

ПОИСК ГЕНОВ микроРНК В АНТИПАРАЛЛЕЛЬНЫХ ЦЕПЯХ УЧАСТКОВ ГЕНОМА ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА *Autographa californica*, ВКЛЮЧАЮЩИХ САМЫЕ ПОЗДНИЕ И КОМПЛЕМЕНТАРНЫЕ ГЕНЫ

Т. В. ШИРИНА, М. Т. БОБРОВСКАЯ, Э. А. КОЗЛОВ

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев;
e-mail: e.a.kozlov@imbg.org.ua

Биоинформативным методом путем анализа вторичной структуры альтернативных транскриптов показано, что ген *ph* вируса ядерного полиэдроза *Autographa californica* кодирует две зрелые микроРНК и три потенциальные микроРНК. Комплементарный к гену *ph* ген *orf1629* не кодирует ни зрелых микроРНК, ни потенциальных микроРНК. Ген *p10* кодирует зрелую микроРНК и потенциальную. Локализованный на комплементарной цепи ген *p74* кодирует три зрелых микроРНК.

Ключевые слова: вирус ядерного полиэдроза, *Autographa californica*, биоинформативный метод, микроРНК.

МикроРНК (microRNA, miRNA) – малые некодирующие РНК длиной в среднем 18–22 нуклеотида. MiRNAs кодируются собственными генами, а также могут быть закодированы в интронных или экзонных участках мРНК. MiRNAs регулируют экспрессию генов, специфически связываясь с 3'-UTR мРНК в процессе трансляции, запуская механизм репрессии трансляции или деградации мРНК [1]. Они играют важную роль в различных биологических процессах, включая дифференциацию, рост клеток, развитие, апоптоз [2]. Кроме того, установлено их участие в развитии различных болезней, включая рак [3]. Показано, что дерегуляция синтеза miRNA приводит к перерождению здоровой клетки в раковую [4].

MiRNAs синтезируются РНК-полимеразой II как большие первичные транскрипты (primary miRNAs, pri-miRNAs) длиной от нескольких сотен до нескольких тысяч нуклеотидов. Однако в некоторых случаях они транскрибируются и РНК-полимеразой III [5]. Pri-miRNAs процессируются энзимом Drosha в ядре до предшественников (precursor miRNAs, pre-miRNAs) длиной 70–80 нуклеотидов. Pre-miRNAs экспортируются в цитоплазму, где процессируются энзимом Dicer до зрелых miRNAs [6].

MiRNAs закодированы не только в геномах эукариот, но и в геномах крупных ДНК-содержащих вирусов, геномы которых способны встраиваться в геном хозяев [7]. К таким вирусам относятся вирусы ядерного полиэдро-

за (ВЯП) насекомых. Идентификация miRNAs осуществляется двумя параллельными подходами – биоинформативным и биохимическим [8,9]. Биохимический подход обычно используется для верификации результатов биоинформативного поиска генов miRNAs. Существует несколько компьютерных программ прогнозирования miRNAs [10–13], в основе которых лежит поиск шпичечно-петлевых структур (stem-loop structures, sls) на участках генома длиной 100 нуклеотидов со сдвигом этого участка на 3–5 нуклеотидов. Ранее мы предприняли поиск генов miRNAs в участках генома ВЯП *Bombyx mori*, содержащих самые поздние гены *ph* и *p10* [14]. Мы полагали, что поиск miR логичнее начинать с поиска pri-miRNA, т.к. *in vivo* sls процессируются из pri-miRNAs. Чтобы убедиться в достоверности такого биоинформативного метода, был применен разработанный нами алгоритм поиска miRNAs в участках генома ВЯП *Autographa californica*, содержащих гены *ph* и *p10* и комплементарные к ним гены *orf1629* и *p74* соответственно. У ВЯП *A. californica* показано, что с началом синтеза полиэдрина прекращается синтез с антипараллельного участка транскрипта длиной 3,2 килобаз (3,2kb-транскрипт) и происходит его расщепление [15]. Мы полагаем, что это явление можно объяснить синтезом закодированных в участках генома miRNAs, комплементарных к 3,2kb-транскрипту. С этой целью, а также для проверки степени консервативности miRNAs, закодированных в одних и тех же участках, был использован биоинформативный метод

для открытия miRNAs в участках генома ВЯП *A. californica* и ВЯП *B. mori*, содержащих гены *ph* и *p10* и комплементарные к ним гены *orf1629* и *p74* соответственно. В настоящем сообщении представлены результаты такого поиска.

Материалы и методы

Нуклеотидная последовательность генома ВЯП *A. californica* была взята из ICTVdB Management (2006). 00.006.0.01. Nucleopolyhedrovirus. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 4. Columbia University, New York, USA (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/00.006.0.01.htm>) [16]. Поиск miRNAs осуществляли с помощью разработанного нами алгоритма [14] с применением биоинформативных программ RNAfold, Microprocessor SVM, miPred, miRNA SVM, miRscan [10–13]. На первом этапе мы отметили все TATA и полиТ последовательности в выбранном районе генома. На втором этапе с помощью программы RNAfold проанализировали вторичную структуру всех предполагаемых альтернативных (alternate) транскриптов (alts), синтезируемых от TATA-промотора до полиТ последовательности, определяя в найденных alts координаты всех sls длиной от 50 до 150 нуклеотидов. На третьем этапе с помощью программы Microprocessor SVM отобрали те sls, которые являются субстратами для энзима Droscha (значение фильтра – score > - 0,55). На четвертом этапе с помощью программы miPred из sls-субстратов выбрали те, которые прошли оба фильтра программы («real» и «pseudo»). На пятом этапе из реальных и псевдо шпилек с помощью программы RNAfold отобрали шпильки со свободной энергией < - 23,0 ккал/моль. На шестом этапе с помощью программы miRNA SVM из шпилек, прошедших все предыдущие фильтры, мы отобрали те, которые являются субстратами для энзима Dicer (score > -0,55). И на заключительном этапе с помощью программы miRscan определяли локализацию зрелой miRNA в выбранных предшественниках.

Результаты и обсуждение

Большинство pri-miRNAs транскрибируются из межгенного пространства. На сегодняшний день неизвестны промоторы и терминирующие последовательности для синтеза pri-miRNAs. Исходя из этого, можно было бы выбрать любую последовательность из нескольких нуклеотидов в качестве начала и конца транскриптов. Мы решили при выборе начала и конца pri-miRNA следовать логи-

ке функциональных последовательностей – TATA-бокс (промоторный элемент) и полиТ (терминирующая последовательность для РНК-полимеразы бакуловирусов). Благодаря такому выбору, можно проанализировать десятки возможных pri-miRNAs на сравнительно небольшом участке генома.

Характерной особенностью генома бакуловирусов является то, что кодирующие гены расположены на обеих цепях ДНК. За смысловую цепь ДНК принимается та, которая кодирует полиэдрин. Транскрипты, синтезируемые с комплементарной цепи, называются анти-смысловыми [15].

Для поиска генов miRNAs было выбрано два участка. На участке 1, комплементарном гену *ph*, синтезируются два транскрипта – ~3,2kb-транскрипт [15] и ~2,4kb-транскрипт [17]. Границы участка 1 определяются 5'-концом ~2,4kb-транскрипта и 3'-концом ~3,2kb-транскрипта. Известно, что у ВЯП бакуловирусов мРНК полиэдрина синтезируется вирусной РНК-полимеразой от ТААГ-промотора до полиТ последовательности [18]. От позднего ТААГ-промотора *orf p10*, расположенного на смысловой цепи участка 2, синтезируются два транскрипта величиной ~0,6 и ~2,4 kb [17]. От TATA-промотора *orf p74*, расположенного на антисмысловой цепи комплементарной к транскрипту ~2,4 kb синтезируется транскрипт длиной ~2,7 kb [17]. Границы избранного нами участка 2 определяются 3'- и 5'-концами 2,7kb-транскрипта. Расположение участка 1 в геноме ВЯП *A. californica* – 3727–7300 [17], участка 2 – 118452–121201. Если за точку отсчета принять нуклеотид А в AUG кодонах *orf ph* и *orf p10*, то исследуемые участки 1 и 2 записываются соответственно в системе координат: 793–2831 и 389–2364.

Для поиска pri-miRNAs были приняты последовательности от TATA-промотора до полиТ за условные alts. Также были проанализированы транскрипты, синтезируемые от ТААГ-промотора.

На смысловой цепи участка 1 расположено 17 TATA-промоторов и 36 полиТ. С помощью программы RNAfold проанализирована вторичная структура 314 условно обработанных alts, которые включают 24 уникальных sls, но только две из них процессируются до зрелых miRNAs (sls7ph, sls20ph) и три до потенциальных (candidate, C) предшественников miRNAs – pre-miR-C (sls17ph, sls21ph, sls23ph). В название sls и далее в miRNA кроме номера входит наименование гена, с которого транскрибируется pri-miRNA. Необходимо

отметить, что некоторые *sls* обнаруживаются в единственном *alt*, а некоторые — в десятках. Так, например, *sls7ph* обнаруживается в двух *alts*, *sls20ph* — в восьми, *sls17ph* — в трех, *sls21ph* — в 25, *sls23ph* — в 79 *alts*. Некоторые *alts* могут образовывать по 2–3 уникальные *sls*, а некоторые единственную уникальную *sls*. За условную *pri-miRNA* мы принимали такой *alt*, который содержал одну уникальную *sls*.

На антисмысловой цепи участка 1 расположено 17 ТАТА-промоторов и 37 полиТ. Проанализирована вторичная структура 217 *alts*, которые содержат 8 уникальных *sls*, из них ни одна не процессируется в зрелую или в *pre-miR-C*.

На смысловой цепи участка 2 расположено 9 ТАТА-промоторов и 15 полиТ. Проанализирована вторичная структура 79 *alts*, которые включают 9 уникальных *sls*, но только одна процессируется до зрелой *miRNA* (*sls3p10*) и одна до *pre-miR-C* (*sls9p10*). *Sls3p10* обнаруживается в 21 *alts*, а *sls9p10* — в 12 *alts*. На антисмысловой цепи участка 2 расположено 11 ТАТА-промоторов и 17 полиТ. Проанализирована вторичная структура 113 *alts*. Они содержат 9 уникальных *sls*, из которых три процессируются до зрелых *miRNA* (*sls4p74*, *sls5p74*, *sls6p74*). *Sls4p74* обнаруживается в 89 *alts*, *sls5p74* — в единственном *alt*, который содержит еще две уникальные *sls*. *Sls6p74* обнаруживается в 58 *alts*. Всего было исследовано 723 *alts* и 50 *sls*. В результате было сделано предположение, что два участка, включающие самые поздние гены, кодируют шесть зрелых *miRNAs* и четыре потенциальных — *pre-miR-Cs*.

В предыдущем сообщении [14] были описаны характеристики всех исследованных нами уникальных *sls*. В этой работе мы приводим характеристики только тех уникальных *sls*, которые процессируются либо до зрелых *miRNAs*, либо до потенциальных *miRNAs* — *pre-miR-C* (табл. 1). В табл. 2 приведены нуклеотидные последовательности зрелых и потенциальных *miRNAs*. На рис. 1 приведены изображения *sls*, процессируемых до зрелых *miRNAs*, а на рис. 2 — до потенциальных.

На основании анализа вторичных структур предполагаемых *pri-miRNAs* были найдены зрелые *miRNAs* и их предшественники, которые являются истинными с достоверностью более 90%. К этому выводу мы пришли, анализируя работу американских исследователей [19]. С помощью произвольно выбранной *pri-miRNAs* длиной 500 нуклеотидов авторы проверили известные *miRNAs* и подтвердили таким способом открытие *bona fide miRNAs*

с точностью 90%. Однако, как показано в настоящем сообщении, при использовании предложенного нами алгоритма возможны альтернативные *pri-miRNAs*, которые могут содержать исследуемую шпильку. В этом смысле предложенный нами алгоритм поиска генов *miRNA* позволяет предсказать исчерпывающее количество *pri-miRNAs*, транскрибируемых с исследуемого участка генома. Мы полагаем, что предложенный нами метод идентификации истинных *miRNAs* путем анализа вторичной структуры альтернативных *pri-miRNAs* не требует обязательного подтверждения трудоемким и дорогостоящим экспериментальным методом клонирования и секвенирования малых РНК.

Мы попытались также найти *miRNAs* в избранных участках генома с помощью программы *miRBase* [20]. Из множества найденных последовательностей, гомологичных известным *miRNAs*, были отобраны только те, которые отличаются не более чем на четыре нуклеотида. Результаты этого поиска приведены на рис. 3. Последовательности, выделенные красным шрифтом, вписываются в *sls*, найденные с помощью программы *RNAfold* на участках 1 и 2 генома. Поиск *sls* на этих участках осуществляли с помощью окна длиной 100 нуклеотидов со сдвигом в 5 нуклеотидов. Последовательность 1896–1895 вписывается в найденную нами *sls9p10* (рис. 2). Однако *sls9p10* не процессируется энзимом *Dicer*. Две другие *sls*, обозначенные на рис. 3 красным шрифтом, не образуются ни в одном из исследованных *alts*, включающих найденные в них последовательности. Для оставшихся трех последовательностей шпильчно-петлевые структуры не образуются на участках длиной 60–100 нуклеотидов, включающих эти последовательности. Таким образом, с помощью программы *miRBase* удалось подтвердить только потенциальную *pre-miR-4Cp10*, найденную с помощью предложенного нами алгоритма поиска *miRNAs*.

На рис. 4 и 5 приведены схемы расположения *miRNAs* и *pre-miR-Cs* на участках 1 и 2 соответственно генома ВЯП *A. californica* и в предсказанных *pri-miRNAs*, синтезируемых с этих участков. Если сравнить с результатами аналогичного поиска у ВЯП *B. mori* [14], то можно отметить принципиальное сходство. У обоих вирусов смысловая цепь кодирует по две *miRNAs* в *orf ph* и одну *miRNA* в *orf p10*. *Pre-miR-Cs* расположены в пространстве между генами. Разница только в количестве: ВЯП *A. californica* кодирует три *pre-miR-Cs* на участке 1, в то время как ВЯП *B. mori* — одну. На

Таблиця 1. Характеристики обнаруженных в *pri-miR* шпильчно-петлевых структур (sls), процессируемых в зрелые *miR* или в их *pre-miR-C* *

Sls*	Локализация <i>pri-miRNA</i>	Старт sls	Длина sls, нт	Drosha	Real	E, -kcal/mol	Dicer
1	2	3	4	5	6	7	8
7ph	-458-883	424	70	-0,109	pseudo	25,2	0,391
20ph	839-2135	1445	73	0,084	pseudo	24,7	-0,389
3p10	-30-320	59	81	0,263	+	31,3	-0,305
4p74	2133-874	1940	91	0,076	+	44,1	0,467
5p74	2133-874	1054	88	0,041	pseudo	32,6	0,286
6p74	2133-874	962	80	-0,055	+	27,4	-0,138
17ph	-203-1278	1153	87	-0,15	pseudo	24,7	-0,716
21ph	839-2135	1555	72	-0,337	+	29,5	0,553
23ph	839-2135	1710	72	-0,042	+	30,7	-0,877
9p10	1200-2330	1848	104	-0,248	pseudo	47,3	-0,781

* Sls обнаружены в двух участках генома, включающих ген *ph* (участок 1) и ген *p10* и комплементарный к нему ген *p74* (участок 2). Жирным шрифтом выделены sls, проходящие фильтры всех программ и процессируемые до зрелых *miR*. Фильтры программ (колонки 5–8) указаны в разделе «Материалы и методы»

Таблиця 2. Нуклеотидные последовательности *miR* и *pre-miR*, закодированных в двух участках генома ВЯП *A. californica*

Участок	<i>miRNA</i> , <i>pre-miRNA</i>	5'–3'-последовательность	Цепь	Локализация в геноме
1	<i>acaNPV-miR-1ph</i>	UCGAGCCUUCAUGGGUGGGCA	+	4986-5006
1	- <i>miR-2ph</i>	UGGUGGAGCUGAUGAUAAUC	+	6007-6027
2	- <i>miR-3p10</i>	CAGCUUUUGGACGGUUUGCCC	+	118944-118964
2	- <i>miR-4p74</i>	AGGGCGGCGGCCAUGCGUGAA	–	120733-120713
2	- <i>miR-5p74</i>	UAGUGCACUCGCUCAACGUGA	–	119844-119824
2	- <i>miR-6p74</i>	UCGAAUCGCUAUCCAAGCCAG	–	119783-119763
1	- <i>pre-miR-1Cph</i>	UAAAUAAAGCUUGGACAUAUUUAACAUCGGGCGUGUUAGCUUUAUUAGGCCG	+	5691-5742
1	- <i>pre-miR-2Cph</i>	GGUGGCGGUGAUGCAGACGGC GGUUUAGGCUCAAAUGUCUCU UUAGGCACACGUCGGCACCU	+	6080-6143
1	- <i>pre-miR-3Cph</i>	UUGUCUGUCGUCUAAAGGUGCA GCGGGUUGAGGUUCCGUCGGCA UUGGUGGAGCGGGCGGCAAU	+	6235-6298
2	- <i>pre-miR-4Cp10</i>	UCGGCGCCUUCACGCAUGGCC GCCGCCUGUCACGGUGGUAG CACGCGGGCUCGCGUAACC	+	120705-120767

этом сходство заканчивается, тогда как различий больше. *MiRNAs* и *pre-miR-Cs* у двух ВЯП располагаются в разных местах одних и тех же участков и не имеют сходства в нуклеотидных последовательностях за исключением

acaNPV-pre-miR-Cph2 и *bmoNPV-pre-miR-Cph1*. Нуклеотидные последовательности этих *pre-miR-Cs* в 5'-плече шпильки перекрываются в районе 1-32. Эта последовательность имеет только две замены А3 на U и U9 на C. Как из-

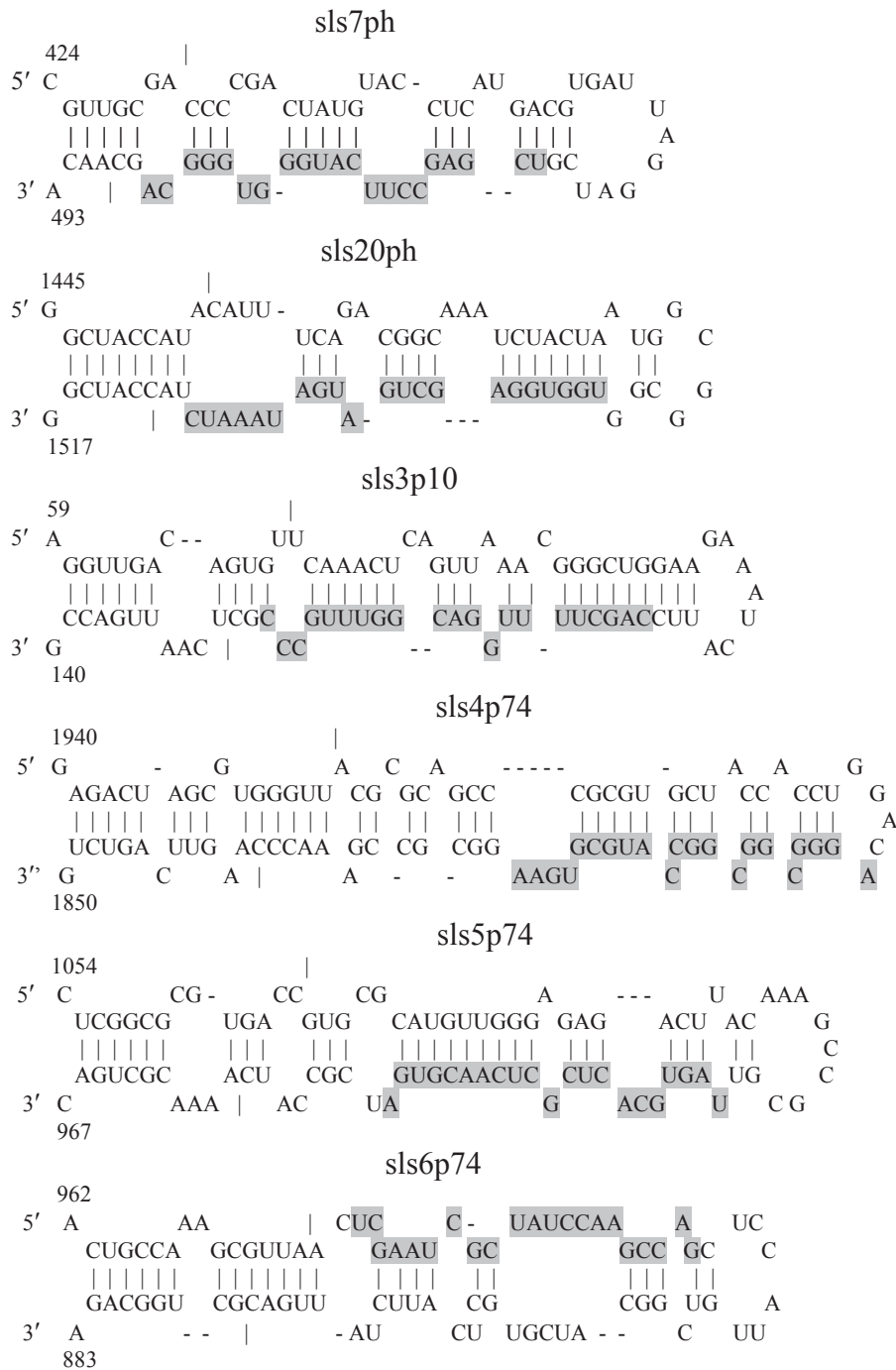


Рис. 1. Найденные в *pri-miR* шпичечно-петлевые структуры (*sls*), процессируемые энзимами *Drosha* и *Dicer* до зрелых *miR*s (оттенены серым цветом). Вертикальными черточками указаны центры расщепления энзимом *Drosha*

вестно, 5'-плечо *miRNA* является определяющим для функционирования [21]. Возможно, это свойство есть и у *pre-miR-C*, если это так, то *asaNPV-pre-miR-Cph2* и *bmoNPV-pre-miR-Cph1* имеют одну и ту же общую пока еще неизвестную для ВЯП функцию.

Как было упомянуто выше у ВЯП *A. californica*, методом электрофореза в полиакриламидном геле, кроме 3,2 kb-транскрипта, синтезируемого с антисмысловой цепи, обнаружены его фрагменты [15]. В этой статье также показано, что с момента синтеза полиэдри-

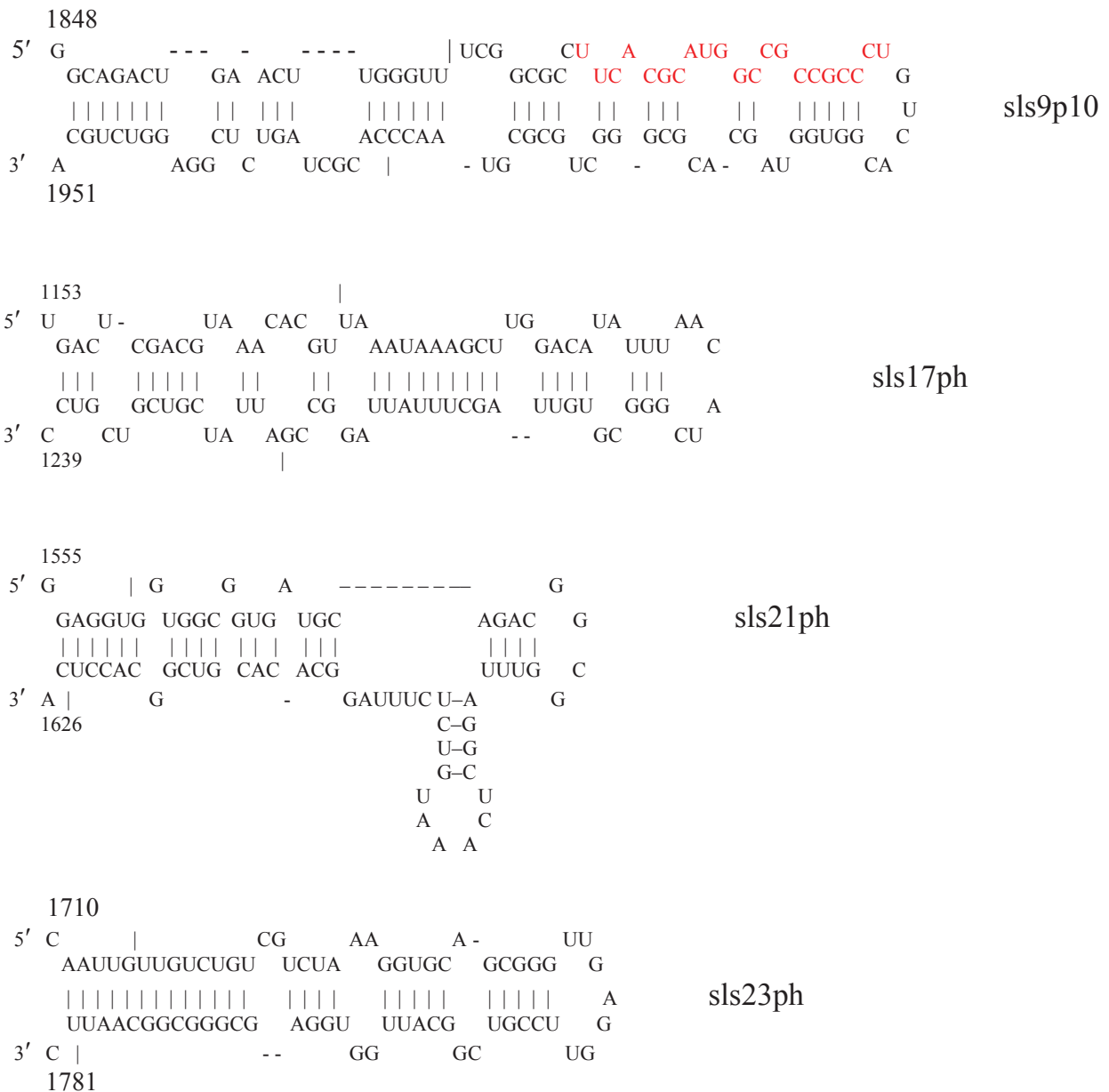


Рис. 2. Найденные в *pri-miR* шпичечно-петлевые структуры (*sls*), процессируемые только энзимом *Drosha* до *pre-miR-C* (выделены вертикальными черточками). В *sls9p10* выделена последовательность, гомологичная известной *miR bta-miR-2409*

на 3,2kb-транскрипт исчезает и появляются его фрагменты. Вероятно, что мРНК полиэдрина может образовывать двухцепочечные РНК с комплементарными 3,2kb-транскриптом и его фрагментами. Как известно [22], в этом случае происходит деградация двухцепочечных РНК.

Как видно из рис. 4, *miR-1ph* и *miR-2ph* полностью комплементарны транскриптам, транскрибируемым с *orf1629*. Таких транскриптов два, синтезируемых с разных промоторов [17]. Если время появления *miRNAs*

совпадает со временем синтеза транскриптов, то они будут расщепляться в местах комплементарности (на рис. 4 центры расщепления транскриптов указаны вертикальными стрелками). Интересно то, что 2,4 kb-транскрипт имеет очень короткий 3'-UTR, который заканчивается в предполагаемом месте комплементарности *miR-1ph*. Размеры транскриптов и их фрагментов, образующихся в результате расщепления транскриптов в местах комплементарности *miR-1ph* и *miR-2ph*, совпадают

	1876	1895
<i>sls9 p10</i>	<i>UCACGCAUGGCCGCGCCU</i>	
bta-miR-2409	UCUCACAUGGACGCUGCCU	
	-732	-753
<i>orf603</i>	<i>GUUCUUGUUGCGUUUGGUUGU</i>	
gga-miR-1726	AAGCUUGUUGGGUUUGGUUGU	
	-149	-170
<i>orf603</i>	<i>CAUUACAUGGCUGUUAUUUUU</i>	
dme-miR-6	UAUCACAGUGGCUGUUCUUUUU	
	-39	-20
ph	UGUUUUCGUAACAGUUUUGU	
hsa-miR-2052	UGUUUUGAUAAACAGUAAUGU	
	-15	-34
<i>orf1629</i>	UUAUUACAAAACUGU- UACGA	
ppt-miR1215	UCAUUGCAAAAACUGUAUACGA	
	2124	2105
<i>orf1629</i>	UAUCGGCGUGCGGGAUCCGA	
gga-miR-1742	AAUCGUCGUUCGGGAUCCGC	

Рис. 3. Найденные с помощью программы *miRBase* нуклеотидные последовательности участков 1 и 2, гомологичные известным *miRs*. Последовательности, выделенные красным цветом вписываются в найденные нами *sls*

с величинами РНК: ~3,2, 1,5 и 1 kb [15]. Мы считаем, что эти данные подтверждают наличие *in vivo* предсказанных нами *miR-lph* и *miR-2ph*. Установлено, что у промоторного полиэдринового мутанта vXpoly указанные РНК появляются на 12-ом часу после инфекции до начала синтеза полиэдрина и присутствуют в течении 24-х часов после инфекции в отсутствие синтеза полиэдрина [15]. Это может свидетельствовать о том, что синтез *miR-lph* и *miR-2ph* инициируется от собственного промотора ранее синтеза полиэдрина. Неизвест-

но продолжается ли экспрессия генов *miR-lph* и *miR-2ph* с момента синтеза полиэдрина или блокируется с появлением полиэдрина.

Таким образом, в результате проведенного биоинформативного метода с помощью предложенного нами алгоритма было показано, что самые поздние и комплементарные к ним гены ВЯП *A. californica* кодируют истинные (*bona fide*) зрелые микроРНК *miR-lph*, *miR-2ph*, *miR-3p10*, *miR-4p74*, *miR-5p74*, *miR-6p74* и потенциальные микроРНК *pre-miR-1Cph*, *pre-miR-2Cph*, *pre-miR-3Cph*, *pre-miR-4Cp10*.

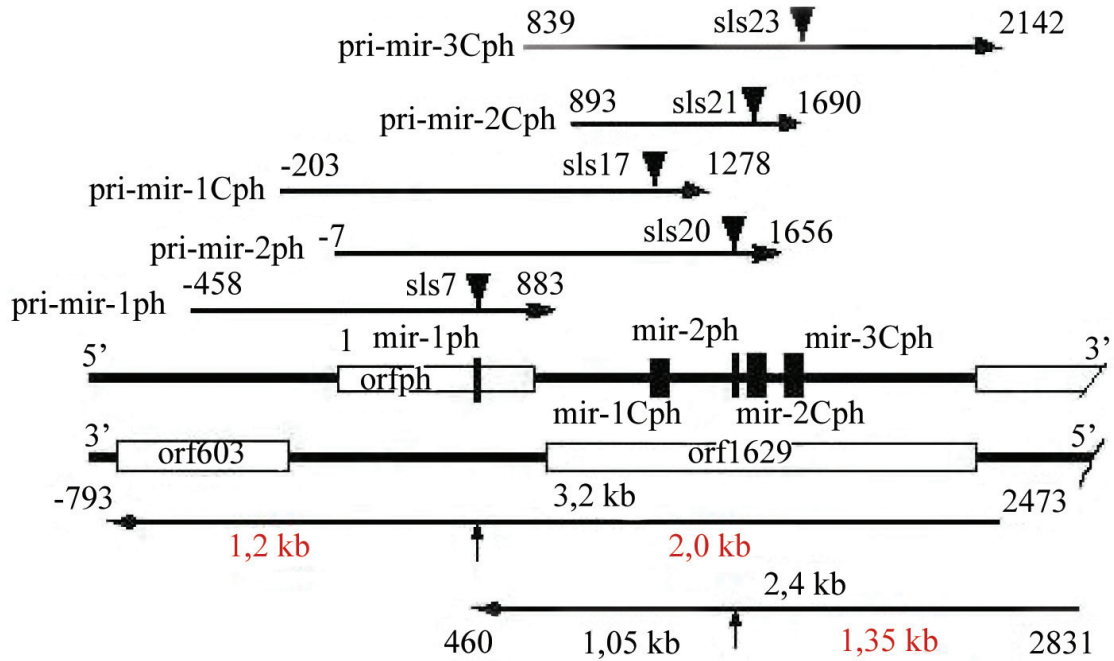


Рис. 4. Схема расположения miRs и pre-miRs на участке 1 генома ВЯП *A. californica* и в pri-miRs. Вертикальными стрелками указаны сайты расщепления транскриптов. Красным цветом обозначены фрагменты, обнаруженные Ooi and Miller [14]

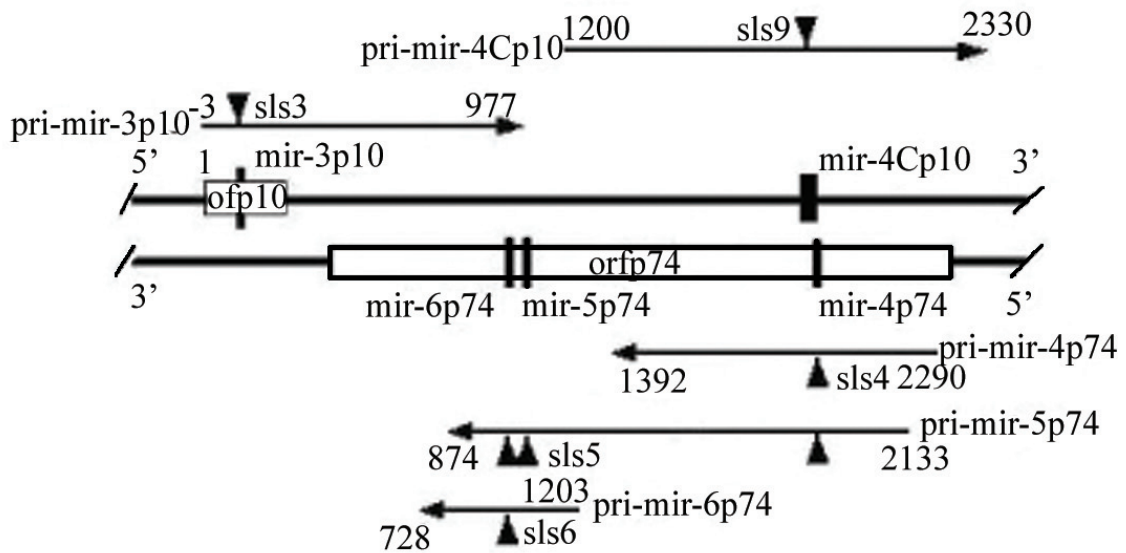


Рис. 5. Схема расположения miRs и pre-miRs на участке 2 генома ВЯП *A. californica* и в pri-miRs

**ПОШУК ГЕНІВ мікроРНК В
АНТИПАРАЛЕЛЬНИХ ЛАНЦЮГАХ
ДІЛЯНОК ГЕНОМУ ВІРУСУ
ЯДЕРНОГО ПОЛІЕДРОЗУ *Autographa
californica*, ЩО ВКЛЮЧАЮТЬ
НАЙПІЗНІШІ ТА КОМПЛЕМЕНТАРНІ
ГЕНИ**

Т. В. Ширіна, М. Т. Бобровська,
Е. А. Козлов

Інститут молекулярної біології
і генетики НАН України, Київ;
e-mail: e.a.kozlov@imbg.org.ua

Біоінформативним методом шляхом аналізу вторинної структури альтернативних транскриптів показано, що ген *ph* вірусу ядерного поліедрозу *Autographa californica* кодує дві зрілі мікроРНК і три потенційні мікроРНК. Комплементарний до гену *ph* ген *orf1629* не кодує ні зрілі мікроРНК, ні потенційні мікроРНК. Ген *p10* кодує зрілу мікроРНК і потенційну. Локалізований на комплементарному ланцюзі ген *p74* кодує три зрілих мікроРНК.

Ключові слова: вірус ядерного поліедрозу, *Autographa californica*, мікроРНК, біоінформативний метод.

**THE SEARCH OF microRNA GENES
ENCODED IN ANTIPARALLEL CHAINS
OF *Autographa californica* NUCLEAR
POLYHEDROSIS VIRUS GENOME
REGIONS, INCLUDING MOST LATE
AND COMPLEMENTARY GENES**

T. V. Shirina, M. T. Bobrovskaja,
E. A. Kozlov

Institute of Molecular Biology and Genetics,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: e.a.kozlov@imbg.org.ua

S u m m a r y

It was shown using bioinformatic approach by analysis of alternative transcripts secondary structure, that *A. californica* nuclear polyhedrosis virus gene *ph* encoded two mature miRNAs and three potential miRNAs. Gene *orf1629* complementary to gene *ph* did not encode miRNAs and pre-miRNA-Cs. Gene *p10* encodes mature and potential miRNA. Gene *p74* located on complementary chain encodes three mature miRNAs.

Key words: nuclear polyhedrosis virus, *Autographa californica*, miRNA, bioinformatic method.

1. Bartel D. P. // Cell. — 2004. — **116**. — P. 281–297.
2. Inui M., Martello G., Piccolo S. // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. — 2010. — **11**. — P. 252–263.
3. Lu J., Getz G., Miska E. A. et al. // Nature. — 2005. — **435**. — P. 834–838.
4. Ozen M., Creighton C. G. J., Ozdemir M., Ittmann M. // Oncogene. — 2008. — **27**. — P. 1778–1793.
5. Borchert G. M., Lanier W., Davidson B. L. // Nat. Struct. Mol. Biol. — 2006. — **13**, N 12. — P. 1097–1101.
6. Saini H. K., Griffiths-Jones S., Enright A. J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2007. — **104**. — P. 17719–17724.
7. Plaisance-Bonstaff K., Renne R. // Methods Mol. Biol. — 2011. — **721**. — P. 43–66.
8. Berezikov E., Cuppen E., Plasterek R. H. // Nat. Genet. — 2006. — **38**. — S2–S7.
9. Zang R., Pan X., Wang Q. et al. // Comput. Biol. Chem. — 2006. — **30**, N 6. — P. 395–407.
10. Zuker M. // Nucleic Acid Res. — 2003. — **31**. — P. 3406–3415.
11. Helvik S. A., Snove O., Saetrom P. // Bioinformatics. — 2007. — **23**. — P. 142–149.
12. Xue C., Li F., He T. et al. // Ibid. — 2005. — **6**. — P. 310–316.
13. Lim L. C., Lau N. C., Weinstein E. G. et al. // Genes Develop. — 2003. — **17**. — P. 991–1008.
14. Ширіна Т. В., Висловух А. А., Бобровська М. Т., Козлов Э. А. // Biopolym. Cell. — 2009. — **25**, № 3. — P. 226–223.
15. Ooi B. G., Miller L. K. // J. Virol. — 1990. — **64**, N 6. — P. 3126–3129.
16. Ayres M. D., Howard S. C., Kuzio J. et al. // Virology. — 1994. — **200**, N 2. — P. 586–605.
17. Kool M., Vlak J. M. // Archives of Virology. — 1993. — **130**. — P. 1–16.
18. Okano K., Vanarsdall A. L., Mikhailov V. S., Rohrman G. F. // Virology. 2006. — **344**, N 1. — P. 77–87.
19. Ryi S., Joshi N., McDonnell K. et al. // PloS One. — 2011. — **6**, N 2. — e16403.
20. Griffiths-Jones S., Saini H. K., van Dongen S., Enright A. J. // Nucl. Acids Res. — 2008. — **36**. — P. D154–D158.
21. Lambert N. J., Gu S. G., Zahler A. M. // Ibid. — 2011 — **39**, N 9. — doi: 10.1093/nar/gkr077.
22. Plasterek R. H. A. // Science. — **296**. — P. 1263–1264.

Отримано 21.04.2011