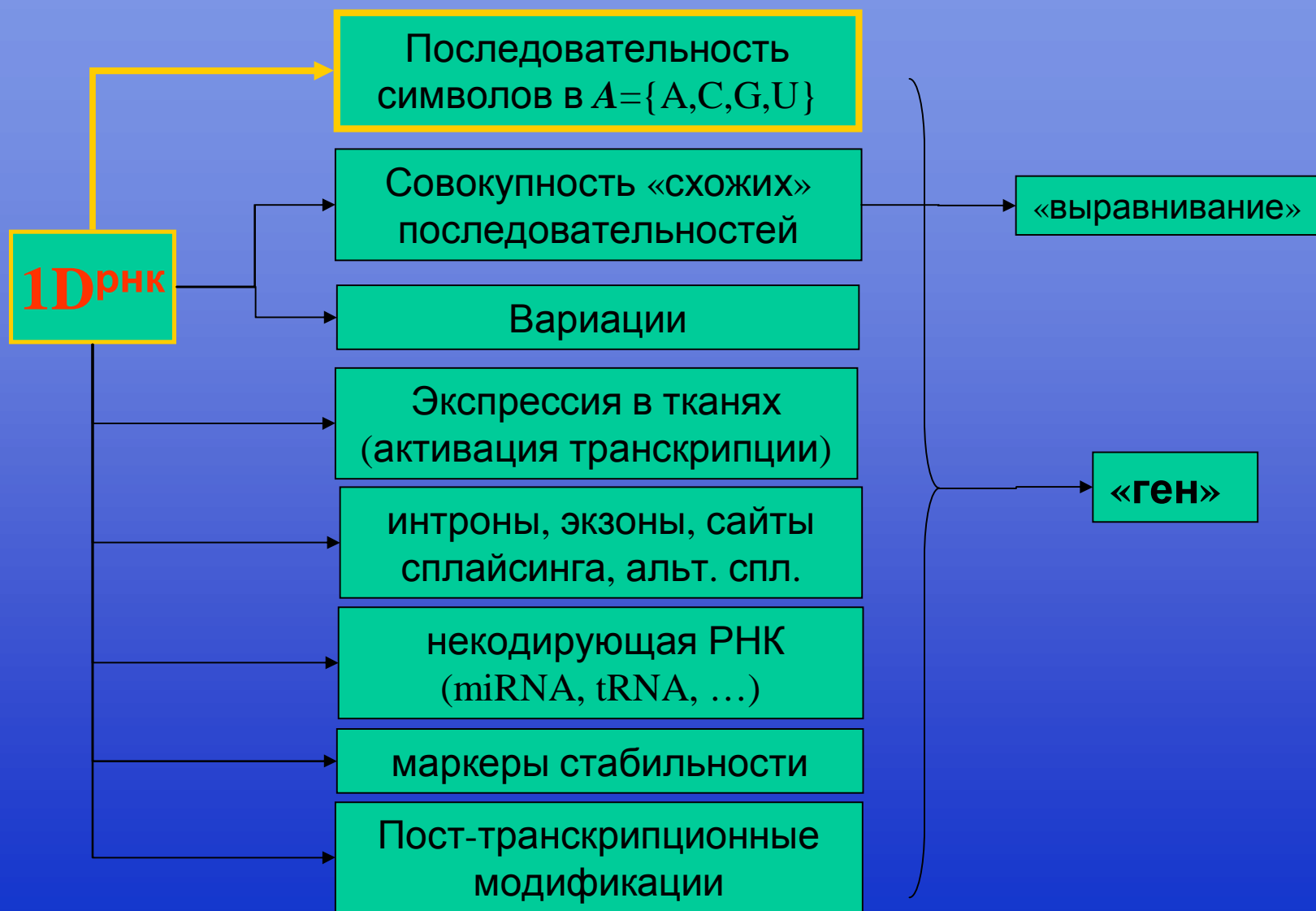
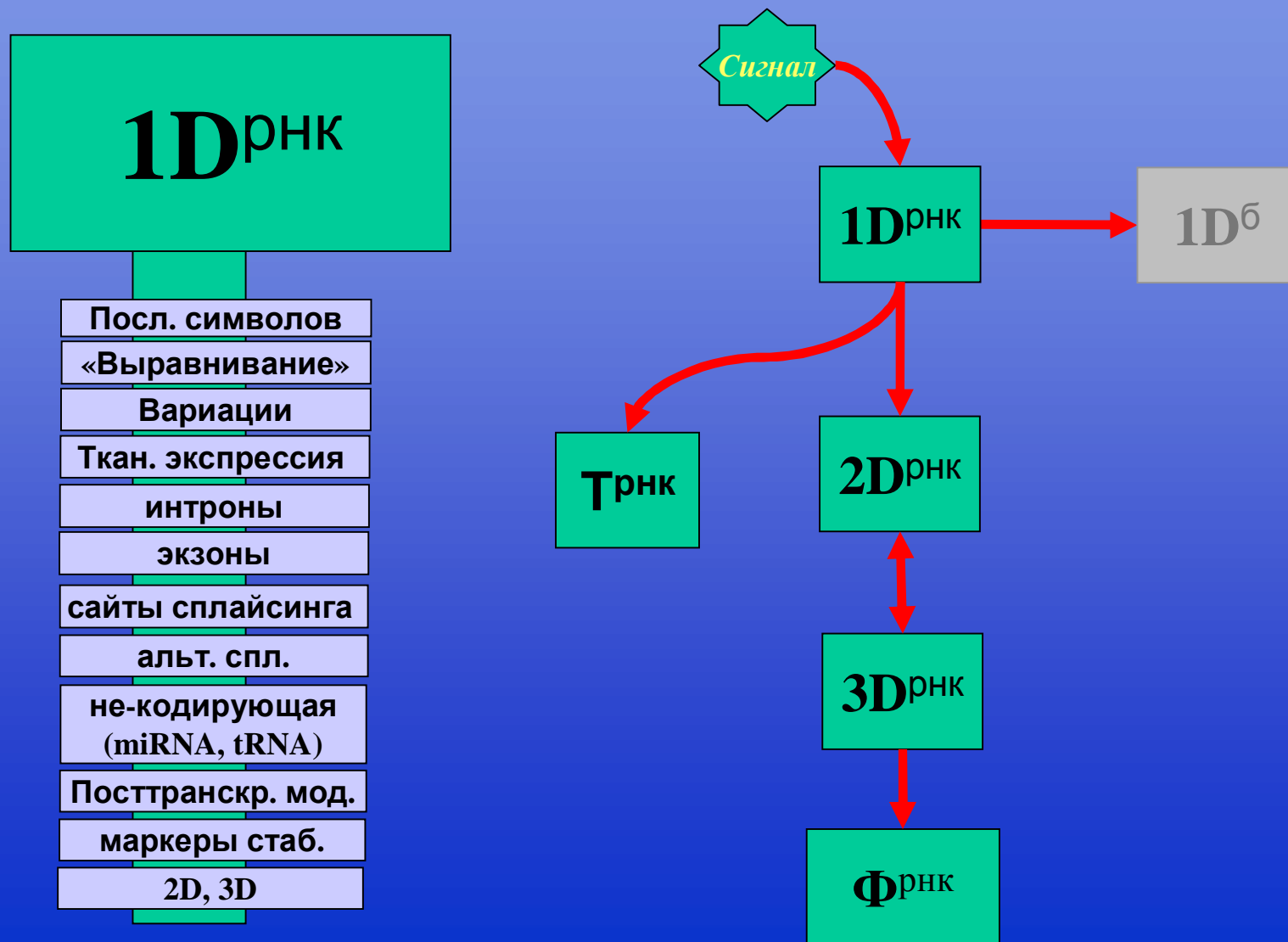


Структура данных «1D^{РНК}»



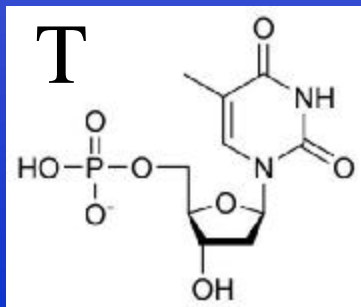
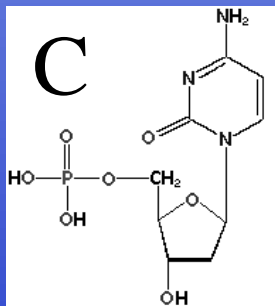
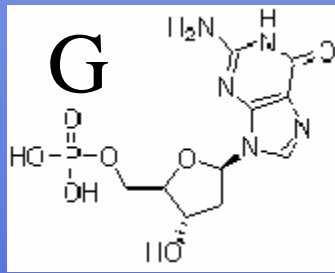
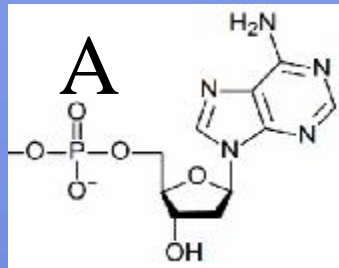
Различные уровни данных о РНК – различные задачи распознавания



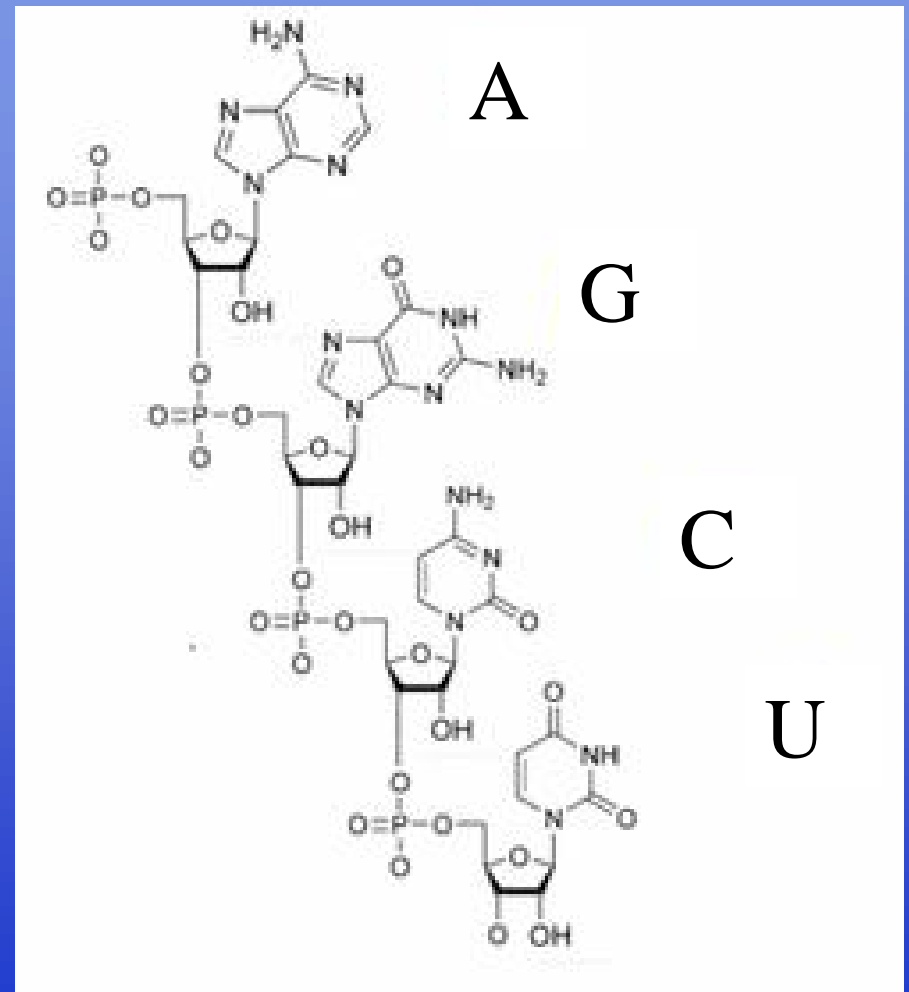
ДНК и РНК

В чем разница?

Дезоксирибонуклеиновая к-та

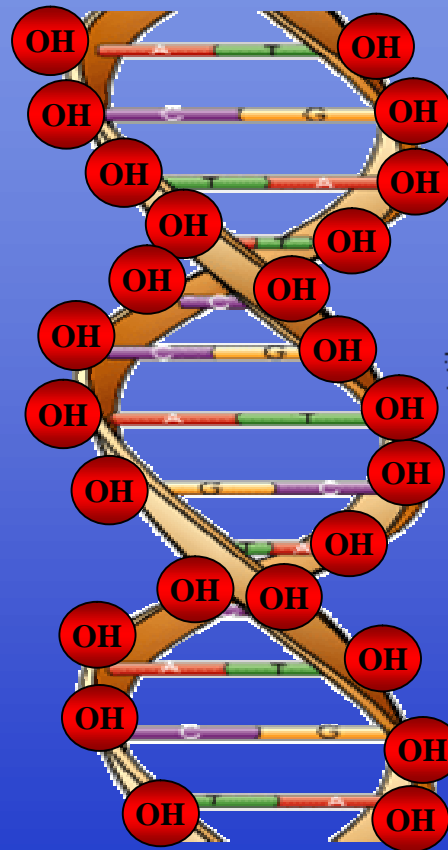


Рибонуклеиновая к-та



Рентгеноструктурный анализ некодирующих РНК

- РНК состоят не из одной длинной спирали, а из многочисленных коротких спиралей
- Спирали (2D) образуют сложную пространственную структуру (3D), подобную структуре белков



Почему РНК – не ДНК?

Доказательство от противного...

«Функциональные» разновидности РНК

РНК в синтезе белков

Название (англ)	Сокр.	Биол. функция	Организм
<u>Messenger RNA</u>	mRNA	Кодирует белок	все
<u>Ribosomal RNA</u>	rRNA	трансляция	все
<u>Signal recognition particle RNA</u>	7SL RNA, SRP RNA	интеграция белков с клеточной мембраной	все
<u>Transfer RNA</u>	tRNA	трансляция	все
<u>Transfer-messenger RNA</u>	tmRNA	очистка «застрявшей» рибосомы	бакт.

РНК вовлеченные в пост-транскрипционные модификации

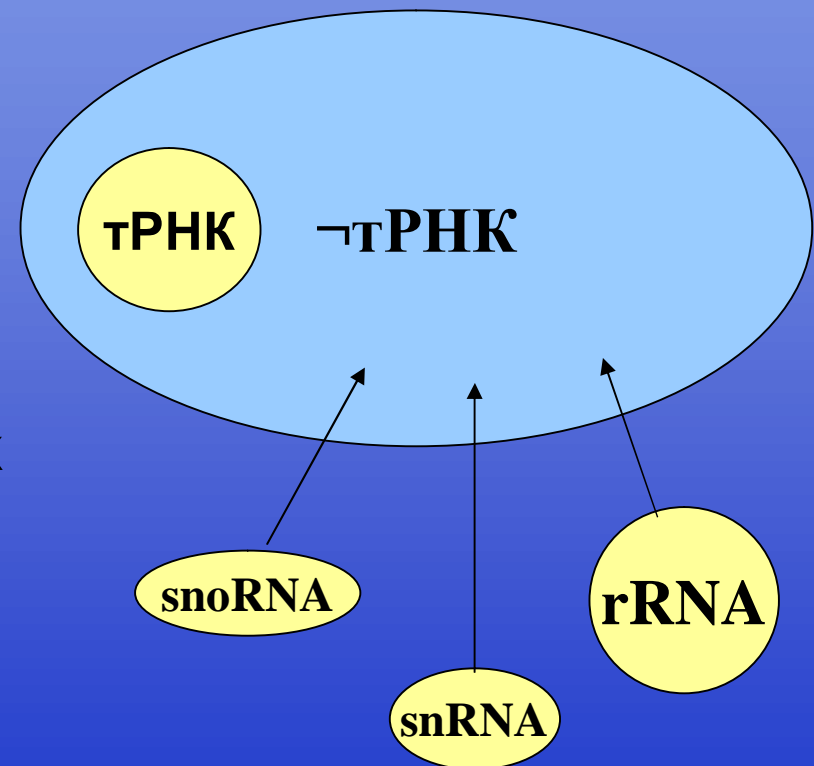
Название (англ)	Сокр.	Биол. функция	Организм
<u>Small nuclear RNA</u>	snRNA	Сплайсинг	Эукариоты, археи
<u>Small nucleolar RNA</u>	snoRNA	модификации нуклеотидов РНК	Эукариоты, археи
<u>Ribonuclease P</u>	RNase P	«fine tuning» тРНК	все
<u>Ribonuclease MRP</u>	RNase MRP	«доводка» рРНК, репликация ДНК	Эукариоты
<u>Y RNA</u>	-	Обработка РНК, репликация ДНК	Животные
<u>Telomerase RNA</u>	-	Синтез теломеры	Эукариоты

Регуляторные РНК

Название (англ)	Сокр.	Биол. функция	Организм
<u>Antisense RNA</u>	aRNA	регуляция транскрипции, деградации мРНК, стабильности мРНК	все
<u>Long noncoding RNA</u>	LNC RNA	регуляция транскрипции, сплайсинга, трансляции, siRNA	эукариоты
<u>MicroRNA</u>	miRNA	регуляция транскрипции	большинство эукариотов
<u>Retrotransposon</u>	-	генетическая вариабельность	эукариоты
<u>Piwi-interacting RNA</u>	piRNA	выключение ретротранспозонов	большинство животных
<u>Small interfering RNA</u>	siRNA	регуляция транскрипции	большинство эукариотов
<u>Trans-acting siRNA</u>	tasiRNA	регуляция транскрипции	наземные растения

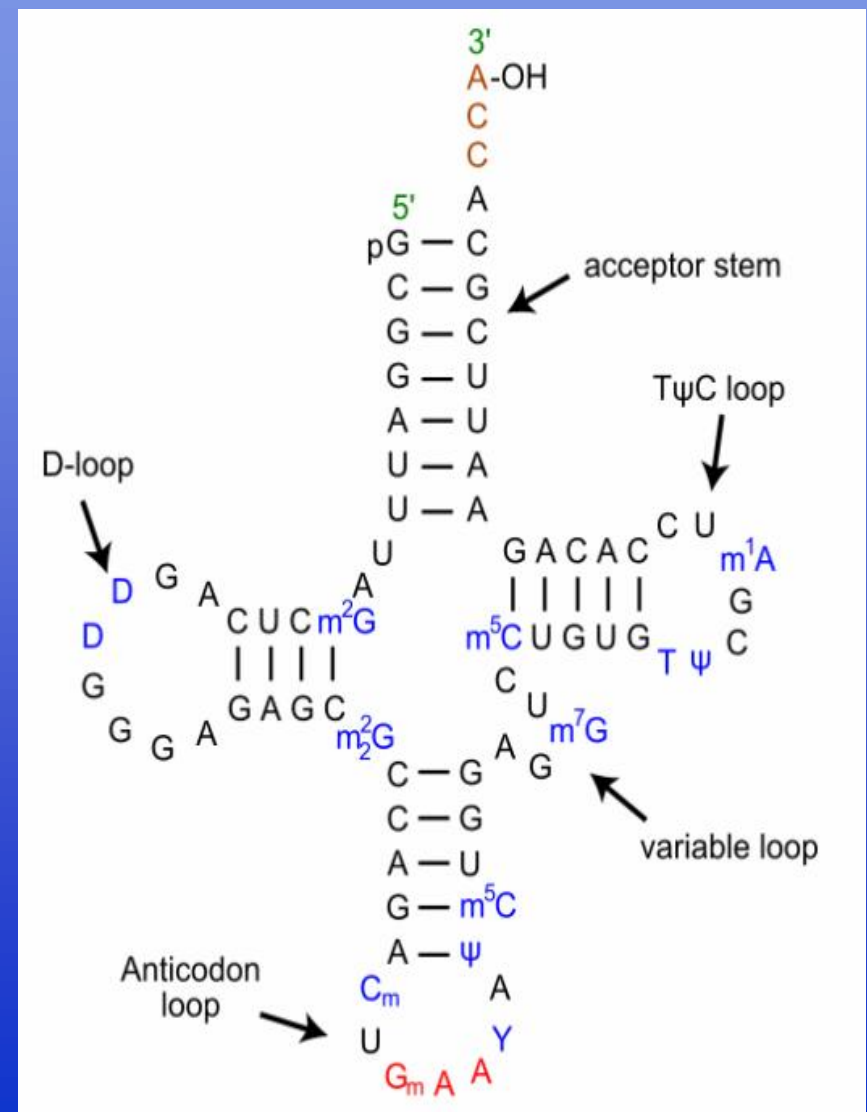
Биология и физическая химия, стоящие за задачей «тРНК/¬тРНК»

- В эукариотах РНК синтезируются различными видами РНК полимераз:
 - тРНК - *Pol III*,
 - рРНК - *Pol I*,
 - остальные гены – *Pol II*
- тРНК в различных организмах
 - нематод *C.elegans*
 - ~29,600 генов, 620 тРНК
 - дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*
 - ~8000 генов, 275 тРНК
 - геном человека
 - ~27,000 генов, 519 тРНК

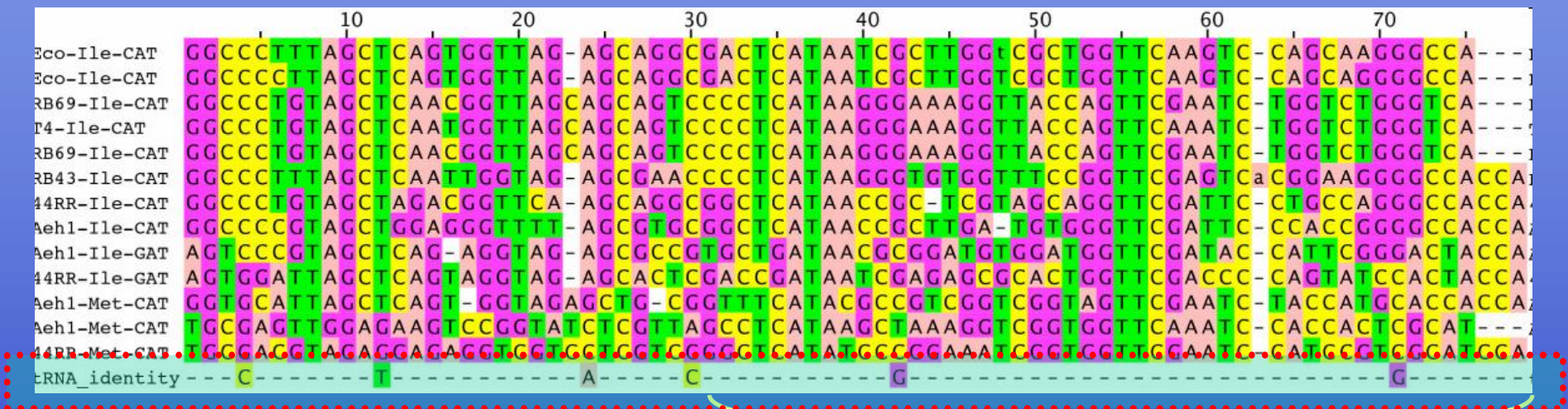


Детали вторичной структуры транспортной РНК

- **Акцептор-сегмент:** 7bp, замыкает 5' и 3' – терминальные нуклеотиды
- **ССА «хвост»:** 3нт, 3'-конец молекулы
- **D-сегмент:** 4 bp спираль и петля с дигидроуридином (D)
- **Антикодон-сегмент:** 5bp спираль с петлей содержащей «антикодон»
- **T-сегмент:** 5bp спираль, петля содержит псевдоуридин (Ψ)



Стандартный единственный подход: выравнивание первичных структур различных тРНК



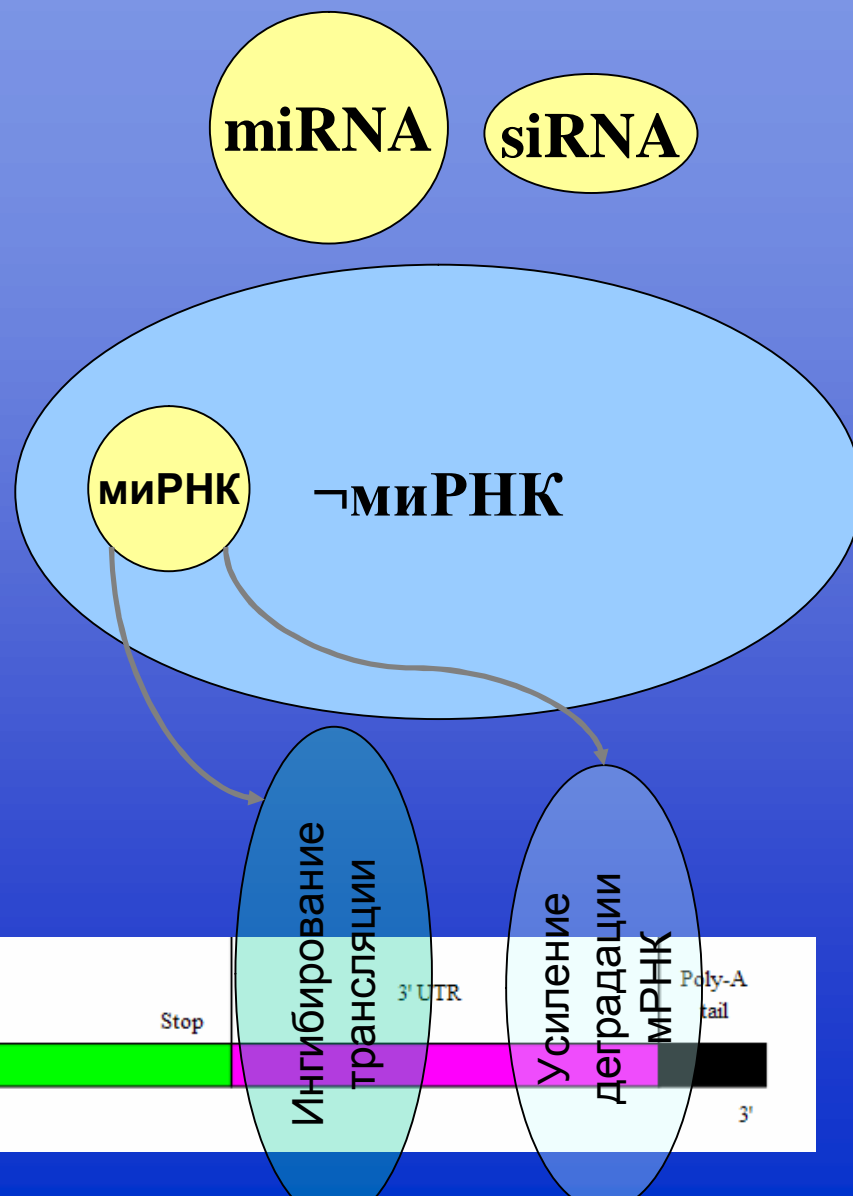
Поиск информативных нуклеотидных «мотивов»
для решения задачи «тРНК/–тРНК»

NB!

Общая теория алгоритмов
выравнивания

Биология за задачей «миРНК/¬миРНК»

- пост-транскрипционные регуляторы, связывают 3' UTR мРНК
 - деградация мРНК
 - ингибирование трансляции
- геном человека
 - 1000 миРНК, регулируют 60% (!) генов
 - 40% миРНК – в интронах других генов

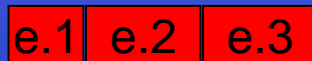
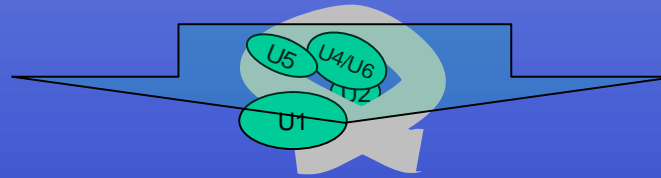
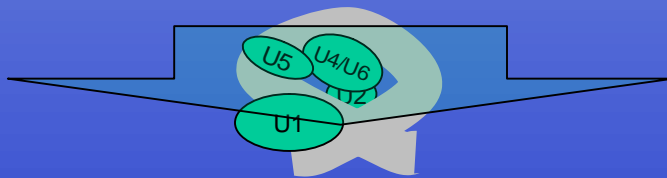
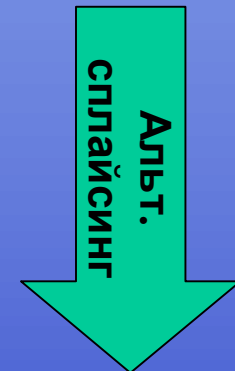
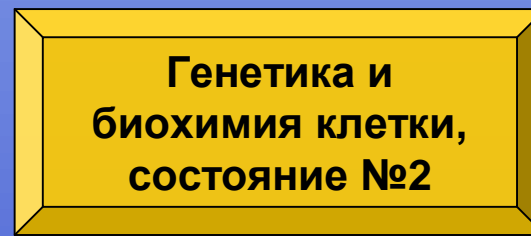
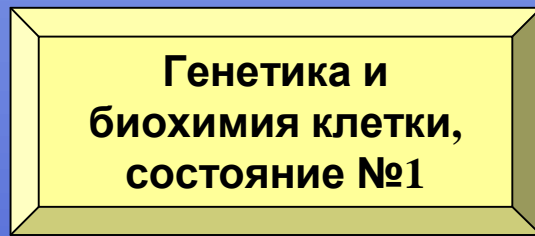
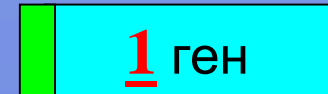


миРНК – интернет ресурсы

<i>Program</i>	<i>URL</i>	<i>Species</i>
" <i>In silico</i> " cloning MiRscan	http://genes.mit.edu/mirscan	<i>C. elegans</i> , Human
Target identification		
TargetScan	http://genes.mit.edu/targetscan	Vertebrates
Diana MicroT	http://www.diana.pcbi.upenn.edu/cgi-bin/micro_t.cgi	Human/Mouse
miRNA–target prediction	http://www.russell.embl.de/miRNAs/	<i>Drosophila</i>
miRanda	http://www.microrna.org/miranda.html	<i>Drosophila</i> /Human
RNAhybrid	http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid/	<i>Drosophila</i>
RNAcalibrate		
RNA effective		
mirnaviewer	http://cbio.mskcc.org/mirnaviewer/	Human
Pictar	http://pictar.bio.nyu.edu/	Human
MicroRNAs database		
The MicroRNAs Registry	http://www.sanger.ac.uk/Software/Rfam/mirna/index.shtml	All

(Sevignani, 2006)

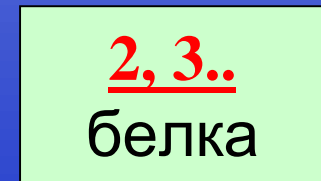
Альтернативный сплайсинг



Белок №1



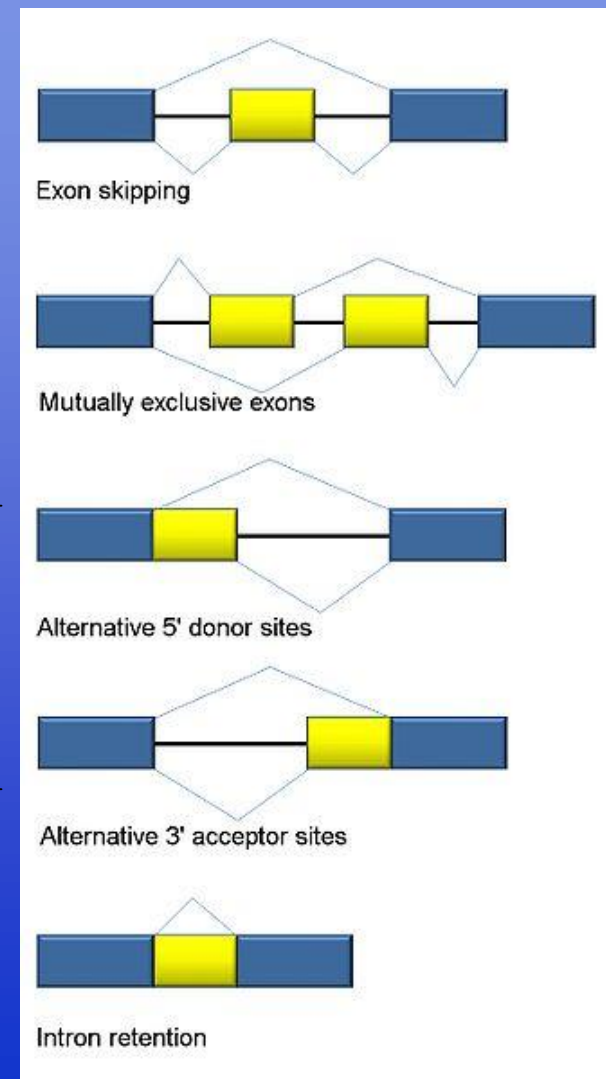
Белок №2

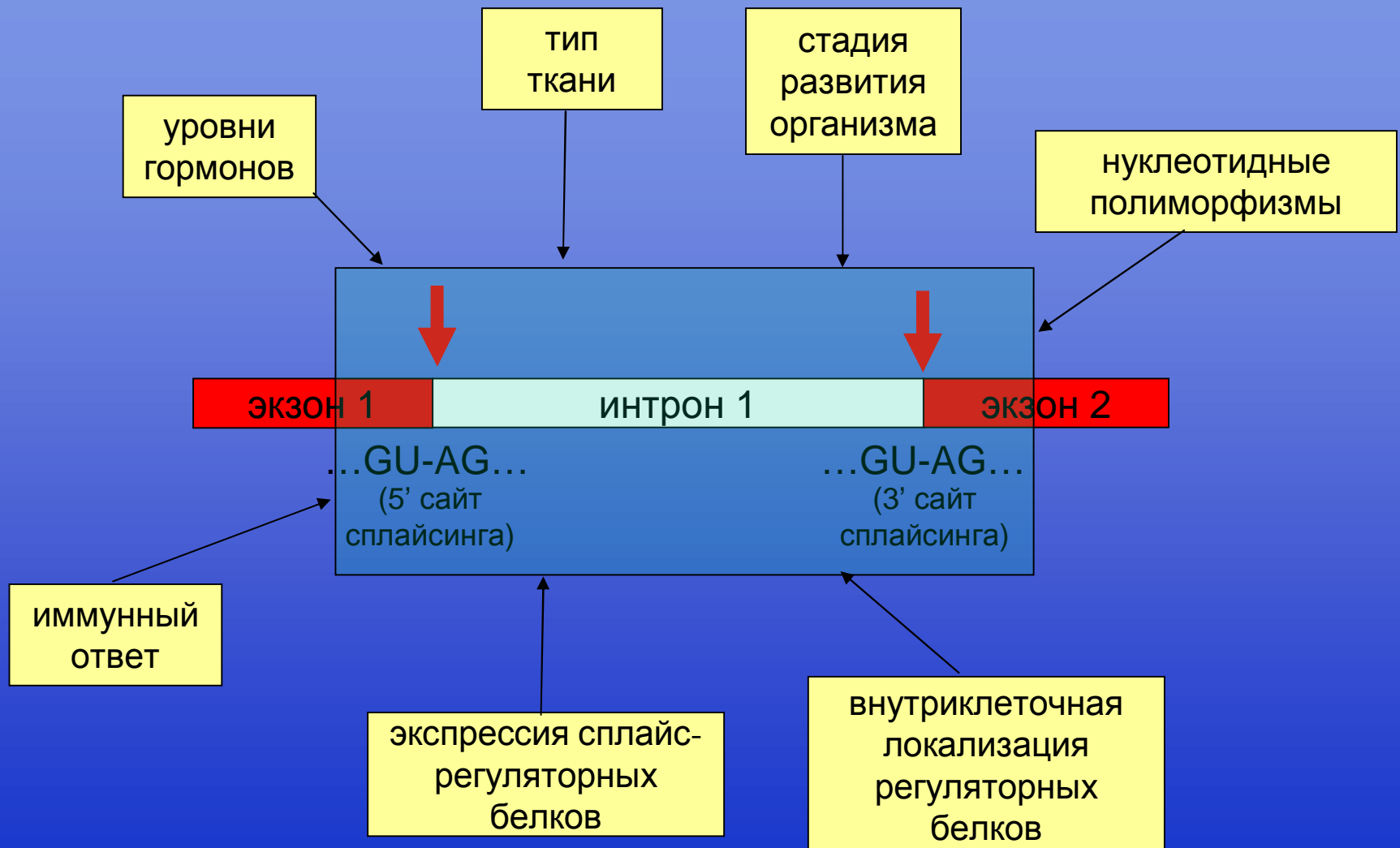


Более 80% генов человека могут претерпевать альт. сплайсинг (Matlin, 2005).

Основные разновидности альтернативного сплайсинга

- Пропуск экзона
- Взаимоисключающие экзоны
- Изменение границ экзонов
- Отказ от сплайсинга (интрон остается)





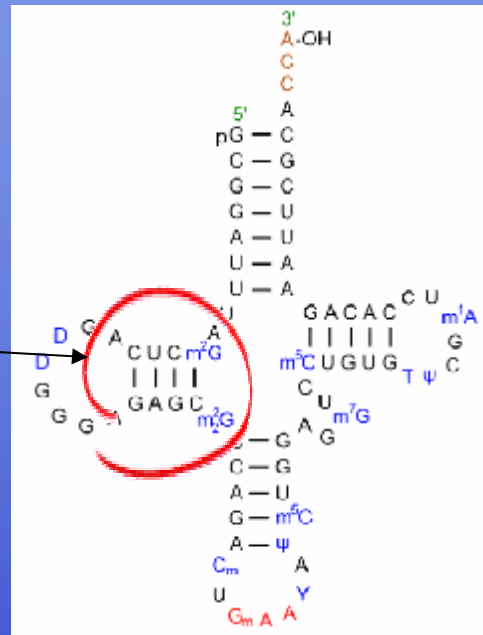
(Stamm, 2002)

Уровни структуры РНК

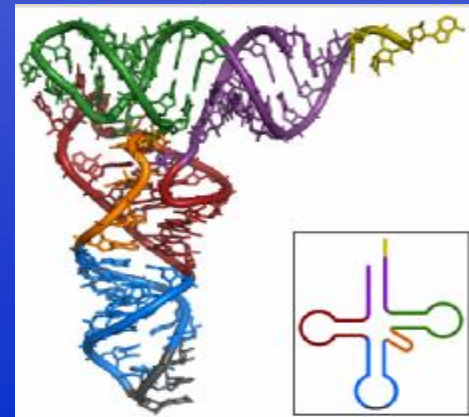
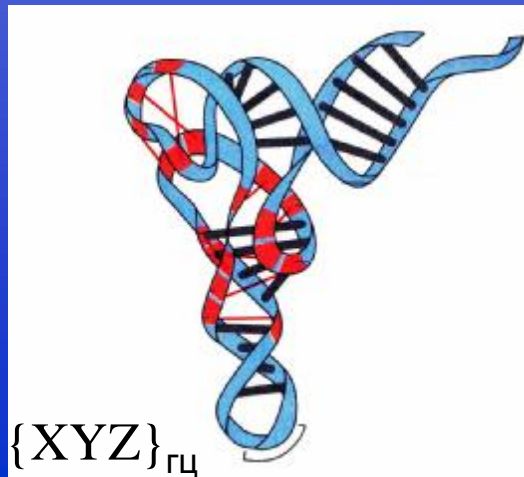
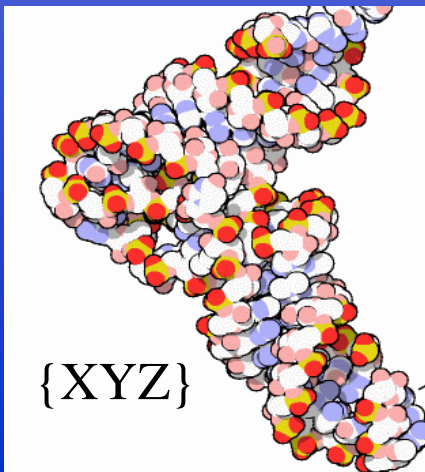
1D^{РНК}

GCGGAUUUAGCUCAGDDGGGAGAGCGCCAGAGACUGAAYAPCUGGAGGUCCUGUGTPCGAUCCACAGAAUUCGCACCA

парные
взаимодействия
оснований



2D^{РНК}



3D^{РНК}

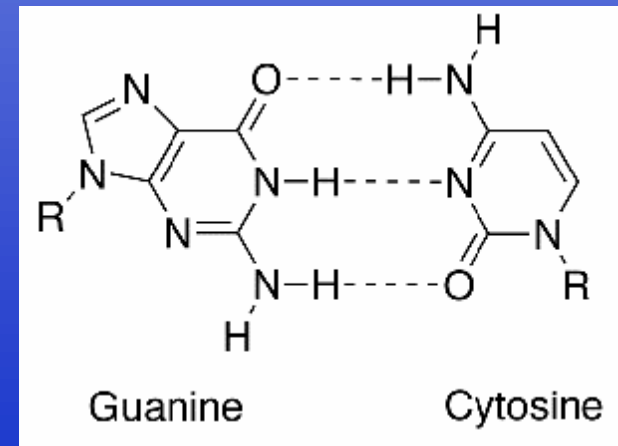
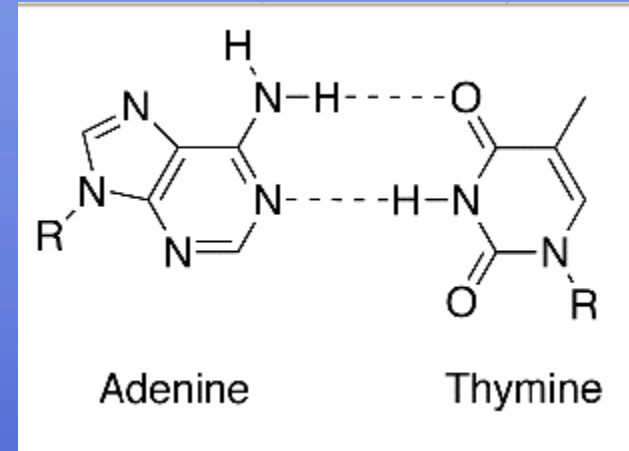
Взаимодействия пар оснований

- «Классические» (по Уотсону-Крику)

- A – T
- G – C

- в РНК

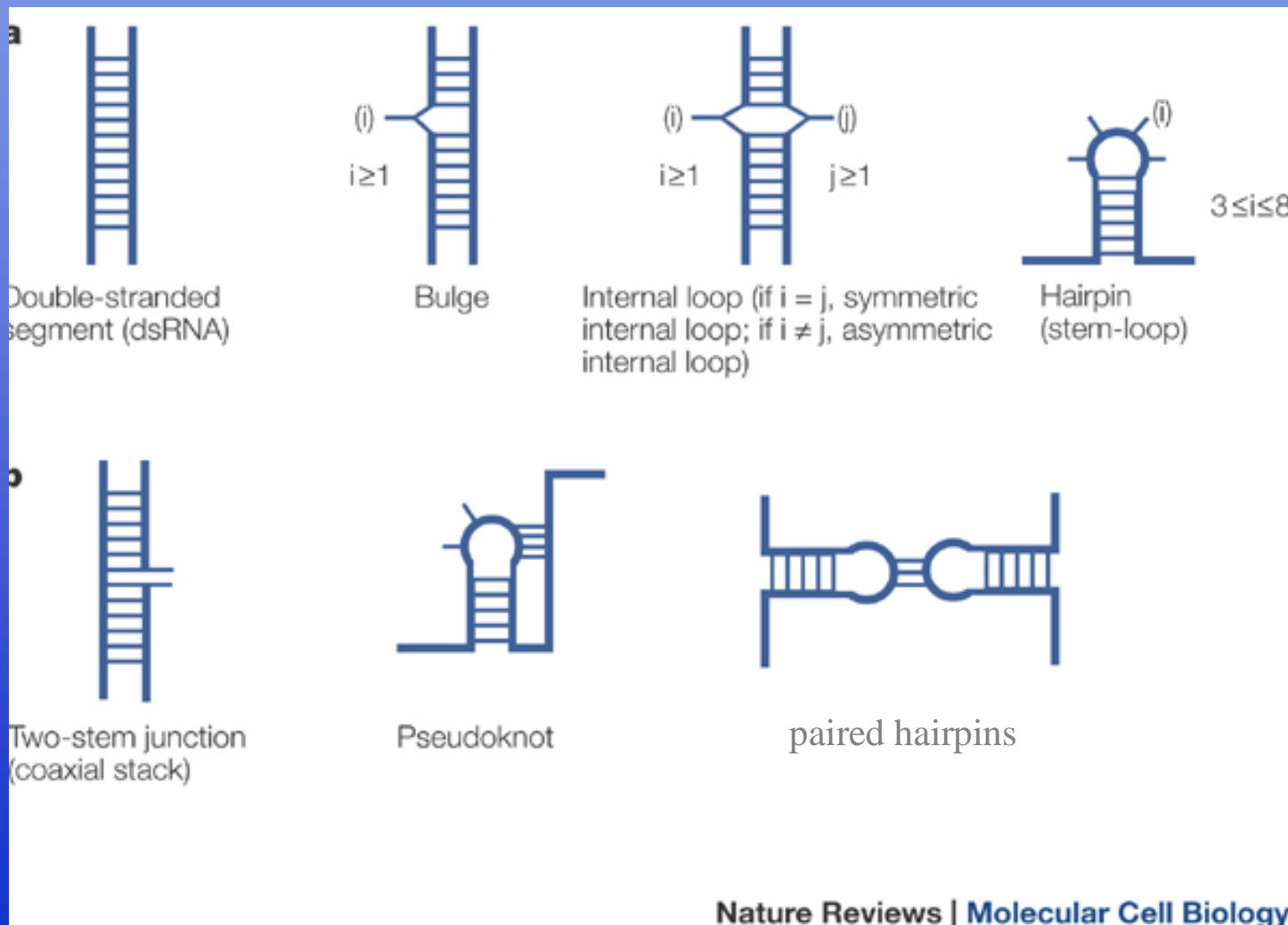
- A – U
- G – C



Уточненные правила взаимодействия пар оснований (на примере взаимодействия кодон-антикодон)

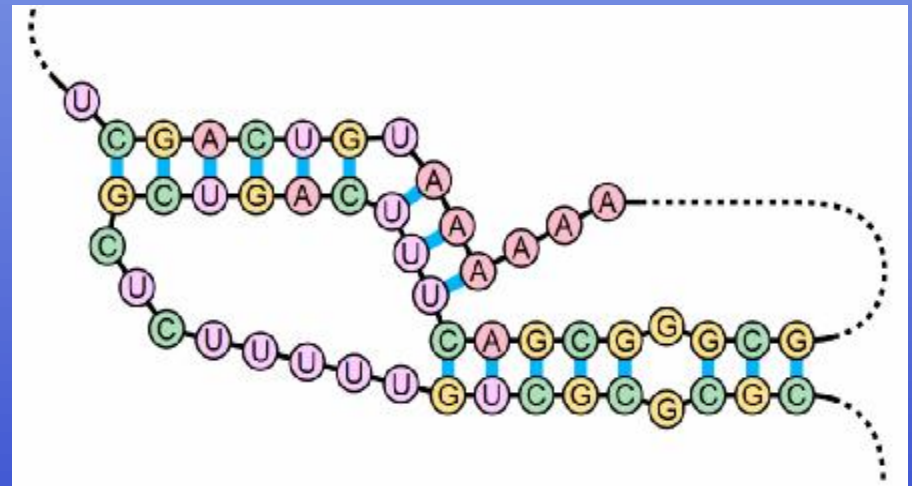
тРНК антикодон	мРНК кодон
A	U
C	G
G	C или U
U	A или G
I	A или C или U

Разновидности 2D_{рнк}



Псевдоузел РНК (pseudoknot)

- «Спаренные» фрагменты типа «спираль-петля»
- Перекрывающиеся взаимодействия пар (т.е. взаимодействия 3 и 4 нуклеотидов)
- Пропускаются большинством методов т.н. “RNA structure prediction”
- Необходим для функции РНК (пример: теломераза)



Задача $3D^{рнк} > 2D^{рнк}$

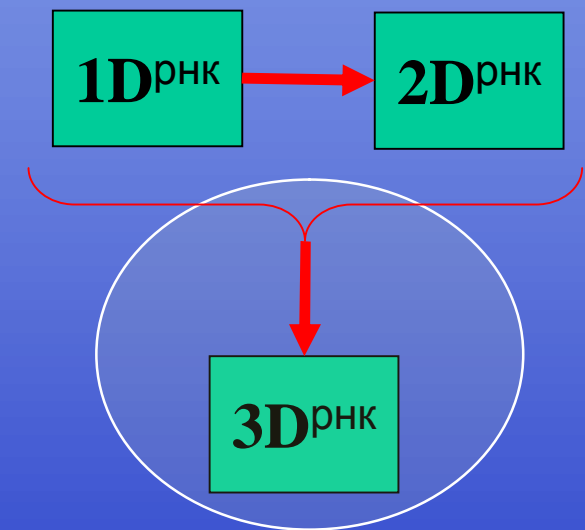
- Распознавание элементов вторичной структуры в пространственной структуре РНК



- Алгоритмы распознавания 2D в 3D на основе к.л. экспертного словаря $2D^{рнк}$
- Разработка словаря 2D на основе анализа 3D

«Свертывание» РНК: $1D_{\text{РНК}} > 3D_{\text{РНК}}$

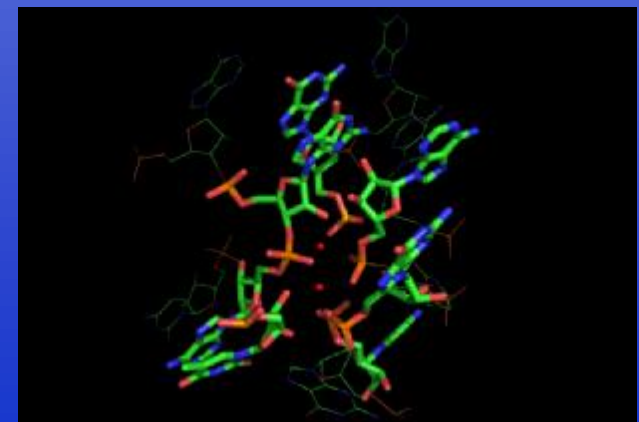
- 1-ый шаг: $2D_{\text{РНК}}$
- 2-ой шаг: взаимодействия фрагментов $2D_{\text{РНК}}$
 - пост-трансляционные модификации РНК увеличивают количество неканонических взаимодействий
- 3-ий шаг: учет катионов в стабилизации структуры



PNAS 1993; 90(20):9408-12

Катионы в структуре РНК

- Функционирующие в клетке РНК плотно упакованы.
- Стабилизация осуществляется посредством катионов (Mg, K, прежде всего)
- РНК последовательно сворачивается, катионы стабилизируют промежуточные структуры, компенсируя избыточный «-» заряд фосфатов
- Сайты связывания Mg, K имеют определенную структуру



Нуклеотиды	Сокращения по IUPAC
A	A
C	C
G	G
T	T/U
(AC)	M
(AG)	R
(AT)	W
(CG)	S
(CT)	Y
(GT)	K
(AGC)	V
(CGT)	D
(AGTC)	X/N

Условные обозначения нуклеотидных вариантов