

• 综述 •

RNA 聚合酶维持转录忠实性的机制

谢兆辉*

(德州学院生物系, 山东德州 253023)

摘要 RNA 聚合酶(RNAP)在维持转录忠实性方面具有重要的作用,其忠实性机制可以分为特异性的底物选择和校对 2 种。RNAP 高水平的底物选择忠实性主要基于碱基配对和诱导契合机制,而校对功能则通过焦磷酸解和 RNAP 内在的 RNA 剪切活性完成。现在, RNAP 的研究已经超出了其在转录中的作用,延伸到了其他领域。本文主要论述了 RNAP 忠实性机制的研究进展,并将之与 DNA 聚合酶、氨酰-tRNA 合成酶及核糖体的忠实性机制进行了比较。最后,论述了 RNAP 在新药或新药靶点开发中的作用,并对其应用前景进行了展望。

关键词 RNA 聚合酶; 底物选择; 校对; 药物靶点

中图分类号 Q755

Transcriptional Fidelity Mechanism of RNA Polymerase

XIE Zhao-Hui*

(Department of Biology, Dezhou University, Dezhou 253023, Shandong, China)

Abstract RNA polymerase (RNAP) plays an important role in maintaining transcriptional fidelity, including substrate selectivity and proofreading. The high level of substrate selectivity is achieved by correct base-pairing and induced-fit, while pyrophosphorolysis and intrinsic nuclease activity of the RNAP both contribute significantly to proofreading. Now, the study of RNAP has exceeded beyond its transcriptional function, and extended to some other fields. The present study is mainly concerned with the advances of transcriptional fidelity and the comparison among RNAP, DNA polymerase, aminoacyl-tRNA synthetases and ribosome. The application of RNAP in novel drug or novel drug target development and its application perspective are discussed in the study.

Key words RNA polymerase (RNAP); substrate selectivity; proofreading; drug targets

历经数十亿年的进化,所有生物体都能够准确地将基因组的遗传信息转化为功能蛋白,差错率很低,其中转录的差错率大约为 10^{-5} 。如此低的差错率主要得益于生物一系列维持忠实性的机制。这些机制主要涉及 4 种酶: DNA 聚合酶(DNA polymerase, DNAP)、RNA 聚合酶(RNAP)、氨酰-tRNA 合成酶(aminoacyl-tRNA synthetases, aaRS)和核糖体(为 1 种核酶)。近来, RNAP 的忠实性机制已比较清楚。RNAP 可以分为两大类:一类是 DNA 指导的 RNA 聚合酶,参与转录过程;另一类是 RNA 指导的 RNA 聚合酶,这一类中,部分 RNAP 参与病毒 RNA 的复制,另一部分存在于植物或微生物,参与 RNA 沉默过程^[1]。本文主要集中在参与转录的 RNAP,其中原核生物只有 1 种,真核生物则有 5 种,分别为 RNAP I、II、III、IV 和 V,其中 RNAP IV 和 V

(又可称为 RNAP IVa 和 RNAP IVb)为植物所特有,主要参与植物内源小 RNA 合成^[2]。在结构上, RNAP 有单亚基,如 T7 RNAP;也有多亚基,如原核和真核生物的 RNAP。随着抗药性细菌或病毒的出现,新一代抗生素药物的开发越来越迫切, RNAP 的深入研究不仅可以更详细地了解药物的作用机制,而且还可以用来指导新药的合成,或为药物的开发提供新

收稿日期: 2011-01-06; 接受日期: 2011-03-02

国家自然科学基金项目(No. 30901023)资助

* 联系人 Tel: 13969214206; E-mail: xiezh0523@163.com

Received: January 6, 2011; Accepted: March 2, 2011

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30901023)

* Corresponding author Tel: 13969214206;

E-mail: xiezh0523@163.com

靶点.近些年来,人们对 RNAP 忠实性机制有了一些较深入的了解,这种机制大致可以分为底物的特异性选择和校对两种.本文主要论述 RNAP 维持转录忠实性的机制,同时还把这些机制与 DNAP、核糖体及 aaRS 的忠实性机制进行了比较,并对 RNAP 相关研究在医学上的应用前景进行了展望.

1 RNAP 在核苷酸选择中的作用

RNAP 在转录的不同时期的忠实性程度不同.在转录的起始阶段,RNAP 的延续性和忠实性都很低.进入延伸阶段后,延续性和忠实性都会提高.也许和 DNAP 一样,RNAP 的忠实性也要经历“预热”阶段^[3].在延伸阶段,核苷酸(nucleotide triphosphate, NTP)掺入 RNA 链一般经历 4 步:①待添加 NTP 无选择性进入 RNAP 的 E 位点;②与模板 DNA 碱基互补的待添加 NTP 进入 RNAP 的 A 位点;③NTP(A 位)与 RNA 3' 端羟基形成磷酸二酯键,掺入 RNA 链;④酶向前移位 1 个 NTP 距离,空出 A 位进入下一轮循环^[4].原则上,转录忠实性机制可以发生在 NTP 掺入的每一步,特异性的底物选择则是 RNAP 发挥忠实性功能的第一步. RNAP 已经进化出了精细的机制以防止错误 NTP 的掺入,这种机制可以辨别 NTP 中的碱基和核糖 2 种组分,并与对不同 NTP 的亲合力不同,及催化不同 NTP 形成磷酸二酯键的能力不同 2 种因素有关^[5].碱基配对原则在 NTP 选择中具有重要作用,和 DNAP 一样,RNAP 也是通过识别碱基对的几何构象识别新来的 NTP, RNAP 进化出了“分子卡尺”的结构来识别正确的碱基对.真核生物 RNAP II 中,启动环(trigger loop, TL)为分子卡尺的重要组分,TL 是 RNAPII 最大亚基 Rpb1 上一个组分,在垂直方向上,TL 的亮氨酸 1081(Leu1081)和 RNA 链 3' 端核苷酸把新来的核苷酸夹在当中,形成三明治状结构,使之在垂直方向上正确定位.而在另一个方向上,模板 DNA 则通过碱基配对定位碱基,这样 TL、RNA 链 3' 端核苷酸和模板 DNA 3 种组分都参与了 NTP 的识别和定位^[4].同时也说明,DNA 模板在转录过程中具有双重作用:NTP 选择及 NTP 的正确定位.

虽然碱基配对原则对于 NTP 的选择有贡献,但是,正确和错误 NTP 与模板结合产生的自由能差异^[6],或着说正确和错误 NTP 与模板的亲合力差异^[7]并不能完全解释 RNAP 对底物选择的高度忠实性.诱导契合机制在 RNAP 的底物选择中起着关键作用.没有 NTP 结合时,RNAP 往往处于开放构

象,在正确底物结合的诱导下,无论 RNA 复制中的 RNAP^[8],还是转录中的 RNAP^[9]都会从开放构象转向封闭构象,这样可以防止 NTP 自发从酶上释放,并可以使活性位点的氨基酸残基正确定位,形成有效的催化.如果新来的 NTP 和模板 DNA 不互补,NTP 不能正确定位,则 RNAP 开放态和封闭态之间的平衡朝向开放态,错误结合的 NTP 被释放(Fig. 1 中 1)^[9,10].如 RNAP II 中,当正确的 NTP 结合到酶活性位点时,TL 会诱导酶从开放构象转换成封闭构象,这种构象转换对于底物选择至关重要.延迟封闭构象形成,会降低 RNAP 酶的忠实性^[11].因此,TL 被认为是 NTP 选择器^[5].对于识别能够和模板互补的脱氧核苷酸(dNTP),RNAP 则是通过识别 dNTP 的脱氧核糖完成.极端嗜热细菌(*Thermus thermophilus*) RNAP 中 β 亚基上的 Asn737^[12]、真核生物 RNAP II 中 Rpb1 亚基上的 Asn479^[6]和 T7 RNAP 上的 Tyr-639^[13]都在识别 dNTP 中具有重要作用.如果发生突变都会造成脱氧核苷酸的错误掺入率增加.

由于转录时,一小段 DNA 模板要解链,所以在插入位点前面,可能也有 NTP 与下游的模板配对,这也会对转录忠实性造成影响,但有 2 种可能性.Yamadaa1 等^[14]研究了插入位点前面可配对区长度对转录忠实性的影响,提出了一种“look-ahead”模型.他们认为,转录中存在一个活性框,在这个框中,多个 NTP 可以与模板 DNA 碱基配对,但这个框越小,NTP 错误掺入率越低,当框的大小为一个碱基时达到极限.但在另一种核苷酸从主通道进入 RNAP 的模式中,在进入活性位点之前,NTP 在主通道碱基对可能被预扫描选择,这些碱基配对反而有利于转录忠实性^[15].虽然 RNAP 可以通过低的 NTP 亲和力和低的能量消耗获得高忠实性的现象与后种观点一致,但是目前还没有直接的证据.另外,也有人曾经提出 RNAP 的 β -亚基可能具有 NTP 酶活性,可以把 NTP 水解成核苷二磷酸(NDP)和无机磷酸(Pi),推测 β -亚基在转录延伸过程中可以将错误结合的 NTP 水解成 NDP 和 Pi,以维持转录的忠实性(Fig. 1 中 2)^[16],但这种机制也没有得到广泛认同.

虽然在 NTP 的选择方式上,DNAP 和 RNAP 有许多相似之处,但在底物的选择时间上,DNAP I 的底物选择决定于酶活性位点的封闭状态构象,而单亚基 T7 RNAP 的底物特异性识别发生在酶开放构象状态时的前插入位点,且这种识别在酶进入封闭状态和底物进入插入位点时可被维持或增强.这种

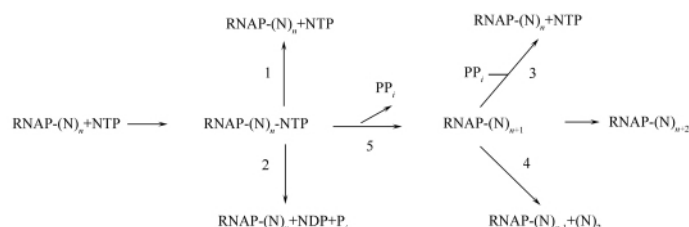


Fig. 1 The fidelity mechanism of RNA polymerase (N)_n: RNA chain with n nucleotide residues. 1. Substrate selection by releasing of NTP from the RNAP; 2. Substrate selection by releasing of NDP and P_i from the RNAP. 3. Proofreading by pyrophosphorolysis; 4. Proofreading by RNA cleavage; 5. Generation of phosphodiester bond

机制还可能存在于其它 RNAP, 这样前插入位点和插入位点形成了 NTP 识别的 2 个筛子^[17]. 双筛机制在 aaRS 很普遍, 一半左右的 aaRS 同时具有氨酰化和编辑 2 个识别或编辑位点, 形成氨基酸校对的转位前编辑和转位后编辑“双筛”机制. 由于氨基酸种类多, 分子之间差异较小, 为了保证翻译的忠实性, 有的 aaRS 还有独立存在的反式编辑蛋白, 形成了氨基酸校对的“三筛”机制^[18].

2 RNAP 的校对功能

RNAP 的底物选择特异性可以使转录忠实性提高 10^3 ^[19], 但还是会有错误的 NTP 掺入到转录物中. 这种错误的插入可能会造成 3 种结果: ① 稳定结合 RNAP, 破坏 RNAP 具催化活性的构象, 如 T-U 错配; ② 造成 RNAP 后退和 RNA 剪切, 例如 G-A 错配; ③ 导致带有 3' 末端卷起的转录物不能正确定位^[20]. 这些错误掺入的 NTP 往往可以被 RNAP 的校对功能纠正, 使转录的忠实性整体可以达到 10^{-5} , **RNAP 的校对机制有 2 种: 焦磷酸解和 RNA 剪切.**

2.1 焦磷酸解

RNAP 在活性位点可以催化多种反应: 如形成磷酸二酯键、水解磷酸二酯键和焦磷酸解^[11], 还可能水解 NTP^[17]. 焦磷酸解是聚合反应的逆反应 (Fig. 1 中 3), 所以其在转录忠实性中的作用有时被称为“动力学校对”^[21]. 由于焦磷酸能够和催化中心的氨基酸可以更广泛地相互作用, 所以容易结合到酶的活性中心. 体外实验发现, 焦磷酸浓度为 0.05 mmol/L 时, 可以使细菌 RNAP 的忠实性增加 5~50 倍^[22]. 体内焦磷酸浓度很难测定, 估计大约 0.1~2 nmol/L, 所以推测焦磷酸解可能对转录忠实性具有一定的贡献. 但是, 由于体内 NTP 的浓度远高于焦磷酸, 推测这种忠实性机制作用很有限. 焦磷酸解对少数 aaRS^[23] 和 DNAP^[24] 维持忠实性可能也有贡献. 如 DNA 聚合酶 Dpo4 没有外切酶活性, 但可以利

用焦磷酸解降低 NTP 的错误插入, 减慢焦磷酸的释放可以增加 Dpo4 的忠实性^[24]. 焦磷酸解也存在于病毒逆转录过程中, 可以使逆转录病毒产生一定的抗药性^[25].

2.2 RNAP 的 RNA 剪切活性

由于**焦磷酸解的校对功能极其有限**, RNAP 的**剪切酶活性在校对过程中非常重要** (Fig. 1 中 4), 这种剪切活性可以剪切单个 NTP, 也可以剪切寡聚核苷酸片段. 真核生物的 RNAP I 和 RNAP III 可以利用该方式对转录进行有效的校对, Pol III 的剪切活性是如此完美, 以至于 NTP 的错误插入只有在其剪切活性丧失的突变体中发现^[19]. 真核生物 RNAP II 沿着模板向前移位通常靠 NTP 的装载来驱动, 而不是 NTP 的水解. 如果发生错配, 会导致 RNA-DNA 双螺旋扭曲, 使 RNAP II 很难向前移位, 不但可以造成转录停滞, 还可以导致 RNAP II 后退^[26]. 在 RNAP II 后退过程中, 后退 1 个核苷酸比后退多个核苷酸更稳定, 后退造成 RNA 的 3' 末端错误排列, 以后被 RNAP II 的剪切活性剪切, 释放出含有错误核苷酸的片段, 不仅将延伸复合物从转录停滞状态挽救, 使转录继续进行, 而且还校对了转录错误^[26]. 虽然 RNAP 的剪切活性可以被转录剪切因子激活, 如大肠杆菌的 GreA 和 GreB, 真核生物 RNAP II 的 SII (或称为 TFIIIS), 但这种剪切活性是 RNAP 的一种内在活性. 细菌的剪切因子 Gre A 和 Gre B 具有序列同源性, 每种细菌基因组中都有同源基因, 但两者激活 RNAP II 剪切活性的方式不同, Gre A 诱导剪切 3' 末端的 2~3 nt 长的核苷酸片段, 而 Gre B 诱导剪切 18 nt 长的片段^[27]. 真核生物的 TFIIIS 与 Gre A 和 Gre B 没有序列同源性, 但具有相似的结构和功能. RNAP 的剪切活性需要 2 个 Mg^{2+} 参与, 其中 1 个 Mg^{2+} 可以被新结合的 NTP 或转录剪切因子稳定^[28], 推测这些转录剪切因子的作用机制可能是稳定剪切反应中的 1 个活性 Mg^{2+} . 另外, RNA 剪切校

正过程有时表现为自我校对,具有核酶催化的特点,因为新生 RNA 链最末端错配的 NTP 在剪切过程中具有重要作用,它可以通过提供活性基团,或者是协同结合酶的活性位点,激活水解倒数第 2 个磷酸二酯键的反应^[29].相似的过程也出现在 aaRS 的忠实性机制中,被称为“底物辅助型催化”,在 aaRS 的转位后编辑过程中,μRNA 末端腺嘌呤核苷酸可以直接激活水分子,使转位后编校反应成为一种 tRNA 的自我切割^[30].RNA 是最早出现的生命大分子,aaRS 是从 RNA 世界最早进化出的一类酶,它们具有核酶催化性质的自我校对反应,使人们相信在生命的早期,生物大分子的合成可能已经有了维持忠实性的机制.

TL 不仅在 RNAP 选择底物方面有重要作用,而且也涉及 RNAP 的催化和剪切活性.嗜热细菌 (*Thermus aquaticus*) TL 中保守的组氨酸 (β-His1242) 是校对所必需的,可以通过 2 种不同的方式参与剪切反应.① 定位转录物的 3' 末端核苷酸,② 作为广义的碱基直接参与反应^[11].大肠杆菌 RNAP 中也得到了相似的结论,所以推测 TL 在磷酸二酯键水解方面的功能在细菌中保守^[11].此外, RNAP II 的 rpb9 亚基也对转录忠实性具有重要意义,其忠实性机制分为 TFIIIS 依赖性和非 TFIIIS 依赖性两类. Rpb9 位于酵母 RNAP II 的表面,其 N 端结构域为初级 DNA 结合通道(主通道)的组分. NTP 可以与活性位点之前的 DNA 模板预杂交,从这个主通道进入酶.所以, Rpb9 突变会通过影响该通道,进而影响转录的忠实性^[10]. Rpb9 的 C 端结构域则与次级通道相互作用, NTP 和 TFIIIS 可以由该通道进入酶的活性位点,所以, Rpb9 可以通过调控 TFIIIS, 调解转录的校对功能,这也是 Rpb9 在真核生物中高度保守的原因^[31]. Rpb9 也与 RNAP III 的 C11,或 RNAP 的 A12.2 具有高度的序列同源性,后两者对相关酶的剪切活性是必需的^[32].

3 RNAP 在抗生素药物或药物靶点开发方面的研究

RNAP 在忠实性和结构方面的研究揭示, RNAP 在抗生素药物或药物靶点开发方面具有非常好的前景. RNAP 适合做抗生素类药物新靶位点原因主要有以下几方面:① RNAP 是细菌和病毒必需的酶,有利于获得好的药效;② RNAP 在细菌中高度保守,有利于获得广谱性的药物;③ 细菌与人类 RNAP 之间有很多非保守区域,有利于获得专一性的药物;

④ 细菌 RNAP 是个多亚基蛋白质,结构较大,很多位点有潜力成为药物的靶点;⑤ 在进化上, RNAP 基因的突变是病毒抗药性的重要原因^[33];⑥ 抗生素在 RNAP 上的靶点比较集中,区域不重叠,或极少重叠^[34],有利于在短时间内通过抗生素的交叉使用,应对细菌和病毒的抗药性问题.针对细菌 RNAP 的抗生素靶点主要分布在 RNAP 上的 3 个区域:利福霉素类/sor 位点,桥-螺旋/启动环位点和 2 个蟹钳状结构之间的开关区位点^[34].目前,在临床得到广泛应用的只有第 1 个位点,如利福霉素类抗生素是现在唯一针对细菌 RNAP,并在临床上得到广泛应用的抗生素.后 2 个位点中,尤其是开关区很有潜力成为新的抗生素靶点,现在已经发现了与之 3 个相关的抗生素: myxopyronin、corallopyronin 和 ripostatin,其中 myxopyronin 具有易合成、低毒、高抗菌效果,和与利福霉素类不出现交叉抑制的特点,非常有潜力成为抑制抗利福霉素类细菌的新型抗生素^[34].最近,开关区 SW2 结构域的功能得到了详细的研究,如果替代其中保守的精氨酸 339,会影响转录的多个步骤:如启动子结合和释放,转录起始,启动子清空和 RNA 延伸等^[35].现在正为临床应用进行改进的抗生素 lipiarmycin,就作用于细菌 RNAP sigma(70) 亚基的 3.2 结构域和该结构域^[36].抗生素类药物研发的方法之一,可以根据抗生素和 RNAP 作用机制,通过对抗生素进行修饰,将之开发成能够用于临床的药物,这也是现在药物开发的一个重要途径.之二是由于病毒 RNAP 往往没有校对活性,碱基选择是其唯一的忠实性机制,利用碱基类似物增加病毒的致死突变,也许能成为一种非常有前景的抗病毒药物开发途径.如新近发现的一种核苷酸类似物可以选择性的抑制丙型肝炎病毒的 RNAP^[37].对于寻找 RNAP 上药物靶点的方法,基于亲和力的扫描方式可能比基于转录的研究方法更现实^[39],如利用高通量的扫描技术鉴定出了一些针对流感病毒 RNAP 的药物,包括 Nucleozin 及其一些类似物^[39].目前,基于荧光的转录过程实时分析技术也取得了进展,它不仅验证了 T7 RNAP 的前插入位点和活性位点都可以识别 NTP,而且还有可能成为检测 RNAP 药物作用机制的一种快速有效的手段^[40].

4 小结与展望

在遗传信息流动过程中,虽然 DNAP、RNAP、aaRS 和核糖体都具有独特的忠实性机制,但这些机

制大致可以分为两类:底物掺入前的忠实性选择和底物错误掺入后的校对.在底物选择方面,碱基配对和诱导契合机制都具有重要意义.诱导契合机制为底物选择提供了2个开关:底物结合后酶的构象变化为第1个“分子开关”,接下来的化学反应为第2个“分子开关”,但这个开关不可逆.DNAP、RNAP和核糖体中,错误底物结合后,酶的构象变化和化学反应都较慢,这样有利于逆反应进行,使错误的底物被释放.所以,NTP的选择也许主要依赖于动力学控制,而不是热力学控制.RNAP不仅可以利用碱基对的特点识别错误核苷酸掺入,还可以利用RNA-DNA杂交链长度特点来识别,维持转录的忠实性^[41].

目前,人们已经发现A型H1N1流感病毒^[42]、登革病毒^[43]和丙型肝炎病毒^[44]的RNAP都可以作为抗病毒药物的潜在靶点.同时,也新合成了一些针对RNAP的新型抗生素药物,如CBR-2092^[45].相信在应对全球范围内越来越严重的抗药性问题上,RNAP的深入研究不仅具有重要的理论价值,而且具有深远的现实意义.

致谢:本文在撰写和修改过程中,得到了杨冬英博士和焦传珍博士的大力支持,在此表示衷心感谢.

参考文献 (References)

- [1] Vasale J J, Gu W, Thivierge C, *et al.* Sequential rounds of RNA-dependent RNA transcription drive endogenous small-RNA biogenesis in the ERGO-1/Argonaute pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, **107**(8):3582-3587
- [2] Zhang X, Henderson I R, Lu C, *et al.* Role of RNA polymerase IV in plant small RNA metabolism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, **104**(11):4536-4541
- [3] Libby R T, Gallant J A. Phosphorolytic error correction during transcription [J]. *Mol Microbiol*, 1994, **12**(1):121-129
- [4] Huang X, Wang D, Weiss D R, *et al.* RNA polymerase II trigger loop residues stabilize and position the incoming nucleotide triphosphate in transcription [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, **107**(36):15745-15750
- [5] Kaplan C D. The architecture of RNA polymerase fidelity [J]. *BMC Biol*, 2010, **8**:85
- [6] Wang D, Bushnell D A, Westover K D, *et al.* Structural basis of transcription: role of the trigger loop in substrate specificity and catalysis [J]. *Cell*, 2006, **127**(5):941-954
- [7] Zhu R, de la Lande A, Zhang R, *et al.* Exploring the molecular origin of the high selectivity of multisubunit RNA polymerases by stochastic kinetic models [J]. *Interdiscip Sci*, 2009, **1**(2):91-98
- [8] Castro C, Arnold J J, Cameron C E. Incorporation fidelity of the viral RNA-dependent RNA polymerase: a kinetic, thermodynamic and structural perspective [J]. *Virus Res*, 2005, **107**(2):141-149
- [9] Kireeva M L, Nedialkov Y A, Cremona G H, *et al.* Transient reversal of RNA polymerase II active site closing controls fidelity of transcription elongation [J]. *Mol Cell*, 2008, **30**(5):557-566
- [10] Walmacq C, Kireeva M L, Irvin J, *et al.* Rpb9 subunit controls transcription fidelity by delaying NTP sequestration in RNA polymerase II [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284**(29):19601-19612
- [11] Yuzenkova Y, Zenkin N. Central role of the RNA polymerase trigger loop in intrinsic RNA hydrolysis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, **107**(24):10878-10883
- [12] Svetlov V, Vassilyev D G, Artsimovitch I. Discrimination against deoxyribonucleotide substrates by bacterial RNA polymerase [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(37):38087-38090
- [13] Joyce C M. Choosing the right sugar: how polymerases select a nucleotide substrate [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, **94**(5):1619-1622
- [14] Yamada Y R, Peskin C S. The Influence of Look-Ahead on the Error Rate of Transcription [J]. *Math Model Nat, Phenom*, 2010, **5**(3):206-227
- [15] Nudler E. RNA polymerase active center: the molecular engine of transcription [J]. *Annu Rev Biochem*, 2009, **78**:335-361
- [16] Libby R T, Gallant J A. The role of RNA polymerase in transcriptional fidelity [J]. *Mol Microbiol*, 1991, **5**(5):999-1004
- [17] Temiakov D, Patlan V, Anikin M, *et al.* Structural basis for substrate selection by $\tau 7$ RNA polymerase [J]. *Cell*, 2004, **116**(3):381-391
- [18] Hausmann C D, Ibba M. Aminoacyl-tRNA synthetase complexes: molecular multitasking revealed [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2008, **32**(4):705-721
- [19] Alic N, Ayoub N, Landrieux E, *et al.* Selectivity and proofreading both contribute significantly to the fidelity of RNA polymerase III transcription [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, **104**(25):10400-10405
- [20] Sydow J F, Brueckner F, Cheung A C, *et al.* Structural basis of transcription: mismatch-specific fidelity mechanisms and paused RNA polymerase II with frayed RNA [J]. *Mol Cell*, 2009, **34**(6):710-721
- [21] Wong I, Patel S S, Johnson K A. An induced-fit kinetic mechanism for DNA replication fidelity: direct measurement by single-turnover kinetics [J]. *Biochemistry*, 1991, **30**(2):526-537
- [22] Kahn J D, Hearst J E. Reversibility of nucleotide incorporation by *Escherichia coli* RNA polymerase, and its effect on fidelity [J]. *J Mol Biol*, 1989, **205**(2):291-314
- [23] Airas R K. Effect of inorganic pyrophosphate on the pretransfer proofreading in the isoleucyl-tRNA synthetase from *Escherichia coli* [J]. *Eur J Biochem*, 1992, **210**(2):451-454
- [24] Vaisman A, Ling H, Woodgate R, *et al.* Fidelity of Dpo4: effect of metal ions, nucleotide selection and pyrophosphorolysis [J]. *EMBO J*, 2005, **24**(17):2957-2967
- [25] Urban S, Urban S, Fischer K P, *et al.* Efficient pyrophosphorolysis by a hepatitis B virus polymerase may be a

- primer-unblocking mechanism[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, **98**(9):4984-4989
- [26] Wang D, Bushnell D A, Huang X, *et al.* Structural basis of transcription: backtracked RNA polymerase II at 3.4 angstrom resolution[J]. *Science*, 2009, **324**(5931):1203-1206
- [27] Opalka N, Chlenov M, Chacon P, *et al.* Structure and function of the transcription elongation factor GreB bound to bacterial RNA polymerase[J]. *Cell*, 2003, **114**(3):335-345
- [28] Cramer P. Molecular biology. Self-correcting messages [J]. *Science*, 2006, **313**(5786):447-448
- [29] Zenkin N, Yuzenkova Y, Severinov K. Transcript-assisted transcriptional proofreading [J]. *Science*, 2006, **313**(5786):518-520
- [30] Hagiwara Y, Field M J, Nureki O, *et al.* Editing mechanism of aminoacyl-tRNA synthetases operates by a hybrid ribozyme/protein catalyst[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, **132**(8):2751-2758
- [31] Kettenberger H, Armache K J, Cramer P. Architecture of the RNA polymerase II-TFIIS complex and implications for mRNA cleavage[J]. *Cell*, 2003, **114**(3):347-357
- [32] Kuhn C D, Geiger S R, Baumli S, *et al.* Functional architecture of RNA polymerase I[J]. *Cell*, 2007, **131**(7):1260-1272
- [33] Keller T E, Molineux I J, Bull J J. Viral resistance evolution fully escapes a rationally designed lethal inhibitor [J]. *Mol Biol Evol*, 2009, **26**(9):2041-2046
- [34] Pupov D, Miropolskaya N, Sevostyanova A, *et al.* Multiple roles of the RNA polymerase {beta}'SW2 region in transcription initiation, promoter escape, and RNA elongation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, **38**(17):5784-5796
- [35] Ho M X, Hudson B P, Das K, *et al.* Structures of RNA polymerase-antibiotic complexes [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2009, **19**(6):715-723
- [36] Tupin A, Gualtieri M, Leonetti J P, *et al.* The transcription inhibitor lipiarmycin blocks DNA fitting into the RNA polymerase catalytic site[J]. *EMBO J*, 2010, **29**(15):2527-2537
- [37] Jonckers T H, Lin T I, Buyck C, *et al.* 2'-Deoxy-2'-spirocyclopropylcytidine revisited: a new and selective inhibitor of the hepatitis C virus NS5B polymerase[J]. *J Med Chem*, 2010, **53**(22):8150-8160
- [38] Villain-Guillot P, Bastide L, Gualtieri M, *et al.* Progress in targeting bacterial transcription [J]. *Drug Discov Today*, 2007, **12**(5-6):200-208
- [39] Su C Y, Cheng T J, Lin M I, *et al.* High-throughput identification of compounds targeting influenza RNA-dependent RNA polymerase activity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, **107**(45):19151-19156
- [40] Tang G Q, Anand V S, Patel S S. Fluorescence-based assay to measure the real-time kinetics of nucleotide incorporation during transcription elongation[J]. *J Mol Biol*, 2011, **405**(3):666-678
- [41] Kent T, Kashkina E, Anikin M, *et al.* Maintenance of RNA-DNA hybrid length in bacterial RNA polymerases [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284**(20):13497-13504
- [42] Das K, Aramini J M, Ma L C, *et al.* Structures of influenza A proteins and insights into antiviral drug targets [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, **17**(5):530-538
- [43] Rawlinson S M, Pryor M J, Wright P J, *et al.* Dengue virus RNA polymerase NS5: a potential therapeutic target? [J]. *Curr Drug Targets*, 2006, **7**(12):1623-1638
- [44] Deore R R, Chern J W. NS5B RNA dependent RNA polymerase inhibitors: the promising approach to treat hepatitis C virus infections[J]. *Curr Med Chem*, 2010, **17**(32):3806-3826
- [45] Robertson G T, Bonventre E J, Doyle T B, *et al.* In vitro evaluation of CBR-2092, a novel rifamycin-quinolone hybrid antibiotic: studies of the mode of action in *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, **52**(7):2313-2323