

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СУПРЕССИИ РНК ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ВИРУСАМИ РАСТЕНИЙ

Обзор

© 2010 г. Р.Т. Омаров*, Р.И. Берсимбай

*Евразийский национальный университет
им. Л.Н. Гумилева, Казахстан, 10008 Астана,
ул. Мунайтыпасова, 5; электронная почта: rotarov@gmail.com*

Поступила в редакцию 22.02.10

В регуляции экспрессии генов эукариот важную биологическую роль играет молекулярный процесс РНК интерференции (RNA interference (RNAi)). Показано также, что RNAi является адаптивным защитным молекулярно-иммунным механизмом, направленным против вирусных заболеваний. Антивирусная RNAi инициируется с генерации коротких интерферирующих РНК (short interfering RNAs (siRNAs)), которые используются в последующем распознавании и деградации вирусных молекул РНК. В ответ на защитную реакцию растений большинство вирусов кодируют специфические белки, способные противодействовать RNAi, этот процесс известен как супрессия RNAi. Вирусные супрессоры действуют на различных этапах RNAi и обладают биохимическими свойствами, которые позволяют им эффективно противодействовать защитной системе растений. Современные молекулярные и биохимические исследования нескольких вирусных супрессоров значительно расширили наше понимание всей сложности природы супрессии RNAi, а также механизмов взаимодействия между вирусами и растениями.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: РНК интерференция, вирус, растение, супрессор, супрессия.

RNAi, изначально известная как пост-транскрипционное умолчание генов (post-transcriptional gene silencing (PTGS)) в растениях, представляет собой процесс, который играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов. RNAi у высших растений является естественной молекулярной составляющей устойчивости, приводящей к селективному распознаванию вирусов и их последующей деградации.

Изначально пусковым механизмом RNAi является синтез длинных двухцепочечных молекул РНК (dsRNA) [1]. Следующим функциональным шагом RNAi является действие ферментов Dicer (Dicer-like DCL)-(членов группы РНКазы III), катализирующих образование коротких интерферирующих молекул РНК (short interfering RNAs (siRNAs)) или микро РНК (microRNAs (miRNAs)) 20–30 нуклеотидов (нт) длиной с 2 нт липкими 3'-концами [2, 3]. Эти небольшие молекулы РНК могут образовываться в результате энзиматического гидролиза длинных репликативных форм вирусных РНК, а также трансгенов и транспозонов [4, 5]. При вирусной инфекции растений siRNAs могут образовываться непосредственно из вирусного гено-

ма, однако получены данные, указывающие на участие РНК-зависимых РНК полимераз (RNA dependent RNA polymerases (RDRP)) в амплификации данных ключевых РНК молекул [3–6].

Последние исследования на растениях показали, что ферментативное метилирование siRNAs также играет важную функциональную роль в обеспечении стабильности этих молекул от процесса олигоурдилации с их последующей деградацией [7]. Метилирование siRNAs происходит на их 3'-концах, и эта ферментная модификация катализируется метилтрансферазой (HEN1) [8, 9].

В последующем шаге RNAi двухцепочечные молекулы siRNAs расплетаются, и одна из цепей встраивается в многокомпонентный эффекторный комплекс (RNA-induced silencing complex (RISC)) и функционирует в качестве «поисковой матрицы» для распознавания комплементарных нуклеотидных последовательностей специфических транскриптов с их последующим ферментативным гидролизом или трансляционной репрессией [3]. Комплементарное спаривание между нуклеотидами siRNA и заданной РНК обеспечивает эффективное и высокоспецифичное обнаружение нужной цели. В работе [10] показано, что siRNAs и белки семейства Argonaute (AGO) представляют собой универ-

* Адресат для корреспонденции.

сальные компоненты RISC. AGO белки характеризуются наличием специфических консервативных доменов, которые носят название PAZ и PIWI [11]. Структурные исследования показали, что PAZ домен напрямую взаимодействует с siRNA [12]. Более того установлено, что PAZ домен взаимодействует с 3'-концами siRNAs. PIWI домен в AGO белках представляют собой ключевой каталитический центр, так как он обладает эндонуклеазной активностью [10, 13].

В ответ на действие RNAi вирусы выработали специфические стратегии для противодействия молекулярному механизму иммунной устойчивости растений. Наиболее эффективной и действенной контрмерой против RNAi является вирусная супрессия молекулярного иммунного механизма. Например, многие вирусы кодируют специфические белки-супрессоры, которые способны эффективно блокировать RNAi. Экспрессия супрессоров вирусами для противодействия защитной системе растений выдвигает вполне резонное предположение, что изначальной функцией RNAi в растениях было противодействие вирусным патогенам [14].

Многие вирусные белки, известные в настоящее время как супрессоры, изначально были определены как факторы патогенности или вирулентности, так как их экспрессия во многом определяет образование и амплитуду симптомов вирусного заболевания [15]. В большей части экспрессия данных белков не является обязательным фактором для вирусной репликации, однако вирусные супрессоры необходимы для успешной аккумуляции и распространения вирусов в ходе инфекции [16]. К настоящему моменту обнаружено множество вирусных белков, которые обладают супрессорной активностью. Однако описания биохимических механизмов их работы появились в литературе относительно недавно. Последние молекулярные, биохимические и структурные исследования различных вирусных супрессоров позволили детально рассмотреть механизмы супрессии RNAi. Общим свойством всех вирусных супрессоров является их способность к противодействию защитной системе RNAi на ее различных этапах. Данное противодействие является ярким примером сложной и интенсивной «эволюционной борьбы» между вирусами и растениями [17]. Коэволюция между вирусными супрессорами и механизмом RNAi растений также свидетельствует о чрезвычайно сложной природе адаптации вирусов к защитной системе растений.

Целью настоящего обзора является обобщение современных научных данных о молекулярных и биохимических механизмах супрессии RNAi некоторыми вирусами растений.

Potyvirus HC-Pro. Вирусы семейства Potyviridae кодируют супрессор HC-Pro (helper component proteinase), который является классическим примером вирусного мультифункционального белка, ответственного за успешное системное распространение вирусов этого семейства в инфицированном организме. Многочисленными биологическими процессами, в которых функционально участвует белок HC-Pro являются: вирусная репликация, системное и межклеточное движение и белковое расщепление вирусного полибелка [18–20]. Однако наиболее важной биологической функцией HC-Pro является его участие в супрессии RNAi. Первым зафиксированным, но все же косвенным доказательством того, что HC-Pro участвует в супрессии RNAi, было наблюдение, что в трансгенных растениях, экспрессирующих 5'-концевой сегмент генома *Tobacco etch virus* (TEV) (кодирующий P1/HC-Pro сиквенс), происходило усиление симптомов заболевания при заражении другими вирусами [21]. Последующие независимые исследования показали, что белок является стержневым фактором в супрессии RNAi в инфицированных растениях [15, 22, 23]. Дальнейший мутационный анализ вируса показал, что центральный регион HC-Pro необходим для супрессорной деятельности белка, в то время как его N-концевая часть не является обязательной для данной функции [24]. Довольно интересным представляется наблюдение, что HC-Pro взаимодействует с белком rgsCaM, который является эндогенным супрессором RNAi в растениях [25].

Позднее появилось предположение, что механизм действия HC-Pro заключается в ингибировании DCL, так как трансгенная экспрессия вирусного белка в растениях связана с аккумулярованием длинных необработанных dsRNAs [26, 27]. Было также показано, что экспрессия HC-Pro приводит к дефектам в росте и дифференцировке растений *Arabidopsis*, предположительно благодаря ингибированию miRNA-ассоциированного гидролиза РНК транскрипционных факторов [28]. Таким образом, впервые была установлена функциональная связь между молекулярными факторами, вовлеченными в процессы роста и дифференцировки, с одной стороны, и антивирусной RNAi – с другой. Более того, была впервые предложена причина возникновения симптомов заболевания в инфицированных растениях как результат экспрессии вирусного супрессора [29].

Биохимические исследования HC-Pro показали, что его способность формировать димеры и мультимеры является критической для функции в качестве супрессора RNAi [30]. Кроме того, супрессорная функция HC-Pro может быть

также связана с понижением стабильности siRNA, так как трансгенная экспрессия белка приводит к существенно уменьшенной 5'-концевой модификации вирусных 21 нт siRNAs [31]. Более того, было обнаружено, что HC-Pro препятствует функциональному метилированию mi/siRNA [32] и связыванию ds siRNA [33]. Недавние исследования выявили функциональную роль участка FRNK в структуре HC-Pro белка для связывания siRNA и показали, что данная функция взаимосвязана с селективным связыванием miRNAs и степенью амплитуды симптомов вирусного заболевания [34].

Tombusvirus P19. Ранние генетические исследования белка P19, который кодируется геном вирусов семейства Tombusviridae, показали участие белка в процессах репродукции, движения, упаковки РНК и векторной трансмиссии вируса [35]. Позднее было обнаружено, что P19 является важным патогенным фактором, который необходим для развития симптомов инфекции [36]. Например, P19 вируса кустистой карликовости томатов (*Tomato bushy stunt virus* (TBSV)) не оказывает существенного влияния на начальные этапы инфекции в растениях *Nicotiana benthamiana*, но необходим для системного вторжения в другие организмы, такие как перец (*Capsicum annuum*) и шпинат (*Spinacia oleracea*) [37, 38]. Участие P19 в супрессии RNAi было впервые продемонстрировано на трансгенных растениях, экспрессирующих зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein (GFP)), инфицированных картофельным вирусом X (*Potato virus X* (PVX)), который был использован в качестве вектора для экспрессии P19 [39]. Дальнейшие исследования показали решающую роль TBSV P19 в защите вирусной РНК в ходе системной инфекции в растениях *N. benthamiana* [40, 41]. Более того, биологическая активность белка зависела от его количества, т.е. успешная инфекция, сила симптомов, а также стабильность вирусной РНК требуют достаточного высокого уровня экспрессии P19 [41, 42].

Вероятно наиболее весомым объяснением функции того или иного белка является определение его структуры. Исследования, проведенные двумя независимыми научными группами, полученные методом рентгеновской кристаллографии, указали на существование комплекса между димерами P19 и двухцепочечными молекулами siRNA [43, 44]. Данные структурные исследования выдвинули первое объяснение возможного молекулярного механизма работы вирусного супрессора в процессе блокирования RNAi. Более того, прямое физическое взаимодействие между P19 и вирусными siRNAs было также обнаружено *in planta*, т.е. в инфицирован-

ных растениях [45, 46]. Эти исследования выявили существование корреляции между способностью P19 эффективно связывать siRNA и амплитудой симптомов вирусного заболевания в некоторых растениях [47].

Таким образом, функция P19 в качестве вирусного супрессора состоит в том, что в ходе инфекции белок P19 связывает обильно циркулирующие вирусные siRNA, делая их недоступными для программирования RISC, активность которого направлена на разрушение вирусной РНК. В результате этого происходит аккумуляция вирусных молекул РНК в инфицированном организме. Доказательством в поддержку данной модели служит тот факт, что инфекция *N. benthamiana* с дефектными по P19 мутантами TBSV ассоциирована с присутствием в растениях RISC комплекса, который содержит вирусные siRNA и имеет специфичную рибонуклеазную активность [48, 49]. Также было показано, что P19 препятствует процессу защитного метилирования miRNAs [32]. Таким образом, есть основание предполагать, что способность P19 связывать siRNA может препятствовать работе фермента HEN1, ответственного за метилирование siRNA (это было показано для некоторых других вирусных супрессоров).

Cucumovirus 2b. Подобно HC-Pro, белок 2b, кодируемый вирусами семейства Cucumovirus, один из первых выявленных супрессоров RNAi. В экспериментах с GFP-трансгеном показано, что экспрессия 2b противодействует RNAi [15]. Исследования с суспензионными клетками табака и целыми растениями показали наличие аргинин-обогащенного сигнала ядерной локализации (nuclear localization signal (NLS)) в структуре 2b, который отвечает за расположение белка в ядре клетки. Мутации в NLS приводят к уменьшению супрессорной активности белка, указывая на необходимость ядерной локализации 2b для осуществления функции супрессора [50]. Последующие исследования показали, что 2b сдерживает распространение межклеточного сигнала RNAi и ингибирует процесс ДНК метилирования в ядре [51]. Интересно, что 2b также участвует в блокировании механизма устойчивости растений к вирусам посредством салициловой кислоты, однако каким образом это имеет отношение к супрессорной функции белка, остается неясным [52].

Последние исследования показали, что экспрессия 2b существенно уменьшает накопление 21, 22 и 24 нт типов siRNAs, генерация которых катализируется ферментами DCL4, DCL2, и DCL3 соответственно [53]. Более того, отсутствие инфективности у 2b-дефектного вируса компенсируется в растениях с двойными мута-

циями *dcl2* и *dcl4*, дефектными в синтезе 21 и 22 нт siRNAs [53].

Супрессия RNAi белком 2b также ассоциирована со связыванием молекул siRNA. Показано, что белок 2b мутантного варианта CMV (имеющего замену одной аминокислоты в 2b и слабое инфицирование растений) был в значительной степени дефектен и в способности связывания siRNA [54]. Это может свидетельствовать о том, что способность вирусного супрессора «крепко связывать» siRNA является важным фактором патогенности вируса.

Недавние исследования показали, что в отличие от большинства известных вирусных супрессоров, 2b непосредственно взаимодействует *in vitro* и *in vivo* с AGO1, который является каталитическим центром RISC комплекса [55]. Более того, обнаружено, что взаимодействие между 2b и AGO1 ведет к специфическому ингибированию ферментативного гидролиза РНК-нуклеазным комплексом.

Способность 2b непосредственно взаимодействовать с RISC для снижения его активности является наглядным примером сложности совместной эволюции и адаптации растений и вирусов.

Polerovirus P0. *Beet western yellows virus* (BWYV), представитель семейства Poleroviridae, кодирует белок P0, который является сильным супрессором RNAi. Впервые это было обнаружено в экспериментах с агроинфильтрацией вирусного белка в листья GFP трансгенных растений *N. benthamiana* [56]. Последующие исследования не выявили РНК-связывающей способности P0, однако было обнаружено, что белок взаимодействует с гомологом S-фазной киназы 1 (S-phase kinase-related protein 1 (SKP1)), который является компонентом SCF семейства убиквитин E3 лигазы [57]. Данное взаимодействие осуществляется посредством, так называемого, F-бокс домена вирусного белка. Точечные мутации в F-боксе предотвращают взаимодействие с SKP1-гомологом и одновременно уменьшают патогенность вируса [57]. Соответственно, выключение экспрессии гена гомолога SKP1 в растениях *N. benthamiana* приводит к устойчивости растения к вирусной инфекции.

Позднее было обнаружено, что экспрессия P0 в трансформированных растениях *Arabidopsis* приводит к различным аномалиям в развитии растений и повышенному уровню некоторых miRNA-целевых транскриптов, указывая на P0 действие на уровне RISC комплекса [58]. Весьма интересно, что экспрессия P0 вызывает деградацию AGO1 белка в *in planta* и P0 физически взаимодействует с AGO1 [58]. Параллельные биохимические исследования по механизму P0 суп-

рессии RNAi показали, что F-бокс белок взаимодействует с PAZ доменом в AGO1. F-бокс белки являются компонентами комплексов E3 убиквитин лигазы, которые маркируют белок для протеасомной деградации [59] и, возможно, упомянутое выше взаимодействие с SKP1 является функционально важным. Примечательно, что данное взаимодействие завершается протеолитической деградацией AGO1. Однако остается неясным, что конкретно приводит к деградации AGO1, так как данный процесс не чувствителен к специфичному ингибитору протеасомной активности [59].

Таким образом, способность P0 вызывать AGO1 деградацию, является дополнительным примером всей сложности процесса вирусной адаптации к защитному механизму RNAi.

Tobamovirus репликаза. *Tobacco mosaic virus* (TMV) приводит к активации защитную RNAi в растениях, так как вирусная инфекция сопровождается генерацией вирусных siRNA [60, 61]. Геном TMV кодирует белок 126 кДа, ответственный за репликацию вируса и его движение, и, как было позднее обнаружено, также вовлеченный в супрессию RNAi [62]. Также TMV-родственный вирус мозаики томатов (*Tomato mosaic virus* (ToMV)) кодирует 130 кДа репликационный белок супрессор RNAi [63]. Более того, единичная аминокислотная замена в ToMV репликазе приводит к отсутствию симптомов в течение вирусного заражения.

Биохимические эксперименты по изучению взаимодействия TMV репликазы с молекулами РНК указывают, что данный белок имеет способность связывать короткие молекулы siRNA [61]. Подобно TMV, другой репликационный белок 122 кДа штамма вируса (cg-TMV), инфицирующего растения семейства крестоцветные, также способен связать 21 нт siRNAs и спаренные miRNA, таким образом предотвращая их встраивание в RISC [64]. Более того было показано, что siRNA связывающая способность белка не препятствует активности уже пре-программированного RISC, указывая на необратимость механизма программирования нуклеазного комплекса.

Последние исследования указывают на то, что инфекция TMV препятствует метилированию siRNA ферментом HEN1 метилтрансферазой [65, 66]. К тому же, данный эффект и формирование симптомов заболевания были непосредственно связаны с экспрессией репликационного белка 126 кДа [66]. Однако остается неясным, влияет ли данный супрессор непосредственно на активность HEN1, или же он участвует в процессе деметилирования уже преметилированных молекул siRNA. Интересным и в опреде-

ленной мере противоречивым является факт, что экспрессия репликазного белка 122 кДа *cr*-TMV сопряжена с увеличенной аккумуляцией молекул siRNA, несмотря на его негативное влияние на HEN1 метилтрансферазу, активность которой необходима для поддержания стабильности молекул siRNA [64].

Closterovirus P21. Ранние исследования с *Beet yellows virus* (BYV) продемонстрировали, что белок 21 кДа (P21) супрессирует РНК-индуцированное уменьшение экспрессии белка GFP [67]. Супрессия RNAi была также выявлена для гомолога P21, кодируемого другими членами семейства Closteroviridae. Более того, в инфицированных растениях BYV P21 обнаруживается в клетке в качестве растворимого белка цитоплазмы, а также в форме нерастворимых белковых тел на периферии клетки. Другой гомолог P21 вируса *Citrus tristeza* супрессирует RNAi на внутриклеточном и межклеточном уровнях [68]. Биохимические тесты показали, что P21 взаимодействует со спаренными miRNAs и siRNAs *in vivo* [29]. Способность P21 выборочно связывать спаренные siRNAs была подтверждена в других исследованиях [33]. Примечательно, что подобно P19, P21 не воздействует на активность RISC комплекса, но препятствует процессу miRNA метилирования [32].

Структурные исследования выявили взаимодействие альфа-спиральных мономеров белка P21, в которых N- и C-концевые участки белка соприкасаются с соседними мономерами посредством симметрических head-to-head, tail-to-tail взаимодействий [69]. Белок формирует октамерические кольца с центральной впадиной диаметром ~90 Å и позитивно-заряженной внутренней поверхностью кольца, которая, вероятно, играет роль в связывании молекул siRNAs. Более того было показано, что в противоположность селективному взаимодействию *Tombusvirus* P19 с молекулами siRNA длиной 21 нт, BYV P21 образует связывающую поверхность, отвечающую за электростатическое взаимодействие с siRNAs 21 нт, а также более длинными ss- и dsRNAs *in vitro*. Невольно хочется предположить, что способность P21 связывать длинные dsRNAs вовлекает дополнительную супрессивную деятельность белка, возможно на уровне синтеза молекул siRNAs.

В заключение, P21 представляет собой вирусный супрессор RNAi, который подобно ранее обсуждаемым примерам, препятствует программированию RISC, необходимого для нуклеазной деградации вирусной РНК.

Белок оболочки Turnip crinkle virus (TCV). Белок оболочки р38 (CP/р38) *Turnip crinkle virus* (TCV) представляет собой еще один пример ви-

русного белка, проявляющего множественные биологические функции. Наряду с его структурной ролью в формировании вируса, было показано, что данный белок отвечает за системное распространение и межклеточное движение вируса [70, 71]. Более того, TCV CP функционирует как важный фактор образования симптомов заболевания в ходе инфекции, а также воздействует на модуляцию симптомов в присутствии сателлитных вирусных РНК [72].

Первым признаком возможного участия TCV CP в супрессии RNAi было наблюдение, что данный белок восполняет супрессорный недостаток TBSV P19-дефектного мутанта [40]. Последующие эксперименты, включающие метод инфильтрации *Agrobacterium*, показали, что TCV CP действительно является сильным супрессором RNAi [73, 74]. Более того, TCV CP препятствовал аккумуляции вирусных siRNAs [73].

Последующие исследования показали, что, в отличие от P19 и HC-Pro, TCV CP связывает dsRNAs вне зависимости от размера молекул, т.е. белок также связывает длинные dsRNAs [75]. Это означает, что взаимодействие CP:dsRNA может препятствовать доступности субстрата (dsRNAs) для DCL нуклеазы, что приводит к уменьшению аккумуляции siRNAs. Действительно, последние исследования установили решающую роль р38 в ингибировании DCL4, который отвечает за продукцию 21 нт вирусных siRNAs [2]. Интересно, что р38 не препятствует активности DCL2 фермента, который необходим для синтеза 22 нт siRNAs. Более того, результаты данной работы показали, что деятельность супрессора р38 не зависит от вирион-формирующей функции белка.

Небольшие цистеин-обогащенные белки. Цистеин-обогащенные белки, кодируемые вирусами, которые принадлежат семействам *Hordeivirus*, *Tobravirus*, *Pecluvirus*, *Furovirus* и *Carlavirus*, не проявляют существенного родства, однако они обладают структурным сходством и играют важную роль в вирусных инфекциях, и функционируют в качестве патогенных вирусных факторов [76–79].

Tobravirus 16K. Способность *Tobacco rattle virus* (TRV), члена семейства Тобравируса, супрессировать RNAi впервые была обнаружена при инокуляции вирусом GFP-экспрессирующих трансгенных растений [39] с последовавшей идентификацией 16 кДа цистеин-обогащенного белка (16K) в качестве супрессора [77]. В процессе инфекции этот белок играет ключевую роль для эффективной аккумуляции TRV. Более того, мутационная инактивация гена 16K компенсировалась соэкспрессией CMV 2b, что указывало на функциональное сходство белков

в механизме супрессии RNAi. Более того, обнаружено, что белок 16K в состоянии частично супрессировать RNAi в клетках *Drosophila* [80]. Последующие трансформационные эксперименты с использованием *Agrobacterium* на GFP-трансгенных растениях *N. benthamiana* показали, что для активности 16K требуется экспрессия полной последовательности белка [81]. Экспрессия 16K ведет к незначительному уменьшению уровня аккумуляции GFP siRNAs, подчеркивая важную роль белка в супрессии начальных этапов RNAi в инфицированных растениях [81]. Последние данные свидетельствуют, что TRV-16K блокирует RNAi до момента образования dsRNA, так как супрессионная активность белка нивелировалась с увеличением дозы dsRNA [82].

Hordeivirus γ b. *Barley stripe mosaic virus* (BSMV) кодирует 17кДа цистеин-обогащенный белок γ b, который не является обязательным для репликации и движения вируса, но существенно воздействует на процесс патогенеза [83]. Первый косвенный признак возможного участия γ b в супрессии RNAi был получен в экспериментах с использованием мутанта TRV, который не экспрессирует р16. Показано, что отсутствие белка может быть компенсировано экспрессией BSMV γ b [77]. Аналогично, мутант BSMV с недостающей экспрессией γ b был неспособен к системному движению в растении, однако данный функциональный дефект не наблюдался в трансгенных растениях, экспрессирующих противирусный супрессор HC-Pro, одновременно указывая на важную роль γ b в системном движении и его участии в супрессии RNAi [84].

В дальнейшем было показано, что С-терминальная часть γ b формирует спиральную струк-

туру и участвует в межбелковых взаимодействиях, а также является критической в супрессии RNAi [85]. Интересным представляется наблюдение, что *Poa semilatent virus* (PSV), который кодирует γ b, локализуется в цитоплазме и пероксиосомах [86].

Биохимические анализы показали, что BSMV γ b взаимодействует с ssRNAs посредством трех Zn-связующих участков, находящихся на N-терминальной части белка [78, 87]. Более того, РНК связывающая способность γ b белка существенно стимулируется в присутствии Zn ионов [88].

Несмотря на необходимость получения дальнейших биохимических данных, эти результаты дают основание предполагать, что взаимодействие вирусного белка с РНК является ключевой функцией γ b в супрессии RNAi.

Современные молекулярные и биохимические исследования некоторых вирусных супрессоров значительно расширили наши представления о вирусных стратегиях супрессии RNAi. Вирусные супрессоры обладают широким спектром биохимических свойств, необходимых для борьбы с RNAi на разных стадиях этой защитной системы.

Для более полного изучения механизма молекулярных отношений между защитной системой организма и вирусами необходимы дальнейшие детальные молекулярные, биохимические и структурные исследования вирусных супрессоров. Со временем эти знания могут быть реализованы для развития эффективных стратегий создания растений устойчивых к вирусным патогенам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E., and Mello, C.C. (1998) *Nature*, **391**, 806–811.
2. Deleris, A., Gallego-Bartolome, J., Bao, J., Kasschau, K.D., Carrington, J.C., and Voinnet, O. (2006) *Science*, **313**, 68–71.
3. Ding, S.W., and Voinnet, O. (2007) *Cell*, **130**, 413–426.
4. Diaz-Pendon, J.A., and Ding, S.W. (2008) *Annu. Rev. Phytopathol.*, **46**, 303–326.
5. Moissiard, G., Parizotto, E.A., Himber, C., and Voinnet, O. (2007) *RNA*, **13**, 1268–1278.
6. Vaistij, F.E., and Jones, L. (2009) *Plant Physiol.*, **149**, 1399–1407.
7. Li, J., Yang, Z., Yu, B., Liu, J., and Chen, X. (2005) *Curr. Biol.*, **15**, 1501–1507.
8. Park, W., Li, J., Song, R., Messing, J., and Chen, X. (2002) *Curr. Biol.*, **12**, 1484–1495.
9. Yang, Z., Vilkaitis, G., Yu, B., Klimasauskas, S., and Chen, X. (2007) *Methods Enzymol.*, **427**, 139–154.
10. Rand, T.A., Ginalski, K., Grishin, N.V., and Wang, X. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 14385–14389.
11. Cerutti, L., Mian, N., and Bateman, A. (2000) *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 481–482.
12. Song, J.J., Liu, J., Tolia, N.H., Schneiderman, J., Smith, S.K., Martienssen, R.A. et al. (2003) *Nat. Struct. Biol.*, **10**, 1026–1032.
13. Song, J.J., Smith, S.K., Hannon, G.J., and Joshua-Tor, L. (2004) *Science*, **305**, 1434–1437.
14. Li, F., and Ding, S.W. (2006) *Annu. Rev. Microbiol.*, **60**, 503–531.
15. Brigneti, G., Voinnet, O., Li, W.X., Ji, L.H., Ding, S.W., and Baulcombe, D.C. (1998) *EMBO J.*, **17**, 6739–6746.
16. Scholthof, H. B. (2005) *Trends Plant Sci.*, **10**, 376–382.
17. Scholthof, H.B. (2007) *Plant Physiol.*, **145**, 1110–1117.
18. Cronin, S., Verchot, J., Haldeman-Cahill, R., Schaad, M.C., and Carrington, J.C. (1995) *Plant Cell*, **7**, 549–559.
19. Verchot, J., Herndon, K.L., and Carrington, J.C. (1992) *Virology*, **190**, 298–306.

20. Kasschau, K.D., and Carrington, J.C. (1995) *Virology*, **209**, 268–273.
21. Vance, V.B., Berger, P.H., Carrington, J.C., Hunt, A.G., and Shi, X.M. (1995) *Virology*, **206**, 583–590.
22. Anandalakshmi, R., Pruss, G.J., Ge, X., Marathe, R., Mallory, A.C., Smith, T.H. et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 13079–13084.
23. Kasschau, K.D., and Carrington, J.C. (1998) *Cell*, **95**, 461–470.
24. Kasschau, K.D., and Carrington, J.C. (2001) *Virology*, **285**, 71–81.
25. Anandalakshmi, R., Marathe, R., Ge, X., Herr, J.M., Jr., Mau, C., Mallory, A., et al. (2000) *Science*, **290**, 142–144.
26. Dunoyer, P., Lecellier, C.H., Parizotto, E.A., Himber, C., and Voinnet, O. (2004) *Plant Cell*, **16**, 1235–1250.
27. Mallory, A.C., Reinhart, B.J., Bartel, D., Vance, V.B., and Bowman, L.H. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15228–15233.
28. Kasschau, K.D., Xie, Z., Allen, E., Llave, C., Chapman, E.J., Krizan, K.A. et al. (2003) *Dev. Cell*, **4**, 205–217.
29. Chapman, E.J., Prokhnevsky, A.I., Gopinath, K., Dolja, V.V., and Carrington, J.C. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 1179–1186.
30. Plisson, C., Drucker, M., Blanc, S., German-Retana, S., Le Gall, O., Thomas, D. et al. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 23753–23761.
31. Ebhardt, H. A., Thi, E.P., Wang, M.B., and Unrau, P.J. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13398–13403.
32. Yu, B., Chapman, E.J., Yang, Z., Carrington, J.C., and Chen, X. (2006) *FEBS Lett.*, **580**, 3117–3120.
33. Lakatos, L., Csorba, T., Pantaleo, V., Chapman, E.J., Carrington, J.C., Liu, Y.P. et al. (2006) *EMBO J.*, **25**, 2768–2780.
34. Shibolet, Y.M., Haronsky, E., Leibman, D., Arazi, T., Wassenegger, M., Whitham, S.A. et al. (2007) *J. Virol.*, **81**, 13135–13148.
35. Russo, M., Burgyan, J., and Martelli, G.P. (1994) *Adv. Virus Res.*, **44**, 381–428.
36. Scholthof, H.B. (2006) *Nat. Rev. Microbiol.*, **4**, 405–411.
37. Chu, M., Desvoyes, B., Turina, M., Noad, R., and Scholthof, H.B. (2000) *Virology*, **266**, 79–87.
38. Turina, M., Omarov, R., Murphy, J.F., Bazaldua-Hernandez, C., Desvoyes, B., and Scholthof, H.B. (2003) *Mol. Plant Pathol.*, **4**, 67–72.
39. Voinnet, O., Pinto, Y.M., and Baulcombe, D.C. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 14147–14152.
40. Qu, F., and Morris, T.J. (2002) *Mol. Plant Microbe Interact.*, **15**, 193–202.
41. Qiu, W., Park, J.W., and Scholthof, H.B. (2002) *Mol. Plant Microbe Interact.*, **15**, 269–280.
42. Scholthof, H.B., Desvoyes, B., Kuecker, J., and Whitehead, E. (1999) *Mol. Plant Microbe Interact.*, **12**, 670–679.
43. Ye, K., Malinina, L., and Patel, D.J. (2003) *Nature*, **426**, 874–878.
44. Vargason, J.M., Szittyta, G., Burgyan, J., and Tanaka Hall, T.M. (2003) *Cell*, **115**, 799–811.
45. Lakatos, L., Szittyta, G., Silhavy, D., and Burgyan, J. (2004) *EMBO J.*, **23**, 876–884.
46. Omarov, R., Sparks, K., Smith, L., Zindovic, J., and Scholthof, H.B. (2006) *J. Virol.*, **80**, 3000–3008.
47. Hsieh, Y.C., Omarov, R.T., and Scholthof, H.B. (2009) *J. Virol.*, **83**, 2188–2200.
48. Pantaleo, V., Szittyta, G., and Burgyan, J. (2007) *J. Virol.*, **81**, 3797–3806.
49. Omarov, R.T., Ciomperlik, J.J., and Scholthof, H.B. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 1714–1719.
50. Lucy, A.P., Guo, H.S., Li, W.X., and Ding, S.W. (2000) *EMBO J.*, **19**, 1672–1680.
51. Guo, H.S., and Ding, S.W. (2002) *EMBO J.*, **21**, 398–407.
52. Ji, L.H., and Ding, S.W. (2001) *Mol. Plant Microbe Interact.*, **14**, 715–724.
53. Diaz-Pendon, J.A., Li, F., Li, W.X., and Ding, S.W. (2007) *Plant Cell*, **19**, 2053–2063.
54. Goto, K., Kobori, T., Kosaka, Y., Natsuaki, T., and Masuta, C. (2007) *Plant Cell Physiol.*, **48**, 1050–1060.
55. Zhang, X., Yuan, Y.R., Pei, Y., Lin, S.S., Tuschl, T., Patel, D.J. et al. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 3255–3268.
56. Pfeffer, S., Dunoyer, P., Heim, F., Richards, K.E., Jonard, G., and Ziegler-Graff, V. (2002) *J. Virol.*, **76**, 6815–6824.
57. Pazhouhandeh, M., Dieterle, M., Marocco, K., Lechner, E., Berry, B., Braut, V. et al. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 1994–1999.
58. Bortolamiol, D., Pazhouhandeh, M., Marocco, K., Genschik, P., and Ziegler-Graff, V. (2007) *Curr. Biol.*, **17**, 1615–1621.
59. Baumberger, N., Tsai, C.H., Lie, M., Havecker, E., and Baulcombe, D.C. (2007) *Curr. Biol.*, **17**, 1609–1614.
60. Molnar, A., Csorba, T., Lakatos, L., Varallyay, E., Lacomme, C., and Burgyan, J. (2005) *J. Virol.*, **79**, 7812–7818.
61. Kurihara, Y., Inaba, N., Kutsuna, N., Takeda, A., Tagami, Y., and Watanabe, Y. (2007) *J. Gen. Virol.*, **88**, 2347–2352.
62. Ding, X.S., Liu, J., Cheng, N.H., Folimonov, A., Hou, Y.M., Bao, Y. et al. (2004) *Mol. Plant Microbe Interact.*, **17**, 583–592.
63. Kubota, K., Tsuda, S., Tamai, A., and Meshi, T. (2003) *J. Virol.*, **77**, 11016–11026.
64. Csorba, T., Bovi, A., Dalmay, T., and Burgyan, J. (2007) *J. Virol.*, **81**, 11768–11780.
65. Akbergenov, R., Si-Ammour, A., Blevins, T., Amin, I., Kutter, C., Vanderschuren, H. et al. (2006) *Nucl. Acids Res.*, **34**, 462–471.
66. Vogler, H., Akbergenov, R., Shivaprasad, P.V., Dang, V., Fasler, M., Kwon, M.O. et al. (2007) *J. Virol.*, **81**, 10379–10388.
67. Reed, J.C., Kasschau, K.D., Prokhnevsky, A.I., Gopinath, K., Pogue, G.P., Carrington, J.C. et al. (2003) *Virology*, **306**, 203–209.
68. Lu, R., Folimonov, A., Shintaku, M., Li, W.X., Falk, B.W., Dawson, W.O. et al. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 15742–15747.
69. Ye, K., and Patel, D.J. (2005) *Structure*, **13**, 1375–1384.
70. Hacker, D.L., Petty, I.T., Wei, N., and Morris, T.J. (1992) *Virology*, **186**, 1–8.
71. Li, W.Z., Qu, F., and Morris, T.J. (1998) *Virology*, **244**, 405–416.
72. Kong, Q., Oh, J.W., and Simon, A.E. (1995) *Plant Cell*, **7**, 1625–1634.
73. Qu, F., Ren, T., and Morris, T.J. (2003) *J. Virol.*, **77**, 511–522.
74. Thomas, C.L., Leh, V., Lederer, C., and Maule, A.J. (2003) *Virology*, **306**, 33–41.
75. Merai, Z., Kerenyi, Z., Kertesz, S., Magna, M., Lakatos, L., and Silhavy, D. (2006) *J. Virol.*, **80**, 5747–5756.
76. Dunoyer, P., Pfeffer, S., Fritsch, C., Hemmer, O., Voinnet, O., and Richards, K.E. (2002) *Plant J.*, **29**, 555–567.
77. Liu, H., Reavy, B., Swanson, M., and MacFarlane, S.A. (2002) *Virology*, **298**, 232–239.
78. Bragg, J.N., Lawrence, D.M., and Jackson, A.O. (2004) *J. Virol.*, **78**, 7379–7391.
79. Koonin, E.V., Boyko, V.P., and Dolja, V.V. (1991) *Virology*, **181**, 395–398.
80. Reavy, B., Dawson, S., Canto, T., and MacFarlane, S.A. (2004) *BMC Biotechnol.*, **4**, 18.
81. Ghazala, W., Waltermann, A., Pilot, R., Winter, S., and Varrelmann, M. (2008) *J. Gen. Virol.*, **89**, 1748–1758.
82. Martinez-Priego, L., Donaire, L., Barajas, D., and Llave, C. (2008) *Virology*, **376**, 346–356.

83. Petty, I.T., French, R., Jones, R.W., and Jackson, A.O. (1990) *EMBO J.*, **9**, 3453–3457.
84. Yelina, N.E., Savenkov, E.I., Solovyev, A.G., Morozov, S.Y., and Valkonen, J.P. (2002) *J. Virol.*, **76**, 12981–12991.
85. Bragg, J.N., and Jackson, A.O. (2004) *Mol. Plant Pathol.*, **5**, 465–481.
86. Yelina, N.E., Erokhina, T.N., Lukhovitskaya, N.I., Minina, E.A., Schepetilnikov, M.V., Lesemann, D.E. et al. (2005) *J. Gen. Virol.*, **86**, 479–489.
87. Donald, R.G., and Jackson, A.O. (1996) *J. Gen. Virol.*, **77**, 879–888.
88. Rakitina, D.V., Yelina, N.E., and Kalinina, N.O. (2006) *FEBS Lett.*, **580**, 5077–5083.

MOLECULAR MECHANISMS OF SILENCING SUPPRESSION BY PLANT VIRUSES

R. T. Omarov, R. I. Bersimbai

*L. N. Gumilyov Eurasian National University,
Munaitpasova, 5, Astana, Kazakhstan*

Received February 22, 2010

RNA interference (RNAi) plays numerous biological functions in eukaryotic organisms in regulation of gene expression. It is now known that RNAi also operates as a conserved molecular immune mechanism against invading viruses. The antiviral RNAi pathway is triggered by the generation of virus-derived short-interfering RNAs (siRNAs) that are used for subsequent sequence-specific recognition and degradation of the viral RNAs. As a robust counter-defensive strategy, many plant viruses evolved specific proteins capable of interfering with RNAi. Virus-encoded suppressors of RNAi act at different steps in the RNAi pathway and display distinct biochemical properties that enable these proteins to efficiently interfere with the host's defense system. In this review we describe current knowledge on molecular mechanisms of selected silencing suppressors with regards to their biological role of suppressing RNAi in plants.

Key words: RNA interference, RNAi, virus, plant, mutant, suppression, suppressor