

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО АППАРАТА ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ III

© 2003 г. Г. М. ПРОШКИНА, Г. В. ШПАКОВСКИЙ

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и
Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

I. Введение. **II.** Структура промоторов, узнаваемых РНК-полимеразой III. **III.** Факторы транскрипции и сборка инициаторного комплекса на промоторах РНК-полимеразы III. **IV.** Субъединичный состав РНК-полимеразы III. **V.** Элонгация, терминация и реинициация, осуществляемые РНК-полимеразой III. **VI.** Регуляция активности РНК-полимеразы III и ее координация с другими полимеразами. **VII.** Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Транскрипция в эукариотических клетках осуществляется тремя структурно родственными, но различными в отношении считываемых генов формами ядерных РНК-полимераз (I, II и III). Эти три вида ДНК-зависимых РНК-полимераз были выделены из ядер многих эукариотических организмов и для каждого фермента была установлена специфичность транскрибируемых генов. Выяснилось, что РНК-полимераза I (или А) осуществляет транскрипцию кластера генов рРНК, и продуктом этого процесса является предшественник высокомолекулярной рибосомной РНК, а РНК-полимераза II (или В) синтезирует все мРНК и многие малые ядерные РНК (мяРНК), такие как U1 и U2. Продуктами же генов, транскрибируемых РНК-полимеразой III, являются низкомолекулярные РНК, участвующие в синтезе белков (тРНК и 5S рРНК), их внутриклеточном транспорте (7SL РНК), сплайсинге мРНК (U6 РНК), посттранскрипционном процессинге тРНК и 5.8S рРНК (РНК, входящая в состав рибонук-

Авторы благодарят РФФИ (гранты № 01-04-49741, № 02-04-06227 /МАС/), программу «Физико-химическая биология» РАН и программу Президента РФ «Ведущие научные школы» (грант № 00-15-97947) за финансовую поддержку.
Адрес для корреспонденции: e-mail: gvs@mail.ibch.ru

леазы Р), созревании РНК-праймера при репликации митохондриальной ДНК (полирибонуклеотидный компонент рибонуклеазы MRP млекопитающих), а также, как было выяснено совсем недавно [88, 126], в зависимой от стресса регуляции фактора элонгации РНК-полимеразы II Р-TEFb (7SK РНК).

РНК-полимеразы II и III локализованы в основном в нуклеоплазме, РНК-полимераза I находится в ядрышке. Одним из важных характерных отличий РНК-полимеразы III от двух других форм является длина транскрибируемых генов: ферменты I и II транскрибируют гены длиной до нескольких тысяч пар оснований, тогда как длина транскриптов РНК-полимеразы III составляет всего 100–200 нуклеотидов.

Данный обзор посвящен механизмам транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой III эукариот. Рассмотрены структура промоторов, узнаваемых РНК-полимеразой III, субъединичный состав фермента, специфические факторы транскрипции, а также механизмы инициации, элонгации и терминации процесса синтеза малых стабильных РНК в живой клетке.

II. СТРУКТУРА ПРОМОТОРОВ, УЗНАВАЕМЫХ РНК-ПОЛИМЕРАЗой III

Промоторы, узнаваемые РНК-полимеразой III, обычно делят на три класса, основываясь на их структурной организации и наборе факторов транскрипции, необходимых для эффективного считывания соответствующих генов.

К *первому типу* относятся промоторы генов 5S рРНК. Классическим примером является ген 5S рРНК шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (рис. 1), в состав которого входят три внутренних элемента, необходимых для эффективной транскрипции: А-блок, расположенный между нуклеотидами +50 и +64, промежуточный сегмент (IE – intermediate element), локализованный в положении от +67 до +72, и С-блок – от +80 до +97 [68, 103].

Второй тип промоторов обнаружен в генах тРНК, VA-генах аденовирусов и многих семействах умеренно повторяющихся генов. Он состоит из двух высоко консервативных блоков А и В, расположенных внутри транскрибируемой области (рис. 1). Блоки А первого и второго типа промоторов гомологичны друг другу и иногда могут быть взаимозаменяемы [32], но в случае второго типа промоторов А-блок располагается гораздо ближе к точке начала транскрипции. Расположение блока В сильно варьирует не только от вида к виду, но даже среди тРНК одного организма, частично из-за того, что некоторые гены тРНК содержат короткий интрон. Так, например, у пекарских дрож-

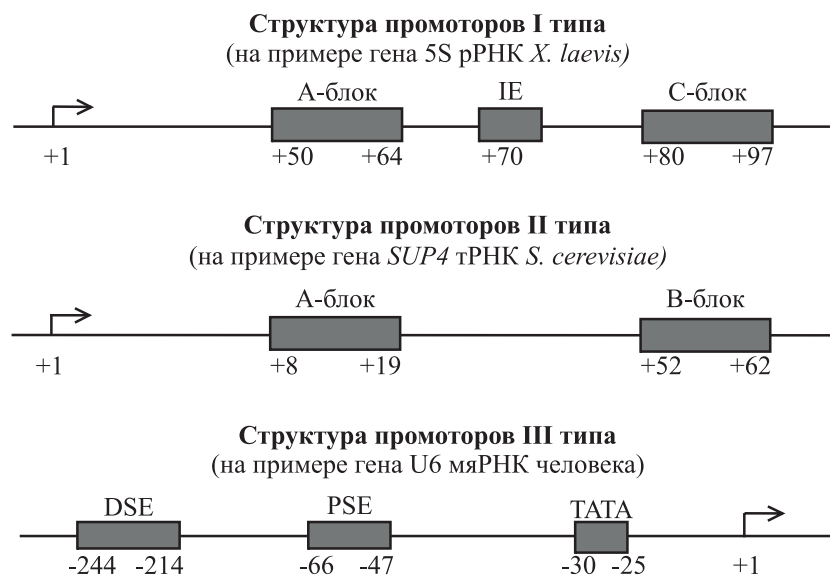


Рис. 1. Структурная организация основных типов промоторов, используемых РНК-полимеразой III.

Цифрами указаны позиции различных промоторных элементов: +1 – точка начала транскрипции, IE – промежуточный сегмент, PSE – проксимальный промоторный элемент, DSE – дистальный промоторный элемент.

жей *Saccharomyces cerevisiae* расстояние между блоками А и В может составлять от 31 до 93 п.о. [30]. Учитывая, что фактор ТФПИС связывается с блоками А и В одновременно, такая гибкость поразительна [100].

Минорная часть матриц, транскрибируемых РНК-полимеразой III, не содержит внутригенных промоторных элементов. Такие усложненные промоторы характерны для многоклеточных организмов и называются *промоторами третьего типа*. Например, было установлено, что промоторы генов U6 мяРНК человека и мыши сохраняют полную активность при делеции последовательности, лежащей непосредственно за точкой начала транскрипции в направлении к 3'-концу [35, 64, 72]. Такой же факт был установлен для генов 7SK РНК человека [86].

Наиболее охарактеризованным промотором третьего типа является промотор гена U6 человека (рис. 1). Для эффективной работы промотора требуются: ТАТА-бокс, расположенный между нуклеотидами -30 и -25, проксимальный элемент PSE (proximal sequence element), находящийся между нуклеотидами -66 и -47, а также дистальный элемент DSE (distal sequence element), занимающий участок

от -244 до -214 нуклеотида [18, 28, 36, 63, 64, 72]. Проксимальные и дистальные последовательности промотора гена U6 гомологичны элементам, обнаруженным в соответствующих позициях промотора гена U2 мРНК, а этот ген, как известно, транскрибируется РНК-полимеразой II [18, 28, 63, 72]. Было показано, что проксимальные и дистальные элементы промоторов генов U6 и U2 мРНК взаимозаменяемы. Однако ТАТА-бокс не обнаружен в промоторе гена U2. Это – довольно любопытная аномалия, поскольку ТАТА-последовательность является характерной чертой структуры промоторов генов, считываемых РНК-полимеразой II. Еще более парадоксальным является тот факт, что вставка ТАТА-последовательности в промотор гена U2 превращает его в промотор, узнаваемый РНК-полимеразой III, а удаление ТАТА-бокса из промотора гена U6 приводит к тому, что этот ген может транскрибироваться РНК-полимеразой II [72, 78].

Промоторы некоторых генов, транскрибируемых РНК-полимеразой III, не могут быть отнесены ни к одной из рассмотренных трех групп промоторов. Например, ген EBER2 вируса Эпштейна-Барр содержит блоки А и В, типичные для промоторов второго типа [49]. Однако, делеция последовательности перед нуклеотидом в положении -46 понижает уровень экспрессии этого гена до 7% по сравнению с диким типом. Промотор гена EBER2 также содержит ТАТА-бокс между нуклеотидами -28 и -23. Было показано, что делеция этой последовательности приводит к уменьшению активности промотора в 5 раз [49]. Промоторы, содержащие как внутригенные, так и экстрагенные последовательности, обнаружены также в генах тРНК^{Ala} шелкопряда [108] и тРНК^{Ser} шпорцевой лягушки [27], в гене 7SL человека [116].

III. ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ И СБОРКА ИНИЦИАТОРНОГО КОМПЛЕКСА

Ни одна из трех форм ядерных ДНК-зависимых РНК-полимераз не способна сама по себе, самостоятельно узнавать свой промотор. Для специфической инициации транскрипции РНК-полимеразе необходим набор транскрипционных факторов, которые, обладая способностью одновременно связываться и с промотором, и с полимеразой, участвуют в сборке транскрипционного комплекса на промоторе. На сегодняшний день наиболее детально изучены факторы инициации транскрипции ферментативного комплекса РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* и человека (см. обзор [47]). Для инициации транскрипции с промоторов I и II типов РНК-полимеразе III тре-

буются три фактора транскрипции: TFIIIC, TFIIIV и TFIIIA. Инициация же с промоторов III типа происходит у многоклеточных организмов при участии также факторов Oct-1, Staf/ZNF/SBF и SNAPc/PTF.

TFIIIC

Фактор TFIIIC или τ является мультисубъединичным белком. Например, в состав TFIIIC *S. cerevisiae* входят 6 субъединиц (таблица 1).

С помощью электронной микроскопии комплекса TFIIIC–ДНК было установлено, что эти шесть субъединиц организованы в два глобулярных домена, τ_A и τ_B , связанных очень гибким линкером, чувствительным к протеолизу [100]. Именно из-за того, что линкерный домен может вытягиваться, придавая белку вид гантели, фактор TFIIIC способен связываться с блоками А и В промотора гена тРНК одновременно, независимо от расстояния между ними.

Домены τ_A и τ_B получили свои названия из-за способности взаимодействовать, соответственно, с блоками А и В промотора гена тРНК. τ_B состоит из трех субъединиц: τ_{138} , τ_{91} и τ_{60} [16, 37]. Субъединица τ_{60} является линкером между доменами τ_A и τ_B , τ_{91} и τ_{138} участвуют в связывании ДНК [16], причем τ_{91} располагается в дистальной части гена, перекрывая терминатор транскрипции [16, 22]. Субъединицы τ_{95} , τ_{131} и τ_{55} образуют домен τ_A , обладающий способностью связывать 5'-область гена. Белок τ_{131} обладает интересной особенностью — он содержит 11 тетратрикопептидных повторов (TPR), участвующих в белок-белковых взаимодействиях [74]. Каждый повтор состоит из 34 аминокислотных остатков, 8 из которых очень консервативны [106]. В структурном отношении TPR-мотив — это амфипатическая α -спираль, прерываемая поворотом, индуцируемым остатком пролина. Кроме TPR-повторов, τ_{131} содержит мотив «спираль–петля–спираль» [106].

Пространственная организация субъединиц комплекса TFIIIC на интронсодержащем гене тРНК^{Tyr} была установлена с использованием техники фотоаффинных сшивок [19, 20, 22]. Результаты этих

Таблица 1.

Субъединичный состав фактора транскрипции TFIIIC *S. cerevisiae*

Ген	Субъединица	M _r , кДа
<i>TFC3</i>	τ_{138}	132
<i>TFC4/PCF1</i>	τ_{131}	120
<i>TFC1</i>	τ_{95}	74
<i>TFC6</i>	τ_{91}	75
<i>TFC8</i>	τ_{60}	68
<i>TFC7</i>	τ_{55}	49

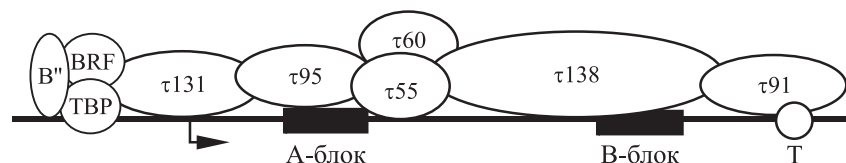


Рис. 2. Схема пространственной организации компонентов инициаторного комплекса на промоторе гена тРНК дрожжей.

Стрелкой отмечена точка начала и направление транскрипции. Буквой Т обозначен сайт терминации транскрипции. TBP, BRF и B'' – субъединицы фактора ТFIIB, которые обсуждаются ниже.

исследований, дополненные данными, полученными генетическими методами, схематично представлены на рис. 2.

Человеческий фактор hTFIIIC отличается от такового у дрожжей *S. cerevisiae*. С помощью ионообменной хроматографии он может быть разделен на два компонента – hTFIIIC1 и hTFIIIC2 [90, 119, 129]. В то время как для транскрипции генов 5S рРНК и тРНК требуются оба этих компонента, транскрипция генов U6 и 7SK обеспечивается одним hTFIIIC1 [65, 90, 128]. Взаимодействие с промотором второго типа происходит так: первоначально hTFIIIC2 связывается с В-блоком, после этого осуществляется взаимодействие этого фактора с hTFIIIC1 и hTFIIB [36]. Функция hTFIIIC1 остается все еще неясной. О факторе hTFIIIC2 известно, что он, как и дрожжевой белок TFIIIC, является мультисубъединичным комплексом и состоит из 5 полипептидов: hTFIIIC220, hTFIIIC110, hTFIIIC102, hTFIIIC90 и hTFIIIC63 [107, 119, 129]. hTFIIIC2 обладает способностью связываться с В-блоком промотора через субъединицу hTFIIIC220 [70]. Нужно отметить, что из 5 субъединиц, входящих в состав hTFIIIC2, 4 белка не обнаруживают значительной гомологии с соответствующими субъединицами фактора TFIIIC *S. cerevisiae*. Лишь субъединица hTFIIIC102 гомологична дрожжевому белку τ131 на 31% и, так же как τ131, содержит 11 копий тетрапептидного повтора [51]. Субъединица hTFIIIC102 взаимодействует с субъединицей hTFIIB90 фактора hTFIIB с участием TPR-повторов так же, как это происходит в дрожжевом ферментном комплексе.

Субъединицы hTFIIIC220, hTFIIIC110 и hTFIIIC90 комплекса hTFIIIC2 обладают гистонацетилтрансферазной активностью [50, 62]. Наличие сразу трех белков с ацетилтрансферазной активностью в одном белковом комплексе является уникальной особенностью фактора hTFIIIC2 человека. Дрожжевой фактор TFIIIC такой активностью вообще не обладает [30].

Второй компонент фактора hTFIIIC, hTFIIIC1, еще недостаточно изучен. Известно, что он состоит по крайней мере из четырех субъеди-

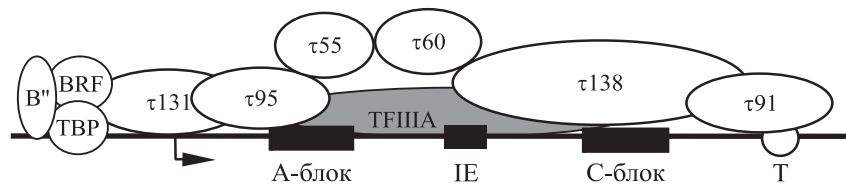


Рис. 3. Схема расположения компонентов инициаторного комплекса РНК-полимеразы III на промоторе типа I.

Стрелкой отмечена точка начала и направление транскрипции. Буквой Т обозначен сайт терминирования транскрипции. TBP, BRF и B'' – субъединицы фактора TFIIIB, которые обсуждаются далее.

ниц с молекулярными массами 70, 50, 45 и 40 кДа [121]. Сам по себе hTFIIIC2 связывается с В-блоком слабо, однако присоединение hTFIIIC1 к комплексу hTFIIIC2–ДНК стабилизирует взаимодействие hTFIIIC2 с промотором [90, 119, 129].

TFIIIA

Первым эукариотическим фактором транскрипции, очищенным до гомогенного состояния [41], и первым фактором, кДНК которого была клонирована [48], стал фактор TFIIIA *X. laevis*. Этот фактор также явился первым членом семейства белков, содержащих цинковые пальцы — его 344 а.о. организованы в 9 tandemно повторяющихся доменов, осуществляющих связывание матрицы ДНК в присутствии ионов цинка [80]. TFIIIA обладает способностью взаимодействовать с промотором гена 5S РНК, а также — взаимодействовать с транскриптом 5S РНК, образуя цитоплазматическую частицу с коэффициентом седиментации 7S [92]. Полагают, что РНК-связывающая активность TFIIIA может использоваться в регуляции синтеза 5S РНК *in vivo* по принципу «обратной связи» [13, 91, 94]: белок TFIIIA не может связываться с 5S ДНК и 5S РНК одновременно, поэтому накопление транскриптов 5S РНК уменьшает количество «свободного» фактора TFIIIA, что сокращает образование инициаторных комплексов на промоторе гена 5S РНК.

Пространственная структура фактора TFIIIA *X. laevis* была установлена методами ЯМР и рентгеноструктурного анализа [45, 89]. Было показано, что с С-блоком промотора гена 5S рРНК взаимодействуют три N-концевых цинковых пальца (пальцы 1–3), с А-блоком контактируют пальцы 7–9, три средних цинковых пальца (пальцы 4–6) взаимодействуют с промежуточным сегментом промотора. Фактор TFIIIA *S. cerevisiae* также содержит 9 цинковых пальцев [14].

Пространственная организация промоторного комплекса на промоторах типа I была установлена для гена 5S РНК *S. cerevisiae* с использованием техники фотоаффинных сшивок [22] (рис. 3).

TFIIIB

TFIIIB является ключевым фактором в инициации транскрипции генов, считываемых РНК-полимеразой III [56]. Именно он взаимодействует с РНК-полимеразой III, помещая ее на промотор, и именно он регулирует точную инициацию транскрипции [56, 77]. Наиболее полно изучен фактор TFIIIB дрожжей *S. cerevisiae*. Установлено, что он состоит из трех компонентов: белка ТВР (TATA-binding protein) и специфических субъединиц TFIIIB90 (или В'') и TFIIIB70 (или BRF) [54]. Субъединица TFIIIB90 дрожжей способна поддерживать транскрипцию генов мяРНК U6 даже после удаления из этого белка 418 а.о. из 594 [61]. Белок TFIIIB70 в N-проксимальной части на 44% гомологичен фактору TFIIIB РНК-полимеразы II. Именно в силу такой высокой гомологии субъединицу TFIIIB70 называют BRF – TFIIIB-Related Factor. ТВР и BRF образуют очень стабильный комплекс, называемый В'. Дрожжевой фактор TFIIIB является ДНК-связывающим белком. Связывание с ДНК может достигаться двумя путями: либо TFIIIB непосредственно связывается с ТАТА-боксом (через ТВР), либо TFIIIB узнает точку начала транскрипции через взаимодействие с TFIIIC, уже заякоренным на ДНК. С помощью мутагенеза было установлено, что важную роль в первом случае играет взаимодействие остатков аргинина в положении 220 ТВР (Arg-220) и аспарагиновой кислоты в положении 464 TFIIIB70 (Asp-464) [12].

В отличие от фактора TFIIIB *S. cerevisiae*, который регулирует транскрипцию всех генов, транскрибируемых РНК-полимеразой III, у человека выявлены две формы TFIIIB: hTFIIIB α и hTFIIIB β [110]. hTFIIIB β необходим для транскрипции генов тРНК и состоит из hТВР, hBRF и hВ'' [109]. По своему субъединичному составу комплекс hTFIIIB β гомологичен TFIIIB *S. cerevisiae*. Для транскрипции генов U6 требуется комплекс hTFIIIB α , который состоит из hТВР, hВI и hTFIIIB50 (или hBRFU) [99, 111].

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ ПРОМОТОРОВ III ТИПА

Помимо особых форм факторов TFIIIB и TFIIIC (см. выше), сборка инициаторного комплекса на промоторах III типа у метазоев требует участия и других факторов транскрипции. Дистальный элемент промотора (DSE) содержит два участка связывания – для белков Oct-1 и Staf/ZNF/SBF. Oct-1, названный в силу того, что узнает последовательность из 8 нуклеотидов (octamer DNA site), представляет собой односубъединичный ДНК-связывающий белок. Высококонсервативный в эволюции Staf (у *Xenopus*) или ZNF143/SBF (у человека) содержит 7 потенциальных цинковых пальцев C₂H₂-типа,

важных для связывания с DSE-участком. Проксимальный элемент промотора (PSE) является участком связывания для фактора SNAPc/PTF (snRNA activator protein complex или Proximal element Transcription Factor). SNAPc состоит из 5 субъединиц, самая большая из которых, SNAP190, содержит ДНК-связывающий домен, и, как было показано в опытах с фотоактивируемыми поперечно-сшивающими реагентами, взаимодействует с PSE [125, 128]. Однако SNAP190 содержит С-концевой домен, который ингибирует узнавание PSE, возможно из-за того, что он закрывает собой ДНК-связывающий домен белка [83]. Подобная саморепрессия устраняется при взаимодействии с Oct-1, который, связываясь с DSE, образует непосредственный контакт с SNAP190 и тем самым стимулирует взаимодействие последнего с PSE [83]. Такое кооперативное связывание SNAPc с PSE и Oct-1 с DSE существенно усиливает связь обоих факторов с промотором и обеспечивает придание ему нужной конформации [44].

IV. СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ III

РНК-полимераза III по своему субъединичному составу является наиболее сложно организованным ферментом среди трех ядерных РНК-полимераз. В то время как РНК-полимеразы I и II содержат от 12 до 14 субъединиц [2, 10, 29, 69, 97, 98], в состав РНК-полимеразы III входят 17 полипептидов (табл. 2). Наиболее полно как с генетической, так и с биохимической точки зрения охарактеризована РНК-полимераза III почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*. Клонированы все 17 генов, кодирующих субъединицы этого фермента и доказано, что все 17 белков, как впрочем и ТВР, и ТФIIIA, и все субъединицы факторов ТФIIIB и ТФIIIC (всего – 27 компонентов) являются необходимыми для жизни дрожжевой клетки [30, 42, 101, 102]. Поскольку гены практически всех субъединиц РНК-полимеразы III были впервые идентифицированы в геноме *S. cerevisiae*, в дальнейшем изложении мы будем следовать номенклатуре генов и субъединиц именно для этого организма, с одной-единственной поправкой для двух больших субъединиц: их удобно называть RPC1 и RPC2 (см. [3]). Это снимает как проблему несоответствия их названий наименованиям соответствующих генов (см. табл. 2), так и необходимость запоминать молекулярные массы для гомологов этих белков у других организмов.

Ядро РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* (аналог бактериального кор-фермента $\beta'\beta_2\omega$) образовано пятью субъединицами: RPC1 (RPC160), RPC2 (RPC128), RPC40, RPC19 и RPB6. Пять субъединиц, RPB5, RPB6, RPB8, RPB10 и RPC10, являются общими для всех трех ядерных РНК-полимераз, два полипептида, RPC40 и RPC19, входят

Таблица 2.
**Субъединицы РНК-полимеразы III и соответствующие им
 гомологи из других мультисубъединичных ДНК-зависимых
 РНК-полимераз**

РНК-полимераза III			РНК-поли- мераза II	РНК-поли- мераза I	РНК-полиме- раза архей	РНК-полиме- раза эукариот
Субъединица	$M_r, \times 10^3$ Да	Ген				
RPC1 (RPC160)	162	<i>RPO31 (RPC160)</i>	RPB1	RPA1 (RPA190)	A	β'
RPC2 (RPC128)	129	<i>RET1</i>	RPB2	RPA2 (RPA135)	B	β
RPC82	74	<i>RPC82</i>				
RPC53	47	<i>RPC53</i>				
RPC40	38	<i>RPC40</i>	RPB3	RPC40	D	α_1
RPC37	32	<i>RPC37</i>				
RPC34	36	<i>RPC34</i>				
RPC31	28	<i>RPC31</i>				
RPB5	25	<i>RPB5</i>	RPB5	RPB5	H	
RPC25	24	<i>RPC25</i>	RPB7	RPA43	E	
RPB6	18	<i>RPB6 (RPO26)</i>	RPB6	RPB6	K	ω
RPC19	16	<i>RPC19</i>	RPB11	RPC19	L	α_{II}
RPC17	18	<i>RPC17</i>	RPB4	RPA14	F	
RPB8	17	<i>RPB8</i>	RPB8	RPB8		
RPC11	13	<i>RPC11</i>	RPB9	RPA12	X	
RPB10	8	<i>RPB10</i>	RPB10	RPB10	N	
RPC10	8	<i>RPC10</i>	RPC10	RPC10	P (M)	

Жирным шрифтом выделены общие субъединицы ядерных РНК-полимераз эукариот.

в состав только РНК-полимераз I и III. Восемь оставшихся субъединиц (RPC82, RPC53, RPC37, RPC34, RPC31, RPC25, RPC17 и RPC11) являются специфическими для РНК-полимеразы III и, возможно, требуются ей для инициации, элонгации и терминации, а также для взаимодействия с ферментами, осуществляющими процессинг малых РНК. Рассмотрим более подробно функции отдельных субъединиц, входящих в состав РНК-полимеразы III.

Большие субъединицы РНК-полимеразы III

RPC1 (RPC160) является самой большой субъединицей РНК-полимеразы III, гомологичной двум большим субъединицам РНК-полимераз I и II (соответственно, RPA1 и RPB1). RPC1 (RPC160) также обнаруживает гомологию с самой большой субъединицей β' бакте-

риального фермента и субъединицей А РНК-полимеразы архей. Вторая по величине субъединица РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* RPC2 (RPC128) родственна вторым по величине субъединицам эукариотических РНК-полимераз I и II (RPA2 и RPB2), бактериальной субъединице β и субъединице В архей.

Две большие субъединицы – RPC1 (RPC160) и RPC2 (RPC128) – образуют активный центр фермента, связывают ДНК, нуклеозидтрифосфаты и растущую цепь РНК [33, 38, 87, 114, 130].

Общие субъединицы

RPC40 является гомологом RPB3 (третьей по величине субъединицы РНК-полимеразы II), бактериальной субъединицы α и субъединицы D архей. RPC19 обнаруживает сходство с субъединицей RPB11 РНК-полимеразы II, бактериальной субъединицей α и субъединицей L РНК-полимеразы архей.

Субъединицы RPC40 и RPC19 содержат α -мотив, представляющий собой область гомологии с α -субъединицей бактериальной РНК-полимеразы. Взаимодействие между RPC40 и RPC19 было доказано как с использованием дрожжевой двухгибридной системы, так и в опытах по супрессорному анализу [66]. Вероятно, гетеродимер RPC40-RPC19 представляет собой функциональный гомолог гомодимера α_2 РНК-полимеразы *E. coli*. С использованием сайт-направленного мутагенеза аминокислотных остатков α -мотива субъединицы RPC40 было показано, что мутации в этом районе белка являются либо летальными, либо приводят к серьезным фенотипическим дефектам дрожжевой клетки, таким как невозможность расти при повышенной или пониженной температуре. В то же время мутации α -мотива субъединицы RPC19, как правило, не приводят к детектируемым фенотипическим изменениям [66].

Субъединица RPC10 *S. cerevisiae* представляет собой положительно заряженный белок, содержащий цинк-связывающий мотив $CX_2CX_{10-15}CX_2CG$ [104]. Гомологи этой субъединицы из других эукариотических организмов, равно как и гомологичный белок РНК-полимеразы архей, также содержат упомянутый выше мотив и положительно заряженный С-концевой домен, высококонсервативный в эволюции [7]. С помощью сайт-направленного мутагенеза субъединицы RPC10 *S. cerevisiae* было показано, что лишь первый цистеин в цинк-связывающем мотиве является необходимым для жизнедеятельности дрожжевой клетки [95]. Мутации в С-концевом домене этой субъединицы (R60Y, V65D) влияют на сборку РНК-полимеразы III, что приводит к уменьшению количества транскрипционно активной формы РНК-полимеразы III в клеточных экстрактах.

Вместе с тем, в опытах по транскрипции *in vitro* было показано, что эти мутации не затрагивают каталитических свойств фермента (инициацию, элонгацию, терминацию) [95]. В опытах по супрессорному анализу установлено, что мутации в С-концевом домене субъединицы RPC10 супрессируются высокой дозой субъединицы RPC2 (RPC128), что говорит о непосредственном взаимодействии RPC10 с RPC2 (RPC128) в процессе сборки РНК-полимеразного комплекса [95]. То, что субъединица RPC10 в РНК-полимеразном комплексе взаимодействует со вторым по величине белком фермента доказывают как исследования белок-белковых взаимодействий с помощью двухгибридной системы [43], так и данные о пространственной структуре РНК-полимеразы II [33]. С использованием двухгибридной системы было также установлено, что С-концевой домен RPC10 взаимодействует с субъединицей τ 131 фактора транскрипции TFIIIC [40].

Субъединица RPB10 гомологична субъединице N РНК-полимеразы архей, а также обнаруживает отдаленное сходство с малой субъединицей Rpo7 РНК-полимеразы вируса осповакцины [104]. Субъединица RPB10 эукариот, так же как и гомологичные ей полипептиды РНК-полимераз архей и некоторых вирусов животных, содержат инвариантный мотив $CX_2C...CC$, который, вероятно, отвечает за связывание ионов цинка [115]. С помощью сайт-направленного мутагенеза было показано, что в случае субъединицы RPB10 *S. cerevisiae* все цистеиновые остатки этого мотива являются строго необходимыми для жизни дрожжевой клетки [46]. Отличительной чертой субъединицы RPB10 эукариот является наличие инвариантного мотива HVDLIEK в С-концевой части субъединицы [6, 46]. Замена этого мотива субъединицы RPB10 *S. cerevisiae* на эквивалентный мотив субъединицы N *Sulfolobus acidocaldarius* приводит к летальному фенотипу дрожжевой клетки [46]. Мутации в мотиве 53-HVDLIEK-59 влияют на сборку РНК-полимеразы I: в бесклеточных экстрактах штамма дрожжей *S. cerevisiae*, содержащего мутацию K59E, в составе РНК-полимеразы I полностью отсутствует самая большая субъединица этого фермента RPA1 (RPA190) [46]. Таким образом, можно предположить, что субъединица RPB10 выполняет в составе РНК-полимеразного комплекса в первую очередь структурную роль. Предположение о том, что субъединица RPB10 задействована в сборке РНК-полимеразного комплекса, согласуется со способностью этого белка супрессировать дефекты условных фенотипов дрожжей, связанные с мутациями в α -подобных субъединицах — RPC40 и RPC19 [66]. Анализ белок-белковых взаимодействий, проведенный с использованием двухгибридной системы, показал, что субъединица RPB10 взаимодействует с N-концевой частью β -подоб-

ной субъединицы РНК-полимеразы II (субъединица RPB2) и с С-концевой частью β' -подобной субъединицы RPB1 [43]. На основании этих данных можно предположить, что субъединица RPB10 является связующим звеном между двумя доменами больших субъединиц РНК-полимеразы и обеспечивает взаимодействие этого комплекса с гетеродимером RPC40-RPC19 в составе РНК-полимераз I и III или с аналогичным гетеродимером RPB3-RPB11 в случае РНК-полимеразы II.

Субъединица RPB8 – единственная из пяти общих субъединиц, которая не имеет гомологов ни в бактериальном, ни в архебактериальном РНК-полимеразных комплексах. Пространственная структура RPB8 *S. cerevisiae* была определена как для свободной субъединицы [60], так и в составе ферментного комплекса РНК-полимеразы II [33]. Исходя из пространственной структуры, этот белок относят к ОВ-семейству (семейство олигосахарид/олигонуклеотид-связывающих белков) и предполагают, что данная субъединица может связывать одноцепочечные олигонуклеотиды [60]. В опытах по супрессорному анализу термочувствительного штамма дрожжей, содержащего в РНК-полимеразных комплексах вместо нативной субъединицы RPB8 *S. cerevisiae* гомологичный белок РНК-полимеразы II *Homo sapiens*, было установлено, что генетическими партнерами RPB8 являются общая субъединица RPB6 и самая большая субъединица RPC1 (RPC160) [8, 25]. Анализ белок-белковых взаимодействий с помощью двухгибридной системы показал, что RPB8 взаимодействует с консервативным доменом **e** самых больших субъединиц РНК-полимераз I, II и III [25]. Взаимодействие RPB8 и самой большой субъединицы RPC1 (RPC160) РНК-полимеразы III было также доказано с помощью супрессорного анализа штамма дрожжей *S. cerevisiae*, содержащего вместо нативной субъединицы RPB8 ее гомолог из делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* [117].

Субъединица RPB6 гомологична бактериальной субъединице ω [81] и субъединице К архебактерий [67]. У всех эукариот субъединица RPB6 фосфорилирована *in vivo*, что, возможно, говорит о ее регуляторной роли [58]. С помощью генетических методов было установлено, что субъединица RPB6 *S. cerevisiae* взаимодействует с самыми большими субъединицами РНК-полимераз I и II [15, 25]. Из данных о пространственной организации ферментного комплекса РНК-полимеразы II дрожжей следует, что RPB6 входит в основание мобильной структуры типа подвижного зажима (clamp), образованного двумя большими субъединицами фермента и участвующего в удержании молекулы матричной ДНК [33].

Субъединица RPB5 эукариот имеет двухдоменную структуру [33, 113, 127]. В то время как С-концевой домен RPB5 на 47% гомологи-

чен субъединице N фермента архебактерий, N-концевой домен эукариотической субъединицы не имеет гомологов в протеоме архей. Используя как генетические, так и биохимические методы, было выявлено, что N-концевая часть субъединицы RPB5 эукариот взаимодействует с общим фактором транскрипции TFIIB [85], белком-трансактиватором X вируса гепатита В [71] и с малой субъединицей RAP30 общего фактора транскрипции TFIIF [122]. Эти данные говорят о том, что, по всей вероятности, субъединица RPB5 задействована в активации транскрипции, причем в выполнение регуляторных функций вовлечен именно N-концевой домен. С-концевой домен RPB5 содержит кластер гидрофильных и положительно заряженных аминокислотных остатков и, таким образом, может участвовать во взаимодействии с другими субъединицами РНК-полимеразы и/или нуклеиновыми кислотами [113]. Это предположение подтверждает ряд экспериментальных данных: с помощью биохимических методов было показано, что в процессе образования прединициаторного комплекса RPB5 взаимодействует с ДНК в области промотора [59]; известно также, что эта субъединица взаимодействует с консервативным районом **h** самой большой субъединицы РНК-полимеразы II RPB1 [34, 84].

Специфические субъединицы РНК-полимеразы III

Три субъединицы, RPC82, RPC34 и RPC31, взаимодействуют друг с другом, образуя субкомплекс. Полагают, что этот субкомплекс играет ключевую роль в инициации транскрипции, поскольку, во-первых, он взаимодействует с TFIIB70 (компонентом фактора инициации TFIIB) через субъединицу RPC34 [123], во-вторых, делеция 16 а.о. из С-концевой области субъединицы RPC31 отрицательно влияет на инициацию транскрипции специфических матриц [112], в-третьих, мутации в субъединице RPC34 нарушают ее взаимодействие с TFIIB70, что приводит к нарушениям процессов сборки активной РНК-полимеразы и образования открытого комплекса фермента на участке ДНК промотора [12, 26]. Субкомплекс RPC34-RPC31-RPC82 может спонтанно диссоциировать от РНК-полимеразы III при различных условиях. Так, например, мутации в цинковом пальце N-концевой части субъединицы RPC1 (RPC160) вызывают отделение этой триады белков в процессе очистки фермента [124]. Известно, что РНК-полимераза III человека также содержит субкомплекс из трех субъединиц, гомологичный дрожжевому и также необходимый для инициации транскрипции [120].

Субъединица RPC53 – одна из четырех субъединиц РНК-полимеразы III, фосфорилированных *in vivo* (фосфорилированы также

субъединицы RPC40, RPC19 и RPB6). С использованием дрожжевой двухгибридной системы было показано, что субъединица RPC53 *S. cerevisiae* взаимодействует с $\tau 131$, компонентом фактора TFIIS, который располагается перед точкой начала транскрипции [43] (рис. 2). Этот факт может говорить об участии RPC53 в инициации транскрипции. Инактивация гена *RPC53 S. cerevisiae* приводит к задержке роста дрожжей на фазе G₁ клеточного цикла [73].

По данным, полученным с помощью дрожжевой двухгибридной системы, RPC53 контактирует с субъединицей RPC37 [43]. С этим согласуется также результат опыта по коиммунопреципитации, в котором показано образование субкомплекса между человеческими гомологами субъединиц Rpc37 и Rpc53 [52].

Субъединица RPC11 гомологична субъединице RPA12 РНК-полимеразы I и субъединице RPB9 РНК-полимеразы II [9, 31]. RPC11 также обнаруживает гомологию с фактором TFIIS, который необходим РНК-полимеразе II для стимуляции РНК-расщепляющей активности этого фермента [93]. Субъединица RPC11 содержит два цинк-связывающих мотива (один – в N-концевой части, другой – в C-концевой). Этот белок необходим РНК-полимеразе III для присущего ферменту 3'-экзонуклеазного расщепления РНК-транскрипта в тройном элонгационном комплексе [31], для узнавания участков окончания синтеза РНК и осуществления терминации. Предполагают, что именно с помощью RPC11 осуществляется переход РНК-полимеразы III от элонгации к терминации и от состояния паузы (задержки) к продолжению эффективной элонгации [31].

Субъединица RPC25 гомологична субъединицам RPB7 РНК-полимеразы II и RPA43 РНК-полимеразы I, а также субъединице E РНК-полимеразы архебактерий [11, 96]. RPC25 долгое время оставалась единственной из субъединиц, для которой не было установлено контактов с другими компонентами аппарата транскрипции РНК-полимеразы III [43]. Лишь недавно продемонстрировано, что RPC25 взаимодействует с субъединицей RPC17 [52, 105]. В опытах по межвидовой комплементации нами установлено, что субъединица Rpc25 *Sch. pombe* способна частично замещать *in vivo* функции гомологичной субъединицы РНК-полимеразы III *S. cerevisiae*, а hRPC25 *H. sapiens* такой способностью не обладает [1]. Чтобы определить районы RPC25 *S. cerevisiae*, отвечающие за видоспецифичность этого белка, мы сконструировали гибридные гены, в которых различные области *RPC25 S. cerevisiae* были замещены соответствующими последовательностями *hRPC25 H. sapiens*. Тестирование полученных гибридных конструкций RPC25-hRPC25 и hRPC25-RPC25 в клетках почкующихся дрожжей показало, что N-концевая часть

RPC25 *S. cerevisiae* является необходимой для сохранения активности этого белка *in vivo*. Два консервативных аминокислотных остатка (Phe-72 и Trp-201), необходимых для функции субъединицы Rpc25 *Sch. pombe*, выявлены с помощью сайт-направленного мутагенеза [1].

Самой последней из специфических субъединиц РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* была охарактеризована субъединица RPC17 [42]. Анализ белок-белковых взаимодействий с помощью двухгибридной системы показал, что субъединица RPC17 контактирует по крайней мере с двумя компонентами аппарата транскрипции РНК-полимеразы III, играющими ключевую роль в инициации транскрипции – RPC31 и TFIIIB70. Более того, установлено взаимодействие RPC17 с TFIIIB-подобным доменом TFIIIB70, что говорит об участии RPC17 в специфическом узнавании РНК-полимеразой III фактора инициации TFIIIB [42]. Недавно отмечено структурное родство этой субъединицы с субъединицами RPB4 РНК-полимеразы II и RPA14 РНК-полимеразы I, а также с субъединицей F РНК-полимеразы архей [4, 5, 105]. Таким образом, по-видимому, гетеродимер RPC17-RPC25 РНК-полимеразы III является аналогом белковых комплексов RPB4-RPB7 РНК-полимеразы II и E-F РНК-полимеразы архей.

Данные о белок-белковых взаимодействиях субъединиц РНК-полимеразы III друг с другом и с компонентами факторов инициации транскрипции TFIIIB и TFIIIC, полученные с использованием различных молекулярно-биологических подходов, суммированы на рис. 4.

V. ЭЛОНГАЦИЯ, ТЕРМИНАЦИЯ И РЕИНИЦИАЦИЯ

В процессе инициации РНК-полимераза III расплетает двойную спираль ДНК в районе точки начала транскрипции [55]. Этот процесс требует участия фактора TFIIIB, поскольку было установлено, что мутации в TFIIIB70 или TFIIIB90 препятствуют образованию открытого промоторного комплекса [57]. После образования открытого комплекса РНК-полимераза III вступает в фазу abortивной инициации, в ходе которой ею синтезируются короткие транскрипты длиной в несколько рибонуклеотидов [21]. РНК-полимераза III остается связанной с TFIIIB пока синтезируемая цепь РНК не достигнет длины, по крайней мере, в 5 нуклеотидов [55]. Прохождение промотора (cleavage) является скоростью-лимитирующей стадией процесса транскрипции [53].

Движение РНК-полимеразы III по матрице не является монотонным, в некоторых местах фермент совершает остановки (задержки, паузы). Так, например, при 20 °С для транскрипции *in vitro* с 17 по 46 нуклеотид гена SUP4 тРНК^{Tyr} РНК-полимеразе требуется 3 сек; но

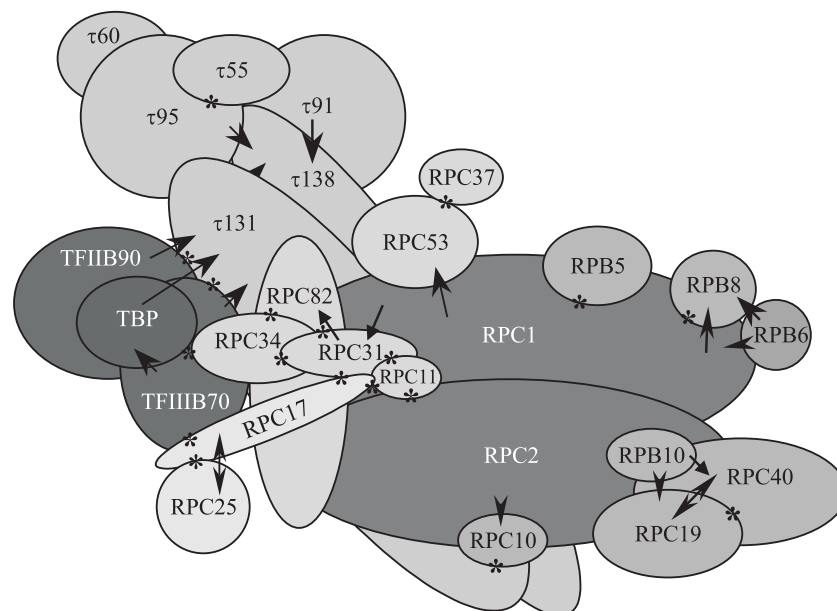


Рис. 4. Схема взаимодействий субъединиц РНК-полимеразы III друг с другом и с факторами транскрипции TFIIIB и TFIIIC.

Белок-белковые взаимодействия, установленные с помощью двухгибридной системы, обозначены звездочками, черными стрелками указаны взаимодействия, обнаруженные с помощью супрессорного анализа (по [8, 30, 42, 43, 101]).

уже 4,1 сек необходимы для того, чтобы синтезировать следующие 9 нуклеотидов [79]. В узнавание труднопроходимых участков, где и происходят задержки, вовлечена субъединица РНК-полимеразы III RPC11 [31].

В то время как РНК-полимеразам I и II для элонгации требуется набор вспомогательных факторов, РНК-полимераза III, по-видимому, не нуждается в каких-либо добавочных белках. Возможно это связано с тем, что, во-первых, субъединица RPC11 (TFIIIS-подобная субъединица РНК-полимеразы III) выполняет функции фактора элонгации, и, во-вторых, что транскрипты, синтезируемые РНК-полимеразой III, отличаются небольшой протяженностью (100–200 нуклеотидов).

Большой белковый комплекс, образованный факторами транскрипции на внутригенных промоторах, не вытесняется РНК-полимеразой во время ее продвижения вдоль гена [17]. Многочисленные контакты внутри транскрипционного комплекса (как белок-белковые, так и белок-ДНК) являются необходимыми для сохранения его

целостности в процессе транскрипции гена. Предполагают, что РНК-полимераза III во время синтеза РНК временно вытесняет какой-то один фактор с его участка связывания на ДНК, но фактор по-прежнему остается в комплексе благодаря белок-белковым контактам с другими факторами, все еще взаимодействующими с ДНК. Взаимодействие ТФIIIВ с ДНК перед точкой начала транскрипции в этом смысле является особенно важным, поскольку благодаря именно этому взаимодействию факторы ТФIIIC и ТFIIIA не вытесняются РНК-полимеразой III с внутригенных промоторов [17].

Обычно терминация элонгации, осуществляемой РНК-полимеразой III, происходит в участках, содержащих короткую последовательность из остатков тимидина. Так, например, четыре остатка тимидина подряд вызывают терминацию РНК-полимеразы III *Xenopus* и человека, 5 — *Sch. pombe*, 6 — *S. cerevisiae*. Для системы РНК-полимеразы III почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* было показано, что отсутствие субъединицы RPC11 в составе РНК-полимеразного комплекса приводит к понижению эффективности терминации [31]. Именно поэтому субъединица RPC11 может рассматриваться как «внутренний» фактор терминации РНК-полимеразы III. Возникает вопрос, вовлечены ли в процесс терминации какие-либо белки, не являющиеся белками РНК-полимеразы III («внешние» факторы терминации)? В экспериментах с экстрактами ядер клеток линии HeLa было показано, что для высвобождения РНК-транскрипта на терминаторе и реинициации транскрипции необходим аутоантиген La [75, 76]. Другие авторы установили, что в случае РНК-полимеразы III человека терминацию и реинициацию транскрипции стимулируют также ТFIIIC1, топоизомераза I и ядерный фактор NF1 [118, 121].

После первого раунда транскрипции последующие циклы синтеза РНК происходят в 5–10 раз быстрее первого [39]. Так, в процессе многочисленных раундов транскрипции для синтеза молекулы тРНК при 22 °С РНК-полимеразе III требуется ~35 сек, в то время как на синтез первого транскрипта она затрачивает около 5 мин. Вероятно, это связано с тем, что РНК-полимераза III, закончив транскрибировать ген, остается связанной с матрицей, что дает возможность избежать повторения медленной стадии связывания РНК-полимеразы с ДНК [39]. Факторы ТFIIIA, ТFIIIB и ТFIIIC обладают способностью изгибать ДНК, что способствует сближению двух концов гена [23], и, таким образом, облегчает рециркуляцию РНК-полимеразы III от терминатора к точке начала транскрипции [39]. Процесс такого повторного (reiterative) синтеза транскриптов РНК-полимеразой III представлен на рис. 5.

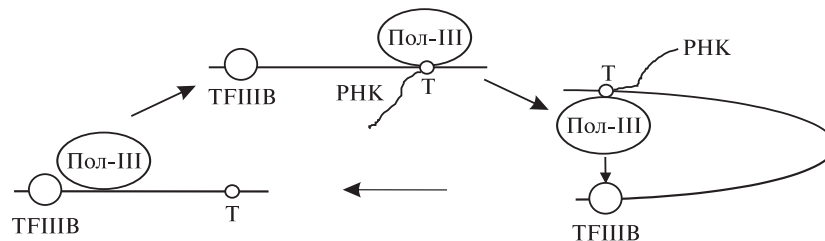


Рис. 5. Модель повторного синтеза транскриптов РНК-полимеразой III (Пол-III), основанная на рециркуляции фермента в пределах одной и той же матрицы.

VI. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ III И ЕЕ КООРДИНАЦИЯ С ДРУГИМИ РНК-ПОЛИМЕРАЗАМИ

Важным аспектом регуляции процессов роста и развития на уровне транскрипции является координация синтеза различных типов РНК в живой клетке. Совместные регуляторные механизмы существуют уже хотя бы в силу эволюционной консервативности трех ядерных РНК-полимераз, имеющих в своем составе ряд идентичных (общих) субъединиц. Кроме того, на стадии инициации при формировании всех трех инициаторных комплексов важную роль играет белок ТВР. Другим интересным примером родства ферментов II и III является тот факт, что РС4 и топоизомераза I, широко известные коактиваторы РНК-полимеразы II, участвуют также в функционировании фактора инициации РНК-полимеразы III ТФПИС [121]. Недавно стало известно, что в человеческих клетках линии HeLa негативным регулятором активности гетеродимерного фактора элонгации РНК-полимеразы II Р-TEFb, состоящего из киназы Cdk9 STD-домена субъединицы RPB1 и одного из нескольких циклинов (T1, T2 или K), является малая ядерная РНК 7SK, синтезируемая, как полагают, РНК-полимеразой III [88, 126].

Еще более документирована, особенно для *S. cerevisiae*, координация активностей РНК-полимераз I и III. Так, в штаммах дрожжей, мутантных по субъединице RPC1 (RPC160) РНК-полимеразы III, резко понижался как синтез тРНК, так и больших рибосомных РНК, а в штамме, дефектном по субъединице RPA1 (RPA190) наблюдали не только пониженный уровень 25S, 18S и 5.8S рРНК, но и накопление незрелых пре-тРНК, что указывает на нарушение их процессинга, контролируемого транскриптами РНК-полимеразы III [24]. Помимо общего влияния на процесс синтеза белка, как это имеет место в случае *S. cerevisiae*, в клетках человека координация синтеза

тРНК и рРНК на разных стадиях клеточного цикла важна также для предотвращения вирусных инфекций и канцерогенеза. Показано, что ингибирующий эффект на активность РНК-полимераз I и III имеют такие плейотропные супрессоры онкогенов, как фактор ретинобластомы RB и белок p53. Особенно ярко это продемонстрировано именно для РНК-полимеразы III. И RB, и p53 взаимодействуют со специфическими для этого фермента факторами инициации: RB (в нефосфорилированной форме) – с hTFIIIB, hTFIIIC2 и двумя субъединицами SNAPc, p53 – с hBRF и TBP [47].

VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в понимании фундаментальных аспектов транскрипции генов эукариотических организмов.

Аппарат транскрипции РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* включает в себя 27 полипептидов, причем все (!) они абсолютно необходимы для жизнедеятельности дрожжевой клетки [30, 101]. Изучение белок-белковых контактов пролило свет как на процесс взаимодействия факторов транскрипции с субъединицами РНК-полимеразного комплекса, так и на взаиморасположение субъединиц РНК-полимеразы III в составе фермента. Однако, до сих пор нет детального понимания того, как происходит транскрипция на матрицах в составе хроматина, все еще не разработана подробная динамическая модель процесса транскрипции эукариотических генов от инициации до терминации. Также не ясно, что происходит внутри элонгационного комплекса при попадании его в сайты терминации и что вызывает высвобождение РНК-транскрипта и диссоциацию РНК-полимеразы с матрицы. Нет данных и о функциях некоторых специфических субъединиц РНК-полимеразы III. Ответы на эти вопросы предстоит найти в ближайшем будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Прошкина Г.М., Шпаковский Г.В. (2002) Структурно-функциональная характеристика компонентов РНК-полимеразы III *Schizosaccharomyces pombe*. Тезисы докладов VI чтений, посвященных памяти академика Ю.А.Овчинникова (Москва–Пушино, 25 ноября – 2 декабря 2002 г.). 61.
2. Шематорова Е.К. (2001) Структурная и функциональная характеристика генов, кодирующих субъединицы РНК-полимеразы I делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М.: ИБХ РАН. 132 с.

3. Шематорова Е.К., Шпаковский Г.В. (2002) Молек. биология, **36**, № 1, 3–26.
4. Шпаковский Г.В. (2001) Много-субъединичные РНК-полимеразы: единство в разнообразии. Тезисы докладов и стендовых сообщений международной конференции «Молекулярные механизмы генетических процессов и биотехнология» (Москва–Минск, 18–24 ноября 2001 г.), 194–195.
5. Шпаковский Г.В. (2002) Структурно-функциональная консервативность и взаимодействие основных компонентов ядерных РНК-полимераз I, II и III эукариот. Диссертация в виде научного доклада на соискание ученой степени доктора биологических наук. М.: ИБХ РАН. 2002. 50 с.
6. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. (1996) Биоорг. химия, **22**, № 12, 938–940.
7. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. (1997) Биоорг. химия, **23**, № 5, 441–448.
8. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. (1997) Цитология, **39**, № 1, 122–123.
9. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. (1998) Биоорг. химия, **24**, № 11, 877–880.
10. Шпаковский Г.В., Баранова Г.М. (1999) Биоорг. химия, **25**, № 12, 938–942.
11. Шпаковский Г.В., Шематорова Е.К. (1999) Биоорг. химия, **25**, № 10, 791–796.
12. Andrau J.C., Sentenac A., Werner M. (1999) J. Mol. Biol., **288**, 511–520.
13. Andrews M.T., Brown D.D. (1987) Cell, **51**, 445–453.
14. Archambault J., Milne C.A., Schappert K.T., Baum B., Friesen J.D., Segall J. (1992) J. Biol. Chem., **267**, 3282–3288.
15. Archambault J., Schappert K.T., Friesen J.D. (1990) Mol. Cell. Biol., **10**, 6123–6131.
16. Arrebola R., Manaud N., Rozenfeld S., Marsolier M.C., Lefebvre O., Carles C., Thuriaux P., Conesa C., Sentenac A. (1998) Mol. Cell. Biol., **18**, 1–9.
17. Bardeleben C., Kassavetis G.A., Geiduschek E.P. (1994) J. Mol. Biol., **235**, 1193–1205.
18. Bark C., Weller P., Zabielski J., Janson L., Pettersson U. (1987) Nature, **328**, 356–359.
19. Bartholomew B., Kassavetis G.A., Braun B.R., Geiduschek E.P. (1990) EMBO J., **9**, 2197–2205.
20. Bartholomew B., Kassavetis G.A., Geiduschek E.P. (1991) Mol. Cell. Biol., **11**, 5181–5189.
21. Bhargava P., Kassavetis G.A. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 26550–26556.
22. Braun B.R., Bartholomew B., Kassavetis G.A., Geiduschek E.P. (1992) J. Mol. Biol., **228**, 1063–1077.
23. Braun B.R., Kassavetis G.A., Geiduschek E.P. (1992) J. Biol. Chem., **267**, 22562–22569.
24. Briand J.F., Navarro F., Gadal O., Thuriaux P. (2001) Mol. Cell. Biol., **21**, 189–195.
25. Briand J.F., Navarro F., Rematier P., Boschiero C., Labarre S., Werner M., Shpakovski G.V., Thuriaux P. (2001) Mol. Cell. Biol., **21**, 6056–6065.
26. Brun I., Sentenac A., Werner M. (1997) EMBO J., **16**, 5730–5741.
27. Carbon P., Krol A. (1991) EMBO J., **10**, 599–606.
28. Carbon P., Murgo S., Ebel J.P., Krol A., Tebb G., Mattaj L.W. (1987) Cell, **51**, 71–79.
29. Carles C., Riva M. (199) In Transcription of Ribosomal RNA Genes by Eukaryotic RNA Polymerase I. Ed. Paule M.R., Springer Verlag, Berlin, Germany, 1998, 9–38.
30. Chedin S., Ferri M.L., Peyroche G., Andrau J.C., Jourdain S., Lefebvre O., Werner M., Carles C., Sentenac A. (1998) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **63**, 381–389.
31. Chedin S., Riva M., Schultz P., Sentenac A., Carles C. (1998) Genes Dev., **12**, 3857–3871.
32. Ciliberto G., Rauei G., Costanzo F., Dente L., Cortese R. (1983) Cell, **2**, 725–733.

33. Cramer P., Bushnell D.A., Fu J., Gnatt A.L., Maier-Davis B., Thompson N.E., Burgess R.R., Edwards A.M., David P.R., Kornberg R.D. (2000) *Science*, **288**, 640–649.
34. Cramer P., Bushnell D.A., Kornberg R.D. (2001) *Science*, **292**, 1863–1876.
35. Das G., Henning D., Wright D., Reddy R. (1988) *EMBO J.*, **7**, 503–512.
36. Dean N., Berk A.J. (1988) *Mol. Cell. Biol.*, **8**, 3017–3025.
37. Deprez E., Arrebola R., Conesa C., Sentenac A. (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 8042–8051.
38. Dieci G., Hermann-Le Denmat S., Lukhtanov E., Thuriaux P., Werner M., Sentenac A. (1995) *EMBO J.*, **14**, 3766–3776.
39. Dieci G., Sentenac A. (1996) *Cell*, **84**, 245–252.
40. Dumay H., Rubbi L., Sentenac A., Marck C. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 33462–33468.
41. Engelke D.R., Ng S.Y., Shastry B.S., Roeder R.G. (1980) *Cell*, **19**, 717–728.
42. Ferri M.L., Peyroche G., Siaut M., Lefebvre O., Carles C., Conesa C., Sentenac A. (2000) *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 488–495.
43. Flores A., Briand J.F., Gadal O., Andrau J.C., Rubbi L., Van Mullem V., Boschiero C., Goussot M., Marck C., Carles C., Thuriaux P., Sentenac A., Werner M. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 7815–7820.
44. Ford E., Hernandez N (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 16048–16055.
45. Foster M.P., Wuttke D.S., Radhakrishnan I., Case D.A., Gottesfeld J.M., Wright P.E. (1997) *Nat. Struct. Biol.*, **4**, 605–608.
46. Gadal O., Shpakovski G.V., Thuriaux P. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 8421–8427.
47. Geiduschek E.P., Kassavetis G.A. (2001) *J. Mol. Biol.*, **310**, 1–26.
48. Ginsberg A.M., King B.O., Roeder R.G. (1984) *Cell*, **39**, 479–489.
49. Howe J.G., Shu M.D. (1989) *Cell*, **57**, 825–834.
50. Hsieh Y.J., Kundu T.K., Wang Z., Kovelman R., Roeder R.G. (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 7697–7704.
51. Hsieh Y.J., Wang Z., Kovelman R., Roeder R.G. (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 4944–4952.
52. Hu P. Wu S. Sun Y. Yuan C.C., Kobayashi R., Myers M.P., Hernandez N. (2002) *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 8044–8055.
53. Jin D.J., Turnbough C. (1994) *J. Mol. Biol.*, **236**, 72–80.
54. Kassavetis G.A., Bartholomew B., Blanco J.A., Johnson T.E., Geiduschek E.P. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 7308–7312.
55. Kassavetis G.A., Blanco J.A., Johnson T.E., Geiduschek E.P. (1992) *J. Mol. Biol.*, **226**, 47–58.
56. Kassavetis G.A., Braun B.R., Nguyen L.H., Geiduschek E.P. (1990) *Cell*, **60**, 235–245.
57. Kassavetis G.A., Kumar A., Letts G.A., Geiduschek E.P. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 9196–9201.
58. Kayukawa K., Makino Y., Yagosawa S., Tamura T. (1999) *Gene*, **234**, 139–147.
59. Kim T.K., Lagrange T., Wang Y.H., Griffith J.D., Reinberg D., Ebright R.H. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 12268–12273.
60. Krapp S., Kelly G., Reischl J., Weinzierl R.O., Matthews S. (1998) *Nat. Struct. Biol.*, **5**, 110–114.
61. Kumar A., Kassavetis G.A., Geiduschek E.P., Hambalko M., Brent C.J. (1997) *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 1868–1880.
62. Kundu T.K., Wang Z., Roeder R.G. (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 1605–1615.
63. Kunkel G.R., Pederson T. (1988) *Genes Dev.*, **2**, 196–204.
64. Kunkel G.R., Pederson T. (1989) *Nucleic Acids Res.*, **17**, 7371–7379.
65. Lagna G., Kovelman R., Sukegawa J., Roeder R.G. (1994) *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 3053–3064.
66. Lalo D., Carles C., Sentenac A., Thuriaux P. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 5524–5528.

67. Langer D., Hain J., Thuriaux P., Zillig W. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **92**, 5768–5772.
68. Lee Y., Erkine A.M., Van Ryk D.I., Nazar R.N. (1995) Nucleic Acids Res., **23**, 634–640.
69. Lee T.I., Young R.A. (2000) Annu. Rev. Genet., **34**, 77–137.
70. L'Etoile N.D., Fahnestock M.L., Shen Y., Aebersold R., Berk A.J. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **91**, 1652–166.
71. Lin Y., Nomura T., Cheong J., Dorjsuren D., Iida K., Murakami S. (1997) J. Biol. Chem., **272**, 7132–7139.
72. Lobo S.M., Hernandez N. (1989) Cell, **58**, 55–67.
73. Mann C., Micouin J.Y., Chiannilkulchai N., Treich I., Buhler J.M., Sentenac A. (1992) Mol. Cell. Biol., **12**, 4314–4326.
74. Marck C., Lefebvre O., Carles C., Riva M., Chaussivert N., Ruet A., Sentenac A. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **90**, 4027–4031.
75. Maraia R.J. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **93**, 3383–3387.
76. Maraia R.J., Kenan D.J., Keene J.D. (1994) Mol. Cell. Biol., **14**, 2147–2158.
77. Margottin F., Dujardin G., Gerard M., Egly J.M., Huet J., Sentenac A. (1991) Science, **251**, 424–426.
78. Mattaj J.W., Dathan N.A., Parry H.D., Carbon P., Krol A. (1988) Cell, **55**, 435–442.
79. Matsuzaki H., Kassavetis G.A., Geiduschek E.P. (1994) J. Mol. Biol., **235**, 1173–1192.
80. Miller J., McLachlan A.D., Klug A. (1985) EMBO J., **4**, 1609–1614.
81. Minakhin L., Bhagat S., Brunning A., Campbell E.A., Darst S.A., Ebright R.H., Severinov K. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 892–897.
82. Mittal V., Cleary M.A., Herr W., Hernandez N. (1996) Mol. Cell. Biol., **16**, 1955–1965.
83. Mittal V., Ma B., Hernandez N. (1999) Genes Dev., **13**, 1807–1821.
84. Miyao T., Honda A., Qu Z., Ishihama A. (1998) Mol. Gen. Genet., **259**, 123–129.
85. Miyao T., Woychik N.A. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **95**, 15281–15286.
86. Murphy S., Di Liegro C., Melli M. (1987) Cell, **51**, 81–7.
87. Mustaev A., Kashlev M., Lee J.Y., Polyakov A., Lebedev A., Zalenskaya K., Grachev M., Goldfarb A., Nikiforov V. (1991) J. Biol. Chem., **266**, 23927–23931.
88. Nguyen V.T., Kiss T., Michels A.A., Bensaude O. (2001) Nature, **414**, 322–325.
89. Nolte R.T., Conlin R.M., Harrison S.C., Brown R.S. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **95**, 2938–2943.
90. Oettel S., Hartel F., Kober I., Iben S., Seifart K.H. (1997) Nucleic Acids Res., **25**, 2440–2447.
91. Pelham H.R., Brown D.D. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**, 4170–4174.
92. Picard B., Wegnez M. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76**, 241–245.
93. Reines D. (1998) In Transcription: Mechanisms and Regulations. Ed. R.C. Conoway and J.W. Conoway. Raven Press, New York, NY, 263–278.
94. Rollins M.B., Del Rio S., Galey A.L., Setzer D.R., Andrews M.T. (1993) Mol. Cell. Biol., **13**, 4776–4783.
95. Rubbi L., Labarre-Mariotte S., Chedin S., Thuriaux P. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 31485–31492.
96. Sadhale P.P., Woychik N.A. (1994) Mol. Cell. Biol., **14**, 6164–6170.
97. Sakurai H., Mitsuzawa H., Kimura M., Ishihama A. (1999) Mol. Cell. Biol., **19**, 7511–7518.
98. Schaller S., Grandemange S., Shpakovski G.V., Golemis E.A., Kedinger C., Vigneron M. (1999) FEBS Lett., **461**, 253–257.
99. Schramm L., Pendergrast P.S., Sun Y., Hernandez N. (2000) Genes Dev., **14**, 2650–2663.
100. Schultz P., Marzouki N., Marck C., Ruet A., Oudet P., Sentenac A. (1989) EMBO J., **8**, 3815–3824.

101. *Sentenac A., Carles C., Conesa C., Werner M.* (1999) In *Transcription Regulation in Eukaryotes*. Eds. P. Chambon, T. Fukasawa et al. Human Frontier Workshop VII. HFSP, Strasbourg, France, 183–192.
102. *Sentenac A., Riva M., Thuriaux P., Buhler J.-M., Treich I., Carles C., Werner M., Ruet A., Huet J., Mann C., Chiannikulchai N., Stettler S., Mariotte S.* (1992) In *Transcriptional Regulation*. Eds. S.L. McKnight, K.R. Yamamoto. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY., 27–54.
103. *Sharp S.J., Garcia A.D.* (1988) *Mol. Cell. Biol.*, **8**, 1266–1274.
104. *Shpakovski G.V., Acker J., Wintzerith M., Lacroix J.F., Thuriaux P., Vigneron M.* (1995) *Mol. Cell. Biol.*, **15**, 4702–4710.
105. *Siaut M., Zaros C., Levivier E., Ferri M.L., Court M., Werner M., Callebaut I., Thuriaux P., Sentenac A., Conesa C.* (2003) *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 195–205.
106. *Sikorski R.S., Boguski M.S., Goebel M., Hieter P.* (1990) *Cell*, **60**, 307–317.
107. *Sinn E., Wang Z., Kovelman R., Roeder R.G.* (1995) *Genes Dev.*, **9**, 675–685.
108. *Sprague K.U., Larson D., Morton D.* (1980) *Cell*, **22**, 171–178.
109. *Teichmann M., Dieci G., Huet J., Ruth J., Sentenac A., Seifart K.H.* (1997) *EMBO J.*, **16**, 4708–4716.
110. *Teichmann M., Seifart K.H.* (1995) *EMBO J.*, **14**, 5974–5983.
111. *Teichmann M., Wang Z., Roeder R.G.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 14200–1425.
112. *Thuillier V., Stettler S., Sentenac A., Thuriaux P., Werner M.* (1995) *EMBO J.*, **14**, 351–359.
113. *Todone F., Weinzierl R.O., Brick P., Onesti S.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 6306–6310.
114. *Treich I., Carles C., Sentenac A., Riva M.* (1992) *Nucleic Acids Res.*, **20**, 4721–4725.
115. *Treich I., Riva M., Sentenac A.* (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 21971–21976.
116. *Ullu E., Weiner A.M.* (1985) *Nature*, **318**, 371–374.
117. *Voutsina A., Riva M., Carles C., Alexandraki D.* (1999) *Nucleic Acids Res.*, **27**, 1047–1055.
118. *Wang Z., Bai L., Hsieh Y., Roeder R.* (2000) *EMBO J.*, **19**, 6823–6832.
119. *Wang Z., Roeder R.G.* (1996) *Mol. Cell. Biol.*, **16**, 6841–6850.
120. *Wang Z., Roeder R.G.* (1997) *Genes Dev.*, **11**, 1315–1326.
121. *Wang Z., Roeder R.G.* (1998) *Mol. Cell.*, **1**, 749–757.
122. *Wei W., Dorjsuren D., Lin Y., Qin W., Nomura T., Hayashi N., Murakami S.* (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 12266–12273.
123. *Werner M., Chaussivert N., Willis I.M., Sentenac A.* (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 20721–20724.
124. *Werner M., Hermann-Le Denmat S., Treich I., Sentenac A., Thuriaux P.* (1992) *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 1087–1095.
125. *Wong M.W., Henry R.W., Ma B., Kobayashi R., Klages N., Matthias P., Strubin M., Hernandez N.* (1998) *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 368–377.
126. *Yang Z., Zhu Q., Luo K., Zhou Q.* (2001) *Nature*, **414**, 317–322.
127. *Yee A., Booth V., Dharamsi A., Engel A., Edwards A.M., Arrowsmith C.H.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 6311–6315.
128. *Yoon J.B., Murphy S., Bai L., Wang Z., Roeder R.G.* (1995) *Mol. Cell. Biol.*, **15**, 2019–2027.
129. *Yoshinaga S.K., Boulanger P.A., Berk A.J.* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 3585–3589.
130. *Zaychikov E., Martin E., Denissova L., Kozlov M., Markovtsov V., Kashlev M., Heumann H., Nikiforov V., Goldfarb A., Mustaev A.* (1996) *Science*, **273**, 107–109.