Структура РНК

Миронов Андрей Александрович
Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ

Рощино-2014

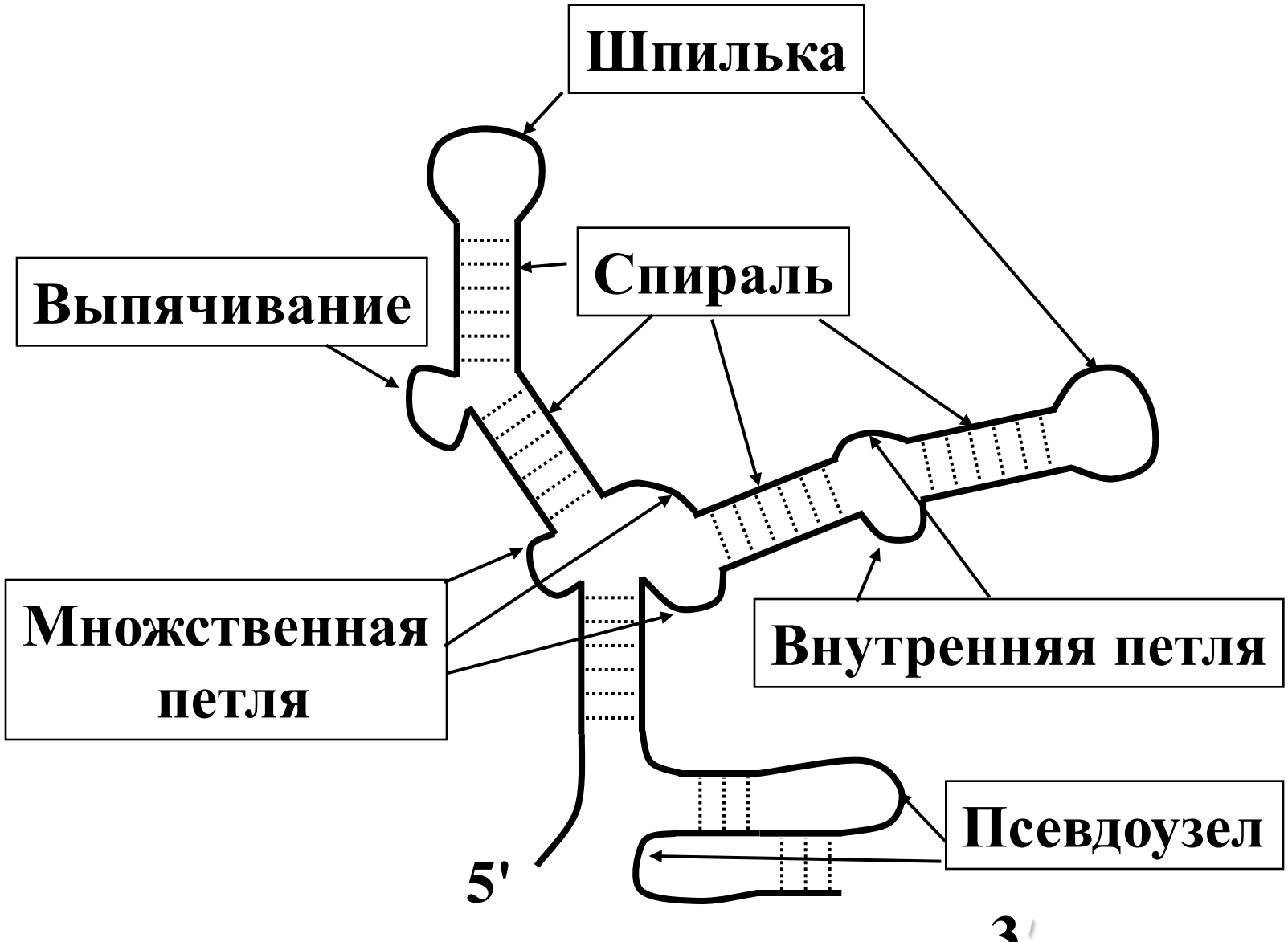
Вторичная структура РНК

- Вторичной структурой называется совокупность спаренных оснований
- Биологическая роль вторичной структуры:

•рибосомная	•Модификации рРНК: sno
•тРНК	•Инициация трансляции: IRES
•аттенюация	•Доза гена: XIST / TSIX, rho1 / rho2
•tmRNA	•Копийность плазмид: RNA1 / RNA2
•микроРНК	•Теломеразная РНК
•Рибозимы	•Рибопереключатели

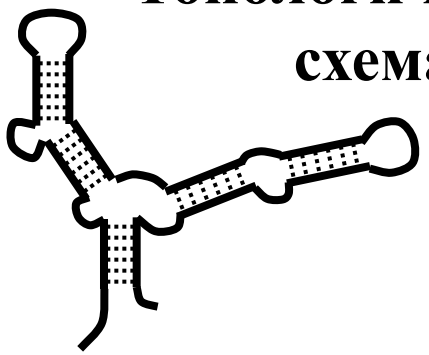
Много чего еще ...

Элементы вторичной структуры

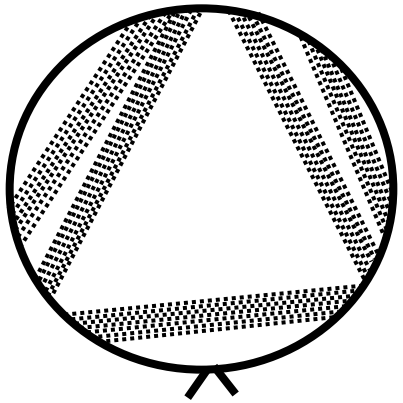


Способы представления вторичных структур

Топологическая схема



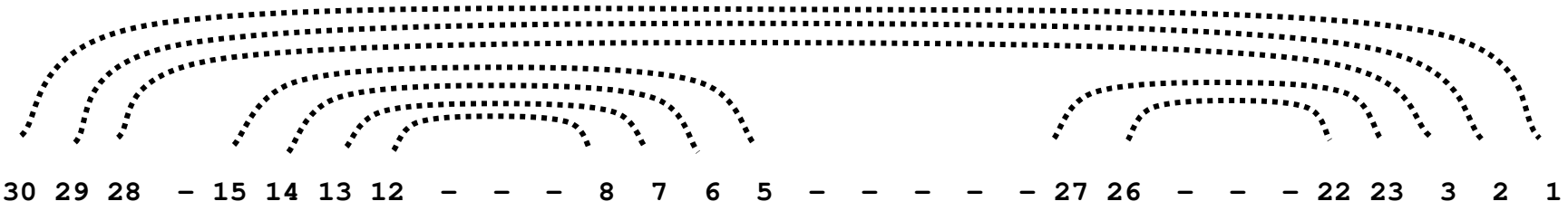
Круговая диаграмма



Список спиралей

	$from_1$	to_1	$from_2$	to_2
A	1	3	28	30
B	5	8	12	15
C	21	22	26	27

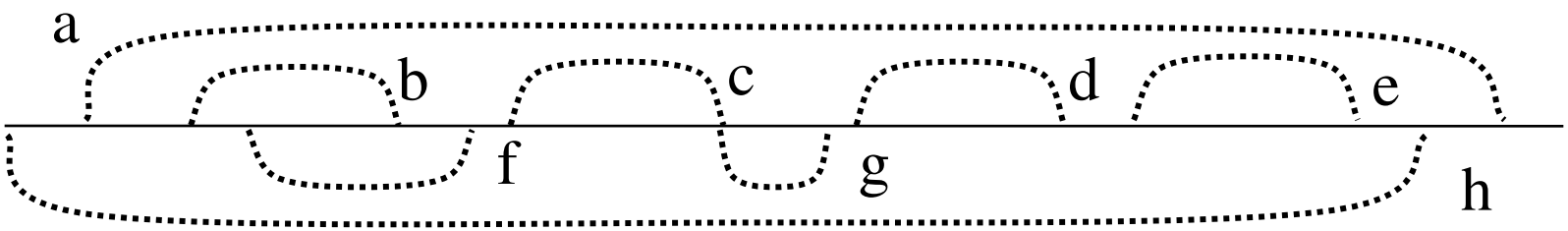
Массив спаренных оснований



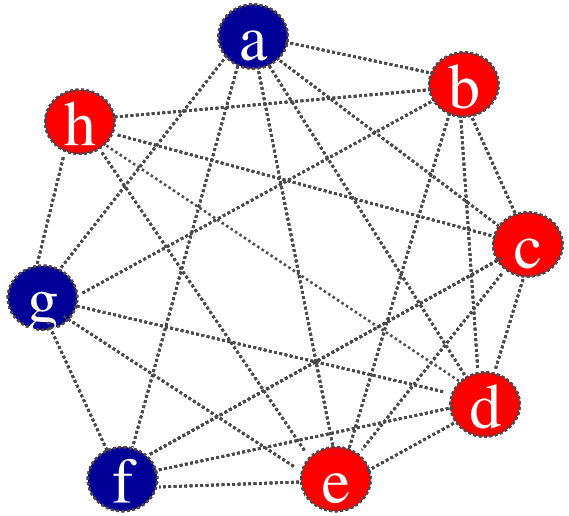
Задача

- ***Дана*** последовательность.
- ***Найти*** правильную вторичную структуру.
- ***Золотой стандарт:*** тРНК, рРНК.
- Количество возможных вторичных структур очень велико.
- Дополнительные ограничения:
  - Нет псевдоузлов. (На самом деле они очень редки и энергетически невыгодны)
- Количество возможных структур все равно очень велико
- Надо найти ***оптимальную*** структуру. А что оптимизировать? Как оптимизировать?

Комбинаторный подход



- Построим граф:
  - вершины – потенциальные нуклеотидные пары (или потенциальные спирали)
  - Ребро проводится, если пары совместимы (не образуют псевдоузлов и не имеют общих оснований)
- Допустимая вторичная структура – клика в этом графе

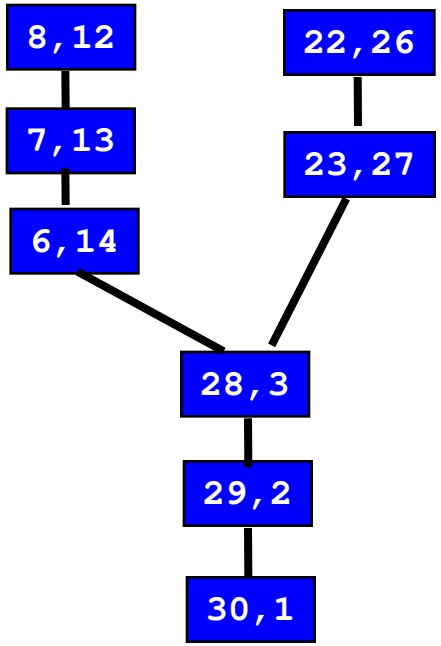


Структуры без псевдоузлов

- Структура без псевдоузлов = правильное скобочное выражение
- Может быть представлено в виде дерева
- Оценка количества возможных структур:

$$T(L) \approx 1.8^{L}$$

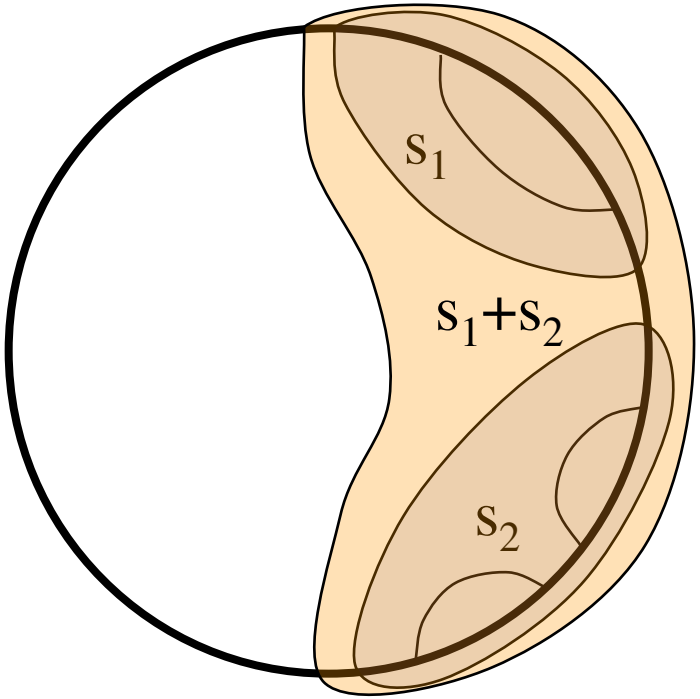
(очень много)



Оптимизация количества спаренных оснований

- Обозначим |s| - мощность структуры (количество спаренных оснований)
- Пусть s_1 и s_2 две непересекающиеся структуры (структуры без общих оснований)
- Тогда

$$|s_1+s_2| = |s_1| + |s_2|$$

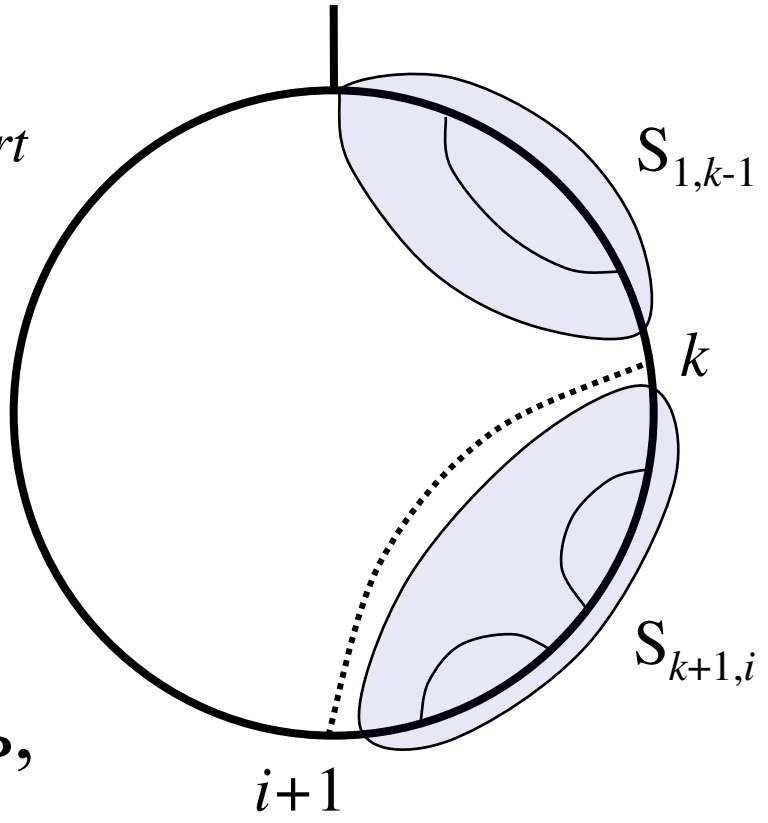


Оптимизация количества спаренных оснований Nussinoff

- Пусть нам известны оптимальные структуры S_{rt} для всех фрагментов

$$i \leq r \leq t \leq j$$

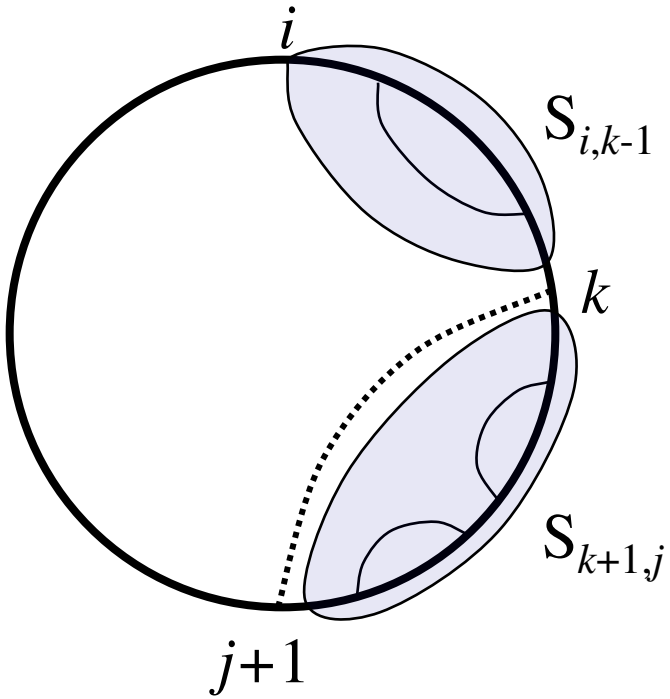
- Тогда можно найти оптимальную структуру для сегмента $[i, j+1]$
- Для этого нам надо понять, спаривать ли основание $j+1$, и, если спаривать, то с кем



Динамическое программирование для количества спаренных оснований

Количество спаренных оснований в оптимальной структуре $S^*_{i,j+1}$ определяется как максимум:

$S^*_{i,j+1} = \max \{$
$S^*_{i,j}$; (нет спаривания)
$\max_k (S^*_{i,k-1} + S^*_{k,j}) + 1$;
(k спаривается с $j+1$)
};



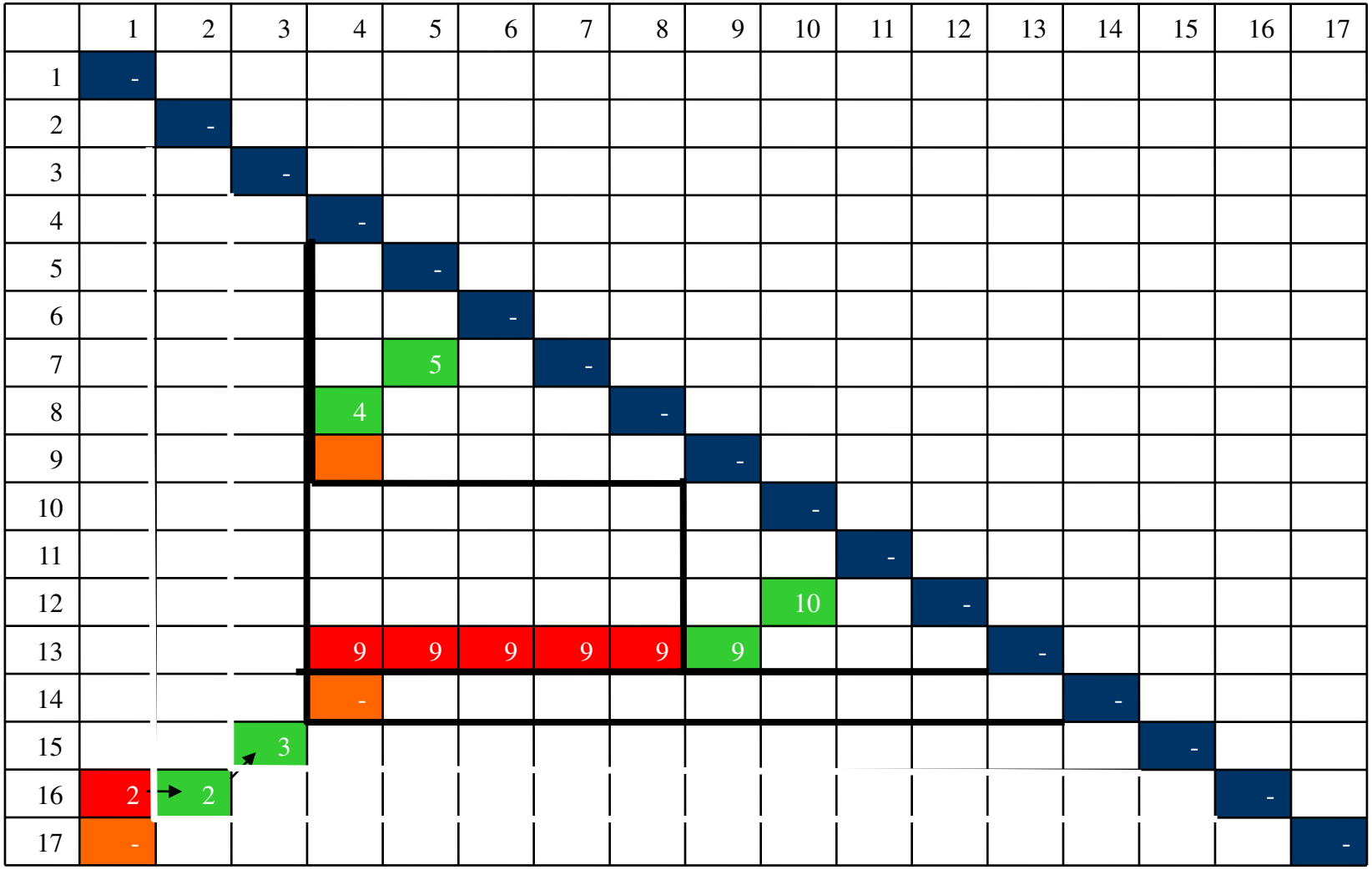
Время работы алгоритма:

$$T \approx O(L^3)$$

Динамическое программирование для количества спаренных оснований

- При поиске оптимального количества спаренных оснований заполняется треугольная матрица весов $S_{i,j}$, $i < j$.
- Обозначим π_{ij} – номер основания, с которым надо спарить основание j при анализе сегмента $[i, j]$, или 0, если не надо спаривать. При оптимизации запоминаем треугольную матрицу спаривания (аналог матрицы обратных переходов)

Восстановление структуры по матрице спаривания



Восстановление структуры по матрице спаривания

```
SearchStruct (int i, int j)
{
   int i0=i, j0=j;
    while(i < j){
    if(π_ij == 0) j--;
    if(π_ij != i) i++;
    if(π_ij == i)
    {
        StorePair(i,j);
        SearchStruct (i0, i-1);
        SearchStruct (i+1, j0);
        return;
    }
   }
}
```

Энергия структуры РНК

Энергия вторичной структуры

- Энергия спиралей
- Энергия петель (энтропия)

Энергия спирали рассчитывается как сумма энергий стэкингов

	AU	CG			
AU	-2	-3.2			
CG	-3.2	-4.8			
GC	-3.7	-4.5			

A – U
C – G
A – U
G – C
C – G

ΔG = -3.2 -3.2 -3.7 -4.5

= - 14.6

Энергия петель

- Энергия свободной цепи

$$\Delta G = B + 3/2\ kT \ln L$$

- Для шпилек при L=3..5 кроме энтропии есть некоторое напряжение структуры.
- Для внутренних петель и для мультипетель L – суммарная длина петель + количество ветвей.
- Параметр B зависит от типа петли
- Для выпячивания сохраняется стэкинг.
- Обычно используют не формулу, а таблицы.

Минимизация энергии

Обычное динамическое программирование не проходит – нет аддитивности.

Определения

- нуклеотид *h* называется **доступным** для пары *i•j* , если **НЕ** существует спаривания *k•l*, такого, что

$$i < k < h < l < j$$

- Множество доступных нуклеотидов для пары *i•j* называется **петлей** L_{ij}, а пара *i•j* называется **замыкающей парой**. Частный случай петли – стэкинг.
- Энергия структуры рассчитывается как сумма энергий петель (в том числе и стекингов):

$$\Delta G = \sum e(L_{ij})$$

Алгоритм Зукера

- Введем две переменные:
  - *W(i,j)* – минимальная энергия для структуры на фрагменте последовательности [*i, j*];
  - *V(i,j)* – минимальная энергия для структуры на фрагменте последовательности [*i, j*] при условии, что *i* и *j* спарены;
- Рекурсия:

$$V(i,j) = \min_{i<i1<j1<i2<j2<\ldots<ik<jk<j} \left(\Delta G_{loop(i,i1\ldots)} + \sum_{l}^{k} V(il,jl) \right)$$

$$W(i,j) = \min \begin{Bmatrix} W(i+1,j), \ i \text{ не спарено} \\ W(i,j-1), \ j \text{ не спарено} \\ V(i,j), i,j \text{ спарены} \\ \min_{i<k<j} \left(W(i,k) + W(k+1,j) \right), \\ i,j \text{ спарены с кем-то} \end{Bmatrix}$$

Алгоритм Зукера

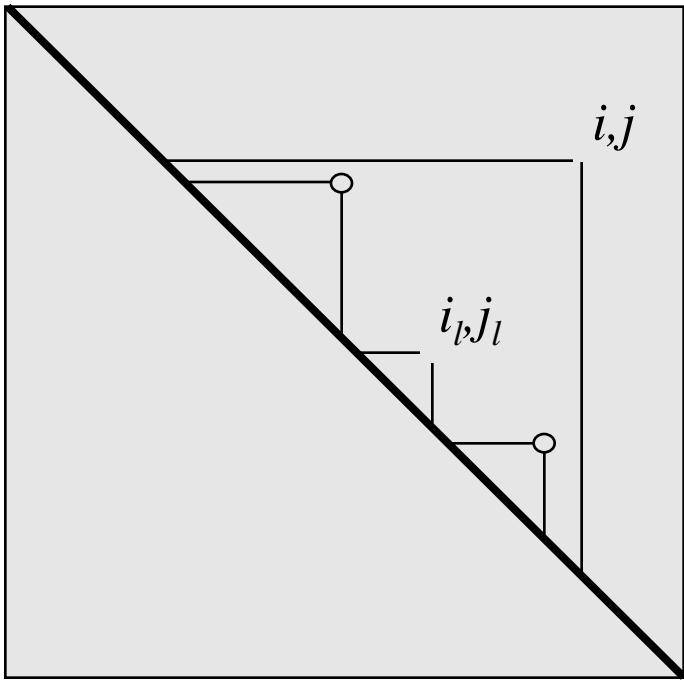
- Рекурсия для W требует времени

$$T \approx O(L^3)$$

- Рекурсия для V требует гораздо большего времени

$$T \approx O(2^L)$$

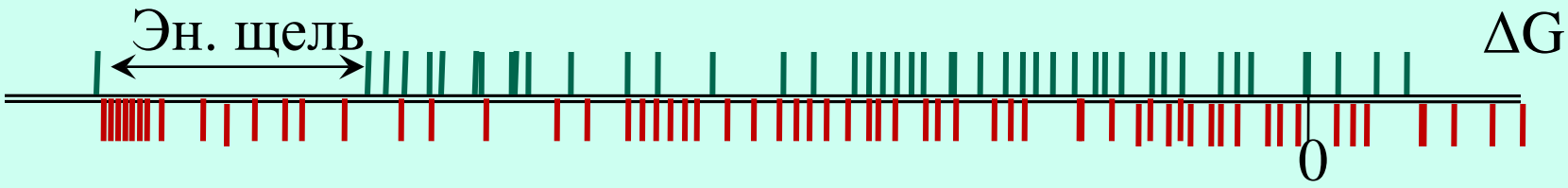
- Причина – мультипетли. Можно:
  - Ограничить размер или индекс мультипетель
  - Применить упрощенную формулу для их энергии
  - Просматривать мультипетли только если i+1, j-1 не спарены.
  - Применить приближенную эвристику



Проблемы минимизации энергии

- **Только около 60% тРНК сворачиваются в правильную структуру**
- **Энергетические параметры определены не очень точно.** Более того, в клетке бывают разные условия, и, соответственно, реализуются разные параметры.
- **Находится единственная структура с минимальной энергией**, в то время как обычно существует несколько структур с энергией, близкой к оптимальной.

Физическая природа проблемы



Решение проблем

- Использовать экспериментальные данные
- Искать субоптимальные структуры
- Искать кинетически доступные структуры
- Искать эволюционно консервативные структуры.
  - структуры тРНК и рРНК определены именно так

Поиск субоптимальных структур и структурных элементов

- Статистическая сумма

$$Z = \sum \exp(-\Delta G_i / kT)$$

- Если мы просуммируем по всем структурам, содержащим данную пару, то мы можем оценить ее значимость (чем Z больше, тем более значимым является спаривание)
- Для подсчета Z алгоритм динамического программирования, заменив min на суммирование, а сложение на умножение.
- Больцмановская вероятность того, что нуклеотиды i,j спарены равна:

$$P(i,j) = \sum_{\text{все струк: } i \circ j} \exp(-\Delta G/kT) \Big/ Z$$

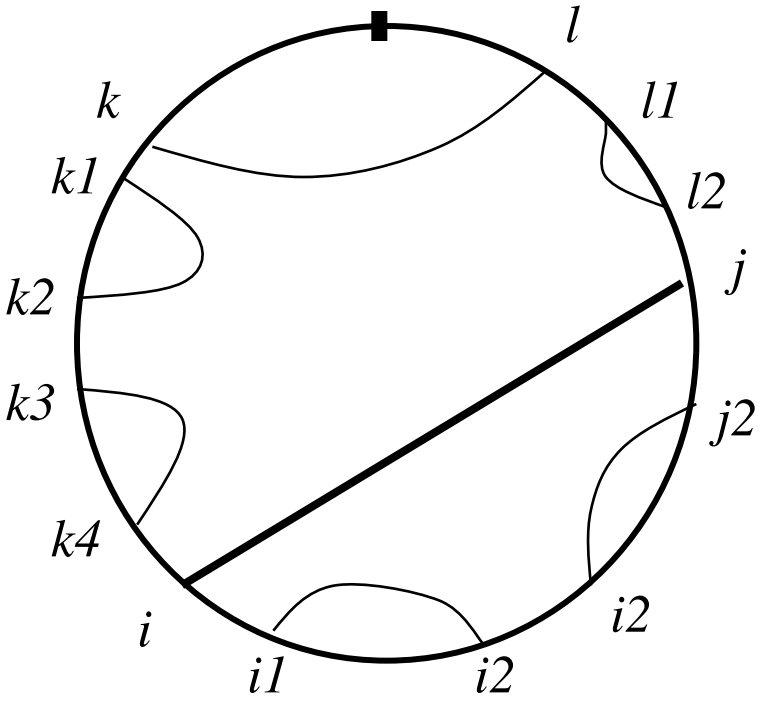
- Разыгрываем пары оснований в соответствии с этой вероятностью и восстанавливаем соответствующие субоптимальные вторичные структуры.

Вычисление условных стат.сумм

$$Z(ij) = \sum_{\text{структуры}} \exp(-\Delta G_{loop}) =$$

$$\sum_{\text{внешн}} \exp(-\Delta G_{out}) \cdot \sum_{\text{внутр}} \exp(-\Delta G_{in}) =$$

$$I(ij) \cdot O(ij)$$



Полная сумма:

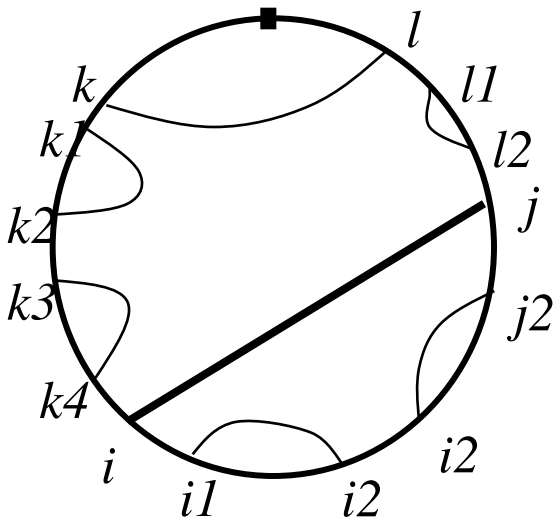
$$Z = I(0, L)$$

Внутренняя и внешняя суммы

$$I(ij)=$$

$$\sum_{j<j1<i1<j2<i2<\ldots<i} \exp\left(-\Delta G_{j,j1,i1,\ldots}-\Delta G^{in}_{j1,i1}-\Delta G^{in}_{j2,i2}-\ldots\right)=$$

$$\sum_{j<j1<i1<j2<i2<\ldots<i} \exp\left(-\Delta G_{j,j1,i1,\ldots}\right)\cdot\prod_{s} I\left(j_s i_s\right)$$



$$O(ij)=$$

$$\sum_{l<l1<\ldots<j<i<k1<k2<\ldots<k} \exp\left(-\Delta G_{k,l1,\ldots\ j,i,k1,\ldots k}-\Delta G^{out}_{kl}-\Delta G^{in}_{l1,l2}-\ldots\right)=$$

$$\sum_{l<l1<\ldots<j<i<k1<k2<\ldots<k} \exp\left(-\Delta G_{j,j1,i1,\ldots}\right)\cdot O(kl)\cdot\prod_{s} I\left(l_s l_{s+1}\right)\cdot\prod_{s} I\left(k_s k_{s+1}\right)$$

Поиск структур в геноме

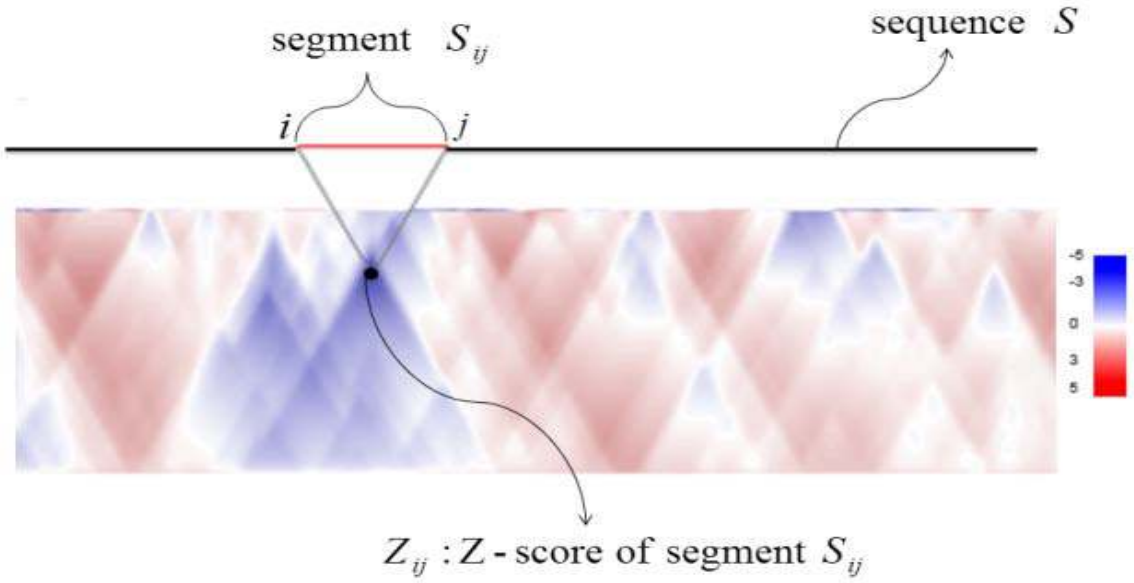
Программа plfold (Vienna package) идет скользящим окном (заданного размера)

- Проблема – размер окна

RNA surface

$E(\Delta G) \sim l;\ \ D(\Delta G) \sim l;$

Можно вычислить Z-score: $Z(i,j) = \dfrac{\Delta G(i,j) - E_{\Delta G}(l)}{\sigma_{\Delta G}(l)}$



http://bioinf.fbb.msu.ru/RNASurface/

Консенсусные вторичные структуры РНК

Основные задачи

- **Построение консенсуса**
  - Дано: набор последовательностей для которых известно, что они имеют общую вторичную структуру (например, тРНК или регуляторный элемент)
  - Описать общую структуру
- **Поиск консенсуса**
  - Дано: описание консенсуса.
  - Найти в данной последовательности (например, в геноме) все случаи встречи консенсуса

Метод ковариаций

- Пусть дано множественное выравнивание последовательностей
- Взаимная информация двух колонок:

$$I(A,B) = \sum_{\alpha\beta} f_{AB}(\alpha\beta) \log_2\{f_{AB}(\alpha\beta) / (f_A(\alpha) \cdot f_B(\beta))\}$$

$f_{AB}(\alpha\beta)$ – частоты одновременной встречи буквы α в колонке A и буквы β в колонке B.

$f_A(\alpha)$ – частота встречаемости буквы α в колонке A.

$f_B(\beta)$ – частота встречаемости буквы β в колонке B.

- Пары колонок с высоким значением взаимной информации с большой степенью вероятности образуют комплементарную пару (если высоки совместные частоты для пар букв AT, CG)
- Для восстановления вторичной структуры можно использовать алгоритм Нуссинофф, приписывая в качестве весов пар значение взаимной информации.