

Киргизова Ирина Васильевна

аспирант

ФГБОУ ВО «Омский государственный

технический университет»

г. Омск, Омская область

Ергалиев Тимур Мурзабаевич

д-р PhD, старший преподаватель

Евразийский национальный

университет им. Л.Н. Гумилева

г. Астана, Республика Казахстан

ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКА-СУПРЕССОРА P19 ВИРУСА

TOMATO BUSHY STUNT VIRUS

***Аннотация:** изучение механизмов распространения вирусной инфекции и защитных механизмов у растений является одной из ключевых задач, открывающей новые подходы к пониманию вирусоустойчивости растений и возможности повышения устойчивости основных сельскохозяйственных культур к вирусным инфекциям. Целью работы являлось рассмотрение роли вирусного белка-супрессора РНК-интерференции у растений, пораженных вирусом TBSV.*

***Ключевые слова:** вирусная инфекция, РНК-интерференция, белок-супрессор, P19, Tomato bushy stunt virus.*

Естественным защитным механизмом растений против вирусов является так называемое умолкание генов, или РНК-интерференция (РНКи) – процесс посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, основанный на специфическом узнавании и деградации РНК [1].

Несмотря на эффективное действие защитных механизмов, основанных на сиквенс-специфичном узнавании и деградации РНК вируса, многие вирусы все же способны успешно поражать растения.

В процессе эволюции некоторые вирусы выработали различные стратегии для преодоления защитных механизмов РНК-интерференции растений. Быстрая

сборка вирионов и компартилизация способствует сохранению вирусного генома и защищает от внешних воздействий. Многие вирусы также кодируют специфические белки-супрессоры РНКи.

Использование химических противовирусных соединений часто является неспецифичным и токсичным в отношении растений, человека и животных, что является ограничивающим фактором их применения. Противовирусные вещества в растениях разбавляются и утилизируются, что способствует процессу реинфекции [2].

Исследования по изучению естественных защитных механизмов РНК-интерференции у растений являются актуальными и могут послужить основой для дальнейшей разработки новых эффективных стратегий по борьбе с вирусной инфекцией растений. Одним из примеров вирусных белков-супрессоров является Р19 белок вируса кустистой карликовости томатов.

Вирус кустистой карликовости томатов (Tomato bushy stunt virus (TBSV)) – является вредоносным вирусом, который поражает основные экономически важные сельскохозяйственные культуры. В настоящее время известно, что TBSV поражает более 100 видов растений однодольных и двудольных растений из 20 различных семейств и приводит к снижению их качественных характеристик [10].

Основным путем передачи вирусной инфекции является механический путь распространения вирусной инфекции. Заражение растений происходит через механические повреждения корневой системы, вследствие использования различных орудий и агротехники [4].

Геном вируса TBSV представляет собой положительно полярную +РНК молекулу, длиной 4776 нуклеотидов, с пятью функциональными открытыми рамками считывания (OFR) [3]. Белок-супрессор Р19 вируса TBSV кодируется в открытой рамке считывания – OFR 4 (рис. 1.)



Рис. 1. Организация генома вируса TBSV [6]

P19 подавляет процесс РНК-интерференции, связываясь в димерной форме с вирусными короткими интерферирующими РНК (siRNA) растений для обеспечения системного распространения вирусной инфекции [15; 7].

Белок P19 является патогенным фактором, который необходим в развитии симптомов вирусной инфекции [13]. Впервые действие белка P19 в качестве супрессора РНК-интерференции было продемонстрировано на трансгенных растениях *Nicotiana benthamiana*, экспрессирующих зеленый флуоресцентный белок (GFP) и зараженных X-вирусом картофеля (PVX), который был использован в качестве вектора для экспрессии белка P19 [16]. В результате дальнейших исследований, было установлено, что биологическая активность белка P19 вируса TBSV зависела от его достаточного количества [12; 14].

В результате дальнейших исследований взаимодействия вирусных белков в инфицированных растениях, было установлено, что между белком-супрессором P19 и вирусными дцРНК (siPNA) существуют прямые физические взаимодействия.

Белок P19 связывается с циркулирующими вирусными дцРНК (siPNA) и делает их недоступными для мультибелкового комплекса RISC, в состав которого входят белок семейства Argonaute (AGO) и малые интерферирующие РНК (siRNA), предварительно процесированные эндонуклеазой Dicer [9]. Наличие РНК-компонента в комплексе RISC абсолютно необходимо для его нуклеазной активности [5].

По результатам исследований, проведенных с мутантными штаммами вируса TBSV, лишенным способности экспрессировать белок P19 на модельных растениях *Nicotiana benthamiana*, происходило ярко выраженное морфологическое проявление вирусной инфекции у инфицированных растений, но гибели

растений не наблюдалось, в то же время растения, инфицированные диким типом TBSV погибали (рис. 2) [11].



Контроль

+TBSV

+TBSV без P19 белка

Рис. 2. Морфологические признаки развития инфекции вирусом TBSV в растениях *N. Benthamiana*

Однако при изучении влияния белка P19 вируса *Cymbidium ringspot virus* (CymRSV) на механизм РНК-интерференции у растений *Nicotiana benthamiana* не является ключевым фактором преодоления защитных механизмов растений в борьбе против вирусной инфекции, который приводит к развитию инфекции и гибели растения. Выдвинуто предположение, что ключевым фактором сайленсинга является взаимодействие растительного белка AGO1 и вирусной инфекции [8].

Изучение белков модельного вируса TBSV, поражающего основные сельскохозяйственные культуры и приводящего к большим экономическим потерям, позволяет расширить представления о механизмах взаимодействия растений и вирусов. А также открывает возможность для более детального изучения действия белка-супрессора на распространение вирусной инфекции.

Изучение защитных механизмов растений и их взаимодействия с вирусными белками-супрессорами является актуальным направлением молекулярной

биологии. В дальнейшем исследования РНК-интерференции растений могут служить основой для разработки новых эффективных стратегий борьбы с вирусными инфекциями растений и снижению химической нагрузки при обработке сельскохозяйственных культур.

Список литературы

1. Малиновский В.И. Роль коротких РНК в устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессам / В.И. Малиновский, Г.Б. Боровской, Е.Л. Горбылева и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – №1. – С. 96–103.
2. Шарипова М.Р. Механизмы устойчивости растений к инфекции / М.Р. Шарипова, Н.П. Балабан, А.М. Марданова [и др.] // Ученые записки Казанского университета. – 2013. – Т. 155. – №4. – С. 28–49.
3. Brian W.J.M. H.V. Desk encyclopedia of plant and fungal virology / W.J.M. Brian, H.V. V. Regenmortel // Spain. – 2009. – P. 349–350.
4. Hafeza E.S.E. Tomato bushy stunt virus (TBSV) infecting *Lycopersicon esculentum* / E.S.E. Hafeza, G.A. Saber, F.A. Fattouh // Zeitschrift für Naturforschung C. – 2010. – V. 65. – №9. – P. 619–626.
5. Hammond S.M. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells / S.M. Hammond, E. Bernstein, D. Beach [et al] // Nature. – 2000. – V. 404 – P. 293–296.
6. Hearne P.Q. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus / P.Q. Hearne, D.A. Knorr, B.I. Hillman // Virology. – 1990. – V. 177. – №1. – P. 141–151.
7. Hsieh Y.C. Diverse and newly recognized effects associated with short interfering RNA binding site modifications on the Tomato bushy stunt virus p19 silencing suppressor / Y.C. Hsieh, R.T. Omarov, H.B. Scholthof // Journal of virology. – 2009. – V. 83. – №5. – P. 2188–2200.
8. Kontra L. Distinct effects of p19 RNA silencing suppressor on small RNA mediated pathways in plants / L. Kontra, T. Csorba, M. Tavazza [et al] // PLoS Pathog. – 2016. – V. 12. – №10. – P. e1005935.

9. Lakatos L. Molecular mechanism of RNA silencing suppression mediated by p19 protein of Tombusviruses / L. Lakatos, G. Szittyá, D. Silhavy [et al] // The EMBO journal. – 2004. – V. 23. – №4. – P. 876–884.
10. Omarov R. T. Host-specific generation and maintenance of Tomato bushy stunt virus defective interfering RNAs / R.T. Omarov, J.A. M. Rezende, H.B. Scholthof // Molecular plant-microbe interactions. – 2004. – V. 17. – №2. – P. 195–201.
11. Omarov R.T. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the Tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs / R.T. Omarov, K. Sparks, L. Smith, [et al] // Journal of virology. – 2006. – V. 80. – №6. – P. 3000–3008.
12. Qiu W. Tombusvirus P19-mediated suppression of virus-induced gene silencing is controlled by genetic and dosage features that influence pathogenicity / W. Qiu, J.W. Park, H.B. Scholthof // Molecular plant-microbe interactions. – 2002. – V. 15. – №3. – P. 269–280.
13. Scholthof H.B. The Tombusvirus-encoded P19: from irrelevance to elegance // Nature Reviews Microbiology. – 2006. – V. 4. – №5. – P. 405–411.
14. Scholthof H.B. Biological activity of two tombusvirus proteins translated from nested genes is influenced by dosage control via context-dependent leaky scanning / H.B. Scholthof, B. Desvoyes, J. Kuecker [et al] // Molecular plant-microbe interactions. – 1999. – V. 12. – №8. – P. 670–679.
15. Scholthof H.B. Tomato bushy stunt virus spread is regulated by two nested genes that function in cell-to-cell movement and host-dependent systemic invasion / H.B. Scholthof, K.B.G. Scholthof, M. Kikkert // Virology. – 1995. – V. 213. – №2. – P. 425–438.
16. Voinnet O. Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants / O. Voinnet, Y.M Pinto, D.C. Baulcombe // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – V. 96. – №24. – P. 14147–14152.