

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ И ТРАНСКРИПЦИИ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ

© 2007 А. Н. Барков¹, Е. В. Трубникова², Н. В. Стабровская³

*1 – аспирант кафедры зоологии и теории эволюции
ariezzz666@rambler.ru*

*2 – зав. научно-исследовательской лабораторией «Генетика»,
канд. биол. наук*

tr_e@list.ru

3 – аспирант кафедры зоологии и теории эволюции

Курский государственный университет

Рассмотрены вопросы структурной и функциональной организации рибосомных генов про- и эукариотических организмов. Охарактеризованы параметры молекулярного строения и общая характеристика транскрипции генов рРНК, акцентировано внимание на особенностях организации отдельной транскрипционной единицы. Освещены механизмы работы и роль основных регуляторов транскрипции – РНК-полимераз; дана краткая характеристика структурно-функциональных типов фермента. Отдельно обращено внимание на особенности функционирования эндогенных факторов транскрипции рибосомных генов - UBF белка и SL-1.

Одной из важнейших функций клеточного ядра является реализация генетической информации в виде синтеза целого ряда РНК, служащих матрицами для синтеза белка или образующих аппарат белкового синтеза. Синтез разного типа РНК на матрицах ДНК хроматина, транскрипция, включает в себя образование нескольких типов РНК, синтезируемых с помощью различных РНК-полимераз, ферментов, синтезирующих РНК по одной из цепей матричной ДНК. Всего в эукариотических клетках встречается 5 типов РНК (табл. 1).

Таблица 1

Типы РНК, их количество, стабильность и ферменты,
участвующие в их синтезе

№№ пп	Тип РНК	Количество в %	% синтезированных молекул за ед. времени	Фермент
1	иРНК	10	58	РНК-полимераза II
2	рРНК	50-70	39	РНК-полимераза I
3	тРНК	25		РНК-полимераза II
4	мяРНК	5	3	РНК-полимераза II
5	митРНК	15		

Информационные РНК, самые разнообразные по величине и по строению нуклеотидных последовательностей, являются самыми нестабильными по времени их жизни: они синтезируются в большом количестве и быстро деградируют, что

обеспечивает смену функциональных активностей клетки. В связи с их быстрой заменой общее число их относительно невелико, 10% от массы всех РНК в клетке. Эти иРНК синтезируются при участии фермента РНК-полимеразы II, которая может образовывать первичную копию РНК с любого гена, кодирующего структуру белка (см. обзоры [Larson 1991; Moss 1995]). Дальнейшее созревание этих первичных транскриптов, их значительное укорочение и перестройка (сплайсинг) происходит с помощью особых рибонуклеопротеидных частиц, содержащих малые ядерные РНК (мяРНК). Эти мяРНК синтезируются также с помощью этого фермента, их количество в клетке невелико (5%), но они более стабильны и долгоживущие. К мяРНК относится целая гетерогенная группа РНК, входящая в состав малых РНП-частиц, таких как SRP, теломераза, сплайсосомы и др. Все остальные клеточные РНК необходимы для создания аппарата белкового синтеза. Рибосомные РНК синтезируются с помощью РНК-полимеразы I, они представляют основную массу клеточных РНК и относительно стабильны. Одна из рибосомных РНК, 5S РНК, а также 20 трансферных РНК, тоже стабильных, синтезируются с помощью РНК-полимеразы III. Митохондриальные РНК синтезируются в самих митохондриях независимо от синтеза РНК в ядре.

Реализация генетической информации, выражающаяся в синтезе разнообразных молекул РНК, должна быть связана с изменением морфологии ядерных компонентов. На светооптическом уровне активация ядерной транскрипции всегда связана с деконденсацией хроматина, с увеличением объема ядрышек, с повышением их базофилии, т.е. с увеличением в них количества РНК. Эти общие признаки увеличения ядерной активности мало что дают для понимания хода молекулярных процессов на уровне реальных ядерных компонентов. Что происходит с участками хроматина, заключающими индивидуальный ген, кодирующий определенный белок, изучать очень трудно, так как эти гены в подавляющем большинстве случаев существуют в единичных копиях и проследить в гигантском клубке деконденсированных интерфазных хромосом за работой индивидуального гена чрезвычайно трудно (хотя и возможно).

Относительно более просто эту же задачу можно решить на генах многократно повторенных в геноме, таких как гены рибосомных РНК, входящих в состав интерфазных ядрышек, основной функцией которых является образование рибосом. Изучая ультраструктуру ядрышек и особенности морфологии синтеза рибосомных РНК, впервые удалось с помощью электронного микроскопа визуализировать работающий ген [Ченцов 1998].

Множественность рибосомных генов

При изучении числа ядрышек при различных хромосомных абберациях было найдено, что при разрыве хромосомы на месте вторичной перетяжки ядрышки могут возникать на каждом из фрагментов хромосом. Так, при обмене участками между двумя хромосомами в микроспорах кукурузы, в том случае когда разрыв одной из хромосом происходил через ядрышковый организатор, возникали две хромосомы, каждая из которых несла часть исходного ядрышкового организатора. В этом случае обе хромосомы обладали способностью образовывать ядрышки, хотя и в неодинаковой степени. Из этих наблюдений был сделан очень важный вывод (который полностью подтвердился в 60-х годах на молекулярно-биологическом уровне) о том, что ядрышковый организатор представляет собой не точечный локус хромосомы, а является множественным по своей структуре, содержит несколько одинаковых генных участков, каждый из которых отвечает за образование ядрышка.

Методом молекулярной гибридизации было показано, что в составе геномов эукариот рибосомные гены представлены сотнями и тысячами единиц; они принадлежат к фракции умеренно повторяющихся последовательностей ДНК. Даже у бактерий в геноме может быть несколько (6–7) рассеянных по геному идентичных последовательностей, ответственных за синтез рРНК [Leibhaber 1978]. Общее количество этой фракции ДНК (рДНК) у *E. coli* составляет около 1% от всей ДНК. У эукариотических организмов этот процент может составлять 0,18 для *X. laevis*, 0,4 - для человека, 1,3 для дрозофилы, 5,5 для пекарских дрожжей. Число же рибосомных генов у эукариот намного больше, чем у прокариотических клеток. В таблице 2 приведены некоторые примеры числа генов рРНК у различных представителей эукариот.

Таблица 2

Количество рибосомных генов на гаплоидный набор хромосом

Классификационная принадлежность	Представители – количество копий рибосомных генов
Хордовые	
Млекопитающие:	Человек – 200 Мышь – 100 Кошка – 1000
Птицы:	Курица – 200
Амфибии:	Тритон гребенчатый – 4100 Амфиума – 19600
Рыбы:	Линь – 120 Лосось – 730 Неоцератод – 4800
Беспозвоночные	
Иглокожие:	Морской еж – 260
Насекомые:	Сверчок домашний – 170 Шелкопряд тутовый – 240
Моллюски:	Устрица – 220
Нематоды:	Аскарида – 300
Простейшие	Эвглена – 800 Тетрахимена – 290
Высшие растения:	Фасоль – 2000 Кукуруза – 8500
Грибы:	Дрожжи пекарские – 140
Водоросли:	Хламидомонада – 150 Ацетабулария – 1900

С помощью метода молекулярной гибридизации было проанализировано не только число рибосомных генов, но и их локализация. Из этих экспериментов следовало, что именно зоны ядрышковых организаторов во вторичных перетяжках хромосом *Xenopus* содержат рибосомные гены и что в каждом из этих организаторов

содержится примерно по 300 генов, т.е. ядрышковые организаторы представляют собой полицистронные участки, содержащие множество одинаковых генов (полиизогенные участки) [Miller 1981; Long 1980]. Следовательно, рибосомные гены собраны вместе в группы или кластеры.

Наблюдать непосредственно порядок расположения рибосомных генов на ДНК выделенных ядрышек с помощью электронного микроскопа удалось на дополнительных ядрышках ооцитов амфибий.

Амплификация рибосомных генов

Обычно число генов рибосомных РНК постоянно на геном, оно не меняется в зависимости от уровня транскрипции этих генов. Так, у клеток с высоким уровнем метаболизма число генов рРНК точно такое же, как и число у клеток, полностью прекративших синтез рибосом. При репликации ДНК в S-периоде происходит и удвоение числа генов рРНК, поэтому их количество коррелирует с плоидностью клетки.

Однако существуют случаи, когда гены рРНК подвергаются избыточной репликации. При этом дополнительная репликация генов рРНК происходит в целях обеспечения продукции большого количества рибосом. В результате такого сверхсинтеза генов рРНК их копии могут становиться свободными, экстрахромосомными. Эти внехромосомные копии генов рРНК могут функционировать независимо, в результате чего возникает масса свободных дополнительных ядрышек, но уже не связанных структурно с ядрышкообразующими хромосомами. Это явление получило название **амплификации генов рРНК**. Особенно подробно это явление изучено на растущих ооцитах амфибий, хотя оно встречается как у животных, так и у растений.

Так, у *X. laevis*, наиболее подробно изученный и популярный объект, амплификация рДНК происходит в профазе I деления созревания, когда синтез хромосомной ДНК давно закончен. В этом случае количество амплифицированной рДНК (или генов рРНК) становится в 3000 раз больше того, что приходится на гаплоидное количество рДНК, и соответствует $1,5 \times 10^6$ генов рРНК. Эти сверхчисленные внехромосомные копии образуют сотни дополнительных ядрышек в растущих ооцитах. В среднем же на одно дополнительное ядрышко приходится несколько сот или тысяч генов рРНК.

Амплифицированные ядрышки встречаются также в ооцитах насекомых. Например, у окаймленного плавунца в ооцитах обнаружено 3×10^6 экстрахромосомных копий генов рРНК.

Биологический смысл появления сверхчисленных экстрахромосомных ядрышек при росте ооцитов совершенно понятен: для синтеза огромного количества запасных продуктов, которые будут использованы на ранних стадиях эмбриогенеза, необходимо соответственно огромное количество рибосом, которые могут быть в клетке синтезированы на дополнительных матрицах этих многочисленных амплифицированных ядрышек. После периода созревания ооцита при его двух последовательных делениях эти дополнительные ядрышки в состав митотических хромосом не входят, они отделяются от новых ядер и деградируют. Следовательно, амплификация рДНК в ооците представляет собой временное явление, не сказывающееся на постоянстве генома.

У низших эукариотических организмов наблюдаются также экстрахромосомные ядрышки. Так, у *Tetrachylena pyriformis* в составе гаплоидного генома микронуклеуса

имеется только единственный ген рРНК. В макронуклеусе же этого организма содержится около 200 гаплоидных эквивалентов в виде экстрахромосомных копий. У дрожжевых клеток также обнаружены экстрахромосомные копии генов рРНК в виде циклических молекул ДНК длиной около 3 мкм, содержащих один ген рРНК [Zahradka и сопр. 1991; Mager и Planta 1991; Presutti и сопр. 1991] .

Строение и функционирование генов рРНК

Итак, в ядрышковых организаторах определенных хромосом локализованы места множественных сгруппированных вместе генов рибосомной РНК. Но, как уже говорилось, существует 4 типа молекул рибосомной РНК, каждый из которых в полной эукариотической рибосоме представлен один раз. Значит ли это, что для каждой из этих РНК (28S рРНК, 18S рРНК, 5,8S рРНК, 5S рРНК) должен существовать отдельный ген, было долгое время неясным. Непонятным было также, как осуществляется в клетках одновременное сбалансированное образование этих разных рРНК. Этот вопрос был решен при исследовании динамики синтеза рибосомных РНК. Было обнаружено, что при использовании импульсной короткой метки среди клеточных РНК обнаруживается быстро синтезирующаяся РНК с высокой скоростью седиментации, тяжелая 45S РНК. Если после появления этой 45S РНК продолжать наблюдать за распределением метки во фракциях РНК, но уже в отсутствие меченых предшественников, то можно видеть, что по мере убывания метки в зоне 45S РНК она начинает появляться и стабильно накапливаться в зонах 28S, 18S и 5,8S рибосомных РНК. Эти данные говорили о том, что при синтезе рибосомных РНК сначала образуется гигантская молекула-предшественник (45S РНК), которая затем дает начало основным молекулам рибосомной РНК. Было найдено, что молекула 45S РНК содержит около 13×10^3 оснований, имеет массу около $4,6 \times 10^6$ и может быть длиной 2–5 мкм. Явление распада молекулы 45S рРНК на фрагменты, соответствующие размерам 28S, 18S и 5,8S РНК, получило название «процессинг», или созревание. Во время процессинга происходит разрыв предшественника на три фрагмента и, кроме того, наблюдается значительная деградация РНК (около 50%, т.е. 6000 нуклеотидов). Было вычислено также, что молекула 5S РНК синтезируется независимо от 45S РНК и локализация гена 5S рРНК не связана с ядрышковым организатором.

Почти одновременно с получением этих биохимических данных О. Миллеру (1969) удалось с помощью электронного микроскопа увидеть работающие рибосомные гены. Для этого были под световым микроскопом вручную выделены ядра из средних ооцитов тритона, микроиглами была разорвана ядерная оболочка и в микропипетку были втянуты многочисленные амплифицированные ядрышки. Такая капля, содержащая ядрышки и кариоплазму, была перенесена в раствор низкой ионной силы со щелочным значением среды. Этот раствор наслаивался на раствор сахарозы с формалином, находящийся в микроячейке центрифужной пробирки, на дне микроячейки помещалась сеточка с формваром для электронной микроскопии. Действие низкой ионной силы в щелочной среде приводило к набуханию и диспергированию выделенных ядрышек, они разрыхлялись настолько, что становились плохо различимыми в световом микроскопе. При центрифугировании такие набухшие ядрышки проходили через слой сахарозы, еще больше расправлялись и фиксировались в формалине. Наконец они достигали дна микроячейки и распластывались на формваровой подложке. После этого сеточки вынимались, обезвоживались, оттенялись металлом и просматривались в электронном микроскопе (рис. 1).

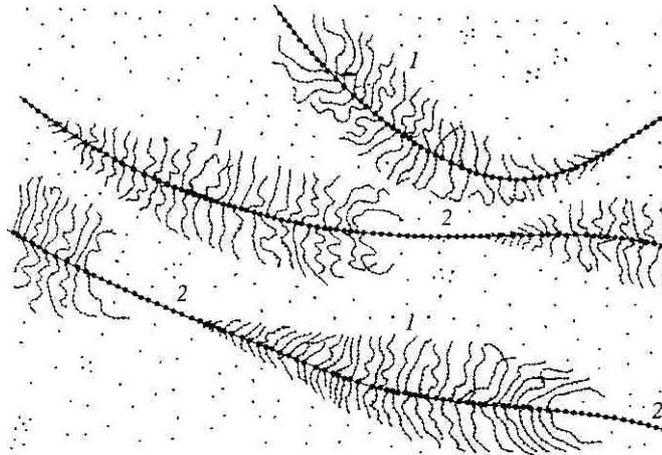


Рис. 1. Рибосомные транскрипты в выделенных и деконденсированных дополнительных ядрышках из ооцитов тритона:
1 – транскрибируемый участок (р-ген); 2 – спейсеры

На таком препарате были видны сложно изогнутые и перепутанные длинные осевые молекулы ДНК, на которых через равные промежутки располагались фибриллярные зоны, имеющие вид «елочек». Длина фрагмента ДНК, занятого такой «елочкой», была постоянной и равнялась 5 мкм. На этом отрезке располагалось около 100 плотных гранул величиной около 20 нм, от каждой из которых отходила в сторону тонкая изогнутая нить. Величина такой нити была минимальной на одном конце такого отрезка и максимальной на другом. Эти извитые латеральные нити и образовывали структуру типа «елочки». Было доказано, что крупные гранулы на нити ДНК представляют собой молекулы РНК-полимеразы I, ответственной за синтез рРНК, а боковые изогнутые нити – транскрипты, состоящие из синтезируемых молекул РНК. Самые длинные транскрипты находились на одном конце «елочки», соответствовали 45S предшественнику рРНК. Следовательно, синтез рРНК начинался на конце отрезка с короткими боковыми нитями и заканчивался на участке с длинными нитями РНК. Такой участок ДНК, на котором были видны молекулы рРНК в процессе их удлинения, получил название **транскрипционной единицы**. Между транскрипционными единицами располагались участки ДНК, лишенные гранул РНК-полимеразы I и транскриптов [Chambon 1975; Brown 1981; McKnight 1982]. Это – зоны т.н. спейсеров, которые не транскрибируются, и, более того, на таких препаратах они имеют нуклеосомное строение, тогда как транскрипционные единицы свободны от нуклеосом. Величина таких спейсерных участков может варьировать не только в данной клетке, но быть различной у разных видов. Длина боковых фибрилл была в 5–10 раз короче, чем 45S РНК, из-за того, что эта новосинтезированная РНК связана с белками, образуя рибонуклеопротеидный тяж, предшественник рибосом.

Из этого следует, что рибосомный ген состоит из двух участков: нетранскрибируемой последовательности ДНК (nts) – спейсера и транскрипционной единицы. В состав транскрипционной единицы входят участки, соответствующие 28S, 18S и 5,8S рРНК, разделенные вставками, которые деградируют при процессинге 45S РНК.

Расшифровка структуры рибосомных генов различных эукариотических объектов показала удивительно универсальный тип их строения:

3' nts - промотор- tse - 18S рРНК - tsi₁ - 5,8S рРНК - tsi₂ - 28S рРНК 5',

где *nts* – нетранскрибируемые последовательности ДНК спейсерного участка, *ts* – транскрибируемые последовательности ДНК (внешняя и две внутренние) и участки, соответствующие зрелым рибосомным РНК. В состав транскрипционной единицы входит весь ген за исключением спейсерного участка. Такая структура рибосомного гена практически одинакова для всех эукариотических организмов (рис. 2). Вариабельными являются как нетранскрибируемые (спейсерные) участки, так и транскрибируемые вставки (*ts*), которые не входят в состав зрелых рРНК.

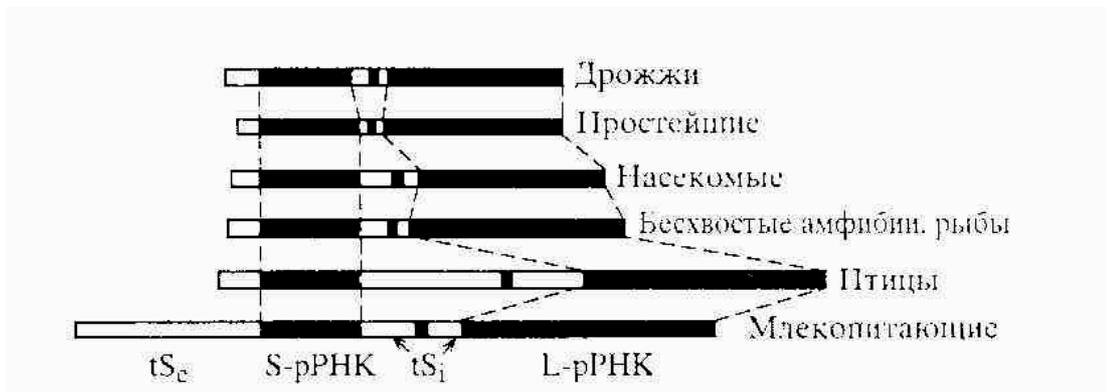


Рис. 2. Строение р-генов разных организмов (Ченцов):
tS_e и *tS_i* – соответственно внешняя и внутренние транскрибируемые последовательности

Итак, три основные молекулы рРНК синтезируются на одной транскрипционной единице. Что же касается молекулы 5S рРНК, то она к этому гену никакого отношения не имеет: 5S рРНК синтезируется на отдельных генах, локализованных не в зонах ядрышковых организаторов, даже на совсем иных хромосомах при участии РНК-полимеразы III. Так, у человека основная масса генов 5S рРНК находится на I хромосоме, более мелкие кластеры – на 9 и 16 хромосомах. У ксенопуса гены 5S рРНК расположены в теломерных участках большинства хромосом. Гены 5S рРНК, тоже множественные, также собраны в кластеры, но их число выше, чем у остальных генов рРНК. Например, у человека их насчитывается до 2000, у ксенопуса – 24000, у гребенчатого тритона – 32000. Есть объекты и с меньшим их числом: *Drosophila* – 320; крыса – 830. У нейроспоры и дрожжей число генов 5S рРНК одинаковое с числом других рибосомных генов, т.к. участок 5S рРНК включен и транскрибируется в спейсерной зоне.

Общая характеристика транскрипции рибосомных генов

У белков, имеющих одну копию гена и наибольшую скорость синтеза (например, миоглобин), за один оборот клеточного цикла на каждую молекулу мРНК приходится более 10000 молекул белка. Между тем растущие клетки за один оборот клеточного цикла должны синтезировать по 10 млн. молекул рибосомной РНК каждого типа, чтобы можно было осуществить сборку 10 млн. рибосом, присутствующих в каждой клетке. Следует учесть, что здесь нет стадии трансляции, на которой могло бы произойти резкое увеличение выхода продукции, поскольку рРНК является конечным продуктом данных генов. В этом случае синтез необходимого числа молекул рРНК обеспечивается тем, что гены, кодирующие эти РНК (гены рРНК), представлены в геноме клетки большим числом копий [Miller 1981; Long 1980].

У животных рибосомные гены составляют около одного процента от общего числа активных генов, транскрипция рДНК соответствует 30–40% от общего объема клеточной транскрипции [Moss 1995]. На примере дрожжей, дрозофилы и ряда других организмов было многократно продемонстрировано, что достаточная копияность и уровень транскрипции рибосомных генов являются критическими для нормального роста и развития (см. обзоры [Larson 1991; Moss 1995]). Например, особи дрозофилы, несущие мутации, инактивирующие часть рибосомных генов, имеют меньший размер, причем степень такого уменьшения зависит от числа инактивированных рибосомных генов [Tarof 1992]. Мутации становятся летальными, если число интактных рибосомных генов на гаплоидном геноме дрозофилы падает ниже 20.

Рибосомные гены могут транскрибироваться с очень высокой интенсивностью, чему способствует наличие нескольких энхансерных последовательностей при каждом гене [Moss 1983; Reeder 1984]. Продукты транскрипции рибосомных генов являются стабильными и, в отличие от рибосомных белков и 5S рРНК, не подвергаются значительной посттранскрипционной деградации [Leibhaber 1978]. Ключевым фактором, определяющим уровень рРНК в клетке и, следовательно, скорость синтеза рибосом и уровень общего синтеза белка, является уровень транскрипции рибосомных генов РНК-полимеразой I.

В целом ряде работ было показано, что транскрипция рибосомных генов является лимитирующей стадией синтеза рибосом [Larson 1991; Moss 1995]. Более того, внутриклеточный контроль синтеза рибосом осуществляется за счет регуляции транскрипции рибосомных генов, тогда как регуляция производства других рибосомных компонентов (белков и 5S рРНК) является, как правило, посттранскрипционной. Использование пула мРНК рибосомных белков и самих белков зависит от наличия свободных рибосомных РНК, причем избыточные рибосомные белки и соответствующие мРНК подвергаются деградации [Zahradka 1991]. Таким образом, регуляция транскрипции рибосомных генов является ключевым звеном в регуляции общего уровня синтеза белка в клетке.

Гаплоидные клетки человека содержат около 200 генов рРНК, которые распределены в виде небольших кластеров по пяти хромосомам. Множественные копии высококонсервативных генов рРНК в любой хромосоме расположены в виде серии тандемных повторов, отделенных друг от друга нетранскрибируемым участком ДНК, который называется спейсером. В этих активно транскрибируемых участках ДНК плотно упакованы молекулы РНК-полимеразы и ассоциированные с ними новообразованные транскрипты (на один ген их приходится до 100 и более); они веером расходятся от нити ДНК, и вследствие этого вся структура приобретает вид «елочки». Верхушка каждой такой елочки представляет собой точку инициации транскрипции; конец же гена рРНК четко определяется по нижней границе «кроны» (рис. 1).

Гены 18S-, 28S- и 5,8S-РНК рибосом транскрибируются РНК-полимеразой I. Единственная 5S-РНК большой рибосомальной субъединицы, как было сказано выше, транскрибируется отдельно от других рРНК РНК-полимеразой III.

Скорость общего синтеза белка в клетке определяется в значительной мере общим количеством рибосом, доступных для взаимодействия с мРНК и, следовательно, скоростью синтеза рибосом. Эукариотическая рибосома состоит из двух субъединиц, малой и большой, в состав которых входят около 80 белков и четыре рибосомных РНК (рРНК). Так называемые рибосомные гены кодируют три наиболее крупных рРНК – 18S рРНК малой субъединицы, 5.8S и 28S рРНК большой субъединицы.

Рибосомные гены транскрибируются в виде единого полицистронного транскрипта, который затем расщепляется с образованием зрелых рРНК.

У прокариот 5S рРНК является частью данного полицистронного транскрипта, однако у эукариот она кодируется отдельным геном.

Транскрипция эукариотических рибосомных генов осуществляется РНК-полимеразой I и происходит в ядрышках. Синтезируемый предшественник рРНК не подвергается ни кэпированию ни полиаденилированию. Установлено, что формирование ядрышек непосредственно связано с транскрипцией рибосомных генов [Oaks 1993]. Сформировавшись, ядрышки становятся местом транспорта рибосомных белков и малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП). Хорошо видимая «гранулярная» зона в ядрышках содержит частично собранные рибосомы.

РНК-полимеразы – основные катализаторы транскрипции

РНК-полимеразы

У эукариот существуют три типа РНК-полимераз, каждый из которых ответственен за транскрипцию различных групп генов. Эти ферменты, называемые РНК-полимераза I, РНК-полимераза II и РНК-полимераза III [Chambon 1975; Brown 1981; McKnight 1982], структурно сходны друг с другом и имеют некоторые общие субъединицы, тогда как другие субъединицы являются уникальными. Каждая из этих РНК-полимераз, полагают, содержит 10 или более полипептидных цепей. РНК-полимеразы эукариот и бактерий эволюционно родственны.

Только одна из них, а именно РНК-полимераза II, транскрибирует гены, которые затем будут транслированы в белки. Большинство малых РНК, которые образуют snRNP, синтезируются с помощью РНК-полимеразы II.

Две другие полимеразы катализируют образование различных типов РНК, которые составляют часть белок-синтезирующего аппарата: РНК-полимераза I синтезирует высокомолекулярную рибосомную РНК, а РНК-полимераза III – разнообразные низкомолекулярные стабильные РНК, в том числе тРНК и рибосомную 5S-РНК. Все три фермента имеют молекулярную массу, приблизительно равную 500000.

РНК-полимеразы I, II и III различаются по чувствительности к токсину альфа-аманитину: РНК-полимераза I не чувствительна к нему; РНК-полимераза II очень чувствительна; РНК-полимераза III умеренно чувствительна. РНК-полимераза II транскрибирует гены, РНК-продукты которых будут транслированы в белки. Другие две РНК-полимеразы синтезируют РНК, которые выполняют структурные или каталитические роли, в основном как часть белок-синтезирующего аппарата.

Хотя синтезированные РНК-полимеразой II транскрипты составляют более половины РНК, синтезированной в результате транскрипции ДНК, большая часть РНК таких транскриптов нестабильна и, соответственно, короткоживуща. Следовательно, производные от нее гетерогенные ядерные РНК hnRNA в клеточном ядре и цитоплазматическая мРНК составляют лишь минорную фракцию тотальной клеточной РНК.

В соответствии с субъединичным составом, РНК-полимеразы подразделяются на две группы.

К первой группе относятся ферменты, состоящие только из одной субъединицы, среди них РНК-полимеразы митохондрий и бактериофагов, например SP6 и T7. Эти РНК-полимеразы транскрибируют небольшое число генов простых геномов, и для их функционирования не требуется сложных регуляторных воздействий.

Вторую группу составляют сложно устроенные РНК-полимеразы бактерий и эукариот, которые представляют собой многосубъединичные белковые комплексы, транскрибирующие сотни и тысячи различных генов. Такие ферменты во время своего функционирования реагируют на многочисленные регуляторные сигналы, поступающие от регуляторных последовательностей нуклеотидов и белковых факторов.

Разделение РНК-полимераз по структурно-функциональному признаку является упрощением. Имеются данные, что просто устроенные фаговые РНК-полимеразы функционируют *in vivo* в комплексе с другими белками бактериальных клеток, которые могут существенно изменять их ферментативные свойства.

Каждая форма РНК-полимеразы состоит из двух больших субъединиц с молекулярной массой от 120 до 220 кД и от 5 до 13 малых, каждая имеет молекулярную массу от 10 до 100 кД. Несколько малых субъединиц являются общими для разных форм РНК-полимераз. Большие субъединицы, по-видимому, контактируют с ДНК в комплексе РНК-полимеразы с промотором и несут в себе каталитические центры. О функциях малых субъединиц пока ничего не известно.

В самых больших субъединицах эукариотических РНК-полимераз обнаружено несколько участков, которые по аминокислотной последовательности у всех трех форм сходны между собой и с бета'-субъединицей РНК-полимеразы *E. Coli*. В следующих за ними по размеру субъединицах эукариотических РНК-полимераз обнаружено сходство в аминокислотной последовательности с бета-субъединицей РНК-полимеразы *E. Coli*. Эти данные свидетельствуют о том, что на заре эволюции эукариот у них имелась одна форма РНК-полимеразы, а разные формы возникли за счет умножения предковых генов (общих для про- и эукариот) и последующего расхождения их нуклеотидных последовательностей в результате множества мутаций.

РНК-полимераза *E.coli*

Наиболее изученной из бактериальных ферментов является РНК-полимераза *E.coli*. Она осуществляет транскрипцию всех бактериальных генов.

Фермент состоит из пяти субъединиц: бета'- (молекулярная масса 165 кДа), бета- (155 кДа), двух альфа- (35 кДа каждая) и сигма- (чаще всего 70 кДа (сигма70)). Комплекс из четырех субъединиц бета-бета'-альфа-альфа, часто обозначаемый буквой *E* (enzyme), образует так называемый минимальный (кор-) фермент *E.coli*, который способен осуществлять все основные этапы транскрипции, за исключением правильной инициации. Для инициации транскрипции требуется присутствие определенной регуляторной сигма-субъединицы, необходимой для распознавания РНК-полимеразой промоторов бактериальных генов, определяющей специфичность взаимодействия РНК-полимеразы с промоторами и, возможно, последующую изомеризацию комплекса РНК-полимераза-промотор, необходимую для начала синтеза РНК. Полный фермент, включающий сигма70-субъединицу, часто называют холоферментом и обозначают Есигма70. РНК-полимераза Есигма70 способна транскрибировать большинство (но не все) генов *E.coli*. В частности, для транскрипции генов теплового шока, оперонов *gln* или *nit* требуется включение в состав полного фермента другой регуляторной субъединицы – сигма54 (молекулярная масса 54 кДа) вместо сигма70 с образованием фермента Есигма54 .

Описано до десяти различных сигма-факторов, объединение которых с минимальным ферментом дает возможность образующимся холоферментам узнавать разные промоторы. Все четыре субъединицы кор-фермента обеспечивают контакт

РНК-полимеразы с промоторами. При этом бета'-субъединица участвует в связывании фермента с ДНК, бета-субъединица образует каталитический активный центр, а альфа-субъединицы обеспечивают правильное взаимодействие фермента с промоторами.

Данные такого рода получают с использованием ферментов, у которых под действием мутаций изменены конкретные субъединицы, и, если, например, мутация в гене альфа-субъединицы нарушает связывание РНК-полимеразы с ДНК, делаются соответствующие выводы. Однако любая мутантная субъединица в составе олигомерного фермента может изменять его конформацию и придавать ферменту самые неожиданные свойства. Более прямым методом определения мест контакта макромолекул при белок-белковых и белково-нуклеиновых взаимодействиях является метод поперечных сшивок с использованием бифункциональных химических агентов. Такие химические соединения образуют ковалентные связи (поперечные сшивки) между близкорасположенными реакционноспособными группами.

Наличие контакта между макромолекулами нельзя однозначно интерпретировать в пользу его функциональной значимости.

РНК-полимераза I эукариот

В отличие от большинства генов, кодирующих белки, гены, которые кодируют РНК, имеющие самостоятельное функциональное значение, транскрибируются РНК-полимеразой I и РНК-полимеразой III. Обычно эти гены представлены в геноме большим числом копий, часто образующих кластеры tandemных повторов.

РНК-полимеразой I образуются первичные транскрипты генов рРНК, известные как 45S-РНК, они имеют в длину около 13000 нуклеотидов. Прежде чем покинуть ядро в составе собранной рибосомной частицы, молекула 45S-РНК подвергается специфическому расщеплению, в результате чего образуется по одной копии 28S-РНК (около 5000 нуклеотидов), 18S-РНК (около 2000 нуклеотидов) и 5,8S-РНК (около 160 нуклеотидов), которые, собственно, и являются компонентами рибосом. Общее происхождение всех трех типов рРНК из одного и того же первичного транскрипта служит гарантией того, что они образуются в равных количествах. Остальная часть этого транскрипта (около 6000 нуклеотидов) деградирует в ядре. Не исключено, что эти излишние последовательности молекулы-предшественника рРНК играют определенную роль на ранних этапах сборки рибосом, происходящих непосредственно по завершении синтеза 45S-РНК. Синтез гигантского предшественника рибосомных РНК осуществляется РНК-полимеразой I в специализированной внутриядерной органелле, называемой ядрышком, в котором находятся гены рибосомных РНК (рДНК); рДНК представляет собой специализированные участки (так называемые ядрышковые организаторы) нескольких хромосом.

Как и большинство других высокомолекулярных полипептидов, большие субъединицы РНК-полимераз содержат хорошо различимые структурные и функциональные домены. Клонирование генов соответствующих субъединиц и определение их первичной структуры позволили выявить эволюционно консервативные участки полипептидных цепей и провести мутационный анализ функциональной значимости их отдельных доменов. Для этой цели в полипептидных цепях с помощью направленного мутагенеза заменяли соответствующие аминокислоты и мутантные субъединицы использовали в сборке ферментов из отдельных субъединиц *in vitro* с последующим анализом свойств таких реконструированных ферментов.

РНК-полимераза I не реагирует на присутствие альфа-аманитина – высокотоксичного вещества, получаемого из бледной поганки, в отличие от РНК-

полимеразы II, которая очень чувствительна к нему. Клетки высших эукариот содержат около 40000 молекул РНК-полимеразы I.

РНК-полимераза I эукариот является большим ферментом, построенным по меньшей мере из 11 субъединиц [Sentenac 1985; Lalo 1993]. Минимальный фермент Pol I содержит два больших полипептида с молекулярной массой 194 и 116 кДа, которые ассоциированы с несколькими малыми субъединицами (от 3 до 14 в зависимости от метода очистки), молекулярные массы которых лежат в пределах 15–60 кДа. Третья по величине субъединица Pol I мышей с молекулярной массой 53 кДа, названная PAF53 (polymerase associated factor 53), играет важную роль в узнавании Pol I своих промоторов и, по-видимому, является структурным и функциональным аналогом белка RPA49 дрожжей. Pol I дрожжей в отсутствие субъединиц RPA49 и RPA35.5 (так называемая Pol I) эффективно транскрибирует при низких концентрациях солей искусственную матрицу poly[d(A-T)], но не нативную двухцепочечную ДНК. Полагают, что эти субъединицы необходимы для эффективного образования инициационных комплексов.

Используя антитела к отдельным субъединицам Pol I и последующую иммунопреципитацию, установили, что в клетке часть Pol I находится в составе больших комплексов, с которыми ассоциированы факторы транскрипции. Пять компонентов холофермента Pol I изучены в настоящее время наиболее детально.

Было показано, что РНК-полимераза I (аналогично РНК-полимеразе II) может существовать в двух формах: одна форма способна иницировать специфическую транскрипцию *in vitro*, а другая форма, хотя и имеет ДНК-зависимую РНК-полимеразную активность *in vitro*, не способна к специфической инициации [Bateman и Paule 1986; Tower и Sollner-Webb 1987; Buttgereit и сопр. 1985; Mahajan и Thompson 1990]. Есть данные, указывающие на то, что активная и неактивная формы РНК-полимеразы I отличаются степенью фосфорилирования и, возможно, определенными посттрансляционными модификациями [Bateman 1986; Tower 1987].

Для транскрипции рДНК *in vitro*, помимо самой РНК-полимеразы I, необходимы два фактора транскрипции – UBF и SL1. Фактор UBF способен связываться с промотором непосредственно, в то время как для связывания SL1 необходимо присутствие UBF [Smith 1990; Bell 1988; Iida и Paule 1992; McStay и сопр. 1991; Schnapp и Grummt 1991]. В экспериментах по транскрипции рДНК *in vitro* было обнаружено, что некоторый минимальный уровень транскрипции поддерживается и при отсутствии UBF [Smith и сопр. 1990; Iida 1992; Smith 1993].

Одно из возможных объяснений данного эффекта предполагает роль UBF как стимулятора транскрипции рДНК в периоды роста и развития, в то время как в фазе покоя поддерживается минимальный уровень транскрипции, не требующий участия транскрипционных факторов. С другой стороны, при транскрипции *in vitro* используются значительно более высокие концентрации рДНК матрицы по сравнению с внутриклеточными концентрациями, что может приводить к некоторому минимальному уровню транскрипции в отсутствие UBF.

РНК-полимераза II

Только одна из трех эукариотических РНК-полимераз, а именно РНК-полимераза II, транскрибирует гены, которые затем будут транслированы в белки. Вся совокупность ядерных транскриптов РНК-полимеразы II известна как гетерогенная ядерная РНК (гяРНК), поскольку одна из основных характеристик, отличающих эту фракцию ядерных РНК, – чрезвычайно высокая вариабельность размеров входящих в

нее транскриптов. Многие из этих транскриптов в конце концов покидают ядро, превращаясь в молекулы информационной, или матричной, РНК (мРНК). Однако, прежде чем выйти из ядра, молекулы мРНК претерпевают серию ковалентных модификаций [Perry 1981; Chambon 1981; Crick 1979], обуславливающих их функциональную специализацию и наделяющих эти молекулы свойствами, которые отличают их от транскриптов, синтезированных всеми другими РНК-полимеразами. Гистоновые гены можно отнести к тем немногочисленным примерам тандемно повторяющихся генов, которые кодируют белки; они транскрибируются РНК-полимеразой II.

Специфическим ингибитором РНК-полимеразы II является токсин бледной поганки альфа-аманитин. Клетки высших эукариот содержат около 40000 молекул РНК-полимеразы II.

Pol II человека содержит более 10 субъединиц, слабо ассоциированных друг с другом. Некоторые из них принадлежат к основным факторам транскрипции (GTFs - general transcription factors). Понятие холофермента Pol II эукариот не является устоявшимся. В лабораториях Р. Янга и Р. Корнберга было установлено, что некоторые основные факторы транскрипции уже находятся в комплексе с РНК-полимеразой до ее включения в предынициационный комплекс. По мнению Янга, в состав холофермента Pol II дрожжей входят по меньшей мере 14 белков и белковых комплексов, перечисленных в таблице 3.

Таблица 3

РНК-полимеразы II дрожжей

Компонент	Характеристика
Pol II	РНК-полимеразная активность, взаимодействует с множеством общих и тканеспецифических факторов транскрипции, участвует в выборе точки инициации транскрипции
TFIIB	Связывает Pol II и ТВР на промоторе, участвует в выборе точки инициации транскрипции
TFIIF	Взаимодействует с Pol II, стимулирует элонгацию транскрипции Pol II, компонент субкомплекса SRB/медиатор
TFIIN	Активность ДНК-зависимой АТРазы, ДНК-хеликазная активность, обладает активностью CTD-киназы
SRB2, SRB5	Участвуют в образовании инициационного комплекса, стимулируют базальный и индуцированный синтез РНК, взаимодействуют с ТВР, компоненты субкомплекса SRB/медиатор
GAL11/SPT13	Участвуют в образовании инициационного комплекса, стимулируют базальный и индуцированный синтез РНК, компоненты субкомплекса SRB/медиатор, предположительно взаимодействуют с активаторами транскрипции
SUG1	Компонент субкомплекса SRB/медиатор, предположительно взаимодействует с активаторами транскрипции
SRB4, SRB6, SRB7, SRB8, SRB9, SRB10, SRB11	Компоненты субкомплекса SRB/медиатор, предположительно взаимодействуют с CTD-доменом Pol II

РНК-полимеразы II производят транскрипцию генов, кодирующих белки и несколько малых ядерных РНК. Но самостоятельно она не в состоянии производить транскрипцию. Чтобы РНК-полимераза могла транскрибировать ген специфическим образом, требуется взаимодействие около 40–50 белковых молекул. Для инициации транскрипции требуется две группы таких белков:

белки, необходимые для взаимодействия РНК-полимеразы со специфическими промоторными последовательностями;

белки, необходимые для изменения характера экспрессии индивидуальных генов в зависимости от сигналов, поступающих в клетку извне через сигнальные системы.

Когда рассматривают транскрипцию с точки зрения белок-белковых взаимодействий и взаимодействий белков со специфическими последовательностями ДНК, то выделяют два процесса:

минимальный нерегулируемый процесс транскрипции;

регулируемую транскрипцию, которая модулирует – усиливает или, наоборот, подавляет, минимальный процесс транскрипции.

РНК-полимераза III

РНК-полимеразой III (как и РНК-полимеразой I) транскрибируются гены, которые кодируют РНК, имеющие самостоятельное функциональное значение. В отличие от большинства генов, кодирующих белки, РНК-полимераза III транскрибирует гены 5S РНК, тРНК и 7SL РНК. Гены 5S РНК, как и гены других рибосомальных РНК, обычно представлены сотнями или даже тысячами tandemно повторяющихся копий, разделенных спейсерами. Эти гены собраны в одном или нескольких районах генома. Гены разных тРНК (в эукариотической клетке насчитывается 40–60 основных типов тРНК) также часто сгруппированы в кластеры, расположенные в разных хромосомах. Часть гРНК также транскрибируется РНК-полимеразой III.

РНК-полимераза III занимает промежуточное положение по чувствительности к альфа-аманитину – высокотоксичному веществу, получаемому из бледной поганки – между высокочувствительной РНК-полимеразой II и совершенно не реагирующей на его присутствие РНК-полимеразой I.

Клетки высших эукариот содержат около 20000 молекул РНК-полимеразы III, точное количество этого фермента зависит от скорости роста клетки.

Субъединичное строение РНК-полимеразы: роль в транскрипции

Субъединичное строение РНК-полимераз разного происхождения, вероятно, отражает их функциональную роль в акте транскрипции. Все РНК-полимеразы простого строения транскрибируют ограниченный круг генов или небольшие части генома, например, при синтезе РНК-затравок для фрагментов Оказаки в процессе репликации ДНК у бактерий. Промоторы, узнаваемые РНК-полимеразами простого строения, не отличаются разнообразием и обладают простой структурой. Показательно, что при сложном строении генома четных Т-фагов, в процессе развития которых происходит многократное переключение транскрипции с одних групп генов на другие, используется сложная РНК-полимераза бактерии-хозяина, а не индуцируется простой фермент, как у бактериофага T7.

РНК-полимеразы бактерий и эукариот должны, во-первых, узнавать разные промоторы, во-вторых, реагировать на различные белки-регуляторы и, в-третьих,

изменять специфичность узнавания последовательностей нуклеотидов матричных ДНК под действием разнообразных белковых эффекторов. Отсюда следует, что у организмов возникает потребность в РНК-полимеразах сложной структуры, способных осуществлять обширную программу реализации генетической информации. Вероятно, поэтому наблюдается иерархия в степени сложности строения ферментов, которая достигает верхнего предела в случае РНК-полимераз эукариот. Элементарные акты основных этапов транскрипции обеспечиваются молекулами РНК-полимераз простого строения, такими как у фагов Т7, митохондрий и других объектов. Эти ферменты, по мнению Р.Б. Хесина, можно рассматривать в качестве эволюционных предшественников сложных олигомерных РНК-полимераз, способных самостоятельно осуществлять все основные функции в процессе транскрипции. Действительно, у олигомерных РНК-полимераз, как и у большинства сложноустроенных ферментов, только одна субъединица (бета – у РНК полимераз эубактерий) является собственно каталитической, а остальные, возможно, выполняют функции регуляторных.

Факторы транскрипции рибосомных генов

Транскрипционный фактор (ТФ) – это белок, который после его перемещения в ядро клетки регулирует транскрипцию, специфически взаимодействуя с ДНК, либо стехиометрически взаимодействуя с другим белком, который может образовывать специфичный к последовательности ДНК комплекс «белок-ДНК».

В рамках такого определения белки типа hsp90, удерживающие транскрипционные факторы в цитозоле, исключаются из рассмотрения как ТФ. Регуляторные ферменты, которые осуществляют свое влияние посредством каталитической активности, а не через стехиометрические взаимодействия, также не должны рассматриваться как ТФ. Наконец, не относятся к транскрипционным факторам и такие ДНК-связывающие белки, как гистоны, для которых характерен низкий уровень специфичности при взаимодействии с ДНК. Что касается группы ядерных белков HMG, то они содержат как неспецифически связывающиеся с ДНК белки (HMG 1 и HMG 2), так и реальные транскрипционные факторы семейств SRV (Sox).

UBF белок (upstream binding factor)

Фактор транскрипции генов рРНК UBF у позвоночных представляет собой белок массой от 80 до 92 кДа (в зависимости от вида организма), содержащий шесть повторяющихся участков, гомологичных ДНК-связывающим доменам белков HMG 1 и 2 [Bachvarov и Moss 1991; Jantzen и сотр.1990].

В клетке UBF присутствуют в двух формах – UBF1 и UBF2 с молекулярными массами 97 и 95 кДа, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга. UBF1 содержит пять HMG-доменов, фланкированных N-концевым димеризующим мотивом и короткой кислой C-концевой последовательностью. Интересно, что соседние HMG-домены одного и того же UBF обладают гораздо меньшей гомологией, чем соответствующие домены UBF разных видов (например, шпорцевой лягушки и человека). Полагают, что каждый HMG-домен обеспечивает особую, эволюционно консервативную функцию молекулы UBF. Такими функциями могут быть распознавание специфических последовательностей ДНК, создание молекулярных интерфейсов для белок-белковых взаимодействий между Pol I и TIF-IB/SL1, а также различными репрессорами и активаторами транскрипции рДНК. C-Концевая последовательность UBF содержит несколько фосфорилируемых остатков Ser и

необходима для активации транскрипции рДНК. Одной из основных характеристик белков, содержащих НМГ-боксы, является их способность изгибать молекулу ДНК и прочно связываться с ее крестообразными структурами. Всеми этими свойствами обладает UBF, и они детально исследованы.

С-концевой домен UBF содержит большое число остатков с кислотными боковыми группами.

UBF является высококонсервативным белком. У приматов и грызунов UBF различаются лишь одним аминокислотным остатком, в то время как гомология между млекопитающими и *Xenopus* составляет 73%.

Связывание UBF с промотором РНК-полимеразы I является первой стадией инициации транскрипции и, по-видимому, играет ключевую роль в регуляции уровня синтеза рРНК. UBF образует димеры в растворе за счет взаимодействия N-концевых доменов (около 80 аминокислотных остатков). Для максимальной активации транскрипции фактором UBF необходимы С-концевой и N-концевой домены, а также все домены, содержащие НМГ консенсус [McStay и сопр. 1991; Voit и сопр. 1992; Jantzen и сопр. 1992]. В то же время для умеренной активации промотора и при отсутствии конкурирующих белков достаточно, по-видимому, наличия функциональных НМГ консенсусов 1 и 4 (у млекопитающих) и N-концевого домена [Moss и Stefanovsky 1995; Leblane и сопр. 1993; Bazett-Jones и сопр. 1994].

UBF сравнительно малочувствителен к точечным мутациям последовательности промотора. Так, например, единичные точечные мутации в основном промоторе и UPE практически не влияют на связывание UBF [Read и сопр. 1992]. Интересно, что UBF млекопитающих и *Xenopus* полностью взаимозаменяемы в отношении узнавания промоторов РНК-полимеразы I человека и *Xenopus*, несмотря на почти полное отсутствие гомологии между последовательностями промоторов. Таким образом, с одной стороны, различия в аминокислотных последовательностях между соответствующими НМГ консенсусами различных UBF не оказывают существенного влияния на узнавание промоторной последовательности, с другой стороны, для связывания UBF, по-видимому, более важна пространственная структура и состав промотора, чем точная последовательность оснований в ДНК. Сайты связывания UBF являются, как правило, (G+C) богатыми [Jantzen 1992; Leblane 1993; Copenhagen 1994].

Было показано, что короткий участок длиной в 24 аминокислотных остатка между НМГ консенсусом и С-концевым «кислым» доменом важен для транспорта UBF из цитоплазмы в ядро [Dimitrov 1993], а НМГ консенсус, находящийся в пределах С-концевого домена, важен для локализации UBF в ядрышках [Maeda 1992].

SL-1 (фактор транскрипции TIF-IB/SL1, гены Р-РНК)

Активатор транскрипции рибосомных генов SL1 состоит из фактора TBP и трех полипептидов, называемых TAFI факторами, массой 110, 63 и 48 кДа (у человека). У дрожжей TBP участвует в транскрипции как РНК-полимеразы I, так и РНК-полимеразы II и РНК-полимеразы III [Schultz и сопр. 1992; Cormack и Struhl 1992]. Весьма вероятно, что аналогичная ситуация существует и у высших эукариот [Rigby 1993; Sharp 1992; Struhl 1994]. С другой стороны, факторы TAFI являются специфическими для РНК-полимеразы I [Comai и сопр. 1992; Eberhard и сопр. 1993].

Мышиный фактор TIF-IB (Pol I-specific transcription initiation factor B), известный также как фактор D, обеспечивает Pol I селективность в отношении промоторов генов рРНК (рДНК). Аналогичный белок у человека назван hSL1, у крыс – rSL1 и у *X.laevis* – Rib 1. Взаимодействие фактора TIF-IB/SL1 с промотором рДНК

обеспечивает связь холофермента Pol I с промотором и сборку прединициационного комплекса.

Фактор TIF-IB/SL1 состоит из четырех субъединиц, одна из которых является основным фактором транскрипции ТВР, необходимым для функционирования РНК-полимераз всех трех классов. Три других субъединицы с молекулярными массами 110, 63 и 48 кДа представляют собой разные ТВР-ассоциированные факторы TAFI, индивидуально и специфически взаимодействующие с ТВР, а также друг с другом, образуя прочный комплекс. В составе комплекса TAFI48 обеспечивает контакт TIF-IB/SL1 с фактором UBF, а TAFI63 и TAFI110 участвуют в распознавании промотора. Факторы TAFI не обнаруживают гомологии с соответствующими факторами TAFII, специфичными в отношении Pol II. Более того, первый из связавшихся с ТВР факторов TAFI предотвращает взаимодействие с ТВР факторов TAFII (и наоборот), что делает невозможным образование непродуктивных химерных комплексов. Одновременно взаимодействие TAFI48 с ТВР изменяет ДНК-связывающие свойства последнего, чего тот перестает узнавать ТАТА-бокс – характерный структурный элемент Pol II-промоторов, следовательно, теряет способность обеспечивать инициацию транскрипции Pol II.

Таким образом, молекулярная организация рибосомных генов имеет свои специфические особенности, заключающиеся в наличии сотен и тысяч копий в геноме и явлении амплификации.

Рибосомные гены разных групп организмов имеют весьма схожие принципы строения: нетранскрибируемая последовательность ДНК и транскрипционная единица, в состав которой входят участки, соответствующие 28S, 18S и 5,8S рРНК, разделенные вставками.

Процесс транскрипции генов рРНК происходит с очень высокой интенсивностью, при этом ключевым фактором процесса является ферментативная деятельность РНК-полимеразы I.

Существует три типа РНК-полимераз, каждый из которых ответственен за транскрипцию разных групп рибосомных генов; субъединичное строение ферментов, по-видимому, отражает их функциональную роль.

В регуляции транскрипции рибосомных генов важную роль также играют эндогенные транскрипционные факторы – UBF-белок и SL-1. Познание особенностей молекулярной структуры и функционирования генов рРНК разных групп организмов позволит вплотную приблизиться к пониманию работы рибосомных генов человека, что окажет существенное влияние на целенаправленное управление их экспрессии с целью успешного лечения обширного спектра клеточных патологий.

Библиографический список

1. Студинский, В.М., Храпко К.Р. Молекулярная биология. – 1990. – 24. – С. 909–919.
2. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. – М.: Академкнига, 1998. – С. 164–165.
3. Bachvarov D., Moss T. The RNA polymerase I transcription factor xUBF contains 5 tandemly repeated HMG homology boxes // Nucl. Acids Res. – 1991. – 19. – 2331 – 2335.
4. Bateman E., Paule M.R. Regulation of Eukaryotic Ribosomal RNA Transcription by RNA Polymerase Modification // Cell 1986. – 45. – 445–450.

5. Bazett-Jones D.P., Leblanc B., Herfort M., Moss T. Short-range DNA looping by the *Xenopus* HMG-box transcription factor, xUBF // *Science*. – 1994. – 264. 1134–1137.
6. Bell S.P., Learned R.M., Jantzen H.M., Tjian R. Functional Cooperativity between Transcription Factors UBF1 and SL1 Mediates Human Ribosomal RNA synthesis // *Science* 1988. 241, 1192–1197.
7. Brown D.D. Gene expression in eukaryotes // *Science* , 211, 1981, 667–674.
8. Buttgerit D., Pflugfelder G., Grummt I. Growth-dependent regulation of RNA synthesis is mediated by transcription initiation factor (TIF-IA) // *Nucl. Acids Res.* 1985. 13, 8165–8180.
9. Chambon P. Eucaryotic nuclear RNA polymerases // *Annu.Rev.Biochem.* , 44, 613–638, 1975
10. Chambon P. Split genes // *Sci.Am.* , 244(5), 1981, 60–71
11. Comai L., Taneze N., Tjian R. The TATA-binding Protein and Associated Factors are Integral Components of the RNA Polymerase I Transcription Factor, SL1 // *Cell* 1992. 68, 965–976.
12. Copenhaver G.P., Putnam C.D., Denton M.L., Pikaard C.S. The RNA polymerase I transcription factor UBF is a sequence-tolerant HMG-box protein that can recognize structured nucleic acids // *Nucl. Acids Res.* 1994. 22, 2651–2657.
13. Cormack B.P., Struhl K. The TATA-Binding Protein is Required for Transcription by all Three RNA Polymerase in Yeast Cells // *Cell* 1992. 69, 697–702.
14. Crick F. Split genes and RNA splicing, *Science* 1979, 204, 264–271.
15. Dimitrov S.I., Bachvarov D., Moss T. Mapping of sequence essential for the nuclear transport of the *Xenopus* ribosomal transcription factor xUBF using a simple couple translation transport and acid extraction approach // *DNA Cell. Biol.* 1993. 12, 275.
16. Eberhard D., Tora L., Egly J.M., Grummt I. A TBP-containing multiprotein complex (TIF-IB) mediates transcription specificity of murine RNA polymerase I // *Nucl. Acids Res.* 1993. 21, 4180–4186.
17. Ham J., Steger G. and Yaniv M. (1992) *FEBS Letters* , 307, 81–86.
18. Iida C.T., Paule M.R. Purification of components required for accurate transcription of ribosomal RNA from *Acanthamoeba castellanii* // *Nucl. Acids Res.* 1992. 20, 3211–3221.
19. Jantzen H.-M., Admon A., Bell S.P., Tjian R. Nuclear transcription factor huBF contains a DNA-binding motif with homology to HMG proteins // *Nature* 1990. 344, 830–836.
20. Jantzen H.-M., Chow A.M., King D.S., Tjian R. Multiple domains of the RNA polymerase I activator hUBF interact with the TATA-binding protein complex hSL1 to mediate transcription // *Genes Dev.* 1992. 6, 1950–1963.
21. Lalo D., Carles C., Sentenac A., Thuriaux P. Interaction between three common subunits of yeast RNA polymerase I and III // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1993. 90, 5524–5528.
22. Larson D.E., Zahradka P., Sells B.H. Control points in eucaryotic ribosome biogenesis. // *Biochem. Cell. Biol.* 1991. 69, 5–22.
23. Leblanc B., Read C., Moss T. Recognition of the *Xenopus* ribosomal core promotes by the transcription factor xUBF involves multiple HMG box domains and leads to an xUBF interdomain interaction. // *EMBO J.* 1993. 12, 513.
24. Lieberman P.M. and Berk A.J. (1994) *Genes and Development* , 8, 995 -1006.
25. Liebhaber S.A., Wolf S., Schlessinger D. Differences in rRNA metabolism of primary and SV40- transformed human fibroblasts. // *Cell* 1978. 13, 121–127.
26. Long E.O., Dawid I.B. Repeated genes in eucaryotes, *Annu.Rev.Biochem.* – 1980. – 49. – 727–764,

27. Maeda Y., Hisatake K., Kondo T., Hanada K., Song S.Z., Nishimura T., Muramatsu M. Mouse rRNA transcription factors mUBF requires both HMG-box 1 and acidic tail for nuclear accumulation: molecular analysis of the nucleolar targeting mechanism. *EMBO J.* 1992. 11, 3695.
28. Mahajan P.B., Gokal P.K., Thompson E.A. Hormonal Regulation of Transcription of rRNA. The role of TFIC in Formation of Initiation Complexes // *J. Biol. Chem.* 1990. 265, 16244–16247.
29. Mahajan P.B., Thompson E.A. Hormonal Regulation of Transcription of rRNA. Purification and characterization of the Hormone-Regulated Transcription Factor IC // *J. Biol. Chem.* 1990. 265, 16225–16233.
30. Martin K. J. The interactions of transcription factors and their adaptors, coactivators and accessory proteins. *BioAssays.* 1991, 13: 499–503.
31. McKnight S.L., Kingsbury R. Transcriptional control signals of a eucaryotic protein-coding gene, *Science* , 217, 316–324, 1982
32. McStay B., Frazier M.W., Reeder R.H. xUBF contains a novel demirization domain essential for RNA polymerase I transcription // *Genes Dev.* 1991. 5, 1957–1968.
33. McStay B., Hu C.H., Pikaard C.S., Reeder R.H. xUBF and Rib 1 are both required for formation of a stable polymerase I promoter complex in *X.laevis* // *EMBO J.* 1991. 10, 2297-2303.
34. Metz R., Bannister A.J., Sutherland J.A., Hagemeyer C., O'Rourke E.C., Cook A., Bravo R. and Kouzarides T. (1994) *Molecular and Cellular Biology* , 14, 6021–6029.
35. Miller O.L. The nucleolus, chromosomes, and visualization of genetic activity, *J.Cell Biol.* 1981, 91, 15s-27s.
36. Mitchell P. J. & Tjian R. Transcriptional regulation in mammalian cells by sequence-specific DNA binding proteins. *Science.* 1989, 245: 371–378.
37. Moss T., Stefanovsky V.Y. Promotion and regulation of ribosomal transcription in Eukaryots by RNA polymerase 1. *Progr.in // Nucl. Acid Res. and Mol. Biol.* 1995. v. 50, 25–66.
38. Oakes M., Nogi Y., Clark M.W., Nomura M. Structural alterations of the nucleolus in mutants of *Saccharomuces cerevisiae* defective in RNA polymerase 1. // *Mol. Cell. Biol.* 1993. 13, 2441.
39. Perry R.P. RNA processing comes of age, *J.Cell Biol.* 1981, 91, 28s-38s.
40. Ptashne M. and A.A.F. Gann. Activators and targets. *Nature.* 1990, 346: 329–331.
41. Ptashne M. How eukaryotic transcriptional activators work. *Nature.* 1988, 335: 683–689.
42. Read C., Larose A.M., Leblank B., Bannister A.J., Firek S., Smith D.R., Moss T. High Resolution Studies of the *Xenopus laevis* Ribosomal Gene Promotor in Vivo and in Vitro // *J. Biochem.* 1992. 267, 10961–10967.
43. Reeder R.H. Enhancers and Ribosomal Gene Spacers // *Cell* 1984. 38, 349–351.
44. Rigby P.W.J. Three in One and One in Three : It all depends on TBP // *Cell* 1993. 72, 7–10.
45. Schnapp A., Grummt I.J. A growth-dependent transcription initiation factor (TIF-1A) increasing with RNA polymease I regulates mouse ribosomal RNA synthesis // *J. Biol. Chem.* 1991. 266, 24588–24595.
46. Schultz M.C., Reeder R.H., Hahn S. Variants of the TATA-Binding Protein Can Distinguish Subsets of RNA Polymerase I, II and III Promoters // *Cell* 1992. 69, 697–702.
47. Sentenac A. Eukaryotic RNA polymerases // *CRC Crit. Rev. Biochem.* 1985. 18, 31–90.
48. Sharp P.A. TATA-binding protein is a classless factor // *Cell* 1992. 68, 819–821.

49. Smith S.D., O'Mahony D.J., Kinsella B.J., Rothblum L.I. Transcription from the rat 45s ribosomal DNA promoter does not require the factor UBF // *Gene Express.* 1993. 3, 229–236.
50. Smith S.D., Oriahi E., Lowe D., Yang-Yen H.-F., O'Mahony D., Rose K., Chen K., Rothblum L.I. Characterization of factors that direct transcription of rat ribosomal RNA // *Mol. Cell. Biol.* 1990. 10, 3105–3116.
51. Struhl K. Duality of TBP, the Universal Transcription Factor // *Science* 1994. 263, 1103–1104.
52. Tartof K.D., Hawley R.S. // *The Genome of Drosophila melanogaster* ; D.L.Lindsley and G.G.Zimm eds. – London : Academic Press, 1992. – P.68.
53. Tower J., Sollner-Webb B. Transcription of mouse rDNA is regulated by an Activated Subform of RNA Polymerase I // *Cell* 1987. 50, 873–883.
54. Voit R., Schnapp A., Kuhn A., Rosenbauer H., Hirschmann P., Stunnerberg H.G., Grummt I. The nuclear transcription factor m UBF is phosphorylated by casein kinase II in the C-terminal hyperacidic tail which is essential for transactivation // *EMBO J.* 1992. 11, 2211–2218.
55. Zahradka P., Larson D.E., Sells B.H. Regulation of ribosome biogenesis in differentiated rat myotubes. // *Mol. Cell.Biochem.* 1991. 104, 189–194.
56. Zhu H., Joliot V. and Prywes R. (1994) *The Journal of Biological Chemistry* , 269, 3489–3497.