

УДК 577.2:578.23:631.147

А.М. КИРИЧЕНКО, О.Г. КОВАЛЕНКО

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
Київ

E-mail: kirangel.07@meta.ua

ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМ ТРАНСДУКЦІЇ СИГНАЛУ В РОСЛИН ЗА ВІРУСНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ



Аналізуються генетичні основи та сучасні уявлення про молекулярні механізми розпізнавання рослинами патогенів переважно вірусної природи. Обговорюється значення сигнальних систем та їхніх ключових чинників в рослинному організмі. Розглядається можлива участь різних еліситорів в процесах трансдукції сигналів.

© А.М. КИРИЧЕНКО, О.Г. КОВАЛЕНКО, 2011

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2011. № 4

Вступ

Пристаювання до умов навколишнього середовища є загальною рисою всіх живих організмів. Зокрема, рослини як організми, що ведуть нерухомий спосіб життя, щоб протистояти атакам мікробних патогенів залучають різні, у тому числі унікальні захисні механізми. Рослині для запуску відповідних реакцій і розвитку адекватної захисної відповіді на патогенну інвазію в першу чергу необхідно розрізнити «своє» і «не своє». На відміну від хребетних, в яких розпізнавання антигенів (АГ) здійснюється завдяки активації імунної системи, котра в цілому ґрунтується на взаємодії високоспецифічних клітин, що циркулюють по всьому організму, рослинна клітина здатна автономно визначати присутність можливих патогенів і відповідно реагувати на них.

В наш час дослідників, що вивчають взаємовідношення патогенів з рослинами-хазяями, цікавлять у першу чергу такі питання: які механізми рослина використовує для підтримання свого гомеостазу, яким чином індукується системна несприйнятливість до патогена та які механізми лежать в основі природної стійкості рослин до патогенів. У нашій роботі зроблена спроба здійснити аналіз існуючих уявлень про молекулярні механізми розпізнавання патогенів рослиною, зокрема, з'ясувати роль генів стійкості та авірулентності як можливих компонентів систем трансдукції сигналу на початкових стадіях інфекції, а також детальніше розглянути процеси, що відбуваються в рослинах, уражених вірусами.

Генетичні основи трансдукції сигналу

У своєму природному оточенні рослини стикаються з великою кількістю потенційних фітопатогенів – вірусами, бактеріями, грибами та нематодами. У більшості випадків рослина протистоїть атакам патогена, відтак ураження рослин інфекційними агентами є скоріше винятком, аніж правилом. Існує декілька гіпотез, які пояснюють, чому рослини виявляються стійкими до патогенів [1]. Серед них найбільш привабливими є такі: рослина не підтримує життєдіяльність і ріст мікроорганізмів (гіпотеза неповного середовища); рослина здатна створювати різні структурні і функціональні бар'єри; рослина може розпізнавати патоген, а відтак індукувати свою ендогенну багатоконпонентну захисну систему [2].

Зазвичай захисні механізми рослин комплексні і складаються з багатьох рівнів. На початковому рівні для того щоб запобігти інфікуванню тим чи іншим патогеном, рослина використовує хімічні і фізичні (структурні) бар'єри. У тому випадку, коли ці конститутивні механізми будуть подолані, залучаються індуквані захисні системи, які запускаються в результаті специфічного розпізнавання патогенів рослиною [3].

Однією з головних і очевидних активних відповідей рослини на проникнення патогена є надчутлива реакція (НЧР) [4], в результаті якої відбувається швидка загибель інфікованих клітин і, як наслідок, обмеження розвитку інфекційного чинника в місці його проникнення [5]. Як правило, стійкість до вірусів контролюється одним геном [6]. Так, надчутливість до вірусу тютюнової мозаїки у деяких сортів тютюну контролюється домінуючим геном N, одержаним від дикого виду *Nicotiana glutinosa* в результаті міжвидової гібридизації [7]. Зазвичай НЧР – високоспецифічна і залежить від відповідної комплементарності між генами стійкості (R) рослин та генами авірулентності (Avr) патогенів. Ці уявлення узагальнені теорією Флора «ген-на-ген» [8]. Для того щоб зрозуміти молекулярні основи взаємодії «ген-на-ген», було запропоновано ліганд-рецепторну модель. Суть цієї моделі зводиться до наступного: на поверхні гіф несумісних рас патогена присутні деякі молекули-антигени, які розпізнаються молекулами-рецепторами, що входять до складу плазмалеми стійкого генотипу рослини-хазяїна. В результаті такого розпізнавання реалізується несумісний тип взаємовідношень, що призводить до включення НЧР і відторгнення паразита [9, 10]. Сумісність являє собою пасивну нездатність рослини-хазяїна розпізнавати еліситорні молекули патогена. Справедливість цієї моделі була підтверджена при вивченні взаємодії рослинних R-білків (продуктів генів резистентності) та Avr-білків патогенів (продуктів генів авірулентності) в різних системах рослина – патоген [11–14]. За цією моделлю R-білки діють як рецептори, а продукти генів авірулентності патогенів (Avr-ліганди) – як еліситори [15].

Згідно з іншою моделлю («гіпотеза охоронця») [16] взаємодія між білками, кодованими

R- та Avr-генами, відбувається не безпосередньо, а за участі інших рослинних чинників [17, 18]. Такими чинниками можуть бути глікополімери-індуктори та специфічні до них лектиноподібні рецептори, котрі активуються в надчутливій рослині у результаті вірусної інфекції [19]. Такої думки автори дійшли випробовуючи екзогенні полісахариди як інгібітори вірусної інфекції. Виявилось, що розгалужені дріжджові манани активно інгібують локальні некрози у надчутливих сортів тютюну, але не впливають на формування первинних центрів інфекції у чутливих сортів [20]. Більш того, така антивірусна дія екзогенних гліканів може блокуватися низькомолекулярними гаптенами та специфічними лектинами [21]. На підставі цих даних була розроблена рецептор-індукторна модель ініціації надчутливої реакції за вірусної інфекції [19].

У будь-якому разі результатом такої взаємодії є активація шляхів трансдукції сигналу та розвиток НЧР [1, 24]. В результаті активації шляхів трансдукції сигналу відбувається перепрограмування клітинного метаболізму із значними змінами активності генів.

Окрім генів стійкості і генів, які кодують білки трансдукції сигналу, рослини містять захисні гени, які кодують PR-білки (pathogenesis related), ферменти, що беруть участь в синтезі фітоалексинів, ферменти тканинної репарації, лігніфікації тощо, а також такі, що захищають клітини від окиснювального стресу. Більшість генів долучаються до шикиматного та фенілпропанового шляхів метаболізму. Індукція активності захисних генів інколи спостерігається в клітинах, що атакуються патогеном, але їхня активність частіше реалізується системно. В неінокульованих частинах рослини відбуваються кількісні зміни в складі білків, зокрема підсилене накопичення PR-білків [25]. В різних видах рослин було охарактеризовано і класифіковано 11 родин PR-білків у відповідності до подібності нуклеотидних послідовностей в генах, що їх кодують. Індуквані патогеном PR-білки головним чином належать до кислих білків і секретуються в міжклітинний простір. Основні PR-білки синтезуються у вакуолях і накопичуються в клітині у відносно невеликих кількостях. Біологічна активність більшості з них полягає у пошкод-

женні структури мікроорганізму, який атакує рослину [26].

Отже, в процесі розвитку НЧР зростає вміст різних видів реактивного кисню [27], відкладається лігнін та калоза [28], синтезуються патогенез-асоційовані та антивірусні білки [29], в результаті чого поширення патогенів обмежується.

До складу R-білків входять кілька структур, що забезпечують, з одного боку, взаємодію з лігандом (елісатором) і молекулами-мішенями (зокрема, ДНК), а з іншого — передачу сигналу на інші молекули (циклічні нуклеотиди, протеїнкінази тощо). До таких структур належать сайт зв'язування нуклеотидів (nucleotide-binding site, NBS), ділянка лейцин-збагачених повторів (leucine-rich repeat, LRR), ділянка з гомологією до цитоплазматичних доменів рецепторного білка Toll *Drosophila* та рецептора інтерлейкіна-1 ссавців (Toll/Interleukin-1 receptor, TIR), суперспіральна структура (coiled-coil structure, CC), трансмембранний домен (transmembrane domain, TM) та домен серин/треонінспецифічної протеїнкінази (serine/threonine protein kinase domain, PK) [30].

Нещодавно було встановлено, що в геномі *Arabidopsis* (екотип Columbia) містяться 149 генів з геномною послідовністю NBS-LRR, а в геномі рису — понад 600 таких генів [31].

Більшість генів стійкості на карбоксильному кінці мають структуру NBS-LRR. Встановлено, що саме високоваріабельний LRR-домен відповідає за розпізнавання Avr-білків патогенів [32], тоді як більш консервативна ділянка TIR-NBS чи CC-NBS бере участь в поширенні сигналів рецепції [33]. При цьому лише незначні варіації в LRR домені визначають специфічність до патогенів [34]. LRR було виявлено у білках, які беруть участь у трансдукції сигналу, адгезії клітин, білок-білковій чи білок-вуглеводній взаємодії [35, 36].

В межах одного виду рослин виявлено велику кількість непов'язаних, окремих генів з різною лігандною специфічністю [34]. Зазвичай гени стійкості є моногенними і специфічними лише до певного виду вірусу. Між тим бувають випадки, коли гени стійкості можуть бути неповністю домінантними, і навпаки, є приклади, коли домінантний чи рецесивний гени можуть індукувати захисну реакцію про-

ти декількох патогенів вірусної природи однієї і тієї ж родини. Так, ген стійкості I *Phaseolus vulgaris* викликає НЧР щодо 10 різних вірусів *Potyviridae* [37]. Незважаючи на значні досягнення у вивченні структури R-генів, багато чого залишається ще не з'ясованим. Адже NBS-LRR клас генів стійкості становить лише 1 % всього геному *Arabidopsis* [34], а це означає, що багато інших генів можуть брати участь в захисній відповіді рослин.

Механізми трансдукції сигналу

В останню чверть ХХ століття на стику сучасної біохімії та молекулярної і клітинної біології виникла нова галузь знань — трансдукція сигналу. Вперше термін «signal transduction» з'явився у фаховому журналі в 1974 р., а у 1979 р. — в назві статті «Lipid synthesis: an indicator of antigen-induced signal transduction in antigen-binding cells». В 90-х роках минулого століття сотні провідних науково-дослідних установ світу розпочали широкомасштабне вивчення механізмів трансдукції сигналу. Як виявилось, системи трансдукції сигналу у клітинах надзвичайно складні, а механізми їхньої регуляції тісно переплетені та наразі остаточно не з'ясовані [38].

Трансдукція сигналу — це передача інформації від біологічно активних речовин (гормонів, медіаторів, факторів росту тощо) всередину клітини (до ядра або інших її частин) [38]. Встановлено, що патогенні організми чи їхні елісатори індукують у рослинній клітині каскад відповідних захисних реакцій задовго до того, як стійкість чи сприйнятливість проявляється повною мірою. Більше того, сигнальні системи ініціюють початкові етапи реакцій рослин, які врешті-решт визначають сумісну або несумісну взаємодію з патогеном. Сигнальні системи розпочинаються з контакту патогена чи його елісатора з рецептором, який, як правило, локалізований на цитоплазматичній мембрані, і закінчуються захисною відповіддю рослинної клітини. Завданням таких систем є передача і підсилення сигналу, який йде від патогена чи його елісатора [39].

На сьогодні відомі такі основні сигнальні системи у рослин: циклоаденілатна; Са-фосфоліпидна; ліпоксигеназна; НАДФН-оксигеназна (супероксидсинтаза); NO-синтазна; MAP-кіназна; фосфотидилкіслотна.

Цілком ймовірно, що зусиллями дослідників, які працюють у галузі трансдукції сигналів в рослинних організмах, будуть відкриті ще нові сигнальні системи і механізми їхньої взаємодії [39].

Еліситори. В останні роки все більше уваги приділяється вивченню механізмів взаємодії патогенів і рослин. Основне питання, що нині цікавить всіх дослідників — яким чином індукується стійкість в рослинних тканинах, віддалених від місця інфікування їх патогеном. Припускається, що в рослинах існують певні мобільні молекули, здатні активувати механізм системної стійкості до патогена. На роль таких міжклітинних системних сигнальних молекул можуть претендувати молекули, здатні синтезуватись в рослині, рухатись по ній та індукувати захисні механізми [39].

Існування мобільних сигналів було передбачено ще Россом [40], який припустив, що в інокульованих вірусом тканинах утворюється речовина (або речовини), яка може поширюватись із зони інфікування в неуражені тканини і цим самим зумовлювати стійкість рослин до повторної інфекції.

Спочатку термін «еліситори» використовувався для того, щоб означити компоненти, які індукують накопичення антимікробних фітоалексинів в рослинах. Нині цей термін використовується щодо різних агентів, які стимулюють будь-який тип захисної відповіді. За загальноприйнятою термінологією Кіна [9], еліситори — це специфічні індуктори. Розрізняють екзогенні та ендогенні еліситори. Як правило, це низькомолекулярні компоненти, які або синтезуються в клітині *de novo*, або є похідними полімерних попередників, що виникають в процесі перебігу інфекції. Сигнальними молекулами, які викликають відповідь рослинних клітин на інфікування патогенами, можуть бути еліситори різної природи: білки (в тому числі й глікопротеїни), олігосахариди (продукти неповного гідролізу полісахаридів клітинних стінок рослини-хазяїна та патогена), полієнові жирні кислоти, арахідонат, ейкоза-пантаєноат, цереброзиди, продукти гідролізу кутину тощо [41]. Серед еліситорів екзогенного походження можуть бути продукти сапрофітних мікроорганізмів, наприклад дріжджів, які є складовою епіфітної мікрофлори

рослин. Аргументом на користь цієї думки є те, що дріжджові полісахариди, зокрема манани різної будови, можуть індукувати захисні механізми у рослин, надчутливих до вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) [22]. Еліситори різної хімічної структури та походження можуть запускати захисну відповідь як в цілій рослині, так і в культурі рослинних клітин.

Функції екзогенних еліситорів виконують певні метаболіти чи структурні компоненти фітопатогенів, дія яких на рослини призводить до включення захисних реакцій в рослинних тканинах. Згідно з теорією «ген-на-ген» родоспецифічні еліситори можуть бути прямими чи опосередкованими продуктами генів авірулентності та індукувати стійкість лише в рослинах, які мають відповідний ген стійкості. Детермінантами авірулентності при взаємодії ВТМ з рослинами-хазяями можуть бути капсидний білок, репліказа або транспортний білок. Капсидний білок вірусу зморшкватості турнепсу є еліситором надчутливої відповіді (взаємодіє з фактором транскрипції) в рослинах, уражених цим вірусом [42]. В томатах продукт гена Tm2(2) взаємодіє з транспортним білком вірусу мозаїки томатів як еліситором [43], а домінантний ген стійкості RCY1 кодує 140 кДа білок з CC-NBS-LRR-последовністю, який взаємодіє з капсидним білком вірусу мозаїки огірка та запускає процеси трансдукції сигналу, учасниками якої є саліцилова кислота (СК) та етилен [44]. Авт-гени різних патогенів в структурному відношенні дуже відрізняються один від одного, бо, очевидно, первісно виконували різні біологічні функції [45].

До ендогенних еліситорів належать речовини, які утворюються у пошкоджених рослинних клітинах. Ці речовини діють подібно до гормонів, які поширюються по рослині, зв'язуються зі специфічними рецепторами на клітинних мембранах та ініціюють каскад захисних реакцій [46]. За вірусних інфекцій функції еліситорів можуть виконувати ендогенні полі- та олігосахариди (олігогалактоуроніди і ксилілоглюкани) [19, 47], глікопротеїни міжклітинного простору [48] та компоненти клітинних стінок рослин [49].

До вторинних еліситорів, що утворюються в клітинах рослин під дією біогенних та абіогенних стресорів, відносять фітогормони — ети-

лен, абсцизову, жасмонову, саліцилову кислоти, а також поліпептид системін та деякі інші сполуки.

Процес розпізнавання таких сигналів відбувається за участі «сигнальних систем», які визначають реакцію клітин на різні хімічні та фізичні чинники. Еліситори «включають» різні сигнальні системи рослинних клітин, що призводить до експресії захисних генів, синтезу відповідних білків, утворення фітоалексинів і, нарешті, формування стійкості рослин до патогенів [51].

Системи розпізнавання еліситорів, які активують багатокomпонентні внутрішньоклітинні захисні сигнальні шляхи, досить складні та остаточно не вивчені.

Рецептори. Фітопатогенні віруси уражують рослини через поранення, а міжклітинне поширення вірусних компонентів відбувається через плазмодесми. Розпізнавання продуктів Avr-генів грибів відбувається за участі мембранних рецепторів, в той час як вірусні і бактеріальні еліситори сприймаються у міжклітинному просторі рослин завдяки розчинним рецепторам.

Рецептори — це білки, які специфічно зв'язуються з відповідними лігандами. Зв'язуючись з лігандом, рецептор змінює свою просторову структуру (конформацію) і запускає певну послідовність біохімічних реакцій у клітині. Рецептор незалежно від природи ефектора має подібну будову: ділянку, яка знаходиться поза клітиною, внутрішньомембранну ділянку, а також ділянку, занурену в цитоплазму. Зовнішня і внутрішня ділянки рецептора варіабельні, а середня частина — константна. Зовнішній N-кінець рецептора специфічний еліситору, тоді як внутрішній C-кінець асоційований з рецептором певного ферменту. Останнє і визначає, з якою із сигнальних систем буде здійснюватись взаємодія [39]. Не виключено, що білковий рецептор подібно до багатьох ферментів має лектинову активність, адже ініціація НЧР у рослин може активізуватись полі- та олігосахаридами і блокуватись моносахаридами — гаптенами для лектина певної вуглеводної специфічності [19, 22].

Механізм. Першим етапом трансдукції сигналу є сприйняття позаклітинного сигналу і передача його через плазматичну мембрану, в

результаті чого накопичуються внутрішньоклітинні сигнальні молекули, активність яких призводить до активації експресії генів стійкості [51]. Для того щоб запустити каскад реакцій трансдукції сигналу, необхідно, щоб біологічно активна речовина/ліганд зв'язалась із зовнішньою ділянкою рецептора, локалізованого в плазмалемі. Саме рецептор-опосередковане впізнавання ініціює клітинні і системні сигнальні процеси, які активують багатокomпонентну захисну відповідь на локальному та системному рівнях, в результаті чого відбувається швидке встановлення локальної стійкості та активується системна набута стійкість [51]. R-білки локалізуються на плазматичній мембрані або в цитозолі [52]. Більшість R-білків не зв'язані з мембраною, тому специфічні еліситори можуть контактувати з ними лише опосередковано за допомогою екзогенних та ендогенних чинників (компоненти вірусних часток, глікопротеїни, глікани тощо) [19, 38]. Утворення комплексу рецептор—еліситор

Клоновані гени стійкості та відповідні еліситори (цит. за [50])

Ген	Вид рослини-хазяї-	Вірус	Продукти генів авірулен-тності (еліситори)
N	<i>N. tabacum</i>	ВТМ	Хеліказний домен ре-плікази
Rx1	<i>S. tuberosum</i>	ХВК	КБ
Rx2	<i>S. tuberosum</i>	ХВК	КБ
Sw5	<i>S. esculentum</i>	ВБТ	ТБ
HRT	<i>A. thaliana</i>	ВЗТ	КБ
RTM1	<i>A. thaliana</i>	ВГТ	нв
RTM2	<i>A. thaliana</i>	ВГТ	нв
RCY1	<i>A. thaliana</i>	ВМО	КБ
Tm2(2)	<i>S. lycopersicum</i>	ВМТ	ТБ
Pvr21	<i>C. annum</i>	YBK	VPg
Pvr22			
Mol 1	<i>L. sativa</i>	ВМЛ	нв
Mol 2			
Sbm 1	<i>P. sativum</i>	ВМЗ	нв

Примітка. ВМО — вірус мозаїки огірків; ВТМ — вірус тютюнової мозаїки, ХВК — X-вірус картоплі; YBK — Y-вірус картоплі; ВМТ — вірус мозаїки томатів; ВБТ — вірус бронзовості томатів; ВЗТ — вірус зморшкватості турнепса; ВГТ — вірус гравірування тютюну; ВМЛ — вірус мозаїки латука; ВМЗНГ — вірус мозаїки зародків насіння гороху; КБ — капсидний білок; ТБ — транспортний білок, нв — не визначено.

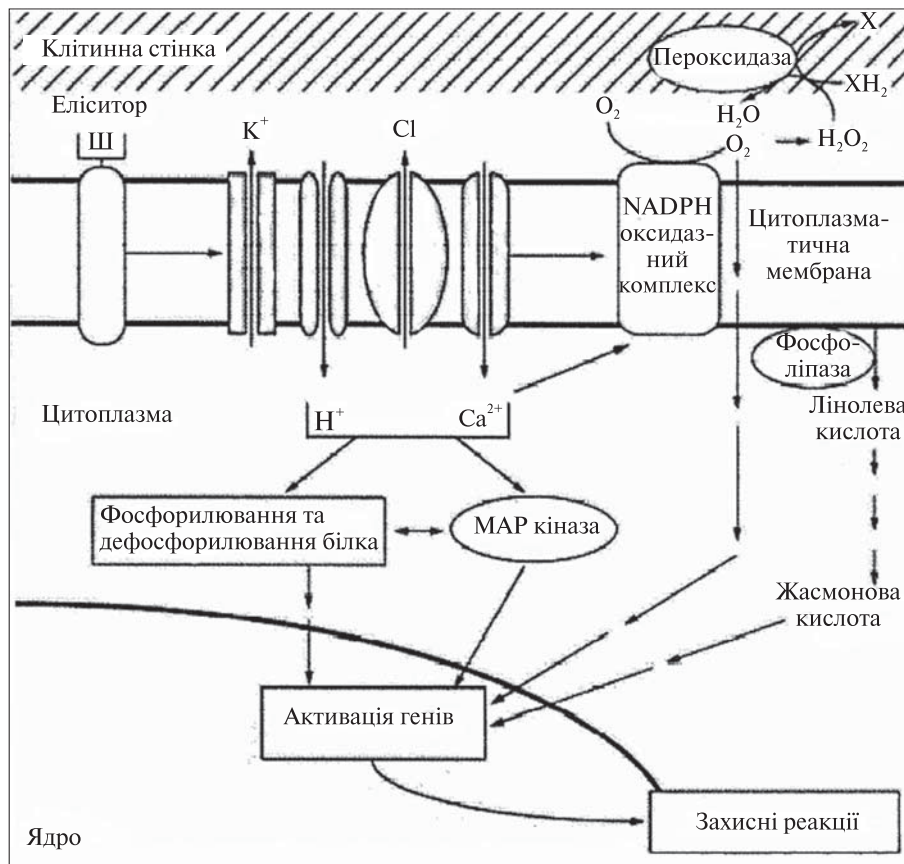


Рис. 1. Головні компоненти системи трансдукції сигналу рослинної клітини [55]

призводить до запуску каскаду реакцій трансдукції сигналу, в результаті чого сигнал істотно підсилюється і передається до геному клітини. До ранніх подій, які відбуваються в рослинних клітинах, належать зміни проникності плазматичної мембрани, в результаті чого кальцій і протони надходять в клітину, а калій і хлорид виходять з неї. Іонні потоки за участі мембранної NADPH-оксидази та пероксидази апопласту індуюють утворення різних видів реактивного кисню – супероксиду O_2^- , пероксиду водню H_2O_2 та вільних радикалів OH^\cdot [55]. Початкові етапи «оксидативного вибуху» відбуваються як такі, що необхідні для подальших етапів трансдукції сигналу, в результаті чого активується високоінтегрована сигнальна сітка, яка запускає повну, всеохоплюючу захисну відповідь (рис. 1). Такий ефект досягається за рахунок так званих вторинних посередників (second messengers), які трансформу-

ють позаклітинний сигнал у внутрішньоклітинний. До класу «вторинних посередників», окрім різних видів реактивного кисню, належать NO, саліцилова кислота та такі сполуки, як циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ) та гуанозинмонофосфат (цГМФ), що утворюються із АТФ та ГТФ відповідно [54, 4], а можливо, і вуглеводмісні біополімери [19]. «Вторинні месенджери» взаємодіють з клітинними білками – протеїнкіназами, активуючи їх. Під впливом останніх відбувається цілий каскад реакцій фосфорилування/дефосфорилування інших білків, внаслідок чого мітогенний сигнал доходить до ядра. Фосфорилування білка призводить до зміни його просторової конфігурації та стимуляції ферментативної активності. Завдяки багатоступеневому процесу активації регуляторних білків відбувається експресія відповідних генів, які регулюють процеси проліферації, диференціації клітини тощо [4].

Іншими компонентами сигнальної системи є специфічно індуквані фосфоліпази, які гідролізують ненасичені жирні кислоти всередині мембрани, результатом чого є утворення лінолевих кислот, котрі слугують субстратом для утворення жасмонату і метилжасмонату [26].

Фітогормони саліцилова кислота (СК), жасмонова кислота (ЖК) і етилен є ключовими чинниками в регуляції активних захисних механізмів [54–57]. Інші рослинні гормони – абсцизова кислота [60], гібереліни [61], ауксини [62] – теж відіграють важливу роль, але їхнє значення в імунній відповіді рослин менш вивчене.

Вважають, що етиленжасмонатна сигнальна система та система за участі саліцилової кислоти є антагоністичними [63].

Активация шляхів трансдукції сигналу призводить до значних змін клітинного метаболізму, зокрема активності генів. Рослини синтезують велику кількість білків, які беруть участь в захисних реакціях. Окрім генів стійкості і генів, що кодують білки трансдукції сигналу, активуються гени PR-білків, а також ферментів, які беруть участь в утворенні фітоалексинів, лігніфікації та репарації клітин [64].

Можлива роль N-білків у трансдукції сигналу в рослинах, уражених ВТМ

Генетичні аспекти стійкості тютюну до ВТМ, обумовленої N-геном надчутливості, освітлені у першому розділі даної роботи. Опосередкована N-геном взаємодія ВТМ з надчутливою рослиною-хазяїном довгий час слугувала класичною моделлю для вивчення механізму стійкості рослини до патогенів. У відповідності з існуючими уявленнями (рис. 2) N-білок може запускати каскад внутрішньоклітинних реакцій, результатом яких є активация фактора транскрипції Nf-kB. Цей фактор індукуює синтез захисних і сигнальних білків, які беруть участь в сигнальній трансдукції. Nf-kB активується не лише N-білком, але й деякими ефекторними молекулами – кіназами, фосфатазами чи протеазами [65]. Згідно з ліганд-рецепторною моделлю N-білок діє як рецептор, а продукт гена авірулентності патогена (Avr-ліганд) – як еліситор [9, 15].

Вірусна РНК в рослинних клітинах декапсидується, і кодовані нею білки транслюються чотирма рамками зчитування [66]. Білки 126

та 183 кДа діють як реплікази та містять ментилтрансферазний і хеліказний домени. Реплікази 126/183 кДа, необхідні для реплікації вірусної РНК, для свого синтезу використовують клітинний механізм трансляції. В інфікованій ВТМ клітині капсидний білок 17 кДа, транспортний білок 30 кДа та білок 54 кДа транслюються з субгеномної мРНК [67]. Встановлено, що саме хеліказний домен реплікази ВТМ є Avr-білком, необхідним для індукції НЧР [68], а ділянка хелікази 50 кДа слугує еліситором [69].

Точний механізм взаємодії між еліситором та клітинним N-рецептором, що відбувається в процесі ВТМ (штам U1)-інфекції, все ще невідомий. Припускають, що в захисний механізм, обумовлений N-геном, можуть залучатися також інші, додаткові чинники рослини-хазяїна. Так, нещодавно було ідентифіковано NRG1-білок, який має CC-NBS-LRR структуру та разом з N-рецептором може брати участь у формуванні стійкості рослин до ВТМ [70]. Більш того, деякі рослинні білки утворюють комплекси між собою ще до інфікування у відсутності патогена. Продукти гена стійкості, вірогідно, діють як охоронці, які розпізнають продукти генів авірулентності через попередньо утворений комплекс [71, 72].

Рецептор-індукторна модель, за допомогою якої можна пояснити яким чином продукти N-гена можуть брати участь в трансдукції сигналу, схематично подана на рис. 2.

В результаті проникнення вірусу в клітину та експресії вірусного геному активується синтез N-білка, який подібно до цитоплазматичного білка Toll дрозофіли та рецептора інтерлейкіна ссавців Іл-1 функціонує як рецептор і безпосередньо взаємодіє з продуктами генів авірулентності ВТМ. Внаслідок такої взаємодії запускається каскад реакцій, які ведуть до активации фактора(ів) транскрипції, що дерепресує гени, необхідні для прояву надчутливої відповіді [73].

Важливою особливістю експресії R-генів, які кодують білки з доменами TIR-NBS-LRR, є те, що деякі з них завдяки альтернативному сплайсингу ініціюють утворення принаймні ще одного транскрипта. Так, N-ген тютюну експресує два транскрипти – повної довжини (full-length N) та вкорочений (truncated N^{tr}).

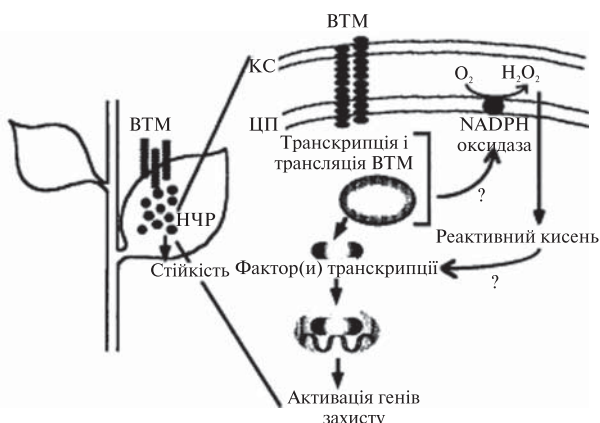


Рис. 2. Можлива модель трансдукції сигналу, опосередкованої білком N: КС – клітинна стінка, ЦМ – плазматична мембрана [65]

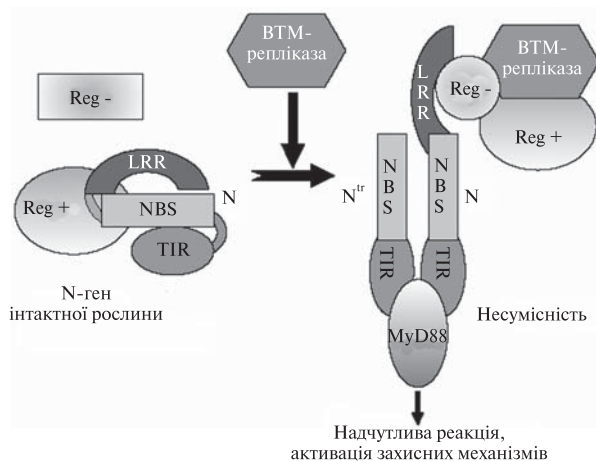


Рис. 3. Гіпотетична схема, яка демонструє зміну конформації N-гена та активацію захисних механізмів, що відбуваються в надчутливій рослині за вірусної інфекції [76]

Існує думка, що альтернативний сплайсинг N-гена та відносна швидкість синтезу двох N-матриць регулюється ВТМ-індукованими сигналами [74]. Функції різних транскриптів та їх можливих продуктів залишаються невідомими. Проте, вивчення молекулярних особливостей експресії N-гена тютюну показало, що сплайсинг і оптимальне співвідношення детермінованих ним транскриптів відіграють ключову роль у формуванні набутої стійкості рослин до повторного вірусного ураження і, отже, у гальмуванні патологічного процесу [30, 74]. Розпізнавання хеліказної ділянки 126/

183 кДа реплікази ВТМ відбувається завдяки LRR домену N-рецептора та рослинним білкам NRG1 і N^{tr}, які необхідні для розпізнавання елісатора та запуску НЧР [75]. Вважають, що саме білок N^{tr} (TIR-NBS) взаємодіє з N-рецептором та NRG1-білком рослини-хазяїна і таким чином координує захисну відповідь [76].

Нещодавно було клоновано і охарактеризовано NH-ген – гомолог N-гена у стійких та чутливих до ВТМ рослинах тютюну [77]. В рослинах з NH-геном не відбувається альтернативного сплайсингу і білок NH^{tr} не синтезується. Встановлено, що присутність NH-білка не перешкоджала системному поширенню вірусу, тому було зроблено припущення, що саме білок NH^{tr} відповідає за активацію захисної відповіді у рослин [77]. Вважають, що саме LRR-домен є відповідальним за специфічне зв'язування з лігандом [78], можливо, за рахунок димеризації білків чи інших компонентів, які беруть участь в сигнальній трансдукції, або через порушення процесу розпізнавання сигналів [79]. Можлива участь укорочених TIR-NBS-білків в захисній відповіді рослин представлена на рис. 3.

Як тільки продукт гена стійкості розпізнає елісатор, останній вступає у взаємодію з білками хазяїна і бере участь в передачі сигналу в клітині. Активація N-рецептора відбувається на ініціальній стадії інфекції завдяки взаємодії з Avg-елісатором (репліказою), синтезованим в клітині. В результаті успішного розпізнавання елісатора відбувається альтернативний сплайсинг N-гена та синтезуються білки N та N^{tr}. Хоча N^{tr} не містить LRR-домена, він може димеризуватись з N-рецептором і/або з іншими білками, як, наприклад, NRG1 через TIR-домен, і індукувати повноцінну захисну відповідь [77]. Саме завдяки TIR-домену може відбуватись фосфорилування білків подібно до того, як це відбувається в клітинах тварин завдяки TLR (toll like receptors) та Toll в клітинах *Drosophila* [80].

* *
*

За останні роки було клоновано та проаналізовано продукти багатьох генів стійкості у рослин. Вчені намагались розробити загальну теорію щодо механізмів стійкості і сприйнятливості та коєволюції рослинних патогенів і

їхніх хазяїв. Увага головним чином приділялась моногенній домінантній стійкості до грибних і бактеріальних патогенів, однак існують чіткі докази, що захисні механізми, ефективні щодо бактерій і грибів, є неспецифічними і чинними також щодо вірусної інфекції.

Так, фосфорилування білків у рослин як необхідний етап трансдукції сигналу відбувається через TIR-домен. Цей процес подібний до процесів, які були описані в клітинах тварин для TLR, RIL1 у ссавців і Toll у клітинах *Drosophila* [80–82]. В клітинах ссавців описано 10 TLR доменів, а найбільше вивченими є TLR2 та TLR4. Ці рецептори розпізнають ліпополісахариди та пептидоглікани грамнегативних бактерій. Вони мають варіабельну частину в TIR-домени, яка сприяє гомодимеризації білків, та консервативну ділянку, що бере участь в гетеродимеризації з TIR-доменами інших білків (наприклад MyD88). Взаємодія з цими адаптивними молекулами дозволяє запустити процеси передачі сигналів через серин/треонін протеїнкіназу. В результаті цього відбувається вихід фактора транскрипції Nf-kB із цитоплазми в ядро та зв'язування його з IκB ділянкою, яка знаходиться в промоторі генів, що беруть участь в активації імунної відповіді. Такі процеси призводять до активації транскрипції генів, залучених у формування імунної відповіді в рослин за вірусної інфекції.

Описаний механізм було запропоновано для пояснення передачі сигналу від елісатора до рецептора, тобто яким чином ВТМ-хеліказа (вірусний елісатор) може активувати фактори транскрипції через N-рецептор. Наразі аналоги IκB було виявлено в рослинах *Arabidopsis* і тютюну. Так, в білках NPR1/N1M1, які утворюються в рослині після обробки саліциловою кислотою, виявляються чотири анкіринповтори, гомологічні таким в IκB ссавців та cactus-білка *Drosophila*. Ці анкірин-мотиви необхідні для взаємодії з Nf-kB, тому припустили, що NPR1/N1M1 взаємодіють з іншими білками, можливо з факторами транскрипції, саме через ці повтори.

В процесі розвитку стійкості, опосередкованої TIR/NBS/LRR-рецептором, зокрема N-рецептором, було виявлено EDS1-білки. Гени EDS1 було клоновано та охарактеризовано ще в 1999 р. [83]. Встановлено, що вони кодують

білки з високим ступенем гомології до ліпаз еукаріот. Ці ферменти можуть викликати гідроліз ліпідних молекул за надчутливої реакції. Нещодавно було встановлено, що MAPK, SIPK (salicylic acid-induced protein kinase), WIPK (wounding-induced protein kinase) беруть участь в N-опосередкованій стійкості [84].

Майже півстоліття було необхідно, щоб зрозуміти комплекс взаємодій, які встановлюються на клітинному рівні між рослиною та вірусом. Розуміння структури і функцій R-генів відкриває широкі перспективи для створення стійких до патогенів сортів рослин. Трансгенні рослини, стійкі до патогенів, можна отримати генно-інженерними методами, шляхом направлено мутагенезу чи цілеспрямованого (map-based cloning or positional) клонування. На жаль функції багатьох білків та інших молекул, які взаємодіють з R-генами під час перебігу захисних реакцій, все ще залишаються невідомими. Відтак здається цілком виправданим за допомогою молекулярно-біологічних та біохімічних підходів і методів провести клонування і вивчення функцій генів, що активуються в процесі імунної відповіді рослин.

Наразі зусилля вчених значною мірою спрямовані на виявлення в рослинах аналогів генів стійкості RGA (resistance gene analogues) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Розвиток генетичного картування з RGA-маркерами може мати значну перспективу, позаяк воно дозволить ідентифікувати ділянки геному, пов'язані з генами стійкості. Відкриття та дослідження нових чинників трансдукції сигналу, вивчення деталей механізму сприйняття елісаторного сигналу, його підсилення та, отже, активації імунної відповіді буде сприяти розробці нових підходів, технологій і засобів захисту рослин від хвороб та стресів.

A.M. Kyrychenko, O.G. Kovalenko

GENETIC BASES AND FUNCTIONING OF PLANT SIGNAL TRANSDUCTION AT VIRUS RESISTANCE

Recent insights into virus-host interaction have been compiled in this review, focusing on the genetic basis and the modern conception of the molecular mechanisms of pathogen (mostly viral) recognition by plants. The significance of plant signal transduction systems and their key factors are discussed. The possible role of different elicitors in signal transduction processes has been considered.

А.Н. Кириченко, А.Г. Коваленко
**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
 И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИСТЕМ
 ТРАНСДУКЦИИ СИГНАЛОВ У РАСТЕНИЙ
 ПРИ ВИРУСНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ**

Анализируются генетические основы и современные представления о молекулярных механизмах распознавания растениями патогенов преимущественно вирусной природы. Обсуждается значение сигнальных систем и их ключевых факторов в растительном организме. Рассматривается возможное участие различных элиситоров в процессах сигнальной трансдукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hammond-Kosak K.E., Jones J.D.G. Resistance gene-dependent plant defense responses // *Plant Cell*. – 1996 – **8**. – P. 1773–1791.
2. Nurnberg T. Signal perception in plant pathogen defense // *Cell. Mol. Life Sci.* – 1999. – **55**. – P. 167–182.
3. *Induced Resistance for Plant Defence: a sustainable approach to crop protection* / Eds D. Walters, G. Lyon, A. Newton. – Oxford : Blacwell Publ., 2007. – P. 243–250.
4. Goodman R.N., Novacky A.J. The hypersensitive reaction of plants to pathogen // *Resistance Phenomenon*. – St Paul, MN: APS Press., 1994.
5. Whitham S.A., Wang Y. Roles of host factors in plant viral pathogenicity // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2004. – **7**, № 4. – P. 365–371.
6. Matthews R.E.F. *Plant Virology*. – New York; London : Acad. press, 1981. – 897 p.
7. Holmes F.O. Inheritance of resistance to tobacco mosaic virus disease in tobacco // *Phytopathology*. – 1938. – **28**, № 7. – P. 553–561.
8. Flor H.H. Current status of the gene-for-gene concept // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 1971. – **9**. – P. 275–296.
9. Keen T.E. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interaction // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 1990. – **24**. – P. 447–463.
10. Gabriel D.W., Rolfe B.G. Working models of specific recognition in plant-microbe interaction // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 1990. – **28**. – P. 365–391.
11. Scofield S.R., Tobias C.M., Rathjen J.P., Chang J.H. Molecular basis of gene-for-gene specificity in bacterial speck disease of tomato // *Science*. – 1996. – **274**. – P. 2063–2065.
12. Tang X., Frederick R.D., Zhou J., Halterman D.A., Jia Y., Martin G.B. Initiation of plant disease resistance by physical interaction of AvrPto and Pto kinase // *Science*. – 1996. – **274**. – P. 2060–2063.
13. Leister R.T., Katagiri F. A resistance gene product of the nucleotide binding site-leucine rich repeats class can form a complex with bacterial avirulence proteins in vivo // *Plant J.* – 2000. – **22**. – P. 345–354.
14. Jia Y., McAdams S.A., Bryan G.T., Hershey H.P., Valent B. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance // *EMBO J.* – 2000. – **19**. – P. 4004–4014.
15. Ellis J., Dodds P., Pryor T. The generation of plant disease resistance gene specificities // *Trends Plant Sci.* – 2000. – **5**. – P. 373–379.
16. Van der Biezen E.A., Jones J.D. Plant disease resistance proteins and the gene-for-gene concept // *Trends Biochem. Sci.* – 1998. – **23**. – P. 454–456.
17. Dangl J.L., Jones J.D. Plant pathogens and integrated defense responses to infection // *Nature*. – 2001. – **411**. – P. 826–833.
18. Schulze-Lefert P. Plant immunity: the origami of receptor activation // *Curr. Biol.* – 2004. – **14**, № 1. – P. 22–24.
19. Коваленко А.Г. Белок-углеводное взаимодействие в реализации устойчивости растений к вирусам // *Микробиол. журн.* – 1993. – **55**, № 6. – С. 76–91.
20. Коваленко О.Г., Телегесва Т.А., Штакун А.М., Погоріла З.О. Вплив деяких моно- і полісахаридів на локалізацію вірусної інфекції та індуковану вірусостійкість у рослин // *Биополимеры и клетка*. – 2000. – **16**, № 1. – С. 53–59.
21. Коваленко А.Г., Коваленко Э.А., Грабина Т.Д. Лектин-связывающая и антивирусная активность дрожжевых мананов в сверхчувствительных растениях // *Микробиол. журн.* – 1991. – **53**, № 2. – С. 83–89.
22. Коваленко О.Г., Кириченко А.М., Телегесва Т.А. Аффінна хроматографія глікобіополімерів чутливих і надчутливих рослин тютюну, уражених вірусом тютюнової мозаїки // *Биополимеры и клетка*. – 2005. – **21**, № 2. – С. 151–157.
23. Коваленко О.Г., Шепелевич В.В., Телегесва Т.А. Виявлення глікокон'югатів, специфічних до конканаваліну А, в апопласті листя тютюну, здорового та ураженого вірусом бронзовості томатів // *Вісн. КНУ ім. Тараса Шевченка. Біологія*. – 2005. – **44**. – С. 20–21.
24. Martin G.B., Bogdanove A.J., Sessa G. Understanding the functions of plant disease resistance proteins // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2003 – **54**. – P. 23–61.
25. Van Loon L.C., Van Strien E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1999. – **55**. – P. 85–97.
26. Odjakova M., Hadjiivanova Ch. The complexity of pathogen defense in plants // *Bulg. J. Plant Physiol.* – 2001. – **27**, 1/2. – P. 101–109.
27. Lamb C., Dixon R.A. The oxidative burst in plant disease resistance // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 1997. – **48**. – P. 251–275.
28. Shimomura T., Dijkstra J. The occurrence of callose during the process of local lesion formation // *Neth. J. Plant Pathol.* – 1975. – **81**. – P. 107–121.

29. *Yalpani N., Silvermann P., Wilson T.M.A., Kleiner D.A., Raskin I.* Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis related proteins in virus-infected tobacco // *Plant Cell*. – 1991. – **3**. – P. 809–818.
30. *Шамрай С.Н.* Гены устойчивости растений: молекулярная и генетическая организация, функция и эволюция // *Журн. общ. биологии*. – 2003. – **64**, № 3. – С. 195–214.
31. *Feng D., Li Y., Wang H., Li X.F.* Isolation and evolution mode analysis of nbs-lrr resistance gene analogs from hexaploid wheat // *Plant Mol. Biol.* – 2009. – **27**. – P. 266–274.
32. *Dodds P., Lawrence G.J., Ellis J.G.* Contrasting modes of evolution acting on the complex N locus rust resistance in flax // *Plant J.* – 2001. – **27**, № 5. – P. 439–453.
33. *Tao Y., Yuan F., Leister R.T., Ausubel F.M., Katagiri F.* Mutational analysis of the Arabidopsis nucleotide binding site-leucine-rich repeat resistance gene RPS2 // *Plant Cell*. – 2000. – **12**. – P. 2541–2554.
34. *Ellis J., Dodds P., Pryor T.* Structure, function and evolution of plant disease resistance genes // *Curr. Opin. Plant. Biol.* – 2000. – **3**. – P. 278–284.
35. *Jones D.A., Jones J.D.G.* The roles of leucine-rich repeats in plant defenses // *Adv. Bot. Res. Adv. Plant Pathol.* – 1996. – **24**. – P. 90–167.
36. *Kajava A.V.* Structural diversity of leucine-rich repeat proteins // *J. Mol. Biol.* – 1998. – **277**. – P. 519–527.
37. *Fisher M.L., Kyle M.M.* Inheritance of resistance to potyviruses in *Phaseolus vulgaris* L. 3. Cosegregation of phenotypically similar dominant responses to nine potyviruses // *Theor. Appl. Genet.* – 1994. – **89**. – P. 818–823.
38. *Маргитич В.М.* Сигнальна трансдукція – приваблива мішень для інноваційних протипухлинних препаратів // *Укр. мед. часопис*. – 2003. – **2**, № 34. – С. 6–10.
39. *Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф.* Общая и молекулярная фитопатология. – М., 2001. – 302 с.
40. *Ross A.F.* Viruses in plants. – Amsterdam : North-Holland Publ., 1966. – 369 p.
41. *Somssich I., Hahlbrock K.* Pathogen defense in plants – a paradigm of biological complexity // *Trends Plant Sci.* – 1998. – **3**. – P. 86–90.
42. *Ren T., Qu F., Morris T.J.* HRT gene function requires interaction between a NAC protein and viral capsid protein to confer resistance to turnip crinkle virus // *Plant Cell*. – 2000. – **12**. – P. 1917–1925.
43. *Weber H., Schultze S., Pfitzner A.J.* Two amino acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein confer the ability to overcome the Tm-2(2) resistance gene in the tomato // *J. Virol.* – 1993. – **67**. – P. 6432–6438.
44. *Takahashi H., Kanayama Y., Zheng M. S., Kusano T., Hase S., Ikegami M., Shah J.* Antagonistic interactions between the SA and JA signaling pathways in *Arabidopsis* modulate expression of defense genes and gene-for-gene resistance to *Cucumber mosaic virus* // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – **45**. – P. 803–809.
45. *Glazebrook J.* Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens // *Plant Physiol.* – 2005. – **43**. – P. 205–227.
46. *Ильинская Л.И., Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л.* Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости растений. – М.: ВИНТИ, 1991. – 102 с. // (Итоги науки и техники. Сер. Защита растений, Т. 7).
47. *Fritig B., Kauffman S., Dumas B. et al.* Mechanism of hypersensitivity reaction in plants // *Plant Resistance to viruses*. Giba Foundation Symposium, 133. – Chichester, New York : Wiley, 1987. – P. 92–97
48. *Wieringa-Brants D.H., Dekker W.C.* Induced resistance in hypersensitive tobacco against tobacco mosaic virus by injection of intercellular fluid from tobacco plants with systemic acquired resistance // *Phytopathology*. – 1987. – **118**, № 2. – P. 165–170.
49. *Modderman P.M., Schot C.P., Klis F.M., Wieringa-Brants D.N.* Acquired resistance in hypersensitive tobacco against tobacco mosaic virus, induced by plant cell wall components // *Phytopath. Z.* – 1985. – **113**, № 2. – P. 165–170.
50. *Kang B.C., Yeam I., Jahn M. et al.* Genetics of plant virus resistance // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2005. – **43**. – P. 18.1–18.4.
51. *Тарчевский И.А.* Элиситор-индуцируемые сигнальные системы клеток растений // *Физиология растений*. – 2000. – **47**, № 2. – С. 321–332.
52. *Gachomoto E.W., Shonukan O.O., Kotcholni S.O.* The molecular initiation and subsequent acquisition of disease resistance in plants // *African J. Biotechnol.* – 2002. – **2**, № 2. – P. 26–32.
53. *Scheel D.* Resistance response physiology and signal transduction // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 1998. – **1**. – P. 305–310.
54. *McDowell J.M., Dangl J.L.* Signal transduction in the plant immune response // *Trends Biochem. Sci.* – 2000. – **25**. – P. 79–82.
55. *Somssich I.E., Hohlbrock K.* Pathogen defense in plants – a paradigm of biological complexity // *Trends Plant Sci.* – 1998. – **3**. – P. 86–90.
56. *Dong X.* SA, JA, ethylene and disease resistance in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 1998. – **1**. – P. 316–323.
57. *Howe G.A.* Jasmonates as signals in the wound response // *J. Plant Growth Regul.* – 2004. – **23**. – P. 223–237.
58. *Vlot A.C., Klessig D.F.* Systemic acquired resistance: the elusive signal (s) // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2008. – **11**. – P. 436–442.
59. *Von Dahl C.C., Baldwin E.* Deciphering the role of eth-

- ylene in plant-herbivore interection. — 2007. — **26**. — P. 201–209.
60. Asselbergh B., Hofte M. Global switches and fine tuning: ABA modulates plant pathogen defense // *Mol. Plant Microbe Interact.* — 2008. — **21**. — P. 709–719.
 61. Schäfer P., Pfiffi S., Voll L., Zajic D., Chandler P. et al. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica* // *Plant J.* — 2009. — **59**, № 3. — P. 461–474.
 62. Wang S., Tiwari S.B., Hagen G., Guilfoyle T.J. Auxin response factor 7 restores the expression of auxin-responsive genes in mutant *Arabidopsis* leaf mesophyll protoplasts // *Plant Cell.* — 2005. — **17**. — P. 1979–1993.
 63. Bari R., Jones J.D.G. Role of plant hormones in plant defense responses // *Plant Mol. Biol.* — 2009. — **69**. — P. 473–488.
 64. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity // *J. Cell.* — 2006. — **124**. — P. 783–801.
 65. Whitham S., Dinesh-Kumar S.P., Choi D., Hehl R., Corr C., Baker B. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to Toll and the Interleukin-1 receptor // *Cell.* — 1994. — **78**. — P. 1101–1115.
 66. Dawson W.O. Tobamovirus-Plant interaction // *Virology.* — 1992. — **186**. — P. 359–367.
 67. Van Regenmortel M., Meshi T. Genus Tobamovirus // *Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses: Sixth report of the international committee on taxonomy of viruses.* — Vienna: Springer-Verlag, 1995. — P. 434–437.
 68. Padgett H.S., Watanabe Y., Beachy R.N. Identification of the TMV replicase sequence that activates the N gene-mediated hypersensitive response // *Mol. Plant Microbe Interact.* — 1997. — **10**. — P. 709–715.
 69. Abbink T.E.M., Tjernberg P.A., Linthorst H.J.M. Tobacco mosaic virus helicase domain induces necrosis in N gene-carrying tobacco in the absence of virus replication // *Mol. Plant Microbe Interact.* — 1998. — **11**. — P. 1242–1246.
 70. Peart J.R., Mestre P., Lu R., Malcuit I., Buncombe D.C. NRG1, a CC-NB-LRR protein, together with N, a TIR-NB-LRR protein, mediates resistance against tobacco mosaic virus // *Curr. Biol.* — 2005. — **15**. — P. 968–973.
 71. Mackey D., Holt B.F., Wiig A., Dangl J.L. RIN4 interacts with *Pseudomonas syringae* type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in *Arabidopsis* // *Cell.* — 2002. — **108**. — P. 743–754.
 72. Mackey D., Belkhadir Y., Alonso J.M., Ecker R., Dangl J.L. *Arabidopsis* RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance // *Cell.* — 2003. — **112**. — P. 379–389.
 73. Shaw J.G., Plaskitt K.A., Wilson T.M.A. Evidence that tobacco mosaic virus particles disassemble co-translationally in vivo // *Virology.* — 1986. — **148**. — P. 326–336.
 74. Dinesh-Kumar S.P., Baker B. Alternatively spliced N resistance gene transcripts: their possible role in tobacco mosaic virus resistance // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2000. — **97**. — P. 1908–1913.
 75. Dinesh-Kumar S.P., Wai-Hong T., Baker B. Structure-function analysis of the tobacco mosaic virus resistance gene N // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2000. — **97**. — P. 14789–147794.
 76. Stange C., Renate C., Picero C., Tomas J., Aclé P., Orlando T. The N-homologue LRR domain adopts a folding which explains the TMV-CG-induced HR-like response in sensitive tobacco plants // *J. Mol. Graph. and Model.* — 2008. — **26**, № 5. — P. 850–860.
 77. Stange C. Identificación y caracterización de un gen homólogo al gen N de resistencia a TMV: Tesis Doctoral, Pontificia Universidad Católica de Chile. — Santiago, Chile, 2004. — 155 p.
 78. Kobe B., Kajava A.V. The leucine-rich repeat as a protein recognition motif // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2001. — **11**. — P. 725–732.
 79. Hammond-Kosak K.E., Jones J.D.G. Plant disease resistance genes // *Ann. Rev. Plant Biol.* — 1997. — **48**. — P. 575–607.
 80. Muzio M., Polentausti N., Bosisio D., Manoj Kumar P.P., Mantovani A. Toll-like receptor family and signalling pathway // *Biochem. Soc. Trans.* — 2000. — **28**. — P. 563–566.
 81. Iqbal J., Sun L., Zaidi M. Complexity in signal transduction // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2010. — **1192**, № 1. — P. 238–244.
 82. Amanda L., Beutler Bl., Beutler Br. Intracellular Toll-like receptors // *Immunity.* — 2010. — **32**, № 3. — P. 305–315.
 83. Falk A., Feys B.J., Frost L., Jones J.D., Daniels M., Parker J. EDS1, an essential component of R gene-mediated disease resistance in *Arabidopsis* has homology to eukaryotic lipases // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1999. — **96**, № 6. — P. 3292–3297.
 84. Rodriguez M.C., Petersen M., Mundy J. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants // *Ann. Rev. Plant Biol.* — 2010. — **61**. — P. 621–649.

Надійшла 22.01.10