

ГРУППА АЛЬТЕРНАТИВ И ЯВЛЕНИЕ СПЛАЙСИНГА

В.В. Щербик, Л.П. Бучацкий

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

Сплайсинг РНК и белковый сплайсинг относятся к важнейшим биохимическим процессам, лежащим в основе сохранения и преобразования генетической информации [1]. Сплайсинг РНК показывает мозаичность генов, демонстрирует частичную независимость информации РНК от первичной последовательности генов, транскрибируемых на матрице ДНК.

Сплайсинг РНК, то есть вырезание фрагментов РНК (интронов) и сшивка оставшихся частей РНК (экзонов) происходит после транскрипции ДНК. Выделяются две большие группы интронов: интроны группы I, имеющие линейную структуру и интроны группы II, образующие структуры типа лассо (lariat). Интроны группы I и II обладают автокаталитической активностью, то есть являются рибозимами. Интроны группы II про-мРНК вырезаются сплайсеосомой. Для сплайсинга интронов группы I характерно присутствие внешнего гуанозинового кофактора. Кроме этого, интроны группы I могут выполнять функцию нуклеотидил-трансферазы и эндорибонуклеазы. Для вырезания интронов группы II кофакторы не требуются; инициация сплайсинга производится внутренним аденином интрона. Выделяются также альтернативный сплайсинг, транс-сплайсинг, сплайсинг тРНК. Кроме сплайсинга РНК имеет место белковый сплайсинг.

Биохимия сплайсинга очень сложна [2]. Для сплайсинга необходимо наличие определенных 3'- и 5'- последовательностей. Сплайсинг катализируется состоящим из РНК и белков большим комплексом, сплайсеосомой. Сплайсеосома включает пять малых ядерных рибонуклеопротеидов (мяРНП) – U1, U2, U4, U5 и U6. РНК, входящая в состав мяРНП, взаимодействует с интроном и, возможно, участвует в катализе. Она принимает участие в сплайсинге интронов, содержащих в 5'-сайте **GU**, и **AG** в 3'-сайте сплайсинга. Иногда мРНК в процессе созревания может подвергаться альтернативному сплайсингу, который заключается в том, что имеющиеся в составе

про-мРНК интроны вырезаются в различных альтернативных комбинациях, при которых часто вырезаются и экзоны. В результате альтернативного сплайсинга про-мРНК одного гена образуются многочисленные мРНК и их белковые продукты.

После открытия самосплайсинга РНК [3] изменилось представление о ферментах: кроме белков, ферментативной активностью обладают и РНК. Еще более удивительным является альтернативный сплайсинг [4], при котором из одного гена получают различные белковые молекулы. Альтернативный сплайсинг – характерная особенность процессинга РНК эукариот. Интроны транс-сплайсинга [5] иногда имеют вид альтернативы, когда из точки аденинового сайта наблюдается ветвление РНК.

Функциональных различий между РНК и белками стало еще меньше после того, как в 1990 г группой Т. Стивенса было обнаружено явление белкового автосплайсинга [6].

Группа альтернатив

Различные виды сплайсинга обладают высокой точностью вырезания интронов [7]. Альтернативный сплайсинг, выполняемый сплайсеосомами, напоминает детерминированный хаос: с одной стороны присутствует вероятностная природа альтернативы, а с другой стороны – высокая точность сплайсинга РНК. Можно предположить, что альтернатива управляется симметрией процесса сплайсинга – непрерывной группой.

Классические представления групп (функциональные) весьма распространены в квантовой механике [8]. Векторы состояний связаны между собой симметрией группы. Измерение результата физического процесса в квантовой механике почти всегда сильно уменьшает роль симметрии состояний. Но в биологических системах ферменты – это активные молекулы, которые не уменьшают, а увеличивают роль симметрии между состояниями биохимического процесса. Это приводит к высокой точности преобразования генетической информации, характерной для феномена сплайсинга.

Группа альтернатив – известная группа ISO(2) – не претендует на описание процесса сплайсинга, но позволяет формально интерпретировать структуры интронов. Правило **GU-AG** для интронов группы II, а также наличие сплайсеосомы, с помощью группы ISO(2), по-видимому, понять нельзя. Объяснение кэпирования и полиаденилования про-мРНК мы также опускаем. Кроме этого, мы

хотим сразу подчеркнуть, что построенные далее представления группы ISO(2) мы назовем *альтернативными*, так как они содержат много нетривиальных векторных интерпретаций.

Группа ISO(2) – очень простая группа, имеющая отношение к спину фотона. Она является группой сдвигов и поворотов евклидовой плоскости и хорошо изучена [9].

Мы используем векторную интерпретацию группы ISO(2). Векторы группы – это фрагменты РНК или белка. Также используется параллельный перенос векторов при их сложении.

Группа ISO(2) – это группа комплексных матриц 2-го порядка следующего строения:

$$G(\alpha, r, \varphi) = \begin{vmatrix} \exp i\alpha & r \exp i\varphi \\ 0 & 1 \end{vmatrix}$$

где $r \exp i\varphi$ – радиус-вектор точки евклидовой плоскости; $\exp i\alpha$ – фазовый множитель этой же точки после сдвига вдоль оси OX.

Группа ISO(2) – это группа Ли. Не трудно вычислить генераторы этой группы, которые удовлетворяют коммутационным соотношениям:

$$[a_1, a_2] = 0; [a_2, a_3] = a_1; [a_3, a_1] = a_2.$$

В наших рассуждениях большую роль играют внутренние автоморфизмы группы ISO(2), которые порождаются действием группы саму на себя преобразованием подобия: $G(\alpha_0, r_0, \varphi_0) \rightarrow G(\alpha, r, \varphi) G(\alpha_0, r_0, \varphi_0) G(\alpha, r, \varphi)^{-1}$, то есть вместо одного вектора группы ISO(2) берутся 3 вектора. Также используются коммутаторы группы.

Уравнение альтернативы запишем как автоморфизм группы ISO(2) в виде $g_s = g g_0 g^{-1}$, где

$$g = \begin{vmatrix} \exp i\alpha & r \exp i\varphi \\ 0 & 1 \end{vmatrix}; g^{-1} = \begin{vmatrix} \exp(-i\alpha) & -r \exp i(\varphi - \alpha) \\ 0 & 1 \end{vmatrix}; g_0 = \begin{vmatrix} \exp i\alpha_0 & r_0 \exp i\varphi_0 \\ 0 & 1 \end{vmatrix};$$

$$g_s = \begin{vmatrix} \exp i\alpha_0 & -r \exp i(\varphi + \alpha_0) + r_0 \exp i(\varphi_0 + \alpha) + r \exp i\varphi \\ 0 & 1 \end{vmatrix}.$$

На рис. 1 приведены диаграммы альтернатив группы ISO(2).

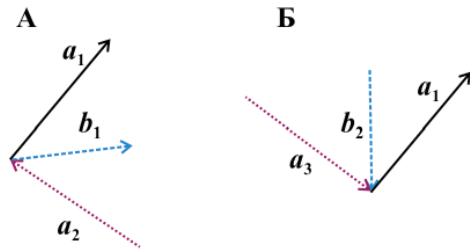


Рис. 1. Альтернативы группы ISO(2).

Примітки: **A** - прямая альтернатива g_s . **B** - обратная альтернатива g_s^{-1} .
 $a_1 = +r \exp i\varphi$, $a_2 = -r \exp i(\varphi + \alpha_0)$, $a_3 = -r \exp i(\varphi - \alpha_0)$,
 $b_1 = +r_0 \exp i(\varphi_0 + \alpha)$, $b_2 = -r_0 \exp i(\varphi_0 + \alpha - \alpha_0)$.
 Выбраны числовые значения углов: $\varphi_0 = -\alpha$, $\varphi = 45^\circ$, $\alpha_0 = -90^\circ$.

Векторы прямой альтернативы линейно независимы, векторы обратной альтернативы зависят от расположения векторов прямой альтернативы. При сложении векторов альтернативы в один вектор предполагается, что начало их отсчета остается неподвижным. Ориентацию любого вектора всегда можно изменить путем сдвига начала отсчета его фазы на угол, равный 180° .

Диаграммы интронов

Ясно, что если векторы альтернативы механически складывать в один вектор, то мы сможем получить только линейный интрон группы I. Поэтому параллельный перенос векторов и их взаимное расположение играет ключевую роль при построении диаграмм интронов.

На рис. 2 представлены основные диаграммы интронов при сплайсинге РНК и белка.

Опишем подробно каждую диаграмму интронов.

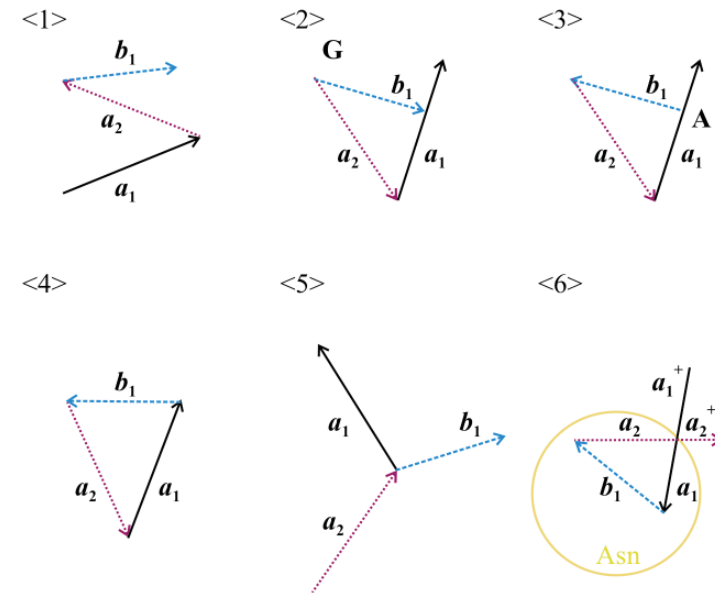


Рис. 2. Основные диаграммы интронов при сплайсинге РНК и белка.

Диаграмма <1>. Линейные интроны группы I. Произвольное количество векторов группы ISO(2) можно складывать неупорядоченно и получать эти интроны.

Диаграмма <2>. Эта диаграмма также имеет отношение к интронам группы I. Внешний гуанин G атакует интрон и в результате двух реакций трансэтерификации образуются линейные интроны. Векторы b_1 и a_2 – это силовые линии гуанина. Вектор a_1 является интроном. Здесь группа ISO(2) не является однородной.

Диаграмма <3>. Это основная диаграмма интронов группы II. В результате замыкания РНК из сайта A образуется фигура лассо. Интроны в виде лассо образуются также при обработке про-РНК сплайсеосомой и при альтернативном сплайсинге. Вместо трех векторов можно использовать и большее их количество: в петле лассо порядок суммирования векторов не имеет значения.

Диаграмма <4>. Замкнутый в кольцо интрон группы I. Кольцо интрона может быстро распадаться [10] или сохраняться довольно долго [11].

Диаграмма <5>. Прямая альтернатива интрона, которая наблюдается при транс-сплайсинге [12]. Удивительно, что Y-интрон, который соответствует автоморфизму группы ISO(2), не соответствует самосплайсингу РНК.

Диаграмма <6>. Белковый сплайсинг. Аминокислотные остатки Asn и Gln являются модулями остова белка, поэтому не удивительно, что при белковом сплайсинге именно эти аминокислоты замыкаются в кольцо [13]. Вектор a_2^+ последовательности аминокислотных остатков в белковой структуре является продолжением вектора a_1^+ периодического остова белка. А так как периодическая последовательность остова имеет естественное упорядочение, то эта диаграмма сплайсинга предполагает наличие упорядоченных периодических фрагментов, α -спиралей и β -листов, в белке. Здесь группа ISO(2) является однородной.

Альтернативный сплайсинг

Применение автоморфизма группы ISO(2) для интерпретации альтернативного сплайсинга неэффективно из-за сильной взаимной зависимости векторов. Поэтому рассмотрим групповые преобразования векторов не на основе автоморфизма, а на основе возвратных преобразованиях интронов, то есть вложения интронов в коммутаторы группы. Каждый интрон заключен между экзонами, групповые обратные элементы которых ассоциируются с интроном.

Рассмотрим простейший случай, когда вырезаются 2 интрона или 1 интрон из первичного транскрипта РНК (Рис. 3).

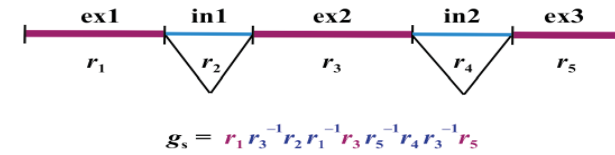


Рис. 3. Альтернативный сплайсинг двух интронов. Экзоны ex1, ex2, ex3; интроны in1, in2. Вырезаются in1, in2 или только in1. g_s – Групповой элемент сплайсинга.

Каждый вырезаемый интрон окружен двумя обратными экзонами в обратном порядке. На диаграммах сплайсинга (рис. 4) векторы экзонов остаются в начале отсчета, а векторы интронов образуют лассо.

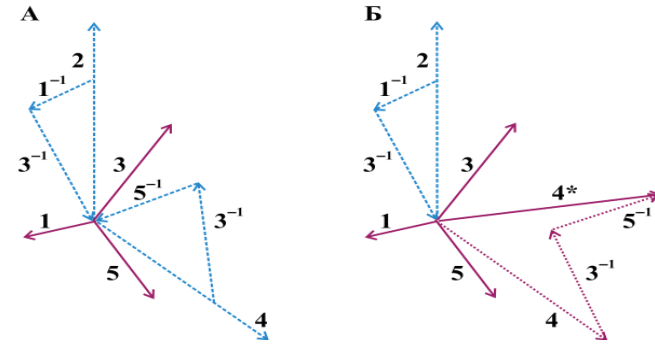


Рис. 4. Диаграммы альтернативного сплайсинга двух интронов. А. Вырезаются in1 и in2. Б. Вырезается in1.

Векторы r_1^{-1} , r_3^{-1} , r_5^{-1} являются фиктивными; в сумме они показывают путь лассо в интроне или вектор вращения в экзоне. Вектор $r_4^* = r_4 + r_3^{-1} + r_5^{-1}$.

Альтернативный сплайсинг с частичным вырезанием экзона (рис. 5).

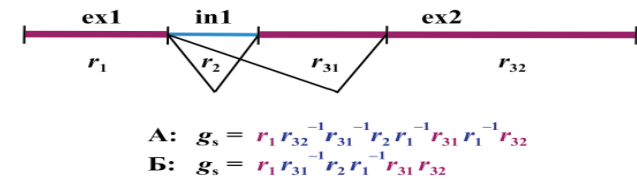


Рис. 5. Альтернативный сплайсинг с частичным вырезанием экзона. У экзона ($r_{31} + r_{32}$) вырезается часть r_{31} . А: полный вариант. Б: сокращенный вариант.

Групповой элемент записывается в двух вариантах, так как для вырезания одного интрона достаточно двух обратных элементов группы ISO(2).

На рис. 6 приведены диаграммы сокращенного варианта альтернативного сплайсинга с частичным вырезанием экзона.

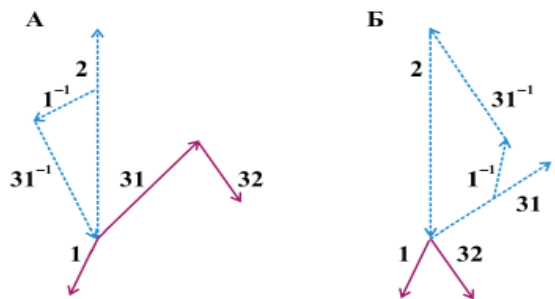


Рис. 6. Диаграммы альтернативного сплайсинга с частичным вырезанием экзона. А. Вырезается in1. Б. Вырезается in1 и r₃₁.

Альтернативный сплайсинг РНК вируса SV40 (Рис. 7). Здесь малый Т-антиген, равный сумме экзона ex1 и интрона in1, заканчивается внутри интрона (in1 + in2) [14], поэтому нужно ввести дополнительный фиктивный вектор r₅, чтобы правильно построить коммутатор.

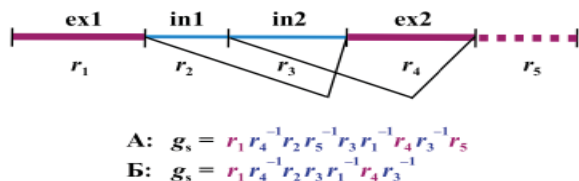


Рис. 7. Альтернативный сплайсинг мРНК большого (ex1 + ex2) и малого (ex1 + in1) Т-антигенов вируса SV40. А: полный вариант. Б: сокращенный вариант (r₅ = 1).

На рис. 8 приведены диаграммы альтернативного сплайсинга Т-антигенов вируса SV40.

Вообще, при альтернативном сплайсинге присутствуют альтернативные диаграммы интронов. Здесь группа ISO(2) не является однородной. Кроме этого, суммирование векторов экзонов производится в последовательности, коллинеарной последовательности экзонов в про-мРНК, так как группа ISO(2) не предполагает какого-либо упорядочения при суммировании векторов.

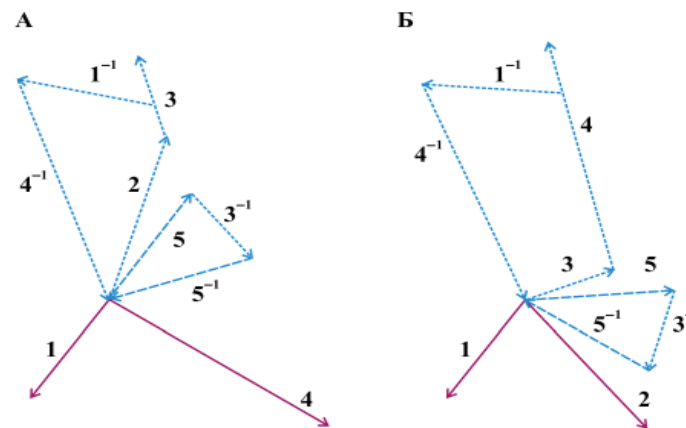


Рис. 8. Диаграммы альтернативного сплайсинга Т-антигенов вируса SV40 с частичным вырезанием экзона (полный вариант). Вектор r₅ находится в фиктивном кольцевом интроне. В сокращенном варианте обратные векторы r₁⁻¹, r₄⁻¹, r₃⁻¹ соединены последовательно. А. Вырезаются in1 и in2. Б. Вырезаются in2 и r₄.

Выводы

Группа ISO(2) в ее векторной интерпретации подходит для описания различных типов интронов при сплайсинге РНК и интеинов при белковом сплайсинге. При описании альтернативного сплайсинга с помощью группы ISO(2) используются коммутаторы, так как автоморфизмы группы в этом случае не эффективны.

Литература

1. Сингер М. Гены и геномы / М. Сингер, П. Берг. - Москва: Мир, 1998. - 391 с.
2. Weaver R.F. Molecular Biology. Chapter 14 / RNA Processing I: Splicing / R. F. Weaver. - 892 p.
3. Cech T.R. In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of Tetrahymena: involvement of a guanosine nucleotide in the excision of the intervening sequence / T.R. Cech, A.G. Zaig, P.J. Grabowski // Cell - 1981. - Vol. 27. - P. 487-496.
4. McManus C.J. RNA structure and the mechanisms of alternative splicing / C.J. McManus, B.R. Graveley // Curr. Opin. Genet. Dev. - 2011. - Vol. 21. - P. 373-379.
5. Trans and cis splicing in trypanosamids: mechanism, factors and regulation / X. Liang, A. Haritan, S. Ulliel, S. Michaeli // Eukar. Cell. - 2003. - Vol. 2. - P. 830-840.
6. Protein splicing converts the yeast TFP1 gene product to the 69-kD subunit of the vacuolar H(+)-adenosine triphosphatase / P.M. Kane, C.T. Yamashiro, D.F. Wolczyk [e.a.] // Science. - 1990. - Vol. 250. - P. 651-657.
7. Watson James D. Molecular biology of the gene. Chapter 13 / RNA Splicing / James D. Watson. - 841 p.

8. Петрашень М.И. Применение теории групп в квантовой механике / М.И. Петрашень, Е.Д. Трифонов. – М.: Наука, 1967. – 308 с.

9. Виленкин Н.Я. Специальные функции и теория представлений групп / Н.Я. Виленкин. – М.: Наука, 1965. – 588 с.

10. Nielsen H. Group I introns. Moving in new directions / H. Nielsen, S.D. Johansen // RNA Biology. – 2009. – Vol. 6. – P. 375–383.

11. The ability to form full-length intron RNA circles is a general property of nuclear group I introns / H. Nielsen, T. Fiskaas, A.B. Birgisdottir [e.a.] // RNA. – 2003. – Vol. 9. – P. 1464–1475.

12. Ralph D. Physical identification of branched intron side-products of splicing in *Trypanosoma brucei* / D. Ralph, J. Huang, L.H.T. Van der Ploeg // EMBO J. – 1988. – Vol. 7. – P. 2539–2545.

13. Clarke N.D. A proposed mechanism for self-splicing of proteins / N.D. Clarke // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – Vol. 91. – P. 11084–11088.

14. Noble J.C.S. Alternative splicing of SV40 early pre-mRNA is determined by branch site selection / J.C.S. Noble, C. Prives, J.L. Manley // Genes & Dev. – 1988. – Vol. 2. – P. 1460–1475.

Резюме

Щербик В. В., Бучацький Л.П. Група альтернатив і явище сплайсингу.

Розглянуто основні діаграми інтронів при сплайсингу РНК і діаграма інтеїна при білковому сплайсингу за допомогою групи альтернатив – групи ISO(2). Показано, що для опису простих діаграм інтронів достатньо застосування внутрішнього автоморфізму групи ISO(2), тоді як для опису альтернативного сплайсингу більш ефективним є застосування комутаторів групи. Запропоновані різні варіанти опису альтернативного сплайсингу.

Ключові слова: сплайсинг РНК, білковий сплайсинг, група ISO (2).

Резюме

Щербик В. В., Бучацький Л. П. Группа альтернатив и явление сплайсинга.

Рассмотрены основные диаграммы интронов при сплайсинге РНК и диаграмма интеина при белковом сплайсинге с помощью группы альтернатив – группы ISO(2). Показано, что для описания простых диаграмм интронов достаточно применения внутреннего автоморфизма группы ISO(2), тогда как для описания альтернативного сплайсинга более эффективным является использование коммутаторов группы. Предложены различные варианты описания альтернативного сплайсинга.

Ключевые слова: сплайсинг РНК, белковый сплайсинг, группа ISO(2).

Summary

Stcherbic V. V., Buchatsky L. P. Group of alternatives and splicing phenomenon.

Group of alternatives, ISO(2) group, was used to consider main intron diagrams at RNA splicing and intein diagram at protein splicing. Application of internal automorphism of group ISO(2) was shown to be sufficient for description of simple intron diagrams, whereas the use of group commutators was more effective for description of alternative splicing. Different variants are proposed to describe alternative splicing.

Key words: RNA splicing, protein splicing, group ISO(2).

Рецензент: д. біол.н., проф. В.К. Рибальченко

ЕКОЛОГІЧНА І КЛІНІЧНА ІМУНОЛОГІЯ ТА ІМУНОРЕАБІЛІТАЦІЯ