

Д.Б. Старосила

РОЛЬ ПРЕДСТАВНИКІВ СІМЕЙСТВА ОЛІГОАДЕНІЛАТСИНТЕАЗ, ПРОТЕЇНКІНАЗИ Р ТА РНКАЗИ L В АНТИВІРУСНІЙ АКТИВНОСТІ ІНТЕРФЕРОНУ

*ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
імені Л.В. Громашевського НАМН України",
м. Київ, Україна*

Відомо, що інтерферони (ІФН) справляють досить численні і різноманітні ефекти як на клітинному рівні, так і на рівні організму в цілому. Загальна схема реалізації дії ІФН зводиться до того, що взаємодія ІФН з рецепторами на поверхні сприйнятливих до ІФН клітин та наступна передача сигналу від рецепторів до відповідних генів призводить до активації ефекторних ланок системи ІФН, коло яких досить чітко окреслено. Особливої уваги заслуговують спроби пояснити різноманітні ефекти ІФН, виходячи з механізмів функціонування специфічних для системи ІФН ферментів, зокрема протеїнкінази (ПКР), 2-5 олігоаденілатсинтетази (2-5ОАС) та РНКАЗИ L.

Серед білків, синтез яких індукується під впливом ІФН, існують принаймні два ферменти, які синтезуються клітиною в неактивному стані і можуть, в свою чергу, активуватись в присутності длРНК (дволанцюгова РНК). Це ПКР та 2-5ОАС. До останнього часу вони розглядалися як єдино відомі представники родини ферментів, що можуть зв'язувати длРНК та потребують длРНК для своєї активації, хоча згодом були виявлені також і деякі інші білки з такими ж властивостями [21]. Зараз відомо досить широке коло груп білків, що зв'язуються з длРНК та мають ту чи іншу каталітичну властивість. Було ідентифіковано загальний для всіх цих різноманітних білків домен, присутній в білках вірусів, бактерій, еукаріотів, що відповідає за таке зв'язування. Але на відміну від багатьох білків, що зв'язуються з длРНК, в тому числі і від длРНК-залежної ПК, 2-5ОАС, зв'язуючись з длРНК, не має спільного з іншими такими білками домену зв'язування [21, 27, 30, 31, 42, 45].

ПКР, що активується в присутності длРНК після взаємодії клітин з ІФН, присутня в неактивному вигляді практично в усіх клітинах і має дуже вузьку субстратну специфічність,

що обмежується лише α -субодиницею фактора ініціації трансляції eIF-2, причому фосфорильований фактор не може бути рециклізований для повторної участі в процесах трансляції. При активації цього ферменту відбувається як його аутофосфорилування, так і фосфорилування специфічного субстрату, причому збільшення концентрації активатора (длРНК) призводить до гальмування процесу аутофосфорилування.

Певні механізми дії ІФН були вивчені відносно недавно [7, 15]. Вплив длРНК активує меншу кількість генів, ніж ІФН, але впливає на ті ж ключові ферменти, які забезпечують протівірусний захист ІФН. Першим ферментом, що активується як ІФНом, так і длРНК, є ПКР [13, 19, 41, 48]. ПКР є серин/треонін-кіназою вона присутня як в ядрі, так і в цитоплазмі. ПКР має дві важливі функціональні області: N-кінцевий РНК-зв'язуючий сайт та C-кінцевий каталітичний центр (160). N-кінцева РНК-зв'язуюча послідовність ПКР необхідна і достатня для зв'язування РНК. Вона однаково добре зв'язує як олРНК, так і длРНК.

ПКР належить до родини кіназ, яка забезпечує фосфорилування за допомогою еукаріотичного фактору ініціації (eIF2 α). Інші члени цієї родини у ссавців — це гемрегулюючий інгібітор (HRI) РКР-подібна кіназа ендоплазматичного ретикулуму (PERK) і протеїн головного контролю недерепресії (GCN2). Члени цієї родини протеїнів постійно експресуються в клітині, але їх активність репресується інгібіторними лігандами з гем і шаперон протеїнами для GCN2 і РКР. Визволення від інгібіції кожної з кіназ призводить до дисоціації інгібіторних лігандів і HRI і PERK та виділення інгібіторних доменів, пов'язаних з активаторами PCN2 і РКР. Кожна з кіназ має свій сигнал для активації лише РКР-R, фосфорильована eIF2 α індукується інтерфероном, і, отже, є частиною імунної відповіді.

Активовані ПКР мають 2 функції: перша — це прямий вплив на синтез протеїнів фосфорилуванням, і друга — активування факторів транскрипції, які модулюють клітинну сигнальну систему.

Велика група ферментів, об'єднана під назвою ПКР, каталізує перенос кінцевого залишку фосфату з АТФ на різні групи в структурі білка. ПКР розподілені на 5 великих класів в залежності від того, на які групи в структурі білку переноситься залишок фосфату. ПКР 1 класу переносять фосфат на спиртові групи серину і

треоніну. ПКР другого класу переносять фосфат на спиртову групу тирозину. ПКР 3 класу утворюють фосфоамідні зв'язки, переносячи залишок фосфату на атоми азоту гістидину, лізину або аргініну. протеїнкінази 4 класу фосфорилують залишки цистеїну в структурі білку. І нарешті, ПКР 5 класу здатні фосфорилувати залишки аспарагінової і глутамінової кислоти.

В ході реакції, що каталізується ПКР двох перших класів, спиртова група білку перетворюється в складний ефір, який несе великий негативний заряд. Введення негативного заряду в раніше нейтральну зону може приводити до значних змін в структурі білку, а значить, і до зміни його властивостей. Але перенос лише одного невеликого за молекулярною масою залишку фосфорної кислоти може супроводжуватися великими структурними перебудовами в молекулі білку-мішені, молекулярна маса якого може перевищувати десятки тисяч кДа. Саме тому проста хімічна модифікація молекули білку, що відбувається під впливом ПКР, є ефективним і широко розповсюдженим засобом регуляції активності багатьох ферментів і інших внутрішньоклітинних білків. Залишок фосфорної кислоти, перенесений ПКР на спиртову групу білку, може бути видалений під впливом іншого ферменту — фосфатази. Таким чином, ПКР і фосфатази утворюють дві групи ферментів-антагоністів здатних здійснювати зворотну ковалентну модифікацію білків-мішеней і тим самим регулювати їх активність. ПКР, індукована інтерфероном, фосфорилує серин і треонін, тобто відноситься до ПКР першого класу.

ПКР відносяться до групи складно улаштованих ферментів. Дійсно, за своєю природою ПКР взаємодіють як мінімум з двома субстратами. ПКР повинні мати спеціальний центр зв'язування АТФ або інших нуклеозидтрифосфатів, які використовуються як донори залишків фосфату, а також спеціальний центр зв'язування білку-субстрату, на який здійснюється перенос фосфатної групи. Для того щоб здійснити перенос фосфату з АТФ на білок, потрібний спеціальний активний центр, який містить певні амінокислотні залишки, які безпосередньо беруть участь в переносі фосфату від АТФ на білок. Ясно, що дві субстратзв'язуючі ділянки (ділянки зв'язування АТФ і ділянка зв'язування білку-субстрату) повинні розташовуватися поблизу і бути відповідним чином орієнтовані відносно одна до одної. Лише у цьому випадку стає

можливим ефективний перенос залишку фосфату. Субстратзв'язуючі ділянки повинні володіти достатньо високою специфічністю. Це означає, що ПКР повинні впізнавати лише свої субстрати, тобто зв'язувати і фосфорилувати певні білки. Тобто, всі ПКР повинні мати у своєму складі дві субстратзв'язуючі ділянки і каталітичний центр, що забезпечує власне процес фосфорилування. Трьохмірна структура каталітичного домену більшості ПКР складається з двох частин, поєднаних шарніром. Верхня частка забезпечує зв'язування АТФ, а нижня — зв'язування білкового субстрату. Каталіз здійснюється за участю амінокислотних залишків, розташованих в шарнірній ділянці. Фосфорилування пептидів ПКР за допомогою еукаріотичного фактору ініціації (eIF2 α) призводить до контролю трансляції в інфікованих вірусом клітинах, внаслідок чого у клітинах зупиняється білковий синтез. В останнє десятиріччя показана роль ПКР в клітинній диференціації [48], регуляції злоякісної трансформації [13, 41] при запальних станах [17, 19, 39], розвитку деменції [22].

Крім того, ПКР здатна фосфорилувати фактор ІкВ, який у нефосфорильованій формі утворює комплекс з транскрипційним фактором NF-kB, блокуючи сигнал ядерної локалізації NF-kB [34]. Потрапляючи до ядра NF-kB активує транскрипцію генів, що мають NF-kB-зв'язуючі сайти. Сайт зв'язування NF-kB існує також і у позитивного регуляторного домену ІІ (PRD ІІ), елементу промотора гену ІФН- β . Вважається, що саме тому длРНК здатна безпосередньо активувати експресію ІФН [14]. Вона активує ІФН-регулюючий фактор ІFR-1, який зв'язує PRD І — позитивний регуляторний домен присутній у промоторах генів ІФН- α та ІФН- β і, таким чином, стимулює їх експресію [43].

Другий напрямок дії, що активує длРНК (як і ІФН), включає механізм активації 2',5'-ОАС/РНКазі L. Відомо, що 2',5'-ОАС каталізує синтез 2',5'-зв'язаних аденозинових олігомерів з АТФ загальною формулою rppA (2'p5'A) $_n$, де $n \geq 1$ [9]. Потім суміш 2',5'A олігонуклеотидів зв'язує латентна ендонуклеаза — РНКазі L, активуючись у такий спосіб [46]. Остання розщеплює вірусні і клітинні РНК, що у свою чергу призводить до пригнічення білкового синтезу та пошкодження вірусної реплікації [38].

2',5'-ОАС активується завдяки конформаційній зміні, яка відбувається після зв'язування длРНК з ферментом. Виділяють декілька окре-

мих видів 2',5'-ОАС, які відрізняються за внутрішньоклітинною локалізацією [9].

Сімейство олігоаденілат синтетаз (ОАС) кодується в клітині 4 генами OAS1, OAS2, OAS3, OAS L. Усі 4 гени активуються ІФН. Але лише OAS L ген індукує пряму відповідь на вірусну інфекцію (інтерферон-регулюючий фактор [IRR]-3 [21]). OAS гени локалізовані на хромосомі 12 людських клітин — OAS1-3 кластер у 12q4.1 регіоні і OAS L у 12q24.2 [21, 28].

Всі ОАС генів ссавців складаються з екзон/інтрон структур. Вперше демонстрація прямої антивірусної дії сімейства ОАС була представлена Judith Chebath et al. [8]. Автори встановили, що в клітинах, трансфектованих плазмідом людини OAS1, репродукція вірусу енцефаломіокардиту була редукована в 10–100 разів. Подібні експерименти були проведені з людським OAS2 і вірусом везикулярного стоматиту. Нещодавно така закономірність була підтверджена для OAS3 і α -вірусів, таких як Чикунгунья, Синдбіс вірус та вірус лісів Семліки [6]. Крім того, антивірусний ефект та участь в ньому різних генів сімейства ОАС був показаний для вірусів Західного Нілу [49], гепатиту С [2], SARS-коронавірусів [23]. Механізм інгібіції реплікації вірусів за допомогою ОАС здійснюється шляхом ОАС/RNase L., встановленим ще у 1970-х роках [2, 20, 29, 44]. В результаті цієї реакції відбувається руйнування РНК вірусної та клітинної, включаючи рибосомальні, в інфікованих клітинах, що запобігає трансляції протеїнів вірусу, отже реплікації вірусів. Докази такого механізму були одержані при визначенні руйнування рибосомальної РНК у вірусінфікованих клітинах і клітинах, трансфектованих 2-5 ОАС, з одного боку, а також збільшення чутливості до інфекції EMCV (вірус енцефаломіокардиту) у мишей з дефектом по RNase L гена (RNase L-1-) [51]. Нещодавно була визначена роль OAS1 та OAS3 в антивірусній активності проти вірусу Денге RNase L-залежним механізмом [36]. В останні роки встановлено і RNase L — незалежний механізм дії ОАС в запобіганні вірусної реплікації. OAS L людини і mOAS1в мишей не здатні стимулювати RNaseL, але в той же час вони забезпечують антивірусну активність в клітинах ссавців [5, 26].

РНКаза L інгібітор (RLI) це клітинний протеїн, який не регулюється ІФН, а індукується вірусами, такими як енцефаломіокардит (EMCV). RLI інгібує дію РНКази L упродовж вірусної інфекції, зменшуючи антивірусний ефект ІФН.

Відомо, що реплікативний комплекс багатьох вірусів складається із двохтяжевої РНК, яка активує експресію генів ІФН, і в той же час dsRNA та його синтетичний аналог poliI:poliC індукують експресію генів PL1. Таким чином, вірус сам утворює шляхи захисту клітини (система ІФН) та протидії їй за допомогою інгібітора РНКази L [37].

При вивченні фармакокінетики людського рекомбінантного ІФН (Re-IFN- α) на мавпах *супомолгус* проводили визначення індукованого ферменту 2-5АОС [3]. Було показано, що активність ОАС досягає піка до 6–12 год після введення людського рекомбінантного ІФН- α , причому рівень активності ензиму залежав від концентрації введеного ІФН.

Kuzuko Uno et al. [28] був розроблений тест визначення активності ІФН в сироватках крові інфікованих хворих по індукції ферменту 2'-5' ОАС. Було показано, що цей тест досить чутливий. Авторами представлені дані перерахунку міжнародних одиниць ІФН в одиниці активності в pmol/dl активності 2-5 ОАС для ІФН- α , - β , і - γ . Чутливість методу відповідає 0,1 МО/мл.

При застосуванні цього методу для визначення ендogenous ІФН у сироватках крові 21 здорових волонтерів, 7 пацієнтів з герпес-зостер, 65 — з гепатитом С (HCV), 5 — гострим гепатитом В (HBV), 2 — грипоною інфекцією, 16 — ВІЛ-інфікованих було показано, що при герпетичній інфекції, HCV, HBV рівень ІФН різко знижений — 0,1–0,5–1,5 МО/мл; при грипоною інфекції та ВІЛ-інфекції титри ІФН досягали 4,1 МО/мл. Тому цей метод визначення активності ІФН автори запропонували використовувати для аналізу ролі ІФН при різних вірусних інфекціях, ефекту антивірусних препаратів, а також в протоколах клінічних досліджень. Звертають на себе увагу робота [16], в якій показано, що 3 різних субтипи ІФН- α з високою, низькою, проміжною активністю ІФН індукували однакову кількість ферменту 2'-5' ОАС.

Описана експресія генів, індукованих ІФН в різних тканинах мишей після введення ІФН і poliI:poliC. Показано збільшення експресії мРНК ІФН в 15 разів у порівнянні з контролем і відповідно збільшення активності ОАС. Обробка мишей анти-ІФН сироваткою відміняла збільшення ОАС-активності.

Цикл робіт, присвячений ролі ферментів, індукованих ІФН ОАС, РНКази L, ПКР в антивірусному захисту при вірусних інфекціях.

В.А. Bannai [4] продемонстрував результати досліджень, які свідчать про те, що ІФН- β захищає від HSV-інфекції за допомогою селективної регуляції ОАС і RNКази L в нервових гангліях мишей та порушенню фосфорилляції протеїнів в антивірусному сигнальному каскаді.

В роботі S.Q. Han [42] показано зв'язок ІФН-чутливих і ІФН-резистентних штамів гострого HCV із здатністю RNКази L до розрізання динуклеотидів UA і UU в РНК HCV. Для *Varicella zoster* механізм активації 2–5A/RNКази L не забезпечує захист від інфекції [12].

Антивірусні ефекти інтерферону при ВГС-інфекції. Інфікування вірусом клітин призводить до продукції ІФН- α і β . Т-клітини відповідають на вірусну інфекцію продукцією ІФН- γ . ІФН індукують синтез ряду білків (рис.), що мають безпосередню антивірусну активність [1, 50].

При ВГС-інфекції дуже часто антивірусні ефекти ІФН виявляються не ефективними, мабуть, тому, що вірус має ІФН захист. Показано існування такого захисту проти ПКР протеїнінази. Цей фермент фосфорилує α -субодиницю еукаріотичного фактору ініціації — eIF-2 α , в результаті чого припиняється синтез білків в інфікованій клітині. Нещодавно показано, що

вірусний білок NS5A може інгібувати функцію ПКР *in vivo*. Вперше в 1995 р. у пацієнтів була виявлена ділянка (названа ISDR), яка була відповідальною за чутливість до ІФН. Так як лікування ІФН та рибавирином є єдина терапія для хворих ХГС, вивченню анти-ІФН ефектів вірусу приділяється велика увага. Нещодавно була встановлена безпосередня взаємодія ISDR ділянки з ПКР, в результаті чого порушується димеризація ферменту і його функціональна активність. Але до цього часу чіткого зв'язку між структурою ISDR і результатами лікування ІФН не встановлено. Можливо, тому що в білку NS5A є ще одна ділянка, яка блокує дію ІФН [35].

Показано, що механізм, який використовує HCV у протистоянні дії ІФН, це молекулярна мімікрія, при якій вірусні білки тотожні з білками клітин організму. ІФН, який синтезується клітиною після інфікування вірусом діє через ПКР, гальмуючи синтез білку за рахунок фосфорильованого еукаріотичного фактору ініціації eIF2 α . Оболонковий білок E2 HCV містить послідовність з 12 амінокислот, що тотожна доменам фосфорилування, які знаходяться як в протініназі, так і в еукаріотичному факторі ініціації eIF2 α . Цей домен заважає протеїніназозалежному фосфорилуванню фактора eIF2 α і гальмуванню вірусного білкового синтезу, що корелює зі здатністю HCV протистояти дії ІФН. Таким чином, щоб зрозуміти як можна подолати нечутливість вірусів до дії ІФН, необхідні знання про функціонування специфічних для ІФН ферментів — ПКР, 2'-5'-олігосинтетази та RNКази L, що регламентується експресією їх генів [1, 33, 50].

Роль 2'-5'-оліго(A) системи при ВГС-інфекції вивчена недостатньо. Індукована ІФН 2'-5'-ОАС, каталізує утворення коротких олігоаденілатів, стійких до гідролізу звичайними нуклеазами. Ці олігоаденілати активують 2'-5'-оліго(A)-залежну RNКазу L. Вона розщеплює одноланцюгові РНК на дрібні фрагменти. Високий рівень сироваткової ОАС (200 пікомоль/децилітр) в гострій фазі гепатиту С асоціювався з реконвалесценцією. Мабуть, одужання пов'язано з високим рівнем ендogenous ІФН і ОАС. Але застосу-

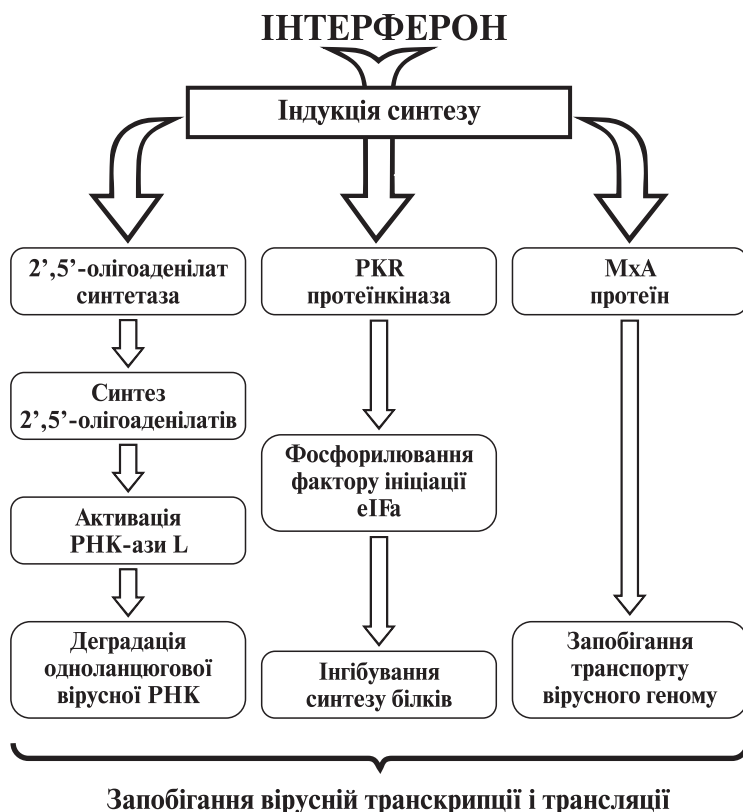


Рис. Схема антивірусних ефектів ІФНу при HCV-інфекції

вання екзогенного ІФН при лікування ХГС не впливало на рівень 2'5'-ОАС.

ІФН в комбінації з рибавірином найбільш ефективна схема лікування HCV-інфекції. Чутливість або резистентність вірусу до ІФН визначається регіоном (ISDR) і PKR-eIF2alpha фосфорилляцією гомологічного домену (pEрHD) в NS5A і E2 регіону вірусного геному. В пошуках інших потенціальних механізмів HCV резистентності ІФН було показано, що ІФН- α безпосередньо діє на трансляцію HCV IRES в різних типах клітин [33].

Дослідженнями S. Datta [11] продемонстровано, що механізм резистентності до ІФН HCV пов'язаний з експресією клітинних поверхневих рецепторів IFNARI.

В роботі М.Р. Walkiewicz [47] показано, що інгібіція репродукції вірусу грипу здійснюється через інгібіцію неструктурного білку NS1, за допомогою RNaseL, яка індукується ІФН.

Описано новий механізм інгібіції вірусу гепатиту В через інгібіцію експресії вірусу за допомогою активації ПКР. На моделі HBV реплікації в трансфектованих клітинах людської гепатоми Huh-7 було показано, що молекулярний механізм інгібіції репродукції HBV ІФН здійснюється ПКР-залежним шляхом [40].

Ідентифіковані ІФН-індукуючі клітинні протеїни, які пригнічують репродукцію флавовірусів, Західного Нілу і вірусу Денге: віперин, ІФН, індукуючий ген 20 (ISG20) і ПКР [24].

Показано, що в персистуючих, інфікованих паротитом клітинах (FL, KB, Nut78) значно зменшена індукція ІФН, індукованих 2-5ОАС. Для ВІЛ-інфекції доказано, що активація ПКР підсилює анти-ВІЛ ефективність ІФН [10].

Таким чином, аналіз літератури, присвяченої експресії генів противірусних білків, які індукуються ІФН, свідчить про те, що наші знання про молекулярні механізми антивірусної дії ІФН знаходяться ще на накопичувальному рівні. Вже багато відомо, але ці знання про роль генів та білків антивірусного захисту, індукованих ІФН та його індукторами при вірусних інфекціях, ще потребують нових досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Arnaud N. Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation / N. Arnaud, S. Dabo, P. Mailard, A. Budkowska // *PLoS One*. — 2010. — № 5 (5). — P. 10575.
2. Baglioni C. Interferon action may be mediated by activation of a nuclease by pppA2'p5'A2'p5'A / C. Baglioni, M.A. Minks, P.A. Maroney // *Nature*. — 1978. — № 273. — P. 684–687.

3. Bannai H. Pharmacokinetic study of a human recombinant interferon (Re-IFN-alpha A) in cynomolgus monkeys by 2'-5' oligoadenylate synthetase assay / H. Bannai, M. Tatsumi, M. Konase, E. Onish // *J. Med. Sci. Biol.* — 1985. — № 38 (3). — P. 113–124.
4. Bannai H. Critical role for the oligoadenylate/RNase L pathway in response to IFN-beta during acute ocular herpes simplex virus type 1 infection / H. Bannai, M. Tatsumi, M. Konase, E. Onish // *J. Immunol.* — 2005. — № 175 (2). — P. 1100–1106.
5. Bisbal C. Cloning and characterization of RNAase L inhibitor. A new component of the interferon-regulated 2-5A pathway / C. Bisbal, C. Martinand, M. Silhol // *J. Biol. Chem.* — 1995. — № 270 (22). — P. 13308–13317.
6. Brehin A.C. The large form of human 2',5'-Oligoadenylate Synthetase (OAS3) exerts antiviral effect against Chikungunya virus / A.C. Brehin, I. Casademont, M.P. Frenkiel et al. // *Virology*. — 2009. — № 384. — P. 216–222.
7. Broeze R.J. Studies with pure mouse Ehrlich ascites tumor interferons alpha and beta: patterns of induction of 2-5A synthetase and a double-stranded RNA-dependent protein kinase in mouse cells and human cells / R.J. Broeze, J.P. Daugherty, J. Pichon et al. // *J. Interferon Res.* — 1981. — № 1. — P. 191–202.
8. Chebath J. Constitutive expression of (2'-5') oligo A synthetase confers resistance to picornavirus infection / J. Chebath, P. Benech, M. Revel // *Nature*. — 1987. — № 330. — P. 587–588.
9. Clemens M.J. Inhibition of cell-free protein synthesis by pppA2'p5'A2'p5'A: a novel oligonucleotide synthesized by interferon-treated L cell extracts / M.J. Clemens, B.R. Williams // *Cell*. — 1978. — № 13. — P. 565–572.
10. Clerzius G. Multiple levels of PKR inhibition during HIV-1 replication / G. Clerzius, J. Gelinas, A. Gatignol // *Rev. Med. Virol.* — 2011. — № 21 (1). — P. 42–53.
11. Datta S. Mechanism of HCV's resistance to IFN- α in cell culture involves expression of functional SFN- α receptor 1 / S. Datta, S. Hazari, P. Chandra, M. Samara // *Viol. J.* — 2011. — № 8. — P. 351.
12. Desloges N. Varicella-zoster virus does not significantly induce cell defence mechanism mediated by the 2-5A/RNase L pathway during its replication cycle / N. Desloges, M. Rachaus, M. Wolff // *Med. Microbiol. Immunol.* — 2005. — № 194 (1–2). — P. 25–31.
13. Donze O. Abrogation of translation initiation factor eIF-2 phosphorylation causes malignant transformation of NIH 3T3 cells / O. Donze, R. Jagus, A.E. Koromilas, J.W. Hershey, N. Sonenberg // *EMBO J.* — 1995. — № 14 (15). — P. 3828–3834.
14. Ernest C. Interferon-Stimulated Genes and Their Protein Products: What and How? / C. Ernest, D. Borden, R. Bryan et al. // *Journal of Interferon & Cytokine Research*. — 2011. — № 31. — P. 1–4.
15. Floyd-Smith G. Interferon action: RNA cleavage pattern of a (2'-5') oligoadenylate-dependent endonuclease / G. Floyd-Smith, E. Slattery, P. Lengyel // *Science*. — 1981. — № 4498. — P. 1030–1032.
16. Goren T. High and low potency interferon-alpha subtypes induce (2'-5') oligoadenylate synthetase with similar efficiency / T. Goren, A. Kapitkovsky, A. Kimachi, M. Rubinstein // *Virology*. — 1983. — № 130 (2). — P. 273–270.
17. Guo F. The GCN2 eIF2alpha kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid / F. Guo, D.R. Cavener // *Cell Metab.* — 2007. — № 5 (2). — P. 103–114.
18. Han J. Sensitivity of hepatitis C virus RNA to the antiviral enzyme ribonuclease L is determined by a subset of efficient cleavage sites / J. Han, G. Wroblewski, Z. Xu,

- R. Silverman, D. Barton // *J. Interferon Cytokine Res.* — 2004. — № 24 (11). — P. 664–676.
19. Harding H.P. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *perk* — \setminus mice reveals a role for translational control in secretory cell survival / H.P. Harding, H. Zeng, Y. Zhang et al. // *Mol. Cell Biol.* — 2001. — № 7 (6). — P. 1153–1163.
 20. Hovanessian A.G. Synthesis of low molecular-weight inhibitor of protein synthesis with enzyme from interferon-treated cells / A.G. Hovanessian, R.E. Brown, I.M. Kerr // *Nature.* — 1977. — № 268. — P. 537–540.
 21. Hovnanian A. The human 2',5'-oligoadenylate synthetase locus is composed of three distinct genes clustered on chromosome 12q24.2 encoding the 100-, 69-, and 40-kDa forms / A. Hovnanian, D. Rebouillat, M.G. Mattei et al. // *Genomics.* — 1998. — № 52. — P. 267–277.
 22. Hugon J. Could PKR inhibition modulate human neurodegeneration? / J. Hugon, C. Paquet, R.C. Chang // *Expert Rev. Neurother.* — 2009. — № 9 (10). — P. 1455–1457.
 23. Humano E. Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population / E. Humano, M. Hijikata, S. Itoyama // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2005. — № 329. — P. 1234–1239.
 24. Jiang D. Identification of five interferon-induced cellular proteins that inhibit West Nile virus and dengue virus infections / I. Park, K. Baek, E. Cho, B. Ahn // *J. Virol.* — 2010. — № 84 (16). — P. 8332–8341.
 25. Justesen J. Gene structure and function of the 2'-5'-oligoadenylate synthetase family / J. Justesen, R. Hartmann, N.O. Kjeldgaard // *Cell Mol. Life Sci.* — 2000. — № 57. — P. 1593–1612.
 26. Kajaste-Rudnitski A. The 2',5'-oligoadenylate synthetase 1b is a potent inhibitor of West Nile virus replication inside infected cell / A. Kajaste-Rudnitski, T. Mashimo, M.P. Frenkiel // *J. Bio. Chem.* — 2006. — № 281. — P. 4624–4637.
 27. Kalvakolanu D.V. An overview of the interferon system: signal transduction and mechanisms of action / D.V. Kalvakolanu, E.C. Borden // *Cancer Investig.* — 1996. — № 14. — P. 25–53.
 28. Kazuko Uno. A bioassay for Serum Interferon Based on Induction of 2'5'-Oligoadenylate Synthetase Activity / Uno Kazuko, Sato Takayuki, Takada Yoshihiro // *Journal of Interferon and cytokine Research.* — 1998. — № 18. — P. 1011–1018.
 29. Kerr I.M. Nature of inhibitor of cell-free protein synthesis formed in response to interferon and double-stranded RNA / I.M. Kerr, R.E. Brown, A.G. Hovanessian // *Nature.* — 1977. — P. 540–542.
 30. Kirchner H. The interferon system as an integral part of the defense system against infections / H. Kirchner // *Antiviral Res.* — 1986. — № 6. — P. 1–17.
 31. Kita M. Expression de l'ARN messenger des cytokines chez la souris dans des conditions physiologiques / M. Kita, L.J. Tong, K. Tanaka // *C. R. Soc. Biol.* — 1993. — № 187. — P. 414–419.
 32. Knapp S. Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR / S. Knapp, L.J. Yee, A.J. Frodsham et al. // *Genes Immun.* — 2003. — № 4. — P. 411–419.
 33. Koev G. Hepatitis C virus IRES-dependent translation is insensitive to an eIF2 α — independent mechanism of inhibition by interferon in hepatocyte cell lines / G. Koev, R. Duncan, M. Lai // *Virology.* — 2002. — № 297 (2). — P. 195–202.
 34. Kumar A. Double-stranded RNA-dependent protein kinase activates transcription factor NF-kappa B by phosphorylating I kappa B / A. Kumar, J. Haque, J. Lacoste // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1994. — № 91 (14). — P. 6288–6292.
 35. Kumthip K. Correlation between mutations in the core and NS5A genes of hepatitis C virus genotypes 1a, 1b, 3a, 3b, 6f and the response to pegylated interferon and ribavirin combination therapy / K. Kumthip, C. Pantip, P. Chusri, S. Thongsawat // *J. Viral. Hepat.* — 2011. — № 18 (4). — P. 117–125.
 36. Lin R.J. Distinct antiviral roles for human 2',5'-oligoadenylate synthetase family members against dengue virus infection / R.J. Lin, H.P. Yu, B.L. Chang // *J. Immunol.* — 2009. — № 183. — P. 8035–8043.
 37. Martinand C. The RNase Inhibitor (RLI) is induced by Double-Stranded RNA / C. Martinand, T. Salenzada, M. Silhd // *J. Interferon Cytokine Res.* — 1998. — № 18. — P. 1031–1038.
 38. Melchjorsen J. Differential regulation of the OASL genes in response to viral infections / J. Melchjorsen, H. Kristiansen, R. Christiansen et al. // *J. Interferon Cytokine Res.* — 2009. — № 29. — P. 199–207.
 39. Oyadomari S. Dephosphorylation of translation initiation factor 2 α enhances glucose tolerance and attenuates hepatosteatosis in mice / S. Oyadomari, H.P. Harding, Y. Zhang et al. // *Cell Metab.* — 2008. — № 7 (6). — P. 520–532.
 40. Park I. PKR-dependent mechanisms of interferon- α for inhibiting hepatitis B virus replication / I. Park, K. Baek, E. Cho, B. Ahn // *Mol. Cells.* — 2011. — № 23. — P. 312.
 41. Perkins D.J. Defects in translational regulation mediated by the alpha subunit of eukaryotic initiation factor 2 inhibit antiviral activity and facilitate the malignant transformation of human fibroblasts / D.J. Perkins, G.N. Barber // *Mol. Cell Biol.* — 2004. — № 24 (5). — P. 2025–2040.
 42. Pestka S. The interferon receptors / S. Pestka // *Semin. Oncol.* — 1997. — № 3, Suppl. 9. — P. S918–S940.
 43. Pindel A. The Role of Protein kinase R in the Interferon Response / A. Pindel, A. Sadler // *Journal of Interferon & Cytokine Research.* — 2011. — Vol. 31, № 1. — P. 59–70.
 44. Roberts W.K. Interferon-mediated protein kinase and low-molecular-weight inhibitor of protein synthesis / W.K. Roberts, A. Hovanessian, R.E. Brown // *Nature.* — 1976. — № 264. — P. 477–480.
 45. Sadowski H.B. A common nuclear signal transduction pathway activated by growth factor and cytokine receptor / H.B. Sadowski, K. Shuai, J.E. Darnell // *Science.* — 1993. — № 261. — P. 1739–1744.
 46. Silverman R.H. Viral encounters with 2',5'-oligoadenylate synthetase and RNase L during the interferon antiviral response / R.H. Silverman // *Virology.* — 2007. — № 81. — P. 12720–12729.
 47. Walkiewicz M. Novel inhibitor of influenza non-structural protein 1 blocks multi-cycle replication in an RNase L-dependent manner / M. Walkiewicz, D. Basu, J. Jablonski, H. Geysen // *J. Gen. Virol.* — 2011. — № 92. — P. 60–70.
 48. Wang H. The increase in levels of interferon-inducible proteins p202a and p202b and RNA-dependent protein kinase (PKR) during myoblast differentiation is due to transactivation by MyoD: their tissue distribution in uninfected mice does not depend on interferons / H. Wang, B. Ding, C.J. Liu et al. // *J. Interferon Cytokine Res.* — 2002. — № 22 (6). — P. 729–737.
 49. Yakub I. Single nucleotide polymorphisms in genes for 2'-5'-oligoadenylate synthetase and RNase L in patients hospitalized with West Nile virus infection / I. Yakub, K.M. Lillibridge, A. Moran et al. // *J. Infect. Dis.* — 2005. — № 192. — P. 1741–1748.

50. Yokozaki S. Mutations in two PKR-binding domains in chronic hepatitis C of genotype 3a and correlation with viral loads and interferon responsiveness / S. Yokozaki, Y. Katano, K. Hayashi // *J. Med. Virol.* — 2011. — № 83 (10). — P. 1727–1732.
51. Zhou A. Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2',5'-oligoadenylate-dependent RNase L / A. Zhou, J. Paranjape, T.L. Brown et al. // *EMBO J.* — 1997. — № 16. — P. 6355–6363.

**РОЛЬ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА
ОЛИГОАДЕНИЛАТСИНТЕТАЗ,
ПРОТЕИНКИНАЗЫ P И РНКазы L
В АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ
ИНТЕРФЕРОНА**

Д.Б. Старосила

В работе рассмотрены механизмы действия интерферона (ИФН) на уровне экспрессии генов, которые активируются дцРНК и экзогенным ИФН. Особое внимание уделено попыткам объяснить различные эффекты ИФН, исходя из механизмов функционирования специфических для системы ИФН ферментов ПКР, 2–5 ОАС и РНКазы L. Представлены результаты роли ферментов индуцируемых ИФН ОАС, РНКазы L и ПКР в антивирусной защите при вирусных инфекциях. Более подроб-

но анализируются работы, посвященные антивирусным эффектам ИФН при ВГС-инфекции, чувствительности и резистентности ВГС к действию ИФН. Анализ литературы, посвященный экспрессии генов антивирусных белков, которые индуцируются ИФН, находятся на накопительной стадии и требуют новых исследований.

**ROLE OF OLIGOADENYLATE SYNTHETASE,
PROTEIN KINASE P AND RNASE L
IN MEDICATING ANTIVIRAL ACTIVITY
OF INTERFERON**

D.B. Starosila

The mechanisms of interferon (IFN) effects at the level of the expression of genes activated by dsRNA and exogenous IFN have been reviewed with particular emphasis on the explaining various IFN effects in terms of the functioning of oligoadenylate synthetase (OAS), protein kinase P (PKP) and RNase L — the enzymes specific of IFN system. The data on the role of IFN-inducible OAS, PKP and RNase L in antiviral protection have been presented. The antiviral effects of IFN in HCV infections as well as IFN-sensitivity and resistance of HCV are analyzed in more details. In whole, the analysis of the recent data on gene expression of IFN-induced antiviral proteins suggests that further research in the area is required.



JUS ISO 9001

**Дочірнє підприємство
“СПЕКТАР-
Україна”**

З 2010 року ДП «Спектар-Україна» представляє одно- та 8-канальні лабораторні дозатори варіабельного об'єму виробництва ANH Biotechnologie GmbH (Німеччина), які вигідно вирізняються оптимальним поєднанням прийнятної ціни та високої якості.

Вся продукція має сертифікати якості CE, ISO та зареєстрована в МОЗ України.

ДП «СПЕКТАР-Україна»

03680, Київ, вул. Боженко, 31, офіс 352. Тел./факс: 522-95-69, 502-68-10, 529-41-61.

ЗАПРОШУЄМО ДО СПІВРОБІТНИЦТВА ДИЛЕРІВ !!!