



首页

分院概况

研发机构

科教融合

院士之窗

科研服务平台

党建与创新文化

请输入关键字



要闻

科研进展

通知公告

工作动态

媒体聚焦

科技动态

专家视野

区域新政

首页 > 科研进展

Nature | 分子植物卓越中心揭示细菌固有转录终止的结构基础

文章来源: 分子植物科学卓越创新中心 | 发布时间: 2023-01-11 | 【打印】 【关闭】

2023年1月12日,中国科学院分子植物科学卓越创新中心合成生物学重点实验室张余研究团队和美国威斯康辛大学麦迪逊分校Robert Landick团队以及浙江大学冯钰团队合作在Nature上发表题为“Structural basis for intrinsic transcription termination”的研究论文,该研究捕获了细菌固有转录终止的中间状态冷冻电镜结构,揭示了细菌RNA聚合酶识别转录终止序列、停止转录、并解离RNA的分子机制。

转录是基因表达的第一步,是遗传中心法则的重要组成部分。RNA聚合酶以DNA为模板进行的转录分为转录起始、转录延伸和转录终止三个阶段。RNA聚合酶的转录终止通过两种途径发生,一种是依赖于终止因子的转录终止,另一种是不依赖于终止因子的转录终止,也称为固有转录终止。固有转录终止是病毒、细菌和真核生物RNA聚合酶保守的转录终止方式。细菌固有转录终止是RNA聚合酶转录至终止序列时自发停止转录的转录终止方式,其不依赖于转录终止Rho蛋白,因此又称为不依赖Rho因子的转录终止。细菌的固有转录终止序列由富含GC的发卡结构以及紧随其后的U-tract序列组成(图1)。

在转录终止环节, RNA聚合酶需要从高速的延伸状态(~50 碱基/秒)紧急刹车停止转录,随后RNA聚合酶迅速发生构象变化, RNA和DNA从高度稳定的RNAP-DNA-RNA复合物解离。由于转录终止具有高度动态和且反应迅速的特征,因此解析转录终止的结构和分子机制具有较大难度。研究团队借鉴前人的研究成果,拆分了转录终止序列,捕获了三个关键的转录终止中间态结构。首先,研究团队解析了只包含U-tract序列的TTC-pause结构,发现包含U-tract序列的RNA-DNA杂合双链呈现非活性构象,阻止NTP进一步结合,促使转录暂停。其次,研究团队解析了包含U-tract序列和部分RNA发卡结构的TTC-hairpin结构,发现RNA发卡折叠进入RNA聚合酶内部,诱导RNA聚合酶发生构象变化,削弱了RNA聚合酶和RNA-DNA杂合双链的相互作用。随后,我们通过生化实验证明,上述构象变化促使转录泡的两条DNA单链闭合,进一步破坏RNA-DNA杂合双链结构,促进RNA解离。最后,我们在转录暂停复合物中,添加antisense RNA模拟形成完整的发卡结构并诱导转录终止,解析了TTC-release结构,该结构捕获了转录终止发生过程中, RNA已经解离但是DNA仍然结合在RNA聚合酶的中间状态。

基于上述转录终止关键中间状态的三维结构和生化实验结果,我们提出了固有转录终止的四个反应步骤,即“DNA-rewinding triggered RNA release”的RNA解离机制(图2):

(i) 转录暂停 (TTC-pause): 转录终止子的U tract序列诱导催化中心的RNA-DNA杂合双链呈半移位状态(RNA已经移位,但DNA还未移位),阻止NTP的添加并诱导转录暂停

(ii) 发夹入侵 (TTC-hairpin): RNA发卡折叠进入RNA聚合酶内部,占据了RNA通道,诱导RNA聚合酶结构域构象变化,并削弱了RNAP和RNA-DNA杂合双链的相互作用。

(iii) 转录泡DNA闭合 (TTC-rewinding): 转录泡的两条DNA单链碱基重新配对,进一步破坏RNA-DNA杂合双链。

(iv) RNA解离 (TTC-release): RNA聚合酶释放RNA,但仍可以在基因组上自由滑动,最终解离或者滑动至启动子DNA开始新一轮转录。

该研究报告了细菌固有转录终止关键中间态的冷冻电镜结构,还原了细菌固有转录终止的全过程,回答了细菌RNA聚合酶如何识别转录终止序列、暂停转录、释放RNA的分子机制。该研究拓展了人们对于转录终止的认识,该研究提出的“DNA-rewinding triggered RNA release”的机制为真核RNA聚合酶的转录终止机制提供了参考。

中科院分子植物科学卓越创新中心博士生尤琳琳(已毕业)为论文的第一作者,张余研究员和威斯康辛大学麦迪逊分校Robert Landick教授以及浙江大学冯钰研究员为共同通讯作者。本课题受到中国科学院先导科技专项、国家重点研发计划,上海市基础研究特区计划和上海市科技创新行动计划等项目的资助。

原文连接: <http://www.nature.com/articles/s41586-022-05604-1>

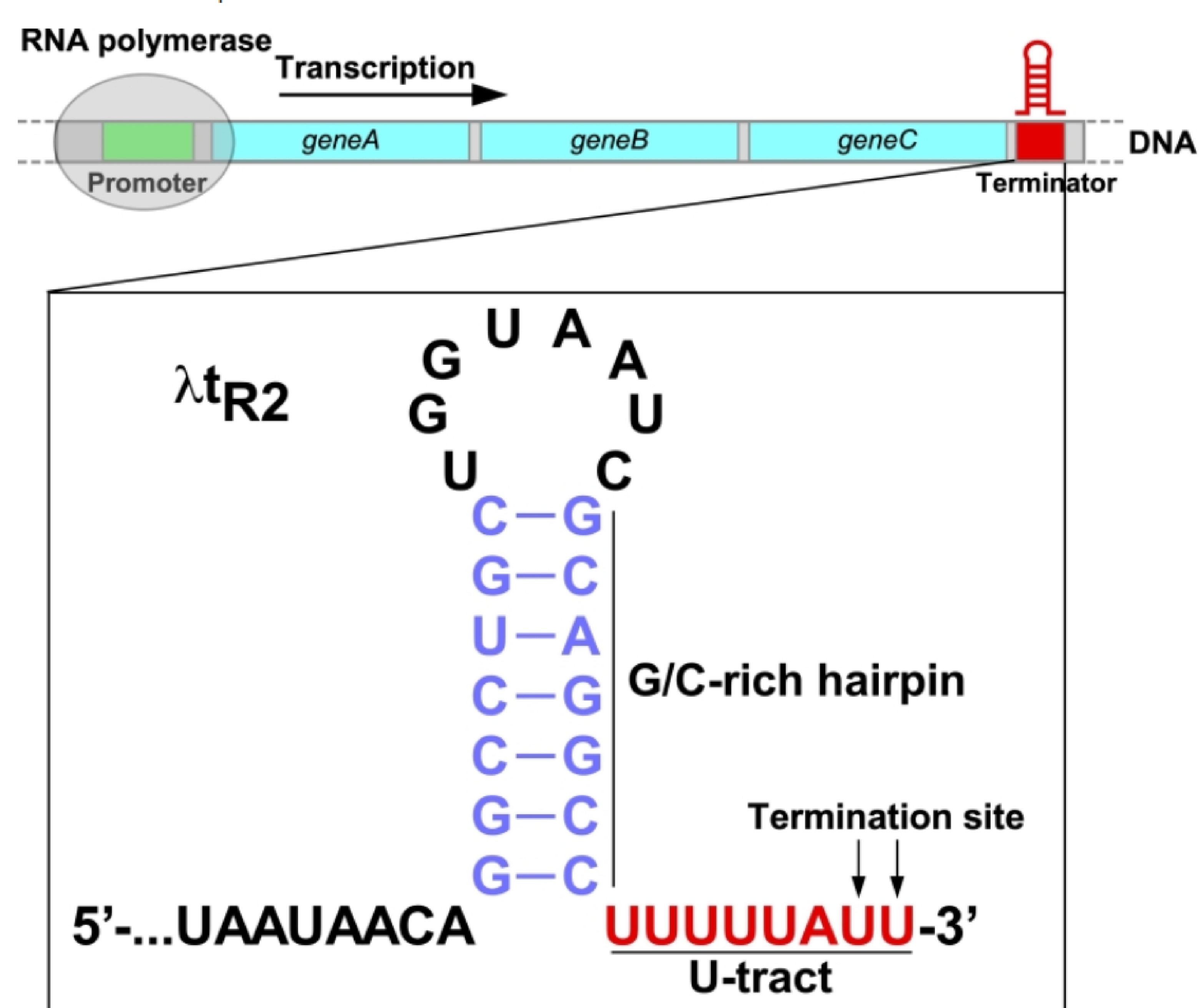


图1: 细菌基因转录示意图以及经典的细菌转录终止子序列示意图

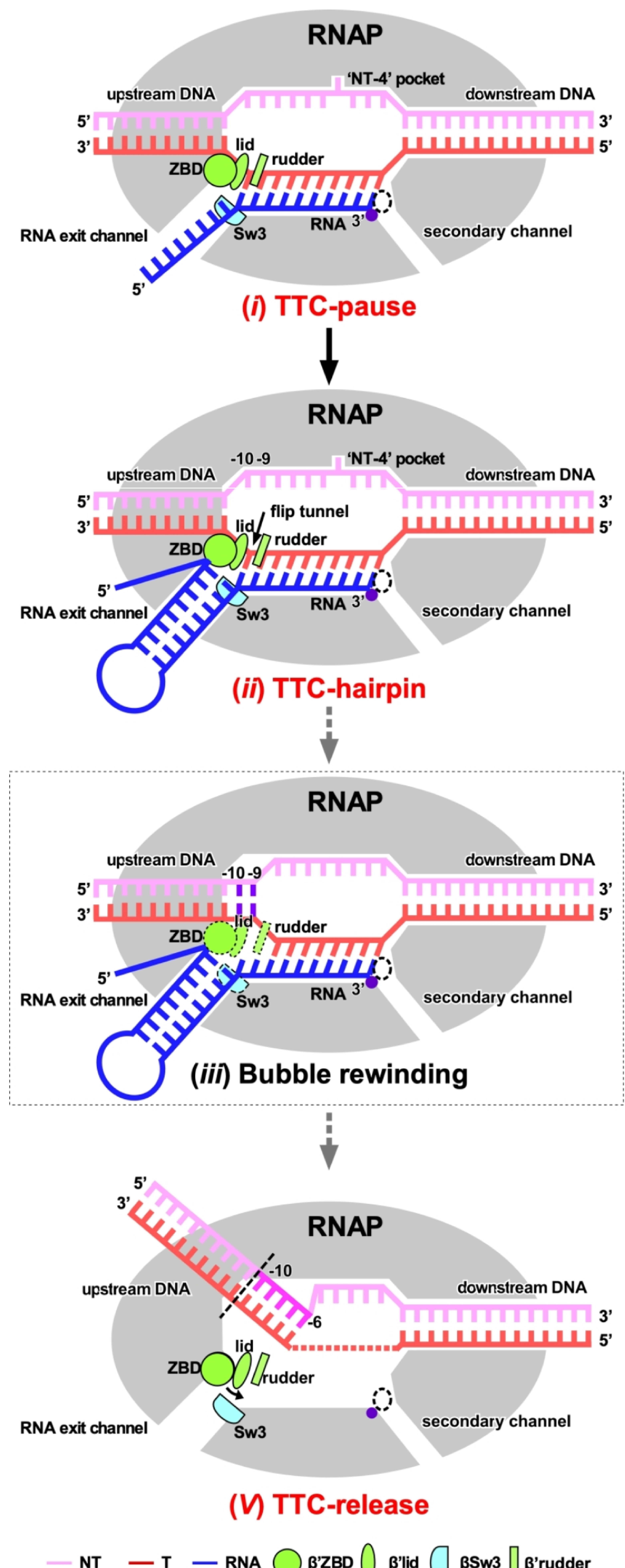


图2: 细菌固有转录终止机制模型

