

Across-bulged мотив – новый третичный мотив РНК, содержащий А-минор взаимодействия

Баулин Е.Ф.^{1,2}, Фахранурова Л.И.^{3,4}

¹Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ РАН им. М.В. Келдыша

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)

³ИТЭБ РАН

⁴ИБХ РАН

baulin@lpm.org.ru

А-минор взаимодействия (или просто А-миноры) являются одним из наиболее распространенных и наиболее важных третичных мотивов в молекулах некодирующих РНК. А-миноры как правило являются составным элементом более сложных мотивов, стабилизируя их структуру. Известны такие ко-мотивы А-миноров, как псевдоузлы, мотивы кинк-терн и тетралупы. В данной работе проведен анализ локальных А-минор взаимодействий, встречающихся во внутренних петлях экспериментально разрешенных пространственных структур РНК. Показано, что помимо мотива кинк-терн, А-миноры в таких петлях могут стабилизировать другой рекуррентный тип мотива, не описанный ранее. Мотив получил название across-bulged мотива, т.к. обычно содержал выпяченное основание в нити, противоположной нити с аденинами, образующими А-миноры. В работе описываются основные характеристики нового мотива, типы молекул РНК, в которых он встречается, а также показано, что аденины А-миноров в таком мотиве могут быть заменены другими типами спариваний.

Ключевые слова: структура РНК, третичный мотив, А-минор взаимодействие, across-bulged мотив.

Across-bulged motif - a new type of RNA tertiary motif with A-minor interactions

Baulin E.F.^{1,2}, Fakhranurova L.I.^{3,4}

¹Institute of Mathematical Problems of Biology RAS – the Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics RAS

²Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University)

³ITEB RAS

⁴IBCh RAS

A-minor interactions (or A-minors) are the most frequent and the most important type of tertiary motifs of noncoding RNA molecules. Usually A-minors are a part of more complex tertiary motifs and stabilize their structure. The commonly known co-motifs of A-minors are pseudoknots, kink-turn motifs and tetraloops. In this work we analysed local A-minor interactions from internal loops of experimentally determined RNA spatial structures. It was shown that apart from kink-turn motifs A-minor interactions within internal loops can stabilize another type of yet unknown recurrent motif. The motif was called an across-bulged motif as it usually included a bulged base across the thread with adenines. We described the main features of the new motif, types of RNA molecules in which it appears, and showed that adenines of A-minors in these motifs may be replaced with other types of bases.

Key words: RNA structure, tertiary motif, A-minor interaction, across-bulged motif.

1. Введение

Наиболее распространенным третичным мотивом РНК является мотив типа А-минор [1]. А-минор представляет собой контакт между (как

правило) сахарным ребром аденина и малой бороздкой участка двойной спирали РНК (предпочтительно С-Г спаривания), образованный водородными связями. Название А-минор является не очень удачным, т.к. аденин может быть

заменен любым другим основанием, хотя наиболее характерные (и наиболее стабильные [2]) типы А-минов I и II высоко специфичны именно для аденина [1]. А-мины были обнаружены во многих типах некодирующих РНК, в том числе в рибосомальных РНК, рибозимах, рибосвичах и интронах [3]. 23S и 5S рРНК содержат почти 200 А-минов [1]. Посредством межмолекулярного А-мина кодон-антикодоновая спираль "узнается" рибосомой, что позволяет сделать вывод о том, что рибосома является рибозимом [4].

А-мины играют важную роль в стабилизации структуры РНК и межмолекулярных взаимодействиях, часто являясь составным элементом более сложных третичных мотивов. Так, А-мины стабилизируют коаксиальный стекинг в мульти-петлях [5, 6], а также образуют мотивы *ribose zipper* [7]. Мотив *Kink-turn* (кинк-терн), резкий изгиб сахаро-фосфатного остова, обеспечивающий крутой поворот двойной спирали РНК, зачастую стабилизируется одним или двумя А-минами [8, 9]. Наиболее изученный из мотивов РНК, GNRA-

тетралуп-рецептор также эксплуатирует А-миновое взаимодействие [10–12]. Другой рекуррентный мотив, внутренняя петля UAA/GAN образует межнитевой адениновый стек и связывает удаленные участки РНК, образуя не менее двух А-минов [13]. АВАВ-псевдоузлы (Н-узлы) как правило стабилизируются формированием тройной спирали, образованной аденинами петли 3 и малой бороздкой стема I [14]. Все перечисленное позволяет считать мотив А-минов одним из важнейших третичных мотивов некодирующих РНК.

В данной работе был проведен анализ локальных А-минов взаимодействий, встречающихся во внутренних петлях экспериментально разрешенных пространственных структур РНК, и показано, что помимо мотивов кинк-терн, А-мины в таких петлях могут стабилизировать другой рекуррентный тип мотива, не описанный ранее.

Таблица 1. Представители уникальных across-bulged мотивов. Выпяченные основания и аденины, образующие А-мины, выделены заглавными буквами. В столбце "А-минов" указаны основания одного из А-минов для каждого мотива

Номер мотива	Цепь РНК	А-минов			Нить с аденинами	Нить напротив	Выпяченное основание вовлечено в	Тип РНК
		Аденин	Спаривание					
I	4yaz:R	A78	C7	G77	-AAa-	-Ca--		di-GMP-I рибосвич
II	6dtd:C	A30	G11	U28	-A---	-C---	РНК-белковый контакт	Cas13b гРНК
III	6eri:Ax	A58	A29	U55	uAAa-	gAAcc	А-минов	5S рРНК
IV	6eri:BA	A1095	C1078	G1093	aA-cc	uU-g-	Межнитевой стекинг	16S рРНК
V	6eri:BA	A345	C342	G363	cAAu-	-G-a-	G-минов	16S рРНК
VI	6eri:AA	A1343	G1340	C1354	cAAg-	cA---	Межнитевой стекинг	23S рРНК
VII	6eri:AA	A876	G874	C921	cA-cu	aAA--	А-минов	23S рРНК
VIII	6eri:AA	U2699	C2697	G2745	cUCu-	aA---	Межнитевой стекинг	23S рРНК

2. Материалы и методы

Наше определение А-мина совпадает с определением, принятым в программе DSSR [15].

А-миновое взаимодействие (А-минов) – это тройка нуклеотидов, представляющая собой аденин, контактирующий с малой бороздкой спаривания оснований посредством образования водородных связей. А-мины, O2'-атом аденина которых участвует в водородных связях, принадлежат геометрическому типу I или II,

согласно классификации Ниссена [1]. Иначе, А-минову приписывается тип X (eXtended, т. е. расширенный, см. [15]).

1074 РНК-содержащих PDB-документа из избыточного подмножества структур РНК (версия 3.76 с разрешением не больше 3.0 Å, [16]) были отобраны для анализа А-минов. Для аннотации А-минов взаимодействий использовалась программа DSSR (версия v1.8.5-2018nov29, [15]). Локальные А-мины внутренних петель были аннотированы с помощью оригинального программного

3. Результаты

В процессе визуального анализа локальных А-минов во внутренних петлях (147 взаимодействий) было обнаружено, что помимо 66 А-минов, стабилизирующих кинк-терны, существуют ещё 68 А-минов, вовлеченных в неизвестный ранее, но рекуррентный третичный мотив. Обнаруженный мотив получил название across-bulged мотив, т.к. нить напротив аденинов, вовлеченных в А-мины, обычно содержала выпяченное основание. Было выявлено 34 таких мотива, являющихся экземплярами 7 уникальных типов, 5 из которых были найдены в рибосомальных РНК, 1 – в рибосвице и 1 – в

гидовой РНК (см. табл. 1). В качестве представителей рибосомальных мотивов были выбраны мотивы из рибосомы организма *Spinacia oleracea* (PDB-документ 6ERI), т.к. это единственная структура, в которой были аннотированы все 5 уникальных типов across-bulged мотивов рибосомальных РНК.

Across-bulged мотивы включали от одного до трех аденинов, образующих А-мины. Выпяченные основания участвовали в широком спектре взаимодействий, а именно: межнитевой стекинг, А-мины, G-мины, другие N-мины, а также РНК-белковые контакты. Значительное большинство across-bulged мотивов включало также триплекс оснований (см. рис. 1,А).

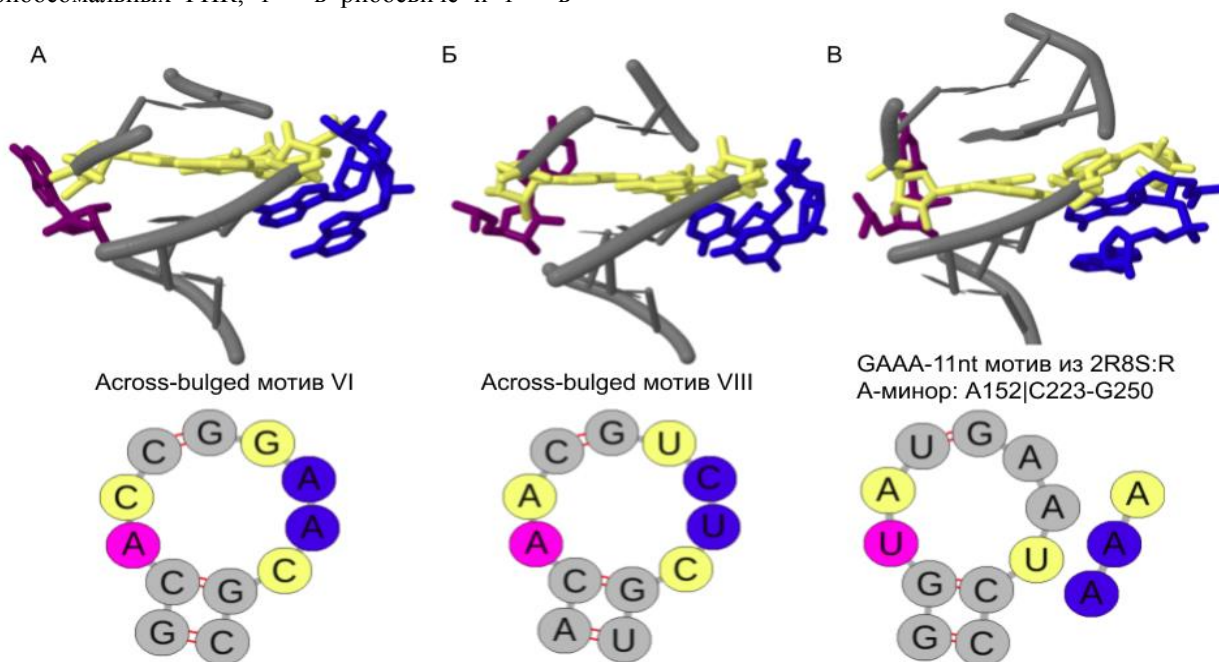


Рис. 1. 3D-структура и схема вторичной структуры РНК двух across-bulged мотивов и мотива GAAA-11nt. (А) мотив VI, представитель из PDB-документа 6ERI. (Б) мотив VIII, представитель из PDB-документа 6ERI. (В) GAAA-11nt мотив из PDB-документа 2R8S, цепь R, включающий А-минор A152|C223-G250. Спаривания стемов и аденины 11nt-петли показаны серым. Триплексы оснований показаны желтым. Аденины, образующие А-мины, показаны синим. Выпяченные основания показаны пурпурным.

Мы предположили, что across-bulged мотивы могут встречаться и с другими типами оснований, образующими А-мины, помимо аденинов. Такие мотивы не могли попасть в собранный датасет по определению, поэтому для их поиска были отобраны и изучены все внутренние петли подобного размера (4–2 и 4–3) в PDB-документе 6ERI. Нам удалось найти представителя такого мотива, который включал два пиримидина вместо аденинов (мотив VIII, см. табл. 1 и рис. 1,Б).

Пространственная структура across-bulged мотива является схожей со структурой типичного для РНК третичного мотива GAAA-11nt (см. рис. 1,В). Интересно, что 11nt-петля содержит собственные аденины, которые гипотетически могли бы образовывать локальные А-мины в отсутствие GAAA-шпильки. Таким образом, логично предположить механизм переключателя в

зависимости от наличия GAAA-шпильки. К сожалению, примеров структур в банке PDB, подтверждающих такой механизм, нам обнаружить не удалось.

4. Список литературы

1. Nissen P., Ippolito J.A., Ban N., Moore P.B., Steitz T.A. RNA tertiary interactions in the large ribosomal subunit: the A-minor motif. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001. V. 98. № 9. P. 4899–48903. doi: [10.1073/pnas.081082398](https://doi.org/10.1073/pnas.081082398).
2. Šponer J.E., Reblova K., Mokdad A., Sychrovský V., Leszczynski J., Šponer J. Leading RNA tertiary interactions: structures, energies, and water insertion of A-minor and P-interactions. A quantum chemical view. *The*

- Journal of Physical Chemistry B*. 2007. V. 111. № 30. P. 9153–9164. doi: [10.1021/jp0704261](https://doi.org/10.1021/jp0704261).
3. Xin Y., Laing C., Leontis N.B., Schlick T. Annotation of tertiary interactions in RNA structures reveals variations and correlations. *RNA*. 2008. V. 14. № 12. P. 2465–2477. doi: [10.1261/rna.1249208](https://doi.org/10.1261/rna.1249208).
 4. Lescoute A., Westhof E. The A-minor motifs in the decoding recognition process. *Biochimie*. 2006. V. 88. № 8. P. 993–999. doi: [10.1016/j.biochi.2006.05.018](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.05.018).
 5. Lescoute A., Westhof E. Topology of three-way junctions in folded RNAs. *RNA*. 2006. V. 12. № 1. P. 83–93. doi: [10.1261/rna.2208106](https://doi.org/10.1261/rna.2208106).
 6. Geary C., Chworos A., Jaeger L. Promoting RNA helical stacking via A-minor junctions. *Nucleic Acids Research*. 2011. V. 39. № 3. P. 1066–1080. doi: [10.1093/nar/gkq748](https://doi.org/10.1093/nar/gkq748).
 7. Tamura M., Holbrook S.R. Sequence and structural conservation in RNA ribose zippers. *Journal of Molecular Biology*. 2002. V. 320. № 3. P. 455–474. doi: [10.1016/S0022-2836\(02\)00515-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)00515-6).
 8. Klein D.J., Schmeing T.M., Moore P.B., Steitz T.A. The kink-turn: a new RNA secondary structure motif. *The EMBO Journal*. 2001. V. 20. № 15. P. 4214–4221. doi: [10.1093/emboj/20.15.4214](https://doi.org/10.1093/emboj/20.15.4214).
 9. Rázga F., Koča J., Šponer J., Leontis N.B. Hinge-like motions in RNA kink-turns: the role of the second A-minor motif and nominally unpaired bases. *Biophysical Journal*. 2005. V. 88. № 5. P. 3466–3485. doi: [10.1529/biophysj.104.054916](https://doi.org/10.1529/biophysj.104.054916).
 10. Geary C., Baudrey S., Jaeger L. Comprehensive features of natural and in vitro selected GNRA tetraloop-binding receptors. *Nucleic Acids Research*. 2008. V. 36. № 4. P. 1138–1152. doi: [10.1093/nar/gkm1048](https://doi.org/10.1093/nar/gkm1048).
 11. Fiore J.L., Nesbitt D.J. An RNA folding motif: GNRA tetraloop-receptor interactions. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 2013. V. 46. № 3. P. 223. doi: [10.1017/S0033583513000048](https://doi.org/10.1017/S0033583513000048).
 12. Wu L., Chai D., Fraser M.E., Zimmerly S. Structural variation and uniformity among tetraloop-receptor interactions and other loop-helix interactions in RNA crystal structures. *PLoS One*. 2012. V. 7. № 11. Article No. e49225. doi: [10.1371/journal.pone.0049225](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049225).
 13. Lee J.C., Gutell R.R., Russell R. The UAA/GAN internal loop motif: a new RNA structural element that forms a cross-strand AAA stack and long-range tertiary interactions. *Journal of Molecular Biology*. 2006. V. 360. № 5. P. 978–988. doi: [10.1016/j.jmb.2006.05.066](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.05.066).
 14. Aalberts D.P., Hodas N.O. Asymmetry in RNA pseudoknots: observation and theory. *Nucleic Acids Research*. 2005. V. 33. № 7. P. 2210–2214. doi: [10.1093/nar/gki508](https://doi.org/10.1093/nar/gki508).
 15. Lu X.J., Bussemaker H.J., Olson W.K. DSSR: an integrated software tool for dissecting the spatial structure of RNA. *Nucleic Acids Research*. 2015. V. 43. № 21. P. e142. doi: [10.1093/nar/gkv716](https://doi.org/10.1093/nar/gkv716).
 16. Leontis N.B., Zirbel C.L. Nonredundant 3D structure datasets for RNA knowledge extraction and benchmarking. In: *RNA 3D structure analysis and prediction*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. P. 281–298. doi: [10.1007/978-3-642-25740-7_13](https://doi.org/10.1007/978-3-642-25740-7_13).
 17. Baulin E., Yacovlev V., Khachko D., Spirin S., Roytberg M. URS DataBase: universe of RNA structures and their motifs. *Database*. 2016. V. 2016. doi: [10.1093/database/baw085](https://doi.org/10.1093/database/baw085).