



Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН

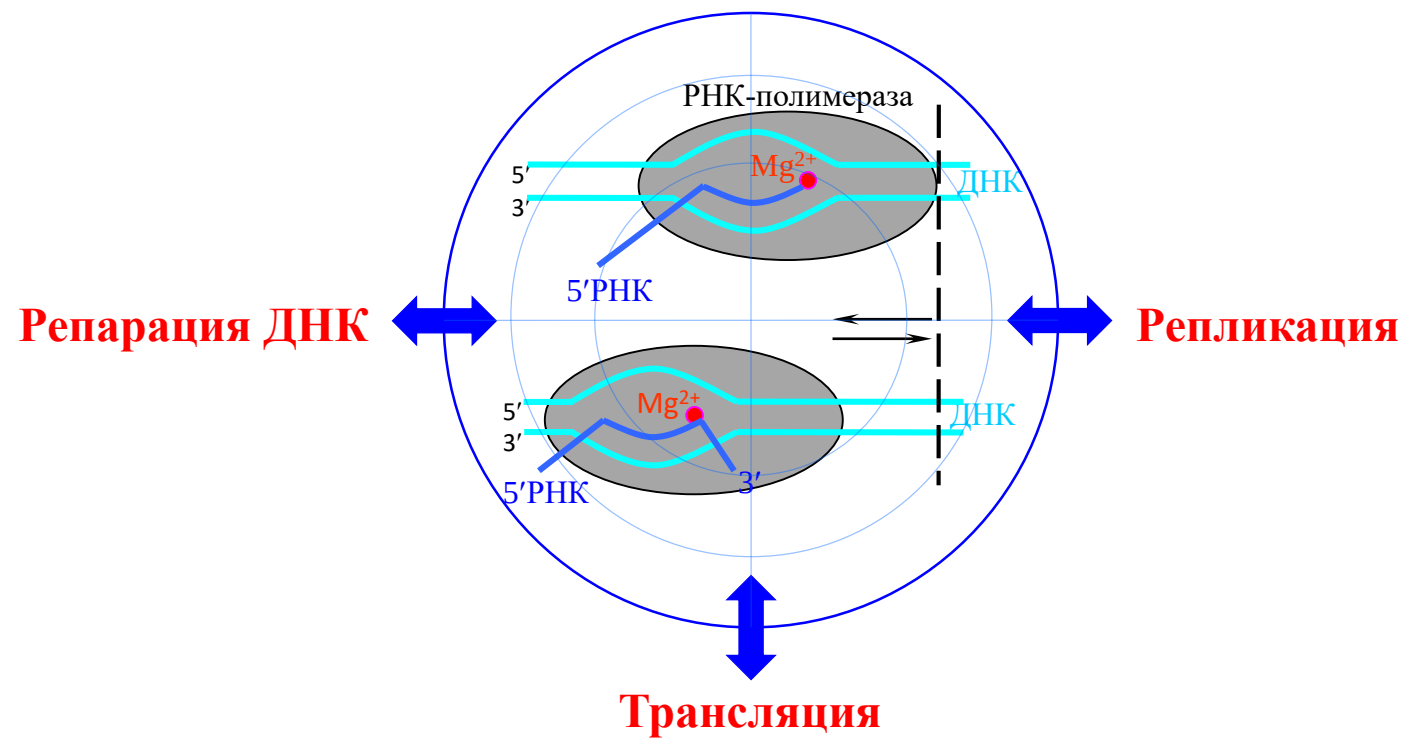


ГосНИИГенетика

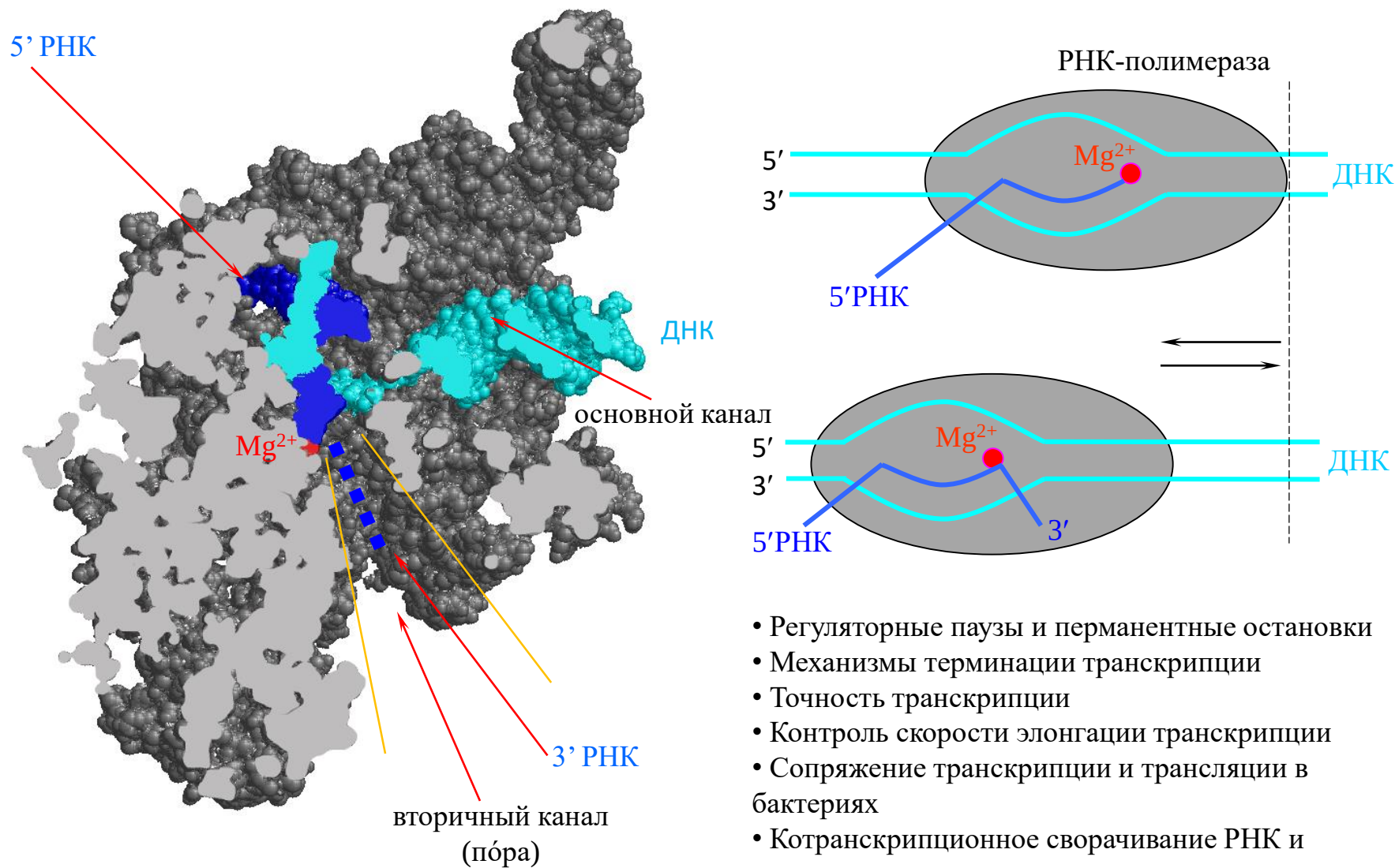
Структурные принципы координации транскрипции и репарации ДНК у бактерий

С.А. Прошкин, А.С.Миронов

**Элонгационный комплекс РНК-полимеразы является мишенью
для других молекулярных машин**

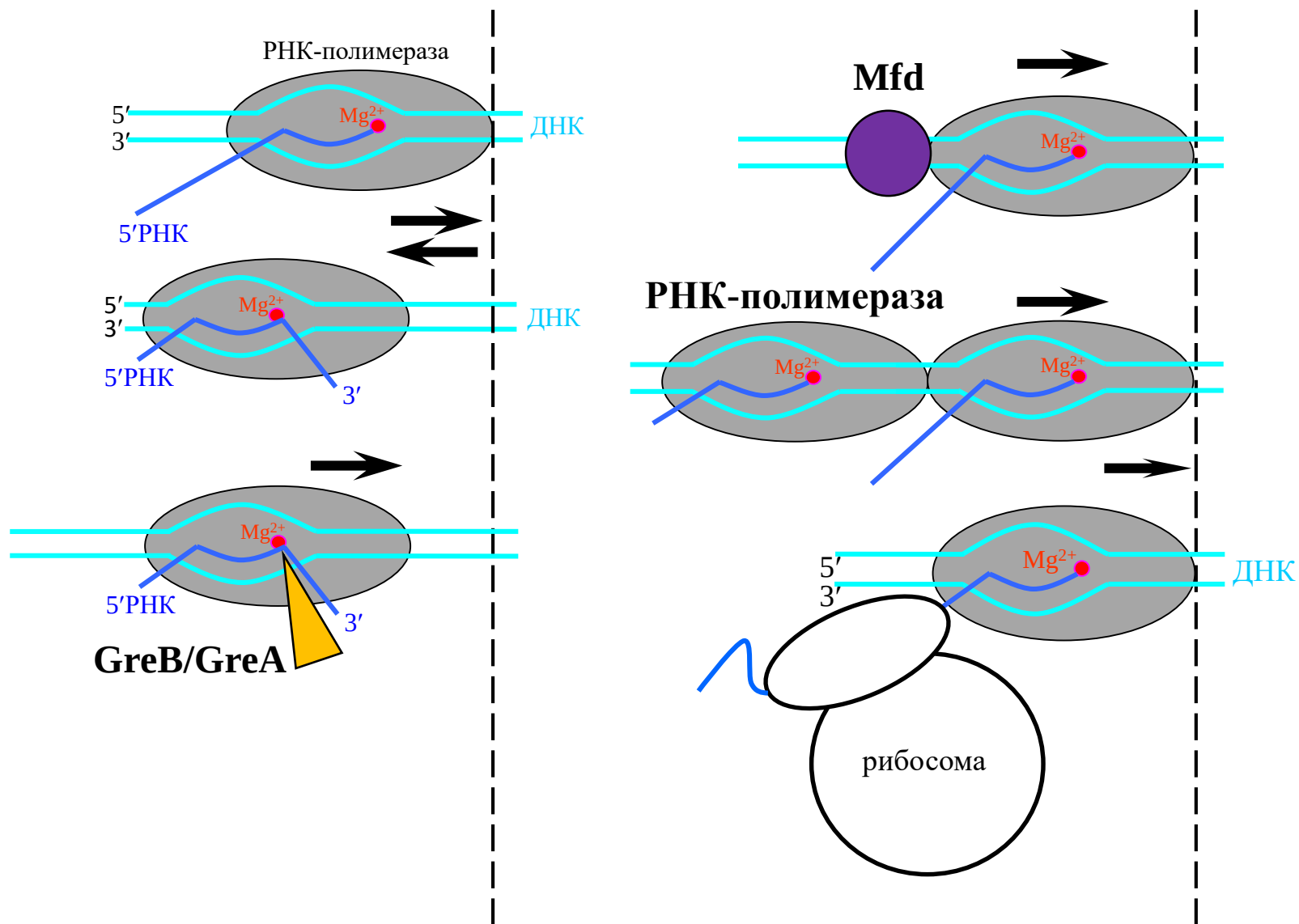


Возвратное смещение (backtracking) РНК-полимеразы во время элонгации транскрипции и его роль в клетке

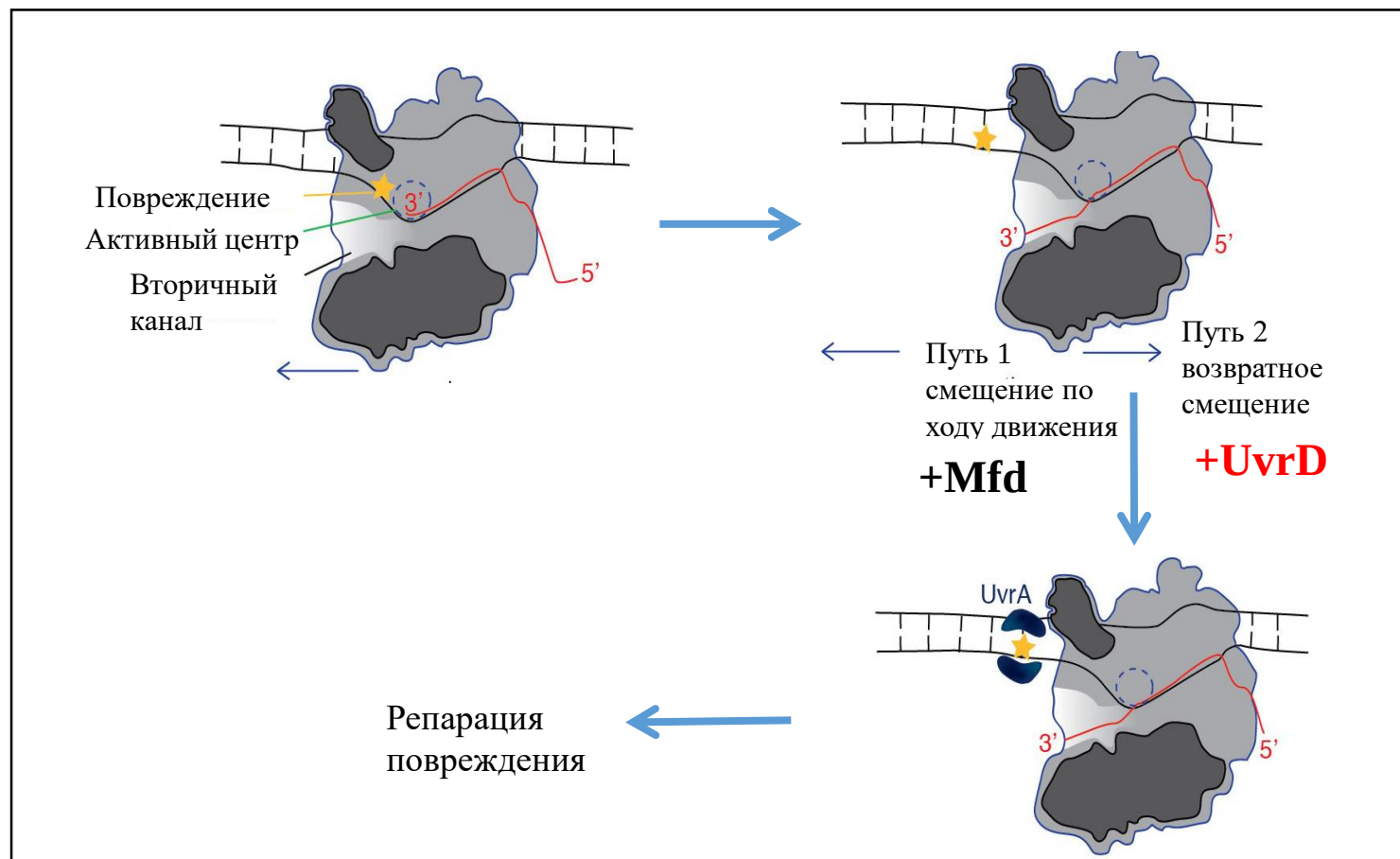


- Регуляторные паузы и перманентные остановки
- Механизмы терминации транскрипции
- Точность транскрипции
- Контроль скорости элонгации транскрипции
- Сопряжение транскрипции и трансляции в бактериях
- Котранскрипционное сворачивание РНК и процессинг
- Нестабильность генома
- Сопряжение транскрипции и репарации ДНК

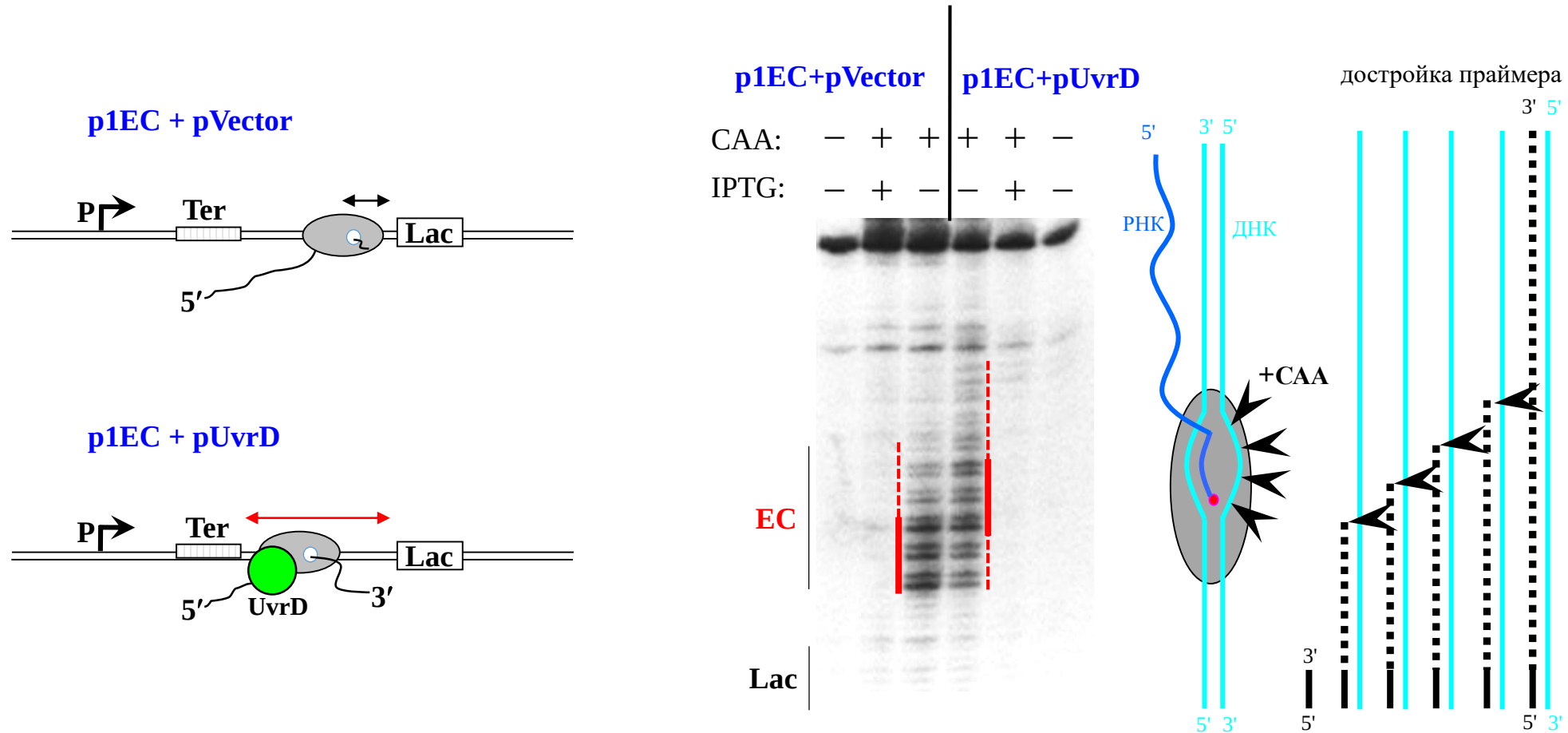
Факторы, влияющие на перманентную остановку (arrest) элонгационного комплекса РНК-полимеразы



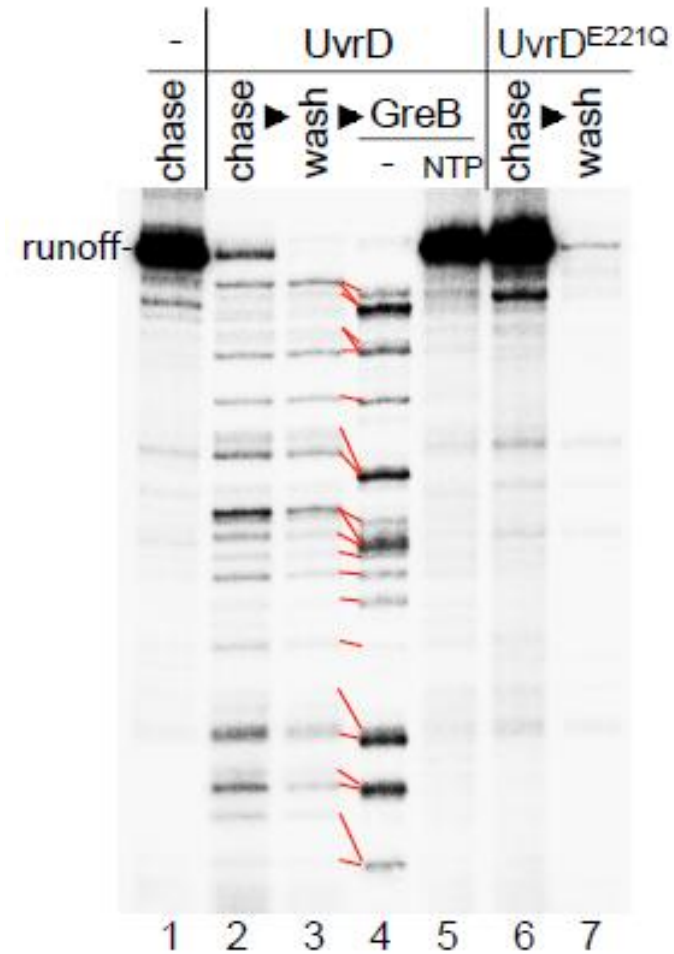
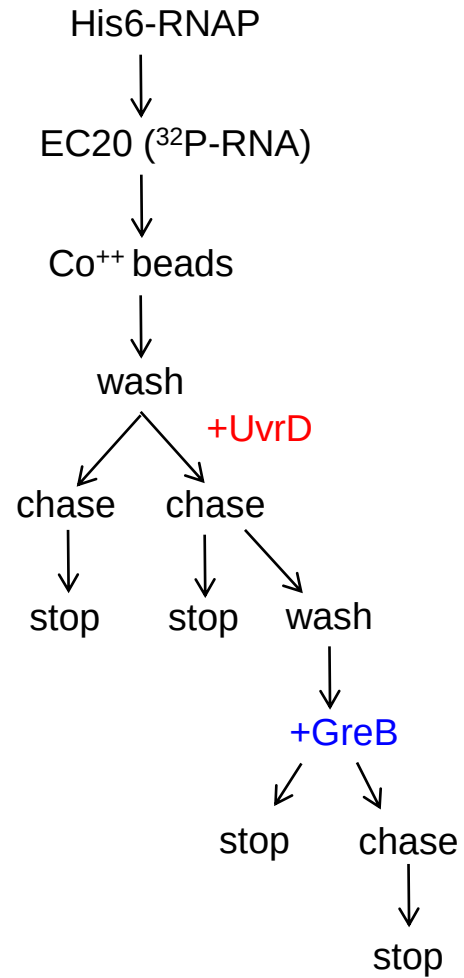
Сопряженная с транскрипцией репарация ДНК



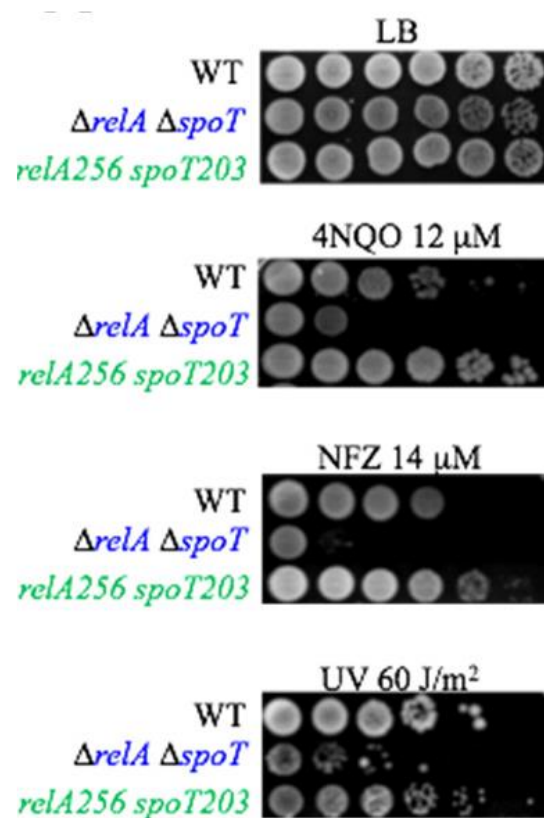
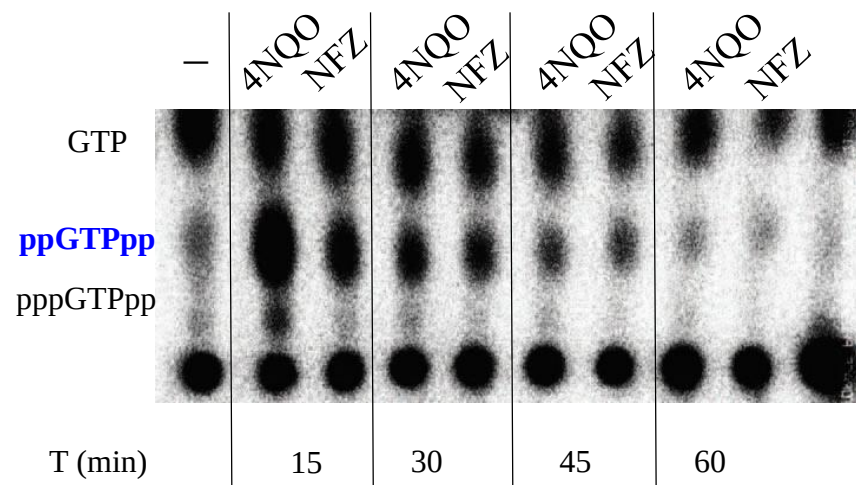
UvrD смещает РНК-полимеразу против хода транскрипции *in vivo*



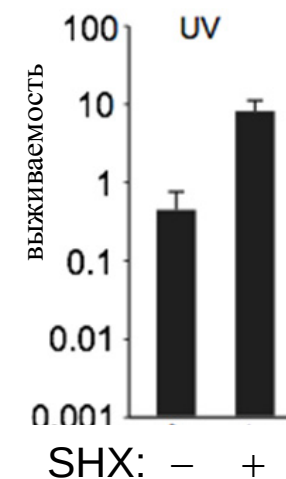
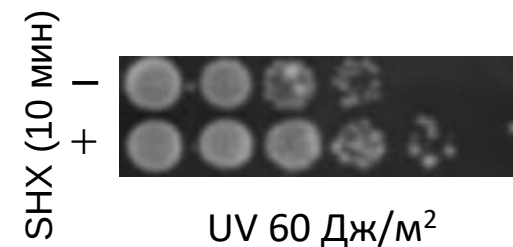
UvrD смещает РНК-полимеразу против хода транскрипции *in vitro*



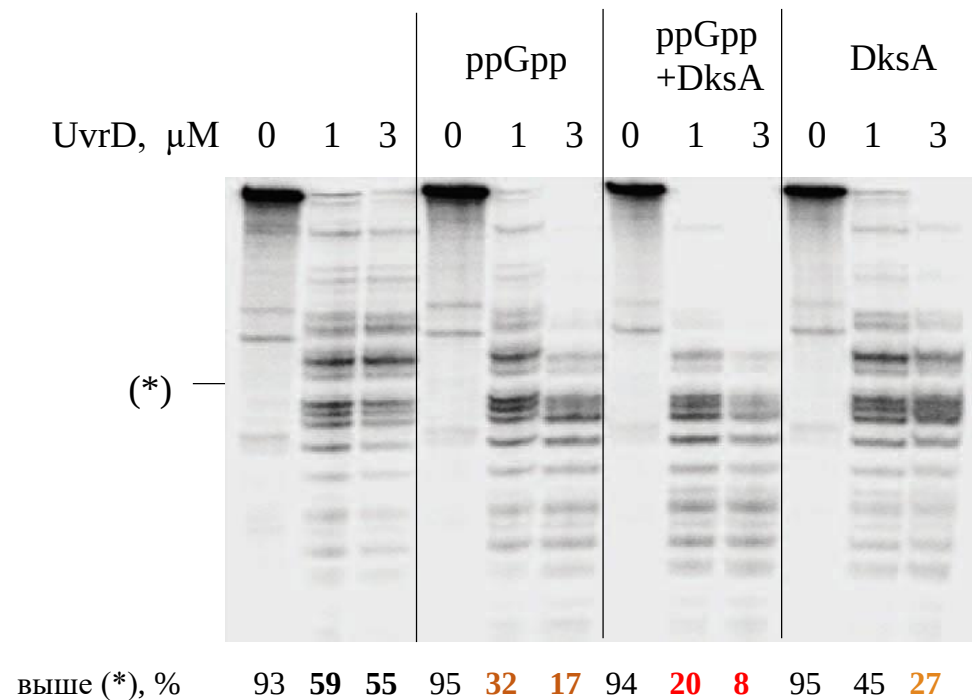
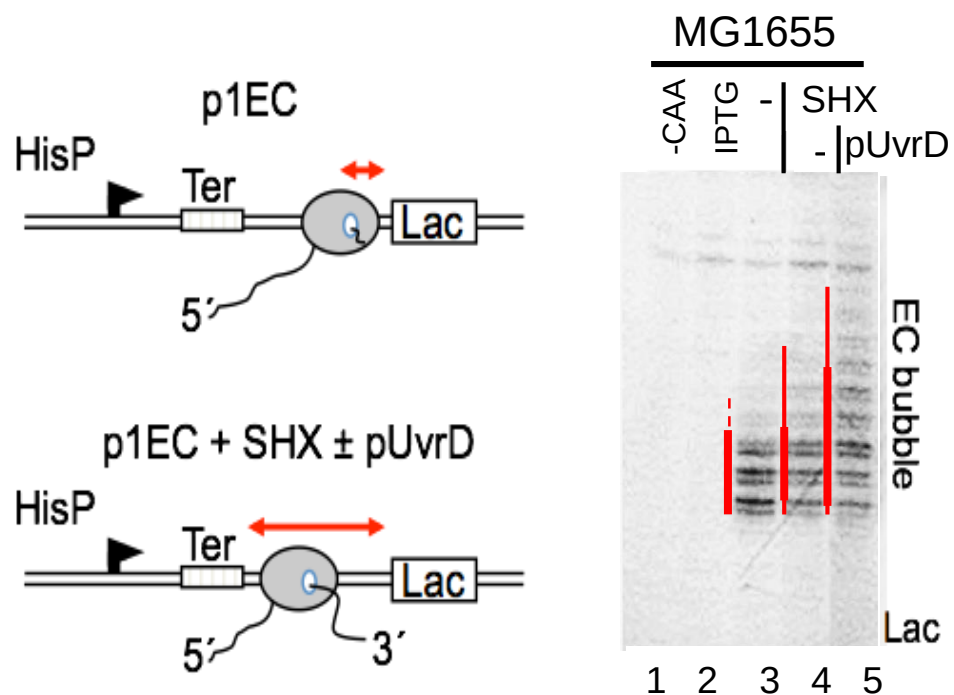
Выживание клеток *E.coli* после повреждения ДНК зависит от внутриклеточного уровня ppGpp: новая роль алармона



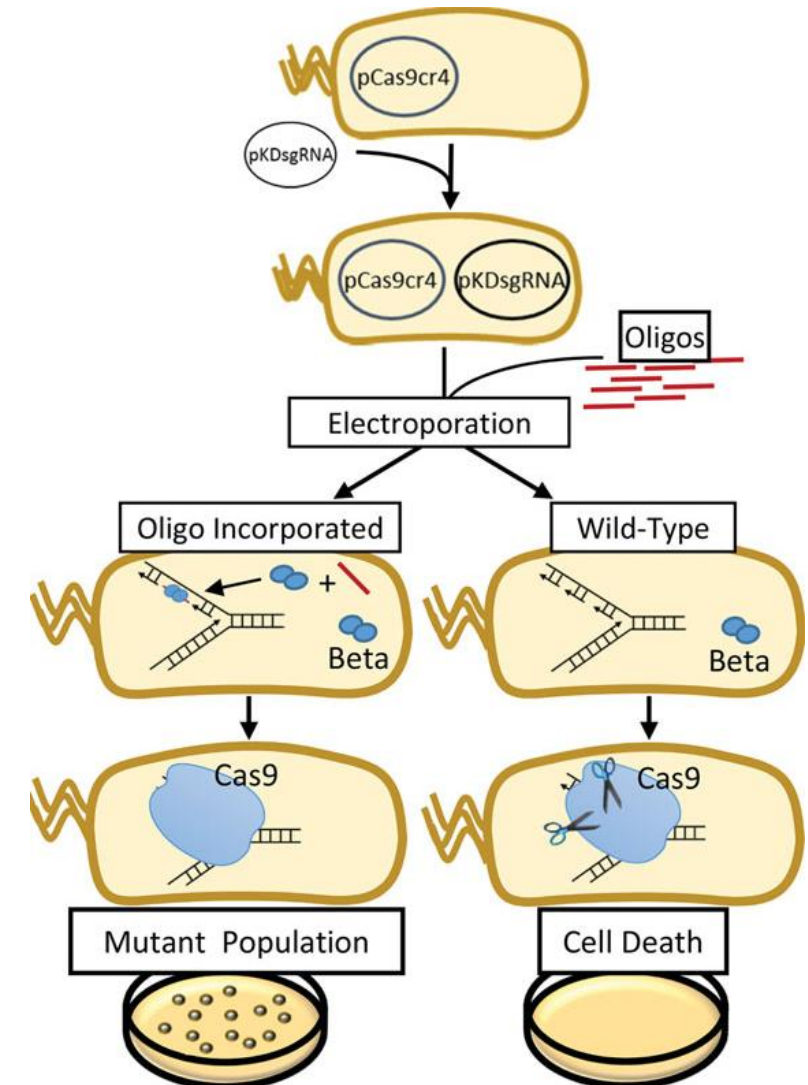
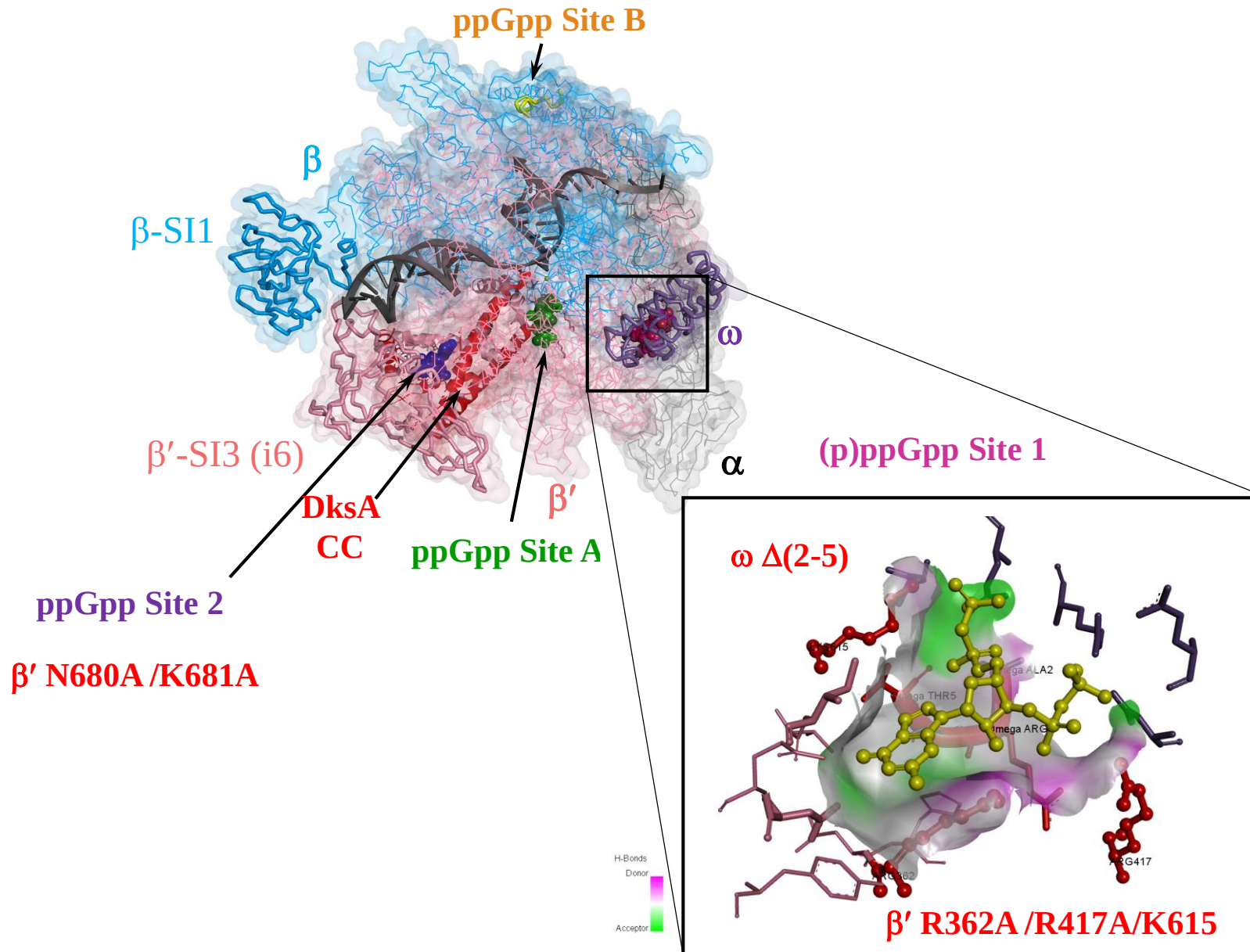
Индукция ppGpp делает клетки более устойчивыми к повреждению ДНК



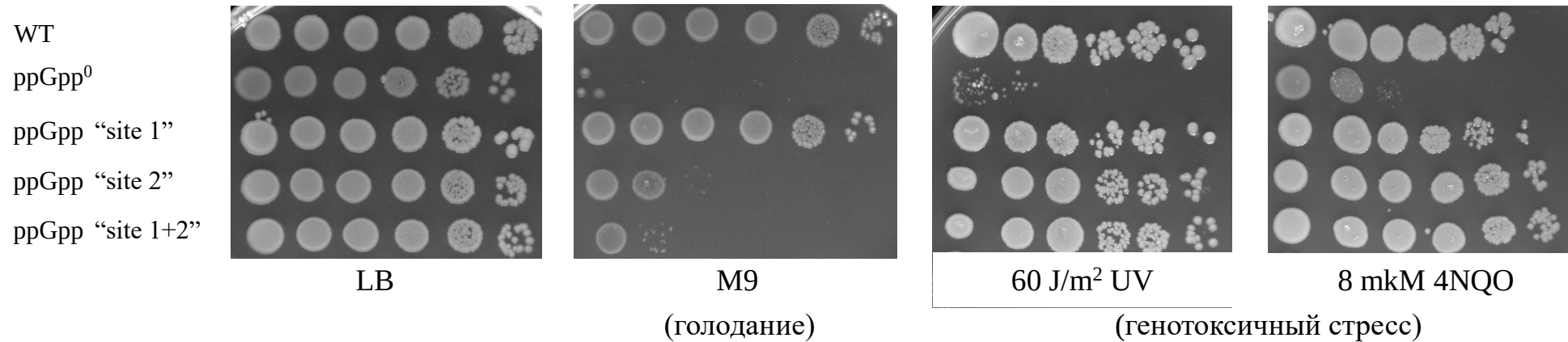
**ppGpp вместе с фактором UvrD облегчает смещение РНК-полимеразы (backtracking)
in vivo и *in vitro* и координирует транскрипцию с репарацией ДНК**



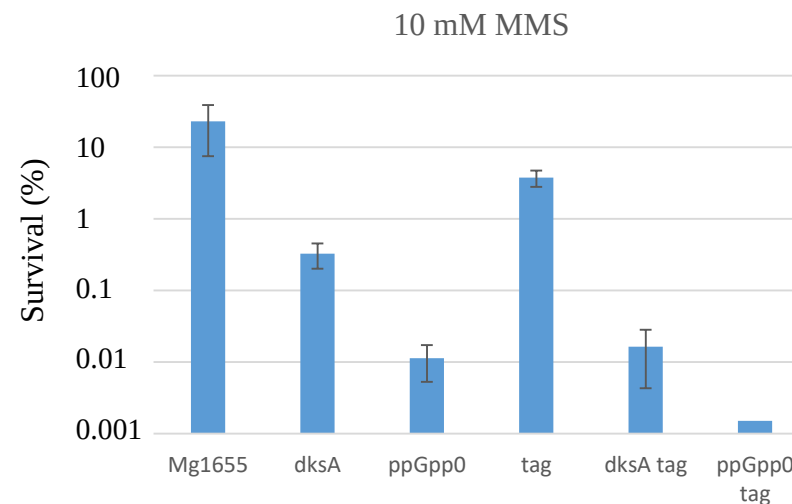
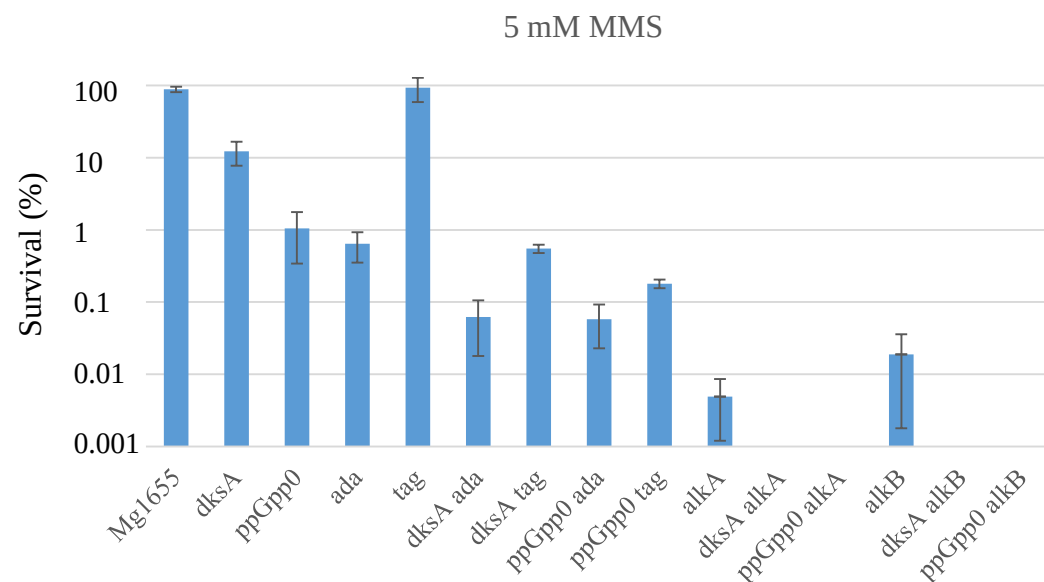
Сайты связывания ppGpp РНК-полимеразы: прецизионные аминокислотные замены



**Задействованные в регуляции инициации транскрипции сайты связывания ppGpp «1 и 2»
РНК-полимеразы не влияют чувствительность клеток к генотоксичным агентам**



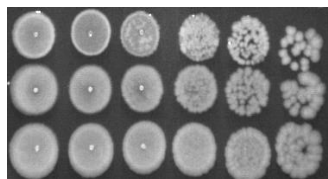
ppGpp и DksA также участвуют в альтернативном пути репарации ДНК через вырезание азотистых оснований



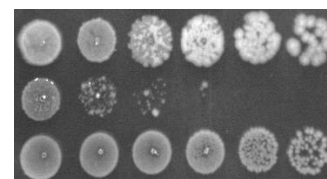
ΔrelA ΔspoT ΔgreAB

ΔrelA ΔspoT

wt



LB



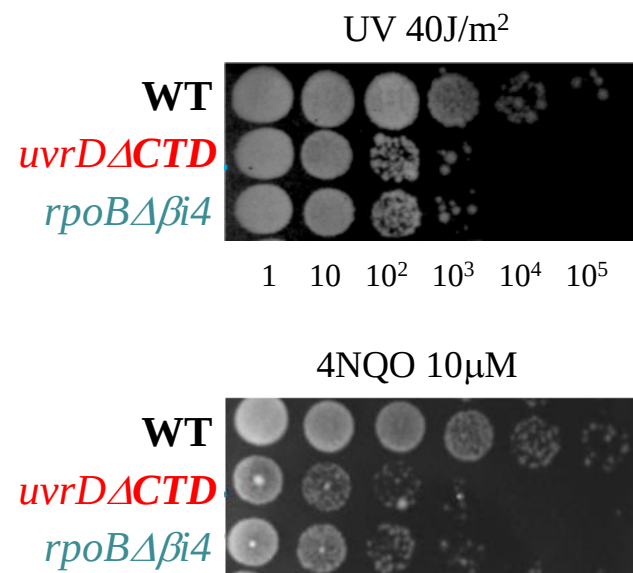
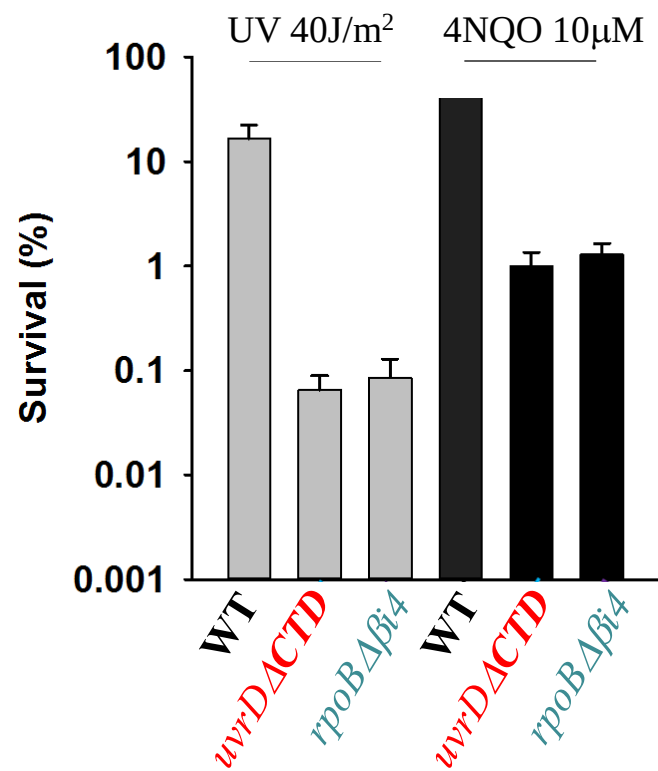
4mM MMS

РНК-полимеразы

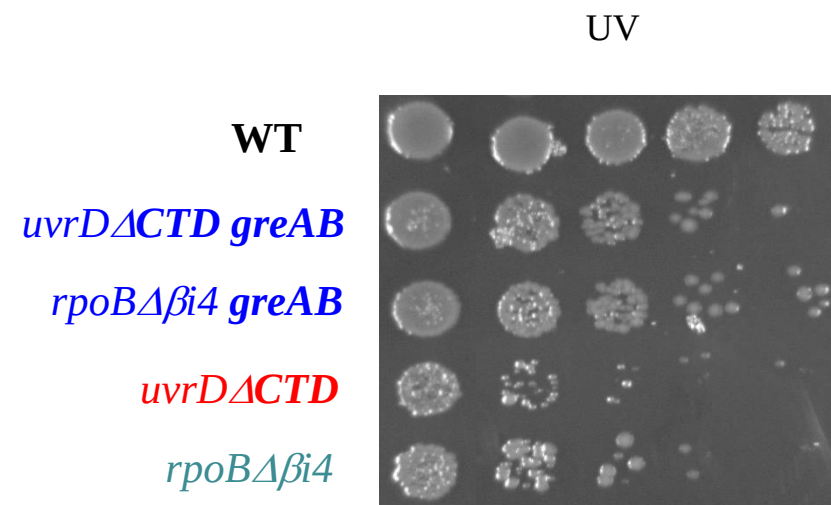
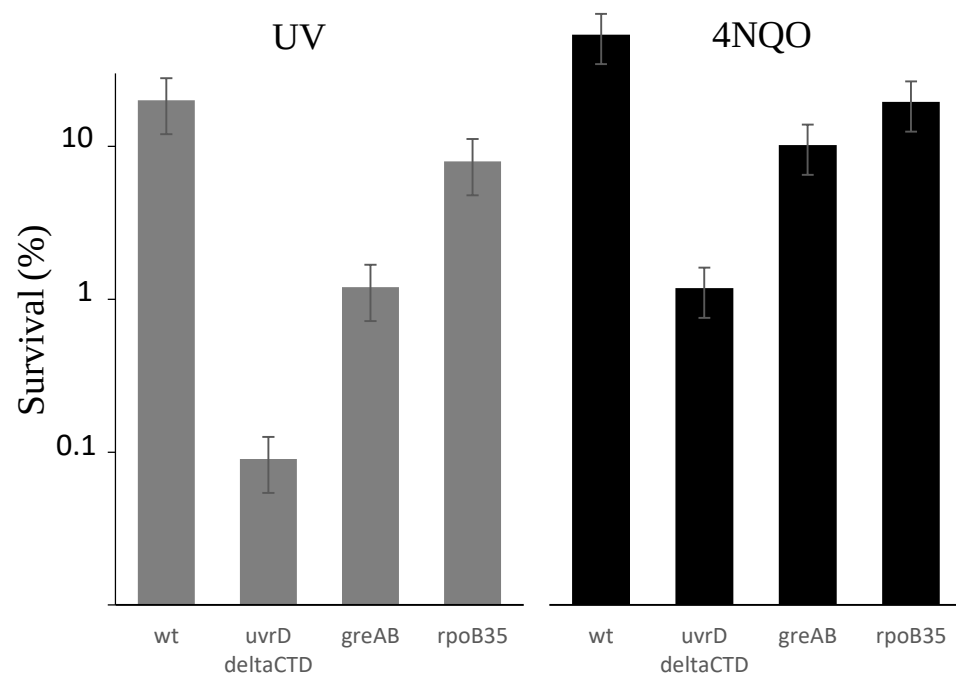


Наличие короткой инсерции в $\beta 1$ - домене РНК-полимеразы протеобактерий препятствует его связыванию с UvrD-CTD и объясняет, почему в протеобактериях UvrD-CTD взаимодействует только с доменом $\beta 2/\beta$ -i4

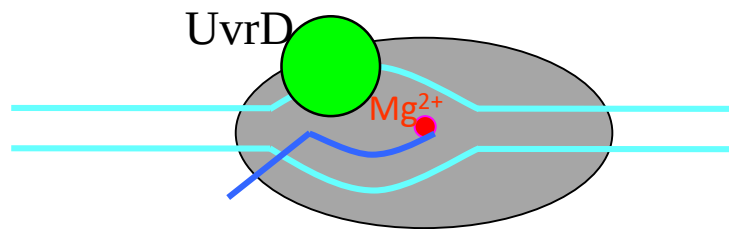
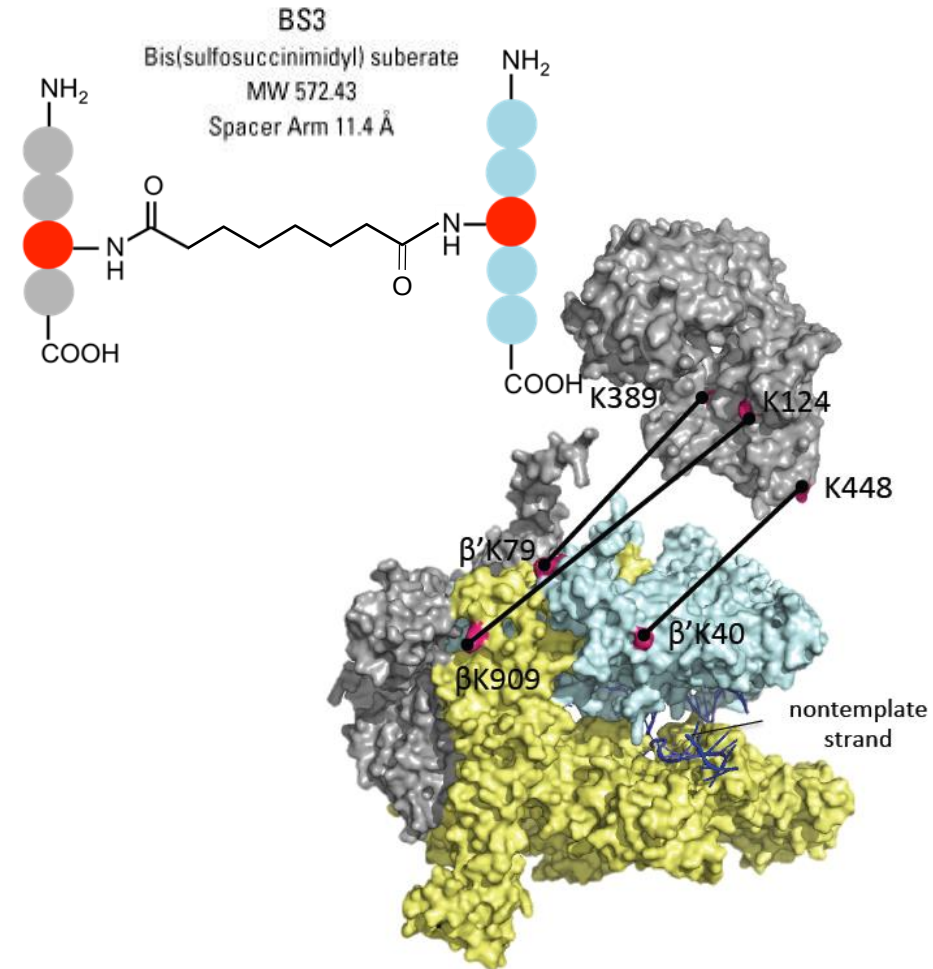
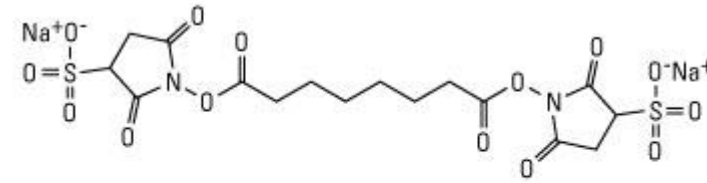
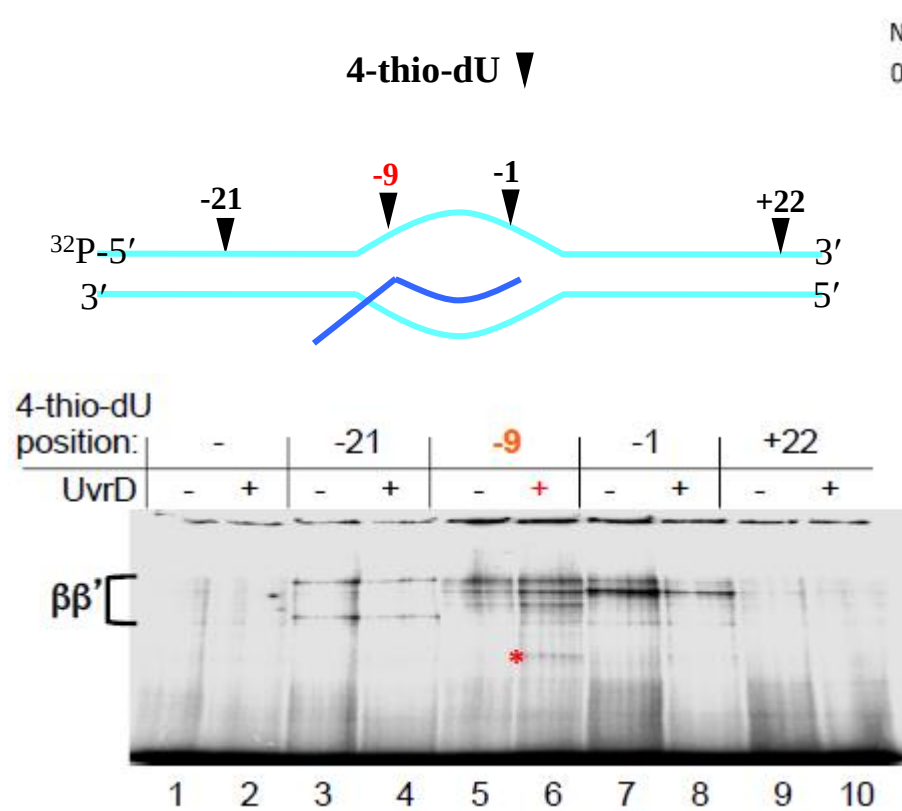
Взаимодействие UvrD-CTD с доменом $\beta 2/\beta$ -i4 РНК-полимеразы *E. coli* важно для устойчивости клеток к генотоксичным стрессам



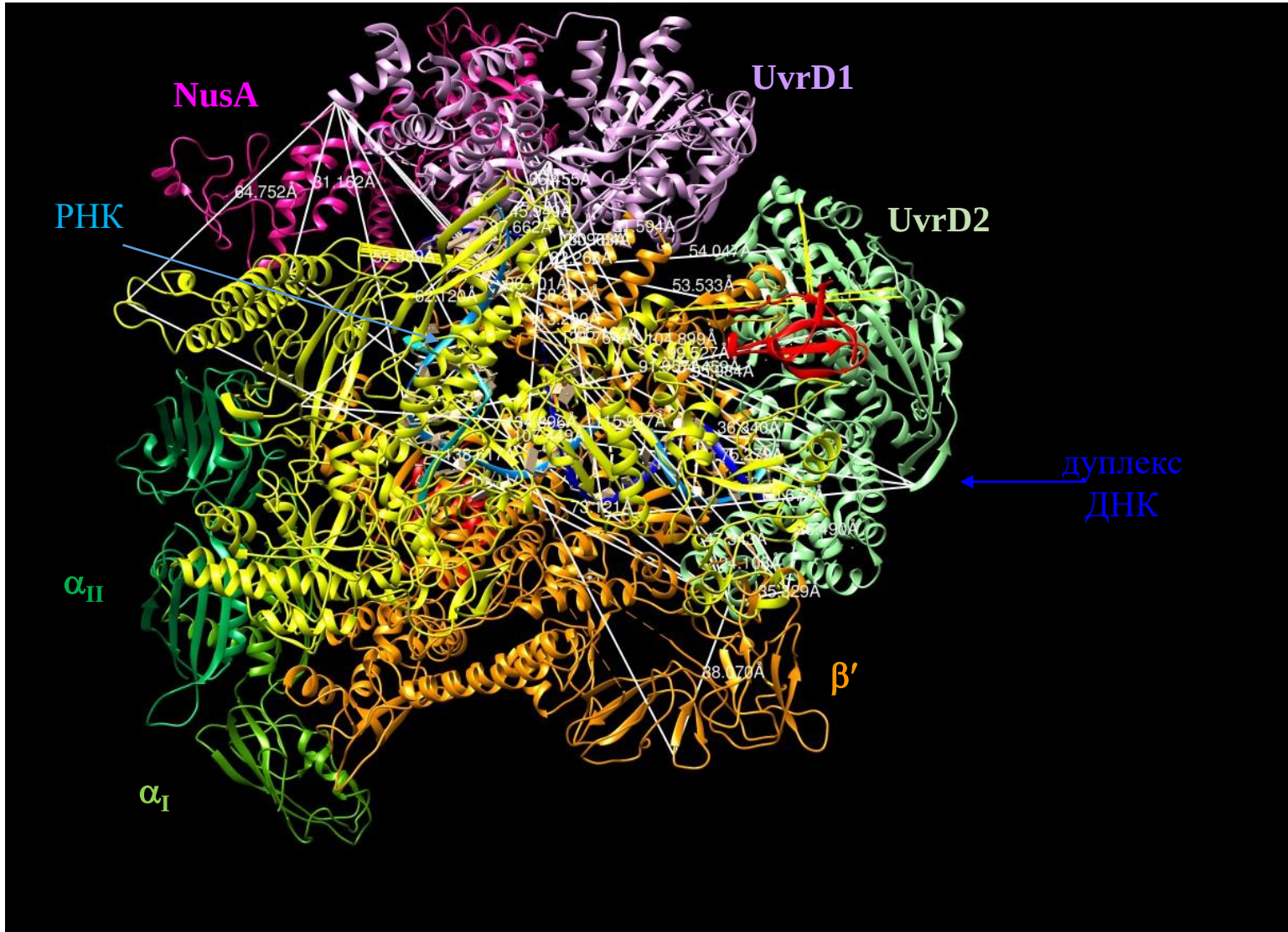
Частичная супрессия фенотипа *uvrD* Δ CTD в мутантах *greAB* или *rpoB35 *E. coli* подтверждает вклад отката РНК-полимеразы в репарацию ДНК при генотоксичном стрессе**



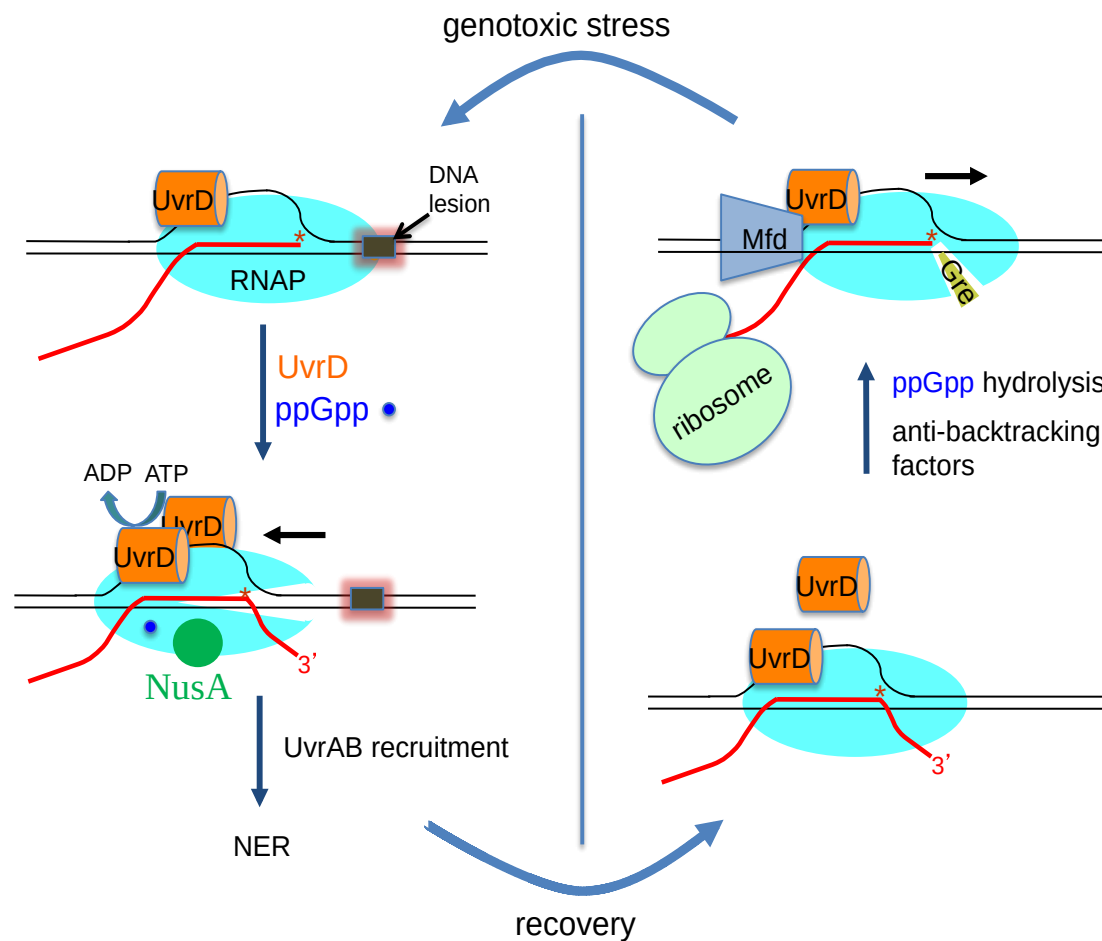
Взаимодействие UvrD с элонгационным комплексом РНК-полимеразы



Структурная модель элонгационного комплекса РНК-полимеразы с NusA и димером UvrD



Новый механизм сопряженной с транскрипцией репарации ДНК



Nature (2014) **505**, 372-377

Science (2016) **352**, 993-996

Science (2018) *in preparation*

- Предложен новый механизм репарации ДНК, основанный на смещении РНК-полимеразы против хода транскрипции при воздействии белковых факторов UvrD, NusA, DksA и сигнальной молекулы ppGpp.
- Установлено, что избирательное нарушение взаимодействия UvrD и РНК-полимеразы приводит к нарушению смещения элонгационного комплекса РНК-полимеразы и усилению чувствительности бактериальных штаммов к генотоксичным реагентам.
- Общий механизм UvrD-зависимого сопряжения транскрипции и репарации ДНК консервативен в различных видах бактерий: несмотря на эволюционные изменения, у прокариот сохраняется локализация UvrD в элонгационном комплексе РНК-полимеразы у верхнего края транскрипционного пузыря, такое взаимодействие необходимо для отката РНК-полимеразы и репарации ДНК.

ИМБ РАН/ ГосНИИгенетика

С.А. Прошкин

А.С. Миронов

NYU/ HHMI

V. Kamarthapu

V. Epshtein

V. Svetlov

E. Nudler