

## Zárójelentés T 48852 (2005-2008)

### Összefoglaló

A *Cymbidium ringspot* vírussal fertőzött növényekből származó kis RNS-ek analízise során azt találtuk, hogy a virális kis RNS-ek a genom kitüntetett helyeiről keletkeznek és a virális kis RNS-ek 80%-a a pozitív, 20%-a a negatív szárlól képződik. Ez az arány megegyezik a genomi RNS-ek szálarányával. Eredményeinkből az következik, hogy a virális kis RNS-ek nem a vírus ds replikatív intermedierjéről, hanem az egyszálú genomi RNS-ek másodlagos szerkezettel rendelkező régióiról keletkeznek. Az RNS silencing szupresszorokkal végzett munkánk alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált virális szupresszorok mind a növényi, mind az állati rendszerekben a kis RNS-ek megkötésével gátolják a RISC komplexek, ezáltal a si- és miRNS indukálta RNS silencing kialakulását. Mivel az általunk vizsgált vírusok taxonómiaailag különböző családokba sorolhatók, ezért azt a következtetés is levonhatjuk, hogy a siRNS kötésen alapuló RNS silencing gátlás egy széleskörűen elterjedt RNS silencing szupressziós stratégia. Jól jellemzett kis RNS kötő RNS silencing szupresszorral rendelkező vírusok hatását vizsgáltuk a kis RNS-ek 3 vessző vég metilációjára. Eredményeink azt mutatják, hogy a TEV HCPro hatékonyan, míg a CIRV p19 kevésbé gátolja meg a virális siRNS-ek és bizonyos endogén miRNS-ek 3 vessző végének metilációját. Sejtfrakcionálós eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy a kis RNS-ek metilációja nemcsak a sejtmagban, hanem a citoplazmában is bekövetkezhet.

### Summary

A survey of virus-specific siRNAs characterized by a sequence analysis of siRNAs from plants infected with *Cymbidium ringspot* virus showed that viral siRNA sequences have a nonrandom distribution along the length of the viral genome, suggesting that viral siRNAs derived from highly structured regions of the single stranded viral genome, rather than the ds replicative intermedier.

Analyzing several silencing suppressors representing different families of viruses showed that each inhibit the intermediate step of RNA silencing via binding to siRNAs, although the molecular features required for duplex siRNA binding differ among these proteins. None of the suppressors affected the activity of preassembled RISC complexes. In contrast, each suppressor uniformly inhibited the siRNA-initiated RISC assembly pathway by preventing RNA silencing initiator complex formation.

We investigated the 3' modification of silencing-related small RNAs in plants infected with viruses expressing small RNA silencing suppressors. We found that CIRV had only a slight effect on viral siRNA 3' modification, but TEV significantly inhibited the 3' modification of si/miRNAs. This suggests that the 3' modification of viral siRNAs occurs in the cytoplasm, though miRNA 3' modification likely takes place in the nucleus as well.

## **Nyilatkozat**

Eredményeink nem alkalmasak a kutatás fejlesztés folyamatában gazdasági haszon elérésére.

## **Declaration**

Hereby I declare that our results are not suitable to make earnings in reseach and development.

## **Eredmények összefoglalása**

A 2005 és 2008 közötti időszakban az antivirális RNS silencing-et vizsgáltuk növényi és állati rendszerekben.

Fő kutatási irányok:

- Virális kis RNS-ek jellemzése
- RNS silencing szupresszorok működési mechanizmusának jellemzése
- Növényi kis RNS-ek metilációjának vizsgálata

## **Virális kis RNS-ek jellemzése**

A növényi vírusok működésük során hatékonyan indukálják a gazdaszervezet antivirális védekezési mechanizmusát, az RNS silencing-et. Ez abban nyilvánul meg, hogy a vírus genomról 21 nt hosszúságú duplaszálú (ds) kis RNS molekulák képződnek. A virális kis RNS-ek az RNS silencing központi elemei, mivel, az RNS silencing komplexekbe beépülve ezek a molekulák biztosítják a rendszer szekvencia specificitását. Az akkori (2005 és előtte) vírus replikációs modell szerint, a pozitív szálú növényi vírusok egy ún. duplaszálú replikációs intermedier segítségével sokszorozzák meg önmagukat. Ez alapján feltételezhetjük, hogy a vírusról keletkező ds kis RNS-ek a vírus ds replikatív intermedierjéről keletkeznek. Továbbá, ezt a modellt támogatta az a tény is, hogy a kis RNS-ek kialakításáért felelős ún. DICER enzim szubsztrátja dsRNS. Ebből a modelltől az is következik, hogy a virális kis RNS-ek 1:1 arányban keletkeznek a pozitív és negatív értelmű virális RNS-ről.

A kérdés megválaszolására denaturáló körülmények között kis RNS-eket izoláltunk, klónoztunk *Cymbidium ringspot virus* (CymRSV) fertőzött *Nicotiana benthamiana* növényekből. A kis RNS-ek szekvencia analízise alapján megállapítottuk, hogy a kis RNS-ek 80%-a a pozitív szálról keletkezik. A keletkezett virális kis RNS-ek nem egyenletesen oszlanak el a genomon, hanem nagy százalékban a genom kitüntetett helyeiről, az ún. "hot-spot"-okról keletkeznek. Ebből az eredményből az következik, hogy a virális kis RNS-ek nem a ds replikatív formáról keletkeznek, hanem az egyszálú pozitív vagy negatív értelmű

genomi RNS másodlagos szerkezettel rendelkező régióiról. A "hot-spot"-ok nukleotidsorrendjét összehasonlítottuk egymással és azt az eredményt kaptuk, hogy csak részleges homológiát mutatnak egymáshoz. Ezt az *in silico* eredményt kísérletesen is igazoltuk, a natív körülmények között izolált ds kis RNS-ek a limitált RNáz A kezelésre érzékenyek voltak, míg a kontrollként alkalmazott ds kis RNS-ek, amelyek duplex régiói 100%-ban megfeleltek egymásnak, rezisztensnek bizonyultak a kezelésre.

Kísérleteinkbe bevontunk más pozitív szálú RNS vírusokat is, úgymint *Tobacco mosaic virus* (TMV) és *Potato virus X* (PVX) és azt tapasztaltuk, hogy, hasonlóan a CymRSV-hez, a TMV-ről és a PVX-ről származó virális kis RNS-ek nagyrészt a pozitív szálról keletkeznek és a virális kis RNS-ek szálaránya megegyezik a genomi RNS-ek szálarányával (Molnar et al., 2005).

### **RNS silencing szupresszorok működési mechanizmusának jellemzése**

Korábbi munkánk során jellemeztük a Cymbidium ringspot virus (CymRSV) p19 RNS silencing szupresszorát. Megállapítottuk, hogy a p19 *in vitro* és *in vivo* nem gátolja a kis RNS-ek képződését, és bár kis RNS kötő fehérjeként az RNS silencing végrehajtó komplexének (RISC) kialakulását gátolja, azonban nem képes a már kialakult ún. aktív RISC-et gátolni (Lakatos et al., 2004). Mások korábbi eredményei azt sugallták, hogy egy másik fontos szupresszor, a Tobacco etch virus (TEV) silencing szupresszora a HcPro fehérje egyaránt képes a kis RNS-ek képződésének, valamint az aktív RISC működésének gátlására is (Anandalakshmi et al., 2000), azonban a HcPro pontos működési mechanizmusa még nem volt ismert. Ezen eredmények alapján azt feltételeztük, hogy a p19 és a HcPro különbözőképpen működik.

Az *in vivo* és a *Drosophila in vitro* RNS silencing rendszerben elért eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a TEV HcPro nem gátolja a kis RNS-ek képződését. További *in vitro* eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a HcPro gátolja a siRNS indukálta target RNS vágást. Ezt a kísérleteket úgy állítottuk be, hogy az indukáló siRNS-t és a HcPro-t együtt adtuk a rendszerbe. Azonban ha olyan körülmények között végeztük a kísérletet, hogy először indukáltuk a RISC komplex kialakulását a siRNS hozzáadásával, majd a hozzáadtuk a HcPro-t, akkor már a HcPro nem volt képes a kialakult RISC aktivitását gátolni. Megállapítottuk, hogy a HcPro gátolja a RISC komplex kialakulását, azonban nem képes az aktív (egyszálú siRNS-t tartalmazó) RISC komplex gátlására. Eredményeink alapján azt feltételeztük, hogy a HcPro is egy ds siRNS kötő fehérje. Megvizsgáltuk a HcPro siRNS kötő képességét. Megállapítottuk, hogy a HcPro nagyon gyengén köti a 19 nt duplex tompa véggel rendelkező siRNS-t, a 24 nt siRNS-t (22 nt duplex, 2 nt túlnyúló vég), és egyáltalán nem köti a 21 nt egyszálú RNS-t. Azonban viszonylag hatékonyan köti a 21 nt

(19 nt duplex, 2 nt túlnyúló vég) siRNS-eket. Tehát a HcPro egy siRNS-kötő fehérje, és hasonlóan a p19-hez, a RISC komplex kialakulásának gátlásával szupresszálja az RNS silencing folyamatát. Azonban míg a p19 a kis RNS-ek 5' végén lévő foszfát csoportot köti, addig a HcPro a kis RNS-ek 3' túlnyúló végéhez kapcsolódik.

További munkánk során célul tűztük ki az *in vitro* eredményeink igazolását *in vivo* rendszerekben. Kifejlesztettünk egy olyan *in vivo* RNS silencing rendszert, amelyben az RNS silencing folyamatát lépésekre bontva a silencing szupresszorok hatása egyszerűen vizsgálható. *In vivo* rendszerünkben külön-külön vizsgálható a siRNS képző DICER és az egyszálú RNS-t vágó RISC komplex működése.

Annak ellenére, hogy *in vitro* eredményeink alapján a az általunk vizsgált *Carnation italian ringspot virus* (CIRV) p19 és a *Beet yellows virus* (BYV) p21 fehérjéje, valamint a *Tobacco etch virus* (TEV) HC-Pro szupresszora duplaszálú (ds) kis-RNS kötő aktivitással rendelkezett, először arra a kérdésre kerestünk választ, hogy vajon *in vivo* körülmények között gátolják-e a siRNS képző DICER aktivitást. A TEV-vel és BYV-vel fertőzött növények szisztemikus leveiben a genomi RNS mennyisége pozitív korrelációt mutat a vírus genomról képződött kis RNS-ek mennyiségével az idő függvényében, ami azt jelenti, hogy a vírusok replikációja során jelentős mennyiségű kis-RNS képződik. Ugyanerre a kérdésre kerestünk választ egy ún. infiltrációs teszttel is. A GFP inverted repeat-ről (IR) keletkezett siRNS mennyiségét nem befolyásolta az, hogy szupresszorral, vagy anélkül infiltráltuk *Nicotiana benthamiana* levelekben. Eredményeink azt mutatják, hogy a ds siRNS kötő p19, p21 és HC-Pro nincs hatással a siRNS képződésre *in vivo*.

A RISC aktivitás vizsgálatára egy olyan *in vivo* rendszert dolgoztunk ki, amely a *Cymbidium ringspot virus* szupresszort nem expresszáló mutánsával (Cym19stop) fertőzött növények használatán alapul. A Cym19stop-pal fertőzött növények a fertőzésből kigyógyulnak, azonban a kigyógyulás korai fázisában a növény leveleiben kis mennyiségű virális genomi RNS és jelentős mennyiségű virális kis-RNS is kimutatható, amelyek védettséget biztosítanak a növény számára az azonos és a magas szekvencia homológiát mutató vírusok ellen is. Mindez arra utal, hogy a kigyógyuló növényben a virális siRNS-ek egyszálú formában vannak már a RISC-ben, amelyek így képesek a siRNS-hez homológiát mutató target RNS elvágására. Ebben a rendszerben azt vizsgáltuk meg, hogy a p19, p21 és HC-Pro fehérjék képesek-e az aktív RISC gátlására. Eredményeink azt mutatják, hogy a ds siRNS kötő p19, p21 és HC-Pro fehérjék, hasonlóan az *in vitro* eredményeinkhez, nem képesek az aktív RISC gátlására *in vivo*.

A RISC komplex kialakulásának egyik feltétele a sejtekben felhalmozódott nagy mennyiségű virális siRNS. A virális siRNS-ek semlegesítésével megakadályozható a vírus elleni RNS silencing kialakulása. TEV és BYV fertőzött növényekből immunoprecipitáció

segítségével fizikai kapcsolatot detektáltunk a vírusok szupresszorai (HC-Pro, p21) és a vírus eredetű ds siRNS-ek között. Továbbá azt tapasztaltuk, hogy a TEV HC-Pro hatékonyan köti a microRNS-eket (miRNS) is *in vivo*. Eredményeik azt mutatják, hogy az általunk vizsgált RNS silencing szupresszorok a virális siRNS-ek megkötésével akadályozzák meg a vírus elleni RNS silencing kialakulását *in vivo* (Lakatos et al., 2006).

Vizsgálatainkkal bebizonyítottuk, hogy az általunk vizsgált RNS silencing szupresszorok úgymint p19, p21 és HC-Pro, kis-RNS kötő tulajdonságuk által meggátolják az aktív RISC komplex kialakulását. A silencing szupresszorok *in vivo* vizsgálata megerősítette a heterológ *Drosophila in vitro* rendszerben elért eredményeinket, ami arra utal, hogy az antivirális RNS silencing rendszer hasonlóan működhet rovarokban és a növényekben.

Kifejlesztettünk egy rendszert RNS silencing szupresszorok RNS kötő tulajdonságainak gyors tesztelésére. Ha az silencing szupresszort infiltrálással a növényben kifejeztetjük, akkor a levélből készített sejtmentes extraktum közvetlenül használható *in vitro* kötési vizsgálatokra. Megállapítottuk, hogy a BYV p21, *Peanut clump virus* p15, a *Barley stripe mosaic virus*  $\gamma$ B, a TEV HC-Pro és a tombuszvírusok p19 fehérjéje méretszelektíven köti a kis-RNS-eket. Az új módszer a TEV HC-Pro és a tombuszvírusok p19 fehérjéje esetében ugyanazt az eredmény adta, mint a korábbi vizsgálatok, amelyeket magas tisztaságú fehérjepreparátumokkal végeztünk. A többi szupresszor esetében ennek a gyors módszernek a segítségével bizonyítottuk be először a fehérje kis RNS kötő aktivitását (Merai et al., 2006).

A *Rice hoja blanca vírus* (RHBV) egy olyan osztott genomú negatív szálú növényi RNS vírus, amelyet vírus vektorok viszik át egyik növényről a másikra és a vírus a rovar vektorban is képes replikálódni. Agro-infiltrációs teszt segítségével bebizonyítottuk, hogy az RHBV NS3 fehérjéje RNS silencing szupresszorként viselkedik a növényben. Mivel a rovarokban az RNS silencing antivirális rendszerként működik, ezért megvizsgáltuk azt, hogy az RHBV NS3 RNS silencing szupresszorként viselkedik-e rovar sejt kultúrában. Transzfekciós vizsgálatokon alapuló eredményeink azt mutatják, hogy az NS3 hatékony RNS silencing szupresszorként viselkedik rovar sejtekben is.

Az NS3 RNS silencing szupresszor működési mechanizmusát *in vitro* megközelítéssel vizsgáltuk meg. Maltóz kötő fehérjével fúziós fehérjeként nagy mennyiségben termeltethető az NS3 *E. coli* sejtekben (MBP-NS3) és *in vitro* kísérletekkel megvizsgáltuk azt, hogy az képes-e dupla szálú (ds) kis RNS-eket kötni. Eredményeink szerint az MBP-NS3 méretszelektív módon köti a különböző hosszúságú kis RNS-eket, legnagyobb affinitással a 21 nt ds siRNS-t köti (ds 21 nt siRNS  $k_D=2,45$  nM, ds 19 nt duplex, tompa vég  $k_D=5,7$  nM, ds

26nt siRNS  $k_D > 300$  nM). Gélszűréssel meghatároztuk a a siRNS-MBP-NS3 komplex méretét, (kb. 150 kDa), amiből azt a következtetést vontuk le, hogy az NS3 MBP fúziós fehérjeként dimer formában kapcsolódik a 21 nt ds kis RNS-hez (MBP-NS3 monomer 66 kDa, ds siRNS 14 kDa).

A *Drosophila in vitro* RNS silencing rendszerben megvizsgáltuk azt, hogy az NS3 milyen stratégiával gátolja az extrakt RNS silencing aktivitását (target RNS vágás). Eredményeinkből azt a következtetést vontuk le, hogy az NS3 a megköti a kis RNS-eket, így gátolja meg az RNS silencing komplex (RISC) kialakulását. RISC hiányában a target RNS vágás sem következik be.

Az RNS silencing antivirális hatásán kívül fontos szerepet játszik a fejlődési program végrehajtásában az un. miRNS-eken keresztül. Mivel a siRNS-ek és a miRNS-ek hasonló szerkezetűek és méretűek, ezért azt a kérdést tettük fel, vajon az NS3 a miRNS-ek megkötésére. *In vitro* megközelítéssel megvizsgáltuk azt, hogy az NS3 milyen affinitással köti a mir171 miRNS család 3 tagjának RNS duplexét. Ezek a miRNS-ek mind 21 nt hosszúságúak, azonban a két szál között különböző szintű a homológia, ami kismértékben befolyásolja a miRNS duplex fizikai méretét. Megállapítottuk, hogy az NS3 hasonló affinitással köti a siRNS-eket és a miRNS-et is (mir171a  $k_D = 6,17$  nM, mir171b  $k_D = 7,19$  nM és mir171c  $k_D = 6,26$  nM).

Eredményeink azt mutatják, hogy az RHBV NS3 egy hatékony RNS silencing szupresszor mind növényi és a rovar sejtekben, dimerként gátolja a RISC komplex kialakulását és ezáltal az antivirális RNS silencing működését. Az NS3 a növényi miRNS-eket is hatékonyan köti (Hemmes et al., 2007).

Az RNS silencing szupresszorokkal végzett munkánk alapján megállapíthatjuk, hogy a vizsgált virális szupresszorok mind a növényi, mind az állati rendszerekben a kis RNS-ek megkötésével gátolják a RISC komplexek, ezáltal a siRNS és miRNS indukálta RNS silencing kialakulását. Mivel az általunk vizsgált vírusok a tombuszvírusok (CymRSV, CIRV) kivételével taxonómiaailag különböző családokba sorolhatók, ezért azt a következtetés is levonhatjuk, hogy a siRNS kötésen alapuló RNS silencing gátlás egy hatékony és széleskörűen elterjedt RNS silencing szupressziós stratégia (Lakatos et al., 2006).

### **Növényi kis RNS-ek metilációjának vizsgálata**

A növényi kis RNS-ek 3 vessző végükön metiláltak. A metilációs lépés a kis RNS-ek képződése után, azonban a RISC komplexekbe való beépülés előtt következik be. Metiláció hiányában a kis RNS-ek uridilálódnak, majd lebomlanak. A kis RNS-ek metilációjáért a HEN1 metil-transzferáz enzim felelős, amely áthelyezi a SAM-ból származó metil csoportot

(kizárólag!) a ds kis RNS-ek 3 vessző végére. Mivel a kis RNS-ek metilációját a miRNS-ekel kapcsolatban fedezték fel és a miRNS-ek ds formában exportálódnak a citoplazmába, ezért azt feltételezték, hogy a HEN1 kizárólag a nukleuszban lokalizálódik és működik. A növényi RNS vírusok a citoplazmában replikálódnak és működnek, ezért célul tűztük ki a vírusokról keletkező kis RNS-ek és a vírusfertőzés során a gazdaszervezet miRNS-i metilációs állapotának vizsgálatát. Modell rendszerként a *Nicotiana benthamiana* gazdanövényt és olyan RNS vírusokat választottunk, amelyek jól jellemzett kis RNS kötő RNS silencing szupresszorral rendelkeznek.

CIRV és TEV fertőzött *N. benthamiana* növényekből származó RNS kivonatokban megvizsgáltuk a virális siRNS-ek és miRNS-ek 3 vessző végének metilációs állapotát és azt tapasztaltuk, hogy TEV fertőzött növényekben a virális siRNS-ek egyáltalán nem metiláltak és bizonyos miRNS-ek mint pl. miR171a, miR168 kb. 50%-ban metilálódtak. Ezzel szemben a CIRV fertőzött mintákból származó virális kis RNS-ek 3 vessző végének metilációja kismértékben csökkent, és a miR171a és miR168 miRNS-ek metilációs mértéke nem változott. Megvizsgáltuk a HC-Pro és p19 siRNS kötő szupresszorok által megkötött kis RNS-ek 3 vessző végének metilációjának mértékét is. Eredményeink szerint a kötött kis RNS-ek hasonló mértékben metiláltak, mint a totál RNS mintákból származó kis RNS populáció, ami arra utal, hogy a virális szupresszorok fontos szerepet játszanak a kis RNS-ek metilációjának gátlásában. Ezután sejtfractionálással meghatároztuk, hogy a nem metilált kis RNS-ek és a szupresszor fehérjék sejtbeli lokalizációját. Megállapítottuk, hogy a HCPro és p19 silencing szupresszorok a vírusfertőzött növények citoplazmájában lokalizálódtak. Továbbá azt is, hogy a nem metilált (metilációban gátolt) virális siRNS-ek és bizonyos növényi miRNS-ek (miR171a, miR168) kizárólag a citoplazmában található. Vizsgálataink során találtunk olyan növényi miRNS-eket (miR159, miR319), amelyek a nukleuszban és a citoplazmában megtalálhatók, azonban metilációjukat a vírusfertőzés (elsősorban a TEV) nem befolyásolta. Azt feltételeztük, hogy ezek a miRNS-ek már a vírusfertőzés előtt átíródtak, processzázódtak, exportálódtak a citoplazmába és beépültek a RISC komplexekbe. Ennek a kérdésnek a megválaszolására a miR171c-t, vad típusú és kis RNS kötésre nem képes mutáns fehérjéit transziensen expresszáztattuk *Nicotiana benthamiana* növények leveleiben. A TEV HC-Pro-val ko-infiltrált levelekben mind a transziensen expresszáztatott miR171c, mind az endogén miR168 és miR171a miRNS-ek metilációja jelentős mértékben gátlódott. A CIRV p19-cel ko-infiltrált levelekben a transziensen expresszáztatott miR171c metilációja és az endogén miR171a és miR168 nagymértékben gátlódott. Azonban korábbi kísérleteink azt mutatták, hogy a CIRV fertőzött növényben a p19 a virális siRNS-ek metilációját alig, az endogén miRNS-ek metilációját egyáltalán nem befolyásolja (lásd fentebb). Ez a különbség feltehetően abból adódik, hogy a

vírusfertőzés során a CIRV p19 feltehetően szub-kompartmentalizálódik, mivel a CIRV a mitokondrium külső membránjában replikálódik és a kis RNS-eket már csak a 3 vessző vég metilálódásának bekövetkezése után képes megkötni. A siRNS kötésre nem képes mutáns szupresszorok a kis RNS-ek 3 vessző végének metilációját nem gátoltak.

Eredményeink azt mutatják, hogy bizonyos virális RNS silencing szupresszorok, mint pl. a TEV HC-Pro a fertőzött sejtek citoplazmájában egyaránt meggátolják a virális siRNS-ek és bizonyos endogén miRNS-ek 3 vessző végének metilációját. Sejtfractionálásos eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy a kis RNS-ek metilációja nemcsak a sejtmagban, hanem a citoplazmában is bekövetkezhet (Lozsa et al., 2008).

A pályázat költségtervét 2006-ban, 2007-ben és 2008-ban is módosítottuk, teljes munkakörű foglalkoztatást finanszíroztunk belőle.

- Anandalakshmi, R., Marathe, R., Ge, X., Herr, J.M., Jr., Mau, C., Mallory, A., Pruss, G., Bowman, L., and Vance, V.B.** (2000). A calmodulin-related protein that suppresses posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* **290**, 142-144.
- Hemmes, H., Lakatos, L., Goldbach, R., Burgyan, J., and Prins, M.** (2007). The NS3 protein of Rice hoja blanca tenuivirus suppresses RNA silencing in plant and insect hosts by efficiently binding both siRNAs and miRNAs. *RNA* **13**, 1079-1089.
- Lakatos, L., Szittyá, G., Silhavy, D., and Burgyan, J.** (2004). Molecular mechanism of RNA silencing suppression mediated by p19 protein of tombusviruses. *EMBO J* **23**, 876-884.
- Lakatos, L., Csorba, T., Pantaleo, V., Chapman, E.J., Carrington, J.C., Liu, Y.P., Dolja, V.V., Calvino, L.F., Lopez-Moya, J.J., and Burgyan, J.** (2006). Small RNA binding is a common strategy to suppress RNA silencing by several viral suppressors. *EMBO J* **25**, 2768-2780.
- Lozsa, R., Csorba, T., Lakatos, L., and Burgyan, J.** (2008). Inhibition of 3' modification of small RNAs in virus-infected plants require spatial and temporal co-expression of small RNAs and viral silencing-suppressor proteins. *Nucleic Acids Res* **36**, 4099-4107.
- Merai, Z., Kerenyi, Z., Kertesz, S., Magna, M., Lakatos, L., and Silhavy, D.** (2006). Double-stranded RNA binding may be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing. *J Virol* **80**, 5747-5756.
- Molnar, A., Csorba, T., Lakatos, L., Varallyay, E., Lacomme, C., and Burgyan, J.** (2005). Plant virus-derived small interfering RNAs originate predominantly from highly structured single-stranded viral RNAs. *J Virol* **79**, 7812-7818.



## Közlemények jegyzéke

Szerző Lakatos L, Burgyan J

Cím Analysis of siRNA-suppressors of gene silencing interactions

Lelőhely Methods Mol Biol 451:331-7.

Közlés éve 2008

IF ---

OTKA támogatás

feltüntetve? igen

Könyvfejezet

Szerző Lozsa R, Csorba T, Lakatos L\*, Burgyan J\*

Cím Inhibition of 3' modification of small RNAs in virus-infected plants require spatial and temporal co-expression of small RNAs and viral silencing-suppressor proteins. (\* társ utolsó szerzők)

Lelőhely Nucleic Acids Res. 36(12):4099-107

Közlés éve 2008

IF 6.8

OTKA támogatás

feltüntetve? igen

Folyóiratcikk

Szerző Hemmes H, Lakatos L\*, Goldbach R, Burgyán J, Prins M\*

Cím The NS3 protein of Rice hoja blanca tenuivirus suppresses RNA silencing in both plant and insect hosts by efficiently binding both siRNAs and miRNAs. (\* társ utolsó szerzők)

Lelőhely RNA 17(3):1079-89

Közlés éve 2007

IF 5.8

OTKA támogatás

feltüntetve? igen

Folyóiratcikk

Szerző Lakatos L, Csorba T, Pantaleo V, Chapman EJ, Carrington JC, Liu YP, Dolja VV, Fernández Calvino L, López-Moya JJ, Burgyán J

Cím Small RNA binding is a common strategy to suppress RNA silencing by several viral suppressors.

Lelőhely EMBO J. 25(12):2768-80

Közlés éve 2006

IF 10.07

OTKA támogatás

feltüntetve? igen

Folyóiratcikk

Szerző Mérai Z, Kerényi Z, Kertész S, Magna M, Lakatos L, Silhavy D

Cím Double-stranded RNA binding could be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing

Lelőhely J. Virol 80(12):5747-56

Közlés éve 2008

IF 5.9

OTKA támogatás

feltüntetve? igen

Folyóiratcikk

Szerző Molnar A, Csorba T, Varallyai E, Lacomme C, Lakatos L, Burgyán J

Cím Plant virus-derived small interfering RNAs originate predominantly from highly structured single-stranded viral RNAs.

Lelőhely J. Virol 79(12):7812-8.

Közlés éve 2005

IF 5.9

OTKA támogatás

feltüntetve? nem