

Леа МЕРЕМАА

## СВЯЗЫВАНИЕ АМИНОКИСЛОТЫ С 3'-КОНЦОМ РНК РАСТИТЕЛЬНЫХ ВИРУСОВ

В 1961 г. М. У. Ниренберг и Дж. Х. Матхей показали, что РНК вируса табачной мозаики (ВТМ) выполняет роль информационной РНК в *in vitro* белоксинтезирующей системе, приготовленной из *E. coli* (Nirenberg, Matthaei, 1961). В настоящее время информационная роль РНК фитовирусов общепризнана и подтверждена работами многих исследователей (см. обзор: Fraenkel-Conrat и др., 1977). Более того, недавно установлено, что РНК некоторых растительных вирусов обладает функцией, отличной от информационной. Так, около десяти лет назад М. Пинк с сотрудниками показала, что РНК вируса желтой мозаики турнепса (ВЖМТ) специфически связывает валин в присутствии АТФ и аминоацил-тРНК-синтетазы из бактерии (Pinck и др., 1970; Yot и др., 1970). В настоящее время известно множество растительных вирусов, РНК которых имеет аналогичную функцию (табл. 1). Установлено, что реакция присоединения аминокислоты к вирусной РНК по своим физико-химическим параметрам аналогична реакции синтеза аминоацил-тРНК с аминоацил-тРНК-синтетазами (Pinck и др., 1970; Yot и др., 1970; Pinck и др., 1972; Öberg, Philipson, 1972; Hall и др., 1972; Carriquiry, Litvak, 1974; Kohl, Hall, 1974; Salomon и др., 1976; Pinck, Hall, 1978; Giege и др., 1978). При этом показано, что акцепторная

Таблица 1

Растительные вирусы, РНК которых связывает аминокислоту

Вирус (РНК)	Аминокислота	Литература*
Желтой мозаики какао (ВЖМК)	Валин	Pinck и др., 1972
Желтой мозаики турнепса (ВЖМТ)	Валин	Yot и др., 1970
Крапчатости белладонны (ВКБ)	Аланин (незначительно 4 остальных)	Pinck и др., 1972
Крапчатости конских бобов (ВККБ)	Тирозин	Kohl, Hall, 1974
Мозаики баклажана (ВМБ)	Валин, лизин	Pinck и др., 1972
Мозаики костра безостого (ВМКБ)	Тирозин	Hall и др., 1972
Мозаики окры (ВМО)	Валин	Pinck и др., 1972
Огуречной мозаики (ВОМ)	Тирозин	Kohl, Hall, 1974
Табачной мозаики (ВТМ)	Гистидин	Öberg, Philipson, 1972
Хлоротической крапчатости коровьего гороха (ВХККГ)	Тирозин	Kohl, Hall, 1974

\* Приведены только те работы, в которых впервые описано специфическое связывание аминокислоты с РНК данного вируса.

активность вирусной РНК является свойством самой вирусной РНК и не обусловлена примесями хозяйской тРНК в препаратах вирусной РНК. Кроме того, имеются данные, которые позволяют исключать возможность того, что хозяйская тРНК, включенная каким-то образом в вирусную частицу, вообще может быть прочно связана с вирусной РНК: наиболее вероятно, что взаимодействие между вирусной РНК и тРНК осуществляется либо через белок, либо через водородные связи (Pinck и др., 1972). Показано, что вирион сам не связывает специфически аминокислоту и добавление структурного белка не подавляет акцепторную активность РНК ВТМ или дрожжевой тРНК (Carriguiry, Litvak, 1974). Имеются также сведения о том, что вирионы не акцептируют аминокислоты (Hall и др., 1974).

Цель настоящего обзора — попытаться проанализировать и обобщить имеющиеся в литературе данные относительно специфического связывания аминокислот с вирусной РНК фитовирусов.

### УСЛОВИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ АМИНОКИСЛОТЫ С ВИРУСНОЙ РНК

#### Интактность РНК и возможные места присоединения аминокислоты

Имеются данные, что для специфического связывания аминокислоты с вирусной РНК не требуется целостности ее молекулы. Так, например, после нагревания в течение 10 мин при 80°C РНК ВЖМТ сохраняет полностью свою акцепторную активность в отношении валина, хотя препарат РНК, полученный такой обработкой, гетерогенен и седиментируется при центрифугировании в градиенте концентрации сахарозы с коэффициентом седиментации в промежутке 16—23 S (Yot и др., 1970). Более того, показано, что 3'-концевой фрагмент РНК ВЖМТ с коэффициентом седиментации 4,5 S, полученный при обработке тотальной РНК эндонуклеазой *P* и выделенный методом электрофореза в полиакриламидном геле, может быть этерифицирован валином (Prochiantz, Naenni, 1973). Также имеются сведения о том, что 3'-концевые фрагменты РНК 1, РНК 2, РНК 3 и РНК 4 вируса мозаики костра безостого (ВМКБ), длина которых равна 160 нуклеотидным остаткам и аналогичный по длине 3'-концевой фрагмент РНК вируса хлоротической крапчатости коровьего гороха (ХККГ), акцептируют тирозин в реакции, катализируемой аминокислотсинтетазой, выделенной их зародышевых клеток пшеницы (Bastin и др., 1976).

Имеются доказательства того, что место присоединения аминокислоты локализуется на 3'-концевом аденозине в РНК ВЖМТ и РНК ВТМ (Pinck и др., 1970; Salomon и др., 1976). В тех случаях, когда в молекуле вирусной РНК отсутствует 3'-концевой аденозин, реакция специфического связывания аминокислоты с вирусной РНК происходит только в присутствии тРНК нуклеотидилтрансферазы (Litvak и др., 1970; Giege и др., 1978). Модифицирование 3'-конца РНК ВМКБ методом периодатного окисления или превращение его в соединение морфилина, приводит к утрате способности акцептировать тирозин (Shih и др., 1974). Известно также, что удаление с 3'-конца от пяти до десяти нуклеотидов при помощи полинуклеотидилфосфорилазы из *E. coli* или окисление 3'-концевой рибозы подавляют реакцию аминокислотирования РНК ВТМ гистидином (Salomon и др., 1976). Кроме того, данные, полученные при обработке аминокислотированной РНК ВТМ с РНКазой  $T_1$

Таблица 2

## Зависимость реакции специфического связывания аминокислоты с вирусной РНК от аминоацил-тРНК-синтетаз различного происхождения

РНК вируса	2	3	4	5
	Источник аминоацил-тРНК-синтетазы и степень ее очистки	Источник энзима является (+) и не является (-) хозяином данного вируса*	Количество связанной аминокислоты	Литература
И				
ВЖМК	<i>E. coli</i> MRE 600: 105 000 g супернатант, DEAE-целлюлоза	—	Валин	Pinck и др., 1972
ВЖМТ	<i>E. coli</i> MRE 600: 105 000 g супернатант, DEAE-целлюлоза	—	0,3—0,8 моль валина/1 моль РНК	Pinck и др., 1970
	<i>E. coli</i> MRE 600: валил-тРНК-синтетаза, 90% чистоты	—	≥ 1 моль валина/1 моль РНК	Yot и др., 1970
	Дрожжи и печень крысы: частично очищенная валил-тРНК-синтетаза	—	Валин	Yot и др., 1970
	<i>E. coli</i> MRE 600: 150 000 g супернатант	—	0,24 пмоль валина/1 пмоль РНК	Наеппи и др., 1973
	<i>E. coli</i> MRE 13 и дрожжи ( <i>Saccaromyces cerevisiae</i> ): 105 000 g супернатант, DEAE-сефадекс А-25	—	} 898 фмоль валина/1 пмоль РНК	Kohl, Hall, 1974
	Бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) и пшеница ( <i>Triticum aestivum</i> ): грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	—		
	Дрожжи: высокоочищенная валил-тРНК-синтетаза	—	% связывания валина: тяжелая РНК — 98 легкая РНК — 95 тотальная РНК — 97	Giese и др., 1978

1	2	3	4	5
ВКБ	<i>E. coli</i> MRE 600: 105 000 g супернатант, DEAE-целлюлоза	—	Аланин	Pinck и др., 1972
ВККБ	Бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) и пшеница ( <i>Triticum aestivum</i> ): грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	+ Нет данных	687 фмоль тирозина/1 пмоль РНК	Kohl, Hall, 1974
ВМБ	<i>E. coli</i> Q 13 и дрожжи ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ): 100 000 g супернатант, DEAE-сефадекс А-25	— —	Энзим неактивен То же	
ВМКБ	<i>E. coli</i> MRE 600: 105 000 g супернатант, DEAE-целлюлоза	—	Валин	Pinck и др., 1972
ВМБ	<i>E. coli</i> MRE 600 и пшеница: частично очищенный энзим	— Нет данных	1,53—1,75 пмоль валина/1 мкг РНК	Pinck, Hall, 1978
ВМКБ	Бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) и пшеница ( <i>Triticum aestivum</i> ): грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	— +	715 фмоль тирозина/1 пмоль РНК	Kohl, Hall, 1974
ВМКБ	Бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ): частично очищенный энзим	—	0,58 моль тирозина/1 моль РНК	Hall и др., 1972
ВМО	Пшеница: грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	+	% связывания тирозина: РНК 4 — 32,8 фрагмент РНК 4 — 20,0—21,6	Bastin и др., 1976
ВМО	<i>E. coli</i> MRE 600: 105 000 g супернатант, DEAE-целлюлоза	—	0,3—0,7 моль валина/1 моль РНК	Pinck и др., 1972
ВОМ	Бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) и пшеница ( <i>Triticum aestivum</i> ): грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	+ +	598 фмоль тирозина/1 пмоль РНК	Kohl, Hall, 1974
ВОМ	<i>E. coli</i> Q 13 и дрожжи ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ): 100 000 g супернатант, DEAE-сефадекс А-25	— —	Энзим неактивный То же	

1	2	3	4	5
ВТМ	КВ клетки и дрожжи: грубый экстракт	—	0,06 моль гистидина/1 моль РНК	Öberg, Philipson, 1972
	Дрожжи: очищенный энзим	—	штамм: $U_2$ — 0,3 моль гистидина/1 моль РНК дикий — 0,26 моль гистидина/1 моль РНК <i>Dahlmensis</i> — РНК не связывает гистидин	Litvak и др., 1973
	Пшеница и <i>E. coli</i> очищенный энзим	+ —	Энзим менее активный, чем дрожжевой энзим Энзим неактивный	
	Дрожжи: частично очищенная гистидил-гРНК-сингтаза	—	штамм: $U_2$ — 0,40 моль гистидина/1 моль РНК дикий — 0,37 моль гистидина/1 моль РНК <i>Dahlmensis</i> — 0,09 моль гистидина/1 моль РНК HRG — 0,13 моль гистидина/1 моль РНК	Sargiugy, Litvak, 1974
	Пшеница ( <i>Triticum aestivum</i> ) и дрожжи ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) Пшеница: грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25 Дрожжи: 100 000 g супернатант DEAE-сефадекс А-25	— —	} 622 фмоль гистидина/1 моль РНК	Kohl, Hall, 1974
	<i>E. coli</i> и бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) <i>E. coli</i> : 100 000 g супернатант, DEAE-сефадекс А-25 Бобы: грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	— +	Энзим неактивный То же	

1	2	3	4	5
печень крысы: высокоочищенная	гистидил-гРНК-синтетаза	—	0.3 моль гистидина/1 моль РНК	Salomon и др., 1976
ВХКГ	Бобы ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) и пшеница ( <i>Triticum aestivum</i> ): грубый экстракт, DEAE-сефадекс А-25	Нет данных Нет данных	931 фмоль тирозина/1 моль РНК	Kohl, Hall, 1974
	<i>E. coli</i> Q 13 и дрожжи ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ): 100 000 g супернатант, DEAE-сефадекс А-25	— —	Энзим неактивный То же	

Примечание: \* Данные взяты из книги Index of Plant Virus Disease. Agriculture Handbook, N 307. Washington, 1966.

показывают, что гистидин присоединен к тетра nukлеотиду, который соответствует известной последовательности нуклеотидов на 3'-конце РНК ВТМ (Carriquiry, Litvak, 1974).

По-видимому, имеется лишь одно место для присоединения аминокислоты в молекуле вирусной РНК, так как количество связанной аминокислоты не превышает величины моль/моль РНК (табл. 2). Как видно из табл. 2, во многих случаях присоединение аминокислоты к вирусной РНК изучали, используя неочищенные аминоацил-тРНК-синтетазы, в которых, как известно, присутствуют нуклеазы (Yot и др., 1970; Sela, 1972; Наеппи и др., 1973). Это обстоятельство является, вероятно, одной из причин вариабельности количества связанной аминокислоты. Получены данные, которые свидетельствуют о том, что фрагментация модифицированной периодатом РНК ВТМ с неочищенной аминоацилсинтетазой из печени крысы не открывает дополнительных мест для связывания гистидина, а также не создает возможности для присоединения других аминокислот (Salomon и др., 1976). Однако показано также, что «рН 5 белок» из листьев табака расщепляет РНК ВТМ и полученные в результате этого олигонуклеотиды длиной около 55 нуклеотидных остатков связывают серин и метионин в условиях несколько отличающихся от условий связывания гистидина (Sela, 1972). Незначительное связывание лизина (кроме валина) с РНК вируса мозаики баклажана (ВМБ) обусловлено, очевидно, примесями тРНК<sup>лиз</sup> в препаратах РНК ВМБ, так как имеются сведения о том, что тРНК<sup>лиз</sup> входит в состав вириона ВМБ (Pinck и др., 1974; Pinck, Hall, 1978).

#### Сходство реакции специфического связывания аминокислоты с вирусной РНК с реакцией аминоацилирования тРНК

Уже в первых сообщениях о связывании аминокислоты с вирусной РНК исследователями была выявлена аналогия этой реакции с реакцией активирования транспортных РНК: обе реакции нуждаются в энергии (АТФ), катализируются одинаковыми энзимами и осуществляются приблизительно в одинаковых условиях (Pinck и др., 1970; Öberg, Philipson, 1972). Так, Т. Халл и его сотрудники показали, что реакция связывания тирозина с РНК ВМКБ, катализируемая суммарной аминоацил-тРНК-синтетазой, выделенной из бобов, сравнима по своим характеристикам с реакцией синтеза тирозил-тРНК в бесклеточных растительных системах: связывание происходит в довольно широком интервале рН и быстро уменьшается при рН 7,8;  $K_m$  при рН 7,5 равняется  $9,1 \times 10^{-6}$  М тирозину (Hall и др., 1972). Однако большинство данных, характеризующих реакцию связывания аминокислоты с вирусной РНК, получены при использовании неочищенных или частично очищенных препаратов тотальных аминоацил-тРНК-синтетаз (табл. 2) и лишь в двух случаях — с РНК ВТМ и РНК ВЖМТ — изучена реакция присоединения аминокислоты к вирусной РНК в присутствии высокоочищенных индивидуальных аминоацил-тРНК-синтетаз (Salomon и др., 1976; Giege и др., 1978). Р. Саломон и его сотрудники показали, что максимальное связывание гистидина с РНК ВТМ и с тРНК из печени крысы при помощи гистидил-тРНК-синтетазы, выделенной из печени крысы и очищенной методом аффинной хроматографии на DEAE-сефадексе, наблюдается при рН 7,5—8,5. В обоих случаях также не наблюдалось существенного различия в оптимальной концентрации ионов магния. В то же время было показано, что КСl ингибирует реакцию специфического связывания гистидина с РНК ВТМ: в присутствии

20 мМ КСl в реакционной смеси подавляется акцепторная активность вирусной РНК на 50% (Salomon и др., 1976).

Проведено также детальное сравнительное изучение реакции аминокислотирования двух компонентов РНК ВЖМТ (тяжелого и легкого), тРНК<sup>вал</sup>, тРНК<sup>фмет</sup>, и тРНК<sup>фен</sup> из дрожжей в присутствии высокоочищенной валил-тРНК-синтетазы (Giege и др., 1978). Оказалось, что кинетические параметры реакции присоединения валина к вирусным РНК близки по величине соответствующим параметрам реакции синтеза валил-тРНК<sup>вал</sup>: например, константа скорости реакции образования валил-РНК ВЖМТ лишь в 5—10 раз меньше константы скорости реакции образования валил-тРНК<sup>вал</sup>, но в 30 раз больше, чем при образовании валил-тРНК<sup>фмет</sup>, и более чем в 1000 раз больше, чем при образовании валил-тРНК<sup>фен</sup>. Также выяснилось, что величины константы Михаелиса ( $K_m$ ) реакции аминокислотирования РНК ВЖМТ валином (приведенные ниже) более близки к соответствующим величинам синтеза валил-тРНК<sup>вал</sup>, чем к величинам, характеризующим реакции связывания валина с неспецифическими тРНК (Giege и др., 1978):

РНК	$10^7 \cdot K_m$ , М	Константа скорости, $\text{мин}^{-1}$
Дрожжевая тРНК <sup>вал</sup>	1,2	143
РНК ВЖМТ (тяжелый компонент)	3,7	20
РНК ВЖМТ (легкий компонент)	5,3	29
РНК ВЖМТ (тотальная)	3,2	23
РНК ВЖМТ (тотальная гидролизованная)	1,8	9
Дрожжевая тРНК <sup>фмет</sup>	70,0	0,78
Дрожжевая тРНК <sup>фен</sup>	14,4	0,014

Помимо того, показано, что время полураспада валил-РНК ВЖМТ при рН 8,6 равно 60 мин — такое же время полураспада известно и для валил-тРНК из *E. coli* (Pinck и др., 1970). Время полураспада комплекса тирозил—РНК ВМКБ в трис-НСl буфере при рН 8,5, по данным Т. Халла и др., равно 15 мин (Hall и др., 1972). Энзиматическое деацилирование аминокислот-вирусной РНК, как было показано для гистидил-РНК ВТМ с гистидил-тРНК-синтетазой из дрожжей, требует присутствия пирофосфата и АМФ и происходит гораздо медленнее, чем деацилирование гистидил-тРНК из дрожжей (Carriquiry, Litvak, 1974).

Суммируя изложенное выше, следует отметить, что имеющиеся в настоящее время в литературе данные являются вескими доказательствами в пользу точки зрения, что реакция специфического связывания аминокислоты с вирусной РНК аналогична реакции аминокислотирования тРНК аминокислот-тРНК-синтетазами, причем аминокислота связывается сложноэфирной связью с 2'- или 3'-гидроксильной группой 3'-концевого аденозина вирусной РНК.

#### Зависимость реакции связывания аминокислоты с вирусной РНК от аминокислот-тРНК-синтетаз разного происхождения

Как видно из табл. 2, при исследовании специфического связывания аминокислоты с вирусной РНК использовали гетерологичные системы, т. е. аминокислот-тРНК-синтетазы были изолированы не из растения-хозяина соответствующего вируса, а нередко даже из прокариот. Оказывается, что в реакции присоединения валина к РНК ВЖМТ активны



## Нуклеотидная последовательность 3'-конца РНК некоторых растительных вирусов, специфически связывающих аминокислоту

РНК вируса	1	2	3	4
РНК вируса	Длина 3'-концевого фрагмента			Литература
ВЖМТ	Определена нуклеотидная последовательность 3'-концевого фрагмента РНК из 159 нуклеотидных остатков. 51 нуклеотид с 5'-конца фрагмента входит в состав цистрона структурного белка ВЖМТ, являясь его 3'-концом, за ним следует нетранслируемая последовательность из 108 нуклеотидов, чья функция, вероятно, связана с присоединением валлина к вирусной РНК.		Незначительное сходство с известными трНК <sup>вал</sup> , отсутствуют минорные основания, а также последовательность нуклеотидов G-U-U-C-R, которая является эквивалентом пентануклеотида G-T-Ψ-C-R, сохраняющегося в каждой трНК. На 3'-конце фрагмента имеется тетрануклеотид A-C-C-A-он, как и во всех до сих пор известных трНК. Приведены две вероятные вторичные структуры фрагмента, похожие на структуру «клеверного листа».	Briand и др., 1977
ВМБ	Исследован 3'-концевой фрагмент РНК из 112±3 нуклеотидных остатков. Определена нуклеотидная последовательность участка из 26 нуклеотидов с 5'-конца фрагмента, входящего, по-видимому, в состав 3'-конца гена структурного белка. За ним расположена последовательность нуклеотидов, которой приписывается трНК-подобная функция вирусной РНК.		Отсутствуют минорные основания, а также последовательность нуклеотидов G-U-U-C-R. Представлена вероятная вторичная структура фрагмента, имеющего некоторые особенности структуры «клеверного листа».	Silberklang и др., 1977
ВМБ	Определена нуклеотидная последовательность 3'-концевого фрагмента РНК, содержащего 59 нуклеотидных остатков.		Не включает бессмысленных кодонов и минорных оснований. На 3'-конце фрагмента расположена последовательность нуклеотидов G-A-A-C-C-A-он. Приведена вероятная вторичная структура фрагмента, похожая на структуру «клеверного листа».	Briand и др., 1976
ВМКБ (Russian strain)	Фрагмент длиной в 160 нуклеотидных остатков изолирован от 3'-конца всех четырех компонентов РНК. Нуклеотидная последовательность фрагментов РНК 3 и РНК 4 идентична, а фрагменты РНК 1 и РНК 2, вероятно, отличаются от фрагмента РНК 4 по двум и по одному нуклеотиду, соответственно.		3'-терминальным является тетрануклеотид A-C-C-A-он. Фрагменты всех четырех компонентов РНК присоединяют тирозин в реакции, катализируемой аминоксил-трНК-синтетазой из зародышевых клеток пшеницы.	Bastin и др., 1976

1	2	3	4
	<p>Определена нуклеотидная последовательность 3'-концевого фрагмента РНК 4 длиной в 337 нуклеотидов. Фрагмент содержит 3'-концевой участок гена структурного белка и нетранслируемую последовательность из 300 нуклеотидных остатков.</p>	<p>Для 3'-концевой последовательности РНК-4 из 110 нуклеотидов представлена вероятная вторичная структура, которая формально похожа на структуру «клеверного листа». Не содержит минорных оснований. На 3'-конце тетра-нуклеотид А-С-С-А-он.</p>	<p>Dasgupta и др., 1980</p>
<p>ВОМ (Strain Y) (Strain Q)</p>	<p>Исследована последовательность из 270 нуклеотидов с 3'-конца всех четырех РНК. Концевые последовательности РНК 3 и РНК 4 идентичны, также идентичны с ними первые 138 нуклеотидов в 3'-концевых участках РНК 1 и РНК 2 лишь с разницей в один и три нуклеотида соответственно. Менее выраженной гомология наблюдается между четырьмя РНК на участке с последовательностью нуклеотидов от 139 до 300.</p>	<p>У всех четырех компонентов РНК имеется нефосфорированный аденозин на 3'-конце.</p> <p>На 3'-конце РНК расположен аденозин или цитидин.</p>	<p>Takanami, Imaizumi, 1977 Symons, 1975</p>
	<p>Представлена вероятная вторичная структура для 3'-концевой последовательности из 138 нуклеотидных остатков. Наблюдается некоторое сходство этой структуры со структурой «клеверного листа». Не содержит минорных оснований. 3-терминальным является последовательность -С-С-А.</p>	<p>Отсутствуют минорные основания. Содержит 3-4 потенциальных бессмысленных кодонов: два UAA, один UAC и, по-видимому, один UGA, а в состав фрагмента входит также большое количество цитидиловой кислоты. На 3'-конце фрагмента находится последовательность нуклеотидов С-С-А(он). Вероятная вторичная структура фрагмента не похожа на структуру «клеверного листа».</p>	<p>Symons, 1979 Guilley и др., 1975</p>
<p>ВТМ</p>	<p>Изучен 3'-концевой фрагмент РНК из 74 нуклеотидных остатков. Отмечено присутствие в нем гомологических участков с РНК из дикого штамма ВТМ. Показано, что основные расхождения в нуклеотидной последовательности с РНК из дикого штамма имеются на 5'-конце фрагмента, так как 3'-конец фрагмента, так как 3'-конец фрагмента консервирован.</p>	<p>На 3'-конце расположен тетра-нуклеотид С-С-С-А(он). Вероятная вторичная структура фрагмента похожа на таковую для 3'-концевого фрагмента из дикого штамма ВТМ. Фрагмент содержит нуклеотидную последовательность U-U-C-G, которая характерна для Т-У-С ветви тРНК. Наблюдается некоторая гомология со вторичной структурой тРНК<sup>Тис</sup> из <i>S. typhimurium</i>.</p>	<p>Lamy и др., 1975</p>
<p>Strain GTAM</p>			

1	2	3	4
	<p>Расшифрована первичная структура 3'-концевого фрагмента РНК длиной в 1000 нуклеотидов. Фрагмент содержит ген структурного белка, за которым расположена нетранслируемая последовательность из 204 нуклеотидов.</p>	<p>Представлена вероятная вторичная структура для 3'-концевой последовательности из 125 нуклеотидов. Наблюдается незначительное сходство со вторичной структурой тРНК<sup>Met</sup> из <i>E. coli</i>. Отсутствуют минорные основания, но фрагмент содержит последовательность нуклеотидов U-U-U-C-G. 3-терминальным является тетрануклеотид C-C-C-A-он.</p>	<p>Guilley и др., 1979</p>
ВХККГ	<p>Проведен олигонуклеотидный анализ 3'-концевого фрагмента РНК длиной в 160 нуклеотидных остатков.</p>	<p>На 3'-конце находится тетрануклеотид A-C-C-A(он). Фрагмент акцептирует тирозин в присутствии аминоксил-тРНК-синтетазы из зародышевых клеток пшеницы.</p>	<p>Bastin и др., 1976</p>

все использованные синтетазы — реакция специфического связывания валина с РНК ВЖМТ катализируется одинаково эффективно бактериальным, дрожжевым, растительным и животным энзимом (Pinck и др., 1970; Yot и др., 1970; Haenni и др., 1973; Kohl, Hall, 1974; Giege и др., 1978). Следует отметить, что РНК ВЖМТ является единственной РНК, которая аминоацилируется бактериальной аминоацил-тРНК-синтетазой. По мнению некоторых авторов, это объясняется тем, что ВЖМТ является вирусом, который связан с пластидами в растительной клетке (Kohl, Hall, 1974), а последние, как известно, имеют прокариотическую белоксинтезирующую систему (Bove и др., 1967). Дрожжевой энзим катализирует присоединение соответствующей аминокислоты только РНК ВЖМТ и РНК ВТМ (Yot и др., 1970; Öberg, Philipson, 1972; Kohl, Hall, 1974; Carriquiry, Litvak, 1974; Giege и др., 1978), а аминоацилирование РНК ВОМ, РНК ВККБ, РНК ВМКБ, и РНК ВХКК наблюдается в присутствии эукариотических синтаз растительного происхождения (Kohl, Hall, 1974). В случае аминоацилирования РНК ВТМ низкой активностью обладали аминоацил-тРНК-синтетазы, выделенные из бобов и пшеницы (Litvak и др., 1973; Kohl, Hall, 1974), а эффективными катализаторами реакции связывания гистидина с РНК ВТМ оказались синтетазы, выделенные из дрожжей, печени крысы или мыши и из КВ клеток (Öberg, Philipson, 1972; Litvak и др., 1973; Carriquiry, Litvak, 1974; Kohl, Hall, 1974; Salomon и др., 1976).

Кроме того, реакция аминоацилирования вирусной РНК зависит от рН реакционной смеси, а также от концентрации ионов магния и некоторых одновалентных ионов. Показано, что КСl в концентрации 40 мМ ингибирует связывание валина с РНК ВЖМТ, катализируемое бактериальным энзимом, но не влияет на акцепторную активность тРНК. Показано также, что присутствие КСl в реакционной смеси не является обязательным, когда используются энзимы, выделенные из эукариотов, в частности из бобов (Kohl, Hall, 1974). Более того, имеются данные, показывающие, что присутствие КСl в реакционной смеси подавляет синтез гистидил-РНК ВТМ под действием высокоочищенной гистидил-тРНК-синтазы, выделенной из печени крысы, так как в аналогичной системе оптимальный синтез гистидил-тРНК наблюдается при концентрации КСl равной 140 мМ (Salomon и др., 1976).

### **Структурное сходство последовательности нуклеотидов, примыкающих к 3'-концу вирусной РНК, с тРНК**

Исходя из сказанного, следовало ожидать, что 3'-концевая последовательность нуклеотидов РНК некоторых растительных вирусов, по-видимому, имеет структурное сходство с таковой тРНК. В табл. 3 представлены данные о нуклеотидной последовательности на 3'-конце РНК растительных вирусов, которые являются специфическими акцепторами аминокислот в присутствии аминоацил-тРНК-синтаз. Как видно из представленных данных, между последовательностями нуклеотидов в подлинных тРНК и на 3'-конце вирусной РНК существует незначительное сходство. Во-первых, 3'-концевые фрагменты вирусных РНК не содержат минорных оснований (Guilley и др., 1975; Briand и др., 1976; Briand и др., 1977; Silberklang и др., 1977; Guilley и др., 1979; Symons, 1979; Dasgupta, Kaesberg, 1977; Dasgupta и др., 1980). Во-вторых, в них отсутствует последовательность нуклеотидов G-U-U-C-R, в которой одно или два пиримидиновых основания модифицированы и которая имеется в псевдоуридиновой петле всех известных тРНК, уча-

ствующих в биосинтезе белка (Sprinzl и др., 1978; Goddard, 1977). Исключение составляют те тРНК, которые используются при инициации цитоплазматического синтеза белка у эукариот (Simsek, Raj Bhandary, 1972; Goddard, 1977). Следует отметить, что РНК GTAMV является единственной известной в настоящее время вирусной РНК, 3'-концевой фрагмент которой содержит тетра nukлеотид G-U-U-C (Lamy и др., 1975).

Наиболее подробно изучена нуклеотидная последовательность вблизи 3'-конца у РНК ВЖМТ (Briand и др., 1977; Silberklang и др., 1977). Установлено, что на 3'-конце РНК ВЖМТ локализован тетра nukлеотид А-С-С-Аон, как у всех до сих пор известных тРНК<sup>вал</sup> (Sprinzl и др., 1978). Предполагается, что за связывание валина с 3'-концом РНК ВЖМТ в присутствии специфической аминоацил-тРНК-синтетазы ответственна последовательность из 110 нуклеотидных остатков на 3'-конце молекулы РНК ВЖМТ, хотя не исключается участие также более отдаленных участков РНК (Briand и др., 1977). Показано также, что участку РНК, который ответствен за специфическое связывание валина с 3'-концевым аденозином РНК ВЖМТ, предшествует ген структурного белка, при этом терминатором является кодон UAA, за которым следуют еще четыре бессмысленных кодона, расположенных нерегулярно, но в фазе считывания вирусной РНК (Silberklang и др., 1977; Briand и др., 1977). Надо отметить, что, несмотря на отсутствие в 3'-концевом фрагменте РНК ВЖМТ последовательности нуклеотидов G-U-U-C-R, валил-РНК ВЖМТ, по данным нескольких авторов, может играть роль донора валина при синтезе пептидной связи (Наеппи и др., 1973), а также может связываться с факторами элонгации EF I из зародышевых клеток пшеницы или с EF-T<sub>u</sub> из *E. coli* (Litvak и др., 1973). Последовательность нуклеотидов G-U-U-C-R является эквивалентом последовательности тетра nukлеотида G-Ψ-U-C-R, который, по имеющимся в литературе данным, играет существенную роль при взаимодействии тРНК с рибосомой (50 S-субчастицей) (Cox, 1977).

Основываясь на принципе максимального спаривания комплементарных оснований, представлено несколько моделей вторичной структуры для нуклеотидной последовательности вблизи 3'-конца РНК ВЖМТ (Briand и др., 1977; Silberklang и др., 1977). Оказалось, что все полученные таким образом фигуры несколько напоминают лист клевера, т. е. вторичная структура цепочки 3'-концевых фрагментов РНК ВЖМТ формально похожа на вторичную структуру тРНК. Например, обе вторичные структуры (А и В), составленные для 3'-концевого фрагмента РНК ВЖМТ длиной 159 нуклеотидных остатков, имеют четыре спирализованных участка, которые могут быть условно сопоставлены с дегидроуридиновой, антикодоновой, Т-Ψ-С ветвями и акцепторным стеблем вторичной структуры подлинных тРНК. У представленных структур также отмечена некоторая гомология со вторичной структурой эукариотической тРНК<sup>вал</sup>, в частности в антикодоновой петле и на конце акцепторного стебля (Briand и др., 1977). По мнению авторов, все четыре ветви вторичной структуры 3'-конца РНК ВЖМТ в модели А могут быть организованы в L-образную третичную структуру, которая хорошо согласуется со структурой, предложенной для третичной структуры тРНК<sup>фен</sup> (Kim и др., 1974; Robertus и др., 1974).

Показано, что вторичная структура 3'-концевого фрагмента РНК ВМТ длиной около 70 нуклеотидных остатков представляется в виде двух шпилькообразных участков, которые локализованы вблизи 3'-конца и соединены между собой однопольными участками (Guilley и др., 1975; Lamy и др., 1975). Возможно, что в случае РНК ВМТ для взаимо-

действия вирусной РНК с соответствующей аминоксил-тРНК-синтетазой не требуется наличия на ее 3'-конце вторичной структуры типа клеверного листа. Не исключено, однако, что низкая активность РНК ВТМ как специфического акцептора гистидина обусловлена отчасти неспособностью ее 3'-концевой нуклеотидной последовательности образовать вторичную структуру, похожую на вторичную структуру тРНК (Guilley и др., 1975). В то же время 3'-концевой фрагмент РНК ВЖМТ имеет вторичную структуру, близкую структуре клеверного листа. Высказывается мнение, что поэтому эффективность аминокислотирования РНК ВЖМТ может достигать 100% (Guilley и др., 1975; Briand и др., 1977; Giege и др., 1978). Имеются также данные, свидетельствующие о том, что варибельность количества связываемого гистидина при аминокислотировании РНК из различных штаммов ВТМ обусловлена, по-видимому, разной укладкой полинуклеотидной цепи при сворачивании молекулы РНК (Carriquiry, Litvak, 1974). Кроме того, имеются сведения, показывающие, что 3'-концевой фрагмент РНК GTAMV из 74 нуклеотидных остатков можно сложить во вторичную структуру, которая обнаруживает некоторую гомологию со вторичной структурой тРНК<sup>His</sup> из *S. typhimurium*, в частности, в Т-Ψ-С и в дигидроуридиновой петле (Lamy и др., 1975). К сожалению, в литературе отсутствуют данные, подтверждающие роль этих участков вторичной структуры тРНК в узнавании аминоксил-тРНК-синтетаз (Goddard, 1977).

Можно ожидать, что на 3'-конце РНК родственных вирусов имеются гомологичные последовательности оснований. Действительно, в литературе существуют данные, указывающие на значительную гомологию в последовательности нуклеотидов в 3'-концевых фрагментах РНК ВЖМТ и РНК ВМБ (Briand и др., 1976). Однако сравнение 3'-концевых фрагментов РНК ВХККГ и РНК ВМКБ (группа бромовирусов) длиной в 160 нуклеотидных остатков выявило множество различий и лишь незначительное сходство в последовательности нуклеотидов, что не мешает этим фрагментам специфически связывать тирозин (Bastin и др., 1976). Также наблюдается незначительное сходство в последовательности оснований среди РНК группы тимовирусов (Kummert и др., 1978; Kummert, Kettmann, 1978) и у различных штаммов ВТМ (Vanderwalle, Siegel, 1976).

### Биологическая роль специфического связывания аминокислоты с 3'-концом вирусной РНК

Физиологическое значение реакции аминокислотирования 3'-конца РНК растительных вирусов остается до сих пор невыясненным. Высказан ряд предположений, в которых тРНК-подобную роль 3'-концевой последовательности вирусной РНК преимущественно связывают с процессами транскрипции или трансляции вирусной РНК, хотя не исключается и структурная роль ее, т. е. участие в самосборке вириона (Hall и др., 1972; Chen, Hall, 1973; Haenni и др., 1973; Litvak и др., 1973; Shih и др., 1974; Bastin, Hall, 1976; Hall, Wepprich, 1976; Hall и др., 1979). Требуется ли специфическое связывание аминокислоты для проявления инфекционности вирусной РНК? В литературе не имеется данных, подтверждающих эту точку зрения, однако показано, что модифицирование 3'-концевой последовательности вирусной РНК приводит к утрате ее биологической активности, как и способности связывать аминокислоту в присутствии аминоксил-тРНК-синтетазы (Salomon и др., 1976; Kohl, Hall, 1977; Salomon и др., 1978).

### Участие аминоацилированной вирусной РНК в трансляционных процессах вирусной РНК

Показано, что блокирование акцепторной функции РНК ВМКБ методом периодатного окисления не мешает вирусной РНК направлять синтез структурного белка *in vitro*, т. е. аминоацилирование не существенно для считывания информации с вирусной РНК (Shih и др., 1974). При этом показано, что РНК ВМБ и валил-РНК ВМБ стимулируют в одинаковой мере включение аминокислот в *in vitro* белоксинтезирующей системе, приготовленной из зародышевых клеток пшеницы и продукты трансляции обеих РНК являются идентичными (Hall и др., 1979). Имеются также сведения, что в присутствии синтетического сополимера поли(GUC)рибосомы из *E. coli* связывают валил-РНК ВЖМТ (Haenni и др., 1973). В то же время валил-РНК ВЖМТ является плохим донором валина в процессе синтеза белка: например, в *in vitro* белоксинтезирующей системе, приготовленной из *E. coli*, валин включается в растущую пептидную цепь из валил-тРНК<sup>вал</sup> в 50 раз активнее, чем из валил-РНК ВЖМТ (Haenni и др., 1973). Аналогичным образом плохим донором тирозина является тирозил-РНК ВКМБ в *in vitro* белоксинтезирующей системе, выделенной из зародышевых клеток пшеницы и запрограммированной вирусной, растительной или синтетической РНК (Chen, Hall, 1973). Однако недавно были получены данные, свидетельствующие о том, что валил-РНК ВМБ, а также тирозил-РНК ВКМБ не функционируют в роли донора аминокислоты при синтезе белка (Hall и др., 1979).

Кроме того, показано, что валил-РНК ВЖМТ и гистидил-РНК ВТМ взаимодействуют с фактором элонгации пептидной цепи *EF I* из зародышевых клеток пшеницы и с ГТФ, так как неаминоацилированные вирусные РНК комплекса не образуют (Litvak и др., 1973). Аналогичным образом реагирует с *EF I*-ГТФ тирозил-РНК ВМКБ и в результате этого наблюдается незначительная стабилизация связи между аминокислотой и вирусной РНК, однако стабильного комплекса, как в случае тРНК, не образуется (Bastin, Hall, 1976). С. Литвак и др. высказали предположение, что, по-видимому, в результате взаимодействия аминоацилированной вирусной РНК с фактором элонгации хозяина создаются условия для преимущественного считывания вирусной РНК, т. е. третичный комплекс *EF I*—ГТФ—аминоацилированная вирусная РНК обеспечивает правильное расположение инициаторной последовательности вирусной РНК на рибосоме, а именно, в тРНК связывающем центре рибосомы (Litvak и др., 1973), поскольку установлено, что бактериальный *EF-T<sub>u</sub>* и эукариотический *EF1* взаимодействуют с маленькой субчастицей, ответственной за связывание тРНК (Rao, Moldave, 1969). Высказано также предположение, что аминоацилированная вирусная РНК выполняет роль вирусспецифической тРНК, которая преимущественно включает определенную аминокислоту в структурный белок данного вируса или, может быть, в какой-нибудь другой вирусспецифический белок (Chen, Hall, 1973). Некоторые авторы считают, что аминоацилированные вирусные РНК могут играть роль бессмысленного донора аминокислоты в трансляционном процессе и таким образом способствовать дислокации хозяйской мРНК и вновь синтезированных белков с полисом (Chen, Hall, 1973; Hall, Wepprich, 1976).

Следует подчеркнуть, что в настоящее время нет экспериментальных данных, которые дали бы предпочтение одному из предложенных вспомогательных функций для аминоацил-вирусной РНК в трансляционном процессе вирусной РНК.

## Связь между аминокцилированием и репликацией вирусной РНК

Высказано несколько предположений относительно роли тРНК-подобной функции РНК растительных вирусов в репликационных процессах (Litvak и др., 1973; Hall и др., 1972; Shih и др., 1974; Hall, Wepprich, 1976). Например, предполагается, что аминокцилирование 3'-конца вирусной РНК способствует ее узнаванию репликазой, или может оказаться существенным для того, чтобы отличить в репликационном процессе плюс- и минус-цепи вирусной РНК (Litvak и др., 1973). Отметим, что такой подход к объяснению роли новой функции вирусной РНК растительных вирусов, отчасти обусловлен успехами в области репликации фагов и онкорнавирусов. В 1971 г. Р. Вахтер высказал мысль о том, что нуклеотидная последовательность на 3'-конце РНК фагов может образовывать структуру, подобную структуре тРНК (De Wachter и др., 1971). В то же время было установлено, что тРНК является затравкой при синтезе ДНК по матрицам нативных онкорнавирусных РНК (см. обзор Taylor, 1977), причем в случае онкорнавирусов птиц эту функцию выполняет клеточная тРНК<sup>трип</sup>, а в случае вирусов мышей — клеточная тРНК<sup>про</sup>. Также стало известно, что бактериальные факторы элонгации *EF-T<sub>u</sub>* и *EF-T<sub>s</sub>* принимают участие в репликации РНК фага Q $\beta$ , являясь идентичными с III и IV субчастицами репликазы, ответственной за синтез РНК фага (Blumenthal и др., 1972). По аналогии с этим была выдвинута гипотеза, что реакция образования комплекса *EF I*—ГТФ—аминокцилированная вирусная РНК способствует ассоциации вирусной РНК с субчастицами репликазы и таким образом подавляет ее связывание рибосомами, т. е. подавляет инициацию трансляции вирусной РНК (Litvak и др., 1973; Hall, Wepprich, 1976). Однако следует отметить, что в настоящее время в литературе не имеется прямых экспериментальных данных, которые свидетельствовали бы в пользу точки зрения, что последовательность нуклеотидов, примыкающих к 3'-концу вирусной РНК, играет роль участков, узнаваемых энзимом РНК-синтетазой, ответственных за репликацию вирусной РНК растительных вирусов.

## Заключение

Таким образом, РНК ряда фитовирусов специфически связывает аминокислоту со своим 3'-концом в реакциях, катализируемых аминокцил-тРНК-синтетазами. По своим физико-химическим характеристикам реакция образования аминокцилированной вирусной РНК аналогична реакции аминокцилирования индивидуальных тРНК. Кроме того, показано, что РНК некоторых фитовирусов, например, РНК ВЖМТ, узнается и другими тРНК-специфическими энзимами: тРНК нуклеотидил-трансферазой, которая катализирует реакцию присоединения аденозина и цитозина к 3'-концу вирусной РНК и которая является строго избирательной в отношении тРНК (Benicourt, Haenni, 1974; Busto и др., 1976) эндонуклеазой *P*, ответственной за созревание тРНК (Prochiantz и др., 1973), а также *N*-ациламиноацил-тРНК гидролазой (Yot и др., 1970). Однако следует отметить, что все рассмотренные выше работы о связывании аминокислоты с вирусной РНК были проведены в условиях *in vitro*. И лишь недавно получены данные, свидетельствующие о том, что валил-РНК ВЖМТ образуется *in vivo* в ооцитах *Xenopus laevis* после введения в ооциты РНК ВЖМТ (Joshi и др., 1978 а, б). Отмечено также в *in vivo* взаимодействие тРНК нуклеотидилтрансферазы из *Xenopus laevis* с РНК ВЖМТ.



В то время, когда тРНК-подобная функция 3'-конца вирусной РНК фитовирусов подтверждается многими исследователями, имеется в литературе относительно мало данных о структурном сходстве между тРНК и 3'-концевыми фрагментами вирусных РНК. Установлено, причем вполне убедительно, что для проявления акцепторной активности требуется наличие на 3'-конце вирусной РНК последовательности оснований -ССА (Richards и др., 1978; Pinck, Pinck, 1979; Koper-Zwarthoff, Vol, 1979).

В настоящее время наиболее вероятным представляется предположение, что тРНК-подобная функция вирусной РНК реализуется на стадии репликации вирусной РНК. В пользу такого предположения говорят косвенные данные о консервированной в ходе эволюции 3'-концевой последовательности нуклеотидов в РНК у вирусов с функционально фрагментированным геномом (Bastin и др., 1976; Hall, 1978; Gould, Symons, 1978; Symons, 1979). Перспективными, по-видимому, в этой области представляются исследования *in vivo* с использованием подходящих модельных систем, как, например, ооциты *Xenopus laevis* или синхронно-инфицированные протопласты (Loesch-Fries и др., 1978). Возможно, что именно такой подход позволяет подойти к детальному изучению всех метаболических процессов в клетке следующих за стадией инфицирования нативными и 3'-модифицированными вирусными РНК, и может способствовать выяснению роли тРНК-подобной функции вирусной РНК в репродукционном цикле фитовирусов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Bastin, M., Hall, T. C. Interaction of elongation factor 1 with aminoacylated brome mosaic virus and tRNA's. — *J. Virol.*, 1976, 20, 117—122.
- Bastin, M., Dasgupta, R., Hall, T. C., Kaesberg, P. Similarity in structure and function of the 3'-terminal region of the four brome mosaic viral RNAs. — *J. Mol. Biol.*, 1976, 103, 737—745.
- Benicourt, C., Haenni, A. L. Recognition of TMV RNA by nucleotidyl-transferase. — *FEBS Letters*, 1974, 54, 1093—1094.
- Blumenthal, T., Landers, T. A., Weber, K. Bacteriophage Q replicase contains the protein biosynthesis elongation factors EF<sub>Tu</sub> and EF<sub>Ts</sub>. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1972, 69, 1313—1317.
- Bove, J. M., Bove, C., Rondot, M. J., Morel, G. Chloroplasts and virus RNA synthesis. — *Biochem. Chloroplasts*, 1967, 2, 329—339.
- Briand, J. P., Richards, K. E., Bouley, J. P., Witz, J., Hirth, L. Structure of the amino acid accepting 3'-end of high-molecular-weight egg-plant mosaic virus RNA. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1976, 3, 737—741.
- Briand, J. P., Jonard, G., Guillely, H., Richards, K., Hirth, L. Nucleotide sequence (n=159) of the amino-acid-accepting 3'-OH extremity of turnip-yellow-mosaic-virus RNA and the last portion of its coat-protein cistron. — *Eur. J. Biochem.*, 1977, 72, 453—463.
- Busto, P., Carriquiry, E., Tarrago-Litvak, L., Castroviejo, M., Litvak, S. Interactions of plant viral RNAs and tRNA nucleotidyl transferase. — *Ann. Microbiol.*, 1976, 126 A, 39—46.
- Dasgupta, R., Ahlquist, P., Kaesberg, P. Sequence of the 3' untranslated region of brome mosaic virus coat protein messenger RNA. — *Virology*, 1980, 104, 339—346.
- Carriquiry, E., Litvak, S. Further studies on the enzymatic aminoacylation of TMV RNA by histidine. — *FEBS Letters*, 1974, 38, 287—281.
- Chen, J. M., Hall, T. C. Comparison of tyrosyl transfer ribonucleic acid and brome mosaic virus tyrosyl ribonucleic acid as amino acid donors in protein synthesis. — *Biochemistry*, 1973, 12, 4570—4574.
- Cox, R. A. Structure and function of prokaryotic and eukaryotic ribosomes. — *Progr. Biophys. Molec. Biol.*, 1977, 32, 193—231.
- Fraenkel-Conrat, H., Salvato, M., Hirth, L. The translation of large plant viral RNAs. — *Comp. Virol.*, 1977, 11, 201—235.
- Giege, R., Briand, J.-P., Mengyal, R., Ebel, J.-P., Hirth, L. Valylation of two RNA components of turnip-yellow mosaic virus and specificity of the tRNA aminoacylation reaction. — *Eur. J. Biochem.*, 1978, 84, 251—256.

- Goddard, J. P. The structure and functions of transfer RNA. — *Progr. Biophys. Molec. Biol.*, 1977, 32, 233—308.
- Gould, A. R., Symons, R. H. Alfalfa mosaic virus RNA. Determination of the sequence homology between the four RNA species and a comparison with the four RNA species of cucumber mosaic virus. — *Eur. J. Biochem.*, 1978, 91, 269—278.
- Guilley, H., Jonard, G., Hirth, L. Sequence of 71 nucleotides at the 3'-end of tobacco mosaic virus RNA. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1975, 72, 864—868.
- Guilley, H., Jonard, G., Kukla, B., Richards, K. E. Sequence of 1000 nucleotides at the 3' end of tobacco mosaic virus RNA. — *Nucl. Acids Res.*, 1979, 6, 1287—1308.
- Haenni, A. L., Prochiantz, A., Bernard, O., Chapeville, F. TYMV Valyl-RNA as an amino-acid donor in protein biosynthesis. — *Nat. New Biol.*, 1973, 241, 166—168.
- Hall, T. C. Conservation of aminoacylatable sequences of viral RNAs during evolution. — *Int. Virol. IV. Abstr. of the 4th Int. Congress of Virol.*, Hague, 1978, 619.
- Hall, T. C., Shih, D. S., Kaesberg, P. Enzyme-mediated binding of tyrosine to brome-mosaic-virus ribonucleic acid. — *Biochem. J.*, 1972, 129, 969—976.
- Hall, T. C., Wepprich, R. K., Davies, J. W., Weathers, L. G., Semancik, J. S. Functional distinctions between the ribonucleic acids from citrus exocortis viroid and plant viruses: cell-free translation and aminoacylation reactions. — *Virology*, 1974, 61, 486—492.
- Hall, T. C., Wepprich, R. K. Functional possibilities for aminoacylation of viral RNA in transcription and translation. — *Ann. Microbiol.*, 1976, 127 A, 143—152.
- Hall, T. C., Pinck, M., Ma, Y., Durantion, H. M., German, T. L. Aminoacylation and messenger functions of eggplant mosaic virus RNA. — *Virology*, 1979, 97, 354—365.
- Joshi, S., Hubert, E., Huez, G., Marbaix, G., Haenni, A. L. A. In vivo aminoacylation of TYMV RNA injected into amphibian oocytes. — *Int. Virol. IV. Abstr. of the 4th Int. Congress of Virol.*, Hague, 1978, 315.
- Joshi, S., Haenni, A. L., Hubert, E. In vivo aminoacylation and processing of turnip yellow mosaic virus RNA in *Xenopus laevis* oocytes. — *Nature*, 1978, 275, 339—341.
- Kim, S., Suddath, F. L., Quigley, G. J., McPherson, A., Sussmann, J. L., Wang, A. H. J., Seeman, N. C., Rich, A. Three-dimensional structure of yeast phenylalanine transfer RNA. — *Science*, 1974, 185, 435—440.
- Kohl, R. J., Hall, T. C. Aminoacylation of RNA from several viruses: amino acid specificity and differential activity of plant, yeast and bacterial synthetases. — *J. Gen. Virol.*, 1974, 25, 257—261.
- Kohl, R. J., Hall, T. C. Loss of infectivity of brome mosaic virus RNA after chemical modification of the 3' or 5' terminus. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, 74, 2682—2686.
- Koper-Zwarthoff, E. C., Bol, J. F. 3' terminal nucleotide sequence of alfalfa mosaic virus RNA-4. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, 76, 1114—1117.
- Kummert, J., Lacroix, J. P., Semal, J. Heterology among the RNAs of tymoviruses as revealed by RNA-RNA hybridizations. — *Virology*, 1978, 89, 306—308.
- Kummert, J., Kettmann, R. Reverse transcription of turnip yellow mosaic virus RNA primed with calf thymus DNA hydrolysate: characterization of the purified DNA product. — *Nucl. Acids Res.*, 1978, 5, 4423—4430.
- Lamy, D., Jonard, G., Guilley, H., Hirth, L. Comparison between the 3'-OH end RNA sequence of two strains of tobacco mosaic virus (TMV) which may be aminoacylated. — *FEBS Letters*, 1975, 60, 202—204.
- Litvak, S., Carre, D. S., Chapeville, F. TYMV RNA as a substrate of the tRNA nucleotidyltransferase. — *FEBS Letters*, 1970, 11, 316—318.
- Litvak, S., Tarrago, A., Tarrago-Litvak, L., Allende, J. E. Elongation factor-viral genome interaction dependent on the aminoacylation of TYMV and TMV RNAs. — *Nat. New Biol.*, 1973, 241, 88—90.
- Loesch-Fries, L. S., Kiberstis, P. A., Hall, T. C. The use of protoplasts for functional tests of modified aminoacylatable viral RNAs. — *Int. Virol. IV. Abstr. of the 4th Int. Congress of Virol.*, Hague, 1978, 267.
- Nirenberg, M. W., Matthaei, J. H. The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1961, 47, 1588—1602.
- Pinck, M., Yot, P., Chapeville, F., Durantion, H. M. Enzymatic binding of valine to the 3' end of TYMV RNA. — *Nature*, 1970, 226, 954—956.

- Pinck, M., Chan, S.-K., Genevaux, M., Hirth, L., Duranton, H. Valine specific tRNA like structure in RNAs of two viruses of turnip yellow mosaic virus group. — *Biochimie*, 1972, 54, 1093—1094.
- Pinck, M., Genevaux, M., Duranton, H. Studies on the amino acid acceptor activities of the eggplant mosaic viral RNA and its satellite RNA. — *Biochimie*, 1974, 56, 423—428.
- Pinck, M., Hall, T. C. Aminoacylation properties of eggplant mosaic virus RNA. Separation and association of tRNAs. — *J. Virol.*, 1978, 88, 281—285.
- Pinck, L., Pinck, M. Sequence homology at the 3' ends of alfalfa mosaic virus RNAs. — *FEBS Letters*, 1979, 107, 61—65.
- Index of Plant Virus Diseases. Agriculture Handbook N 307. Washington, 1966.
- Prochiantz, A., Haenni, A. L. TYMV RNA as substrate of the tRNA maturation endonuclease. — *Nat. New Biol.*, 1973, 241, 168—170.
- Rao, P., Moldave, K. Interactions of polypeptide chain elongation factors with rat liver ribosomal subunits. — *J. Mol. Biol.*, 1969, 46, 447—457.
- Richards, K. E., Jonard, G., Jacquemond, M., Lot, H. Nucleotide sequence of cucumber mosaic-associated RNAs. — *Virology*, 1978, 89, 395—408.
- Robertus, J. D., Ladner, J. E., Finch, J. T., Rhodes, D., Brown, R. S., Clark, B. F. S., Klug, A. Structure of yeast phenylalanine tRNA at 3A resolution. — *Nature*, 1974, 250, 546—551.
- Salomon, R., Sela, I., Soreq, H., Givon, D., Littauer, U. Z. Enzymatic acylation of histidine of tobacco mosaic virus RNA. — *Virology*, 1976, 71, 74—84.
- Salomon, R., Bar-Joseph, M., Soreq, H., Littauer, U. Z. Translation in vitro of carnation mottle virus RNA. — *Virology*, 1978, 90, 288—298.
- Sela, I. Tobacco enzyme-cleaved fragments of TMV RNA specifically accepting serine and methionine. — *Virology*, 1972, 49, 90—94.
- Shih, D. S., Kaesberg, P., Hall, T. C. Messenger and aminoacylation functions of brome mosaic virus RNA after chemical modification of 3' terminus. — *Nature*, 1974, 249, 353—355.
- Silberklang, M., Prochiantz, A., Haenni, A.-L., Raj Bhandary, U. L. Studies on the sequence of the 3' terminal region of turnip-yellow-mosaic-virus RNA. — *Eur. J. Biochem.*, 1977, 72, 465—478.
- Simsek, M., Raj Bhandary, U. L. The primary structure of yeast initiator transfer ribonucleic acid. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1972, 49, 508—515.
- Sprinzl, M., Grüter, F., Gauss, D. H. Collection of published tRNA sequences. — *Nucl. Acids Res.*, 1978, 5, r15—r27.
- Symons, R. H. Cucumber mosaic virus contains 7-methylguanosine at the 5' terminus of all four RNA species. — *Mol. Biol. Reports*, 1975, 2, 277—286.
- Symons, R. H. Extensive sequence homology at the 3' termini of the four RNAs of cucumber mosaic virus. — *Nucl. Acids Res.*, 1979, 7, 825—837.
- Taylor, J. M. An analysis of the role of tRNA species as primers for the transcription into DNA of RNA tumor virus genomes. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, 473, 57—71.
- Takanami, Y., Imazumi, S. Identical 3' termini of the four RNA sequences of cucumber mosaic virus. — *Virology*, 1977, 77, 853—855.
- Vanderwalle, M. J., Siegel, A. A. A study of nucleotide sequence homology between strains of tobacco mosaic virus. — *Virology*, 1976, 73, 413—418.
- De Wachter, R., Merregaert, J., Vandenberghe, A., Contreras, R., Fiers, W. Studies on bacteriophage MS2. The nucleotide sequence preceding the first cistron. — *Eur. J. Biochem.*, 1971, 22, 400—414.
- Yot, P., Pinck, M., Haenni, A.-L., Duranton, H. M., Chapeville, F. Valine-specific tRNA-like structure in turnip yellow mosaic virus RNA. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1970, 67, 1345—1352.
- Öberg, B., Philipson, L. Binding of histidine to tobacco mosaic virus RNA. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1972, 48, 927—932.

Lea MEREMAA

## AMINOHAPPE SEOSTUMINE TAIMEVIIRUSE RNA 3' OTSAGA

Artiklis on esitatud ülevaade kirjandusest, mis käsitleb aminohappe spetsiifilist seostumist mõnede fütoviiruste genoomiga. 1970. aastal avastati, et fütoviiruse RNA-l on peale üldtuntud informatsioonilise rolli veel üks funktsioon. Selgus, et naeri koldmosaiigi viirusest eraldatud RNA ahela 3' otsaga seostub *in vitro* tingimustes, mis on sarnased aminoatsüül-tRNA sünteesi tingimustega, aminohape valiin. Praegu on teada kümme-kond taimeviirust, mille RNA-d spetsiifiliselt seostavad teatud kindlat aminohapet. Tõenäoliselt liitub aminohape viiruse RNA 3' terminaalse adenosiniiga estersideme abil. On selgunud, et viiruse RNA tunnevad ära teisedki tRNA-spetsiifilised ensüümid, nagu nukleotiidültransferaas, endonukleas P ja N-atsüül-aminoatsüül-tRNA hüdrolaas. Mõnede viiruste RNA-de 3' terminaalse fragmentide (pikkused võrreldavad tRNA ahela pikkusega) nukleotiitse järjestuse võrdlusest vastavate tRNA-de nukleotiitse järjestusega ilmneb, et primaarses struktuuris on sarnasus väike, sekundaarsed struktuurid aga mõnel juhul meenutavad formaalselt tRNA ristikulehekujut. Fütoviiruse RNA tRNA-ga sarnase rolli bioloogilist tähtsust veel ei teata: kõik siiani esitatud spekulatsioonid, mis seostavad selle viiruse RNA transkriptsiooni- ja translatsiooniprotsessidega, pole leidnud eksperimentaalset kinnitust.

Lea MEREMAA

## BINDING OF AMINO ACID TO THE 3'-TERMINAL OF RNA OF PLANT

Pinck et al. have first shown that RNA extracted from turnip yellow mosaic virus binds valine when incubated with ATP and cell-free extracts from *E. coli* that are devoid of nucleic acids (Pinck et al., 1970). At present, RNA from at least ten viruses, representing more than four different groups, is known to specifically bind amino acid with eukaryotic aminoacyl-tRNA synthetase preparations. This phenomenon is also observed *in vivo*. The ability of synthetase enzymes from heterologous sources to catalyze the binding of amino acid to viral RNA is variable. It is concluded that the amino acid binding site is located at the 3'-terminal adenosine of virus RNA, and the esterification reaction appears to occur with a relatively intact RNA molecule. The similarity of the aminoacylation reaction to that exhibited by tRNA and the ability of plant virus RNA to interact with several other tRNA specific enzymes (tRNA nucleotidyl transferase, tRNA hydrolase and endonuclease P) have been widely attributed to the extremity of such molecules being folded into a tRNA-like structure, but recent studies of several aminoacid-accepting viral RNAs have revealed only a few points of resemblance to a tRNA. The significance of aminoacylation of viral RNA is still obscure. Several speculations are presented by several authors concerning the aminoacylation in viral translational and transcriptional mechanisms. The current evidence relating to these speculations is presented and discussed.