

УДК 575:57.012.6

РИБОСВИЧИ – НОВЫЙ КЛАСС РЕГУЛЯТОРОВ ГЕННОЙ АКТИВНОСТИ

С.Ю. Маланин, Б.И. Барабанищikov

Аннотация

В обзоре представлены данные о регуляции генной активности с помощью рибосвичей (*riboswitch*). Рибосвичи представляют собой некодирующие элементы мРНК, которые способны связывать низкомолекулярные лиганды и тем самым регулировать транскрипцию, трансляцию, стабильность и альтернативный сплайсинг РНК транскриптов. Контроль экспрессии в данном случае происходит без участия факторов белковой природы. Рибосвичи состоят из двух доменов: высоко-консервативного аптамера, ответственного за связывание лиганда, и экспрессионной платформы, которая регулирует экспрессию гена, изменяя вторичную структуру РНК. У грамотрицательных бактерий изменение вторичной структуры РНК в большинстве случаев приводит к экранированию последовательности Шайн – Дальгарно и блокированию инициации трансляции, тогда как у грамположительных бактерий – к аттенуации транскрипции. Рибосвичи являются широко распространенным механизмом регуляции генной активности. Данные риборегуляторы обнаружены не только в бактериях и археях, но и в эукариотических организмах (некоторых видах грибов и растений). Рибосвичи принимают участие в регуляции метаболизма витаминов, аминокислот, пуринов и некоторых других молекул.

Ключевые слова: рибосвич, лиганды, регуляция экспрессии гена, бактерии, арабидопсис.

Введение

В последнее время большое внимание уделяется участию молекул РНК в регуляции экспрессии генов. Регуляция может происходить с помощью изменений во вторичной структуре РНК, влияющих на терминацию транскрипции [1], взаимодействий транспортных РНК (тРНК) с матричными РНК (мРНК) [2], антисмысловых РНК [3], температурозависимых РНК [4] и др. Обнаружение рибосвичей расширило класс регуляторных РНК.

Рибосвич (*riboswitch*) – это часть молекулы мРНК, которая способна напрямую связывать низкомолекулярный метаболит и регулировать транскрипцию, трансляцию, сплайсинг и/или стабильность транскрипта [5–7]. Рибосвичи могут представлять наиболее древний механизм регуляции, который появился во время «мира РНК». В настоящее время у прокариот обнаружено более 15 классов рибосвичей, способных связывать различные молекулы. Каждый класс характеризуется высокой гомологией аптамеровой части, что позволило обнаружить широкое распространение этого способа регуляции у прокариотических организмов.

Наличие секвенированных геномов некоторых эукариот помогло выявить рибосвичи в генах грибов и растений. Тиаминпирофосфатный рибосвич (ТПФ-

рибосвич) – единственный риборегулятор, найденный до настоящего времени в эукариотических клетках [8]. Этот рибосвич является наиболее распространенным среди бактерий и первоначально был обнаружен в опероне *thiCOGE*, кодирующем белки биосинтеза тиаминпирофосфата *Rhizobium etli* [9]. Рибосвичи могут иметь потенциальное практическое значение как средство регулируемой экспрессии изучаемых генов и как перспективные антимикробные агенты в медицине.

1. Открытие и методы изучения рибосвичей

После обнаружения *Lac*-репрессора появилось большое число работ, в которых описывались различные белковые факторы, взаимодействующие с метаболитами и сигнальными молекулами и изменяющие активность работы генов. Однако постепенно накапливались факты, которые не объяснялись этой схемой. Наиболее показательны в этом плане ген *btuB Escherichia coli* и *cob*-оперон *Salmonella typhimurium*, участвующие в метаболизме коэнзима В₁₂. Данный витамин регулирует уровень экспрессии собственных генов, и каждая мРНК в 5'-части несет консервативную последовательность длиной 25 нуклеотидов (названную В₁₂-box), которая регулирует инициацию трансляции [10, 11]. Было установлено, что В₁₂-box образует комплементарные связи с последовательностью Шайн – Дальгарно [11].

Для доказательства прямого связывания коэнзима В₁₂ и мРНК использовали несколько методов. Первый метод (*in-line probing*) основан на том, что степень спонтанного разрушения фосфодиэфирной связи в РНК зависит от вторичной структуры этой молекулы. Действительно, 315-нуклеотидная последовательность мРНК гена *btuB*, включающая В₁₂-box, значительно изменяет паттерн спонтанного разрушения после добавления в реакцию витамина В₁₂ [12].

Другой метод заключался в использовании диализа (*equilibrium dialysis*). В одну ячейку камеры, разделенной мембраной, добавляли РНК, а в другую – меченый лиганд, после чего наблюдалось неравномерное распределение метаболита между ячейками. В то же время при использовании РНК с мутациями, нарушающими связывание лиганда, было обнаружено, что меченый метаболит распределялся равномерно. Эти методы четко доказали, что В₁₂-box непосредственно связывает витамин В₁₂ [12].

Несколько дополнительных приемов было использовано для изучения флавинов мононуклеотидного и S-аденозилметионинового (SAM) рибосвичей. В первом случае использовали способность флавинов мононуклеотида флуоресцировать в несвязанном состоянии, тогда как его взаимодействие с РНК вело к значительному уменьшению излучения [13]. В случае S-аденозилметионинового рибосвича использовали РНКазу H (*RNase H*). Паттерны расщепления мРНК нуклеазой различались в зависимости от присутствия или отсутствия метаболита [14].

Для изучения основ специфичности рибосвичей используют структурные аналоги лигандов. Например, с помощью орнитина, D-лизина, гидроксизина и других структурных аналогов L-лизина было показано, что для связывания лизинового рибосвича с лигандом необходимы карбоксильная группа и аминогруппа, а также важна длина боковой цепи этой аминокислоты [15].

В исследовании основ функционирования рибосвичей большое значение имеет использование таких методов, как рентгеноструктурный анализ и ЯМР-спектроскопия. Например, с помощью рентгеноструктурного анализа были идентифицированы участки молекулы тиаминпирофосфата (ТПФ), необходимые для связывания с риборегулятором. Рибосвич формирует полость для связывания лиганда, которая взаимодействует с пиримидиновой и пирофосфатной частями ТПФ, тогда как центральная часть ТПФ – тиазольная – не участвует в образовании каких-либо связей с аптамером рибосвича [16, 17]. Пиритиамин имеет все необходимые участки для связывания с рибосвичем, что вызывает остановку экспрессии генов, синтезирующих витамин В₁. Этим объясняется антимикробное действие пиритиамина. Бактерии и грибы, устойчивые к этому веществу, содержат однонуклеотидную замену, приводящую к неспособности рибосвича образовывать функциональную пространственную структуру [18].

Важнейшим методом в поиске новых классов рибосвичей является анализ *in silico* секвенированных геномов. Например, наличие консервативных последовательностей, обладающих схожей пространственной структурой в 5'-нетранслируемых областях бактериальных Мрнк, позволило обнаружить ряд новых рибосвичей, таких, как SAH, Moco, rgeQ₁ и др. [19]. Впоследствии было показано, что идентифицированные риборегуляторы действительно связывают метаболиты и регулируют экспрессию генов [20–22].

2. Классы рибосвичей

Рибосвичи найдены во всех трех доменах живых организмов: архей, эубактерий и эукариот. Рибосвич состоит из аптамеровой части и экспрессионной платформы. Аптамер каждого класса рибосвича составляют высоко консервативные нуклеотидные последовательности, которые образуют одинаковые пространственные структуры у разных видов организмов. Связывание лиганда с аптамером вызывает конформационные перестройки в молекуле РНК, что приводит к изменениям эффективности транскрипции, трансляции и сплайсинга. Это достигается за счет второго компонента рибосвича – экспрессионной платформы, которая находится непосредственно после аптамера [23]. Она не обладает какими-либо высоко консервативными участками, но изменения в ее пространственной структуре ответственны за проявления биологической функции рибосвичей. Связывание метаболита аптамером происходит без участия экспрессионной платформы или каких-либо белковых факторов. Длина известных аптамеров составляет, как правило, 70–200 нуклеотидов, тогда как экспрессионные платформы более разнообразны по длине и структуре.

В настоящее время известно более десяти классов рибосвичей, которые связывают разнообразные метаболиты. Все известные лиганды можно разделить на 5 групп: ионы металлов, белковые кофакторы, пурины и их производные, аминокислоты и аминокислоты.

2.1. Магниевоый рибосвич. Наименьшим известным лигандом риборегуляторов является ион магния. В настоящее время обнаружено два класса магниевоых рибосвичей, регулирующих экспрессию генов, белковые продукты которых участвуют в транспорте данного катиона. Первый риборегулятор, связывающий

магний, был обнаружен в гене *mgtA Salmonella enterica*. [24]. В этой бактерии внеклеточный уровень магния определяется системой белков *PhoP/PhoQ* [25], тогда как внутриклеточный уровень контролируется рибосвичем. Находясь в 5'-нетранслируемой области гена *mgtA*, риборегулятор «измеряет» цитоплазматический уровень иона и, если он высок, преждевременно терминирует транскрипцию. Двойной механизм контроля работы гена *mgtA* позволяет клеткам *Salmonella enterica* надежнее сохранять необходимое для метаболизма количество иона.

С помощью биоинформатических методов была идентифицирована консервативная последовательность (названная M-box) в нескольких видах грамположительных бактерий, которая, как предполагалось, выполняет роль риборегулятора, связывающего магний [19]. Позднее на примере гена *mgtE Bacillus subtilis* было показано, что обнаруженный рибосвич селективно связывает 6 ионов магния, что вызывает формирование более компактной третичной структуры экспрессионной платформы, приводящей к терминации транскрипции [26].

Необходимо также отметить важную роль магния в функционировании многих РНК [27, 28]. Был продемонстрирован стабилизационный эффект магния на третичную структуру РНК [29]. После открытия рибосвичей началось изучение влияния ионов магния на функционирование самих риборегуляторов. Например, было показано, что увеличение концентрации магния ведет к более прочному связыванию гипоксантина с пуриновым рибосвичем [30]. Такой же эффект наблюдается для тиаминового рибосвича, поскольку магний позволяет взаимодействовать двум отрицательно заряженным молекулам: РНК и фосфатной группе тиаминпирофосфата [31].

2.2. Рибосвичи, связывающие белковые кофакторы. Лигандами рибосвичей являются такие кофакторы, как S-аденозилметионим, S-гомоцистеин, флаavin мононуклеотид, аденозилкобаламин, молибденовый и вольфрамовый коферменты, тиаминпирофосфат.

S-аденозилметиониновый и S-аденозилгомоцистеиновый рибосвичи. S-аденозилметионин (SAM) принимает участие в реакциях трансметилирования, тогда как S-аденозилгомоцистеин (SAH) является продуктом реакции переноса метильной группы с SAM [32]. Первым был обнаружен класс рибосвичей, названный SAM-I [14, 33–35]. Этот участок РНК был назван S-box. С помощью генетического и мутационного анализа было показано, что регулируется терминация транскрипции [33].

Сравнение нуклеотидных последовательностей генов, выполняющих те же функции у граммотрицательных бактерий, позволило идентифицировать второй класс SAM-рибосвичей – SAM-II [36]. Он характеризуется наличием другой консервативной последовательности аптамера, которую образуют только 40–65 нуклеотидов (тогда как аптамер SAM-I состоит из 100–150).

При анализе 5'-нетранслируемых областей гена SAM синтетазы у молочнокислых бактерий был обнаружен третий класс SAM-рибосвичей – SAM-III (или S_{МК}) [37]. Для SAM-рибосвичей второго и третьего классов характерна регуляция экспрессии на уровне инициации трансляции.

Четвертый класс SAM-рибосвичей был найден в актиномицетах [38]. Пятый класс SAM-рибосвичей (SAM-V) был обнаружен в морских альфа-бактериях, он обладает схожим с SAM-II строением аптамеровой части рибосвича [39].

Распространение SAM-рибосвичей среди бактерий неравномерно. Самым распространенным классом является SAM-I, рибосвичи которого обнаружены в *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria* и многих других микроорганизмах. Распространение остальных групп SAM-рибосвичей ограничено, как правило, одной группой бактерий. Например, SAM-II найден в *Proteobacteria*, тогда как SAM-III – в *Firmicutes*.

В результате переноса метильной группы с SAM образуется S-аденозилгомоцистеин (SAH), который при больших концентрациях ингибирует реакцию трансметилирования, поэтому существуют механизмы, определяющие и удаляющие избыток SAH. В некоторых видах бактерий подобную функцию выполняет SAH-рибосвич [40]. Находясь в генах катаболизма SAH, рибосвич активирует их экспрессию при накоплении метаболита.

Флавиновый рибосвич. Аптамеровая часть этого рибосвича, первоначально названная RFN-элементом, была найдена в нуклеотидных последовательностях генов, контролирующих синтез и транспорт рибофлавина (витамин B₂) [41–43]. Рибофлавин является предшественником в синтезе флавинмононуклеотида, и хотя различие между двумя молекулами заключается в одной фосфатной группе, аффинность рибосвича в 100 раз больше, чем для флавинмононуклеотида [44].

Консервативная нуклеотидная последовательность аптамера позволила обнаружить флавиновый рибосвич во многих бактериальных видах [45]. RFN-элемент регулирует, как правило, единичные гены биосинтеза рибофлавина в грамотрицательных бактериях, тогда как в грамположительных под регуляцией находятся целые опероны.

Кобаламиновый рибосвич. Синтезируемый только прокариотами витамин B₁₂ (кобаламин) является кофактором нескольких важных ферментов, катализирующих различные реакции трансметилирования [46]. Экспрессия *cob*-оперона *Salmonella typhimurium*, а также гена *btuB* *E. coli*, ответственного за транспорт, прекращается при добавлении витамина B₁₂ [11, 47]. Для проявления такой регуляции необходим длинный 5'-нетранслируемый регион соответствующих мРНК. Этот регион содержит консервативную нуклеотидную последовательность B₁₂-box [47]. Затем была обнаружена и молекула, ответственная за регуляцию генов биосинтеза витамина B₁₂, которой является одна из форм кобаламина – аденозилкобаламин [11].

Сравнительный анализ 5'-нетранслируемых областей генов, участвующих в метаболизме витамина, показал наличие консервативного кобаламинового аптамера в геномах 67 видов прокариот [48]. Кобаламиновый рибосвич регулирует также гены, белковые продукты которых принимают участие в метаболизме порфирина и кобальта [49].

Рибосвичи, связывающие молибденовый и вольфрамовый коферменты. Данный вид рибосвичей был идентифицирован с помощью биоинформатических методов [19]. Молибденовый кофермент (Мосо) является коэнзимом многих белков, участвующих в метаболизме углерода, азота и серы [50]. Мосо-рибосвич регулирует экспрессию генов, участвующих в синтезе и транспорте

кофермента, и, как правило, представлен единичной копией в геноме бактерий [22]. Однако известны организмы, в которых содержатся несколько Мосо-рибосвичей: в бактерии *Syntrophomonas wolfei* (сульфитредуцирующие клостридии), например, обнаружено 15 копий этого риборегулятора. Биоинформатический анализ позволил идентифицировать также вторую группу консервативных последовательностей, схожих с Мосо-рибосвичем, но характеризующихся отсутствием одной шпильки во вторичной структуре РНК. Данный риборегулятор находится в генах, участвующих в синтезе и транспорте вольфрамового кофермента (Tусо), отличающегося от Мосо только наличием другого металла. Необходимо отметить, что, несмотря на структурное сходство двух лигандов, Мосо- и Tусо-рибосвичи связывают только свои лиганды [22].

Тиаминовый рибосвич. Тиаминовый рибосвич является самым распространенным среди всех классов рибосвичей. Он был найден в большинстве таксономических групп бактерий, у архей (*Thermoplasma*) и некоторых эукариот. Лигандом этого рибосвича является тиаминпирофосфат.

В 5'-нетранслируемой области генов биосинтеза тиамин был обнаружена 211-нуклеотидная последовательность, содержащая консервативный 38-нуклеотидный участок, названный thi-box. В последующем было показано, что он ответственен за уменьшение экспрессии оперона *thiCOGE* при увеличении концентрации ТПФ в *Rhizobium etli* [51]. Регуляция происходила за счет образования вторичных структур в районе последовательности Шайн – Дальгарно и подавления инициации трансляции.

Консервативность аптамера позволила найти ТПФ-рибосвич в геноме эукариот: арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*), риса (*Oryza sativa*) и грибов (*Neurospora crassa*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae*) [52]. Позднее ТПФ-рибосвич был идентифицирован в генах водорослей [53]. Во всех случаях ТПФ-рибосвич находится в генах, ответственных за синтез тиамин.

Необходимо отметить, что ТПФ-рибосвич эукариот ответственен за регуляцию альтернативного сплайсинга [54, 55]. В арабидопсисе ТПФ-рибосвич находится в 3'-нетранслируемой области гена *THIC*. В результате транскрипции и альтернативного сплайсинга образуются две изоформы мРНК, различающиеся длиной нуклеотидной последовательности 3'-некодирующей части [55]. При повышении концентрации тиаминпирофосфата образуется изоформа, которая быстро деградирует в процессе нонсенс-опосредованного разрушения мРНК [56]. Таким образом, контроль экспрессии гена *THIC* в клетках арабидопсиса происходит благодаря альтернативному сплайсингу, регулируемому ТПФ-рибосвичем, и нонсенс-опосредованному разрушению мРНК.

2.3. Рибосвичи, связывающие пурины, и их производные. Это группа из 5 рибосвичей, лигандами которых являются гуанин, аденин, дезоксигуанозин, 7-аминометил-7-дезагуанин и циклический дигуанозин монофосфат. Первоначально пуриновый рибосвич был обнаружен в *Bacillus subtilis*. Гуанин вызывал подавление экспрессии оперона *xpt-pbuX*, но белкового фактора, ответственного за подобный эффект, обнаружено не было [57]. Анализ нуклеотидной последовательности позволил найти высоко консервативный регион, названный G-box. Этот участок является аптамером гуанинового рибосвича [58].

Гуаниновый рибосвич был найден в 5 транскрипционных единицах у *B. subtilis*, включая оперон *pur*, гены которого участвуют в синтезе и транспорте гуанина. Гуаниновый рибосвич обладает высокой аффинностью к своему лиганду, не связывая аденин и другие аналоги пурина.

Вскоре после этого был идентифицирован адениновый рибосвич в генах, белковые продукты которых участвуют в транспорте и синтезе аденина [59]. Несмотря на то что между адениновым и гуаниновым рибосвичами только 59% гомологии, они образуют одинаковые третичные структуры [60]. Рибосвич образует полость для селективного связывания лиганда, в которой находится нуклеотид, определяющий специфичность риборегулятора, и три консервативных нуклеотида, образующих водородные связи с пурином [61, 62]. Ключевым нуклеотидом в аптамере, детерминирующим связывание аденина, является урацил, и его замена на цитозин ведет к изменению специфичности риборегулятора к гуанину [59].

Впоследствии в *Mesoplasma florum* была обнаружена нуклеотидная последовательность, очень похожая на последовательность пуриновых рибосвичей, но ключевые замены нуклеотидов в аптамере указывали на то, что этот риборегулятор связывает лиганд, отличный от аденина и гуанина [21]. Этот рибосвич обнаружен в гене рибонуклеотид редуктазы, превращающей фосфорилированный рибонуклеотид в дезоксирибонуклеотид [63], поэтому лигандом для него мог быть дезоксинуклеотид. Дальнейшие эксперименты показали, что новый риборегулятор связывает дезоксигуанозин и вызывает терминацию транскрипции гена рибонуклеотид редуктазы [21].

Путем поиска гомологичных нуклеотидных последовательностей в нетранслируемых областях бактериальных генов был обнаружен 7-аминометил-7-дезагуаниновый (*preQ*₁) рибосвич [20, 64, 65]. *preQ*₁ представляет собой модифицированный пурин – предшественник квеузона, находящегося в антикодоне некоторых тРНК [66]. Этот рибосвич найден в генах, участвующих в биосинтезе квеузона, и в 40% случаев регулирует транскрипцию, а в остальных – трансляцию. Его аптамер составляет всего 34 нуклеотида, однако небольшой размер и простота строения не препятствуют рибосвичу связывать свой лиганд с высокой селективностью.

Последним известным на сегодняшний день пуриновым риборегулятором является рибосвич, связывающий циклический дигуанозин монофосфат (c-di-GMP) [67]. Этот метаболит играет роль вторичного посредника в бактериальных клетках и регулирует активность различных генов и белков в ответ на внеклеточные сигналы [68, 69]. Связывающий молекулу c-di-GMP рибосвич, также известный как GEMM-мотив (Genes for the Environment, for Membranes and for Motility) [19], обнаружен не только в генах синтеза и деградации c-di-GMP, но и, например, в генах, ответственных за формирование жгутиков и регуляции вирулентности. Эта особенность отличает данный тип рибосвичей от других, контролирующих только метаболизм своих лигандов и их производных.

2.4. Рибосвичи, связывающие аминокислоты.

Лизинный рибосвич. Было известно, что экспрессия оперона *lysC* *B. subtilis*, участвующего в биосинтезе лизина, контролируется количеством

этой аминокислоты: при выращивании бактерии на среде с лизином наблюдалось накопление короткого транскрипта данного оперона, что указывало на преждевременную терминацию транскрипции [70]. Анализ нетранслируемых областей генов синтеза лизина разных видов бактерий показал наличие консервативного участка, названного L-box, который связывает аминокислоту и непосредственно участвует в регуляции экспрессии [71, 72].

В клетке существует большое количество структурных аналогов лизина, но рибосвич связывает только данную аминокислоту. Однако известна молекула, способная, хотя и с меньшей эффективностью, связываться с лизиновым рибосвичем и регулировать экспрессию. Это аминокислота (АЕС) – молекула, в которой атом углерода в боковой цепи заменен на атом серы. Данное вещество обладает антимикробным эффектом, поскольку способно уменьшать экспрессию генов, контролирующих синтез лизина [15].

Глициновый рибосвич. Открытию глицинового рибосвича предшествовало обнаружение двух консервативных регионов РНК, соединенных короткой нуклеотидной последовательностью, в генах метаболизма глицина [72]. Как правило, эти домены находились в 5'-нетранслируемых областях генов, принимающих участие в катаболизме и транспорте этой аминокислоты. Биохимические исследования показали, что у *B. subtilis* с каждым доменом связывается одна молекула глицина [73]. Связывание лиганда одним аптамером увеличивало аффинность второго в 1000 раз. Это кооперативное связывание позволяет функционировать рибосвичу в больших границах концентраций лиганда по сравнению с другими классами риборегуляторов и более точно регулировать экспрессию генов.

Тандем двух аптамеров в одном рибосвиче был обнаружен не только в глициновом риборегуляторе. Оперон *thiSGHFE* в нескольких видах *Desulfovibrio* содержит два участка, связывающих ТПФ, которые дополняют друг друга в регуляции экспрессии этого оперона [74]. Кроме того, известны гены, в которых находятся рибосвичи, связывающие разные лиганды. Например, ген *metE* *Bacillus clausii* кодирует белок синтеза метионина и содержит два аптамера, взаимодействующих с аденозилкобаламином и S-аденозилметионином. Тандемное расположение рибосвичей в данном гене позволяет клетки синтезировать метионин менее энергозатратным способом [75].

2.6. Глюкозоамин-6-фосфатный рибосвич. Риборегулятор, связывающий аминокислоту – глюкозоамин-6-фосфат, является рибозимом, способным катализировать разрушение собственной мРНК. Глюкозоамин-6-фосфатный рибосвич был обнаружен в грамположительных бактериях [76]. Например, у *B. subtilis* он находится в гене *glmS*, белковый продукт которого катализирует синтез глюкозоамин-6-фосфата из фруктозы-6-фосфата и глутамина [77]. Было показано, что инкубация глюкозоамин-6-фосфата с 5'-фрагментом мРНК гена *glmS* приводит к быстрому расщеплению последнего в консервативном участке. Использование структурных аналогов этого лиганда не вызывает подобного эффекта: глюкозоамин-6-сульфат приводит к специфическому однонуклеотидному расщеплению рибосвича, но при этом требуется увеличение его концентрации в 100 раз [78]. Изучение кристаллической структуры рибозима позволило определить функциональную группу лиганда, участвующего в расщеплении РНК: разрыв

фосводиэфирной связи происходит с помощью аминокетильной группы глюкозамина-6-фосфата [79, 80]. Это подтверждается также тем фактом, что глюкозамина-6-фосфат, имея вместо аминокетильной группы гидроксильную, функционирует как конкурентный ингибитор рибозима. Необходимо отметить, что лиганд не приводит к каким-либо структурным перестройкам в глюкозамина-6-фосфатном рибосвике, а является кофактором в реакции расщепления молекулы РНК. Это показывает, что РНК, как и белки, используют все химическое разнообразие небольших молекул для обеспечения своей каталитической активности.

Отметим, что наиболее распространенными способами контроля экспрессии генов являются регуляция транскрипции и регуляция трансляции. Однако механизм действия одного и того же класса рибосвича может различаться в разных организмах. У грамположительных бактерий преобладает терминация транскрипции, тогда как у грамотрицательных – блокирование инициации трансляции [81].

3. Практическое применение рибосвичей

Природные или полученные *in vitro* молекулы РНК, содержащие рибосвичи, могут найти применение в исследованиях, в которых необходима контролируемая работа изучаемого гена. В некоторых случаях регуляция этим способом может оказаться более простой по сравнению с классическими способами, поскольку не требует наличия специфических белков-регуляторов и молекул-эффекторов, свободно проникающих в клетку. Поскольку один белок-регулятор способен взаимодействовать только с одним типом молекулы-эффектора, необходимо использовать разные пептиды и разные эффекторы, если стоит задача регуляции нескольких генов. Использование рибосвичей и соответствующих лигандов позволяет избирательно инактивировать работу определенного гена или оперона, контролирующего синтез этого лиганда. Однако использование природных рибосвичей также имеет свои сложности, поскольку известные лиганды являются очень важными элементами в метаболизме клетки и изменять концентрацию таких молекул сложно. Эта проблема может быть решена путем получения искусственных рибосвичей, которые способны с высокой селективностью связывать различные вещества.

Огромный прогресс был сделан в последние годы в получении таких рибосвичей. Аптамеры, полученные с помощью *in vitro* селекции (SELEX) [82], способны регулировать экспрессию исследуемых генов. Например, аптамер, способный связываться с тетраметилпрозином, был вставлен в 5'-часть одного из генов дрожжей [83]. Добавление данного лиганда приводило к подавлению инициации трансляции транскрипта соответствующего гена. Это объясняется тем, что аптамер в связанном состоянии образует вторичные структуры, которые не дают возможность рибосоме взаимодействовать с мРНК. Имеются также примеры регуляции экспрессии бактериальных генов и генов плазмид растений теофиллином [84, 85]. Использование рибосвичей, обладающих рибозимной активностью, также является многообещающим механизмом управляемой регуляции генной экспрессии [86, 87].

Рибосвичи, поскольку они регулируют несколько очень важных метаболических путей, могут оказаться перспективными моделями для поиска потенциальных антимикробных веществ. Можно предположить, что гипотетический

лиганд, связывающийся, например, с S-аденозилметиониновым рибосвичем, будет способен ингибировать работу генов, участвующих в биосинтезе метионина, цистеина. Понятно, что подавление синтеза этих важнейших аминокислот окажется летальным для бактериальной клетки. Обнаружение или искусственный синтез лигандов, способных связываться с рибосвичами бактериальной клетки, может явиться хорошей альтернативой терапии, основанной на применении антибиотиков. Поиски подходящих для этих целей рибосвичей и их лигандов только начаты. Однако АЕС (антимикробное вещество) и розеофлавин, связывающиеся с лизиновым и флавиновым рибосвичами соответственно [15, 88], указывают на принципиальную возможность получения молекул, которые потенциально можно использовать для борьбы с патогенными микроорганизмами.

Заключение

Рибосвичи – это регуляторы генной экспрессии, которые функционируют без помощи белковых факторов и отвечают за контроль важных метаболических путей в клетке. До сегодняшнего дня обнаружено 16 классов рибосвичей, регулирующих сотни генов в нескольких геномах (например, около 2% генов *Bacillus subtilis* содержат данные элементы) [23]. Во всех случаях рибосвичи характеризуются компактной вторичной структурой РНК, которая образует высокоспецифичный сайт связывания с небольшой молекулой. Говоря о низкомолекулярных веществах, которые могут связываться с рибосвичами, следует отметить, что большинство из них имеет азотсодержащее гетероциклическое кольцо. С геномной точки зрения рибосвичи имеют две особенности, отличающие их от других механизмов регуляции. Во-первых, они были обнаружены во всех доменах живых организмов. Например, тиаминовым рибосвичем обладают археи, эубактерии и эукариоты. Два других рибосвича, связывающие витамины (флавин мононуклеотид и витамин В₁₂), идентифицированы во всех бактериальных группах. Во-вторых, они регулируют различные процессы в клетке. Это может быть регуляция транскрипции (чаще всего наблюдается терминация транскрипции), ингибирование инициации трансляции и регуляция альтернативного сплайсинга.

Summary

S. Yu. Malanin, B. I. Barabanschikov. Riboswitches Are a New Class of Gene Expression Regulators.

Regulation of gene expression by riboswitches is discussed in the present review. Riboswitches are noncoding RNA elements which directly bind small molecule ligands and regulate transcription, translation, stability and alternative splicing of RNA transcripts. The control of gene expression in this case occurs without protein factors, therefore riboswitches may be considered as ancient regulatory systems, which evolved during the prebiotic RNA world. A riboswitch is composed of two domains: a 5' highly conserved aptamer domain responsible for specific binding of a small molecule and a downstream expression platform that regulates expression by alteration of RNA secondary structure. In Gram-negative bacteria, such switch in the secondary structure leads to the sequestration of SD (Shine-Dalgarno) sequence, whereas in Gram-positive bacteria an attenuation of transcription occurs in most cases. Riboswitches are a widespread mechanism for regulation of gene expression. These elements were found not only in bacteria and archaea, but also in eukaryotic organisms (several species of fungi and plants).

Moreover, riboswitches affect many metabolic pathways in cells; synthesis of vitamins, amino acids, purins and several other molecules is regulated by the given mechanism.

The current review describes the discovery and methods for investigation of these riboregulators. A description of all known riboswitch classes is also given based on classification of its cognate ligands. The review contains our own data about the regulation of thiamine synthesis in Arabidopsis plants by TPP riboswitch by means of alternative splicing control. Moreover, practical applications of natural and artificial riboswitches are considered which can be used as antibacterial drug targets or tools for regulation of gene expression in functional genomics and biotechnology.

Key words: riboswitch, ligands, regulation of gene expression, bacteria, Arabidopsis.

Литература

1. Henkin T.M., Yanofsky C. Regulation by transcription attenuation in bacteria: how RNA provides instructions for transcription termination/antitermination decisions // Bioessays. – 2002. – V. 24, No 8. – P. 700–707.
2. Nelson A.R., Henkin T.M., Agris P.F. tRNA regulation of gene expression: interactions of an mRNA 5'-UTR with a regulatory tRNA // RNA. – 2006. – V. 12, No 7. – P. 1254–1261.
3. Storz G., Opdyke J.A., Zhang A. Controlling mRNA stability and translation with small, noncoding RNAs // Curr. Opin. Microbiol. – 2004. – V. 7, No 2. – P. 140–144.
4. Chowdhury S., Ragaz C., Kreuger E., Narberhaus F. Temperature-controlled structural alterations of an RNA thermometer // J. Biol. Chem. – 2003. – V. 278, No 48. – P. 47915–47921.
5. Winkler W.C., Breaker R.R. Regulation of bacterial gene expression by riboswitches // Annu. Rev. Microbiol. – 2005. – V. 59. – P. 487–517.
6. Roth A., Breaker R.R. The structural and functional diversity of metabolite-binding riboswitches // Annu. Rev. Biochem. – 2009. – V. 78. – P. 305–334.
7. Dambach M.D., Winkler W.C. Expanding roles for metabolite-sensing regulatory RNAs // Curr. Opin. Microbiol. – 2009. – V. 12, No 2. – P. 161–169.
8. Wachter A. Riboswitch-mediated control of gene expression in eukaryotes // RNA Biol. – 2010. – V. 7, No 1. – P. 67–76.
9. Miranda-Rios J., Morera C., Taboada H., Davalos A., Encarnacion S., Mora J., Soberon M. Expression of thiamine biosynthetic genes (*thiCOGE*) and production of symbiotic terminal oxidase *cbb3* in *Rhizobium etli* // J. Bacteriol. – 1997. – V. 179, No 22. – P. 6887–6893.
10. Lundrigan M.D., Köster W., Kadner R.J. Transcribed sequences of the *Escherichia coli* *btuB* gene control its expression and regulation by vitamin B12 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1991. – V. 88, No 4. – P. 1479–1483.
11. Ravnum S., Andersson D.I. An adenosyl-cobalamin (coenzyme-B12)-repressed translational enhancer in the *cob* mRNA of *Salmonella typhimurium* // Mol. Microbiol. – 2001. – V. 39, No 6. – P. 1585–1594.
12. Nahvi A., Sudarsan N., Ebert M.S., Zou X., Brown K.L., Breaker R.R. Genetic control by a metabolite binding mRNA // Chem. Biol. – 2002. – V. 9, No 9. – P. 1043–1049.
13. Mironov A.S., Gusarov I., Rafikov R., Lopez L.E., Shatalin K., Kreneva R.A., Perumov D.A., Nudler E. Sensing small molecules by nascent RNA: a mechanism to control transcription in bacteria // Cell. – 2002. – V. 111, No 5. – P. 747–756.
14. Epshtein V., Mironov A.S., Nudler E. The riboswitch-mediated control of sulphur metabolism in bacteria // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – V. 100, No 9. – P. 5052–5056.

15. *Sudarsan N., Wickiser J.K., Nakamura S., Ebert M.S., Breaker R.R.* An mRNA structure in bacteria that controls gene expression by binding lysine // *Genes Dev.* – 2003. – V. 17, No 21. – P. 2688–2697.
16. *Serganov A., Polonskaia A., Phan A.T., Breaker R.R., Patel D.J.* Structural basis for gene regulation by a thiamine pyrophosphate-sensing riboswitch // *Nature.* – 2006. – V. 441, No 7097. – P. 1167–1171.
17. *Thore S., Leibundgut M., Ban N.* Structure of the eukaryotic thiamine pyrophosphate riboswitch with its regulatory ligand // *Science.* – 2006. – V. 312, No 5777. – P. 1208–1211.
18. *Sudarsan N., Cohen-Chalamish S., Nakamura S., Emilsson G.M., Breaker R.R.* Thiamine pyrophosphate riboswitches are targets for the antimicrobial compound pyrithiamine // *Chem. Biol.* – 2005. – V. 12, No 12. – P. 1325–1335.
19. *Weinberg Z., Barrick J.E., Yao Z., Kim J.N., Gore J., Wang J.X., Lee E.R., Block K.F., Sudarsan N., Neph S., Tompa M., Ruzzo W.L., Breaker R.R.* Identification of 22 candidate structured RNAs in bacteria using the CMfinder comparative genomics pipeline // *Nucleic Acids Res.* – 2007. – V. 35, No 14. – P. 4809–4819.
20. *Roth A., Winkler W.C., Regulski E.E., Lee B.W., Lim J., Jona I., Barrick J.E., Ritwik A., Kim J.N., Welz R., Iwata-Reuyl D., Breaker R.R.* A riboswitch selective for the queuosine precursor preQ1 contains an unusually small aptamer domain // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2007. – V. 14, No 4. – P. 308–317.
21. *Kim J.N., Roth A., Breaker R.R.* Guanine riboswitch variants from *Mesoplasma florum* selectively recognize 2'-deoxyguanosine // *Proc. Natl. Sci. USA.* – 2007. – V. 104, No 41. – P. 16092–16097.
22. *Regulski E.E., Moy R.H., Weinberg Z., Barrick J.E., Yao Z., Ruzzo W.L., Breaker R.R.* A widespread riboswitch candidate that controls bacterial genes involved in molybdenum cofactor and tungsten cofactor metabolism // *Mol. Microbiol.* – 2008. – V. 68, No 4. – P. 918–932.
23. *Winkler W.C., Breaker R.R.* Genetic control by metabolite binding riboswitches // *Chem-biochem.* – 2003. – V. 4, No 10. – P. 1024–1032.
24. *Cromie M.J., Shi Y., Latifi T., Groisman E.A.* An RNA sensor for intracellular Mg^{2+} // *Cell.* – 2006. – V. 125. – P. 71–84.
25. *Groisman E.A.* The pleiotropic two-component regulatory system PhoP–PhoQ // *J. Bacteriol.* – 2001. – V. 183, No 6. – P. 1835–1842.
26. *Dann C.E., Wakeman C.A., Sieling C.L., Baker S.C., Irnov I., Winkler W.C.* Structure and mechanism of a metal-sensing regulatory RNA // *Cell.* – 2007. – V. 130, No 5. – P. 878–892.
27. *Draper D.E., Grilley D., Soto A.M.* Ions and RNA folding // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* – 2005. – V. 34. – P. 221–243.
28. *Woodson S.A.* Metal ions and RNA folding: a highly charged topic with a dynamic future // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2005. – V. 9, No 2. – P. 104–109.
29. *Grilley D., Soto A.M., Draper D.E.* Mg^{2+} -RNA interaction free energies and their relationship to folding of RNA tertiary structures // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – V. 103, No 38. – P. 14003–14008.
30. *Gilbert S.D., Stoddard C.D., Wise S.J., Batey R.T.* Thermodynamic and kinetic characterization of ligand binding to the purine riboswitch aptamer domain // *J. Mol. Biol.* – 2006. – V. 359, No 3. – P. 754–768.
31. *Yamauchi T., Miyoshi D., Kubodera T., Nishimuta A., Nakai S., Sugimoto N.* Roles of Mg^{2+} in TPP-dependent riboswitch // *FEBS Lett.* – 2005. – V. 579, No 12. – P. 2583–2588.

32. Takusagawa F., Fujioka M., Spies A., Schowen R.L. S-adenosylmethionine (AdoMet)-dependent methyltransferases // *Comprehensive Biological Catalysis* / Ed. by M. Sinnott. – San Diego, CA: Acad. Press, 1998. – V. 1. – P. 1–30.
33. McDaniel B.A.M., Grundy F.J., Artsimovitch I., Henkin T.M. Transcription termination control of the S box system: direct measurement of S-adenosylmethionine by the leader RNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2003. – V. 100, No 6. – P. 3083–3088.
34. Winkler W.C., Nahvi A., Sudarsan N., Barrick J.E., Breaker R.R. An mRNA structure that controls gene expression by binding S-adenosylmethionine // *Nat. Struct. Biol.* – 2003. – V. 10, No 9. – P. 701–707.
35. Montage R.K., Batey R.T. Structure of the S-adenosylmethionine riboswitch regulatory mRNA element // *Nature*. – 2006. – V. 441, No 7097. – P. 1172–1175.
36. Corbino K.A., Barrick J.E., Lim J., Welz R., Tucker B.J., Puskarz I., Mandal M., Rudnick N.D., Breaker R.R. Evidence for a second class of S-adenosylmethionine riboswitches and other regulatory RNA motifs in alpha-proteobacteria // *Genome Biol.* – 2005. – V. 6, No 8. – P. R70-1–R70-10.
37. Fuchs R.T., Grundy F.J., Henkin T.M. The S(MK) box is a new SAM-binding RNA for translational regulation of SAM synthetase // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2006. – V. 13, No 3. – P. 226–233.
38. Weinberg Z., Regulski E.E., Hammond M.C., Barrick J.E., Yao Z., Ruzzo W.L., Breaker R.R. The aptamer core of SAM-IV riboswitches mimics the ligand-binding site of SAM-I riboswitches // *RNA*. – 2008. – V. 14, No 5. – P. 822–828.
39. Poiata E., Meyer M.M., Ames T.D., Breaker R.R. A variant riboswitch aptamer class for S-adenosylmethionine common in marine bacteria // *RNA*. – 2009. – V. 15, No 11. – P. 2046–2056.
40. Wang J.X., Lee E.R., Morales D.R., Lim J., Breaker R.R. Riboswitches that sense S-adenosylhomocysteine and activate genes involved in coenzyme recycling // *Mol. Cell*. – 2008. – V. 29, No 6. – P. 691–702.
41. Gelfand M.S., Mironov A.A., Jomantas J., Kozlov Y.I., Perumov D.A. A conserved RNA structure element involved in the regulation of bacterial riboflavin synthesis genes // *Trends Genet.* – 1999. – V. 15, No 11. – P. 439–442.
42. Serganov A., Huang L., Patel D.J. Coenzyme recognition and gene regulation by a flavin mononucleotide riboswitch // *Nature*. – 2009. – V. 458, No 7235. – P. 233–237.
43. Миронов А.С., Карелов Д.В., Соловьева И.М., Еремينا С.Ю., Эрраис Л.Л., Кренева З.А., Перумов Д.А. Исследование связи вторичной структуры и регуляторной активности лидерного транскрипта оперона биосинтеза рибофлавина у *Bacillus subtilis* // *Генетика*. – 2008. – Т. 44, № 4. – С. 467–473.
44. Winkler W.C., Cohen-Chalamish S., Breaker R.R. An mRNA structure that controls gene expression by binding FMN // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2002. – V. 99, No 25. – P. 15908–15913.
45. Vitreschak A.G., Rodionov D.A., Mironov A.A., Gelfand M.S. Regulation of riboflavin biosynthesis and transport genes in bacteria by transcriptional and translational attenuation // *Nucleic Acids Res.* – 2002. – V. 30, No 14. – P. 3141–3151.
46. Martens J.H., Barg H., Warren M.J., Jahn D. Microbial production of vitamin B12 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2002. – V. 58, No 3. – P. 275–285.
47. Franklund C.V., Kadner R.J. Multiple transcribed elements control expression of the *Escherichia coli* *btuB* gene // *J. Bacteriol.* – 1997. – V. 179, No 12. – P. 4039–4042.
48. Vitreschak A.G., Rodionov D.A., Mironov A.A., Gelfand M.S. Regulation of the vitamin B₁₂ metabolism and transport in bacteria by a conserved RNA structural element // *RNA*. – 2003. – V. 9, No 9. – P. 1084–1097.

49. Nahvi A., Barrick J.E., Breaker R.R. Coenzyme B12 riboswitches are widespread genetic control elements in prokaryotes // *Nucleic Acids Res.* – 2004. – V. 32, No 1. – P. 143–150.
50. Baugh P.E., Collison D., Gamer C.D., Joule J.A. Molybdenum metalloenzymes // *Comprehensive Biological Catalysis* / Ed. by M. Sinnott. – San Diego, CA: Acad. Press, 1998. 1998. – V. III. – P. 377–400.
51. Winkler W., Nahvi A., Breaker R.R. Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression // *Nature.* – 2002. – V. 419, No 6910. – P. 952–956.
52. Sudarsan N., Barrick J.E., Breaker R.R. Metabolite-binding RNA domains are present in the genes of eukaryotes // *RNA.* – 2003. – V. 9, No 6. – P. 644–647.
53. Croft M.T., Moulin M., Webb M.E., Smith A.G. Thiamine biosynthesis in algae is regulated by riboswitches // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – V. 104, No 52. – P. 20770–20775.
54. Cheah M.T., Wachter A., Sudarsan N., Breaker R.R. Control of alternative RNA splicing and expression by eukaryotic riboswitches // *Nature.* – 2007. – V. 447, No 7143. – P. 497–501.
55. Wachter A., Tunc-Ozdemir M., Grove B.C., Green P.J., Shintani D., Breaker R.R. Riboswitch Control of Gene Expression in Plants by Splicing and Alternative 3' End Processing of mRNAs // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19, No 11. – P. 3437–3450.
56. Маланин С.Ю., Никифорова В.Ю. Связь альтернативного сплайсинга и нонсенс-опосредованного разрушения мРНК (NMD) в регуляции экспрессии гена *THIC* у арабидопсиса // *Физиол. раст.* – 2010. – Т. 57, № 2. – С. 280–286.
57. Christiansen L.C., Schou S., Nygaard P., Saxild H.H. Xanthine metabolism in *Bacillus subtilis*: characterization of the *xpt-pbuX* operon and evidence for purine- and nitrogen-controlled expression of genes involved in xanthine salvage and catabolism // *J. Bacteriol.* – 1997. – V. 179, No 8. – P. 2540–2550.
58. Mandal M., Boese B., Barrick J.E., Winkler W.C., Breaker R.R. Riboswitches control fundamental biochemical pathways in *Bacillus subtilis* and other bacteria // *Cell.* – 2003. – V. 113, No 5. – P. 577–586.
59. Mandal M., Breaker R.R. Adenine riboswitches and gene activation by disruption of a transcription terminator // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2004. – V. 11, No 1. – P. 29–35.
60. Lescoute A., Westhof E. Riboswitch structures: Purine ligands replace tertiary contacts // *Chem. Biol.* – 2005. – V. 12, No 1. – P. 10–13.
61. Batey R.T., Gilbert S.D., Montange R.K. Structure of a natural guanine-responsive riboswitch complexed with the metabolite hypoxanthine // *Nature.* – 2004. – V. 432, No 7015. – P. 411–415.
62. Serganov A., Yuan Y., Pikovskaya O., Polonskaia A., Malinina L., Phan A.T., Hobartner C., Micura R., Breaker R.R., Patel D.J. Structural basis of discriminative regulation of gene expression by adenine- and guanine-sensing mRNAs // *Chem. Biol.* – 2004. – V. 11, No 12. – P. 1729–1741.
63. Kolberg M., Strand K.R., Graff P., Andersson K.K. Structure, function, and mechanism of ribonucleotide reductases // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – V. 1699, No 1–2. – P. 1–34.
64. Spitale R.C., Torelli A.T., Krucinska J., Bandarian V., Wedekind J.E. The structural basis for recognition of the PreQ0 metabolite by an unusually small riboswitch aptamer domain // *J. Biol. Chem.* – 2009. – V. 284, No 17. – P. 11012–11016.
65. Rieder U., Kreutz C., Micura R. Folding of a transcriptionally acting PreQ1 riboswitch // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – V. 107, No 24. – P. 10804–10809.
66. Harada F., Nishimura S. Possible anticodon sequences of tRNA^{His}, tRNA^{Asn}, and tRNA^{Asp} from *Escherichia coli* B. Universal presence of nucleoside Q in the first position of the anticodon of three transfer ribonucleic acids // *Biochem.* – 1972. – V. 11, No 2. – P. 301–308.

67. Sudarsan N., Lee E.R., Weinberg Z., Moy R.H., Kim J.N., Link K.H., Breaker R.R. Riboswitches in eubacteria sense the second messenger cyclic di-GMP // *Science*. – 2008. – V. 321, No 5887. – P. 411–413.
68. Hengge R. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2009. – V. 7, No 4. – P. 263–273.
69. Smith K.D., Lipchock S.V., Ames T.D., Wang J., Breaker R.R., Strobel S.A. Structural basis of ligand binding by a c-di-GMP riboswitch // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2009. – V. 16, No 12. – P. 1218–1223.
70. Kochhar S., Paulus H. Lysine-induced premature transcription termination in the *lysC* operon of *Bacillus subtilis* // *Microbiol.* – 1996. – V. 142, No 7. – P. 1635–1639.
71. Grundy F.J., Lehman S.C., Henkin T.M. The L box regulon: lysine sensing by leader RNAs of bacterial lysine biosynthesis genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2003. – V. 100, No 21. – P. 12057–12062.
72. Barrick J.E., Corbino K.A., Winkler W.C., Nahvi A., Mandal M., Collins J., Lee M., Roth A., Sudarsan N., Jona I., Wickiser J.K., Breaker R.R. New RNA motifs suggest an expanded scope for riboswitches in bacterial genetic control // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – V. 101, No 17. – P. 6421–6426.
73. Mandal M., Lee M., Barrick J.E., Weinberg Z., Emilsson G.M., Ruzzo W.L., Breaker R.R. A glycine-dependent riboswitch that uses cooperative binding to control gene expression // *Science*. – 2004. – V. 306, No 5694. – P. 275–279.
74. Rodionov D.A., Dubchak I., Arkin A., Alm E., Gelfand M.S. Reconstruction of regulatory and metabolic pathways in metal-reducing delta-proteobacteria // *Genome Biol.* – 2004. – V. 5, No 11. – P. R90-1–R90-27.
75. Sudarsan N., Hammond M.C., Block K.F., Welz R., Barrick J.E., Roth A., Breaker R.R. Tandem riboswitch architectures exhibit complex gene control functions // *Science*. – 2006. – V. 314, No 5797. – P. 300–304.
76. Milewski S. Glucosamine-6-phosphate synthase: the multi-facets enzyme // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2002. – V. 1597, No 2. – P. 173–192.
77. McCarthy T.J., Plog M.A., Floy S.A., Jansen J.A., Soukup J.K., Soukup G.A. Ligand requirements for *glmS* ribozyme self-cleavage // *Chem. Biol.* – 2005. – V. 12, No 11. – P. 1221–1226.
78. Klein D.J., Ferré-D'Amaré A.R. Structural basis of *glmS* ribozyme activation by glucosamine-6-phosphate // *Science*. – 2006. – V. 313, No 5794. – P. 1752–1756.
79. Cochrane J.C., Lipchock S.V., Strobel S.A. Structural investigation of the *glmS* ribozyme bound to its catalytic cofactor // *Chem. Biol.* – 2006. – V. 14, No 1. – P. 97–105.
80. Vitreschak A.G., Rodionov D.A., Mironov A.A., Gelfand M.S. Riboswitches: the oldest mechanism for the regulation of gene expression? // *Trends Genet.* – 2004. – V. 20. – P. 44–50.
81. Ellington A.D., Szostak J.W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands // *Nature*. – 1990. – V. 346, No 6287. – P. 818–822.
82. Grate D., Wilson C. Inducible regulation of the *S. cerevisiae* cell cycle mediated by an RNA aptamer-ligand complex // *Bioorg. Med. Chem.* – 2001. – V. 9, No 10. – P. 2565–2570.
83. Desai S.K., Gallivan J.P. Genetic screens and selections for small molecules based on a synthetic riboswitch that activates protein translation // *J. Am. Chem. Soc.* – 2004. – V. 126, No 41. – P. 13247–13254.
84. Verhounig A., Karcher D., Bock R. Inducible gene expression from the plastid genome by a synthetic riboswitch // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2010. – V. 107, No 14. – P. 6204–6209.

85. *Breaker R.R.* Engineered allosteric ribozymes as biosensor components // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2002. – V. 13, No 1. – P. 31–39.
86. *Ogawa A., Maeda M.* An artificial aptazyme-based riboswitch and its cascading system in *E. coli* // *Chembiochem.* – 2008. – V. 9, No 2. – P. 206–209.
87. *Lee E.R., Blount K.F., Breaker R.R.* Roseoflavin is a natural antibacterial compound that binds to FMN riboswitches and regulates gene expression // *RNA Biol.* – 2009. – V. 6, No 2. – P. 187–194.

Поступила в редакцию
16.12.10

Маланин Сергей Юрьевич – инженер кафедры генетики Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *sergen83@mail.ru*

Барabanщиков Борис Иванович – доктор биологических наук, профессор кафедры генетики Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *Boris.Barabanchikov@ksu.ru*