



ҚР БҒМ ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ «МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ
РЕСПУБЛИКАЛЫҚ КОЛЛЕКЦИЯСЫ» РМК

«Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ
УНИВЕРСИТЕТІ» ҚеАҚ

Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған
«Микробиология, биотехнология және биоалуантүрліліктің өзекті
мәселелері» атты Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясының
МАТЕРИАЛДАРЫ

МАТЕРИАЛЫ

Международной научно-практической конференции
«Актуальные проблемы микробиологии, биотехнологии и
биоразнообразия», посвященной 30-летию Независимости Республики
Казахстан

MATERIALS

of the International Scientific and Practical Conference "Actual Problems of
Microbiology, Biotechnology and Biodiversity", dedicated to the 30th
anniversary of the Independence of the Republic of Kazakhstan



Нұр-Сұлтан
2021

Қазақстан Республикасының Білім және ғылым министрлігі

Ғылым Комитеті «Микроорганизмдердің Республикалық Коллекциясы» РМК
«Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия Ұлттық Университеті» ҚеАҚ

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»
Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан
НАО «Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева»

Committee of Science of the Ministry of Education and Science of the Republic of
Kazakhstan RSE «Republican collection of microorganisms»
The NJSC “The L.N. Gumilyov Eurasian National University”

**Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған
«Микробиология, биотехнология және биоалуантүрліліктің өзекті
мәселелері» атты Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясының
МАТЕРИАЛДАРЫ**

МАТЕРИАЛЫ

**Международной научно-практической конференции
«Актуальные проблемы микробиологии, биотехнологии и
биоразнообразия», посвященной 30-летию Независимости Республики
Казахстан**

MATERIALS

**of the International Scientific and Practical Conference "Actual Problems of
Microbiology, Biotechnology and Biodiversity", dedicated to the 30th
anniversary of the Independence of the Republic of Kazakhstan**

Нұр-Сұлтан – Нур-Султан – Nur-Sultan

2021

УДК 60
ББК 30.16

ISBN 978-601-337-587-8

Ұйымдастырушы комитеті:

Абитаева Г. К. Шапекова Н.Л., Сармурзина З.С.
Темирханов А.Ж., Текебаева Ж.Б., Бисенова Г.Н., Сулеймен Е.М.,
Тыныбаева И.К., Шайхин С.М., Искакова А.Н.,

Қ 18

Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Микробиология, биотехнология және биоалуантүрліліктің өзекті мәселелері» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция. - 2021 ж. 17 қыркүйек. - Нұр-Сұлтан қ.: 192 - б.

Жинаққа Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Микробиология, биотехнология және биоалуантүрліліктің өзекті мәселелері» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференцияға қатысқан зерттеушілердің, университет оқытушыларының, студенттердің, магистранттардың, докторанттардың ғылыми мақалаларының тезистері келесі ғылыми бағыттар бойынша енгізілген: биоалуантүрлілікті сақтау - микроорганизмдер, өсімдіктер мен жануарлар; микробтық және "жасыл" технологиялар; молекулалық биология, гендік инженерия және микроорганизмдердің геномикасы; антибиотиктер, биофармацевтика және фармакология; ауыл шаруашылығы, тағам өнеркәсібі және медицинадағы биотехнология; биологиялық ғылымдар саласындағы жоғары оқу орындарының білім беру қызметі; биоинформатика және биостатистика.

Организационный комитет:

Абитаева Г.К., Шапекова Н.Л., Сармурзина З.С.
Темирханов А.Ж., Текебаева Ж.Б., Бисенова Г.Н., Сулеймен Е.М.,
Тыныбаева И.К., Шайхин С.М., Искакова А.Н.

Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы микробиологии, биотехнологии и биоразнообразия», посвященная 30-летию Независимости Республики Казахстан. - 17 сентября 2021 г. - г. Нур-Султан: 192 -стр.

В сборник вошли тезисы научных статей научных работников, преподавателей ВУЗов, студентов, магистрантов, докторантов, участвовавших в Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы микробиологии, биотехнологии и биоразнообразия», посвященной 30-летию Независимости Республики Казахстан по следующим научным направлениям: сохранение биоразнообразия - микроорганизмы, растения и животные; микробные и «зеленые» технологии; молекулярная биология, геномная инженерия и геномика микроорганизмов; антибиотики, биофармацевтика и фармакология; биотехнология в сельском хозяйстве, пищевой промышленности и медицине; образовательная деятельность в высших учебных заведениях области биологических наук; биоинформатика и биостатистика.

УДК 60
ББК 30.16

ISBN 978-601-337-587-8

©Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2021

А.А. Мадиров¹, Р.Ж. Ермухамбетова¹, Р.Т. Омаров¹

¹ *Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан*

Филогенетические взаимоотношения p19-подобных белков экспрессируемые представителями семейства вирусов *Tombusviridae*

Аннотация. P19-подобные белки, кодируемые различными вирусами, являются мощными супрессорами РНК-интерференции – основного молекулярного механизма борьбы растений с инвазивными патогенами. Вследствие длительных эволюционных процессов вирусы развили специфические белки, участвующие в подавлении РНК интерференции. Данная работа посвящена исследованию филогенетических взаимодействий трех родов семейства *Tombusviridae*, изученных на основе нуклеотидных и аминокислотных последовательностей супрессорных белков. Анализ содержал дискретные методы построения филогенетических деревьев. Полученные данные демонстрируют вероятность происхождения P19 белка вирусов рода *Tombusvirus* и *Zeavirus* от одного общего предка. У вирусов, входящих в род *Aureusvirus*, выявлена функциональная утрата специфичности супрессора к количеству нуклеотидных последовательностей двухцепочечных молекул РНК. Изучена роль первых двух α -спиралей в размерной специфичности к двухцепочечным РНК. Выдвинуто предположение о существовании нового рода в семействе *Tombusviridae* включающий вирус *RicevirusA*.

Ключевые слова: белки-супрессоры, p19, РНК-интерференция, *Aureusvirus*, *Tombusvirus*, *Zeavirus*

Введение. Вирусы, против которых направлен механизм RNAi, в течение эволюции подверглись жесткому естественному отбору, поспособствовавшему появлению и развитию разнообразных механизмов подавления RNAi. Для многих вирусов были выявлены и охарактеризованы различные белки-супрессоры RNAi [8]. Одним из основных механизмов подавления RNAi является процесс связывания белка-супрессора с одним из компонентов RNAi. Например, капсидные белки вирусов рода *Carmovirus* (Alpha-, Beta- и Gamma-) связываются с белком Ago 1 через GW/WG мотив [1]. В результате белок Ago1 теряет возможность образовывать белковый комплекс RISC с кРНК. С Ago2, другим белком семейства *Argonaute*, связывается белок-супрессор CrPV-1A вируса *Cricketparalysisvirus*, тем самым препятствуя образованию комплекса с RISC [2]. Примером другой стратегии процесса подавления RNAi являются некоторые белки-супрессоры, подобные белку B2 вирусов рода *Alphanodavirus*. Данные белки способны конкурировать с Dicer/Dicer-подобными белками за связывание с дцРНК [3]. Третьей стратегией является взаимодействие с самой кРНК. Такие белки как p21 вируса *Beet yellows virus*, p19 вируса

CarnationItalianringspotvirus, NS3 вируса Ricestripavirus образуют прочный комплекс с кРНК, тем самым блокируя механизм формирования активного RISC [4-6].

P19 – белок подавляющий механизм РНКи кодируется вирусами рода Tombusvirus и Zeavirus, которые входят в семейство Tombusviridae. Данное семейство также включает род Aureusvirus, кодирующий гомологичный белок меньшего размера. Также обнаружен вирус RiceVirusA не относящийся ни к одному существующему роду. RVA кодирует супрессорный белок массой 14 kDa. Исходя из наблюдаемой гомологии данных белков-супрессоров, кодируемых разными родами, мы вводим понятие «p19-подобные белки».

P19 белок представляет собой полипептид, образующий функционально активный гомодимер. Каждый мономер содержит 5 α -спиралей (H1-H5) и 4 β -листа (S1-S4). Первые две α -спирали, образуя N-концевой субдомен, участвуют в связывании концевых участков кРНК. Оставшиеся три α -спирали и четыре β -листа образуют C-концевой субдомен, отвечающий за белок-белковую димеризацию и связывание с кРНК. Процесс димеризации гомодимера происходит путем антипараллельного спаривания пятой α -спирали и четвертого β -листа каждого мономера [7].

Для p19 белка характерны два типа взаимодействия с кРНК: связывание с фосфатной группой и стэкинг-взаимодействие. Первое возможно благодаря наличию основных и полярных радикалов аминокислот. Стэкинг-взаимодействие, в свою очередь, возможно между ароматическими аминокислотами и азотистыми основаниями последних нуклеотидов кРНК. Так W39 и W42, содержащие индольное кольцо, определяют строго специфическое связывание с кРНК длиной 21 н.т. [8].

Материалы и методы.

Подготовка последовательностей. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности, использованные в анализе, были взяты из баз данных *RefSeq* (ncbi.nlm.nih.gov/refseq) и *GenBank* (ncbi.nlm.nih.gov/genbank). В таблице 2 представлен список использованных вирусов, их сокращения, экспрессируемый белок-супрессор и его аннотационный номер (accessionnumber).

Множественное выравнивание последовательностей. Выравнивание нуклеотидных последовательностей, использованных в филогенетическом анализе, проводилось в программе *PRANKv.140603c* использованием параметров по умолчанию [14]. Выравнивание аминокислотных последовательностей, для анализа вторичных структур, проводилось в веб-версии программы *MUSCLE*.

Метод Максимального правдоподобия. Филогенетический анализ с использованием метода Максимального правдоподобия (ML-maximumlikelihood) осуществлялся в программе *RAxML 8.2.10*. В качестве модели замещения нуклеотидов была выбрана *Generaltimeversible (GTR) + G* (гамма-распределение вариации частот между сайтами).

Байесовский метод анализа. В качестве второго метода филогенетического анализа был выбран байесовский подход с использованием

метода Монте-Карло для Марковских цепей (MCMC – MarkovchainMonte-Carlo). Анализ проводился в программе *MrBayes 3.2.7*. Была выбрана смешанная модель замещения нуклеотидов на основе модели GTR + G.

Результаты и обсуждение. Филогенетические деревья были построены с использованием 20 видов вирусов семейства Tombusviridae. Для оценки качества полученных деревьев проводились анализы с использованием двух отличающихся методов: ML и MCMC. Деревья, построенные двумя методами, показали высокую идентичность (рис. 1).

Филогенетические отношения родов Tombusvirus и Zeavirus. Вирус MNSV, являясь единственным представителем рода Zeavirus, образует общую кладу с родом Tombusvirus. Данная клада характеризуется супрессорным белком массой 19kDa. Высокая идентичность молекулярной массы и аминокислотной последовательности свидетельствует о наличии общего предка, кодирующего белок p19.

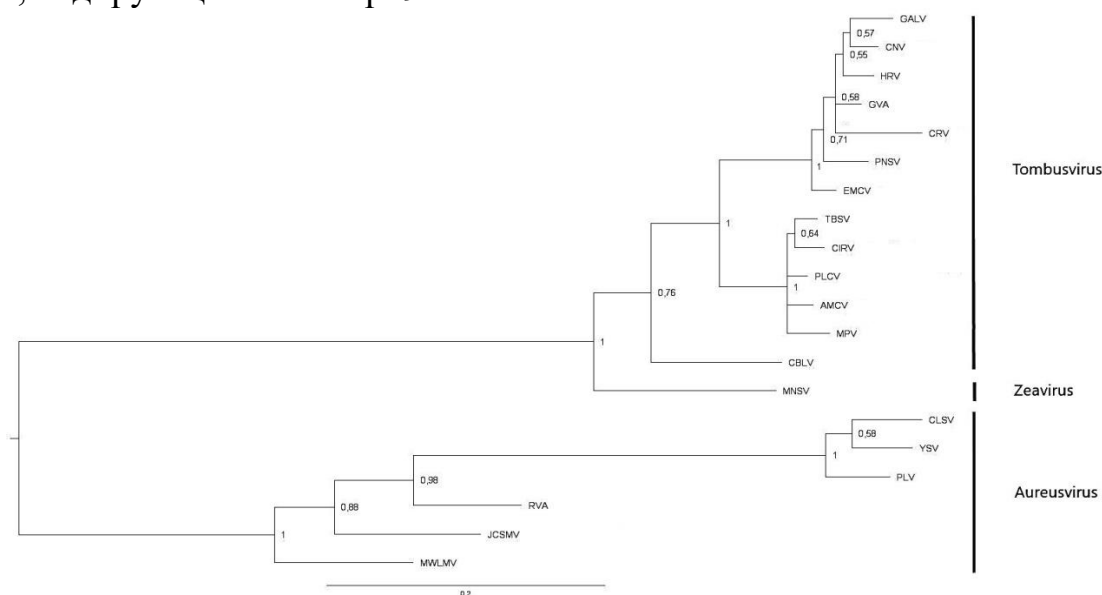


Рисунок 1. Объединенное филогенетическое дерево, построенное с помощью байесовского подхода с использованием метода Монте-Карло для Марковских цепей и метода ML. Рядом с ветвями обозначены апостериорные вероятности со значением >0.5. Вертикальными линиями обозначены родовые принадлежности видов.

Филогенетическое отношение RicevirusA к роду Aureusvirus. Данные, полученные в ходе филогенетического анализа, свидетельствуют о том, что неклассифицированный вирус RVA вместе с вирусами рода Aureusvirus образует общую кладу с p19-подобными белками. Белок p14 вируса RVA имеет наибольшую идентичность с белками вирусов MWLM и JCSMV.

Предполагаемые вторичные элементы p19-подобных белков. Аминокислотные последовательности, образующие α-спирали и β-листы у вируса CIRV, имеют высокую идентичность с аминокислотной последовательностью вируса MNSV. Мы можем предполагать, что белок-супрессор рода Zeavirus вероятно имеет схожую вторичную структуру с

белками-супрессорами рода Tombusvirus и проявляет строгую специфичность к кРНК. Для p19-подобных белков подобная идентичность наблюдается в меньшей степени. Предположительно, что у p19-подобных белков нет аминокислотного участка, формирующий H1.

Заключение. Эволюционное развитие p19-подобных белков является малоизученной областью исследований. Отсутствие данных о размер-специфических взаимодействиях с дцРНК у большинства вирусов рода Aureusvirus не позволяют точно утверждать о способности предкового белка-супрессора связываться с длинными дцРНК. Также малое количество исследований касательно взаимодействий p19-подобных белков с кРНК ограничивают наши представления о причинах неспецифичности рода Aureusvirus к длине дцРНК. Но на основе филогенетических деревьев и множественных выравниваний мы можем выдвинуть предположения о важности α -спирали H1 в специфическом распознавании кРНК, а также о возможных функциональных особенностях предкового белка. Также учитывая, что RVA, который является представителем нового рода, был обнаружен в 2017 году, мы можем ожидать обнаружение новых представителей семейства Tombusviridae, которые кодируют p19-подобный белок.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке комитета науки министерства образования и науки Республики Казахстан грант №AP09258746 «Регуляция CRISPR/CAS13 системы редактирования генов при помощи вирусного белка для придания растениям антивирусной устойчивости».

Список литературы

- 1 Jin, H., and Zhu, J. K. (2010) A viral suppressor protein inhibits host RNA silencing by hooking up with Argonautes. *Genes & Development*. 24, 853-856.
- 2 Nayak, A., Berry, B., Tassetto, M., Kunitomi, M., Acevedo, A., Deng, C., Kruchinsky, A., Gross, J., Antoniewski, C., and Andino, R. (2010) Cricket Paralysis Virus (CrPV) antagonizes Argonaute 2 to modulate antiviral defense in *Drosophila*. *Nature structural & molecular biology*. 17, 547-554.
- 3 Singh, G., Popli, S., Hari, Y., Malhotra, P., Mukherjee, S., and Bhatnagar, R. K. (2009) Suppression of RNA silencing by Flock house virus B2 protein is mediated through its interaction with the PAZ domain of Dicer. *The FASEB Journal*. 23, 1845-1857.
- 4 Ye, K., and Patel, D. J. (2005) RNA Silencing Suppressor p21 of Beet Yellow Virus Forms an RNA Binding Octameric Ring Structure. *Structure*. 13, 1375-1384.
- 5 Xia, Z., Zhu, Z., Zhu, J., and Zhou, R. (2009) Recognition Mechanism of siRNA by Viral p19 Suppressor of RNA Silencing: A Molecular Dynamics Study. *Biophysical Journal*. 96, 1761-1769.
- 6 Xiong, R., Wu, J., Zhou, Y., and Zhou, X. (2009) Characterization and subcellular localization of an RNA silencing suppressor encoded by Rice stripe tenuivirus. *Virology*. 387, 29-40.

7 Hearne, P. Q., Knorr, D. A., Hillman, B. I., and Morris, T. J. (1990) The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus. *Virology*. 177, 141-151.

8 Vargason, J. M., Szittyá, G., Burgyán, J., and Hall, T. M. T. (2003) Size Selective Recognition of siRNA by an RNA Silencing Suppressor. *Cell*. 115, 799-811.

Информация об авторах:

Мадиров А.А. – Магистр, Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

Ермухамбетова Р. Ж. – Старший преподаватель, Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан.

Омаров Р.Т.- Заведующий кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан.