

真核转录的分子基础

——2006 年诺贝尔化学奖成果简介

The Molecular Basis of Eukaryotic Transcription: An Introduction to the Nobel Prize in Chemistry 2006

姜 琳/JIANG Lin,殷勤伟/YIN Qin-wei

中国科学院生物物理研究所计算与系统生物学研究中心,北京 100101

Computational and Systems Biology Research Center, Institute of Biophysics, CAS, Beijing 100101, China

[摘要] 美国斯坦福大学医学院教授 Roger D.Kornberg 被授予 2006 年度诺贝尔化学奖,以表彰他在“真核转录的分子基础”研究领域所作出的杰出贡献。Kornberg 的贡献在于,其花费 10 年时间构建了体外酵母细胞转录体系,并将结晶学与生化知识相结合,描述了 RNA 聚合酶 II 及包括通用转录因子、调节器、DNA 和 RNA 在内的复合物结构图。此外,他还首先在分子水平上阐明了真核细胞中转录机制的全过程。现有的证据表明转录分子机制的研究对于各种疾病的治疗以及干细胞的分化调节均具有重大的实际意义。

[关键词] 诺贝尔化学奖;真核转录;RNA 聚合酶 II;调节器;酵母细胞转录体系

[中图分类号] O629.72,Q519

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)12-0008-04

Abstract: The Nobel Prize in Chemistry 2006 was awarded to Roger D. Kornberg for his fundamental study of the molecular basis of eukaryotic transcription. Roger D. Kornberg spent ten years in developing an in vitro yeast transcription system, and depicted pictures of RNA polymerase II and other complexes containing general transcription factors, Mediator, DNA and RNA by combining crystallography with biochemical knowledge. Furthermore, he firstly illustrated the whole process of how transcription works at a molecular level in a eukaryotic cell. Accumulative evidence demonstrates that the study of molecular mechanisms of eukaryotic transcription plays important roles in the treatment of diseases and the regulation of stem-cell development.

Key Words: Nobel Prize in Chemistry; eukaryotic transcription; RNA polymerase II; mediator; yeast transcription system

CLC Numbers: O 629.72, Q519

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)12-0008-04

1 引言

瑞典皇家科学院 10 月 4 日宣布,美国斯坦福大学医学院教授罗杰·科恩伯格

Roger D. Kornberg 因在“真核转录的分子基础”研究领域所作出的杰出贡献,而独自获得 2006 年度诺贝尔化学奖^[1-3]。

Roger D. Kornberg 现年 59 岁,1947 年出生于美国密苏里州圣路易市,在斯坦福大学获得博士学位,目前供职于该大学医

收稿日期:2006-11-19

作者简介:姜 琳,女,北京大屯路 15 号中国科学院生物物理研究所计算与系统生物学研究中心,研究生,主要研究方向为 RNA 组学
殷勤伟(通讯作者),男,北京大屯路 15 号中国科学院生物物理研究所,研究员,主要从事转录组学和小 RNA 的研究;E-mail:
jqwyin@sun5.ibp.ac.cn

- genes in trans [J]. Plant Cell ,1990, (2): 279-289.
- [4] ROMANO N, MACINO G. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences[J]. Mol Microbiol , 1992(6):3343-3353.
- [5] GUO S, KEMPHUES, K J. Par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed[J]. Cell ,1995, 81:611-620.
- [6] VOINNET O, BAULCOMBE D C. Systemic signalling in gene silencing [J]. Nature , 1997, 389:553.
- [7] HAMILTON A J, BAULCOMBE D C. A

- species of small antisense RNA in post-transcriptional gene silencing in plants[J]. Science, 1999, 286:950-952.
- [8] HAMMOND S M, BERNSTEIN E, BEACH D, et al. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells [J]. Nature, 2000, 404: 293-296.
- [9] ZAMORE P D, TUSCHL T, SHARP P A, et al. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals [J]. Cell ,2000, 101:25-33.
- [10] BERNSTEIN E, CAUDY A A, HAMMOND S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interfer-

- ence[J]. Nature, 2001, 409:363-366.
- [11] SEN G L, BLAU H M. A brief history of RNAi: the silence of the genes[J]. Faseb J, 2006, 20:1293-1299.
- [12] Li W X, Ding S W. Viral suppressors of RNA silencing [J]. Curr Opin Biotechnol , 2001(12):150-154.
- [13] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116:281-297.
- [14] Uprichard S L. The therapeutic potential of RNA interference [J]. FEBS Lett ,2005, 579:5996-6007.

(责任编辑 李慧政)



图1 2006年诺贝尔化学奖获得者：
美国科学家 Roger D. Kornberg

Fig. 1 The winner of Nobel Prize in
Chemistry for 2006: Roger D. Kornberg

学院。其父 Arthur Kornberg 因致力于 DNA 复制的研究,是 1959 年的诺贝尔医学或生理学奖得主之一^[3]。老 Kornberg 获奖原因是因为破解基因信息是如何从一个 DNA 复制到另一个 DNA 的,而小 Kornberg 则是在遗传信息如何从 DNA 转录到 mRNA 的过程中做出了卓越贡献。

DNA 分子由 G, C, A 和 T 4 个不同的碱基组成。RNA 同样由 G, C, A 和 U 4 个相对应的碱基组成。这 4 个不同的碱基排列组合即构成了遗传信息。DNA 分子为一个双链螺旋,两链间可形成 G, C 配对和 A, T 配对 (Watson, Crick 和 Wilkins 因此获得 1962 年的诺贝尔生理学或医学奖),这保证了遗传信息的可靠储存^[2]。

转录即存储于 DNA 中的遗传信息在 RNA 聚合酶作用下被激活并拷贝到互补的 mRNA 链上。最终 mRNA 上的遗传信息由核糖体翻译成有功能的蛋白质。转录是生命活动中最中心的过程之一,有着复杂的调节机制。Kornberg 正是在真核细胞的转录及其调节的分子机制中做出了突破性的贡献。他将结构生物学与生化技术相结合,从而得以在酵母中分离出高纯度的 RNA 聚合酶及其与模版 DNA、mRNA、核苷酸底物、调节蛋白结合的功能相关复合物。

Kornberg 主要贡献是其创造性地制作了详细的晶体结构图片,用于描述真核细胞中转录过程的整个机制。我们可以看到新的 RNA 链如何逐渐生成,以及转录过程中必不可少的其它若干分子的作用。由于这些图片可以清楚地区分不同的原子,从而使转录过程和转录调节机制的理解成为可能^[2]。

2 研究背景

真核转录研究始于 50 年前,Weiss 和 Gladstone^[4]于 1959 在大鼠肝脏细胞核中发现了 RNA 聚合酶的活性。这一发现使转录研究成为生命进程中一个至关重要的研究领域。但是从大鼠肝脏细胞核中提取 RNA

聚合酶极为困难,而从细菌中纯化酶则相对简单得多。因此,原核转录研究率先开展起来,1965 年诺贝尔生理学或医学奖即颁给了 Jacob, Monod 和 Lwoff,以表彰他们在细菌基因表达的转录调节中所作出的贡献。

很长一段时间以来,人们认为在所有细胞中的基因结构和转录机制与细菌中的是相同的。后来才得知真核细胞中,例如酵母和人类,染色体 DNA 需要与蛋白质结合,包装成核小体,这种高度压缩的染色质形式在细菌中是没有的。真核转录机制比原核要复杂得多。所以,了解真核细胞中 RNA 聚合酶的作用和调节机制对于解析转录调节以及细胞中基因表达的调控至关重要。

Roeder and Rutter^[5]和 Chambon^[6]证实,真核细胞包含 3 种不同的 RNA 聚合酶(I-III)。蛋白编码基因由 RNA 聚合酶 II 负责转录。真核 RNA 聚合酶由多个亚单位组成。细菌 RNA 聚合酶由 4 个亚单位和 1 个可变亚基 Sigma 组成^[7]。Sigma 是聚合酶识别启动子和起始转录所必需的。启动子即 DNA 上的一段特殊序列,用于起始 RNA 的合成。对于启动子的研究最早始于原核细胞的转录,但真核的启动子比原核还要长。1981 年 Banerji 等^[8]和 Moreau 等^[9]鉴别了基因特异性元件“增强子”。但是真核细胞中没有 Sigma 因子。因此要研究真核转录机制,就需要建立依赖真核 RNA 聚合酶 II 的以外源 DNA 为模版的可在特异启动子下转录的细胞体系。

1979 年 Weil 等^[10]利用纯化的 RNA 聚合酶,在提取的人类组织培养细胞中以一个病毒启动子进行特异性的起始转录。1980 年 Matsui 等^[11]通过生化分馏法揭示了 RNA 聚合酶 II 复合体中存在多个转录因子,即 RNA 聚合酶 II 通用转录因子(TFIIB, D, E, F 和 H)。RNA 聚合酶 II 在这 5 个通用转录因子的协助下识别基因起始位点,分离 DNA 模版链,对一条链进行转录生成 mRNA。

3 2006 年诺贝尔化学奖研究成果简介

3.1 体外酵母细胞转录体系的建立

Roger Kornberg 致力于转录领域的研究始于他在英国剑桥大学做博士后的时候。X-射线衍射证实,染色质是由大约 10nm 的重复亚基所组成。1973 年 Hewish 和 Burgoyne^[12]用核酸酶处理染色质得到许多大小相同的断裂产物。Kornberg 和 Thomas 在 1974 年^[13]发现组蛋白 H3 和 H4 在溶液中形成(H3)₂(H4)₂的四聚体。同年 Kornberg^[14]提出染色质的基本单位,即核小体是由 1 个组蛋白八聚体和 200bp(碱基对)长的 DNA 所组成。

Kornberg 回到斯坦福大学以后仍致力于真核生物的转录调节研究。他的重大贡献之一即培育了新的体外酵母细胞转录体系^[15,16],使利用啤酒酵母(*saccharomyces cerevisiae*)作为真核生物的研究模型成为可能。Kornberg 实验室为此体系的建立花费了 10 年时间,其间许多实验室因为几年中没有任何进展而纷纷放弃。但是正是这个酵母细胞体系的建立,为 Kornberg 创造了合适的 RNA 聚合酶和通用转录因子,为其研究提供晶体、创造了条件。

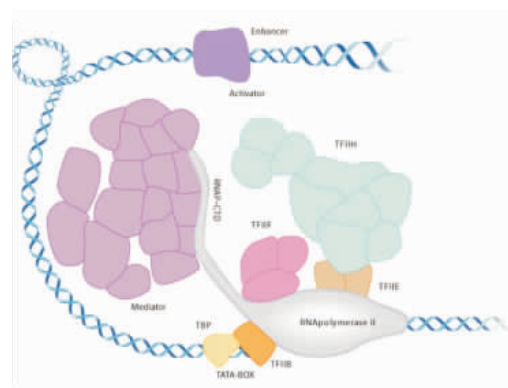


图2 真核转录起始复合物

Fig. 2 Cartoon of eukaryotic transcription initiation complex

3.2 酵母 RNA 聚合酶及转录复合物结构的描述

3.2.1 调节器的发现

包含纯化的 RNA 聚合酶 II, 5 个通用转录因子 TFIIB, E, F, H 和 TATA 结合蛋白的体系只能维持基础转录,而对于基因特异性激活蛋白的转录则无能为力。对这一问题的研究导致了调节器的发现,并使真核转录的一些早期遗传数据得到很好的解释。调节器是由大约 20 个不同蛋白组成的多蛋白复合体^[17-19],在从酵母到人类的所有真核生物中,调节器的作用是将正负信号从与 DNA 结合的特异基因转录因子传递给 RNA 聚合酶 II 及其通用转录因子(图 2),其中图 2 物质包含 DNA、通用转录因子 TBP, TFIIB,

E、F 和 H、调节器、RNA 聚合酶以及与增强子结合的特异性转录因子。在探索转录过程研究中调节器的发现是一个里程碑。

随着调节器被分离,真核基因调节和转录的基本组分已被建立,即通用转录因子、调节器和 RNA 聚合酶 II。细菌中的转录抑制和激活是其直接与 RNA 聚合酶结合,从而影响与启动子的结合。真核中染色质和调节器在基因特异性转录因子与 RNA 聚合酶之间起作用,使得调节更加复杂化。

Asturias 等在 1999 年^[20]得到了 RNA 聚合酶 II-调节器复合物的电镜图,此图显示调节器围绕聚合酶成月牙形。调节器包含大约 20 多肽,1MDa。近来有关功能的调节器头部分子的表达和纯化已有报道。此复合物只有 7 个亚基,分子量为 223kDa^[21]。调节器头部分子与 RNA 聚合酶的相互作用需要通用转录因子 TFIIF 的参与。

3.2.2 酵母 RNA 聚合酶及转录复合物结构描述

早在 10 年前,X-射线结晶学已描述了 TBP 结合于 TATA-box DNA,以及 TFIIB、TBP 和 DNA 三重复合物的结构^[22-25]。Kornberg 则首先意识到所有真核转录元件的组装可能是以 RNA 聚合酶作为一个平台,但是酵母 RNA 聚合酶 II 的复杂性以及纯化复合物的少量和不稳定性成为晶体研究的瓶颈。Kornberg 用电镜和 X-射线结晶学相结合,依据自己 20 年来对蛋白表达纯化的研究经验和二维蛋白结晶的方法最终解决了这个问题^[26]。

关于建立体外酵母转录系统的研究,Kornberg 在 2001 年取得突破性进展。他发表于 *Science* 的两篇文章^[27,28]分别描述了 0.28nm 溶液中含有 10 个亚基的酵母 RNA 聚合酶结构以及包含 RNA 聚合酶、模版 DNA、RNA 产物的转录复合物结构。在此结构中,两个大亚基位于中间核酸结合空穴的两边,许多小亚基在外围。空穴中可见一个 α -螺旋与其中一个大亚基相连,此螺旋穿过形成磷酸二酯键和延伸 RNA 链的活性中心。在空穴中可清楚看到一条 DNA 链和正在合成的 RNA 链之间核苷酸的接合(图 3)。

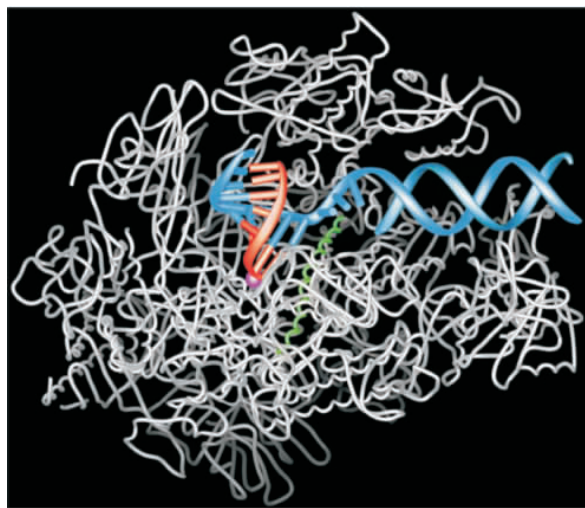


图 3 RNA 聚合酶 II 转录复合物的结构图

Fig. 3 Structure of an RNA polymerase II transcribing complex

图 3 中白色为 RNA 聚合酶,绿色为连接螺旋,粉色为激活位点金属离子,蓝色为 DNA 螺旋,红色为新合成的 RNA。

Kornberg 实验室后续发表的文章中,详尽描述了 RNA 聚合酶与 DNA、RNA、插入的核苷酸或其他蛋白结合的不同功能复合物的晶体结构。建立了包括 5 个通用转录因子在内的转录起始复合物的模型^[27],即 5 个通用转录因子直接与双链 DNA 启动子结合,而 RNA 聚合酶只能与解旋之后的 DNA 相结合,解旋即 DNA 模版旋转 90°,使其可以进入聚合酶的活性位点空穴。

3.3 真核转录分子机制的阐明

大量的数据为转录过程的动态描述提供了前提条件。

Kornberg 创造性地从溶液中去除了必需的一种碱基,当 RNA 的合成到达缺失碱基需要插入的位点,其合成过程半途中断。这正描述了在 RNA 链 3' 末端与掺入的核苷酸形成磷酸二酯键之后以及 DNA-RNA 杂交链发生迁移之前的分子结构^[28]。若此复合物中引入核酸的结合位点空缺,即为 DNA-RNA 杂交链迁移后的阶段^[29]。然后 Kornberg 创建它们的分子晶体,并用 X-射线衍射获得其晶体排列的分子图,计算机可进一步精确计算分子中原子的位置。虽然当今这种生物大分子结晶的方法已被广泛应用,但通常只是观察组装后的复合物或是单个的分子,而真正用它去捕捉一个化学反应的过程还是很困难的。Kornberg 革命性的贡献即在于此,他最先创建了整个转录机制的全流程图,大致分为下面 3 个过程。

3.3.1 迁移

首先是迁移过程。图 3 中绿色表示的连接螺旋被认为在转录 DNA-RNA 杂交链的迁移过程中起到棘齿的作用^[28,30]。RNA 聚合酶分子使 DNA 双链处于正确的位置并形成空穴,只有与 DNA 正确配对的碱基才能进入空穴参与 RNA 的合成。一旦新的碱基插入正确的位置,DNA 链就会被连接螺旋驱动向前迁移。连接螺旋末端的两个残基在苏氨酸-831 和丙氨酸-832 激活中心的下面,连接杂交链底部的碱基。由于聚合酶形状持续自发地变化从而导致了弹簧式的结构。连接螺旋的摆动会使 DNA-RNA 杂交链迁移 0.3nm 或一个核苷酸的距离。DNA 链在新的碱基结合到延伸的 RNA 链之后,就以这种方式一次次地迁移到正确的位置^[2]。

3.3.2 RNA 链与 DNA 链分离

其次是分离过程。迁移后阶段的结构图显示了聚合酶上的盖状环是如何将新合成的 RNA 链在位点-8 与模版 DNA 分离,从而在-9 和-10 位将双链彻底分开的。最后添加在 RNA 上的核苷酸为位点-1。盖状环与另两个蛋白环一起阻止 DNA 与 RNA 链的重新结合^[29]。

3.3.3 核酸的选择

最后是核酸筛选过程。核苷酸通过漏斗样的结构被筛选运输到 RNA 聚合酶的活性中心。在迁移后阶段转录复合物与核苷酸和 DNA 在位点+1 结合,同时还有很多核苷酸不与其结合,故在酶的激活位点核苷酸是如何被筛选的也是一个很有趣的问题^[31]。筛选过程又可分为两步,首先核苷酸反向结合到位于活性位点下面的进入位点。此结合将大大延长核苷酸在激活位点区域的寿命^[32]。然后核苷酸发生逆转进入活性位点,从而有选择性地与 DNA 模版相结合。若引入的碱基与模版匹配,则在两个金属离子的催化作用下形成磷酸二酯键^[33]。转录的精确度由碱基配对及 RNA-DNA 杂交链决定。这种与蛋白结合的杂交链的构象为一种介于 A-和 B-DNA 之间的非标准的中间型^[34]。碱基的错配会导致杂交链的不稳定。

3.4 启动子识别,起始中断和启动子逃逸

揭示 RNA 聚合酶 II 结构的重要性不仅仅在于其对转录机制的研究,而且使大的功能复合物结构的研究成为可能,其与通用转录因子和调节器一起对于真核转录的调节至关重要。Kornberg 已阐明通用转录因子 TFIIB 与 RNA 聚合酶 II 复合物的结构^[35]。TFIIB 和 TBP 可以在特定的情况下与 RNA 聚合酶和 DNA 形成最小的起始复合物。共晶图片中可以清楚地看到 TFIIB 的 C 末端结构域只有 1 个 α -螺旋,在 TFIIB-TBP-DNA 复合物^[36]中,TBP 使 TATA box 弯曲以便指导下游的 DNA 可进入活性位点,TATA box 与转录起始位点只有 25nt (核苷酸),这一距离是大多 RNA 聚合酶 II 启动子的共性。

早期对于起始中断和启动子逃逸现象的困惑,现在都能给予很好的解释。起始中断是指当转录本延伸超过 10 个残基后则转录停止,而启动子逃逸则是指在大约 10 个 RNA 残基合成之后 RNA 聚合酶离开启动子。在 TFIIB 的 N 末端会形成一个环状结构,一直延伸到聚合酶的激活位点,在这里它与新合成的 DNA/RNA 链相互竞争。若环竞争胜利,RNA 链则被替代,导致起始中断;若 RNA 链胜利,则环将被 TFIIB 和启动子 DNA 替代,RNA 聚合酶从启动子上脱离,从而开始链的延伸。

4 展望

由于 Roger Kornberg 对于真核转录机制研究所作的贡献,使我们第一次了解了启动子的识别,转录起始的分子机制,DNA-RNA 杂交链在引入核苷酸后的迁移,新合成的 RNA 链从 DNA 模版上的分离,以及引入的核苷酸要与 DNA 模版互补所进行的精确选择。而且,RNA 聚合酶 II 结构的揭示是进一步研究通用转录因子和调节器在转录调节过程中作用的基础。Kornberg 已经发表了 RNA 聚合酶和 TFIIB 共晶体的 X-射线结构图,以及聚合酶-通用转录因子-调节器复合物的电镜结构图。一个完全的功能转录复合物的 X-射线图可以为揭示转录调节的分子机制提供条件。

此研究的重要性还在于,对于转录调节的干扰可以直接用于各种癌症、炎症、心脏病以及代谢病等多种疾病的治疗。调节转录还可以控制干细胞向不同组织器官中的特异功能细胞发育。所以要真正发挥干细胞在医学上的全部潜力,移植干细胞用于治疗各类疾病,引导其只向我们所需要的细胞发育是关键,而理解转录过程则是必需的一步^[2]。

参考文献 (References)

- [1] Molecular basis of eukaryotic transcription. Advanced Information on the Nobel Prize in Chemistry [EB/OL]. [2006-11-15]. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2006/adv.html.
- [2] The Nobel Prize in Chemistry 2006. Information for the Public [EB/OL]. [2006-11-15]. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2006/info.html.
- [3] A family story about life. Press Release [EB/OL]. [2006-11-15]. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2006/press.html.
- [4] WEISS S B, GLADSTONE L. A mammalian system for the incorporation of cytidine triphosphate into ribonucleic acid [J]. J Am Chem Soc, 1959, 81:4118-4119.
- [5] ROEDER R G, RUTTER W J. Multiple forms of DNA-dependent RNA polymerase in eukaryotic organisms [J]. Nature, 1969, 224: 234-237.
- [6] KEDINGER C, GNIAZDOWSKI M, MANDEL J L, et al. α -amanitin: A specific inhibitor of one of the two DNA-dependent RNA polymerase activities from calf thymus [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1970, 38:165-171.
- [7] BURGESS R R, TRAVERS A A, DUNN J J, et al. Factor stimulating transcription by RNA polymerase [J]. Nature, 1969, 221:43-46.
- [8] BANERJI J, RUSCONI S, SCHAFFNER W. Expression of a β -globin gene is enhanced by remote SV40 DNA sequences [J]. Cell, 1981, 27:299-308.
- [9] MOREAU P, HEN R, WASYLYK B, et al. The SV40 72 base pair repeat has a striking effect on gene expression both in SV40 and other chimeric recombinants [J]. Nucleic Acid Res, 1981, 9:6047-6068.
- [10] WEIL P A, LUSE D S, SEGALL J, et al. Selective and accurate initiation of transcription at the Ad2 major late promoter in a soluble system dependant on purified RNA polymerase II and DNA [J]. Cell, 1979, 18:469-484.
- [11] MATSUI T, SEGALL J, WEIL P A, et al. Multiple factors required for accurate initiation of transcription by purified RNA polymerase II [J]. J Biol Chem, 1980, 255: 11992-11996.
- [12] HEWISH D R, BURGONYE L A. Chromatin sub-structure. The digestion of chromatin DNA at regularly spaced sites by a nuclear deoxyribonuclease [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1973, 52: 504-510.
- [13] KORNBERG R D, THOMAS J O. Chromatin structure; oligomers of the histones [J]. Science, 1974, 184:865-868.
- [14] KORNBERG R D. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA [J]. Science, 1974 184:868-871.
- [15] LUE N F, KORNBERG R D. Accurate initiation at RNA polymerase II promoters in extracts from *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1987, 84: 8839-8843.
- [16] SAYRE M H, TSCHNOCHNER H, KORNBERG R D. Reconstitution of transcription with five purified protein factors and RNA polymerase II from *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J Biol Chem, 1992, 267:23376-23382.
- [17] KELLEHER III R, FLANAGAN P M, KORNBERG R D. A novel mediator between activator proteins and the RNA polymerase II transcription apparatus [J]. Cell, 1990, 61:1209-1215.
- [18] FLANAGAN P M, KELLEHER III R J, SAYRE M H, et al. A mediator for activation of RNA polymerase II transcription in vitro [J]. Nature, 1991, 350:436-438.
- [19] KIM Y J, BJÖRKLUND S, LI Y, et al. A multiprotein mediator of transcriptional activation and its interaction with the C-terminal repeat domain of RNA polymerase II [J]. Cell, 1994, 77:599-608.
- [20] ASTURIAS F J, JIANG Y W, MYERS L C, et al. Conserved structures of Mediator and RNA polymerase II holoenzyme [J]. Science, 1999, 283:985-987.
- [21] TAKAGI Y, CALERO G, KOMORI H, et al. Head module control of Mediator interactions [J]. Mol Cell, 2006, 23:355-364.
- [22] KIM J L, NIKOLOV D B, BURLEY S K. Co-crystal structure of TBP recognizing the minor groove of a TATA element [J]. Nature, 1993, 365:520-527.
- [23] KIM Y, GEIGER J H, HAHN S, et al. Crystal structure of a yeast TBP/TATA box complex [J]. Nature, 1993, 365:512-520.
- [24] CHASMAN D I, FLAHERTY K M, SHARP P A, et al. Crystal structure of yeast TATA-binding protein and model for interaction with DNA [C]. Proc Nat Acad Sci USA, 1993, 90:8174-8178.
- [25] NIKOLOV D M, CHEN H, HALAY E D, et al. Crystal structure of a TFIIB-TBP-TATA element ternary complex [J]. Nature, 1995, 377: 119-128.
- [26] UZGIRIS E E, KORNBERG R D. Two-dimensional crystallization technique for imaging macromolecules, with an application to antigen-antibody-complement complexes [J]. Nature, 1983, 301: 125-129.
- [27] CRAMER P, BUSHNELL D A, KORNBERG R D. Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 Å resolution [J]. Science, 2001, 292:1863-1876.
- [28] GNATT A L, CRAMER P, FU J, et al. Structural basis of transcription: An RNA polymerase II elongation complex at 3.3 Å resolution [J]. Science, 2001, 292:1876-1882.
- [29] WESTOVER K D, BUSHNELL D A, KORNBERG R D. Structural basis of transcription: Separation of RNA from DNA by RNA polymerase II [J]. Science, 2004, 303:1014-1016.
- [30] BUSHNELL D A, CRAMER P, KORNBERG R D. Structural basis of transcription: α -amanitin-RNA polymerase II cocrystal at 2.8 Å resolution [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2002, 99:1218-1222.
- [31] WESTOVER K D, BUSHNELL D A, KORNBERG R D. Structural basis of transcription: Nucleotide selection by rotation in the RNA polymerase II active center [J]. Cell, 2004, 119:481-489.
- [32] BATADA N N, WESTOVER K D, BUSHNELL D A, et al. Diffusion of nucleoside triphosphates and role of the entry site to the RNA polymerase II active center [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2004, 101:17361-17364.
- [33] STEITZ T A. A mechanism for all polymerases [J]. Nature, 1998, 391:231-232.
- [34] GNATT A L, CRAMER P, FU J, et al. Structural basis of transcription: An RNA polymerase II elongation complex at 3.3 Å resolution [J]. Science, 2001, 292:1876-1882.
- [35] BUSHNELL D A, WESTOVER K D, DAVIS R E, et al. Structural basis of transcription: An RNA polymerase II - TFIIB cocrystal at 4.5 angstroms [J]. Science, 2004, 303:983-988.
- [36] TSAI F T F, SIGLER P B. Structural basis of preinitiation complex assembly on human Pol II promoters [J]. EMBO J, 2000, 19:25-36.

(责任编辑 赵佳)