

Особенности механизмов транскрипции у прокариот: работа молекулярных машин на ДНК

д.б.н. А.В. Кульбачинский

Научно-популярный материал

Транскрипция (от лат. *transcriptio* — переписывание) – процесс синтеза РНК на матрице ДНК, первая стадия экспрессии генетического материала. Процесс транскрипции ДНК в клетках всех организмов осуществляется ДНК-зависимыми РНК-полимеразами. Это значит, что в качестве матрицы данные ферменты используют молекулу ДНК, а синтезируют молекулу РНК из рибонуклеозидтрифосфатов (рНТФ). Основной принцип работы РНК-полимеразы заключается в следующем: специальным фактором в составе фермент РНК-полимеразы, называемом сигма-субъединицей, узнаются специальные последовательности в ДНК, называемые промоторами, после этого происходит локальное плавление небольшого участка ДНК (примерно 1 витка двойной спирали) и на расстоянии 10-ти нуклеотидов от промоторной

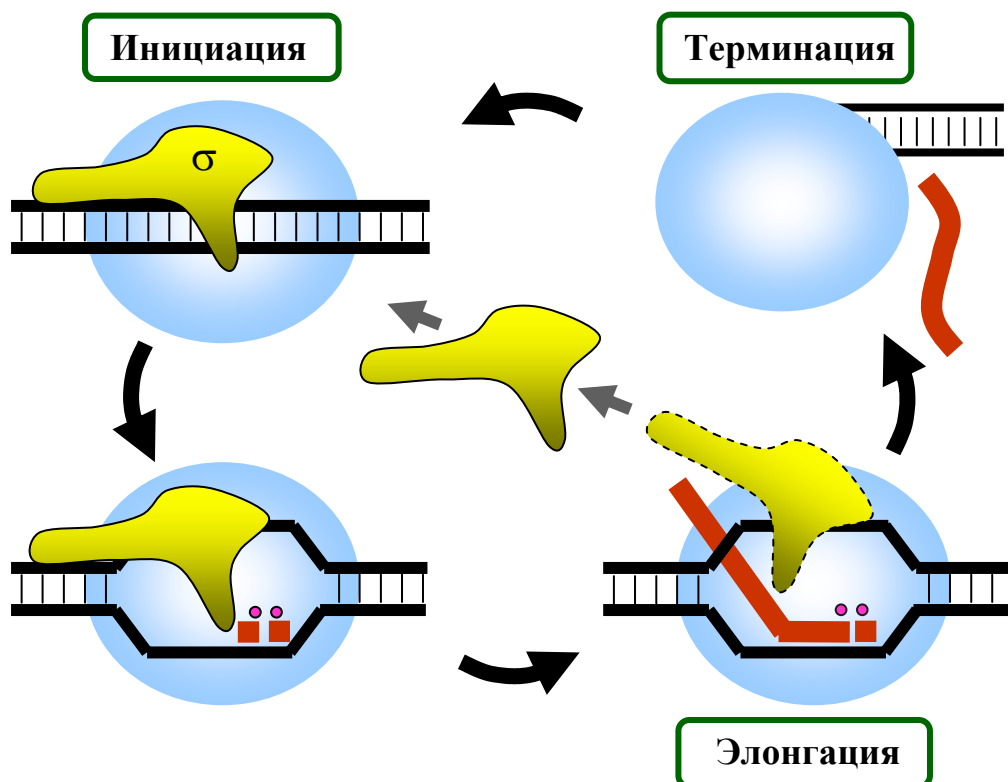


Рисунок 1 – Транскрипционный цикл у бактерий

У РНК-полимеразы, как и у других ферментов, катализирующих образование фосфодиэфирных связей, непосредственно катализ осуществляется двумя ионами магния, координированными в активном центре в основном аминокислотными радикалами аспарагиновой кислоты. Однако также большую роль играют элементы активного центра G-петля и F-спираль, структурные перестройки которых способствуют позиционированию входящего нуклеотида в нужной ориентации и перемещению РНК-полимеразы после акта катализа на один нуклеотид вперед по ДНК матрице (данный процесс называется транслокация). Матричная нить ДНК, которая служит матрицей для синтеза РНК, находится в активном центре фермента. Входящий нуклеотид должен образовать правильные водородные связи с соответствующим основанием матричной цепи ДНК, если это происходит, то осуществляется акт катализа. В случае если нуклеотид не подходит, то белковое окружение «чувствует» неправильную геометрию образовавшейся пары и некомплементарный нуклеотид диссоциирует, давая шанс правильному нуклеотиду встроиться в растущую цепь РНК. При синтезе фосфодиэфирной связи нуклеозидмонофосфат встраивается в растущую цепь РНК, а молекула пирофосфата высвобождается, стимулируя тем самым упомянутую выше транслокацию РНК-полимеразы на один нуклеотид вперед по ДНК матрице.

Транскрипцию можно разделить на 3 стадии: инициацию, элонгацию и терминацию (рис. 1). К инициации можно отнести процесс узнавания промотора, его плавления и начала синтеза РНК. Элонгация – это дальнейший процесс синтеза РНК. Имеется четкая граница между инициацией и элонгацией транскрипции, выражающаяся в диссоциации сигма-субъединицы, которая была необходима для узнавания промоторных элементов ДНК. Переход этот крайне загадочен и интересен, так как происходит далеко не с первого раза. На стадии синтеза первых фосфодиэфирных связей рождающейся цепи РНК наличие специфических взаимодействий с промотором «тянет» РНК-полимеразу назад при ее

попытках уехать вперед. Это приводит к тому, что короткие РНК длиной до 9-ти нуклеотидов попросту «вываливаются» из РНК-полимеразы, не сумев преодолеть сопротивление, возникающее из-за связи РНК-полимеразы с промотором. Однако преодоление порогового значения в 9 нуклеотидов способствует выталкиванию растущей цепью РНК сигма-субъединицы, держащейся за промотор (показана желтым на рис. 1), и РНК-полимераза преступает к последовательному присоединению нуклеотидов. Стоит отметить, что наличие в промоторе последовательностей ДНК, очень хорошо узнаваемых сигма-субъединицей, делает такой промотор бесспорно привлекательным для эффективного узнавания скользящими и плавающими вокруг РНК-полимеразами. Однако сильные взаимодействия приводят к дальнейшему отрицательному эффекту, проявляющемуся в невозможности для РНК-полимеразы уйти с такого промотора и перейти к элонгации. Поэтому обычно в клетках присутствуют «средние» по силе промоторы и после нескольких десятков или сотен вывалившихся коротких РНК РНК-полимераза преодолевает энергию разрыва связей с промотором, и сигма-субъединица выталкивается из канала выхода РНК, что и приводит к переходу к элонгации.

Во время элонгации нуклеотиды присоединяются один за другим, однако и здесь существует много нюансов. Во-первых, существуют определенные последовательности в ДНК, а также определенные белки, которые способствуют замедлению синтеза РНК – этот процесс называется паузирование и имеет регуляторное значение. Во-вторых, примерно один раз на 100 000 циклов включения нуклеотидов РНК-полимеразы ошибается и катализирует синтез фосфодиэфирной связи между концом растущей РНК и некоплементарным матричной цепи ДНК нуклеотидом. Это приводит к синтезу ошибочной молекулы РНК. Как правило, после этого РНК-полимераза «замечает» свою ошибку и далее не присоединяет нуклеотиды, а реализует свою способность расщеплять РНК. Отщепляется неправильно присоединенный нуклеотид в том же активном центре, в котором происходит

синтез РНК. Это отличает РНК-полимеразу от ДНК-полимераз, где существуют два отдельных активных центра – для присоединения нуклеотидов и гидролиза фосфодиэфирных связей. Как правило, после исправления ошибок РНК-полимераза доезжает до конца гена. Оканчивается транскрипция терминацией – диссоциацией фермента и синтезированной РНК от ДНК. Терминация у бактерий осуществляется двумя способами – на особых последовательностях, называемых терминаторами или с помощью специального фермента РНК-хеликазы – фактора Rho,двигающегося по молекуле РНК сзади РНК-полимеразы и вытесняющего ее из элонгационного комплекса.

Рассматривая РНК-полимеразу в качестве молекулярной машины стоит ввести необходимое определение. Итак, молекулярной машиной принято считать макромолекулярные комплексы, способные к крупномасштабным направленным перемещениям относительно какого-либо субстрата. Многие молекулярные машины способны также осуществлять транспорт других макромолекул или их комплексов. Как правило, молекулярные машины используют для своей работы энергию гидролиза НТФ, чаще всего, АТФ. РНК-полимераза относится к молекулярным машинам конвейерного типа, что обозначает повторение одинаковых циклов работы. По аналогии со знакомыми нам машинами макромира, можно сказать, что в основе движения РНК-полимеразы лежит устройство храповика. Зубцом храповика при этом являются элементы активного центра (в частности, протяженная белковая спираль), не позволяющие растущей цепи РНК выходить за пределы активного центра, а «собачкой» – 3' конец РНК. Собственно перемещение молекулы РНК-полимеразы по ДНК происходит за счет броуновского движения, а фиксация в новом положении на матрице ДНК – за счет удлинения РНК на один нуклеотид в процессе синтеза. Такой принцип работы с использованием броуновских сил характерен для многих молекулярных машин и отличает их от двигателей и машин, знакомых нам в повседневной жизни.