

УДК 575

**SATELLITE PANICUM MOSAIC VIRUS  
КАПСИДТІ АҚУЫЗЫМЕН БАЙЛАНЫСҚАН БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚЫЗМЕТТЕРДІҢ  
ГЕНЕТИКАЛЫҚ ИДЕНТИФИКАЦИЯСЫ**

**Исабай М., Иқсат Н., Масалимов Ж., Омаров Р.**

[magzhan38@mail.ru](mailto:magzhan38@mail.ru)

2 курс магистранты, Биотехнология және микробиология кафедрасы, Л.Н. Гумилев атындағы  
Еуразия ұлттық университеті, Нұр-сұлтан, Қазақстан  
**Ғылыми жетекшісі – Турпанова Р.**

**Кіріспе.** SPMV 16 нм икосаэдрлік вирустық бөлшектермен қапталған шамамен 820 нуклеотидтен тұратын оң мағыналы ssRNA геномына ие. [1]. SPMV геномы табиғаты бойынша моноцистронды, көп функциялы 17-kDa CP кодтайтын ORF бар[2]. SPMV геномдық РНҚ-сы PMV қатысуымен SPMV-ның репликациясына және қозғалуына қатысатын цис-эсер ететін элементтері бар 87 және 264 нуклеотидтердің 5' және 3' трансляцияланбайтын аймақтардан (UTR) тұрады. [3]. Вирионды құрастырудан басқа, CP SPMV өзінің көмекші вирусымен синергетикалық әрекеттесулерге де қатысады [4]. CP SPMV репликациясы мен қозғалысы үшін аса қажет болмаса да [6], CP болмауы SPMV РНҚ-ның жүйелі жинақталуын азайтады [3] және ақаулы интерференциялық РНҚ-ның тез жинақталуына ықпал етеді. SPMV CP патогенділіктің детерминанты болып табылады, өйткені гетерологиялық вирус арқылы қожайын еместе SPMV CP экспрессиясы геннің үнсіздігін басуға кедергі жасау арқылы ауыр белгілерді тудырады. [6]. SPMV CP-нің кристалдық құрылымы CP - SPMV геномдық РНҚ-мен өзара әрекеттесетін вирустық бөлшектерге таралатын N-терминалды аргининге бай мотиві (N-ARM) бар сегіз тізбекті "желе тәріздес" β-баррель екенін көрсетеді. [7].

PMV – шамамен 30 нм икосаэдрлік вириондарда инкапсулирленген шамамен 4300 нуклеотидтен (nt) тұратын оң мағыналы бір тізбекті (ss) РНҚ геномы бар *Tombusviridae* тұқымдасындағы *Panicovirus* тұқымының өкілді мүшесі [8]. PMV геномы 5' ұшында блокталмаған және 3' ұшында полиаденилденуі жоқ; дегенмен, геномдық РНҚ-ның de novo полиаденилденуі туралы ақпараттар пайда бола бастады[9]. PMV геномдық РНҚ алты ашық оқу рамкаларын (ORF) кодтайды. р48 және р112 ақуыздары геномдық РНҚ-мен трансляцияланатын репликациямен байланысты белоктар болып табылады, ал қабық ақуызы

(CP), p8, p6.6 және p15 ақуыздары полицистрондық субгеномдық РНҚ арқылы экспрессияланады. Бұл төрт протеин РМV-нің жасушадан жасушаға және ұзақ қашықтыққа қозғалуына қатысады [10]. РМV бірегей болып табылады, өйткені ол *Satellite panicum mosaic virus* (SPMV) және 375 және 444 bp екі сателлиттік РНҚ үшін көмекші вирус ретінде әрекет етеді. (сәйкесінше satS және satC) [11].

Бұл жұмыстың мақсаты SPMV капсид ақуызының РМV-мен синергетикалық өзара әрекеттесуіне әсерін анықтау болды.

#### Әдістер.

Зерттеу объектілері - капсид ақуызы бойынша SPMV мутанттары.

#### SPMV CP мутанттарының екіншілік құрылымын анализдау.

HHpred [12] және PHYRE [13] CP SPMV екінші құрылымын болжау үшін пайдаланылды. SPMV CP үшін жарияланған кристалдық құрылымы N-терминал 16 аминқышқылдарын қоспағанда 1STM болып табылады [14]. I-TASSER бағдарламасы [15] толық өлшемді SPMV CP модельдеу үшін пайдаланылды. PyMOL бағдарламалық құралы SPMV CP мутанттарының болжамды қайталама құрылымдарын құру үшін пайдаланылды.

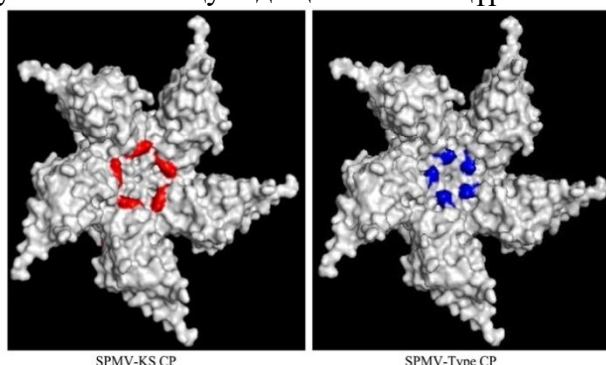
#### Нәтижелер.

**SPMV-KS мутантының ORF CP құрамындағы A35 және R98 амин қышқылдары РМV-мен күшейтілген өзара әрекеттесу үшін жауап береді.**

SPMV әсерінен ерекшеленетін A18, A35, A59 және R98 CP SPMV-KS амин қышқылдарының әсері әртүрлі комбинациялардағы осы амин қышқылдарын SPMV амин қышқылдарымен алмастыру арқылы РМV-мен синергетикалық әрекеттесуі зерттелді. (рисунок 2). A18, A59 және R98 амин қышқылдары SPMV-KS\_TAAR, SPMV-KS\_AASR және SPMV-KS\_AAAM мутанттарында, тиісінше, T18, S59 және M98 мутациясына ұшырады. Содан кейін SPMV-KS\_ADSR ішіндегі A35 және A59 аминқышқылдарын D35 және S59-ға ауыстыру арқылы екі еселенген мутант жасалды. Әрі қарай, сәйкесінше SPMV-KS\_TDSR және SPMV-KS\_ADSM жүйесінде A18, A35 және A59 және A35, A59 және R98-ді T18, D35 және S59 және D35, S59 және M98-ге ауыстыру арқылы үштік мутанттар жасалды.

**SPMV изоляттарының CP арасындағы құрылымдық-функционалдық байланыстарды талдау.**

Біз CP SPMV-дегі 35 және 98 амин қышқылдары үшін функционалдық айырмашылықтар осы екі ақуыздың болжамды қайталама құрылымында көрінуінің мүмкіндігін зерттедік. Ақуыз құрылымы 1STM SPMV CP протеин дерекқорының D-тізбекімен байланысты болды [16]. Ауыр симптомдарды тудыратын SPMV-KS CP құрылымы бойынша 1STM-ге ұқсас және A35 (бейтарап) және R98 (оң зарядты) бар, ал орташа симптомдарды тудыратын CP түріндегі SPMV-де D35 (теріс зарядталған) және M98 (бейтарап) бар. (Сурет 1). Сонымен қатар, SPMV-KS және SPMV-Түпі арасындағы 35 және 98 позициялардағы аминқышқылдарының айырмашылығы  $\beta$ -жіптер мен  $\alpha$ -спиральдардың ұзындығы мен қайталануы бойынша ақуыздың екіншілік құрылымының өзгеруін де көрсетті.



1-сурет– CP SPMV-KS және SPMV-түрінің аминқышқылдарының реттілігін теңестіру.

I-TASSER бағдарламасы SPMV-Туре 3D құрылымын белгілі SPMV-KS құрылымымен болжау және салыстыру үшін пайдаланылды. Осы болжамды құрылым негізінде екі CP аминқышқылдарының өзгерістері PyMOL және ConSurf сервер талдауы арқылы зерттелді [17]. SPMV-KS құрылымымен салыстырғанда SPMV типті CP болжамды құрылымында нәзік айырмашылықтар байқалды (Сурет 2).

SPMV CP ақуыз деректер банкінің (1STM) құрылымы амин қышқылы қалдығы 35 сыртқы бетінде, ал 98 қалдығы капсид ішінде болатынын көрсетті. 98 қалдығы вирионның орталық қуысының бөлігі болды және вирустық РНҚ-ны байланыстыратын аймақта болды [14]. Болжамды SPMV типті құрылымдар A35D өзгерісінің аурудың ауырлығын қалай айтарлықтай өзгерте алатынына нақты себеп бермеді. Дегенмен, шешілген SPMV құрылымында [14], A35 G127-мен негізгі тізбектің сутектік байланыстарына қатысады A35D алмастыруы бұл сутегі байланысын G127-ге дейін әлсіретуі мүмкін, өйткені D35  $\beta$ -карбоксил көлемді және еріткіштің әсеріне ұшырауы, су молекуласымен байланысы немесе екеуі де болуы мүмкін. M98R жағдайында негізгі қалдықты бейтарапқа ауыстыру вирустық РНҚ инкапсуляциясының тиімділігін, CP:РНҚ өзара әрекеттесуін немесе екеуін де аздап өзгертуі мүмкін. Сонымен қатар, CP SPMV-KS құрамындағы R98 G64-пен сутегі байланысын құра алады [14]. Болжам бойынша, SPMV түріндегі CP-дегі M98 жеке CP қалдықтары арасындағы осы өзара әрекеттесулерді өзгертуі мүмкін.

#### **Қорытынды.**

Көмекші вирустың оның молекулалық паразиттері (сателлиттік вирустар) болған кездегі симптомдарының күшеюі екі тәуелсіз репликацияланатын вирустар арасындағы дәстүрлі синергиялық әрекеттесулермен салыстырғанда қызықты құбылыс болып табылады [18]. Қазіргі уақытта PMV және SPMV изоляттары арасындағы синергетикалық өзара әрекеттесулер белгісіз. Бұл зерттеуде PMV және SPMV изоляттары арасында дифференциалды синергиялық өзара әрекеттесулер байқалды.

Тізбекті талдау SPMV-KS және SPMV-типті мутанттар 5'-UTR-де 2 нуклеотидпен, CP ORF-де үш синонимдік және төрт синонимдік емес өзгерістермен және 3'-UTR-де 3 нуклеотидпен ерекшеленетінін көрсетті. SPMV-KS және SPMV-Туре арасындағы реттілік алмасу SPMV гибридтерінің құрамында 63 және 457 нуклеотидтері арасында SPMV-KS фрагменті (5'-UTR және CP N-терминал аймағының бөлігі) бар, бірақ нуклеотидтер арасындағы фрагмент жоқ екенін көрсетті. 457 және мүмкін 3'-соңы SPMV-түрімен салыстырғанда симптомдардың жоғарылауын тудырады. Бұл деректер SPMV-KS және SPMV-түрі арасындағы CP ORF-де орналасқан төрт дифференциалды аминқышқылдары PMV изоляттарымен дифференциалды синергиялық өзара әрекеттесу үшін жауапты екенін көрсетті. Бұрын SPMV типті CP PMV85-пен синергетикалық әрекеттесу үшін жауапты екендігі хабарланған [3]. Біздің деректер SPMV CP-дегі бірнеше аминқышқылдық айырмашылықтар PMV-мен әртүрлі синергетикалық әрекеттесулерді тудыруы мүмкін екенін көрсетеді.

SPMV CP қол жетімді кристалдық құрылымы [14] A35D және R98M SPMV CP екінші құрылымына әсерін зерттеуге көмектесті, өйткені бұл мутациялар PMV изоляттарымен синергиялық әрекеттесулерге әртүрлі әсер етті. SPMV-Туре бойынша CP D35 аминқышқылы беткі бөлігінде орналасқан және еріткіштердің әсеріне ұшырайтыны болжамданады. Ол өз кезегінде Вирус-вирус және вирус-қожайынның жеке немесе екеуінің де эффективті әрекеттесуінің модуляциясына алып келетін басқа CP аминқышқылдарының қалдықтарымен әрекеттесуін жеңілдетуі немесе бұзуы мүмкін.

Сол сияқты, оң зарядталған R98 амин қышқылы SPMV-KS SR ішкі бетінде болады және PMV, SPMV немесе екеуінің де теріс зарядталған геномдық РНҚ-ларымен тиімді әрекеттесуді жеңілдетуі мүмкін, ал SPMV-түріндегі бейтарап амин қышқылы M98 бұл процестерге әсер етуі мүмкін. Вирустық протеиндердегі бірнеше аминқышқылдарының өзгерістері тіркелді, олар төзімділікті тежейді және симптомдарды модуляциялайды [19]. Керісінше, SPMV спутниктік вирусына енгізілген мутациялар PMV-мен дифференциалды өзара әрекеттесуді тудырды. 35 және 98 позицияларындағы екі аминқышқылдарына

байланысты SPMV мутанттары арасындағы CP және геномдық РНҚ көшірме жинақтауындағы әлеуетті айырмашылықтар байқалған дифференциалды аурудың синергиялық фенотипінің ықтимал себептері болып табылады.

**Қаржыландыру:** Бұл жұмыс AP09258746 «Өсімдіктерге вирусқа қарсы төзімділікті күшейту мақсатында вирустық ақуыз көмегімен CRISPR/Cas13 жүйесінің реттелуі» жобасы негізінде жүргізілді.

#### **Қолданылған әдебиеттер:**

1. Ban, N., and McPherson, A. 1995. The structure of satellite panicum mosaic virus at 1.9 Å resolution. *Nat. Struct. Biol.* 2:882-890.
2. Masuta, C., Zuidema, D., Hunter, B. G., Heaton, L. A., Sopher, D. S., and Jackson, A. O. 1987. Analysis of the genome of satellite panicum mosaic virus. *Virology* 159:329-338.
3. Omarov, R. T., Qi, D., and Scholthof, K.-B. G. 2005. The capsid protein of satellite panicum mosaic virus contributes to systemic invasion and interacts with its helper virus. *J. Virol.* 79:9756-9764.
4. Qi, D., and Scholthof, K.-B. G. 2008. Multiple activities associated with the capsid protein of satellite panicum mosaic virus are controlled separately by the N- and C-terminal regions. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21:613-621.
5. Qiu, W., and Scholthof, K.-B. G. 2000. In vitro- and in vivo-generated defective RNAs of satellite panicum mosaic virus define cis-acting RNA elements required for replication and movement. *J. Virol.* 74:2247-2254.
6. Qiu, W., and Scholthof, K.-B. G. 2004. Satellite panicum mosaic virus capsid protein elicits symptoms on a nonhost plant and interferes with a suppressor of virus-induced gene silencing. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17:263-271.
7. Qi, D., and Scholthof, K.-B. G. 2008. Multiple activities associated with the capsid protein of satellite panicum mosaic virus are controlled separately by the N- and C-terminal regions. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21:613-621.
8. Turina, M., Desvoyes, B., and Scholthof, K.-B. G. 2000. A gene cluster encoded by panicum mosaic virus is associated with virus movement. *Virology* 266:120-128.
9. Pyle, J. D., Monis, J., and Scholthof, K.-B. G. 2017. Complete nucleotide sequences and virion particle association of two satellite RNAs of panicum mosaic virus. *Virus Res.* 240:87-93.
10. Batten, J. S., Turina, M., and Scholthof, K.-B. G. 2006. Panicovirus accumulation is governed by two membrane-associated proteins with a newly identified conserved motif that contributes to pathogenicity. *Virol. J.* 3:12-23.
11. Masuta, C., Zuidema, D., Hunter, B. G., Heaton, L. A., Sopher, D. S., and Jackson, A. O. 1987. Analysis of the genome of satellite panicum mosaic virus. *Virology* 159:329-338.
12. Biegert, A., Mayer, C., Remmert, M., Söding, J., and Lupas, A. N. 2006. The MPI bioinformatics toolkit for protein sequence analysis. *Nucleic Acids Res.* 34:W335-W339.
13. Kelley, L. A., and Sternberg, M. J. E. 2009. Protein structure prediction on the Web: A case study using the Phyre server. *Nat. Protoc.* 4:363-371.
14. Ban, N., and McPherson, A. 1995. The structure of satellite panicum mosaic virus at 1.9 Å resolution. *Nat. Struct. Biol.* 2:882-890.
15. Oy, A., Kucukural, A., and Zhang, Y. 2010. I-TASSER: A unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nat. Protoc.* 5:725-738.
16. Ban, N., and McPherson, A. 1995. The structure of satellite panicum mosaic virus at 1.9 Å resolution. *Nat. Struct. Biol.* 2:882-890.

17. Ashkenazy, H., Abadi, S., Martz, E., Chay, O., Mayrose, I., Pupko, T., Ben-Ta, N. 2016 ConSurf 2016: An improved methodology to estimate and visualize evolutionary conservation in macromolecules. *Nucleic Acids Res.* 44:W344-W350.
18. Syller, J. 2012. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Mol. Plant Pathol.* 13:204-216.
19. Chowda-Reddy, R. V., Sun, H., Chen, H., Poysa, V., Ling, H., Gijzen, M., and Wang, A. 2011. Mutations in the P3 protein of Soybean mosaic virus G2 isolates determine virulence on Rsv4-genotype soybean. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 24:37-43.