

О.І. Гордейчик, І.С. Щербатенко

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

ПОШУК ПОДІБНИХ НУКЛЕОТИДНИХ САЙТІВ У ГЕНОМНИХ СИКВЕНСАХ ФІТОПАТОГЕННИХ ВІРУСІВ

Проведено комп'ютерний пошук подібних нуклеотидних сайтів у геномах фітопатогенних вірусів шляхом послідовного співставлення двох геномних сиквенсів зі зростаючою величиною зсуву їх початкових позицій.

Встановлено граничні параметри не випадкової збіжності нуклеотидів у сиквенсах, показано наявність подібних нуклеотидних сайтів у філогенетично далеких родів вірусів, уточнено систематичне положення вірусу некрозу лізіантусу, виявлено особливості локалізації подібних нуклеотидних сайтів у вірусних геномах.

Ключові слова: віруси рослин, геномні сиквенси, подібні сайти, збіжність нуклеотидів, спорідненість вірусів, комп'ютерний аналіз

Подібність сиквенсів вірусних геномів чи їх окремих сайтів зазвичай виражають у відсотках збіжних нуклеотидів (percentage of nucleotide sequence identity) і використовують для аналізу філогенетичної і структурно-функціональної спорідненості вірусів [1, 9, 13, 14, 15]. Для визначення відсотку збіжних нуклеотидів найчастіше застосовуються численні алгоритми і комп'ютерні програми вирівнювання сиквенсів [2, 3, 6, 7, 10, 16], однак, не зважаючи на їх постійне вдосконалення, труднощі комп'ютерного аналізу спорідненості геномів все ще залишаються суттєвими [11, 12, 17]. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є розробка нових методів аналізу подібності сиквенсів, альтернативних вирівнюванню [4, 18].

Багатократне співставлення сиквенсів замість вирівнювання використано в нашій роботі. Метою роботи було виявлення подібних нуклеотидних сайтів у геномах фітопатогенних вірусів шляхом послідовного співставлення пар сиквенсів зі зростаючою величиною зсуву їх початкових позицій.

Матеріали і методи. У роботі використано випадкові нуклеотидні послідовності і геномні сиквенси 189-ти (+)олРНК-вмісних фітопатогенних вірусів, що відносяться до 5-ти родин і 18-ти родів: Flexiviridae (Allexi-, Capillo-, Carla-, Fovea-, Potex-, Tricho-, Vitivirus); Tombusviridae (Avena-, Aureus-, Carmo-, Necro-, Tombusvirus); Luteoviridae (Luteo-, Polerovirus); Tymoviridae (Tymovirus); Potyviridae (Potyvirus); Tobamovirus, Sobemovirus.

Геномні сиквенси отримували з банків даних за програмою Entrez. Випадкові послідовності довжиною 6400 нуклеотидів генерували за датчиком випадкових чисел у межах 1–4, використовуючи функція $\text{int}(\text{RND}^*4+1)$ і «прив'язуючи» кожний із 4-х нуклеотидів до конкретного числа (наприклад, 1-А, 2-Г, 3-С, 4-Т).

© О.І. Гордейчик, І.С. Щербатенко, 2009

Комп'ютерний пошук подібних нуклеотидних сайтів проводили шляхом послідовного співставлення двох сиквенсів зі зростаючою величиною зсуву їх початкових позицій: 1/1 (зсув = 1-1 = 0), 1/2 (зсув = 2-1 = +1), 2/1 (зсув = 1-2 = -1), 1/3 (зсув = 3-1 = +2), ... 1001/1 (зсув = 1-1001 = -1000)... 1/maxz, maxz/1 (максимальний зсув). Величина максимального зсуву (maxz) задається дослідником або обчислюється програмно як максимально можлива: $\text{maxz} = \text{dlg} - \text{dls}$, де dlg – довжини геномного сиквенса, dls – задана мінімальна довжина сайту.

Пошук подібних сайтів за заданими параметрами (наприклад, мінімальна довжина сайту – 20 нуклеотидів, мінімальна збіжність – 75 %) проводили за власною програмою (процедура Simile%), написаною мовою qbasic за таким алгоритмом:

1. Послідовне зіставлення двох сиквенсів зі зростаючою величиною зсуву їх початкових позицій. Якщо величина зсуву більша за максимальну – припинення пошуку (кінець роботи);

2. Послідовне зчитування протилежних нуклеотидів із зони перекривання зіставлених сиквенсів доки зчитана пара не виявиться збіжною, або не закінчиться зона перекривання;

3. Якщо зона перекривання не закінчилась – започаткування подібних сайтів збіжними нуклеотидами, інакше – збільшення величину зсуву на 1 і перехід до пункту 1;

4. Зчитування у започатковані сайти наступних нуклеотидів доки не закінчиться зона перекривання зіставлених сиквенсів або відсоток збіжності не стане меншим за заданий (наприклад, 30/41 збіжних нуклеотидів складають менше 75 %);

5. Якщо відсоток збіжності менший за заданий – видалення з одержаних подібних сайтів останнього нуклеотида (збіжність 30/40 стає не меншою за 75 %);

5. Якщо довжина одержаних сайтів не менша за задану – виведення на дисплей і запис у файл результатів пошуку і збільшення наступної позиції зчитування нуклеотидів на величину довжини знайдених подібних сайтів. (За умов наведеного прикладу будуть виведені 40-нуклеотидні сайти, що мають 30 (75 %) збіжних нуклеотидів);

6. Якщо відстань від наступної позиції зчитування нуклеотидів до кінця ділянки перекривання зіставлених сиквенсів більша за задану довжину сайту – перехід до пункту 2 (продовження зчитування нуклеотидів з наступної позиції), інакше – збільшення величину зсуву на 1 і перехід до пункту 1.

Коректність роботи процедури Simile% перевіряли на модельних сиквенсах – двох випадкових нуклеотидних послідовностях, які мали по кілька вставлених подібних сайтів з різним відсотком збіжних нуклеотидів. Критеріями коректності були такі результати роботи: 1) процедура знаходить всі подібні сайти, вставлені в початкові, середні і кінцеві позиції випадкових сиквенсів; 2) позиції знайдених сайтів, їх довжина і відсоток збіжності відповідають тим, які мають вставлені сайти.

Результати та їх обговорення. Першим етапом наших досліджень було з'ясування ролі випадкової збіжності нуклеотидів у виникненні подібних сайтів у сиквенсах. З цією метою було досліджено варіювання кількості подібних сайтів у трьох парах випадкових нуклеотидних послідовностей залежно від відсотку збіжності нуклеотидів і довжини сайтів (табл. 1). Встановлено, що за 100 % збіжності 5-нуклеотидні сайти зустрічаються у випадкових сиквенсах від 8577 до 8711 разів, 10-нуклеотидні – від 8 до 15, 12-нуклеотидні – лише 2 рази в одній парі сиквенсів, а 15-нуклеотидні сайти не зустрічаються зовсім. Отже, граничними параметрами не випадкової подібності коротких сайтів є величина збіжності не менша за 100 % і довжина сайтів не менша за 15 нуклеотидів.

Таблиця 1

Кількість подібних сайтів у випадкових нуклеотидних послідовностях за різної їх довжини і збіжності нуклеотидів

Довжина сайту, нуклеотидів	Збіжність нуклеотидів, %	Пари випадкових послідовностей*		
		rand1/rand2	rand1/rand3	rand2/rand3
1	2	3	4	5
5	100	8711	8577	8654
10	100	8	15	10

Закінчення табл. 1

1	2	3	4	5
12	100	0	2	0
15	100	0	0	0
20	70	18	14	21
	80	0	1	0
	90	0	0	0
30	60	5	11	7
	65	1	2	0
	70	0	0	0
40	54	17	28	19
	58	1	1	1
	60	0	0	0
50	52	9	17	13
	56	0	2	0
	58	0	0	0
100	42	18	17	18
	44	5	1	3
	46	0	0	0
500	30	216	178	191
	32	11	14	8
	34	0	0	0
1000	28	227	237	229
	30	2	2	0
	32	0	0	0
2000	26	811	765	802
	28	10	7	4
	30	0	0	0

* Довжина випадкових послідовностей rand1, rand2 та rand3 становить 6400 нуклеотидів. Пошук подібних сайтів у парах послідовностей rand1/ rand2, rand1/ rand3 та rand2/ rand3 проведено за зміщення нуклеотидних позицій від 0 до -1000 і до +1000.

Межа не випадкової подібності 20-нуклеотидних сайтів становить не менше 90 % збіжності, 30-нуклеотидних – 70 %, 40-нуклеотидних – 60 %, 50-нуклеотидних – 58 %, 100-нуклеотидних – 46 %, 500-нуклеотидних – 34 %, 1000-нуклеотидних – 32 %, 2000-нуклеотидних – 30 %.

Оскільки граничні параметри не випадкової подібності коротких сайтів дуже значно залежать від їх довжини (15 нуклеотидів – 100 %, 20 нуклеотидів – 90 %), а довгих сайтів – від величини збіжності (1000 нуклеотидів – 32 %, 2000 нуклеотидів – 30 %), для пошуку подібних сайтів у сиквенсах вірусних геномів було вибрано такі вихідні параметри: мінімальна довжина сайтів – 40 нуклеотидів, мінімальна збіжність – 60 %.

У першому досліді було використано 16 родів вірусів, у яких кількість геномних сиквенсів становила не менше шести. Пошук подібних сайтів проводили в 5-ти парах зразків (один із 6-ти сиквенсів зіставляли із п'ятьма іншими). Результати пошуку показали (табл. 2), що віруси одного роду мають подібні кластери нуклеотидних сайтів, середня кількість яких варіює від 5,2 (Sobemovirus) до 20,8 (Allexivirus), а середня довжина – від 938,4 (Potexvirus) до 4912,5 (Foveavirus). Максимальна довжина сайтів становить від 1206 до 8743 нуклеотидів, а їх максимальна кількість у кластерах – від 9 до 23. Чіткої кореляції між кількістю і довжиною подібних сайтів не спостерігається.

Середня кількість подібних нуклеотидних сайтів у вірусів різних родів одної родини варіює від 7,0 до 12,1, а середня довжина – від 677,8 до 836,3 (табл. 3). Максимальна кількість подібних сайтів становить 13–24, а їх максимальна довжина – 1509–5451 нуклеотидів.

Кількість і довжина подібних нуклеотидних сайтів у геномах 16-ти родів фітопатогенних вірусів

Роди вірусів	Кількість сайтів		Довжина сайту	
	середня*	максимальна	середня*	максимальна
Allexivirus	20,8	23	2315,0	3391
Carlavirus	18,8	22	1399,4	1584
Tobamovirus	17,4	20	1055,8	1404
Potyvirus	17,0	19	1198,8	1424
Potexvirus	14,6	23	938,4	1206
Vitivirus	13,7	20	2972,3	6812
Luteovirus	12,0	14	2043,8	4710
Тумовірус	11,6	16	2187,0	3264
Polerovirus	10,6	13	1219,2	2197
Foveavirus	10,3	19	4912,5	8743
Trichovirus	9,4	13	3675,6	5283
Aureusvirus	8,3	11	1559,0	2692
Capillovirus	5,8	14	3948,4	6478
Necrovirus	5,6	9	1799,0	3683
Carmovirus	5,4	9	1820,4	4186
Sobemovirus	5,2	10	1027,5	1606

* Середні значення для п'яти пар вірусів кожного роду

Проведений нами аналіз подібності сиквенсів різних родів вірусів показав, що *Lisianthus necrosis virus* має значно більшу схожість з томбушвірусами, ніж з некрівірусами, до яких він відноситься (рис. 1). Доцільність віднесення цього вірусу до томбушвірусів підтверджує також порівняння довжини геномів і структури відкритих рамок зчитування (рис. 2).

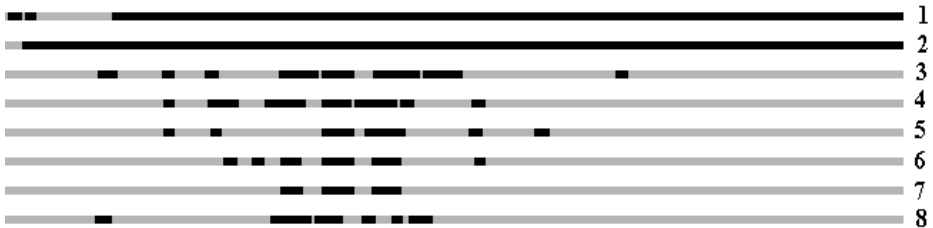


Рис. 1. Сайти некрівірусу *Lisianthus necrosis virus*, що мають 60% збіжних нуклеотидів з сайтами двох томбушвірусів і шести некрівірусів. Томбушвіруси: 1 — *Carnation Italian ringspot virus*, 2 — *Tomato bushy stunt virus*. Некривіруси: 3 — *Beet black scorch virus*, 4 — *Leek white stripe virus*, 5 — *Olive latent virus 1*, 6 — *Olive mild mosaic virus*, 7 — *Tobacco necrosis virus A*, 8 — *Tobacco necrosis virus D*



Рис. 2. Відкриті рамки зчитування вірусів родин *Tombusvirus* та *Necrovirus*. *Tombusvirus*: 1 — *Carnation Italian ringspot virus*, 2 — *Tomato bushy stunt virus*. *Necrovirus*: 4 — *Tobacco necrosis virus A*, 5 — *Olive latent virus 1*. 3 — *Lisianthus necrosis virus* (?). Світлі лінії — довжина геномів

У переважної більшості вірусів різних родин подібні сайти не виявляються, однак в деяких випадках вони зустрічаються в багатьох тестованих зразках (58,7 – 100 %) і мають значну довжину (до 224–468 нуклеотидів). Результати тестування свідчать про філогенетичну спорідненість таких родин і родів вірусів: Luteoviridae, Tombusviridae, Flexiviridae, Sobemovirus, Tymovirus (табл. 3). Спорідненість цих таксонів було показано також шляхом порівняння геномних сиквенсів [8], структури ORF [15], капсидних і реплікативних білків [5, 6], тРНК-подібних структур [9] та елементів ініціації трансляції вірусних мРНК [14].

Таблиця 3

Подібні нуклеотидні сайти у різних родів РНК-вмісних фітопатогенних вірусів

Родини та роди вірусів	Кількість пар вірусів		Кількість сайтів		Довжина сайтів	
	тестовано, штук	виявленоподібні сайти, %	середня	максимальна	середня	максимальна
Tombusviridae	29	100	7,0	13	767,0	5451
Flexiviridae	69	100	12,1	24	836,3	2567
Luteoviridae	43	100	7,5	14	677,8	1509
Luteovirus/Tombusviridae	48	100	3,8	7	255,4	438
Luteoviridae/ Sobemovirus	30	100	4,4	8	281,1	407
Flexiviridae/Luteoviridae	88	58,7	0,9	5	41,4	227
Tymovirus/Flexiviridae	31	93,5	1,7	4	89,9	224
Tymovirus/Potexvirus	16	100	4,2	8	227,8	468

У малоспоріднених вірусів можуть виявлятися: чітко виражені кластери довгих нуклеотидних сайтів, локалізовані в одній ділянці генома і численні короткі сайти розсіяні по геному (рис. 3); розпливчасті кластери коротких сайтів, локалізовані в кількох ділянках генома (рис. 4); малі кластери або поодинокі короткі сайти, локалізовані в одній ділянці генома (рис. 5). Чітко виражені кластери довгих сайтів на фоні численних коротких свідчать про вищий рівень спорідненості вірусів, ніж розпливчасті і малі кластери.

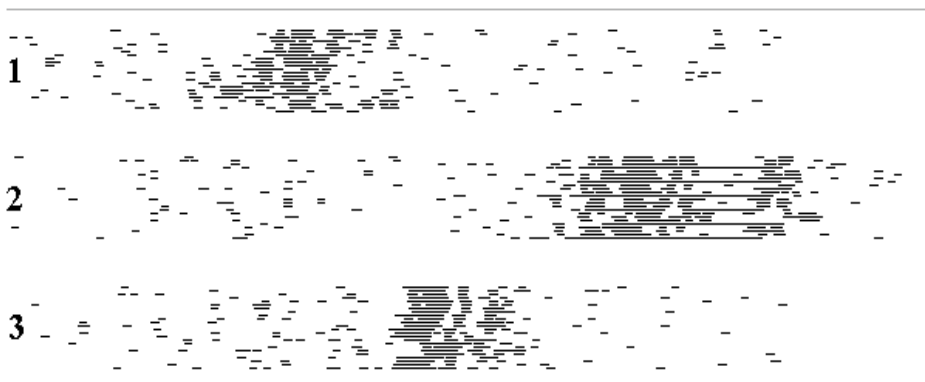


Рис. 3. Подібні нуклеотидні сайти в геномах чотирьох родів вірусів. 1— 6 томбушвірусів і 4 лутеовіруси; 2 — 6 полеровірусів і 4 лутеовіруси; 3 — 6 полеровірусів і 4 собемовіруси. Томбушвіруси: *Carnation Italian ringspot virus*, *Tomato bushy stunt virus*, *Lisianthus necrosis virus*, *Cucumber leaf spot virus*, *Pothos latent virus*, *Beet black scorch virus*. Полеровіруси: *Beet chlorosis virus*, *Beet mild yellowing virus*, *Beet western yellows virus*, *Carrot red leaf virus*, *Cereal yellow dwarf virus*, *Turnip yellows virus*. Лутеовіруси: *Barley yellow dwarf virus — GAV*, *Barley yellow dwarf virus — PAS*, *Bean leafroll virus*, *Soybean dwarf virus*. Собемовіруси: *Ryegrass mottle virus*, *Rice yellow mottle virus*, *Cocksfoot mottle virus*, *Southern bean mosaic virus*

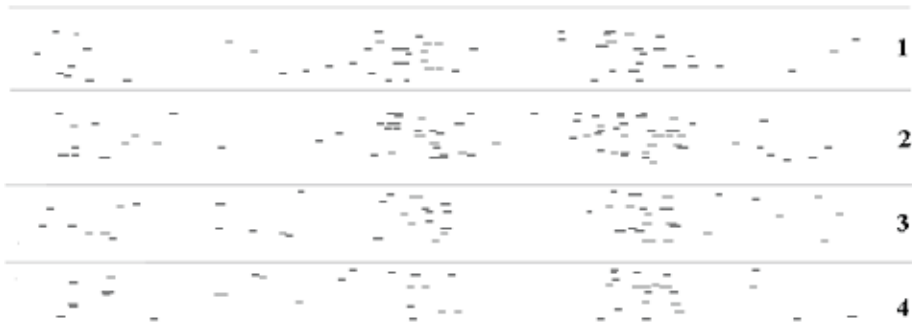


Рис. 4. Подібні нуклеотидні сайти в геномах 4-х тімовірусів і 22-х потексвірусів. Тімовіруси: 1 — *Anagryis vein yellowing virus*, 2 — *Nemesia ring necrosis virus*, 3 — *Plantago mottle virus*, 4 — *Scrophularia mottle virus*



Рис. 5. Нуклеотидні сайти тімовірусу *Nemesia ring necrosis virus*, подібні сайтам алексі- і тобамовірусів. 1 — Алексівіруси (зверху вниз): *Garlic virus A*; *Garlic virus C*; *Garlic virus E* *Garlic virus X*; *Shallot virus X*. 2 — Тобамовіруси (зверху вниз): *Odontoglossum ringspot virus*; *Tobacco mosaic virus strain vulgare*; *Tomato mosaic virus*; *Crucifer tobamovirus*; *Tobacco mosaic virus (Crucifer)*; *Ribgrass mosaic virus*; *Turnip vein-clearing virus*

Показані на рис. 5 подібні нуклеотидні сайти на 3'-кінці геномів тімовірусу *Nemesia ring necrosis virus* і семи тобамовірусів узгоджується з даними про наявність у цього тімовірусу тРНК-побідної структури, характерної для тобамовірусів [9]. Подібні 5'-кінцеві сайти у тімо- і тобамовірусів, подані на рис. 5, вперше виявлені нами.

Характерними рисами подібних нуклеотидних сайтів є утворення кластерів і особливість зміщення їх позицій у геномах двох дослідних вірусів. Відстань між позиціями всіх чи переважної більшості подібних сайтів двох сиквенсів становить або $x,0$; або $x,33$; або $x,66$ триплетів (табл. 4), що складає $3x$, $3x+1$ або $3x+2$ нуклеотидів (табл. 5), де x — ціле число від 0 до 300–500. Одержані дані показують, що кластери подібних сайтів утворюють консервативні кодони однієї рамки зчитування, які кодують функціонально важливі продукти або їх компоненти. Тому відстані між подібними сайтами кластерів можуть становити лише ціле число триплетів ($3x$ нуклеотидів), оскільки мутації зсуву рамки є летальними для вірусу через втрату важливих функціональних елементів. Наявність однакових відстаней ($3x+1$ або $3x+2$ нуклеотидів) між позиціями всіх чи переважної більшості подібних сайтів у генах двох вірусів є наслідком нецілотриплетної відстані між позиціями цих генів у геномах.

Таблиця 4

Відстань між позиціями подібних нуклеотидних сайтів у геномах двох потексвірусів

Довжина сайта	Поз1*	Поз2**	Відстань, нуклеотидів	Відстань, триплетів
62	815	834	19	6,3
72	1896	2704	808	269,3
65	2084	2898	814	271,3
80	2277	3091	814	271,3
60	2442	3262	820	273,3
259	2789	3612	823	274,3
344	3394	4217	823	274,3
69	4953	5820	867	289,0
65	4207	5080	873	291,0

*Поз1 — позиції подібних сайтів у геномі вірусу мозаїки лисохвоста

**Поз2 — позиції подібних сайтів у геномі Х-вірусу зеленої цибулі

© К.С. Коробкова, А.М. Онищенко, Л.П. Панченко, О.Є. Мамчур, О.О. Дмитрук, В.І. Редько, 2009

Зміщення відстані між подібними сайтами в геномах чотирьох пар тобамо- і потівірусів*

Пари вірусів	Кількість подібних сайтів			
	Всього	зі зміщенням		
		0	1	2
Тобамовіруси				
Вірус м'якої зеленої мозаїки тютюну Вірус зеленої плямистої мозаїки огірка	19	0	17	2
Вірус м'якої плямистості перцю Вірус мозаїки подорожника вузьколистого	14	2	8	4
Вірус мозаїки томату Тобамовірус хрестоцвітних	16	1	3	12
Вірус плямистості плодів огірка Вірус кільцевої плямистості одонтоглосума	20	2	4	14
Потівіруси				
А-вірус картоплі У-вірус картоплі	19	0	17	2
Вірус мозаїки зеленої цибулі Вірус мозаїки цукрової тростини	18	1	16	1
Вірус звичайної мозаїки квасолі Вірус стріку купчанки	17	17	0	0
Вірус мозаїки сої Вірус мозаїки діоскореї	16	1	14	1

Таким чином, нами розроблено новий алгоритм і процедуру комп'ютерного порівняння спорідненості вірусів шляхом послідовного зіставлення двох сиквенсів зі зростаючою величиною зсуву їх початкових позицій і виявлення в кожному зіставленні всіх подібних сайтів, які мають довжину і збіжність нуклеотидів не менші за задані.

Методом комп'ютерного аналізу встановлено граничні параметри не випадкової збіжності нуклеотидів у сиквенсах, показано наявність подібних нуклеотидних сайтів у філогенетично далеких родів вірусів, уточнено систематичне положення *Lisianthus necrosis virus*, виявлено особливості локалізації кластерів подібних сайтів у вірусних геномах. Розроблений і використаний в роботі спосіб комп'ютерного пошуку і графічної візуалізації подібних нуклеотидних сайтів придатний для швидкого, простого і наглядного порівняльного аналізу спорідненості вірусів.

О.И. Гордейчик, И.С. Щербатенко

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев

ПОИСК ПОДОБНЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ САЙТОВ В ГЕНОМНЫХ СИКВЕНСАХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ

Резюме

Проведено компьютерный поиск подобных нуклеотидных сайтов в геномах фитопатогенных вирусов путем последовательного сопоставления двух геномных сиквенсов с возрастающей величиной сдвига их начальных позиций.

Установлено граничные параметры неслучайного совпадения нуклеотидов в сиквенсах, показано наличие подобных нуклеотидных сайтов у филогенетически далеких родов вирусов, уточнено систематическое положение вируса некроза лизиантуса, выявлено особенности локализации подобных нуклеотидных сайтов в вирусных геномах.

Ключевые слова: вирусы растений, геномные сиквенсы, подобные сайты, совпадение нуклеотидов, родство вирусов, компьютерный анализ.

SEARCHING FOR SIMILAR NUCLEOTIDE SITES IN GENOMIC SEQUENCES OF PHYTOPATHOGENIC VIRUSES

S u m m a r y

Computational search for similar nucleotide sites in genomes of plant viruses was performed by successive comparison of two genomic sequences with increasing the displacement of their initial positions.

Parameter limits of non-random nucleotide coincidence in sequences were determined, presence of similar nucleotide sites in phylogenetically different viral genera was shown, a taxonomy of *lisanthus necrosis virus* was specified, localization peculiarity of similar nucleotide sites in viral genomes was revealed.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: plant viruses, genomic sequences, similar sites, nucleotide coincidence, virus relationship, computational analyses.

The authors address: I. S. Shcherbatenko, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *Aus dem Siepen M., Pohl J.O., Koo B.J., Wege C., Jeske H.* Poinsettia latent virus is not a cryptic virus, but a natural polerovirus-sobemovirus hybrid // *Virology*. – 2005. – **336**, N 2. – P. 240–250.
2. *Catanho M., Mascarenhas D., Degraeve W., de Miranda A.B.* BioParser: a tool for processing of sequence similarity analysis reports // *Appl. Bioinformatics*. – 2006. – **5**, N 1. – P. 49–53.
3. *Collyda C., Diplaris S., Mitkas P., Maglaveras N., Pappas C.* Enhancing the quality of phylogenetic analysis using fuzzy hidden Markov model alignments // *Medinfo*. – 2007. – **12**, N 2. – P. 1245–1249.
4. *Didier G., Debomy L., Pupin M., Zhang M., Grossmann A., Devauchelle C., Laprevotte I.* Comparing sequences without using alignments: application to HIV/SIV subtyping // *BMC Bioinformatics*. – 2007. – **8**. – P. 1.
5. *Ding S., Keese P., Gibbs A.* The nucleotide sequence of the genomic RNA of *kennedya yellow mosaic tymovirus*-Jervis Bay isolate: relationships with potex- and carlaviruses // *J. Gen. Virol.* – 1990. – **71**, N 4. – P. 925–931.
6. *Dolja V.V., Koonin E.V.* Phylogeny of capsid proteins of small icosahedral RNA plant viruses // *J. Gen. Virol.* – 1991. – **72**, N 7. – P. 1481–1486.
7. *Esteban D.J., Syed A., Upton C.* Organizing and updating whole genome BLAST searches with ReHAB // *Methods Mol. Biol.* – 2007. – **395**. – P. 187–194.
8. *Hataya T., Uchino K., Arimoto R., Suda N., Sano T., Shikata E., Uyeda I.* Molecular characterization of Hop latent virus and phylogenetic relationships among viruses closely related to carlaviruses // *Arch. Virol.* – 2000. – **145**, N 12. – P. 2503–2524.
9. *Koenig R., Barends S., Gulyaev A.P., Lesemann D.E., Vetten H.J., Loss S., Pleij C.W.* Nemesia ring necrosis virus: a new tymovirus with a genomic RNA having a histidylatable tobamovirus-like 3' end // *J. Gen. Virol.* – 2005. – **86**, N 6. – P. 1827–1833.
10. *Lee D., Choi J.H., Dalkilic M.M., Kim S.* COMPAM :visualization of combining pairwise alignments for multiple genomes // *Bioinformatics*. – 2006. – **22**, N 2. – P. 242–244.
11. *Mizjara M.N., Riggs P.K., Amaral M.E.* Comparative analysis of noncoding sequences of orthologous bovine and human gene pairs // *Genet. Mol. Res.* – 2004. – **3**, N 4. – P. 465–473.
12. *Nix D.A., Eisen M.B.* GATA: a graphic alignment tool for comparative sequence analysis // *BMC Bioinformatics*. – 2005. – **6**. – P. 9.
13. *Ohshima K., Tomitaka Y., Wood J.T., Minematsu Y., Kajiyama H., Tomimura K., Gibbs A.J.* Patterns of recombination in turnip mosaic virus genomic sequences indicate hotspots of recombination // *J. Gen. Virol.* – 2007. – **88**, N 1. – P. 298–315.
14. *Shen R. and Miller W.A.* The 3' untranslated region of tobacco necrosis virus RNA contains a barley yellow dwarf virus-like cap-independent translation element // *J. Virol.* – 2004. – **78**, N 9. – P. 4655–4664.
15. *Smith G.R., Borg Z., Lockhart B.E., Braithwaite K.S., Gibbs M.J.* Sugarcane yellow leaf virus: a novel member of the Luteoviridae that probably arose by inter-species recombination // *J. Gen. Virol.* – 2000. – **81**, N 7. – P. 1865–1869.
16. *Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S.* MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 // *Mol. Biol. Evol.* – 2007. – **24**, N 8. – P. 1596–1599.
17. *Uchiyama I., Higuchi T., Kobayashi I.* CGAT: a comparative genome analysis tool for visualizing alignments in the analysis of complex evolutionary changes between closely related genomes // *BMC Bioinformatics*. – 2006. – **7**. – P. 472.
18. *Zhou H., Wang H., Huang L.F., Naylor M., Clifford P.* Heterogeneity in codon usages of sobemovirus genes // *Arch. Virol.* – 2005. – **150**, N 8. – P. 1591–1605.

Отримано 10.04.2008 О.І. Гордейчик, І.С. Щербатенко