

osvrti

Nobelova nagrada za kemiju 2006. – dobitnik Roger Kornberg

za istraživanja molekularne mase transkriptaze eukariota

Marija-Mary Sopta

Institut Ruđer Bošković
Zavod za molekularnu biologiju

Ovogodišnji laureat Roger Kornberg šesti je primjer dodjele Nobelove nagrade osobi čiji je otac već nosilac istog priznanja. Naime, njegov otac Arthur Kornberg je u povijest molekularne biologije i biokemije ušao otkrićem i opisom DNA-polimeraze, enzima koji je odgovoran za prepisivanje genetičkog materijala u svim živim sustavima, za što je nagrađen Nobelovom nagradom 1959. godine. Rogeru Kornbergu je nagrada dodijeljena za rad u području genske transkripcije eukariotskih organizama odnosno za pojašnjenje procesa prijenosa genetičke informacije s molekule DNA na molekulu glasničke RNA.

Proučavanjem transkripcije Roger Kornberg se počeo baviti na poslijedoktorskom studiju, tijekom koga je izučavao strukturu kromatina i otkrio da histoni H3 i H4 čine tetramernu strukturu u otopini. Na osnovi dobivenih eksperimentalnih rezultata zaključio je da je nukleosom osnovna strukturalna jedinica kromatina sastavljena od osam histonskih proteina (histonski oktamer), oko kojih je omotana DNA duljine 200 parova baza. Ta istraživanja su rađena na Sveučilištu Cambridge, pod vodstvom dvojice nobelovaca Francisa Cricka i Aarona Kluga.

Nakon poslijedoktorskog studija u Engleskoj, Kornberg prihvaća položaj na Sveučilištu Stanford, gdje ostaje do danas. Kao nezavisni istraživač započinje proučavanje transkripcije gena u eukariotskim organizmima koristeći kao eksperimentalni sustav pekarski kvasac *Saccharomyces cerevisiae*. Prvo važno Kornbergovo dostignuće je uspostavljanje transkripcijskog sustava *in vitro*, koristeći pročišćene faktore izolirane iz kvasca. Precizno započinjanje transkripcije s genskog promotora u uvjetima *in vitro* zahtijeva enzim RNA-polimerazu kao i niz transkripcijskih faktora poznatih pod skraćenicama TBP, TFIIB, TFIIE, TFIIIF i TFIIH. Taj sustav je dovoljan za bazalnu transkripciju *in vitro*, ali ne omogućuje započinjanje transkripcije kao odgovor na transkripcijski aktivator. Jedan dodatni faktor poznat pod nazivom Mediator naknadno je izoliran i pročišćen, te je omogućio započinjanje aktivatorom izazvane transkripcije *in vitro*.

Iako je sada sastav transkripcijskog sistema bio poznat, o samom procesu se i dalje nije previše znalo. Stoga je Kornberg započeo sa



strukturalnom analizom enzimske komponente transkripcijskog procesa: RNA polimeraze II. Zbog veličine i složenosti tog enzima, koji je sastavljen od 12 podjedinica strukturalna analiza je bila vrlo teška. Korištenjem kombinacije elektronske mikroskopije i kristalografije X-zraka, kao i razvojem tehnike nastanka kristala na lipidnoj površini Kornberg je uspio razriješiti 2.8 Å kristalnu strukturu jedostavnije verzije ovog enzima sastavljene od 10 podjedinica. Naknadno je uspio razriješiti strukturu ovog složenog enzima u obliku elongirajućeg kompleksa. Strukturni podaci su omogućili da se na molekularnoj razini objasni cijeli proces transkripcije: kako polimeraza započinje transkripciju na određenom mjestu, kako se točno ugrađuje ribonukleotid komplementaran onom na kalupu DNA, kako se hi-

brid DNA-RNA translocira nakon dodatka nukleotida te kako se novosintetizirani lanac RNA odvaja od kalupa DNA po završetku procesa. Daljnja istraživanja Kornbergove grupe također su otkrila kako se opći inicijacijski faktori kao i Mediator uklapaju u strukturalni kompleks s RNA polimerazom II.

Kornbergov rad je na prijelazu između kemije i biologije i ima dalekosežan utjecaj na razumijevanje procesa transkripcije kod viših organizama budući da su molekule uključene u ovaj proces sačuvane u širokom evolucijskom rasponu od kvasca do čovjeka. Budući da su poremećaji transkripcije vezani uz pojavu većeg broja bolesti kao i uz diferencijaciju određenih tipova stanica kod viših organizama, razumijevanje mehanizma transkripcije djelovanjem RNA polimeraze II proširit će naše znanje o ovim makroskopskim procesima.