

## Дослідження способу інактивууючої дії клітинних компонентів з листя цукрових буряків на вірус тютюнової мозаїки

Л. В. Колесник

Інститут мікробіології та вірусології НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

*Встановлено, що інактивууюча здатність клітинних компонентів з листя цукрових буряків зумовлена дією низькомолекулярних білків з протеолітичною активністю щодо структурного білка ВТМ, зв'язаних з РНК в РНП-комплекс. Інактивація ВТМ відбувається через адсорбцію антивірусного компонента (АВК) на поверхні вірусних часток, що призводить до порушення морфології, значної агрегації вірусу і зниження ефективності зараження рослин. Крім того, пригнічення матричної активності вірусної РНК та синтезу білка, цито-фізіологічні перебудови в інфікованих ВТМ клітинах, ймовірно, обмежують реплікацію та системний транспорт вірусу, що проявляється у безсимптомній інфекції ВТМ.*

**Вступ.** З'ясування цитологічних аспектів вірусостійкості рослин тісно пов'язане з дослідженням природних захисних функцій клітинних субструктур. Вивченню ендегенних антивірусних речовин рослинного походження присвячено чимало праць, проте хімічна природа та детальний механізм інактивууючої дії залишаються нез'ясованими. Серед інгібіторів фітовірусів, виділених з вищих рослин різних родин, за фізико-хімічними характеристиками ідентифіковано речовини полісахаридної [1], глікопротеїнової [2] та білкової [3] природи. Що стосується механізму дії, то припускається інактивація інфекційності вірусу через утворення неінфекційних комплексів деяких інгібіторів з вірусами, що перешкоджають прикріпленню вірусних часток, зокрема, вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) до листя та наступній депротейнізації і проникненню вірусу до клітини [2]; в інших випадках встановлено пригнічення білкового синтезу в клітині антивірусним рослинним білком [4].

Попередніми дослідженнями встановлено високу інактивууючу здатність клітинних компонентів з листя цукрових буряків щодо інфекційності ВТМ [5]. Розроблена процедура виділення біологічно

активної речовини з клітинного соку даних рослин з використанням іонообмінної хроматографії на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50 [6] дозволила провести наступні дослідження природи і способу дії антивірусного компонента (АВК) соку. Аналіз антивірусної активності і УФ-спектрів абсорбції хроматографічних фракцій показав, що високу інактивууючу активність зумовлено сумарною дією рослинних поліфенолів і білкового компонента клітинного вмісту. Максимальну біологічну активність проявляє частина слабокислих розчинних білків, споріднених з іонообмінником [6]. Електронно-мікроскопічним аналізом препаратів ВТМ, попередньо оброблених АВК, встановлено, що досліджувана речовина адсорбується на поверхні вірусу, сприяє значній агрегації часток, що призводить до утворення неінфекційних комплексів. Втрата інфекційності ВТМ не супроводжується порушенням структури РНК, розпадом часток та втратою серологічних властивостей вірусу [7, 8].

Метою даної роботи було подальше дослідження хімічної природи та способу інактивууючої дії хроматографічної біологічно активної фракції клітинного соку з листя цукрових буряків з використанням сучасних біофізичних методів.

**Матеріали та методи.** В роботі використано листя цукрових буряків сорту Рамонський 06.

Інфекційність ВТМ тестували на рослинах дурману (*Datura stramonium L.*). Інфекційним матеріалом для очистки ВТМ слугувало листя тютюну або томатів. Всі рослини вирощували за тепличних умов.

АВК виділяли з листя цукрових буряків хроматографією на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50 за раніше описаною методикою [7] з деякими модифікаціями. Промите і просушене листя розтирали в рідкому азоті, отриманий гомогенат струшували з хлороформом, центрифугували при 5000 об/хв (15 хв). Супернатант ступенево розділяли сульфатом амонію (хч) 10 та 50 %-го насичення. Отриманий осад суспендували в 0,1 М трис-НСІ буфері, рН 7,0, пропускали через колонку сефадексу G-75 («Pharmacia», Швеція), зрівноважену 0,1 М фосфатним буфером, рН 7,0 (НФБ). Препарат елюювали тим же буфером. Активні антивірусні фракції, що відповідали внутрішньому об'ємові колонки, з'єднували, осаджували сульфатом амонію 60 %-го насичення. Осад суспендували в 0,1 М трис-НСІ («Serva», ФРН), рН 7,0, і використовували для хроматографії на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50 («Pharmacia») об'ємом 25 мл, зрівноваженій 0,1 М трис-НСІ, рН 7,0. Наносили 3 мл препарату, елюцію здійснювали 0,1 М трис-НСІ, рН 7,0 (100 мл). Абсорбований колонкою матеріал елюювали 1 М NaCl у тому ж буфері (60 мл). У відібраних фракціях (по 5 мл) перевіряли антивірусну активність щодо інфекційності ВТМ та УФ-спектр абсорбції.

Фізико-хімічні характеристики АВК вивчали із застосуванням сучасних біофізичних методів: визначення плавучої густини препарату — ультрацентрифугованням в градієнті густини CsCl; розділення білків — ізоелектрофокусуванням в борат-поліольній системі [5].

Для визначення плавучої густини використовували градієнт CsCl 30—50 % у буфері: 0,01 М триетаноламін-НСІ, рН 8,0, 0,01 М KCl, 0,001 М MgCl<sub>2</sub>, 0,001 М 2-меркаптоетанол. Наносили по 0,8 мл АВК (вміст білка 1,4 мг/мл), центрифугували в роторі SW 55 («Beckman», США) протягом 20 год при 40000 об/хв і 4 °С. Відбирали фракції по 0,2 мл, в котрих на рефрактометрі визначали коефіцієнт заломлення; значення густини обчислювали за формулою:

$$\rho = D \cdot 10,8601 - 13,4979,$$

де  $D$  — рефрактометричний індекс CsCl.

Ізоелектрофокусування білків у складі АВК здійснювали на колонці 55 × 1 см (об'ємом 50 мл) в борат-поліольній системі згідно з [9] при градієнті рН 4,5—10,5, силі струму 2 мА. На колонку

наносили 1 мл АВК, сконцентрованого осаджуванням ацетоном до 7,2 мг/мл по вмісту білка. Фракції збирали по 2 мл, вміст білка реєстрували за допомогою спектрофотометра (СФ-4), контроль градієнта рН здійснювали рН-метром.

Дію АВК на матричну активність вірусної РНК досліджували в неклітинній системі трансляції (лізат ретикулоцитів кролика) *in vitro*. Приготування лізату ретикулоцитів та обробку лізату мікроковою нуклеазою (для пригнічення трансляції ендогенних глобінових мРНК) здійснювали за процедурою, описаною Клеменс [10]. Отриманий хроматографією на ДЕАЕ-сефадексі АВК діалізували протягом 24 год проти 0,1 М трис-НСІ, рН 7,0. РНК виділяли з ВТМ за фенольно-детергентним методом. Кожна інкубаційна суміш (кінцевий об'єм 100 мкл) складалася з 50 мкл лізату ретикулоцитів, 20 мкл суміші амінокислот та солей, 10 мкл креатинфосфату, 20 мкл РНК ВТМ (кінцева концентрація 100 мкг/мл). Кінцеві концентрації в інкубаційній суміші з лізатом ретикулоцитів були такими: 75 мМ KCl, 2 мМ ацетат Mg, 3 мМ глюкоза, 100 мкМ амінокислоти, 4 мкКи/мл [<sup>14</sup>C]-лейцину («Изотоп», Росія), 1 мМ АТР, 0,2 мМ GTP, 10 мМ трис-НСІ, рН 7,6, 7 мМ креатинфосфат, 1 мг/мл креатинфосфокінази, 100 мкМ гемін, 100 мг/мл екзогенної РНК ВТМ. У дослідні мікропробірки в інкубаційну суміш вносили АВК певної концентрації, в контролі — система трансляції без АВК. Дослідні і контрольні суміші інкубували при 37 °С протягом 90 хв. Для аналізу включення мітки в синтезований білок з кожної проби відбирали по 5 мкл суміші, наносили на паперові фільтри (Whatman 3 мм). Після висушування фільтри витримували 3 хв в суміші ацетону (50 мл) і 50 %-ї ТХО (10 мл), відмивали 4 рази 5 %-ю ТХО, споліскували 96 %-м етанолом, висушували. Радіоактивність в зразках вимірювали на сцинтиляційному лічильнику («Beckman LS7800», США).

Про чутливість АВК до дії інгібіторів протеаз судили за інактивуючою здатністю АВК до і після передінкубації його з відповідними інгібіторами [11]. Для цього готували вихідні розчини реагентів в бідистильованій воді: ЕДТА («Serva», ФРН), 50 мМ; дитіотреїтол, фенілметилсульфонілфторид (ФМСФ), парахлормеркурійбромід («Reanal», Угорщина), сульфат цинку (хч) — 10 мМ; інгібітор трипсину із сої («Reanal»), 1 мг/мл. 0,1 мл кожного розчину змішували з 0,9 мл АВК (1,4 мг/мл білка в 0,1 М трис-НСІ, рН 7,0), інкубували протягом 30 хв при кімнатній температурі, потім 0,5 мл кожної суміші інкубували 20 хв з 0,2 мл очищеного препарату ВТМ (2 мг/мл). Інфекційність ВТМ в суміші тестували на рослинах дурману. Відсоток

інгібування активності АВК визначали відносно контролю, котрим слугувала суміш АВК і ВТМ без передінкубації з інгібіторами протеаз.

ВТМ обробляли і трипсином, і АВК за методом [7]. Трипсин («Srofa», ЧССР) розчиняли в 0,01 М боратному буфері, рН 7,8, до концентрації 10 мг/мл. Розчин трипсину змішували (1:1) з очищеним препаратом ВТМ (2 мг/мл), витримували (30 хв) при кімнатній температурі і діалізували протягом 24 год проти нейтрального 0,1 М К-фосфатного буфера. Інфекційність ВТМ в суміші перевіряли на рослинах дурману. АВК змішували з очищеним препаратом ВТМ (1:1), витримували 30 хв при кімнатній температурі і перевіряли інфекційність вірусу на рослинах дурману.

Структурний білок ВТМ виділяли за ацетатним методом [12]; РНК ВТМ — за фенольно-детергентним методом.

Електрофоретичний аналіз білків проводили в денатуруючих умовах з додецилсульфатом натрію (DS-Na) в 10 %-му поліакриламідному гелі (ПААГ) [13] в лужній буферній системі за Девіс [14]. Гелі фіксували, забарвлювали кумасі діамантовим синім R-250 та відмивали від надлишку фарби 7,5 %-ю оцтовою кислотою. Положення білкових смужок на електрофореграмах ресстрували за допомогою денситометра Веєкман DU-8В і виражали в значеннях  $R_f$  відносно бромфенолового синього,  $R_f$  якого брали за 1,0 [15].

**Результати та обговорення.** Як свідчить аналіз біологічної активності хроматографічних фракцій соку з листя цукрових буряків, максимуму інактивуючу здатність щодо ВТМ виявляє білковий компонент соку, споріднений з ДЕАЕ-сефадексом (рис. 1).

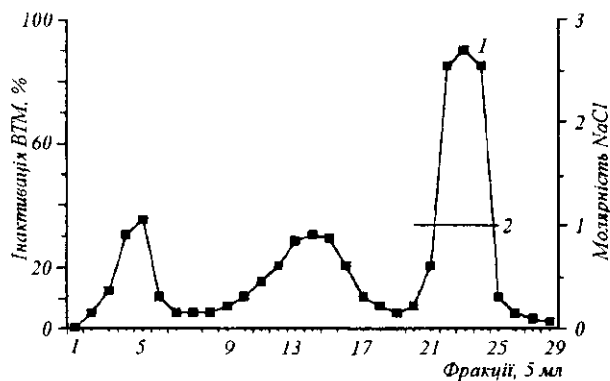


Рис. 1. Хроматографія соку на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50: 1 — молярність NaCl; 2 — антивірусна активність. Об'єм колонки 25 мл, об'єм зразка 3 мл

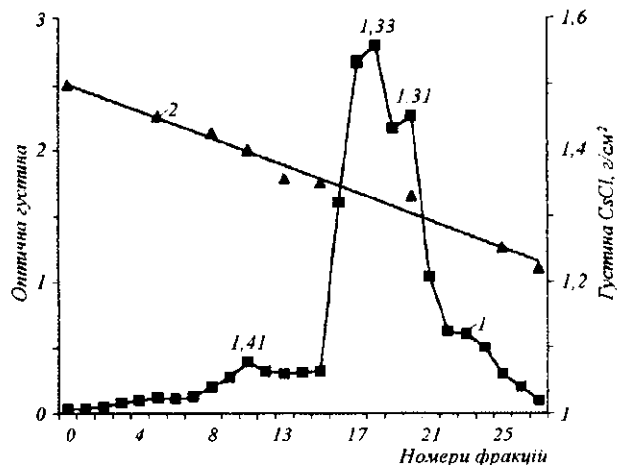


Рис. 2. Плавуча густина фракцій АВК (2), одержаних ультрацентрифуванням в градієнті густини CsCl (1) (40000 об/хв, 20 год). Об'єм фракцій 0,2 мл

Ультрацентрифуванням даної хроматографічної фракції (АВК) в градієнті густини CsCl (40000 об/хв, 20 год) встановлено, що досліджуваний препарат складається з двох основних компонентів з плавучою густиною 1,33 та 1,31 г/см<sup>3</sup> і мінорного компонента з густиною 1,41 г/см<sup>3</sup> (рис. 2). УФ-спектр абсорбції фракцій 15—20 має максимум поглинання при довжині хвилі 275—280 нм, а спектр фракцій 8—13 (з густиною 1,41) дещо відрізняється: його максимум зміщується до 265—270 нм (рис. 3). Одержані результати доповнюють фізико-хімічну характеристику АВК [6] і вказують, на думку автора, на те, що досліджуваний антивірусний препарат складається з білкового компонента з плавучою густиною в CsCl 1,31—1,33 г/см<sup>3</sup> та РНП-компонента з густиною в CsCl 1,41 г/см<sup>3</sup>.

Електрофоретичний аналіз АВК свідчить про те, що препарат, одержаний іонообмінною хроматографією, є гетерогенним і розділяється електрофорезом в денатуруючих умовах (10 %-й ПААГ—DS-Na) на основні компоненти з  $R_f$  0,56; 0,64; 0,76 і 0,82, що відповідають молекулярним масам поліпептидів від 18 до 42 кДа, та декілька мінорних компонентів (рис. 4).

Оскільки, за попередніми даними [7], в електронно-мікроскопічних препаратах ВТМ, оброблених АВК, спостерігалися значні порушення морфології вірусних часток (набрякання, агрегація), подібні до змін віріонів, оброблених трипсином, зроблено припущення, що адсорбція АВК на по-

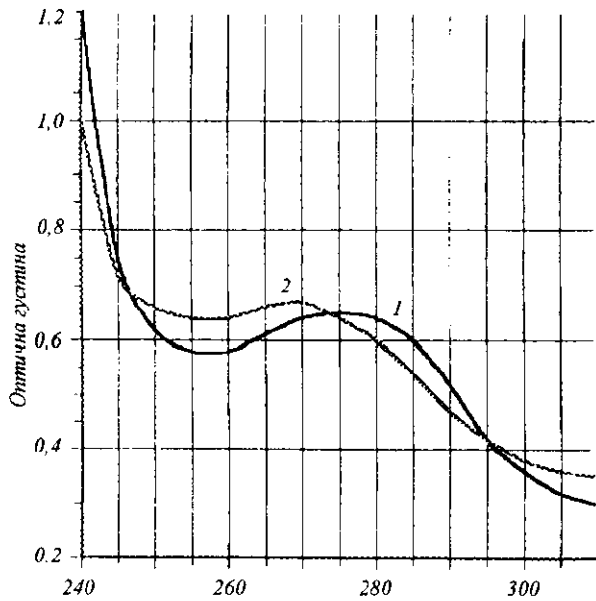


Рис. 3. УФ-спектри абсорбції фракцій 15—20 (1) та 8—13 (2) після ультрацентрифування в градієнті густини CsCl

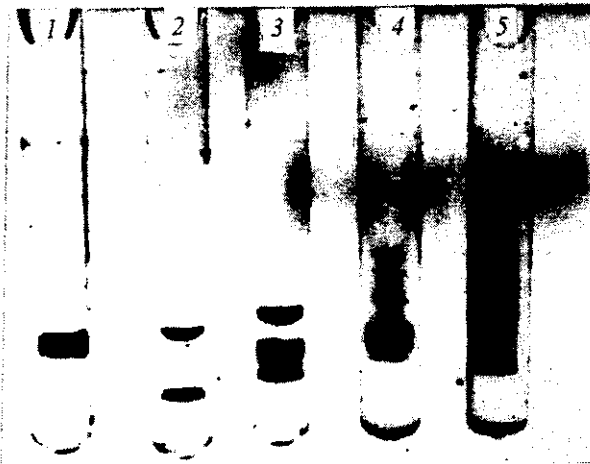


Рис. 4. Електрофореграми білкових препаратів в 10 %-му ПААГ-DS-Na: 1 — ВТМ; 2 — трипсин; 3 — трипсин—ВТМ; 4 — АВК—ВТМ; 5 — АВК

верхні вірусних часток призводить до агрегації і утворення неінфекційних комплексів, в котрих білкові групи, які є суттєвими для інфекційності вірусу, блоковані. Збереження серологічних вла-

стивостей даного комплексу пояснюється нерівномірністю покриття речовиною поверхні вірусних часток, що дозволяє антисироватці реагувати з антигенними сайтами вірусу. Для встановлення можливої протеолітичної дії АВК на структуру білкової оболонки ВТМ здійснено порівняльний електрофоретичний аналіз сумішей АВК—нативний ВТМ і трипсин—нативний ВТМ. Як свідчать дані електрофорезу в 10 %-му ПААГ-DS-Na, адсорбований на поверхні часток ВТМ АВК, як і трипсин—ВТМ, у денатуруючих умовах розділяється на свої вихідні компоненти: ВТМ у досліді і контролі утворює по одній смужці, що не відрізняються за  $R_f$  (рис. 4, 5). У той же час електрофорез сумішей АВК—структурний білок ВТМ і трипсин—структурний білок ВТМ виявив, що як під дією трипсину, так і АВК структурний білок ВТМ підлягає розщепленню. Про це свідчить відсутність відповідної смужки капсидного білка ВТМ на електрофореграмах (рис. 6, 7).

Для ідентифікації наявного в складі АВК протеолітичного ферменту вивчено дію інгібіторів про-

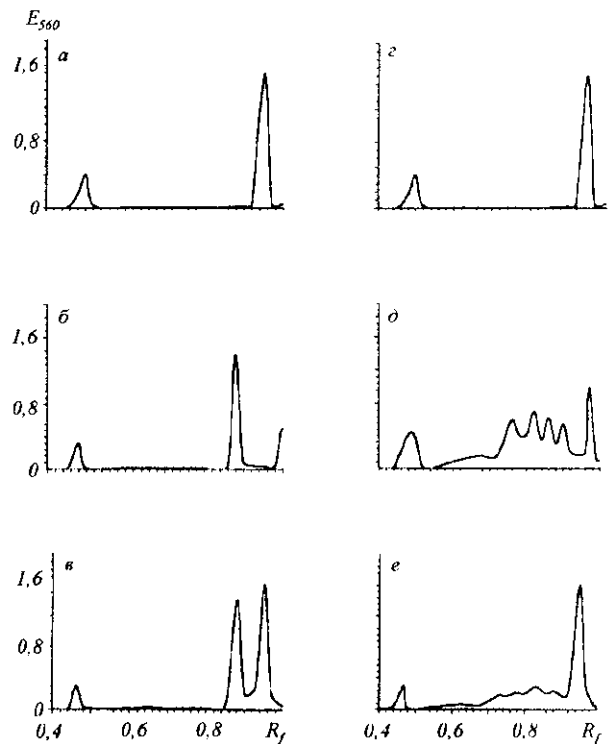


Рис. 5. Денситограми препаратів білка після електрофорезу в 10 %-му ПААГ-DS-Na: а, з — ВТМ; б — трипсин; в — трипсин—ВТМ; д — АВК; е — АВК—ВТМ

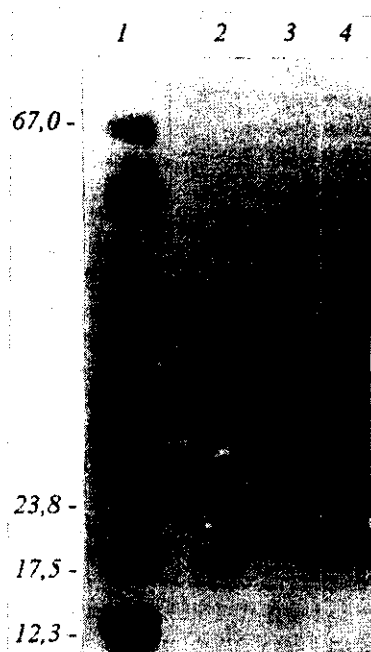


Рис. 6. Електрофореграми білкових препаратів в 10 %-му ПААГ-DS-Na: 1 — маркерні білки (кДа); 2 — АВК—структурний білок ВТМ; 3 — трипсин—структурний білок АВК; 4 — структурний білок ВТМ

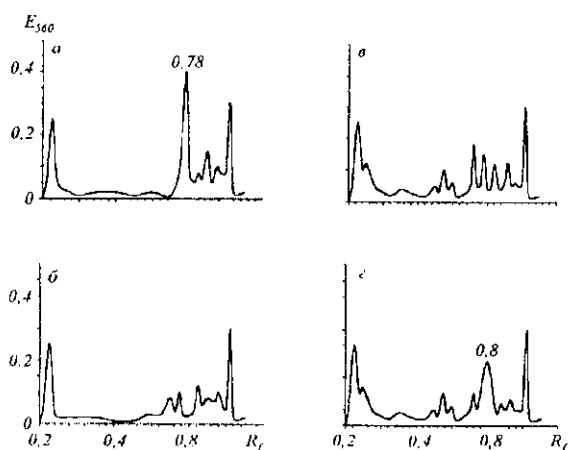


Рис. 7. Денситограми препаратів білка після електрофорезу в 10 %-му ПААГ-DS-Na: а — структурний білок ВТМ; б — трипсин—структурний білок ВТМ; в — АВК; г — АВК—структурний білок ВТМ

теаз на інактивуючу здатність АВК. Передінкубація АВК із вказаними інгібіторами до внесення в досліджувані розчини очищеного препарату ВТМ спричиняє деяке зниження антивірусної активності АВК (від 0,9 до 11,8 %) (таблиця).

#### Чутливість АВК до дії інгібіторів протеаз

Інгібітор, концентрація	Інфекційність ВТМ, некрозів на лист (середнє з шести вимірів)	Пригнічення активності АВК, %
ЕДТА, 5 мМ	2	1,8±0,09
Дитіотреїтол, 1 мМ	1	0,9±0,05
Сульфат цинку, 1 мМ	3	2,3±0,07
Фенілметилсульфонілфторид, 1 мМ	13	11,8±0,07
Парахлормеркурійбензоат, 1 мМ	3	2,7±0,07
Інгібітор трипсину із сої, 1 мг/мл	4	3,6±0,09
Контроль, АВК + ВТМ	0	—
Контроль, буфер + ВТМ	110	—

Результати інгібіторного аналізу не дозволили ідентифікувати наявний в складі АВК фермент із конкретною групою протеїназ. Невисока чутливість АВК до інгібіторів протеїназ обумовлена тим, що АВК є гетерогенним препаратом, антивірусна активність якого зумовлена комплексною дією його складових компонентів. Деяко вища чутливість АВК до інгібіторів серинових протеїназ (11,8 % інгібування ФМСФ) порівняно з іншими інгібіторами все ж таки свідчить про те, що до складу АВК входить протеолітичний поліпептид трипсинової специфічності.

Розділення білків у складі АВК за допомогою ізоелектрофокусування виявило білки з ізоточками в лужній (рІ 9,0—8,6), нейтральній (рІ 7,2—6,9) і кислій (рІ 6,0—5,5) областях. Активними щодо інфекційності ВТМ виявилися білки з лужними ізоточками (90—98 % від загальної активності АВК), фракції з кислими ізоточками виявляли значно нижчу активність (32—36 %) (рис. 8).

УФ-спектр абсорбції препаратів, розділених ізоелектрофокусуванням, значно відрізнявся у фракцій з лужними і кислими ізоточками. Як свідчать дані рис. 9, УФ-спектр абсорбції лужних препаратів має два максимуми поглинання при довжинах хвиль 260 і 280 нм на відміну від фракцій з кислими ізоточками, що не мають чітких піків у даних областях. На підставі аналізу, як і за даними ультрацентрифугування в градієнті густини CsCl, припускається наявність у складі антивірусного

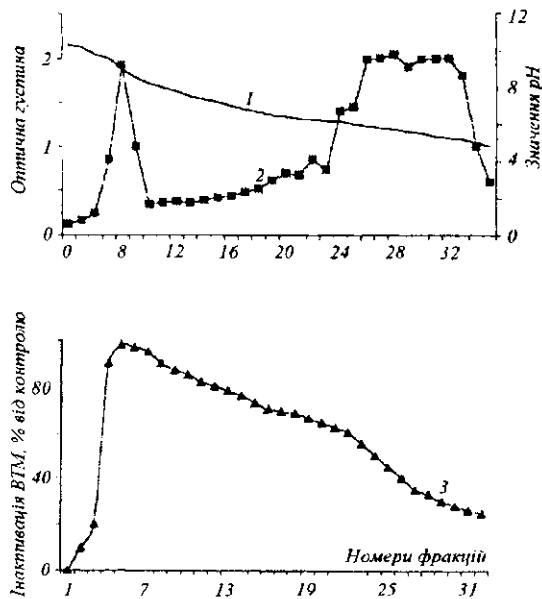


Рис. 8. Ізоелектрофокусування в борат-поліольній системі препарату АВК, одержаного хроматографією на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50: 1 — градієнт рН; 2 — вміст білка; 3 — інактивуюча активність АВК у фракціях

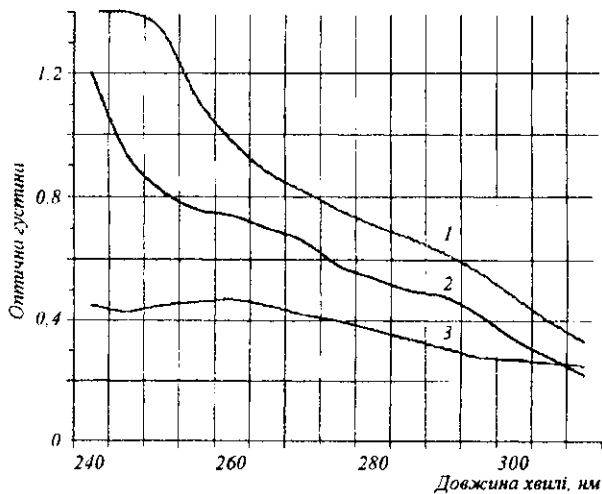


Рис. 9. УФ-спектри абсорбції препаратів: 1, 2 — фракції АВК, одержані ізоелектрофокусуванням в борат-поліольній системі (рІ 6,0—5,5 (1); рІ 9,0—8,6 (2)); 3 — РНК, виділена з АВК

препарату домішок низькомолекулярних РНК, тобто розділення АВК на два компоненти: нуклеопротеїновий з рІ 9,0—8,6 та глікопротеїновий з рІ

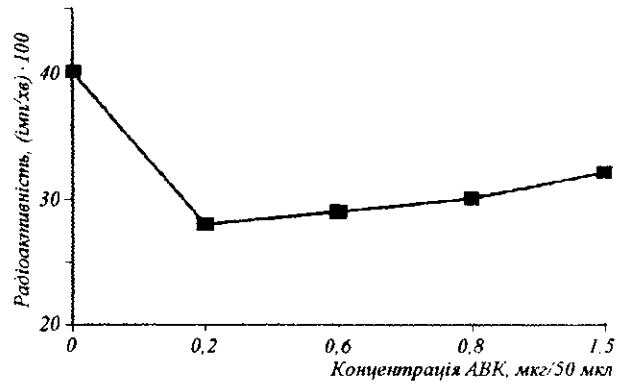


Рис. 10. Дія АВК на матричну активність РНК ВТМ в неклітинній системі трансляції *in vitro* — 1; 2 — контроль

6,0—5,5. З першого компонента, як і з біологічно активної хроматографічної фракції АВК за фенольно-детергентним методом, надалі було виділено РНК з невисокою концентрацією, що додатково вказує на вірність вищевикладеного припущення (рис. 9).

Крім протеолітичної дії щодо структурного білка ВТМ, встановлено, що АВК в концентрації 0,2—1,5 мкг у 50 мкл неклітинної системи трансляції (лізат ретикулоцитів) *in vitro* впливає на матричну активність геномної РНК ВТМ, знижуючи майже на 25 % синтез білка (рис. 10).

Результати хроматографічного і електрофоретичного аналізу, а також фізико-хімічні властивості дають підставу стверджувати, що частково очищений хроматографією на ДЕАЕ-сефадексі А-50 антивірусний препарат складається з низькомолекулярних (18—42 кДа) білків з протеазною активністю (плавуча густина 1,31 та 1,33 г/см<sup>3</sup>), можливо, зв'язаних з РНК в РНП-комплекс з плавучою густиною 1,41 г/см<sup>3</sup>.

За даними характеристиками, ймовірно, що РНП-компонент антивірусного препарату може бути ідентифікований з просомами — цитоплазматичними субструктурами, які причетні до пригнічення синтезу білків на рівні трансляції і складаються зі специфічного набору клітинних білків (19—35 кДа), зв'язаних з репресованою мРНК довжиною 70—80 нуклеотидів. Просоми ізольовано з субрибосомних фракцій різних клітин еукаріот, у тому числі з листя рослин [18—20]. У всіх досліджуваних видах клітин просоми характеризуються певною електронно-мікроскопічною структурою, а

саме: мають вигляд гроноподібних часток діаметром 12 нм, стійких до ЕДТА і саркозилу [18]. Показано, що просомна РНК гібридується з вірусними РНК, а не з клітинними мРНК [19—22]; тобто дані субструктури, порушуючи синтез вірусоспецифічних білків (аденовірусу, вірусів тютюнової мозаїки, мозаїки коров'ячого гороху), виконують захисні функції в клітині.

Наведені дані дають підставу вважати, що механізм інактивуючої дії досліджуваного препарату зумовлений сумарною дією його складових компонентів, яка може бути суттєвою в реалізації природних клітинних механізмів вірусостійкості рослин. Біологічно активний компонент адсорбується на поверхні нативних часток ВТМ, утворюючи щільний неінфекційний комплекс, що виражається в порушенні морфології і значній агрегації вірусних часток. Втрата інфекційності не супроводжується порушенням РНК, розпадом часток і втратою серологічних властивостей вірусу [7]. Інактивація інокульованого ВТМ *in vivo* призводить до зниження ефективності зараження рослин. Крім того, інгібування матричної активності вірусної РНК та синтезу білка, цито-фізіологічні перебудови в інфікованих ВТМ клітинах, на думку автора, спричинюють локалізацію вірусу через порушення морфології віріонів, пригнічення реплікації та системного транспорту інфекції і на рівні організму виражаються безсимптомною інфекцією ВТМ [5] у рослин цукрових буряків.

Автор широким вдячням Ф. І. Товкачу (Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ) за методичну допомогу при визначенні плавучої густини препарату; Н. В. Колтуковій — за сприяння при ізофокусуванні білків у складі АВК; Л. Ф. Діденко — за надання відповідних реактивів та допомогу в постановці дослідів по трансляції білка.

Л. В. Колесник

Исследование способа инактивирующего действия клеточных компонентов из листьев сахарной свеклы на вирус табачной мозаики

Резюме

Исследованы химическая природа и способ действия антивирусного компонента (АВК), выделенного из клеточного сока листьев сахарной свеклы ионообменной хроматографией. Установлено, что инактивирующая способность АВК обусловлена действием низкомолекулярных белков с протеолитической активностью относительно структурного белка ВТМ, связанных с РНК в РНП-комплекс. Инактивація ВТМ происходит из-за адсорбции АВК на поверхности вирусных частиц, что вызывает нарушение морфологии, агрегацию вируса и снижение эффективности заражения растений. Кроме того, ингибирование матричной активности вирусной РНК и синте-

за белка, цито-физиологические перестройки в инфицированных ВТМ клетках, вероятно, ограничивают репликацию и системный транспорт вируса, что проявляется в бессимптомной инфекции ВТМ у растений сахарной свеклы.

L. V. Kolesnik

Investigation of mode of inactivating effect on tobacco mosaic virus of the cellular components from sugar beet leaves

Summary

Investigation of the chemical nature and mode of action of the antiviral component (AVC) isolated from cellular juice of sugar beet leaves by ion-exchange chromatography have been conducted. It was established that inactivating ability for AVC is caused by effect of low-molecular weight proteins with proteolytic activity related to structural protein of TMV binding to RNA, giving rise to RNP-complex. Inactivation of TMV is a result of AVC-absorption on the viral particles surface, violation of morphology, aggregation of virus, and restriction of plant infection efficiency. Inhibition of transcriptional activity of viral RNA and protein synthesis, cytophysiological reconstruction into TMV infected cells, probably, limit the replication and systemic transport of virus, that is displayed in symptomless TMV-infection of sugar beet plants.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Moraes W. B. C., July J. R., Alba A. P. C., Oliveira A. R. The inhibitory activity of extracts of *Abutilon striatum* leaves on plant virus infection. II. Mechanism on inhibition // *Phytopathol. Z.*—1974.—81, N 3.—P. 240—253.
- Baranwal V. K., Verma H. N. Characteristics of a virus inhibitor from the leaf extracts of *Celosia cristata* // *Plant Pathol.*—1997.—46, N 4.—P. 523—529.
- Smookler M. M. Properties of inhibitors of plants virus infection occurring in the leaves of species in the *Chenopodiales* // *Ann. Appl. Biol.*—1971.—69.—P. 157—168.
- Ito Y., Keki I., Tanifuji S., Hiramatsu A. Inhibition of protein synthesis by antiviral protein from *Yucca recurvifolia* leaves // *Biosci., Biotechnol. and Biochem.*—1993.—57.—P. 518—519.
- Колесник Л. В. Особенности инфекции, вызванной вирусом табачной мозаики в растениях сахарной свеклы // *Микробиол. журн.*—1992.—54, № 4.—С. 58—66.
- Колесник Л. В., Краева Г. В. Выделение и характеристика ингибитора вируса табачной мозаики из листьев сахарной свеклы // *Микробиол. журн.*—1992.—54, № 6.—С. 58—63.
- Колесник Л. В. Действие трипсина и ингибитора из листьев сахарной свеклы на инфекционность и морфологию частиц вируса табачной мозаики // *Микробиол. журн.*—1993.—55, № 5.—С. 31—37.
- Kolesnik L. V. Studies on nature and mode of action of antiviral component from sugar beet leaves // *Abstr. Int. Conf. «Fundamental and applied problems in phytopathology».*—Yalta, 1994.—P. 20.
- Троцкий Г. В., Ажицкий Г. Ю. Борат-полиольный pH-градиент. Теоретические основы и применение для изоэлектрического фокусирования белков // *Биоорг. химия.*—1982.—8, № 6.—С. 863—871.
- Клеменс М. Трансляция эукариотических матричных РНК в бесклеточных экстрактах.—М.: Мир, 1987.—С. 277—325.
- Сологуб Л. І., Пашковська І. С., Антоняк Г. Л. Протеазні клітин та їх функції.—Київ: Наук. думка, 1992.—196 с.
- Добров Е. Н. Выделение структурного белка ВТМ ацетатным методом // *Практикум по общей вирусологии* / Под ред. И. Г.Атабекова.—М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981.—С. 111.

13. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*.—1970.—227, N 5259.—P. 680—685.
14. Davis B. J. Disc electrophoresis. 2. Method and application to human serum proteins // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*—1964.—121.—P. 404—427.
15. Ahl P., Cornu A., Gianinazzi S. Soluble proteins as genetic markers in studies of resistance and phylogeny in *Nicotiana* // *Phytopathology*.—1982.—22, N 1.—P. 80—85.
16. Martins C. de Sa, Grossi M.-F. de Sa, Akhayat O., Broders F., Scherrer K., Horsch A., Schmid H.-P. Prosomes. Ubiquity and inter-species structural variation // *J. Mol. Biol.*—1986.—187, N 4.—P. 479—493.
17. Kremp A., Schliephacke M., Kull U., Schmid H.-P. Prosomes exist in plant cells too // *Exp. Cell Res.*—1986.—166, N 2.—P. 553—557.
18. Пархоменко Н. И., Диденко Л. Ф., Максименко Л. А. Физико-химические свойства просом листьев дурмана (*Datura stramonium L.*), пораженных X-вирусом картофеля // *Биополимеры и клетка*.—1996.—12, № 6.—С. 102—111.
19. Schmid H.-P. Prosomes associated with repressed globin mRNA inhibit protein synthesis *in vitro* // *Eur. J. Cell Biol. Suppl.*—1985.—36, N 7.—P. 58.
20. Horsch A., Kohler K., Schmid H.-P. Prosomes are involved in the repression of the viral mRNA // *Z. Naturforsch.*—1985.—40, N 5—6.—P. 449—450.
21. Horsch A., Martins C. de Sa, Dineva B., Spindler E., Schmid H.-P. Prosomes discriminate between mRNA of adenovirus-infected and uninfected HeLa cells // *FEBS Lett.*—1989.—246, N 1—2.—P. 131—136.
22. Horsch A., Kohler K., Ellwart-Tschuzz M., Schmid H.-P. Selection of prosomes and prosomal RNA by immobilized viral RNAs // *FEBS Lett.*—1990.—269, N 2.—P. 336—340.

УДК 578.85:86

Надійшла до редакції 12.03.98