

ISSN 2518-1629 (Online),
ISSN 2224-5308 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Института биологии и биотехнологии растений

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
of the Institute of Plant Biology and Biotechnology

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ



SERIES

OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

1 (319)

**ҚАҢТАР – АҚПАН 2017 ж.
ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ 2017 г.
JANUARY – FEBRUARY 2017**

**1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА
PUBLISHED SINCE JANUARY 1963**

**ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ
ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД
PUBLISHED 6 TIMES A YEAR**

**АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА
АЛМАТЫ, НАН РК
ALMATY, NAS RK**

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі, м. ғ. д., проф.

Ж. А. Арзықұлов

Абжанов Архат проф. (Бостон, АҚШ),
Абелев С.К. проф. (Мәскеу, Ресей),
Айтқожина Н.А. проф., академик (Қазақстан)
Ақшулаков С.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Алшынбаев М.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Березин В.Э., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Бисенбаев А.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Бишимбаева Н.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ботабекова Т.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Қайдарова Д.Р. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Күзденбаева Р.С. проф., академик (Қазақстан)
Лось Д.А. prof. (Мәскеу, Ресей)
Lunefeld Bruno prof. (Израиль)
Миербеков Е.М. проф. (Қазақстан)
Муминов Т.А. проф., академик (Қазақстан)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Сапарбаев Мұрат проф. (Париж, Франция)
Сарбассов Дос проф. (Хьюстон, АҚШ)

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РҚБ (Алматы қ.)

Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде
01.06.2006 ж. берілген №5546-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28, 219 бөл., 220, тел.: 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz / biological-medical.kz

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2017

Типографияның мекенжайы: «Аруна» ЖК, Алматы қ., Муратбаева көш., 75.

Г л а в н ы й р е д а к т о р
академик НАН РК, д.м.н., проф.

Ж. А. Арзыкулов

Абжанов Архат проф. (Бостон, США),
Абелев С.К. проф. (Москва, Россия),
Айтхожина Н.А. проф., академик (Казахстан)
Акшулаков С.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Алчинбаев М.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Березин В.Э., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Бисенбаев А.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Бишимбаева Н.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ботабекова Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж. проф., чл.-корр. (Казахстан), зам. гл. ред.
Ishchenko Alexander prof. (Villejuif, France)
Кайдарова Д.Р. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Кузденбаева Р.С. проф., академик (Казахстан)
Лось Д.А. prof. (Москва, Россия)
Lunenfeld Bruno prof. (Израиль)
Миербеков Е.М. проф. (Казахстан)
Муминов Т.А. проф., академик (Казахстан)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Сапарбаев Мурат проф. (Париж, Франция)
Сарбассов Дос проф. (Хьюстон, США)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов
Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18,

www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2017

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

Editor in chief

academician of NAS RK, doctor of medical science, professor

Zh. A. Arzykulov

Abzhanov Arkhat prof. (Boston, USA),
Abelev S.K. prof. (Moscow, Russia),
Aitkhozhina N.A. prof., academician (Kazakhstan)
Akshulakov S.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Alchinbayev M.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Berezin V.Ye., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bisenbayev A.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bishimbayeva N.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Botabekova T.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Zhambakin K.Zh. prof., corr. member. (Kazakhstan), deputy editor in chief
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Kaydarova D.R. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Kuzdenbayeva R.S. prof., academician (Kazakhstan)
Los D.A. prof. (Moscow, Russia)
Lunefeld Bruno prof. (Israel)
Miyerbekov Ye.M. prof. (Kazakhstan)
Muminov T.A. prof., academician (Kazakhstan)
Purton Saul prof. (London, UK)
Rakhypbekov T.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Saparbayev Murat prof. (Paris, France)
Sarbassov Dos, prof. (Houston, USA)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,

<http://nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz>

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2017

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 34 – 43

G. S. Mukiyanova¹, A. Zh. Akbassova¹, Maria J. Pozo², R. T. Omarov¹

¹L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan,

²Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada, Spain.

E-mail: gmukiyanova@gmail.com, a.j.alua@gmail.com, mjpozo@eez.csic.es, romarov@gmail.com

Tomato bushy stunt virus (TBSV) ENCODED CAPSID PROTEIN P41 TRIGGERS RESISTANCE IN *Solanum lycopersicum*

Abstract. Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* plants with wild type *Tomato bushy stunt virus (TBSV)* is influenced by expression of protein P19, which is a potent RNAi suppressor. The capsid protein (CP) P41 is required for virion formation and facilitates long distance movement of the virus. Along with RNAi suppression, P19 protein is involved in the development of severe disease symptoms in *N. benthamiana* and elicitation of Hypersensitive Response (HR) in tobacco. Our results show that wild type TBSV infection of *Solanum lycopersicum* (cv. Money maker) triggers resistance to the virus. Despite detectable accumulation levels of P19 protein in leaf and root tissues, the infection was not accompanied with obvious disease symptoms. Contrastingly, inoculation with TBSV mutant, lacking capsid protein P41 demonstrated susceptibility to TBSV. Moreover, Chl-FI analysis of plants infected with virus exhibited significant changes in metabolism. Our data suggests that in response to CP expression tomato plants have evolved defense mechanisms to resist viral infection.

Key words: *Tomato bushy stunt virus*, capsid protein, virions, resistance, *Solanum lycopersicum*.

УДК 578

Г. С. Мукиянова¹, А. Ж. Акбасова¹, М. Х. Позо², Р. Т. Омаров¹

¹Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, Астана, Казахстан,

²Испанский национальный исследовательский центр, Гранада, Испания.

КАПСИДНЫЙ БЕЛОК P41 ВИРУСА *Tomato bushy stunt virus (TBSV)* АКТИВИРУЕТ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ У РАСТЕНИЙ ВИДА *Solanum lycopersicum*

Аннотация. Кодированный вирусом *Tomato bushy stunt virus (TBSV)*, белок P19 является мощным супрессором РНК интерференции и играет важную роль при инфекции растений *Nicotiana benthamiana*, которая характеризуется ярко выраженными симптомами заболевания и системным коллапсом. Кроме того, белок P19 является элиситором гиперчувствительного ответа у *Nicotiana tabacum*. Капсидный белок вируса P41 формирует вирионы и способствует развитию системной инфекции. Полученные нами данные показали, что при инфекции диким типом TBSV у растений вида *Solanum lycopersicum* (сорт Money maker) активируется резистентный ответ. Несмотря на системную аккумуляцию белка супрессора P19 в листьях и корнях, у растений не проявляются видимые симптомы заболевания. Однако, анализ Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) показал, что в инфицированных вирусом растениях происходят значительные изменения метаболизма. Более того, инфекция растений мутантом TBSV по капсидному белку приводит к системному некрозу гибели растений. Полученные данные указывают на то, что у томатов выработаны защитные механизмы в ответ на экспрессию капсидного белка P41 вируса TBSV.

Ключевые слова: *Tomato bushy stunt virus (TBSV)*, капсидный белок, вирион, *Solanum lycopersicum*, резистентность, РНК-интерференция.

Введение. Устойчивость растений к вирусам обусловлена различными уровнями природного и индуцированного иммунитета высших растений, такие как гиперчувствительный ответ (ГО), системная приобретенная устойчивость (СПУ) и РНК-интерференция.

Гиперчувствительный ответ ассоциирован с программированной клеточной смертью отдельных клеток для локализации инфекции. Данный процесс сопровождается накоплением активных форм кислорода в местах проникновения вируса и аккумуляцией некоторых фитогормонов [1, 2]. Индукция СПУ инициализируется путем распознавания специфичных патогенов и распространения сигналов по всему организму для повышения системной устойчивости растений к последующей инфекции. Известно, что салициловая кислота (СК) является ключевой сигнальной молекулой для активации как ГО, так и механизма системной приобретенной устойчивости (СПУ) [3, 4].

РНК интерференция является регулятором экспрессии генов у эукариот, а также функционирует как защитный механизм против вирусов в растениях [5, 6]. Механизм действия РНК интерференции состоит из нескольких консервативных этапов. Первый этап, образование дуплексов коротких интерферирующих РНК молекул (киРНК) при действии ферментов эндонуклеазы DICER, которые имеют активность РНК-азы типа III. Dicer комплекс генерирует дуплексы двуцепочечных киРНК длиной от 20 до 30 нт, но в основном киРНК длиной 21 нт [7-13]. На следующем этапе киРНК в расплетенном одноцепочном виде встраиваются в эффекторный белковый комплекс, именуемый RISC (RNA induced silencing complex), тем самым запускается активация RISC. Активированный RISC, связанный с киРНК функционирует, как сканер, для распознавания комплементарных целевых одноцепочечных РНК молекул в цитоплазме, с последующей ферментативной деградацией либо блокированием трансляции [14-16]. Однако, вирусы растений выработали способность блокировать защитный механизм с помощью специализированных белков супрессоров [17].

Tomato bushy stunt virus представитель рода *Tombusvirus*, семейства *Tombusviridae* [18]. Данный вирус относится к ряду вредоносных фитопатогенных вирусов [19] и является удобной модельной системой для изучения взаимодействий между растениями и вирусами [20].

Геномная структура TBSV представлена в виде линейной одноцепочечной РНК молекулы, длиной 4778 нт. В геномной РНК расположено 5 открытых рамок считывания (англ. Open reading frame, ORF), с которых начинается трансляция пяти основных белков вируса (рисунок 1) [20]. Рентгенструктурный анализ выявил изометрическую структуру вирионов вируса, внутри которых, упаковывается геномная РНК. Вирионы вируса диаметром 30 нм, формируются из одинаковых 180 субъединиц капсидного белка р41 [21, 22].

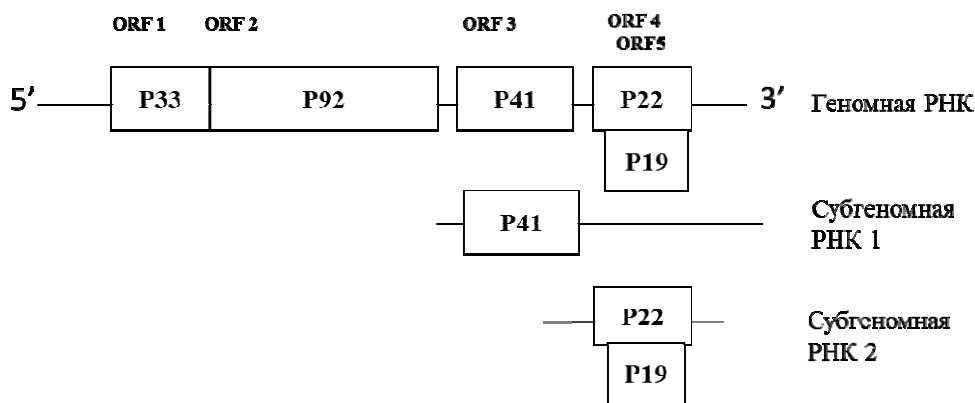


Рисунок 1 – Линейная структура генома TBSV дикого типа.

Прямоугольники указывают очередность расположения генов TBSV с соответствующими названиями белков

Со стороны 5' конца генома вируса расположены ORF1 и ORF2, старт кодоны белков P33 и P92, которые обеспечивают экспрессию фермента РНК-зависимой РНК-полимеразы, то есть репликационного белка вируса [23]. ORF3 кодирует капсидный белок, молекулярной массой 41 кДа, который экспрессируется с субгеномной РНК1 [24]. В 3' OH-терминальной части генома расположены гены, кодирующие белки P22 и P19. Старт кодон P19 белка расположен внутри кодирующей последовательности P22 [24]. Белок p22 необходим для транслокации вируса из клетки в

клетку [25]. Основная функция белка P19 заключена в супрессии РНК-интерференции растений путем связывания коротких молекул РНК (ки РНК) [26-28].

Функции вирусных белков заключаются не только в обеспечении важных процессов в жизненном цикле вируса, такие как репликация, сборка вирусных частиц, транслокация, но и в участии в процессах подавления иммунитета растений. Целью данной работы является изучение влияния экспрессии белков TBSV на активацию защитных механизмов растений.

Материалы и методы

В экспериментах использованы растения, *Solanum lycopersicum* сорта Money Maker и его трансгенный NahG мутант, который несет бактериальный ген NahG (Salicylate hydroxylase). У NahG мутантов томата не аккумулируется эндогенная салициловая кислота [29, 30]. В качестве инфекционного материала был использован вирус дикого типа TBSV WT и его мутант по капсидному белку TBSV-ΔP41.

In vitro транскрипция и инокуляция растений. Вирусные РНК-транскрипты были получены *in vitro* транскрипцией по методу описаному в работе [27]. На 50 мкл реакционной смеси было использовано 10 мкл буферной смеси, 10 мкл 10 мМ раствора рибонуклеотидов, 2 мкл фермента T7 РНК полимеразы и матричной линейризованной кДНК вируса в концентрации 1–2 мкг. Реакционная смесь инкубировалась при 37С° в течение 2 часов. Для инокуляции растений *in vitro* синтезированные транскрипты были разведены буфером для инокуляции (10 мМ фосфатный буфер, рН 6.8) в пропорции 1/5. Инокуляция проводилась методом механического растирания листовых поверхностей растений.

ПААГ электрофорез с натрий додецилсульфатом и иммуноблоттинг. Аккумуляция вирусных белков было определена методом иммуноблоттинга по описано в работе Р. Омарова [27, 31]. Образцы из контрольных и инфицированных растений были гомогенизированы в ступке с добавлением экстракционного буфера (200 мМ Трис, рН 7.4 и 10 мМ ЭДТА) в пропорции 100 мг образца на 300 мкл буфера, затем дважды центрифугированы при 10 тыс. оборотов, полученная жидкая фаза в объеме 50 мкл был перенесена в чистую пробирку, соединена с буфером для денатурации (1:3) и инкубирована при температуре 95 С° в течении 2-5 минут. Денатурированные образцы были разделены в полиакриламидном геле при напряжении 90В в концентрирующем и 120 В в разделяющем геле в камере для вертикального геля электрофореза (Mini protean TS, BioRad). Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану проводился при постоянной силе тока 250 Ма в течении 2 часов в камере для трансфера Mini Trans-Blot cell, Bio Rad. Эффективность переноса подтверждалась инкубированием в 5% растворе Ponceau S (Sigma). Для блокирования мембраны использовано сухое молоко растворенное в буфере 1xTBST (Трис, натрий хлор, рН 7.4) с добавлением Твин 20. Для определения вирусного белка P19 были использованы кроличьи антитела против P19 белка в разведении 1:3000, детекция и визуализация проводилась с вторичными антителами, конъюгированные с щелочной фосфатазой (Sigma). В качестве субстрата для щелочной фосфатазы был использован готовый раствор NBT-BCIP (Sigma).

Метод ChL-F. Фотосинтетические параметры были определены с помощью аппарата Chl-F imaging, Open FluorCam FC 800-O (PSI, Чехия) флуорометр которого, контролируется программой FluorCam7 (PSI). Система Chl-FI, использованная в данной работе, полностью компьютеризирована. Принцип работы направлен на активацию, визуализацию и анализ хлорофильной флюоресценции. Метод состоит в том, что растения загружались в камеру, оснащенную излучающей активные лучи лампой и фотокамерой (B&W CCD camera), которая визуализирует флюоресценцию. Измерения проводились на 3,7,14 и 21 день после инокуляции по описанию [32].

Результаты и обсуждение

Инфекция TBSV в растениях *N. benthamiana* сопровождается появлением ярко выраженных симптомов заболевания в виде мозаичности, сморщенности и некроза апикальных листьев. После двух недель инфекции растения подвергаются полному отмиранию надземной части. Это связано с тем, что в инфицированных растениях подавлен механизм антивирусной РНК интерференции, так как вирусный белок супрессор P19 связывает киРНК, тем самым блокируя активацию RISC

комплекса [27, 31]. Было доказано, что в растениях *N. benthamiana* инфицированных TBSV индуцируется образование RISC. Защитный рибонуклеазный комплекс приводит к специфической деградации РНК вируса и выздоровлению растений [33].

В наших экспериментах с *Solanum lycopersicum* сорта Money maker визуальная оценка симптомов вирусной инфекции не выявила значимых проявлений заболевания. В отличие от *N. Benthamiana*, на десятый день после инокуляции томаты продолжали свой рост и развитие без видимых системных симптомов (рисунок 2). После инокуляции вирусными транскриптами на поверхности листьев томатов проявлялись локальные, обесцвеченные участки (рисунок 3). Мутантные линии NahG также демонстрировали локальные симптомы резистентности.



Рисунок 2 – Симптомы инфекции на листьях томатов сорта Money maker на 10 дни

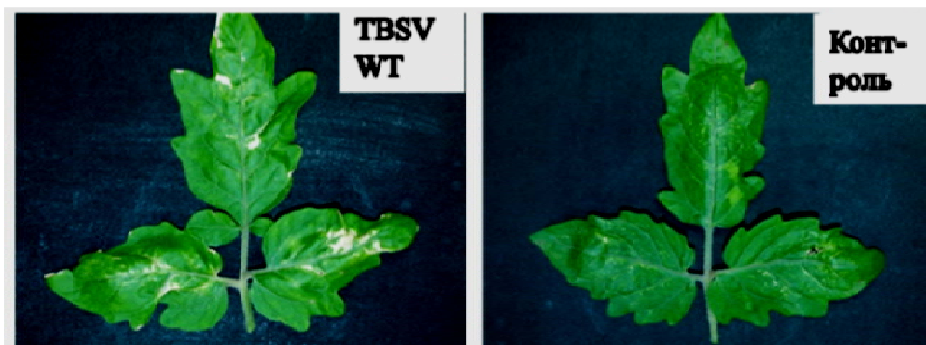


Рисунок 3 – Симптомы инфекции на листьях томатов сорта Money maker на 10 дни.
Справа – здоровое растение, слева – инфицированное TBSV WT

Иммунодетекция вирусного супрессора Р19 на 14 дни показала аккумуляцию белка Р19 листьях томатов. Более того, белок Р19 был также обнаружен в корнях растений. Однако его аккумуляция была значительно меньше по сравнению с листьями (рисунок 4).

Как известно, при вирусной инфекции в растениях происходят локальные изменения в метаболизме, в листьях наблюдается неоднородная ассимиляция CO_2 , накопление крахмала и вторичных метаболитов, нарушение флуоресценции хлорофиллов [32, 34].

Для того, чтобы оценить влияние вирусной инфекции на процессы метаболизма томатов, не смотря на отсутствие видимых симптомов, была использована технология Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI). Данная технология позволяет анализировать степень изменения метаболизма в инфицированных растениях [35, 36].

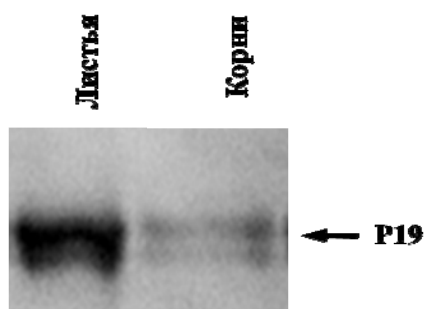


Рисунок 4 – Иммуноблоттинг P19 белка в TBSV инфицированных томатах Money maker на 14 дни

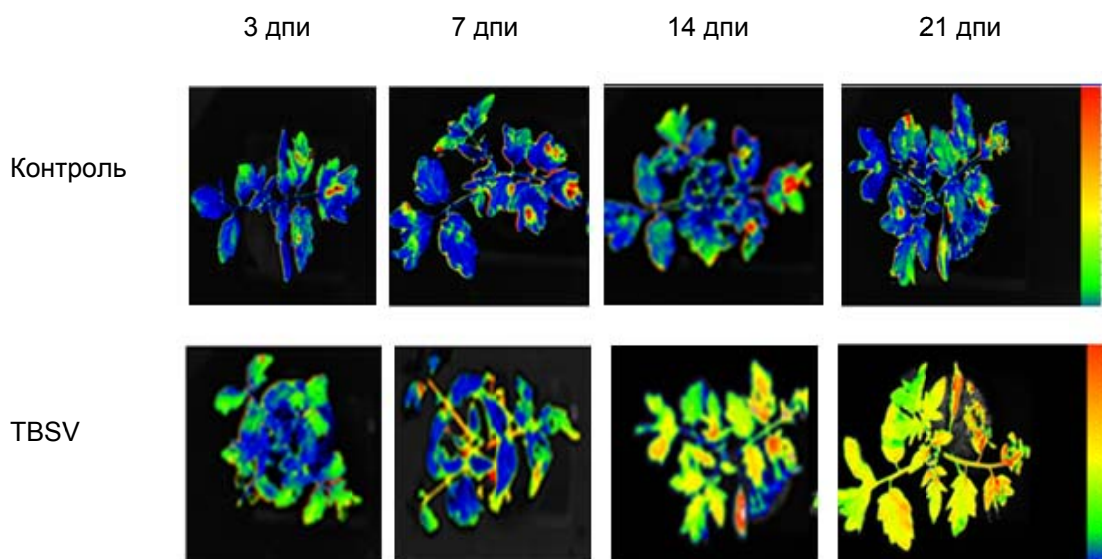


Рисунок 4 – Chl-FI исследования проведенные на томатах сорта Money maker. Верхняя панель – здоровые растения, нижняя панель – инфицированные TBSV WT томаты

Полученные нами данные показали, что листья здоровых растений флуоресцируют интенсивным синим цветом, это свидетельствует о достаточном количестве хлорофиллов. Такая тенденция сохранялась на протяжении всего эксперимента с 3 по 21 день после инокуляции. Заметные слабые участки красного цвета указывают на присутствие вторичных метаболитов, что является естественным для здоровых растений. Однако, в инфицированных растениях было зафиксировано интенсивное желто-красное свечение на 14 и 21 дни (рисунок 4). Эти данные показывают, что в растениях при инфекции вирусом происходят заметные изменения в метаболизме, такие как нарушения фотосинтеза и накопление вторичных метаболитов.

Для изучения возможного влияния капсидного белка P41 на активацию защитных механизмов растения были инокулированы транскриптами мутанта вируса TBSV-ΔP41, дефектные в экспрессии капсидного белка P41 (рисунок 5).

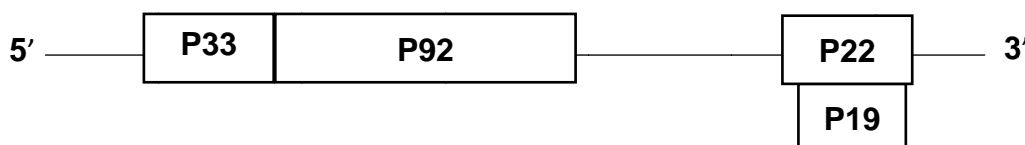


Рисунок 5 – Схема организации геномат мутанта TBSV-ΔP41

Изначально, при инфекции мутантом TBSV-ΔP41 у томатов развивался локальный некроз, начинающийся с краевых участков листьев. Такие симптомы были характерны для инфицированных томатов сорта Money maker и мутантной линии NahG (рисунок 6).

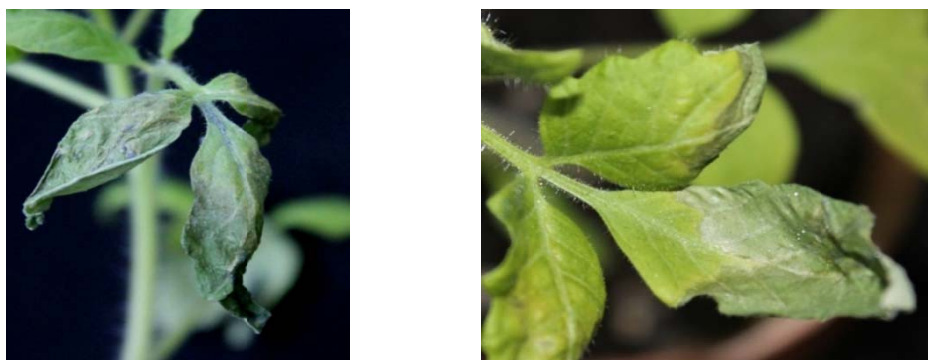


Рисунок 6 – Локальный некроз листьев томатов 5 день после инокуляции.
Слева – сорт Money maker, справа – мутант NahG

Более того, на 8–10 день после инокуляции инфекция приводила к системному некрозу томатов (рисунок 7), как и при инфекции растений *N. benthamiana* диким типом вируса.



Рисунок 7 – Системный некроз растений томатов сорта Money maker на 10 день после инокуляции

Проявление локального и системного некроза происходило также у трансгенного мутанта NahG. Данный мутант был использован для того, чтобы изучить возможное влияние салициловой кислоты на развитие устойчивости томатов. Полученные данные указывают на то, что проявление симптомов заболевания не зависит от накопления салициловой кислоты. Исследования по изучению взаимодействий между растениями и патогенами показали, что активация защитных механизмов, контролируемых салициловой кислотой не всегда связана с развитием симптомов заболевания и уровнем аккумуляции патогена [30, 37].

Вирусы используют кодируемые ими белки в процессах подавления защитных механизмов растений. Например, у вируса желтой лихорадки (*Yellow fever virus*) капсидный белок связывает двуцепочечные РНК и служит супрессором РНК интерференции [38]. При инфекции *N. Benthamiana* капсидный белок р41 TBSV способствует системному распространению вируса по растению [39]. У вируса TBSV белок P19 является элиситором гиперчувствительного ответа у представителей рода *Nicotiana*, такие как *N. tabacum*, *N. sylvestris*, *N. bonariensis* [40, 41]. В растениях *Capsicum annuum* белок P19 необходим для системной инфекции [41]. Однако, основная его функция связана с супрессией РНК интерференции [28].

Полученные нами данные показали, что при инфекции вирусом дикого типа, который кодирует капсидный белок Р41 и белок супрессор 19 не было проявления ярко выраженных симптомов вирусного заболевания. Однако были выявлены значительные изменения в метаболизме растений. Более того, инфекция мутантом вируса по капсидному белку приводила к системному некрозу и гибели растений. Использование мутанта томатов по салициловой кислоте NahG не выявило возможную взаимосвязь между устойчивостью томатов к TBSV с СК-зависимыми защитными путями. Таким образом, было определено, что устойчивость томатов обусловлена экспрессией капсидного белка Р41 вируса. Вероятно, что у томатов выработан механизм устойчивости к TBSV, который основан на первичном распознавании капсидного белка Р41 в качестве элиситора резистентности.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта по грантовому финансированию: 5344/ГФ4 «Участие вирусных супрессоров РНК-интерференции в активации “окислительного взрыва” в растениях при вирусной инфекции» и по бюджетной программе 217 «Развитие науки» по проекту «Разработка биотехнологии создания трансгенных линий растений с использованием направленного подавления РНК-интерференции супрессорным белком вируса».

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Lee W.S., Fu S.F., Li Z., Murphy A.M., Dobson E.A., Garland L., Chaluvadi S. R., Lewsey M.G., Nelson R.S., Carr J.P. Salicylic acid treatment and expression of an RNA-dependent RNA polymerase 1 transgene inhibit lethal symptoms and meristem invasion during tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana benthamiana* // *BMC Plant Biol.* – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 15.
- [2] Yergaliyev T.M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., Akbassova A., Sutula M., Zhangazin S., Bari A., Tleukulova Z., Shamekova M., Masalimov Z.K., Omarov R.T. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection // *Plant Physiol Biochem.* – 2016. – Т. 109. – С. 36-44.
- [3] Alazem M., Lin N.S. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions // *Mol Plant Pathol.* – 2015. – Т. 16, № 5. – С. 529-40.
- [4] Carr J.P., Lewsey M.G., Palukaitis P. Signaling in induced resistance // *Adv Virus Res.* – 2010. – Т. 76. – С. 57-121.
- [5] Baulcombe D. RNA silencing in plants // *Nature.* – 2004. – Т. 431, № 7006. – С. 356-63.
- [6] Li F., Ding S.W. Virus counterdefense: diverse strategies for evading the RNA-silencing immunity // *Annu Rev Microbiol.* – 2006. – Т. 60. – С. 503-31.
- [7] Bernstein E., Caudy A.A., Hammond S.M., Hannon G.J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference // *Nature.* – 2001. – Т. 409, № 6818. – С. 363-366.
- [8] Ding S.W., Lu R. Virus-derived siRNAs and piRNAs in immunity and pathogenesis // *Curr Opin Virol.* – 2011. – Т. 1, № 6. – С. 533-44.
- [9] Maillard P.V., Ciaudo C., Marchais A., Li Y., Jay F., Ding S.W., Voinnet O. Antiviral RNA interference in mammalian cells // *Science.* – 2013. – Т. 342, № 6155. – С. 235-8.
- [10] Matranga C., Zamore P.D. Plant RNA interference in vitro // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* – 2004. – Т. 69. – С. 403-8.
- [11] McCaffrey A.P., Meuse L., Pham T.T., Conklin D.S., Hannon G.J., Kay M.A. RNA interference in adult mice // *Nature.* – 2002. – Т. 418, № 6893. – С. 38-9.
- [12] Omarov R. T., Bersimbai R. I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry-Moscow.* – 2010. – Т. 75, № 8. – С. 965-970.
- [13] Tang G., Zamore P.D. Biochemical dissection of RNA silencing in plants // *Methods Mol Biol.* – 2004. – Т. 257. – С. 223-44.
- [14] Herr A.J., Baulcombe D.C. RNA silencing pathways in plants // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* – 2004. – Т. 69. – С. 363-70.
- [15] Meister G., Landthaler M., Patkaniowska A., Dorsett Y., Teng G., Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs // *Mol Cell.* – 2004. – Т. 15, № 2. – С. 185-97.
- [16] Zamore P.D., Tuschl T., Sharp P.A., Bartel D.P. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals // *Cell.* – 2000. – Т. 101, № 1. – С. 25-33.
- [17] Omarov R.T., Bersimbai R.I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry (Mosc).* – 2010. – Т. 75, № 8. – С. 965-70.
- [18] *Virus Taxonomy* / Под ред. Andrew M.Q. King M. J. A., Eric B. Carstens, Elliot J. Lefkowitz. – 9 изд. – USA: Elsevier Inc., 2012.
- [19] Scholthof K.B., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G. D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology // *Mol Plant Pathol.* – 2011. – Т. 12, № 9. – С. 938-54.
- [20] Yamamura Y., Scholthof H.B. Tomato bushy stunt virus: a resilient model system to study virus-plant interactions // *Mol Plant Pathol.* – 2005. – Т. 6, № 5. – С. 491-502.
- [21] Harrison S.C., Olson A.J., Schutt C.E., Winkler F.K., Bricogne G. Tomato bushy stunt virus at 2.9 Å resolution // *Nature.* – 1978. – Т. 276, № 5686. – С. 368-73.

- [22] Olson A.J., Bricogne G., Harrison S.C. Structure of tomato bushy stunt virus IV. The virus particle at 2.9 Å resolution // *J Mol Biol.* – 1983. – Т. 171, № 1. – С. 61-93.
- [23] Scholthof K. B., Scholthof H.B., Jackson A.O. The tomato bushy stunt virus replicase proteins are coordinately expressed and membrane associated // *Virology.* – 1995. – Т. 208, № 1. – С. 365-9.
- [24] Hearne P.Q. K. D.A., Hillman B.I., Morris T.J. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus. // *Virology.* – 1990. – Т. 177, № 1. – С. 141-51.
- [25] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Kikkert M., Jackson A.O. Tomato bushy stunt virus spread is regulated by two nested genes that function in cell-to-cell movement and host-dependent systemic invasion // *Virology.* – 1995. – Т. 213, № 2. – С. 425-38.
- [26] Baulcombe D.C., Molnar A. Crystal structure of p19 - a universal suppressor of RNA silencing // *Trends in Biochemical Sciences.* – 2004. – Т. 29, № 6. – С. 279-281.
- [27] Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H.B. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs // *J Virol.* – 2006. – Т. 80, № 6. – С. 3000-8.
- [28] Scholthof H.B. The Tombusvirus-encoded P19: from irrelevance to elegance // *Nat Rev Microbiol.* – 2006. – Т. 4, № 5. – С. 405-11.
- [29] Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., Ryals J. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance // *Science.* – 1993. – Т. 261, № 5122. – С. 754-6.
- [30] López-Gresa M.P., Lisón P., Yenush L., Conejero V., Rodrigo I., Bellés J.M. Salicylic Acid Is Involved in the Basal Resistance of Tomato Plants to Citrus Exocortis Viroid and Tomato Spotted Wilt Virus // *PLoS ONE.* – 2016. – Т. 11, № 11. – С. e0166938.
- [31] Omarov R.T., Ciomperlik J.J., Scholthof H.B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2007. – Т. 104, № 5. – С. 1714-9.
- [32] Perez-Bueno M.L., Ciscato M., VandeVen M., Garcia-Luque I., Valcke R., Baron M. Imaging viral infection: studies on *Nicotiana benthamiana* plants infected with the pepper mild mottle tobamovirus // *Photosynth Res.* – 2006. – Т. 90, № 2. – С. 111-23.
- [33] Omarov R.T., Ciomperlik J., Scholthof H.B. An in vitro reprogrammable antiviral RISC with size-preferential ribonuclease activity // *Virology.* – 2016. – Т. 490. – С. 41-8.
- [34] Perez-Bueno M.L., Pineda M., Cabeza F.M., Baron M. Multicolor Fluorescence Imaging as a Candidate for Disease Detection in Plant Phenotyping // *Front Plant Sci.* – 2016. – Т. 7. – С. 1790.
- [35] Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities // *J Exp Bot.* – 2004. – Т. 55, № 403. – С. 1607-21.
- [36] Balachandran S., Osmond C.B., Daley P.F. Diagnosis of the Earliest Strain-Specific Interactions between Tobacco Mosaic Virus and Chloroplasts of Tobacco Leaves in Vivo by Means of Chlorophyll Fluorescence Imaging // *Plant Physiol.* – 1994. – Т. 104, № 3. – С. 1059-1065.
- [37] Block A., Schmelz E., O'Donnell P.J., Jones J.B., Klee H.J. Systemic Acquired Tolerance to Virulent Bacterial Pathogens in Tomato // *Plant Physiology.* – 2005. – Т. 138, № 3. – С. 1481-1490.
- [38] Samuel G.H., Wiley M.R., Badawi A., Adelman Z.N., Myles K.M. Yellow fever virus capsid protein is a potent suppressor of RNA silencing that binds double-stranded RNA // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2016. – Т. 113, № 48. – С. 13863-13868.
- [39] Qu F., Morris T.J. Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* by Tomato bushy stunt virus is facilitated by the coat protein and maintained by p19 through suppression of gene silencing // *Mol Plant Microbe Interact.* – 2002. – Т. 15, № 3. – С. 193-202.
- [40] Angel C.A., Schoelz J.E. A survey of resistance to Tomato bushy stunt virus in the genus *Nicotiana* reveals that the hypersensitive response is triggered by one of three different viral proteins // *Mol Plant Microbe Interact.* – 2013. – Т. 26, № 2. – С. 240-8.
- [41] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector // *Plant Cell.* – 1995. – Т. 7, № 8. – С. 1157-72.

REFERENCES

- [1] Lee W.S., Fu S.F., Li Z., Murphy A.M., Dobson E.A., Garland L., Chaluvadi S. R., Lewsey M.G., Nelson R.S., Carr J.P. Salicylic acid treatment and expression of an RNA-dependent RNA polymerase 1 transgene inhibit lethal symptoms and meristem invasion during tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana benthamiana* // *BMC Plant Biol.* 2016. Vol. 16, N 1. P. 15.
- [2] Yergaliyev T.M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., Akbassova A., Sutula M., Zhagazin S., Bari A., Tleukulova Z., Shamekova M., Masalimov Z.K., Omarov R.T. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection // *Plant Physiol Biochem.* 2016. Vol. 109. P. 36-44.
- [3] Alazem M., Lin N.S. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions // *Mol Plant Pathol.* 2015. Vol. 16, N 5. P. 529-40.
- [4] Carr J.P., Lewsey M.G., Palukaitis P. Signaling in induced resistance // *Adv Virus Res.* 2010. Vol. 76. P. 57-121.
- [5] Baulcombe D. RNA silencing in plants // *Nature.* 2004. Vol. 431, N 7006. P. 356-63.
- [6] Li F., Ding S.W. Virus counterdefense: diverse strategies for evading the RNA-silencing immunity // *Annu Rev Microbiol.* 2006. Vol. 60. P. 503-31.
- [7] Bernstein E., Caudy A.A., Hammond S.M., Hannon G.J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference // *Nature.* 2001. Vol. 409, N 6818. P. 363-366.

- [8] Ding S.W., Lu R. Virus-derived siRNAs and piRNAs in immunity and pathogenesis // *Curr Opin Virol.* 2011. Vol. 1, N 6. P. 533-44.
- [9] Maillard P.V., Ciaudo C., Marchais A., Li Y., Jay F., Ding S.W., Voinnet O. Antiviral RNA interference in mammalian cells // *Science.* 2013. Vol. 342, N 6155. P. 235-8.
- [10] Matranga C., Zamore P.D. Plant RNA interference in vitro // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2004. Vol. 69. P. 403-8.
- [11] McCaffrey A.P., Meuse L., Pham T.T., Conklin D.S., Hannon G.J., Kay M.A. RNA interference in adult mice // *Nature.* 2002. Vol. 418, N 6893. P. 38-9.
- [12] Omarov R. T., Bersimbai R. I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry-Moscow.* 2010. Vol. 75, N 8. P. 965-970.
- [13] Tang G., Zamore P.D. Biochemical dissection of RNA silencing in plants // *Methods Mol Biol.* 2004. Vol. 257. P. 223-44.
- [14] Herr A.J., Baulcombe D.C. RNA silencing pathways in plants // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2004. Vol. 69. P. 363-70.
- [15] Meister G., Landthaler M., Patkaniowska A., Dorsett Y., Teng G., Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs // *Mol Cell.* 2004. Vol. 15, N 2. P. 185-97.
- [16] Zamore P.D., Tuschl T., Sharp P.A., Bartel D.P. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals // *Cell.* 2000. Vol. 101, N 1. P. 25-33.
- [17] Omarov R.T., Bersimbai R.I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry (Mosc).* 2010. Vol. 75, N 8. P. 965-70.
- [18] *Virus Taxonomy / Под ред. Andrew M.Q. King M. J. A., Eric B. Carstens, Elliot J. Lefkowitz.* Vyp. 9. USA: Elsevier Inc., 2012.
- [19] Scholthof K.B., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G. D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology // *Mol Plant Pathol.* 2011. Vol. 12, N 9. P. 938-54.
- [20] Yamamura Y., Scholthof H.B. Tomato bushy stunt virus: a resilient model system to study virus-plant interactions // *Mol Plant Pathol.* 2005. Vol. 6, N 5. P. 491-502.
- [21] Harrison S.C., Olson A.J., Schutt C.E., Winkler F.K., Bricogne G. Tomato bushy stunt virus at 2.9 Å resolution // *Nature.* 1978. Vol. 276, N 5686. P. 368-73.
- [22] Olson A.J., Bricogne G., Harrison S.C. Structure of tomato bushy stunt virus IV. The virus particle at 2.9 Å resolution // *J Mol Biol.* 1983. Vol. 171, N 1. P. 61-93.
- [23] Scholthof K. B., Scholthof H.B., Jackson A.O. The tomato bushy stunt virus replicase proteins are coordinately expressed and membrane associated // *Virology.* 1995. Vol. 208, N 1. P. 365-9.
- [24] Hearne P.Q. K. D.A., Hillman B.I., Morris T.J. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus. // *Virology.* 1990. Vol. 177, N 1. P. 141-51.
- [25] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Kikkert M., Jackson A.O. Tomato bushy stunt virus spread is regulated by two nested genes that function in cell-to-cell movement and host-dependent systemic invasion // *Virology.* 1995. Vol. 213, N 2. P. 425-38.
- [26] Baulcombe D.C., Molnar A. Crystal structure of p19 - a universal suppressor of RNA silencing // *Trends in Biochemical Sciences.* 2004. Vol. 29, N 6. P. 279-281.
- [27] Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H.B. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs // *J Virol.* 2006. Vol. 80, N 6. P. 3000-8.
- [28] Scholthof H.B. The Tombusvirus-encoded P19: from irrelevance to elegance // *Nat Rev Microbiol.* 2006. Vol. 4, N 5. P. 405-11.
- [29] Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., Ryals J. Requirement of salicylic Acid for the induction of systemic acquired resistance // *Science.* 1993. Vol. 261, N 5122. P. 754-6.
- [30] López-Gresa M.P., Lisón P., Yenush L., Conejero V., Rodrigo I., Bellés J.M. Salicylic Acid Is Involved in the Basal Resistance of Tomato Plants to Citrus Exocortis Viroid and Tomato Spotted Wilt Virus // *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11, N 11. P. e0166938.
- [31] Omarov R.T., Ciomperlik J.J., Scholthof H.B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007. Vol. 104, N 5. P. 1714-9.
- [32] Perez-Bueno M.L., Ciscato M., VandeVen M., Garcia-Luque I., Valcke R., Baron M. Imaging viral infection: studies on *Nicotiana benthamiana* plants infected with the pepper mild mottle tobamovirus // *Photosynth Res.* 2006. Vol. 90, N 2. P. 111-23.
- [33] Omarov R.T., Ciomperlik J., Scholthof H.B. An in vitro reprogrammable antiviral RISC with size-preferential ribonuclease activity // *Virology.* 2016. Vol. 490. P. 41-8.
- [34] Perez-Bueno M.L., Pineda M., Cabeza F.M., Baron M. Multicolor Fluorescence Imaging as a Candidate for Disease Detection in Plant Phenotyping // *Front Plant Sci.* 2016. Vol. 7. P. 1790.
- [35] Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities // *J Exp Bot.* 2004. Vol. 55, N 403. P. 1607-21.
- [36] Balachandran S., Osmond C.B., Daley P.F. Diagnosis of the Earliest Strain-Specific Interactions between Tobacco Mosaic Virus and Chloroplasts of Tobacco Leaves in Vivo by Means of Chlorophyll Fluorescence Imaging // *Plant Physiol.* 1994. Vol. 104, N 3. P. 1059-1065.
- [37] Block A., Schmelz E., O'Donnell P.J., Jones J.B., Klee H.J. Systemic Acquired Tolerance to Virulent Bacterial Pathogens in Tomato // *Plant Physiology.* 2005. Vol. 138, N 3. P. 1481-1490.
- [38] Samuel G.H., Wiley M.R., Badawi A., Adelman Z.N., Myles K.M. Yellow fever virus capsid protein is a potent suppressor of RNA silencing that binds double-stranded RNA // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016. Vol. 113, N 48. P. 13863-13868.

[39] Qu F., Morris T.J. Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* by Tomato bushy stunt virus is facilitated by the coat protein and maintained by p19 through suppression of gene silencing // *Mol Plant Microbe Interact.* 2002. Vol. 15, N 3. P. 193-202.

[40] Angel C.A., Schoelz J.E. A survey of resistance to Tomato bushy stunt virus in the genus *Nicotiana* reveals that the hypersensitive response is triggered by one of three different viral proteins // *Mol Plant Microbe Interact.* 2013. Vol. 26, N 2. P. 240-8.

[41] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector // *Plant Cell.* 1995. Vol. 7, N 8. P. 1157-72.

Г. С. Мукиянова¹, А. Ж. Акбасова¹, М. Х. Позо², Р. Т. Омаров¹

¹Л. Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан,

²Испаниялық ұлттық зерттеу институты, Гранада, Испания

***Solanum lycopersicum* ӨСІМДІГІНДЕ РЕЗИСТЕНТТІЛІК ЖАУАПТЫҢ
Tomato bushy stunt virus (TBSV) ВИРУСЫНЫҢ P41 КАПСИДТІК АҚУЫЗЫМЕН БЕЛСЕНДІРІЛУІ**

Аннотация. *Tomato bushy stunt virus* (TBSV) вирусымен кодталатын P19 ақуызы РНҚ интерференцияның қуатты супрессоры болып табылады және *Nicotiana benthamiana* өсімдіктерінің вируспен жұқтырылуында маңызды рөл атқарады. P19 ақуызының экспрессиясы вируспен зақымдануы айқын көрініс береді де, өсімдіктің толық коллапсына әкеліп соқтырады. Сонымен қатар супрессорлық P19 ақуызы *Nicotiana tabacum* өсімдігінде гиперсезімталдық реакциясын белсендіруге жауапты. Вирустың P41 капсидтік ақуызы вирион құрылымын қалыптастырып, өсімдік бойымен таралауын қамтамасыз етеді. Алынған зерттеу нәтижелері TBSV вирусының жабайы типінің инфекциясы *Solanum lycopersicum* (Money maker сұрыбы) қызанақ өсімдігінде вирусқа қарсы төзімділік жауабын тудыратынын анықтады. Өсімдіктің тамыр және жапырақ ұлпасында P19 ақуызының жинақталуына қарамастан вируспен зақымдалудың сыртқы көрінісі нашар байқалды. Алайда, Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) сараптамасы вируспен зақымдалған өсімдіктерде жасушаішілік метаболизмінің өзгеруін анықтады. Ал вирустың капсидтік ақуызы экспрессияланбайтын мутантпен инфекция тудырғанда, қызанақ өсімдіктері жоғары сезімталдық көрсетіп, жүйелік некрозға ұшырады. Зерттеу нәтижелері қызанақтың Money maker сұрыбында TBSV вирусына қарсы қорғаныс механизмдері вирустық капсидтік ақуыз P41-ді тану арқылы белсендіретінін көрсетеді.

Тірек сөздер: *Tomato bushy stunt virus* (TBSV), вирус, капсидтік ақуыз, вирион, *Solanum lycopersicum*, резистенттілік, РНҚ-интерференция.

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, Т. М. Апендиев*
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 20.03.2017.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
14,0 п.л. Тираж 300. Заказ 1.