

УДК 577.216.35

СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМЫ ЭКСПРЕССИИ БОЛЬШИХ (+)РНК-ГЕНОМОВ ВИРУСОВ ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ

Мини-обзор

© 2021 А.А. Аграновский

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,
кафедра вирусологии, 119234 Москва, Россия; электронная почта: etdonas2@gmail.com*

Поступила в редакцию 17.08.2020

После доработки 21.09.2020

Принята к публикации 29.09.2020

Быстрые темпы эволюции РНК-геномов, которые обусловлены высоким уровнем мутаций и рекомбинацией при копировании цепей РНК, позволяют вирусу изменять и приобретать последовательности для оптимальной адаптации. Размеры РНК-генома ограничены факторами, связанными с точностью РНК-полимераз и упаковкой. В ходе эволюции (+)РНК-геномы нидовирусов животных (артеривирусов, ронивирусов, коронавирусов) и кластеровирусов растений преодолели барьер в 12 тыс. нуклеотидов. Коронавирусы и кластеровирусы имеют общие свойства. Их РНК-геномы содержат 5'-концевые гены, экспрессируемые с помощью рибосомального сдвига рамки считывания и кодирующие домены папаин-подобной протеиназы, метилтрансферазы, мембраносвязывающих белков, хеликазы и РНК-полимеразы. Коронавирусы, в дополнение к этому, содержат домены экзонуклеазы с редактирующей активностью, гипотетической праймазы, нуклеотидилтрансферазы и эндонуклеазы. РНК-геном коронавирусов и кластеровирусов содержит на 3'-конце гены структурных и вспомогательных белков, для экспрессии которых используется набор котерминальных субгеномных РНК. В ходе эволюции вирионов представители обеих вирусных групп приобрели гибкие спирально-симметричные нуклеокапсиды, что позволило снять ограничения на размер инкапсидируемых молекул РНК. Филогенетические реконструкции домена РНК-полимеразы указывают лишь на отдаленное родство коронавирусов и кластеровирусов, и их общие свойства скорее всего возникли независимо при эволюции больших РНК-геномов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вирусные РНК-геномы, нидовирусы, SARS-CoV, кластеровирусы, эволюция, экспрессия генов.

DOI: 10.31857/S0320972521030027

ВВЕДЕНИЕ

Быстрые темпы эволюции вирусных РНК-геномов, обусловленные высоким уровнем мутаций и «перетасовкой генов» при репликации, приводят к изменению и приобретению генов, необходимых для адаптации вируса. Большин-

ство РНК-содержащих вирусов имеет компактные геномы размером 4–12 kb (1 kb – 1000 нуклеотидов) [1]. Размеры РНК-генома ограничиваются рядом факторов, в первую очередь связанных с точностью репликации РНК. Вирусные РНК-зависимые РНК-полимеразы вносят около 10^{-4} ошибок на копируемый нуклеотидный остаток, т.е. на несколько порядков больше, чем ДНК-полимеразы [2, 3]. Считается, что накопление неблагоприятных мутаций при копировании больших РНК-геномов превышает критический уровень, при котором возможно воспроизводство жизнеспособных вариантов вируса [4]. Кроме того, размеры РНК влияют на ее стабильность и ограничивают возможность упаковки в капсид определенного типа [5].

В ходе эволюции РНК-геномы нидовирусов животных (сем. Arteriviridae, Coronaviridae, Roniviridae и Mesoniviridae; порядок Nidovirales) и кластеровирусов растений (сем. Closteroviridae) преодолели барьер в 12 000 нуклеотидов (нт). Коронавирусы имеют самые крупные

Принятые сокращения: нт – нуклеотид; ОРТ – открытая рамка трансляции; сгРНК – субгеномные РНК; ЭР – эндоплазматический ретикулум; BYV – кластеровирус желтухи свеклы (beet yellows virus); СР и СРm – мажорный и минорный структурные белки; DMV – везикула, окруженная двухслойной мембраной (double membrane vesicle); HEL – РНК-хеликаза; kb – kilobase, 1000 нуклеотидов; L – лидерная последовательность РНК; MHV – коронавирус мышинного гепатита; МР – (главная) сериновая протеиназа; Mtr – N7-гуанин-метилтрансфераза; MVC – мультивезикулярный комплекс; nsp – неструктурный белок; NU – нидовирусная уридилат-специфичная эндорибонуклеаза; POL – РНК-полимераза; рр – полипротеин; SARS-CoV – коронавирусы тяжелого острого респираторного синдрома; TRS – сигналы регуляции транскрипции нидовирусов (transcription regulatory signals).

неразделенные РНК-геномы среди всех (+)РНК-вирусов (до 41 kb у коронавируса планарий [6]). Размеры генома кластеровирусов варьируют от 14,5 до 19 kb [7, 8]. Рассмотрение особенностей структуры, репликации и экспрессии больших РНК-геномов является предметом настоящего обзора. Сравнение свойств нидовирусов и кластеровирусов позволяет увидеть парадоксальные черты сходства между этими эволюционно далекими друг от друга вирусами животных и растений.

КОРОНАВИРУСЫ

Представители порядка Nidovirales – артевиривы, коронавирусы, мезонивиривы и ронивиривы – весьма вариабельны с точки зрения размеров и структуры генома. Сравнение последовательностей аминокислот наиболее консервативного вирусного фермента, РНК-полимеразы, указывает, что нидовирусы образуют компактный филогенетический кластер [9] в филюме пикорна-подобных вирусов [10]. В настоя-

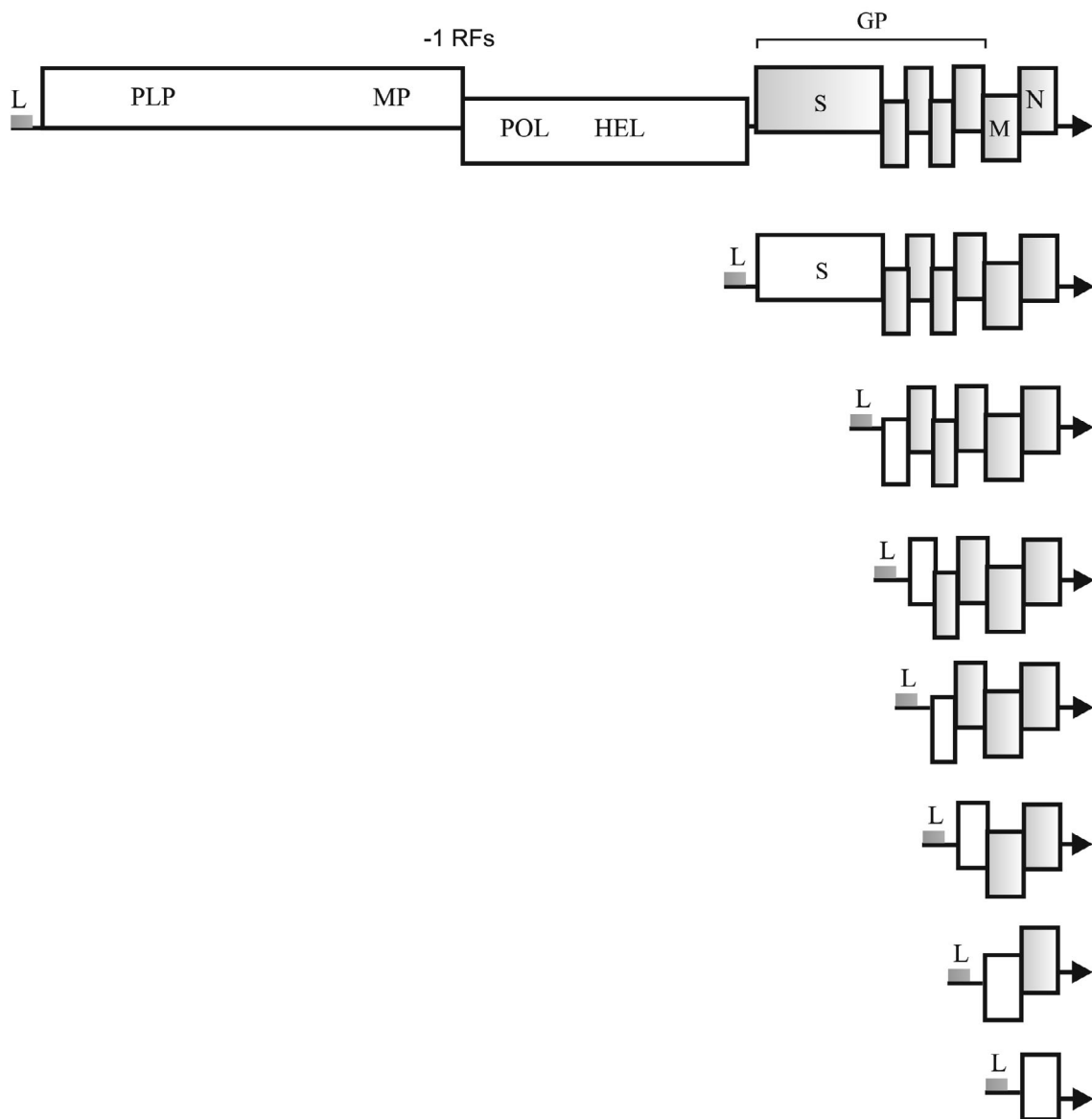


Рис. 1. Структура генома и субгеномных РНК коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV). L – лидерная последовательность; –1 RFs – сигнал –1 рибосомального сдвига рамки считывания. Обозначения закодированных белковых доменов: PLP – папаин-подобная протеиназа; MP – (главная) сериновая протеиназа; POL – РНК-полимераза; HEL – РНК-хеликаза; S – белок шипа; GP – вспомогательные белки и гликопротеины наружной мембраны; M – матриксный белок; N – белок нуклеокапсида. Гены, недоступные для трансляции в каждом типе мРНК, показаны затененными прямоугольниками. 3'-конец РНК обозначен стрелкой

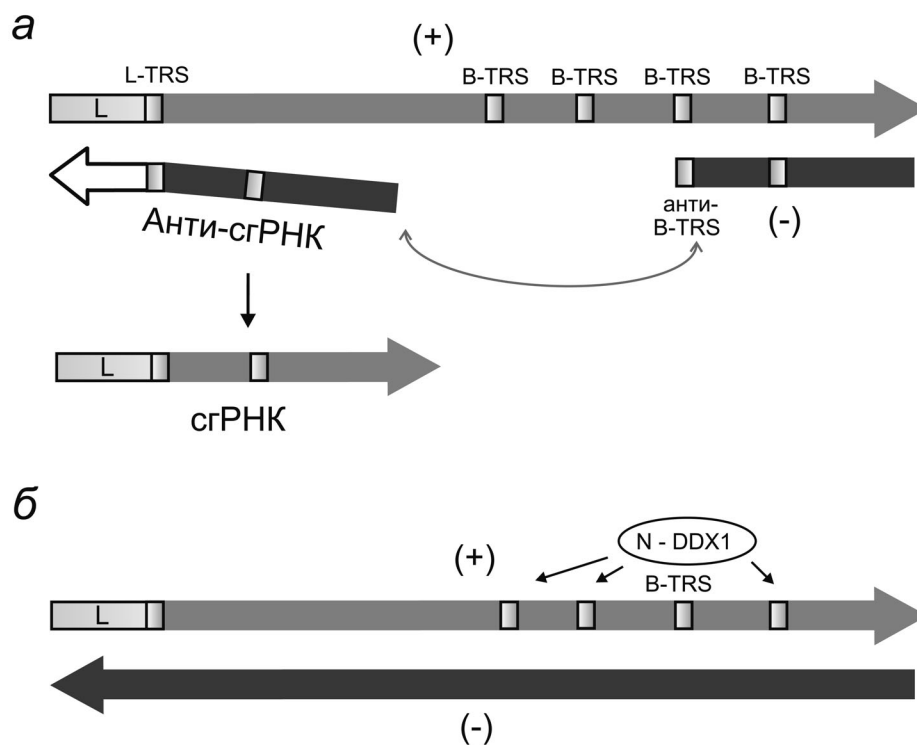


Рис. 2. Транскрипция и репликация РНК коронавирусов. *а* – Модель прерывистой транскрипции. При копировании геномной РНК может происходить остановка синтеза (–)-цепи на сигнале регуляции транскрипции В-TRS (показан прямоугольником), «перескок» антисубгеномной (–)-цепи РНК, отжиг анти-В-TRS на L-TRS и достройка цепи на матрице лидерной последовательности РНК (L). Кодированные и некодированные участки РНК изображены не в масштабе. *б* – Вирусный белок нуклеокапсида N и хеликаза DDX1 присоединяются к В-TRS, в результате чего стоп-сигналы TRS игнорируются и происходит процессивный синтез полноразмерной (–)-цепи РНК, а на матрице (–)-цепи – синтез дочерних (+)-цепей РНК (репликация). 3'-конец РНК обозначен стрелкой

шем обзоре мы ограничимся рассмотрением Coronaviridae, как наиболее эпидемиологически значимого и хорошо изученного семейства порядка Nidovirales.

Структура и экспрессия генома. Коронавирусы имеют спирально-симметричные нуклеокапсиды, которые окружены липопротеидной оболочкой, снабженной белком шипа и другими вирусными гликопротеинами [9]. Геномная РНК коронавирусов содержит 5'-концевую кеп-структуру и 3'-концевую поли(А)-последовательность. Открытые рамки трансляции (ОРТ) 1a и 1b, кодирующие компоненты репликазы, занимают 5'-концевую область генома (рис. 1). Трансляция этих генов с помощью механизма –1 рибосомального сдвига рамки считывания приводит к синтезу полипротеинов (pp) 1a и 1ab в молярном соотношении 4/1. pp1a и pp1ab коронавирусов содержат примерно 4 и 7 тыс. аминокислотных остатков (а.о.) соответственно. Процессинг pp1a и pp1ab вирусными протеинами приводит к образованию 16 неструктурных белков (nsP). Гены структурных белков – мембранных гликопротеинов, матриксного бел-

ка (М) и нуклеокапсидного белка (N) – находятся в 3'-концевой части генома и экспрессируются с помощью 3'-котерминальных субгеномных РНК (сгРНК) (рис. 1). Геномная и сгРНК несут на 5'-конце идентичные лидерные последовательности (L), длина которых составляет 60–90 нт.

Экспрессия 3'-концевых генов структурных белков коронавирусов происходит с участием набора сгРНК, в каждой из которых для трансляции доступен только 5'-проксимальный ген (рис. 1). Синтез нидовирусных сгРНК осуществляется с помощью уникального механизма прерывистой транскрипции [11, 12]. В цепи геномной РНК перед каждым геном (кроме ОРТ 1b) расположена консервативная последовательность длиной 6–8 нт – L-TRS (лидерный транскрипционный регуляторный сайт, leader transcription regulatory site, TRS) или В-TRS (body TRS) (рис. 2). Синтез антигеномной цепи (–)РНК с некоторой вероятностью может задерживаться на В-TRS в геномной РНК (рис. 2). Затем синтезированный фрагмент (–)-цепи либо «перескакивает» на 5'-конец (+)РНК, либо

участки сближаются в результате выпетливания (+)РНК. Происходит отжиг анти-В-TRS и L-TRS и достройка фрагмента (-)РНК на матрице (+)L (рис. 2, а). В результате получают анти-сРНК, содержащие общую последовательность анти-L, которые служат матрицами для образования сРНК. Фосфорилированный свободный белок нуклеокапсида N связывается с В-TRS и привлекает клеточную хеликазу DDX1; эти взаимодействия, осуществляемые на поздних стадиях инфекционного цикла, позволяют репликативному комплексу игнорировать стоп-сигналы транскрипции и синтезировать полноразмерную антигенномную РНК, служащую матрицей для воспроизводства полноразмерных (+)РНК (рис. 2, б) [13, 14].

Репликативные белки. В состав репликативного комплекса коронавируса входит 16 неструктурных белков – продуктов процессинга *pp1a* и *pp1ab* папаин-подобной протеиназой (PLP) и сериновой протеиназы (MP) (рис. 3). Интересно, что родственные коронавирусы могут содержать один или два домена PLP [9]. В случае вируса мышного гепатита (MHV) автокаталитическое высщепление *nsp1*, *nsp2*, *nsp3* и *nsp4* происходит под действием двух доменов PLP, тогда как в случае SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERS и вируса инфекционного бронхита (IBV) за эти реакции ответственна единственная PLP (рис. 1 и 3). Таким образом, в процессе эволюции коронавирусов, очевидно, произошла дупликация и дивергенция доменов протеиназы. Процессинг большинства сайтов в полипротеинах осуществляется *in trans* вирусной сериновой протеиназой, получившей название «главной протеиназы» (MP) [9]. Специфические функции *nsp1* и *nsp2* коронавируса, по-видимому, связаны не с репликацией РНК, а с деградацией клеточных РНК и подавлением клеточной трансляции [15, 16], а также с созреванием вирусных частиц [17]. Искусственные мутации, блокирующие разрезание сайта *nsp1/nsp2*, и даже делеции *nsp1* и *nsp2* лишь

незначительно влияют на репликацию MHV в культуре клеток [18].

Многофункциональный белок *nsp3* несет домен протеиназы PLP и трансмембранный домен [19]. ТМ-белки *nsp3*, *nsp4* и *nsp6* индуцируют реорганизацию мембран клетки и создание репликативных компарментов [20–22]. Протеиназа *nsp5* осуществляет процессинг большинства сайтов в *pp1a* и *pp1ab* (рис. 3). Зрелый белок *nsp5* входит в состав репликативного комплекса. Функции малых белков *nsp7*–*nsp11* связаны с синтезом РНК, и все они необходимы для репликации. Белки *nsp7* и *nsp8* формируют цилиндрический комплекс из 8 субъединиц каждого белка, в котором положительно заряженные а.о. экспонированы в центральной полости. Уникальным свойством коронавируса (впервые обнаруженным у SARS-CoV-1) является участие в репликации белка *nsp8* в качестве вспомогательной РНК-полимеразы (гипотетической праймазы (Pr); рис. 3) [23], которая использует в качестве матриц последовательности РНК с консенсусом 5'-(G/U)CC и синтезирует короткие (до 6 нт) комплементарные РНК. Помимо низкой процессивности, *nsp8* является самой неточной РНК-полимеразой из всех известных ферментов данного типа (одна ошибка на 10 нт). Высказывались предположения, что Pr может выполнять функции праймазы при репликации РНК коронавируса или повышать процессивность РНК-полимеразы *nsp12* [23, 24].

Белок *nsp12* несет домены нуклеотидилтрансферазы и РНК-полимеразы и является сердцевинным РНК-синтезирующим ферментом коронавируса [24]. Белок *nsp13* содержит цинк-связывающий и хеликазный домены (рис. 3).

NSP14 содержит на N-конце домен 3'-5'-экзонуклеазы (Exo), а на C-конце – домен N7-гуанин-метилтрансферазы (Mtr; рис. 3). Предсказанные с помощью методов биоинформатики активности экзонуклеазы и метилтрансферазы

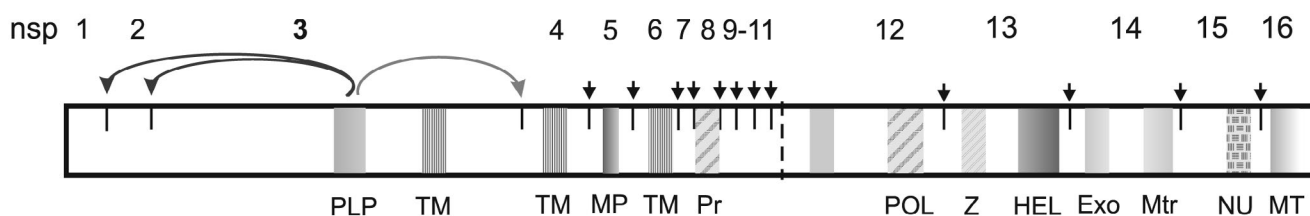


Рис. 3. Структура репликативного полипротеина 1ab коронавируса SARS-CoV-1. Вертикальный пунктирный отрезок – граница между 1a и 1b в слитном белке. Домены неструктурных белков *nsp1*–*nsp16* обозначены прямоугольниками. PLP – папаин-подобная протеиназа (сайты разрезания *in cis* показаны изогнутыми стрелками); MP – главная сериновая протеиназа (сайты разрезания *in trans* показаны стрелками); TM – трансмембранные домены; Pr – гипотетическая праймаза; POL – РНК-полимераза; Z – цинк-связывающий домен; HEL – РНК-хеликаза; Exo – 3'-5'-экзонуклеаза; Mtr – N7-гуанин-метилтрансфераза; NU – нидовирусная уридилат-специфичная эндорибонуклеаза; MT – рибозил-2'-О-метилтрансфераза

были подтверждены экспериментально [25–27]. Родственные коронавирусной Echo клеточные ферменты семейства DEDD участвуют в редактировании (proofreading), репарации и рекомбинации нуклеиновых кислот. При репликации коронавируса РНК nsp14 выполняет роль редактирующего фермента, повышающего точность копирования цепей; подобная функция уникальна для РНК-содержащих вирусов [25, 26].

NSP15 несет домен уридилат-специфичной эндонуклеазы (NU) (рис. 3) [28]. Коронавирусная NU необходима для репликации и транскрипции, а также является антагонистом интерферона. Белок NSP16 содержит домен рибозил-2'-О-метилтрансферазы (MT), осуществляющий метилирование второго остатка с 5'-конца коронавируса мРНК по 2'-О-положению рибозы (m⁷GpppAm) [29]. 2'-О-метилирование кепы позволяет клетке дискриминировать «свои» и «чужие» мРНК с помощью интерферон-индуцируемых IFIT-белков, и метилирование рибозного кольца второго остатка с 5'-конца вирусных РНК позволяет обойти этот механизм рестрикции [30].

Цитология репликации. После попадания в клетку коронавируса нуклеокапсид доставляется в эндосомы, где происходит освобождение РНК от белка N [31], свободная РНК выходит в цитоплазму и направляется к рибосомам. В результате трансляции синтезируются pp1a и pp1b, разрезаемые вирусными протеиназами с образованием репликативных белков. Гидрофобные белки nsp3, nsp4 и nsp6 связываются с мембранами аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулума (ЭР) и формируют (очевидно, привлекая клеточные белки-партнеры) репликативные компартменты – двухслойные мембранные везикулы (DMV) и мультивезикулярные комплексы (MVC) [20, 21]. Репликативные белки и вирусная РНК связаны с мембранами DMV и MVC; в этих структурах («вирусных фабриках») происходит синтез вирусных РНК (антигеномной (–)-цепи, дочерних (+)-цепей и сгРНК) [22]. Геномные и сгРНК экспортируются в цитоплазму, где транслируются или служат матрицами для репликации во вновь образуемых вирусных фабриках. DMV коронавируса MCV и SARS-CoV-2 имеют каналы в цитоплазму, ключевым компонентом которых является белок nsp3, служащие для импорта молекул субстрата гНТР и экспорта вирусных мРНК [32].

КЛОСТЕРОВИРУСЫ

Семейство Closteroviridae объединяет около 40 РНК-содержащих вирусов растений [33, 34],

которые характеризуются несколькими отличительными свойствами: (1) переносятся насекомыми-векторами полуперсистентно (т.е. вирус задерживается в векторе в течение нескольких часов); (2) обладают уникальной структурой нитевидных частиц, построенных из нескольких структурных белков; (3) имеют большие РНК-геномы (до 20 kb); (4) несут ген гомолога клеточных шаперонов HSP70; (5) несут дублированные гены или фрагменты генов (например, гены основного и минорного структурных белков).

Структура и экспрессия генома. Геномная РНК вируса желтухи свеклы (BYV; 14,5 kb) содержит 5'-кеп и не имеет 3'-поли(А) [7, 33, 35]. В 5'-концевой области генома BYV и других кластеровирусов находятся OPT 1a и 1b, кодирующие компоненты репликазы (рис. 4) [7, 33, 34]. Трансляция этих генов, расположенных в конфигурации 0/+1, приводит к синтезу pp1a и pp1ab. Следует заметить, что механизм +1-сдвига рамки считывания у вирусов встречается достаточно редко, в отличие от –1-сдвига рамки считывания, который используется при экспрессии РНК-полимераз ретровирусов, коронавируса, астровирусов животных и лютеовирусов растений [7, 36], а также некоторых эукариотических генов и транспозонов [37]. Гены структурных и вспомогательных белков находятся в 3'-концевой части генома и экспрессируются с помощью 3'-котерминальных сгРНК [34] (рис. 4).

Папаин-подобная цистеиновая протеиназа PLP BYV автокаталитически выщепляет лидерный белок, гидролизует пептидную связь Gly588/589 [7]. В геномах некоторых кластеровирусов домен лидерной протеиназы дублирован, и выщепляется два лидерных белка [8]. Лидерный белок PLP BYV влияет на амплификацию вирусной РНК и транспорт инфекции по проводящим тканям растения (дальний транспорт) [38, 39]. Помимо выщепления PLP, pp1a подвергается дополнительному процессингу неизвестной протеиназной активностью, приводящему к появлению *in vivo* репликативных белков с молекулярной массой 63 kDa (с доменом Mtr) и 100 kDa (с доменом HEL) [40].

Мажорный структурный белок (CP; рис. 4) формирует «тело» нитевидной вирусной частицы, одевая 95% геномной РНК; минорный структурный белок (CPm) образует «хвост», включающий 5'-концевой фрагмент РНК [41, 42]. Формирование вирионов BYV невозможно без участия HSP70h и р64, и оба этих белка входят в состав зрелых частиц (в количестве одной или нескольких копий) [43–45]. Белок HSP70h имеет консервативный N-концевой домен АТРаза (гомологичный эквивалентным доме-

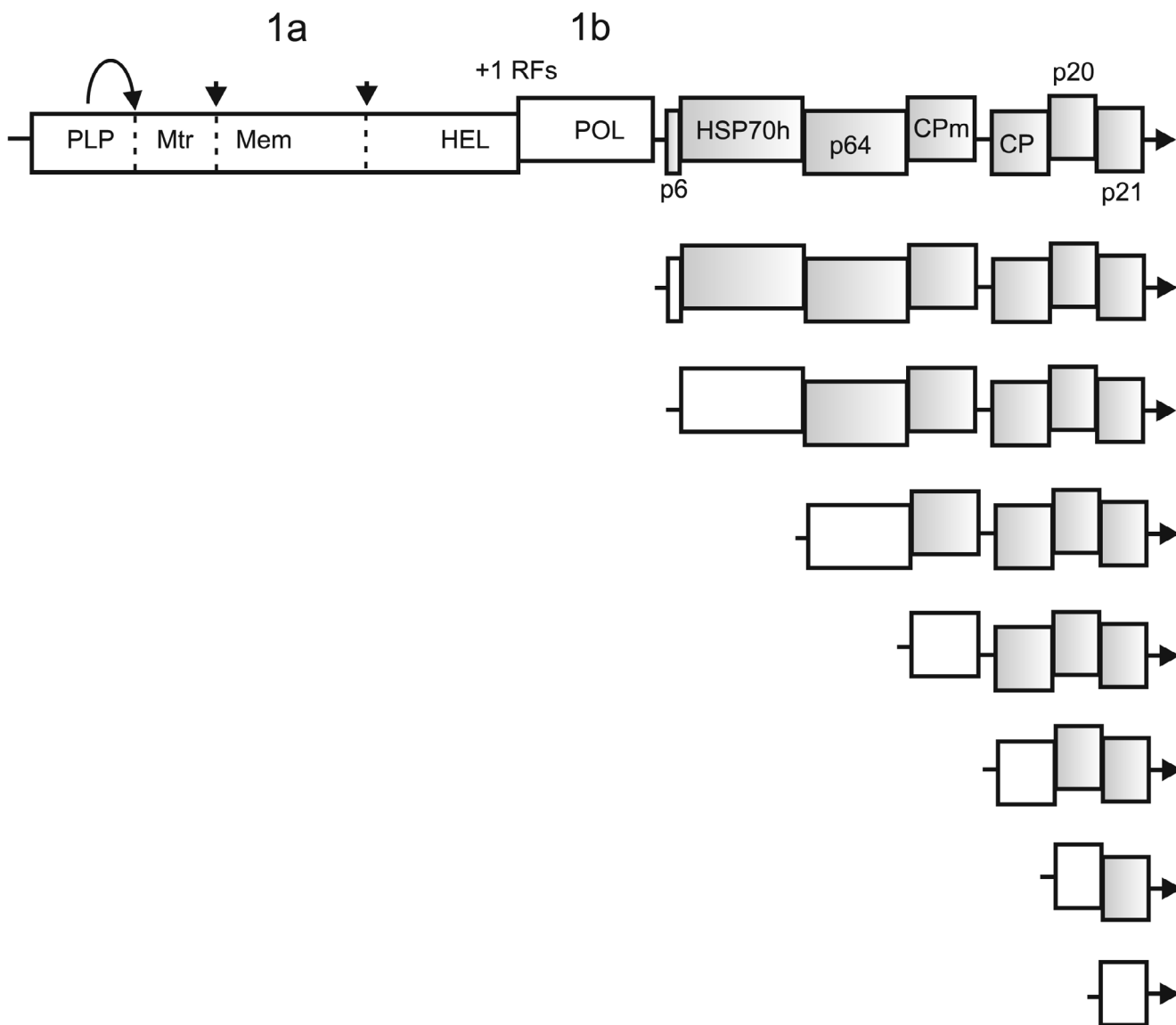


Рис. 4. Структура генома и субгеномных РНК кластеровируса желтухи свеклы (BYV). +1 RFs – сигнал +1 рибосомально-го сдвига рамки считывания при трансляции ОПТ 1a и 1b. Стрелки и пунктирные линии обозначают сайты разреза-ния рр1a. Обозначения закодированных белковых доменов: PLP – папаин-подобная протеиназа; Mtr – N7-гуанин-метил-трансфераза; Mem – мембраносвязывающий домен; HEL – РНК-хеликаза; POL – РНК-полимераза; р6 – малый гидро-фобный белок; HSP70h – гомолог белков теплового шока семейства HSP70; р64 – минорный структурный белок; CPm – минорный структурный белок; CP – мажорный структурный белок. Гены, недоступные для трансляции в каждом типе мРНК, показаны затененными прямоугольниками

нам клеточных HSP70) и варибельный С-кон-цевой домен [46]. Было показано, что N-конце-вой домен HSP70h обладает Mg-зависимой АТРазной активностью *in vitro*, однако, в отли-чие от клеточных шаперонов семейства HSP70, не способен взаимодействовать с развернутыми белковыми цепями [47]. Помимо вирусных час-тиц, HSP70h связывается с плазмодесмами зара-женных клеток и выполняет функции белка межклеточного транспорта [48, 49]. Функция транспорта также зависит от р6, р64, CP и CPm.

Нокаут каждого из генов, кодирующих эти бел-ки, блокирует распространение инфекции BYV по растению [50]. Функции продуктов 3'-конце-вых генов (рис. 4) связаны с дальним транспор-том инфекции (р20) и подавлением пост-тран-скрипционного у молчания генов (р21) [51].

Репликативные белки. Кластеровирусы от-носятся к супергруппе альфа-подобных вирусов, включающей (+)РНК-содержащие вирусы жи-вотных (вирус Синдбис, вирус краснухи и вирус гепатита E) и растений (вирус табачной мозаи-

ки, вирус мозаики костра и другие). При всем несходстве биологических свойств, структуры вирионов и строения РНК-генома все альфа-подобные вирусы содержат консервативные домены Mtr, РНК-хеликазы (Hel) и РНК-полимеразы (POL) в составе репликазы [52, 53]. Домен Mtr обладает активностями гуанилилтрансферазы и N7-гуанин-метилтрансферазы и осуществляет кепирование вирусных мРНК. Домен HEL расплетает цепи РНК при репликации за счет энергии гидролиза NTP. Домен POL ответственен за синтез комплементарных цепей РНК; у альфа-подобных вирусов синтез РНК инициируется *de novo* и не требует затравки [54].

Сравнение вирусных (+)РНК-геномов позволяет увидеть простую закономерность: чем больше размеры геномной РНК, тем протяженнее ген РНК-репликазы; иными словами, большой геном реплицируется более сложно устроенным репликативным комплексом [33]. При эволюции альфа-подобных вирусов, очевидно, происходили вставки кодирующей последовательности между доменами Mtr и HEL при сохранении длины спейсера между HEL и POL [33]. Репликативный комплекс кластеровирусов устроен сложнее, чем у родственных вирусов растений, и включает, по крайней мере, пять белков (PLP, Mtr, центральный домен 1a, HEL и HEL-POL) [34]. В белке 1a не были предсказаны домены, эквивалентные экзонуклеазе и праймазе нидовирусов, и остается неизвестным существуют ли у кластеровирусов ферментативные активности, способствующие процессивности и точности синтеза РНК [51]. Репликация генома кластеровирусов происходит по общему для альфа-подобных вирусов механизму — репликация инициируется после узнавания репликазой *цис*-сигнала на 3'-конце (+)РНК, синтезируется полноразмерная комплементарная (–)-цепь, на матрице которой синтезируются дочерние (+)-цепи. До сих пор не были получены экспериментальные данные в пользу одного из двух возможных вариантов транскрипции — синтеза сгРНК на матрице полноразмерной (–)РНК или на матрицах антисубгеномных (–)РНК [54]. По-видимому, механизм прерывистой транскрипции не используется в кластеровирусных системах, поскольку сгРНК кластеровирусов не имеют общей 5'-лидерной последовательности, а районы субгеномных промоторов не несут общих элементов, напоминающих TRS нидовирусов [55–58].

Цитология репликации. Инфекция кластеровирусов в растениях сопровождается образованием DMV (везикул диаметром ~100 нм, окруженных двойной мембраной) и MVC (скопления везикул, окруженных общей однослойной

мембраной) [59], напоминающих репликативные ультраструктуры нидовирусов и флавириу-сов [60]. DMV и MVC формируются из мембран ЭР. Репликативные белки BVV — PLP, Mtr и HEL — ассоциированы с этими структурами, что подтверждает их связь с репликацией РНК [61, 62]. В поисках белков BVV, способных модифицировать клеточные мембраны, были проведены эксперименты по кратковременной (транзистентной) экспрессии фрагментов центрального района белка 1a, слитых с репортерным белком GFP, в растениях *Nicotiana benthamiana* [60, 63]. Фрагмент длиной 198 а.о. (Mem; рис. 4), включающий консервативный гидрофобный домен с вероятной амфипатической альфа-спиралью, вызывал в клетках растений трансформацию ЭР вокруг ядра и образование скоплений глобул диаметром ~2 мкм. Глобулы обладали подвижностью, зарегистрированной с помощью конфокальной микроскопии, и ассоциировались с актиновыми филаментами [63]. Высказывалось предположение, что реорганизация мембран ЭР под действием гидрофобного сегмента pp1a является одним из этапов создания репликативных ультраструктур у кластеровирусов [60, 63].

ОБЩИЕ ПУТИ ЭВОЛЮЦИИ БОЛЬШИХ РНК-ГЕНОМОВ

В процессе эволюции нидовирусы животных и кластеровирусы растений преодолели барьер размера (+)РНК-генома в 12 kb. При этом с помощью ряда эволюционных «изобретений» были решены проблемы упаковки и репликации. По остроумной гипотезе Godeny et al. [64], предок современных Nidovirales, скорее всего, имел икосаэдрический нуклеокапсид. При последующей дивергенции «малые нидовирусы» (геном 14–16 kb) сохранили такой тип нуклеокапсида, а «большие нидовирусы» (геном 26–41 kb) в результате рекомбинации приобрели новый белок N, образующий спирально-симметричный нуклеокапсид и позволяющий упаковывать РНК значительно большего размера. Родственные кластеровирусам альфа-подобные вирусы растений — бромовирус мозаики костра и тобамовирус табачной мозаики — имеют икосаэдрические и палочковидные частицы соответственно. Размер РНК, который возможно упаковать в такие частицы, существенно ограничен; создание в процессе эволюции сверхгибких спирально-симметричных частиц кластеровирусов, состоящих из нескольких белков, позволило решить проблему упаковки РНК-генома размером до 19 kb [5].

Мутации, вносимые собственными РНК-полимеразами [2] и, возможно, клеточными редактирующими ферментами (например, дезаминазами) [65], являются основой изменчивости РНК-вирусов. Другой движущей силой вирусной эволюции является рекомбинация РНК [66]. Анализ геномов коронавирусов и кластеровирусов позволяет выявить явные следы рекомбинационных событий: захвата гетерологичных последовательностей, дубликации и дивергенции генов. Так, эволюция «больших нидовирусов» сопровождалась приобретением как новых ферментативных активностей (нуклеотидилтрансферазы, праймазы, 3'-5'-экзонуклеазы, эндонуклеазы) [9], так и структурных генов (белка нуклеокапсиды и белка внешней мембраны, родственного гемагглютинину вируса гриппа) [67]. В ходе эволюции кластеровирусов и коронавирусов происходила дубликация и последующая дивергенция последовательностей, кодирующих лидерную протеиназу РLP. В геномах кластеровирусов ген структурного белка был, вероятно, дублирован несколько раз, в результате чего возникли CP, CPm (некоторые представители семейства несут два CPm-подобных гена) и р64 (рис. 4) [34, 51]. Кроме того, при эволюции кластеровирусов произошел захват хозяйского гена HSP70 (за счет вероятной рекомбинации с клеточной мРНК) и его приспособление к выполнению определенных функций при сборке частиц и межклеточном транспорте [33, 51].

Синтез больших РНК «обслуживается» более сложно устроенными РНК-репликазами, и существенная часть увеличений размера РНК-гена приходится на репликативные гены [33]. Коронавирусы обладают ферментативными активностями, позволяющими повысить точность и процессивность РНК-полимеразы (праймаза и экзонуклеаза). Геномы кластеровирусов не кодируют эквивалентных белков. Возможно, это отражается в более высоком уровне точечных мутаций у кластеровируса тристецы цитрусовых (CTV) [68] в сравнении с SARS-CoV и другими коронавирусами [65]. Среди представителей Nidovirales коронавирусы и ронивирусы (геном 26–41 kb) кодируют домен экзонуклеазы, а мезонивирусы и артеривирусы (геном 14–20 kb) лишены этого домена. Возможно, 20 kb являет-

ся пределом размеров вирусной РНК, копирование которой не требует дополнительной редактирующей активности.

Сравнение структуры и экспрессии геномов коронавирусов и кластеровирусов выявляет удивительное сходство между этими группами (рис. 1 и 4). Геномы нидовирусов и кластеровирусов содержат 5'-проксимальные гены репликазы, экспрессируемые с помощью рибосомального сдвига рамки считывания с образованием крупных рр1a и рр1ab. Полипротеины процессируются одной или двумя папаин-подобными протеиназами, высвобождающими лидерные белки, а также сериновой МР (нидовирусы) или неидентифицированной протеиназой (кластеровирусы), в результате чего образуются зрелые белки с активностями метилтрансферазы, хеликазы, РНК-полимеразы и мембраносвязывающими доменами. Гены вспомогательных и структурных белков транслируются с матриц 3'-котерминальных сгРНК (рис. 1 и 4). Это сходство не должно создавать впечатление, что эти вирусы животных и растений произошли от общего предка, имевшего сходным образом устроенный геном и набор механизмов экспрессии генов – напротив, кластеровирусы и нидовирусы представляют эволюционно удаленные друг от друга группы [1, 10]. Более уместным представляется допущение, что сходные черты геномной организации и экспрессии нидовирусов и коронавирусов возникли в ходе эволюции предков этих вирусов конвергентно, как следствие увеличения размеров РНК-гена, сделавшего необходимым приобретение сходного набора функций и способов экспрессии вирусных генов [5, 7, 34, 51].

Благодарности. Автор выражает признательность проф. А.Г. Соловьеву и проф. С.Ю. Морозову за обсуждение и критические замечания по тексту настоящего обзора.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Koonin, E. V., and Dolja, V. V. (1993) Evolution and taxonomy of positive-strand RNA viruses: implications of comparative analysis of amino acid sequences, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **28**, 375-430, doi: 10.3109/10409239309078440.
2. Steinhauer, D. A., and Holland, J. (1987) Rapid evolution of RNA viruses, *Annu. Rev. Microbiol.*, **41**, 409-431, doi: 10.1146/annurev.mi.41.100187.002205.
3. Drake, J. W. (1993) Rates of spontaneous mutation among RNA viruses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 4171-4175.
4. Holmes, E. C. (2003) Error thresholds and the constraints to RNA virus evolution, *Trends Microbiol.*, **11**, 543-546.
5. Dolja, V. V., Karasev, A. V., and Koonin, E. V. (1994) Molecular biology and evolution of closteroviruses: sophis-

- licated build-up of large RNA genomes, *Annu. Rev. Phytopathol.*, **32**, 261-285.
6. Saberi, A., Gulyaeva, A. A., Brubacher, J. L., Newmark, P. A., and Gorbalenya, A. E. (2018) A planarian nidovirus expands the limits of RNA genome size, *PLoS Pathog.*, **14**, e1007314, doi: 10.1371/journal.ppat.1007314.
 7. Agranovsky, A. A., Koonin, E. V., Boyko, V. P., Maiss, E., Froetschl, R., Lunina, N. A., and Atabekov, J. G. (1994) Beet yellows closterovirus: complete genome structure and identification of a leader papain-like thiol protease, *Virology*, **198**, 311-324, doi: 10.1006/viro.1994.1034.
 8. Karasev, A. V., Boyko, V. P., Gowda, S., Nikolaeva, O. V., Hilf, M. E., et al. (1995) Complete sequence of the citrus tristeza virus RNA genome, *Virology*, **208**, 511-520, doi: 10.1006/viro.1995.1182.
 9. Enjuanes, L., Gorbalenya, A. E., de Groot, R. J., Cowley, J. A., Ziebuhr, J., and Snijder, E. J. (2008) Nidovirales, in *Encyclopedia of Virology* (Mahy, B. W. J., and Van Regenmortel, M. H. V., eds) Oxford, Elsevier, pp. 419-430.
 10. Koonin, E. V., Dolja, V. V., Krupovic, M., Varsani, A., Wolf, Y. I., et al. (2020) Global organization and proposed megataxonomy of the virus world, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **84**, e00061-19, doi: 10.1128/MMBR.00061-19.
 11. Sawicki, S. G., and Sawicki, D. L. (2005) Coronavirus transcription: a perspective, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **287**, 31-55, doi: 10.1007/3-540-26765-4_2.
 12. Sola, I., Almazán, F., Zúñiga, S., and Enjuanes, L. (2015) Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses, *Annu. Rev. Virol.*, **2**, 265-288, doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055218.
 13. Zúñiga, S., Cruz, J. L., Sola, I., Mateos-Gomez, P. A., Palacio, L., and Enjuanes, L. (2010) Coronavirus nucleocapsid protein facilitates template switching and is required for efficient transcription, *J. Virol.*, **84**, 2169-2175.
 14. Wu, C. H., Chen, P. J., and Yeh, S. H. (2014) Nucleocapsid phosphorylation and RNA helicase DDX1 recruitment enables coronavirus transition from discontinuous to continuous transcription, *Cell Host Microbe*, **16**, 462-72.
 15. Terada, Y., Kawachi, K., Matsuura, Y., and Kamitani, W. (2017) MERS coronavirus nsp1 participates in an efficient propagation through a specific interaction with viral RNA, *Virology*, **511**, 95-105, doi: 10.1016/j.virol.2017.08.026.
 16. Lokugamage, K. G., Narayanan, K., Huang, C., and Makino, S. (2012) Severe acute respiratory syndrome coronavirus protein nsp1 is a novel eukaryotic translation inhibitor that represses multiple steps of translation initiation, *J. Virol.*, **86**, 13598-13608, doi: 10.1128/JVI.01958-12.
 17. Nakagawa, K., Narayanan, K., Wada, M., Popov, V. L., Cajimat, M., Baric, R. S., and Makino, S. (2018) The endonucleolytic RNA cleavage function of nsp1 of middle east respiratory syndrome coronavirus promotes the production of infectious virus particles in specific human cell lines, *J. Virol.*, **92**, e01157-18, doi: 10.1128/JVI.01157-18.
 18. Graham, R. L., Sims, A. C., Brockway, S. M., Baric, R. S., and Denison, M. R. (2005) The nsp2 replicase proteins of murine hepatitis virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus are dispensable for viral replication, *J. Virol.*, **79**, 13399-13411, doi: 10.1128/JVI.79.21.13399-13411.2005.
 19. Sawicki, S. G., Sawicki, D. L., Younker, D., Meyer, Y., Thiel, V., Stokes, H., and Siddell, S. G. (2005) Functional and genetic analysis of coronavirus replicase-transcriptase proteins, *PLoS Pathog.*, **1**, e39, doi: 10.1371/journal.ppat.0010039.
 20. Angelini, M. M., Akhlaghpour, M., Neuman, B. W., and Buchmeier, M. J. (2013) Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles, *MBio*, **4**, e00524-e00513.
 21. de Wilde, A. H., Snijder, E. J., Kikkert, M., and van Hemert, M. J. (2018) Host factors in coronavirus replication, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **419**, 1-42, doi: 10.1007/82_2017_25.
 22. Knoops, K., Kikkert, M., Worm, S. H., Zevenhoven-Dobbe, J. C., van der Meer, Y., et al. (2008) SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum, *PLoS Biol.*, **6**, e226, doi: 10.1371/journal.pbio.0060226.
 23. Te Velthuis, A. J., van den Worm, S. H., and Snijder, E. J. (2012) The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension, *Nucleic Acids Res*, **40**, 1737-1747, doi: 10.1093/nar/gkr893.
 24. Kirchdoerfer, R. N., and Ward, A. B. (2019) Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors, *Nat. Commun.*, **10**, 2342, doi: 10.1038/s41467-019-10280-3.
 25. Bouvet, M., Imbert, I., Subissi, L., Gluais, L., Canard, B., and Decroly, E. (2012) RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus non-structural protein nsp10/nsp14 exoribonuclease complex, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 9372-9377, doi: 10.1073/pnas.1201130109.
 26. Subissi, L., Posthuma, C. C., Collet, A., Zevenhoven-Dobbe, J. C., Gorbalenya, A. E., et al. (2014) One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, E3900-9, doi: 10.1073/pnas.1323705111.
 27. Jin, X., Chen, Y., Sun, Y., Zeng, C., Wang, Y., et al. (2013) Characterization of the guanine-N7 methyltransferase activity of coronavirus nsp14 on nucleotide GTP, *Virus Res.*, **176**, 45-52, doi: 10.1016/j.virusres.2013.05.001.
 28. Ivanov, K. A., Hertzog, T., Rozanov, M., Bayer, S., Thiel, V., Gorbalenya, A. E., and Ziebuhr, J. (2004) Major genetic marker of nidoviruses encodes a replicative endoribonuclease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 12694-12699, doi: 10.1073/pnas.0403127101.
 29. Chen, Y., Cai, H., Pan, J., Xiang, N., Tien, P., Ahola, T., and Guo, D. (2009) Functional screen reveals SARS coronavirus nonstructural protein nsp14 as a novel cap N7 methyltransferase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 3484-3489.
 30. Daffis, S., Szretter, K. J., Schriewer, J., Li, J., Youn, S., et al. (2010) 2'-O methylation of the viral mRNA cap evades host restriction by IFIT family members, *Nature*, **468**, 452-456, doi: 10.1038/nature09489.
 31. Kalicharran, K., Mohandas, D., Wilson, G., and Dales, S. (1996) Regulation of the initiation of coronavirus JHM infection in primary oligodendrocytes and L-2 fibroblasts, *Virology*, **225**, 33-43, doi: 10.1006/viro.1996.0572.
 32. Wolff, G., Ronald, W., Limpens R., Zevenhoven-Dobbe, J. C., Laugks, U., et al. (2020) A molecular pore spans the double membrane of the coronavirus replication organelle, *Science*, **369**, 1395-1398, doi: 10.1126/science.abd3629.
 33. Agranovsky, A. A. (1996) Principles of molecular organization, expression and evolution of closteroviruses: over the barriers, *Adv. Virus Res.*, **47**, 119-158.
 34. Agranovsky A. A. (2016) Closteroviruses: molecular biology, evolution and interactions with cells, in *Plant Viruses: Evolution and Management* (Gaur, R. K., Petrova, N., and Stoyanova, M. I., eds) Springer Science+Business Media, Singapore, Chapt. 14, pp. 231-252, doi: 10.1007/978-981-10-1406-2_14.
 35. Agranovsky, A. A., Boyko, V. P., Karasev, A. V., Lunina, N. A., Koonin, E. V., and Dolja, V. V. (1991) Nucleotide

- sequence of the 3'-terminal half of beet yellows closterovirus RNA genome: unique arrangement of eight virus genes, *J. Gen. Virol.*, **72**, 15-23.
36. Firth, A. E., Brierley, I. (2012) Non-canonical translation in RNA viruses, *J. Gen. Virol.*, **93**, 1385-1409, doi: 10.1099/vir.0.042499-0.
 37. Giedroc, D. P., and Cornish, P. V. (2009) Frameshifting RNA pseudoknots: structure and mechanism, *Virus Res.*, **139**, 193-208.
 38. Peremyslov, V. V., Hagiwara, Y., and Dolja, V. V. (1998) Genes required for replication of the 15.5-kilobase RNA genome of a plant closterovirus, *J. Virol.*, **72**, 5870-5876.
 39. Peng, C. W., Napuli, A. J., and Dolja, V. V. (2003) Leader proteinases of beet yellows virus functions in long-distance transport, *J. Virol.*, **77**, 2843-2849.
 40. Erokhina, T. N., Zinovkin, R. A., Vitushkina, M. V., Jelkmann, W., and Agranovsky, A. A. (2000) Detection of beet yellows closterovirus methyltransferase-like and helicase-like proteins *in vivo* using monoclonal antibodies, *J. Gen. Virol.*, **81**, 597-603.
 41. Agranovsky, A. A., Lesemann, D. E., Maiss, E., Hull, R., and Atabekov, J. G. (1995) "Rattlesnake" structure of a filamentous plant RNA virus built of two capsid proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 2470-2473.
 42. Zinovkin, R. A., Jelkmann, W., and Agranovsky, A. A. (1999) The minor coat protein of beet yellows closterovirus encapsidates the 5'-terminus of RNA in virions, *J. Gen. Virol.*, **80**, 269-272.
 43. Napuli, A. J., Alzhanova, D. V., Doneanu, C. E., Barofsky, D. F., Koonin, E. V., and Dolja, V. V. (2003) The 64-kDa capsid protein homolog of beet yellows virus is required for assembly of virion tails, *J. Virol.*, **77**, 2377-2384.
 44. Napuli, A. J., Falk, B. W., and Dolja, V. V. (2000). Interaction between HSP70 homolog and filamentous virions of the beet yellows virus, *Virology*, **274**, 232-239.
 45. Alzhanova, D. V., Napuli, A., Creamer, R., and Dolja, V. V. (2001) Cell-to-cell movement and assembly of a plant closterovirus: roles for the capsid proteins and Hsp70 homolog, *EMBO J.*, **20**, 6997-7007.
 46. Agranovsky, A. A., Boyko, V. P., Karasev, A. V., Koonin, E. V., and Dolja, V. V. (1991) The putative 65K protein of beet yellows closterovirus is a homologue of HSP70 heat shock proteins, *J. Mol. Biol.*, **217**, 603-610.
 47. Agranovsky, A. A., Folimonova, S. Y., Folimonov, A. S., Denisenko, O. N., and Zinovkin, R. A. (1997) The beet yellows closterovirus p65 homologue of HSP70 chaperones has ATPase activity associated with its conserved N-terminal domain but does not interact with unfolded protein chains, *J. Gen. Virol.*, **78**, 535-542.
 48. Medina, V., Peremyslov, V. V., Hagiwara, Y., and Dolja, V. V. (1999) Subcellular localization of the HSP70-homolog encoded by beet yellows closterovirus, *Virology*, **260**, 173-181.
 49. Agranovsky, A. A., Folimonov, A. S., Folimonova, S. Y., Morozov, S. Y., Schiemann, J., Lesemann, D. E., and Atabekov, J. G. (1998) Beet yellows closterovirus HSP70-like protein mediates the cell-to-cell movement of a potyvirus transport-deficient mutant and a hordeivirus-based chimeric virus, *J. Gen. Virol.*, **79**, 889-895.
 50. Alzhanova, D. V., Hagiwara, Y., Peremyslov, V. V., and Dolja, V. V. (2000) Genetic analysis of the cell-to-cell movement of beet yellows closterovirus, *Virology*, **268**, 192-200.
 51. Dolja, V. V., Kreuzer, J. F., and Valkonen, J. P. (2006) Comparative and functional genomics of closteroviruses, *Virus Res.*, **117**, 38-51.
 52. Goldbach, R., Le Gall, O., and Wellink, J. (1991) Alpha-like viruses of plants, *Semin. Virol.*, **2**, 19-25.
 53. Buck, K. W. (1996) Comparison of the replication of positive-stranded RNA viruses of plants and animals, *Adv. Virus Res.*, **47**, 159-251, doi: 10.1016/s0065-3527(08)60736-8.
 54. Miller, W. A., and Koev, G. (2000) Synthesis of subgenomic RNAs by positive strand RNA viruses, *Virology*, **273**, 1-8.
 55. Agranovsky, A. A., Koenig, R., Maiss, E., Boyko, V. P., Casper, R., and Atabekov, J. G. (1994) Expression of the beet yellows closterovirus capsid protein and p24, a capsid protein homologue, *in vitro* and *in vivo*, *J. Gen. Virol.*, **75**, 1431-1439.
 56. Karasev, A. V., Hilf, M. E., Garnsey, S. M., and Dawson, W. O. (1997) Transcriptional strategy of closteroviruses: mapping the 5' termini of the citrus tristeza virus subgenomic RNAs, *J. Virol.*, **71**, 6233-6236.
 57. Peremyslov, V. V., and Dolja, V. V. (2002) Identification of the subgenomic mRNAs that encode 6-kDa movement protein and Hsp70 homolog of beet yellows virus, *Virology*, **295**, 299-306.
 58. Vitushkina, M. V., Rogozin, I. B., Jelkmann, W., Koonin, E. V., and Agranovsky, A. A. (2007) Completion of the mapping of transcription start sites for the five-gene block subgenomic RNAs of beet yellows closterovirus and identification of putative subgenomic promoters, *Virus Res.*, **128**, 153-158.
 59. Cronshaw, J., Hoefert, L., and Esau, K. (1966) Ultrastructural features of beta leaves infected with beet yellows virus, *J. Cell. Biol.*, **31**, 429-443.
 60. Gushchin, V. A., Solovyev, A. G., Erokhina, T. N., Morozov, S. Y., and Agranovsky, A. A. (2013) Beet yellows virus replicase and replicative compartments: parallels with other RNA viruses, *Front. Microbiol.*, **4**, 38, doi: 10.3389/fmicb.2013.00038.
 61. Erokhina, T. N., Vitushkina, M. V., Zinovkin, R. A., Lesemann, D. E., Jelkmann, W., Koonin, E. V., and Agranovsky, A. A. (2001) Ultrastructural localisation and epitope mapping of beet yellows closterovirus methyltransferase-like and helicase-like proteins, *J. Gen. Virol.*, **82**, 1983-1994.
 62. Zinovkin, R. A., Erokhina, T. N., Lesemann, D. E., Jelkmann, W., and Agranovsky, A. A. (2003) Processing and subcellular localization of the leader papain-like proteinase of beet yellows closterovirus, *J. Gen. Virol.*, **84**, 2265-2270.
 63. Gushchin V. A., Karlin, D. G., Makhotenko, A. V., Khromov, A. V., Erokhina T. N., et al. (2017) A conserved region in the Closterovirus 1a polyprotein drives extensive remodeling of endoplasmic reticulum membranes and induces motile globules in *Nicotiana benthamiana* cells, *Virology*, **506**, 106-113, doi: 10.1016/j.virol.2016.12.006.
 64. Godeny, E. K., Chen, L., Kumar, S., Methven, S. L., Koonin, E. V., and Brinton, M. A. (1993) Complete genome sequence and phylogenetic analysis of the lactate dehydrogenase-elevating virus (LDV), *Virology*, **194**, 585-96.
 65. Simmonds, P. (2020) Rampant C/U hypermutation in the genomes of SARS-CoV-2 and other coronaviruses: causes and consequences for their short- and long-term evolutionary trajectories, *mSphere*, **5**, e00408-20, doi: 10.1128/mSphere.00408-20.
 66. Bentley, K., and Evans, D. J. (2018) Mechanisms and consequences of positive-strand RNA virus recombination, *J. Gen. Virol.*, **99**, 1345-1356, doi: 10.1099/jgv.0.001142.
 67. Zeng, Q., Langereis, M. A., van Vliet A. L., Huizinga, E. G., and de Groot, R. J. (2008) Structure of coronavirus hemagglutinin-esterase offers insight into corona and influenza virus evolution, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 9065-9069, doi: 10.1073/pnas.0800520105.
 68. Harper, S. J. (2013) Citrus tristeza virus: evolution of complex and varied genotypic groups, *Front. Microbiol.*, **4**, 9310, doi: 3389/fmicb.2013.00093.

**STRUCTURE AND EXPRESSION OF LARGE POSITIVE-SENSE
RNA GENOMES OF EUKARYOTIC VIRUSES****Mini-Review****A. A. Agranovsky***Department of Virology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
119234 Moscow, Russia; E-mail: etdonas2@gmail.com*

Viral positive-sense RNA genomes evolve rapidly due to the high mutation rates during replication and RNA recombination, which allowing the viruses to acquire and modify genes for their adaptation. The size of RNA genome is limited by several factors, including low fidelity of RNA polymerases and packaging constraints. However, the 12-kb size limit is exceeded in the two groups of eukaryotic (+)RNA viruses – animal nidoviruses and plant closteroviruses. These virus groups have several traits in common. Their genomes contain 5'-proximal genes that are expressed via ribosomal frameshifting and encode one or two papain-like protease domains, membrane-binding domain(s), methyltransferase, RNA helicase, and RNA polymerase. In addition, some nidoviruses (i.e., coronaviruses) contain replication-associated domains, such as proofreading exonuclease, putative primase, nucleotidyltransferase, and endonuclease. In both nidoviruses and closteroviruses, the 3'-terminal part of the genome contains genes for structural and accessory proteins expressed via a nested set of coterminal subgenomic RNAs. Coronaviruses and closteroviruses have evolved to form flexuous helically symmetrical nucleocapsids as a mean to resolve packaging constraints. Since phylogenetic reconstructions of the RNA polymerase domains indicate only a marginal relationship between the nidoviruses and closteroviruses, their similar properties likely have evolved convergently, along with the increase in the genome size.

Keywords: viral positive-sense RNA genomes, nidoviruses, SARS-CoV, closteroviruses, evolution, gene expression