suppressor of RNA silencing, *Nature.*, 426, 874-878(2003).
33. Vargason J. M., Szittyá G., Burgyán J., Tanaka Hall T. M. Size Selective Recognition of siRNA by an RNA Silencing Suppressor, *Cell.*, 115, 7, 799-811(2003).
34. Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H. B. Biological Relevance of a Stable Biochemical Interaction between the Tombusvirus-Encoded P19 and Short Interfering RNAs, *J. Virol.*, 80, 6, 3000-3008(2006).

Сведения об авторах:

Ильясова Б.Б. – автор для корреспонденции, магистр технических наук, младший научный сотрудник лаборатории «Биотехнология растений», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Жангазин С.Б. – PhD, старший преподаватель кафедры биотехнологии и микробиологии, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Мадиров А. – студент кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Акбасова А.Ж. – PhD, доцент кафедры биотехнологии и микробиологии, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Дилдабек А.Б. – Магистр технических наук, младший научный сотрудник лаборатории «Биотехнология растений», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Тлеукулова Ж.Б. – докторант кафедры биологии, научный сотрудник лаборатории «Биотехнология растений», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Стамгалиева З.Б. – Магистр технических наук, младший научный сотрудник лаборатории «Биотехнология растений», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Омаров Р.Т. – заведующий кафедрой биотехнологии и микробиологии, профессор, к.б.н., PhD, заведующий лабораторией «Биотехнология растений», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана 13, Нур-Султан, Казахстан.

Pyassova B.B. – **corresponding author**, Master of Science in Engineering, junior researcher of the «Plant Biotechnology» laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Zhangazin S.B. – Ph.D., Senior Lecturer of the Biotechnology and Microbiology department, Leading researcher at the Plant Biotechnology Laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Madirov A. – Student of the Biotechnology and Microbiology department, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Akbassova A.Zh. – Ph.D., Associate Professor of the Biotechnology and Microbiology department, Leading researcher at the Plant Biotechnology Laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Dildabek A.B. - Master of Science in Engineering, junior researcher of the «Plant Biotechnology» laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Tleukulova Zh.B. – Ph.D. student in Biology, researcher of the «Plant Biotechnology» laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Stamgaliyeva Z.B. – Master of Science in Engineering, junior researcher of the «Plant Biotechnology» laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Omarov R.T. – Head of the Biotechnology and Microbiology Department, Professor, Head of the Plant Biotechnology Laboratory, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan st. 13, Nur-Sultan, Kazakhstan.