

18. Felley-Bosco E, André M. Proteomics and chronic inflammatory bowel diseases. *Pathol Res Pract.* 2004;200(2), P.129-133
19. Gidekel M., Destefano-Beltran L., Garcia P., Fuentes L., Alberdi M., Bravo L., Corcuera L., Gutierrez A.; "Deschampsia antarctica a unique source of genes during cold acclimation."; Submitted (MAR-2002)
20. Jimenez C, Dang GT, Schultz PN, El-Naggar A, Shapiro S, Barnes EA, Evans DB, Vassilopoulou-Sellin R, Gagel RF, Cote GJ, Hoff AO. A novel point mutation of the RET protooncogene involving the second intracellular tyrosine kinase domain in a family with medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jul;89(7), P.3521-3526.
21. Reims HM, Fossum E, Hiegggen A, Moan A, Eide I, Kjeldsen SE. Adrenal medullary overactivity in lean, borderline hypertensive young men. *Am J Hypertens.* 2004 Jul;17(7), P.611-618.
22. Atomi H, Matsumi R, Imanaka T. Reverse gyrase is not a prerequisite for hyperthermophilic life. *J Bacteriol.* 2004 Jul;186(14), P.4829-4833.
23. Ohta M, Sugita M, Sugiura M. Three types of nuclear genes encoding chloroplast RNA-binding proteins (cp29, cp31 and cp33) are present in *Arabidopsis thaliana*: presence of cp31 in chloroplasts and its homologue in nuclei/cytoplasm. *Plant Mol Biol.* 1995 Feb; 27(3), P.529-539,
24. Iles MM, Cannings C. Sequential genotyping within TDT families. *Math Med Biol.* 2004 Jun;21(2), P.115-127.
25. Chung HT, Ma R, Toyota B, Clark B, Robar J, McKenzie M. Audiologic and treatment outcomes after linear accelerator-based stereotactic irradiation for acoustic neuroma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Jul 15; 59(4), P.1116-1121.
26. Spadaro SE, Luciano WJ, Jennings DE. DENCOT trains EFDA's. *Dent Assist.* 2004 May-Jun; 73(3), P.30-32.
27. Bauer KP, Dom PM, Ramirez AM, O'Flaherty JE. Preoperative intravenous midazolam: benefits beyond anxiolysis. *J Clin Anesth.* 2004 May; 16(3), P.177-183.

Резюме

В работе сделан обзор и проведена систематизация последовательностей *Deschampsia antarctica* представленных в базах данных, доступных для общего использования. Проведён поиск гомологичных последовательностей в протеомах *Arabidopsis thaliana* и *Oryza sativa japonica*. На основании проведённого анализа предсказаны функции для 4 потенциальных продуктов генома *Deschampsia antarctica*.

У роботі приведені результати огляду та систематизації послідовностей *Deschampsia antarctica*, які присутні у базах даних, доступних для загального користування. Також представлені результати пошуку гомологічних послідовностей в протеомах *Arabidopsis thaliana* і *Oryza sativa japonica*. На підставі проведеного аналізу передбачені функції для 4 потенційних продуктів генома *Deschampsia antarctica*.

The results of an analysis sequences of *Deschampsia antarctica* from available databases are presented together with the results of the search of homologous sequences in proteomes of *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa japonica*. We predicted the function of 4 potential products of the genome of *Deschampsia antarctica* on the basis of our analysis.

ПІДПАЛА О.В., ЯЦИШИНА А.П., ЛУКАШ Л.Л.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,

Україна, 03680, Київ, вул.Заболотного, 150, e-mail:specrada@imbg.org.ua

ДО ПИТАННЯ ПРО ПОХОДЖЕННЯ ВІРОЇДІВ

Віроїди – низькомолекулярні одноланцюгові кільцеві РНК, які є патогенами вищих рослин [1]. Їх вважають найпростішою формою життя. Вони не кодують білки, а їхня реплікація здійснюється клітинними ферментами. Віроїди належать до двох родин – *Pospiviroidae*, які реплікуються у ядрі за асиметричним механізмом кільця, що котиться та мають форму палички і *Ausunviroidae*, які розмножуються у хлоропластах, використовуючи симетричний механізм кільця, що котиться і набувають розгалуженої чи паличкоподібної форми [2-5].

У вивченні віроїдів багато не з'ясованого. Це стосується і механізмів реплікації та патогенезу, і походження. Найпоширенішою є гіпотеза “інтрону-втікача”, коли вирізані під час сплайсингу несмислові ділянки мРНК можуть випадково набувати здатності до реплікації [6-8]. Розглядають можливість походження віроїдів від мобільних генетичних елементів (МГЕ), які втратили кодуючі ділянки [9]. Також висловлюють припущення, що віроїди можуть еволюціонувати від прокариотної РНК при зараженні рослин бактеріями [3]. Проте, досліджуючи схожість нуклеотидних послідовностей віроїдів із різними організмами (від бактерій до ссавців), не виявлено суттєвої гомології, тому автори дослідження піддали сумніву всі існуючі на сьогодні гіпотези [10].

Серед гіпотез про походження віроїдів не розглядається зв'язок із бактеріальними IS-елементами. Хоча відомо: за механізмом кільця, що котиться, реплікуються бактеріальні IS-елементи (IS91) та пов'язані із ними філогенетично елементи типу Helitron (окремий клас серед ДНК-транспозонів еукаріотів) та гемінівіруси. Існує думка, що елементи типу Helitron дали початок рослинним вірусам [11]. Схожість із бактеріальними IS-елементами (IS630) простежують і для MITE (Miniature inverted repeat transposable element) - МГЕ, які широко розповсюджені у рослинах [12]. Тому метою нашої роботи було з'ясувати, чи мають віроїди гомологію із бактеріальними IS-елементами.

Матеріали і методи

Нуклеотидні послідовності 38 відомих на сьогодні віроїдів та основну інформацію про них взято із бази даних GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) та Subviral RNA Database (<http://subviral.med.uottawa.ca/cgi-bin/home.cgi>) [13] (табл.1). Гомологію із бактеріальними IS-елементами визначали, користуючись ISfinder (www.is.biotoul.fr) [14]. Пошуки гомології із еукаріотними МГЕ здійснювали за програмою CENSOR (<http://www.girinst.org/censor/index.php>) [15]. Функціональні сайти визначали користуючись програмою TFSEARCH: Searching Transcription Factor Binding Sites (ver 1.3) (<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>). Інформацію про нуклеотидні послідовності хлоропластних ДНК взято із бази даних Chloroplast Genome Database (ChloroplastDB) (<http://chloroplast.cbio.psu.edu/cgi-bin/organism.cgi>) [16].

Результати та обговорення

Аналізуючи віроїдні послідовності виявлено, що всі вони містять фрагменти бактеріальних IS-елементів (рис.1). У переважній більшості віроїдів вони становлять 20-60 % від загальної довжини, незалежно від родової приналежності. Винятком є віроїд хлоротичної крапчатості хризантем (*CChMVd*), геном якого містить найменшу кількість нуклеотидних послідовностей, які виявляють часткову гомологію із бактеріальними IS-елементами. Для представників родини *Pospiviroidae*, які належать до родів *Pospiviroid* (у 5 із 8), *Apscaviroid* і *Coleviroid*, показано наявність маркерних IS-фрагментів, що зустрічаються винятково у межах роду (табл.2). У єдиного представника роду *Hostuviroid* (*HSVd*) виявлено фрагмент ISSc1, але з іншими координатами. Три представники роду *Cocadviroid* (*CCCVd*, *CtiVd*, *HLVd*) не мають спільних маркерних IS-фрагментів ні між собою, ні з іншими представниками родини

Pospiviroidae. Не виявлено маркерних IS-фрагментів і у нечисленних віроїдів родини Avsunviroidae: Avsunviroid (*ASBVd*); Pelamoviroid (*CChMVd*, *PLMVd*); Elaviroid (*ELVd*).

Таблиця 1

Перелік та основна інформація про віроїди

Номер, n	Повна назва	Скорочення	Реєстраційний номер у GenBank	Розміри, у нуклеотидах
1	<i>Apple dimple fruit viroid</i>	<i>ADFVd</i>	NC_003463	306
2	<i>Apple fruit crinkle viroid</i>	<i>AFCVd</i>	NC_003777	371
3	<i>Apple scar skin viroid</i>	<i>ASSVd</i>	NC_001340	329
4	<i>Australian grapevine viroid</i>	<i>AGVd</i>	NC_003553	369
5	<i>Avocado sunblotch viroid</i>	<i>ASBVd</i>	NC_001410	247
6	<i>Chrysanthemum chlorotic mottle viroid</i>	<i>CChMVd</i>	NC_003540	399
7	<i>Chrysanthemum stunt viroid</i>	<i>CSVd</i>	NC_002015	356
8	<i>Citrus bent leaf viroid</i>	<i>CBLVd</i>	NC_001651	315
9	<i>Citrus dwarf viroid</i>	<i>CDVd</i>	NC_005821	294
10	<i>Citrus exocortis viroid</i>	<i>CEVd</i>	NC_001464	317
11	<i>Citrus viroid II</i>	<i>CVd-II</i>	NC_003881	299
12	<i>Citrus viroid III</i>	<i>CVd-III</i>	NC_003264	292
13	<i>Citrus viroid IV</i>	<i>CVd-IV</i>	NC_003539	284
14	<i>Citrus viroid Ia</i>	<i>CVd-Ia</i>	NC_001907	326
15	<i>Citrus viroid OS</i>	<i>CVd-OS</i>	NC_004359	330
16	<i>Citrus viroid -I-LSS</i>	<i>CVd-LSS</i>	NC_004358	327
17	<i>Citrus viroid V</i>	<i>CVd-V</i>	NC_010165	294
18	<i>Coconut cadang-cadang viroid</i>	<i>CCCVd</i>	NC_001462	246
19	<i>Cocotun tinangaja viroid</i>	<i>CtiVd</i>	NC_001471	254
20	<i>Coleus blumei viroid</i>	<i>CbVd</i>	NC_003882	295
21	<i>Coleus blumei viroid 1</i>	<i>CbVd-1</i>	NC_003681	248
22	<i>Coleus blumei viroid 2</i>	<i>CbVd-2</i>	NC_003682	301
23	<i>Coleus blumei viroid 3</i>	<i>CbVd-3</i>	NC_003683	364
24	<i>Columnea latent viroid</i>	<i>CLVd</i>	NC_003538	370
25	<i>Eggplant latent viroid</i>	<i>ELVd</i>	NC_004728	335
26	<i>Grapevine yellow speckle viroid 1</i>	<i>GYSVd-1</i>	NC_001920	366
27	<i>Grapevine yellow speckle viroid 2</i>	<i>GYSVd-2</i>	NC_003612	362
28	<i>Hop latent viroid</i>	<i>HLVd</i>	NC_003611	256
29	<i>Hop stunt viroid</i>	<i>HSVd</i>	NC_001351	302
30	<i>Iresine viroid</i>	<i>IrVd</i>	NC_003613	370
31	<i>Mexican papita viroid</i>	<i>MPVd</i>	NC_003637	360
32	<i>Peach latent mosaic viroid</i>	<i>PLMVd</i>	NC_003636	337
33	<i>Pear blister canker viroid</i>	<i>PBCVd</i>	NC_001830	315
34	<i>Persimmon viroid</i>	<i>PrVd</i>	NC-010308	396
35	<i>Potato spindle tuber viroid</i>	<i>PSTVd</i>	NC_002030	359
36	<i>Tomato apical stunt viroid</i>	<i>TASVd</i>	NC_001553	360
37	<i>Tomato chlorotic dwarf viroid</i>	<i>TCDVd</i>	NC_000885	360
38	<i>Tomato planta macho viroid</i>	<i>TPMVd</i>	NC_001558	360

Для віроїдів ідентифікація і класифікація ґрунтується не на структурно-функціональних характеристиках як у вірусів, а на аналізі їхніх нуклеотидних послідовностей. Та все ж 6 віроїдів лишаються на сьогодні не класифікованими. Для них шукали маркерні IS-фрагменти або ж гомологію за фрагментами бактеріальних IS-елементів. У трьох не класифікованих віроїдів (*AFCVd*, *CVd-OS*, *CVd-LSS*) знайдено маркерний IS-фрагмент (ISHma6), спільний для представників роду *Arscaviroid*. У не класифікованого віроїду *CDVd* виявлено не лише маркерний для *Arscaviroid* IS-фрагмент (ISHma6), але і значну гомологію до фрагментів бактеріальних IS-елементів

одного із представників зазначеного роду *CVd-III* (рис.2а). Значну гомологію між фрагментами бактеріальних IS-елементів виявлено і між неklasифікованим віроїдом *CVd-II* і єдиним представником роду *Hostuviroid (HSVd)* (рис.2б). Застосовуючи цей підхід до неklasифікованого віроїду *TCDVd*, знайдено часткову гомологію між ним і п'ятьма представниками роду *Pospiviroid*, що узгоджується із даними про їхній еволюційний зв'язок [17]. Для віроїду *CVd-Ia*, якого зараховують до *ASSV* групи [18], виявлено значну гомологію із представником цього ж роду, віроїдом *CBLVd*. Віроїд *CVd-IV* вважають продуктом рекомбінації між віроїдами *CEVd* і *HSVd* [19], але спільних фрагментів бактеріальних IS-елементів у них не знайдено.

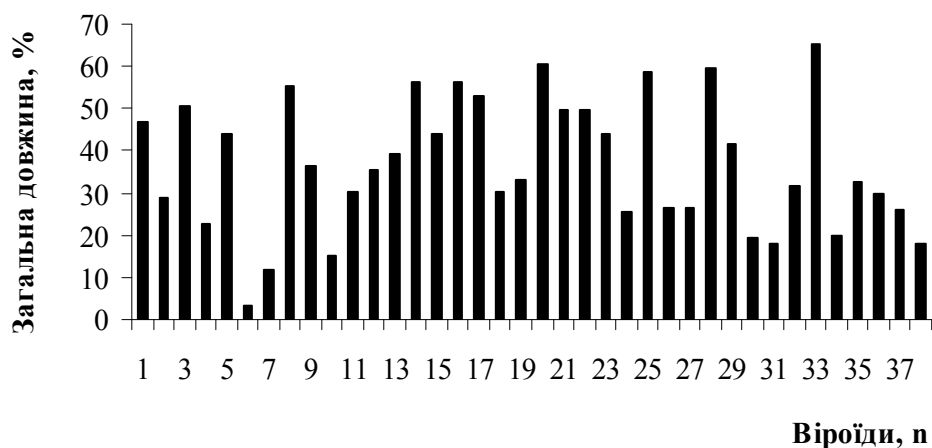


Рис. 1. Фрагменти бактеріальних IS-елементів у віроїдах

Таблиця 2

Маркерні IS-фрагменти для різних родів віроїдів родини Pospiviroidae

Родина	Рід	Вид	Фрагменти бактеріальних IS-елементів								
			ISSc1	ISHmab	ISRt1	IS406	IS1081	IS1512	IS1408	IS1407	IS1395
Pospiviroidae	Pospiviroid	<i>CEVd</i>	+								
		<i>CLVd</i>	+								
		<i>MPVd</i>	+								
		<i>PSTVd</i>	+								
		<i>TPMVd</i>	+								
	Apscaviroid	<i>ALFVd</i>			+						
		<i>ASSVd</i>			+						
		<i>AGVd</i>			+						
		<i>CBLVd</i>			+						
		<i>CVd-III</i>			+						
		<i>CVd-V</i>			+						
		<i>GYSVd-1</i>			+						
		<i>GYSVd-2</i>			+						
		<i>PBCVd</i>			+						
	Coleviroid	<i>CbVd</i>				+	+	+	+	+	+
		<i>CbVd-1</i>				+	+	+	+	+	+
		<i>CbVd-2</i>				+	+	+	+	+	+
		<i>CbVd-3</i>				+	+	+	+	+	+

Паралельно із пошуками гомології до бактеріальних IS-елементів, віроїди аналізували на гомологію із еукаріотними МГЕ, але ні для жодного віроїду її не виявили. Таким чином, на основі одержаних результатів, можна зробити висновок про

прокаріотне походження віроїдів, а саме: про залучення до цього процесу продуктів деградації бактеріальних IS-елементів (внаслідок рекомбінації між ними).

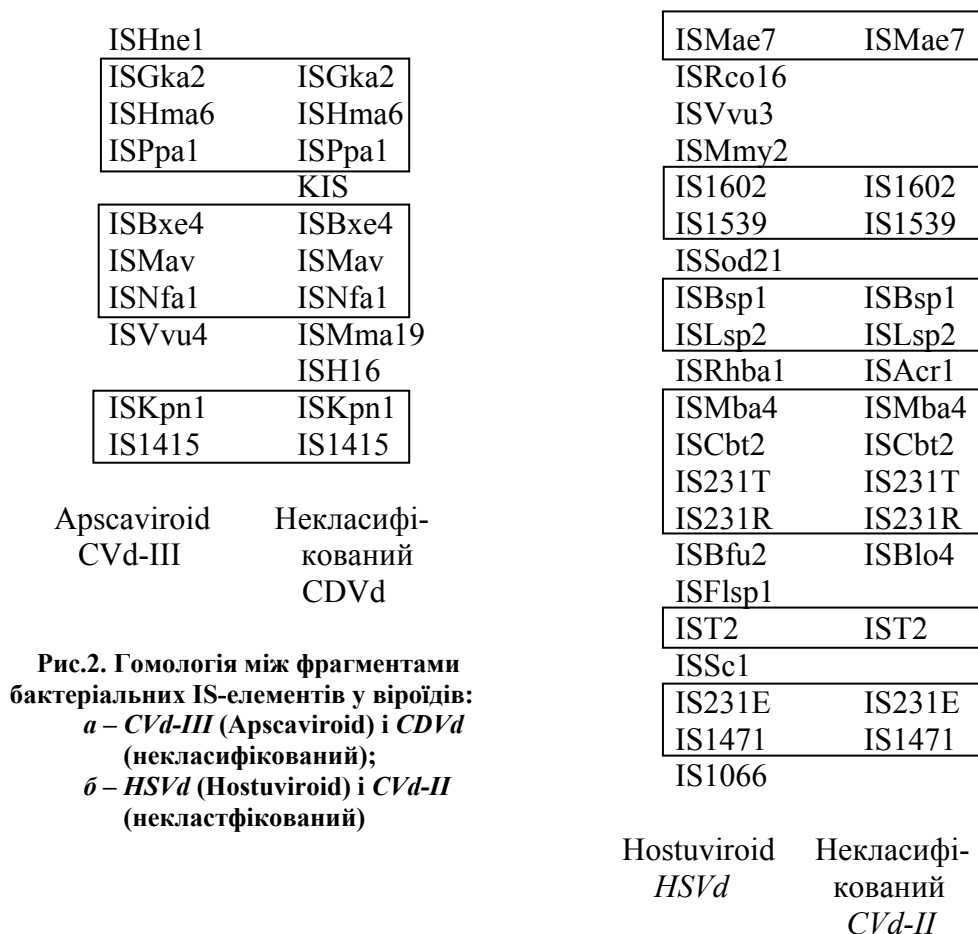


Рис.2. Гомологія між фрагментами бактеріальних IS-елементів у віроїдів:
a – CVd-III (Арскавіроїд) і CDVd (некласифікований);
б – HSVd (Hostuviroid) і CVd-II (некласифікований)

Зважаючи на те, що віроїди знайдено лише у рослинах і враховуючи бактеріальне походження хлоропластів, шукали маркерні IS-фрагменти серед інтронних послідовностей, генів рРНК і тРНК хлДНК у одного із представників цитрусових (*Citrus sinensis*), які є основними рослинами-господарями для 10 віроїдів. Натомість, у інтронних послідовностях хлДНК виявили сайти зв'язування для Р активатора біосинтезу флавоноїдних генів. Такі ж функціональні сайти було знайдено і у 20 із 38 віроїдів. Оскільки флавоноїди виконують захисні функції, забезпечуючи рослини від різноманітних несприятливих зовнішніх чинників [20], можна припустити, що віроїди супресуючи біосинтез флавоноїдних генів, знижують імунітет рослин.

Висновки

Виявлено, що до утворення віроїдів залучені фрагменти бактеріальних IS-елементів і, можливо, фрагменти інтронних послідовностей хлДНК. Показано, що фрагменти бактеріальних IS-елементів можуть бути інформативними при класифікації віроїдів та як філогенетичні маркери. Очевидно, віроїди мають поліфілетичне, а не монофілетичне походження, як прийнято вважати дотепер.

Література

1. Diener T.O. Subviral pathogens of plants: viroids and viroidlike satellite RNAs // FASEB J. - 1991.- vol. 5, № 13.- P. 2808-2813.
2. Diener T.O. Discovering viroids - a personal perspective // Nat. Rev. Microbiol.- 2003.- vol. 1, № 1.- P. 75-80.
3. Góra-Sochacka A. Viroids: unusual small pathogenic RNAs // Acta Biochim. Pol.- 2004.- vol. 51, № 3.- P. 587-607.
4. Tabler M., Tsagris M. Viroids: petite RNA pathogens with distinguished talents // Trends Plant Sci.- 2004.- vol. 9, № 7.- P. 339-348.

5. *Daròs J.A., Elena S.F., Flores R.* Viroids: an Ariadne's thread into the RNA labyrinth // EMBO Rep.- 2006.- vol. 7, № 6.- P. 593-598.
6. *Diener T.O.* Are viroids escaped introns? // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1981.- vol. 78, № 8.- P. 5014-5015.
7. *Collmer C.W., Hadidi A., Kaper J.M.* Nucleotide sequence of the satellite of peanut stunt virus reveals structural homologies with viroids and certain nuclear and mitochondrial introns // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1985.- vol. 82, № 10.- P. 3110-3114.
8. *Dinter-Gottlieb G.* Viroids and virusoids are related to group I introns // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1986.- vol. 83, № 17.- P. 6250-6254.
9. *Kiefer M.C., Owens R.A., Diener T.O.* Structural similarities between viroids and transposable genetic elements // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1983.- vol.80, №20.- P. 6234-6238.
10. *Trivedi S., Shekhawat G., Purohit S.* Analysis of similarities between viroid, prokaryote and eukaryote genome to revisit theories of origin of viroids // J. Cell and Mol. Biol.- 2007.- vol. 6, № 1.- P. 9-18.
11. *Kapitonov V.V., Jurka J.* Rolling-circle transposons in eukaryotes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 2001.- vol. 98, № 15.- P. 8714-8719.
12. *Feschotte C., Zhang X., Wessler S.* Miniature inverted-repeat transposable elements and their relationship to established DNA transposons / Mobile DNA II // Ed. Craig N.L., Craigie R., Gellert M., Lambowitz A.M. Washington DC: ASM Press, 2002.- P. 1147-1158.
13. *Rocheleau L., Pelchat M.* The Subviral RNA Database: a toolbox for viroids, the hepatitis delta virus and satellite RNAs research // BMC Microbiol.- 2006.- vol. 6.- P. 24.
14. *Siguiet P., Perochon J., Lestrade L., Mahillon J., Chandler M.* ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences // Nucleic Acids Research.- 2006, vol.34.- D32-36.
15. *Kohany O., Gentles A.J., Hankus L., Jurka J.* Annotation, submission and screening of repetitive elements in Repbase: RepbaseSubmitter and Censor // BMC Bioinformatics.- 2006.- vol. 7.- P. 474.
16. *Cui L., Veeraraghavan N., Richter A., Wall K., Jansen R.K., Leebens-Mack J., Makalowska I., dePamphilis C.W.* ChloroplastDB: the Chloroplast Genome Database // Nucleic Acids Res.- 2006.- vol. 34.- D692-696.
17. *Singh R.P., Nie X., Singh M.* Tomato chlorotic dwarf viroid: an evolutionary link in the origin of pospiviroids // J. Gen. Virol.- 1999.- vol. 80, № 11.- P. 2823-2828.
18. *Foissac X., Duran-Vila N.* Characterisation of two citrus apscaviroids isolated in Spain // Arch. Virol.- 2000.- vol.145, № 9.- P.1975-1983.
19. *Puchta H., Ramm K., Luckinger R., Hadas R., Bar-Joseph M., Snger, H.L.* Primary and secondary structure of citrus viroid IV (CVd IV), a new chimeric viroid present in dwarfed grapefruit in Israel // Nucleic Acids Res.- 1991.- vol.19, № 23.- P. 6640.
20. *The Science of Flavonoids* / Ed. Grotewold E. Springer, 2006.- 274 p.

Резюме

Обнаружено, что в образовании вироидов могут принимать участие фрагменты бактериальных IS-элементов и, возможно, фрагменты интронных последовательностей хлДНК. Показано, что фрагменты бактериальных IS-элементов могут быть информативными при классификации вироидов и как филогенетические маркеры. Возможно, вироиды имеют полифилетическое, а не монофилетическое происхождение.

Fragments of bacterial IS-elements and probably fragments of intron sequences of chloroplast DNA have been shown to form viroids. Fragments of bacterial IS-elements have been shown to be informative for viroid classification and phylogenetic markers. Probably the viroids are of polyphyletic origin.