

Nobelpriset i kemi 2006

Nobelpriset i kemi år 2006 tilldelas **ROGER D. KORNBERG** för hans grundläggande studier av hur den information som finns lagrad i generna (arvsanlagen) kopieras, så att den kan föras ut i kroppens celler och där styra syntesen av de proteiner som bygger upp cellerna och deras funktioner. Kornberg var först med att skapa en faktisk bild av hur denna kopieringsmaskin ser ut på molekylnivå hos så kallade eukaryoter (organismer vars celler har en avgränsad kärna) – dit bland andra däggdjur som vi själva räknas.

Nödvändigt för allt liv

Kopieringen, eller transkriptionen, av den genetiska informationen i DNA är en central process som ständigt pågår i alla levande varelser. Själva DNA-molekylen ligger skyddad inuti cellkärnorna. För att informationen ska nå ut i cellerna skapas en kopia, budbärar-RNA, som sedan styr proteintillverkningen i kroppens olika delar.

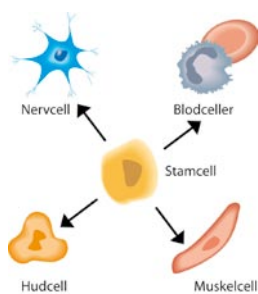
Om transkriptionen avbryts upphör organismen snart att fungera, eftersom all proteintillverkning avstannar. Detta är vad som händer vid förgiftning av vit flugsvamp. Giftet i svampen förstör funktionen hos det speciella enzym, så kallat RNA-polymeras, som utför transkriptionen. Eftersom giftet inom några dagar sprids från tarmar till lever och njurar bryter alla dessa organ så småningom samman.

Störningar i transkriptionen är också inblandad i en rad sjukdomar som cancer, hjärtsjukdom och olika inflammationer.



Förklarar variationen

Mycket av komplexiteten hos eukaryoter, som däggdjur, byggs upp tack vare det flexibla transkriptionssystemet. Samma genetiska information finns lagrad i DNA i alla kroppens celler,



men den information som transkriberas och verkligen sätter igång proteintillverkning varierar däremot från organ till organ. Att förstå hur regleringen av transkriptionen går till är därför också viktigt för att förstå hur stamceller utvecklas till specifika celler med bestämda funktioner i olika organ. Stamceller definieras just av sin förmåga att kunna utvecklas till vilken celltyp som helst, och ska vi kunna utnyttja denna förmåga maximalt i medicinska tillämpningar är det just genom att kunna reglera transkriptionen.

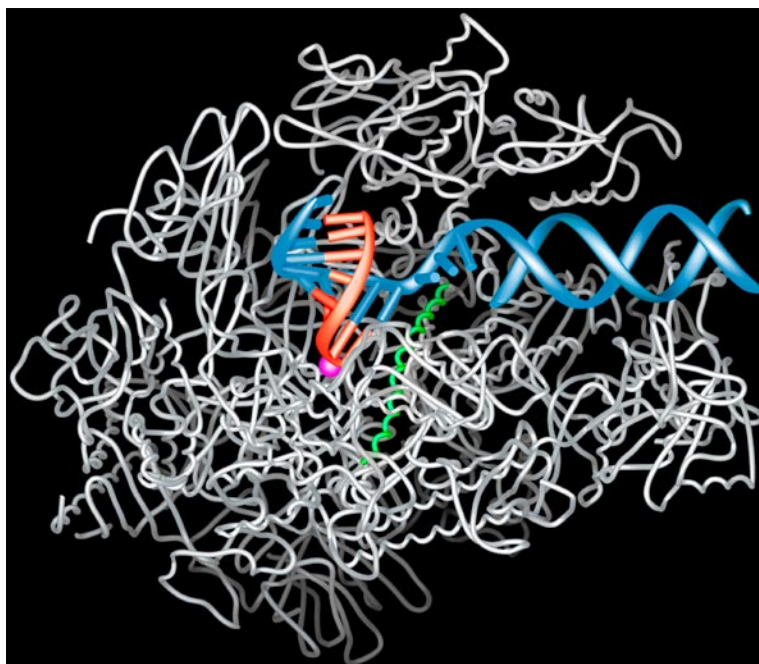
DNA byggs upp av fyra olika byggstenar som brukar kallas G, C, A och T. Motsvarande byggstenar finns också för RNA. Den genetiska informationen bestäms av ordningsföljden mellan byggstenarna. Man kan alltså säga att den genetiska koden består av ett alfabet med bara fyra bokstäver.

DNA är en dubbelspiral, där G på den ena strängen alltid sitter mittemot ett C på den andra, och där A på samma sätt sitter mitt emot T (för denna upptäckt fick Watson, Crick och Wilkins sitt välkända Nobelpris i fysiologi eller medicin 1962). När informationen ska kopieras öppnas DNA-spiralen så att en sträng med "nakna" byggstenar kan användas som mall för

att skapa en RNA-sträng. RNA-byggstenar finns i lösning i cellen. Om kopieringen fungerar så fastnar RNA-motsvarigheten till ett G mitt emot ett C på DNA-strängen och mitt emot ett A fastnar RNA-motsvarigheten till ett T, och vice versa. På så sätt byggs RNA-strängen successivt upp, som ett "negativ" av DNA-strängen. En grundläggande fråga handlar om exakt hur detta går till. Kopieringen måste vara mycket säker, eftersom kroppens funktioner är beroende av att rätt information transkriberas. Högst ett fel på tiotusen är tillåtet om inte organismen ska ta skada. Därför behövs en säker mekanism som ser till att byggstenar verkligen sätts ihop (polymeriseras) i rätt ordningsföljd. Det enzym som styr polymeriseringen av RNA kallas RNA-polymeras.

En ögonblicksbild

Nedan visas en av **Kornbergs** bilder av RNA-polymeras i full aktion, tagen så sent som 2001. Den stora vita molekyl är RNA-polymeras, som fungerar som ett slags hållare för DNA-strängen (blå). Polymerasmolekylen håller DNA-strängen på plats och skapar ett litet hålrum så snävt att bara precis den RNA-byggsten som passar ihop med DNA-byggstenen mitt emot, får plats. Försöker "fel" RNA-byggsten ta sig in i hålrummet kommer den helt enkelt inte in, ungefär på samma sätt som att fel pusselbit inte går att tvinga in i ett halvfärdigt pussel. Steg för steg byggs så RNA-strängen upp (i rött på bilden). När en byggsten fastnat på rätt ställe matas DNA-strängen fram av en särskild liten spiralförmig struktur (i grönt på bilden) som är en del av polymeraset och fungerar som ett slags hasp, eller fjäder: Den sprätter till på grund av den formförändring som polymeraset hela tiden genomgår spontant (det är just denna mekanism som förstörs av giftet i vit flugsvamp). På så sätt hamnar DNA-strängen gång på gång i rätt läge för att en ny byggsten ska kunna läggas till RNA-strängen, som successivt byggs upp.



Figur 1. Transkriptionsprocessen enligt en bild av Roger Kornberg 2001. RNA-polymeras i vitt, DNA-spiral i blått och den blivande RNA-strängen i rött.

Det verkligt revolutionerande med den bild Kornberg lyckats ta är att den fångar reaktionen i flykten. Vi ser en RNA-sträng på väg att byggas och därmed den exakta positionen hos DNA, polymeras och RNA under processens gång. Roger Kornberg har på ett sinnrikt sätt lyckats stoppa bygget innan det är färdigt genom att låta det ske i en lösning där (till skillnad från i de verkliga cellerna) en av de fyra nödvändiga RNA-byggstenarna fattas. När bygget kommer till ett läge där just den byggsten som fattas i lösningen borde stoppas in, stannar därför hela processen. Kornberg har sedan skapat kristaller av molekylkomplexen som han kunnat "fotografera" med röntgenljus. Bilden som skapas på det sättet är dock inget vanligt fotografi utan en avbildning av molekylerna i sin kristallina form. Denna avbildningsteknik kallas kristallografi. Med hjälp av den kristallografiska bilden räknar sedan en dator fram atomernas verkliga position i förhållande till varandra i molekylerna. Den bild vi ser här ovan är alltså genererad av en dator.

Denna metod, att skapa kristaller av biologiska molekyler för att kunna avbilda dem, är mycket allmän i dag. Normalt avbildas dock bara färdiga komplex eller enskilda molekyler. Att lyckas fånga en kemisk reaktion i full gång är mycket svårt, och det räcker inte med att vara en skicklig kristallograf. Det som utmärker Kornberg är att han kombinerar kristallografi med mycket djupa biokemiska kunskaper som gör att han kan kontrollera den process han vill avbilda. Förutom denna detaljbild av den roll RNA-polymeras spelar, har han också bidragit med flera andra viktiga pusselbitar i hur transkriptionsprocessen går till genom att studera andra kristaller av RNA-polymeras, DNA, RNA och så kallade generella transkriptionsfaktorer. Dessa bilder gör det möjligt att förstå de molekylära mekanismerna för transkription och dess reglering.

Bakterier, däggdjur och jäst

Länge trodde man att transkriptionen hos eukaryoter gick till på ungefär samma sätt som hos bakterier (som till skillnad från eukaryoterna saknar en avgränsad kärna i cellen). Det har dock visat sig att processen hos eukaryoter är mycket mer komplex. Det var visserligen i celler från däggdjurslever man först lyckades hitta RNA-polymeras och förstå dess grundläggande funktion. Men det visade sig svårt att rena fram polymeraset. I stället var bakterier de första organismer som undersöktes i detalj, eftersom de var mycket mer lätthanterliga.

1965 gick Nobelpriset i fysiologi eller medicin till Jacques Monod, André Lwoff och François Jacob, bland annat för deras kartläggning av hur transkriptionen i bakterier fungerar. Förutom RNA-polymeras är ytterligare en molekyl som kallas sigmafaktor nödvändig för att transkriptionen ska komma igång i bakterier. Denna molekyl binder till RNA-polymeras och känner igen speciella koder i DNA som talar om var informationen ska börja läsas och var den slutar. Fattas sigmafaktorn kommer transkriptionen aldrig igång eftersom polymeras på egen hand inte "vet" var på DNA-strängen informationen börjar.

När forskarna sedan på nytt försökte undersöka transkriptionen hos celler från eukaryoter lyckades de dock inte hitta någon sigmafaktor. Det visade sig så småningom att det finns fem olika slags molekylkomplex som i våra celler motsvarar bakteriernas sigmafaktor och som alla är nödvändiga för att transkriptionen ska komma igång. Dessa komplex brukar kallas generella transkriptionsfaktorer och spelar en viktig roll i finjustering av all transkription hos eukaryoter. Att hitta alla fem transkriptionsfaktorerna var ett mödosamt arbete där ett extrakt av krossade celler renades i flera steg. Genom att ta bort ett ämne åt gången fram till dess att transkriptionen slutade fungera gick det att isolera de ämnen som var nödvändiga

för att transkriptionen alls skulle äga rum. När detta var gjort var många övertygade om att man nu kände till alla delar av transkriptionssystemet i eukaryoter, precis som för bakterier. Men fortfarande hade man ingen riktigt bra förklaring till hur eukaryoters celler kan ha så olika utseende och funktion, vad det är som gör att vissa gener uttrycks i blodets celler, andra i leverceller och så vidare.

En av Roger Kornbergs stora insatser i det här skedet var att utveckla ett system med jästceller. Vanlig bagerijäst är i likhet med däggdjur en eukaryot, och därför kan den användas som modellorganism i stället för celler från däggdjursorgan. Jästceller är mycket lättare att manipulera än däggdjursceller och det är lättare att skapa ett enhetligt material att undersöka. Trots detta arbetade Kornbergs forskargrupp i ett tiotal år med att finjustera systemet, innan det verkligen kunde användas för att undersöka transkriptionsprocessen. Många forskargrupper skulle ha gett upp långt tidigare eftersom flera år förflöt utan att det egentligen gick att publicera något vetenskapligt arbete.

Det är just systemet med jästceller som gjort det möjligt för Kornberg att framställa såväl RNA-polymeras som generella transkriptionsfaktorer i rätt form och tillräcklig mängd för att kunna skapa kristaller att undersöka.

Den nödvändiga ”strömbrytaren”

Tack vare sitt system med jästceller hittade Roger Kornberg, genom en ny mödosam reningsprocess av cellextrakt, ytterligare ett molekyllkomplex som visade sig spela en viktig roll som ett slags ”strömbrytare”, eller relä, i transkriptionsprocessen hos eukaryoter. I DNA-spiralen finns bitar som kallas enhancers (förstärkare). Dessa binder till ämnen som finns specifikt i olika vävnader och stimulerar transkriptionen av vissa gener. Det kan till exempel vara så att det i levern finns en viss signalsubstans som sätter sig på en leverenhancer och signalerar att transkriptionen av en gen i närheten av enhancern ska slås på, medan denna gen aldrig transkriberas i andra delar av kroppen. Vad Kornberg upptäckte var att denna reglering kräver ytterligare ett molekyllkomplex, som förmedlar signalerna och därigenom slår av eller på transkriptionen. Detta ”reläkomplex” fick namnet Mediator.

Det är just spelet mellan vävnadsspecifika ämnen, enhancer-strukturerna i DNA och Mediator som gör den stora komplexiteten hos eukaryoter möjlig, genom att olika gener uttrycks i olika organ. Upptäckten av Mediator är därför en milstolpe i förståelsen av transkriptionsprocessen.

Fortsättning följer

Roger Kornberg fortsätter sitt kristallografiska och funktionella arbete i dag, genom att försöka få med ännu större delar av transkriptionsapparaten i sina beskrivningar. Hittills har han alltså skildrat samspelet mellan RNA-polymeras, DNA, den blivande RNA-strängen och dess byggstenar. Nästa steg blir att få med alla de olika generella transkriptionsfaktorerna och särskilt Mediatoren i full aktion. Kornberg har redan tagit de första stegen i denna riktning.

Kristallografi är ett särskilt viktigt redskap när det gäller förståelsen av transkriptionsprocessen just därför att de olika komponenternas rent rumsliga positioner är så viktiga. Det är därför svårt att skapa någon förståelse för hur processen går till genom mer traditionella

kemiska metoder, där molekylernas position inte avslöjas. Dessutom sker under processens gång ingen klagörande kemisk förändring av viktiga komponenter, som polymeras och transkriptionsfaktorer. Därför är det oerhört komplicerat att kartlägga deras roll med kemiska mätmetoder – vi måste använda kristallografi för att rent fysiskt se var de befinner sig i olika skeden av transkriptionsprocessen.

Att steg för steg bygga upp en funktionell bild av hur transkriptionen går till, handlar om att skapa en grundläggande förståelse för hur den genetiska informationen genererar den flora och fauna av levande varelser vi ser omkring oss. Kunskap om hur detta sker i människokroppen är också av grundläggande medicinsk betydelse.

.....

LÄNKAR OCH LÄSTIPS

På Nobelprisens hemsida, www.nobelprize.org finns mer information om årets priser. Där kan man se presskonferensen som webb-TV. Där finns också en vetenskaplig översiktsartikel med referenser till originalartiklar. Mer information på svenska finns på www.kva.se.

Vetenskapliga originalartiklar:

Cramer, P., Bushnell, D.A. and Kornberg, R.D. (2001) Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 Å resolution. *Science* 292, 1863-1876.

Gnatt, A.L., Cramer, P., Fu, J., Bushnell, D.A. and Kornberg, R.D. (2001) Structural basis of transcription: An RNA polymerase II elongation complex at 3.3 Å resolution. *Science* 292, 1876-1882.

Bushnell, D.A., Westover, K.D., Davis, R.E. and Kornberg, R.D. (2004) Structural basis of transcription: An RNA polymerase II – TFIIB cocrystal at 4.5 Å resolution. *Science* 303, 983-988.

Översiktsartikel:

Boeger, H., Bushnell, D.A., Davis, R., Griesenbeck, J., Lorch, Y., Strattan, J.S., Westover, K.D. and Kornberg, R.D. (2005). Structural basis of eukaryotic gene transcription. *FEBS Lett.* 579, 899-903.

Länk:

Animation av transkription:

The Dolan DNA learning center – genes in education. <http://www.dnalc.org/home.html>.

Media showcase; Transcription: DNA codes for mRNA, 3D animation.

.....

PRISTAGAREN

ROGER D. KORNBERG

Stanford University School of Medicine

Fairchild building, 1st floor

299 Campus Dr.

Stanford, California 94 305-5126

USA

<http://kornberg.stanford.edu/>

Amerikansk medborgare, född 1947 (59 år) i St Louis, MO, USA. PhD vid Stanford University, CA, USA. Mrs. George A. Winzer Professor in Medicine vid Stanford University School of Medicine, CA, USA.