# Биофизика и медицинская физика

Научная статья УДК 577.29, 57,052, 57,042.2 DOI: https://doi.org/10.18721/JPM.15107

# ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ НА УРОВНЕ ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ ПАРАМЕТРОВ ТРАНСКРИПЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ МЕТОДОМ АКУСТИЧЕСКОЙ СИЛОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

# А. Н. Арсениев, М. А. Панфилов, Г. Е. Побегалов, А. С. Потысьева, П. А. Павлинова, М. В. Якунина, М. А. Ходорковский ⊠

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

Санкт-Петербург, Россия

#### <sup>™</sup> khodorkovskii@gmail.com

Аннотация. В настоящей работе приведены результаты одномолекулярных исследований влияния ионов магния на динамические характеристики элонгации транскрипции бактериальной РНК-полимеразы. Показано, что с уменьшением концентрации магния снижаются мгновенная и средняя скорости транскрипции. Наблюдаемая зависимость происходит за счет увеличения количества коротких пауз; предложено объяснение механизма их образования. Для проведения исследований использован метод акустической силовой спектроскопии (АСС), который составил основу для разработки одномолекулярной методики характеризации параметров транскрипции. Приведено подробное описание методики и алгоритма обработки результатов измерений.

**Ключевые слова:** транскрипция, РНК-полимераза, акустическая силовая спектроскопия, одномолекулярные методы

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-996 от 23.09.2021).

Для цитирования: Арсениев А. Н., Панфилов М. А., Побегалов Г. Е., Потысьева А. С., Павлинова П. А., Якунина М. В., Ходорковский М. А. Характеризация на уровне одиночных молекул параметров транскрипции бактериальной РНК-полимеразы методом акустической силовой спектроскопии // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. 2022. Т. 15. № 1. С 70–80. DOI: https://doi. org/10.18721/ JPM.15107

Статья открытого доступа, распространяемая по лицензии СС BY-NC 4.0 (https:// creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

© Арсениев А. Н., Панфилов М. А., Побегалов Г. Е., Потысьева А. С., Павлинова П. А., Якунина М. В., Ходорковский М. А., 2022. Издатель: Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого.

Original article DOI: https://doi.org/10.18721/JPM.15107

# SINGLE MOLECULES CHARACTERIZATION OF TRANSCRIPTION OF BACTERIAL RNA POLYMERASE PARAMETERS USING ACOUSTIC FORCE SPECTROSCOPY

# A. N. Arseniev, M. A. Panfilov, G. E. Pobegalov, A. S. Potyseva,

## P. A. Pavlinova, M. V. Yakunina, M. A. Khodorkovskii 🖾

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

## <sup>III</sup> khodorkovskii@gmail.com

**Abstract.** This work presents the results of single-molecular studies of the effect of magnesium ions on the dynamic characteristics of transcription elongation of bacterial RNA polymerase. It has been shown that the instantaneous and average transcription rates decrease with a decrease in magnesium concentration. The observed dependence occurred due to an increase in the number of short pauses; an explanation of the mechanism of their formation was put forward. To carry out these studies, the method of acoustic force spectroscopy (AFS) was used. This technique served as a basis for the development of a single-molecule procedure for characterizing the transcription parameters. A detailed description of the method and algorithm for processing the measurement results was given.

Keywords: transcription, RNA polymerase, acoustic force spectroscopy, single-molecule methods

**Funding:** The research was supported by the Ministry of Education of Russian Federation as a part of a state task (agreement No. 075-15-2021-996, Sept. 23, 2021).

**For citation:** Arseniev A. N., Panfilov M. A., Pobegalov G. E., Potyseva A. S., Pavlinova P. A., Yakunina M. V., Khodorkovskii M. A., Single molecules characterization of transcription of bacterial RNA-polymerase parameters using acoustic force spectroscopy, St. Petersburg Polytechnical State University Journal. Physics and Mathematics. 15 (1) (2022) 70–80. DOI: https://doi.org/10.18721/JPM.15107

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 license (https://creativecommons. org/licenses/by-nc/4.0/)

#### Введение

Исследованию процесса транскрипции, в результате которого происходит экспрессия гена ДНК-зависимой РНК-полимеразой (РНКП), посвящено огромное количество работ, большинство из которых выполнено с использованием классических биохимических методов. Возможности последних ограничены в получении детальных характеристик этого процесса. Дополнительная важная информация о процессе транскрипции содержится в публикациях по исследованию структур бактериальных РНКП–ДНК комплексов методами криоэлектронной микроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса и рентгеновской кристаллографии. Эти методы дают очень важную информацию о некоторых наиболее долгоживущих состояниях этих комплексов и практически не дают какой-либо информации о промежуточных, короткоживущих состояниях, определяющих динамику процесса.

Фактически, однозначные данные об этой динамике можно получить только с использованием одномолекулярных методов, которые позволяют наблюдать изменение характеристик индивидуальных молекул в реальном масштабе времени, без усреднения по ансамблю частиц. На сегодняшний день наиболее часто используются методы оптической или магнитной ловушек и метод одномолекулярного ферстеровского резонансного переноса энергии smFRET (*англ.* single molecular Förster Resonance Energy Transfer).

© Arseniev A. N., Panfilov M. A., Pobegalov G. E., Potyseva A. S., Pavlinova P. A., Yakunina M. V., Khodorkovskii M. A., 2022. Published by Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University

В последние 10 - 15 лет наблюдается заметный рост числа публикаций с использованием этих методов с целью детальной характеризации динамики процесса элонгации транскрипции [1 - 4]. Результаты этих исследований показывают, что в процессе транскрипции, имеющем пошаговый характер и где величина одного шага соответствует по длине перемещению полимеразы на одну пару оснований ДНК, реализуются различные конформационные состояния РНКП, времена жизни которых различаются на несколько порядков.

В настоящей работе для проведения одномолекулярных исследований использован метод акустической силовой спектроскопии; он обладает преимуществом перед другими методами, ввиду возможности одновременного получения данных о динамике нескольких молекул РНКП. Этот метод является сравнительно новым, в связи с чем в этой работе подробно рассмотрены его возможности и особенности использования методики, разработанной на его основе.

В настоящей работе часть данных о влиянии параметров среды на динамические характеристики транскрипции бактериальной РНКП получена впервые.

#### Метод акустической силовой спектроскопии для анализа транскрипции

Впервые метод акустической силовой спектроскопии (ACC) был представлен в конце 2014 года [3]. Метод реализован на специальной установке Lumicks, включающей в себя специальный микрофлюидный чип, инвертированный микроскоп и камеру. Эксперименты проводятся с использованием специального устройства — микрофлюидного чипа, который представляет собой ячейку, ограниченную двумя стеклянными пластинами, между которыми находится жидкость. При подаче напряжения пьезогенератор, расположенный на этом чипе, создает плоскую акустическую волну, действующую на полимерные микросферы; их смещение фиксируется с помощью инвертированного микроскопа и камеры. Молекулы ДНК закрепляются между поверхностью стекла чипа и микросферами (рис. 1). Сила, имеющая акустическую природу, оказывает воздействие на микросферы.

Акустическая волна, распространяющаяся внутри чипа, создает силу, действующую на микросферы:

$$F = -V\nabla \left[\frac{1-k^*}{4}k_m p^2 - \frac{\rho^* - 1}{2\rho^* + 1}\rho_m v^2\right],\tag{1}$$

где *V*, м<sup>3</sup>, – объем микросферы; *p*, Па, – звуковое давление; *v*, м/с, – скорость звука;  $\rho^* = \rho_p / \rho_m$  – отношение плотностей микросферы и среды;  $k^* = k_p / k_m$  – отношение ко-эффициентов упругости микросферы и среды.

Величина силы F (см. рис. 1) зависит от размера микросферы, частоты акустической волны и ее амплитуды, которая в свою очередь зависит от напряжения, подающегося на пьезоэлемент [3].



Рис. 1. Схема эксперимента по изучению транскрипции методом акустической силовой спектроскопии:

РЕ – пьезоэлемент; G – стекло; SCM, RMS – микросфера, модифицированная стрептавидином,

и референсная микросфера, соответственно; DNA, RNA – ДНК и РНК;

 $RNAP - PHK\Pi$ , модифицированная биотином; TD - направление транскрипции; F - прилагаемая сила

Как правило, диапазон сил при использовании этого метода находится в пределах от единиц до десятков и даже сотен пиконьютонов, что дает возможность применять его к исследованиям биологических объектов [5].

Несмотря на конструктивную простоту реализации метода АСС, для осуществления эксперимента необходимо придерживаться довольно объемного и сложного протокола.

На этапе подготовки к эксперименту необходимо получить молекулу ДНК, которая будет крепиться к одной из поверхностей микрофлюидного чипа. Для этого ДНК и поверхность модифицируют соответственно дигоксигенином и антителами к нему — соединениями, образующими химическую связь при взаимодействии. Как видно на рис. 1, для проведения эксперимента РНК-полимераза (РНКП) должна быть химически связана с микросферой. Для этих целей используются биотин и стрептавидин — соединения, которыми модифицированы РНКП и микросфера соответственно [6].

Транскрипционный цикл, осуществляемый РНК-полимеразой (независимо от типа клетки), включает в себя три последовательные стадии: инициацию, элонгацию и терминацию. Инициация включает в себя связывание РНКП с особой последовательностью ДНК — промотором, в результате которого происходит плавление связанного двунитевого участка ДНК и образуется открытый комплекс РНКП — ДНК. Далее осуществляется активный синтез РНК-молекулы — это стадия элонгации. Продвижение РНКП по ДНК происходит неравномерно, в ходе элонгации этот фермент может делать временные остановки (паузы), прекращать движение (перманентная остановка) или терминировать синтез РНК в ответ на регуляторные воздействия со стороны белковых факторов и/или сигналов, закодированных в ДНК и РНК [7, 8].

Метод АСС позволяет одновременно регистрировать динамику перемещения нескольких молекул РНКП по ДНК, обеспечивая тем самым его преимущество перед другими одномолекулярными методами, в которых возможно детектирование положения только одной молекулы РНКП [9, 10].

Элонгационные профили отражают динамические характеристики одиночной РНКП, такие как мгновенная (скорость между паузами) и средняя скорости, наличие остановок/пауз и их продолжительность, и представляют собой фактически графическую интерпретацию характерного движения одиночных полимераз, осуществляющих элонгацию транскрипции, представленную в форме зависимости транскрибируемой длины ДНК (в нанометрах либо нуклеотидах) от времени (секунды).

#### Алгоритм обработки элонгационных профилей

Типичный вид элонгационных профилей трех одиночных РНК-полимераз в условиях отсутствия влияния на транскрипцию каких-либо химических агентов, приведен на рис. 2.



Рис. 2. Репрезентативные элонгационные профили трех одиночных РНКП в контрольных условиях, при которых нет влияния химических агентов

При обработке полученных данных используется медианный фильтр с окном в несколько секунд и для повторного сглаживания — фильтр Савицкого — Голея [11]. Устанавливаются предельные значения скоростей и все временные промежутки, на которых скорости ниже порогового значения рассматриваются как паузы. Эти паузы сортируются на «длинные», продолжительность которых более 20 с, и «короткие», продолжительность которых составляет от 2,5 до 20 с [12, 13]. Разрешающая способность установки не позволяет регистрировать паузы длительностью короче 2,5 с. Пороговое значение выбирается равным 0,5  $\sigma$ , где  $\sigma$  — величина стандартного отклонения от среднего значения, полученная из распределения Гаусса для мгновенных скоростей. Функция Гаусса f(x) имеет вид

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2}.$$

Полученные значения усредняются по всему ансамблю пауз и представляются в виде «среднее ± стандартная ошибка среднего (s.e.m)». В качестве критерия статистической достоверности используется критерий Манна – Уитни. В результате обработки с выбранным предельным порогом скорости формируется распределение мгновенных скоростей.

В общем случае в распределении скоростей присутствуют сигналы, соответствующие производным от шумового и полезного сигналов. Шумовая составляющая определяется параметрами экспериментальной установки, и ее спектр соответствует распределению производных тех участков элонгационного профиля, где движение полимеразы остановлено, т. е. когда она находится в паузированных состояниях. Производная шума имеет симметричное распределение относительно нуля скорости, и для учета ее вклада можно использовать отрицательную часть распределения, на которую не накладывается полезный сигнал. Поскольку положительные значения шумового сигнала по абсолютной величине равны ее отрицательным значениям, истинное распределение мгновенных скоростей можно получить путем вычитания абсолютных значений шумового сигнала из суммарного распределения скоростей. Такая методика была использована в работах [14, 15]. Для описанного примера приведена гистограмма одного из полученных элонгационных профилей с выраженным бимодальным распределением (рис. 3,*a*). Разложение этого распределения с использованием функций Гаусса позволяет выделить распределение вблизи нуля (красная кривая), соответствующее шумовой составляющей сигнала, и истинной мгновенной скорости (зеленая кривая).

Параметры мгновенной скорости можно определить точнее, если использовать приведенную выше процедуру вычитания шумового сигнала.



Рис. 3. Гистограммы распределений мгновенных скоростей до (*a*) и после (*b*) вычитания абсолютных значений шумовой составляющей сигнала и аппроксимации функцией Гаусса (зеленые кривые – мгновенная скорость, красная – шумовая составляющая)

На рис. 3,*b* приведена аппроксимация распределения скоростей функцией Гаусса после вычитания шумового сигнала. Как видно из результатов аппроксимации, значение мгновенной скорости при такой обработке несколько выше и, вероятно, ближе к истинным значениям мгновенной скорости движения полимеразы.

После проведения указанных манипуляций для каждого полученного элонгационного профиля, данные для всех профилей, соответствующих конкретным условиям эксперимента, усредняются и представляются в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего (s.e.m.).

Значение средней скорости транскрипции для каждой РНК-полимеразы равно отношению пути, пройденного полимеразой (длина элонгационного профиля), к общему времени, затраченному на его прохождение. Полученные значения усредняются по всему ансамблю скоростей для каждого из экспериментальных условий и представляются как среднее значение  $\pm$  s.e.m. В качестве критерия статистической достоверности используется критерий Манна — Уитни.

#### Влияние ионов магния на параметры транскрипции

Для оценки влияния ионов магния на процесс транскрипции было проведено сравнение параметров элонгационных профилей, измеренных при концентрациях хлорида магния MgCl<sub>2</sub>, равных 1 и 10 мМ. Репрезентативные элонгационные профили одиночных РНКП при разных концентрациях магния приведены на рис. 4.

Значения мгновенной и средней скоростей транскрипции при концентрации хлорида магния 10 мМ, полученные после усреднения по 28 элонгационным профилям (рис. 5), оказались равными 20,5 ± 0,9 и 17 ± 0,7 нуклеотидов в секунду (нт/с; среднее значение ± s.e.m.).



Рис. 4. Репрезентативные элонгационные профили одиночных РНКП при концентрациях MgCl<sub>2</sub>, равных 1 мМ (кривая синего цвета) и 10 мМ (кривая красного цвета)



Рис. 5. Диаграмма значений мгновенной (слева) и средней (справа) скоростей транскрипции для концентраций MgCl<sub>2</sub> 10 мМ (зеленые столбики) и 1 мМ (синие столбики). Концентрация нуклеозидтрифосфатов (НТФ) – 1 мМ

Численные значения этих величин практически совпадают с данными, приведенными в литературе [6, 16, 17]. Столь близкие значения средней и мгновенной скоростей и небольшое количество коротких пауз при высокой концентрации ионов магния свидетельствуют о том, что время, в течение которого РНК-полимераза находится без движения, незначительно, по сравнению со временем, затраченным на транскрипцию участка ДНК, который в этих экспериментах был выбран равным 500 нм  $\pm$  10 %. Больших пауз (длительностью свыше 20 с) в этих условиях не наблюдается, в то время как небольшое количество коротких пауз (от 2,5 до 20 с) было найдено с помощью протокола обработки, приведенного выше. Результаты обработки всего массива данных с определением среднего количества коротких пауз, приходящихся на один элонгационный профиль, представлены на рис. 6.



Рис. 6. Диаграмма среднего количества коротких пауз транскрипции, приходящихся на один элонгационный профиль, для концентраций MgCl<sub>2</sub> 10 мМ (зеленый столбик) и 1 мМ (синий столбик). Концентрация HTФ – 1 мМ

Как видно на рис. 4, принципиальное отличие вида элонгационного профиля при пониженной концентрации магния (1 мМ MgCl<sub>2</sub>) от вида при его повышенной концентрации (10 мМ MgCl<sub>2</sub>) заключается в том, что полимераза проходит ту же длину ДНК за гораздо большее время. При этом, как и в случае с большой концентрацией магния, пауз длительностью более 20 с не наблюдается. Значения мгновенной и средней скоростей, а также количество коротких пауз на один элонгационный профиль, рассчитанных по тем же протоколам, что и при высокой концентрации ионов магния, оказались равными соответственно 8,7 ± 0,9 и 6,3 ± 0,8 нт/с, а также 23,6 ± 4 паузы (см. рис. 5 и 6).

Прежде всего следует отметить, что качественно полученные результаты о замедлении скорости элонгации транскрипции при уменьшении концентрации ионов магния совпадают с данными биохимических экспериментов. Однако получение объективных данных о возможных процессах, влияющих на величину средней скорости транскрипции, с использованием ансамблевых методов не представляется возможным.

Как следует из результатов, полученных в настоящей работе, снижение средней скорости транскрипции при уменьшении концентрации ионов магния происходит, в существенной степени, за счет роста количества коротких пауз. Возможный механизм образования этих пауз связан с формированием ошибочного состава среды в активном центре РНКП, необходимого для первой стадии элонгации транскрипции. Этот состав должен содержать нуклеотид, комплементарный соответствующему нуклеотиду матричной цепи ДНК, и ион магния. Эти компоненты состава поступают в активный центр полимеразы через вторичный канал в результате диффузии. Поступление ошибочных нуклеотидов в активный центр РНКП либо отсутствие там ионов магния приводят к возникновению коротких пауз, во время которых РНКП может удалить неправильный состав из активного центра.

В предположении такого механизма возникновения паузы следует ожидать, что при

низкой концентрации MgCl<sub>2</sub> в транскрипционном буфере количество случаев с отсутствием ионов магния в активном центре будет больше, чем при высокой концентрации этих ионов, и, соответственно, количество коротких пауз при низкой концентрации будет также больше, что и наблюдается в этом исследовании.

Следует отметить, что разрешающая способность установки ACC не позволяет регистрировать паузы длительностью короче 2,5 с, количество которых, весьма вероятно, также существенно больше при низких концентрациях магния. Принимая это во внимание, можно предположить, что величина мгновенной скорости элонгации (т. е. скорость между паузами) при низкой концентрации ионов магния больше того значения, которое в настоящей работе получено из расчета этой скорости между паузами длительностью выше 2,5 с.

#### Заключение

Разработана методика измерения элонгационных профилей транскрипции на уровне индивидуальных молекул методом акустической силовой спектроскопии (ACC) и создан алгоритм анализа полученных данных. С помощью этой методики проведено исследование таких параметров транскрипции, как мгновенная и средняя скорости элонгации и спектр паузированных состояний бактериальной РНК-полимеразы, и изучена их зависимость от концентрации ионов магния. Полученные значения этих параметров позволили сделать вывод о возможном механизме формирования коротких пауз на стадии элонгации транскрипции бактериальной РНКП.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dulin D., Lipfert J., Moolman M. C., Dekker N. H. Studying genomic processes at the singlemolecule level: introducing the tools and applications // Nature Reviews Genetics. 2013. Vol. 14. No. 1. Pp. 9–22.

2. Kamsma D., Creyghton R., Sitters G., Wuite G. J., Peterman E. J. Tuning the music: Acoustic force spectroscopy (AFS) 2.0 // Methods. 2016. Vol. 105. 1 August. Pp. 26–33.

3. Sitters G., Kamsma D., Thalhammer G., Ritsch-Marte M., Peterman E. J. G., Wuite G. J. L. Acoustic force spectroscopy // Nature Methods. 2015. Vol. 12. No. 1. Pp. 47–50.

4. Mohapatra S., Lin Ch.-T., Feng X. A., Basu A., Ha T. Single-molecule analysis and engineering of DNA motors // Chemical Reviews. 2020. Vol. 120. No. 1. Pp. 36–78.

5. Yin H., Wang M. D., Svoboda K., Landick R., Block S. M., Gelles J. Transcription against an applied force // Science. 1995. Vol. 270. No. 5242. Pp. 1653–1657.

6. Metelev M., Arseniev A., Bushin L. B., Kuznedelov K., Artamonova T. O., Kondratenko R., Khodorkovskii M., Seyedsayamdost M. R., Severinov K. Acinetodin and klebsidin, RNA polymerase targeting lasso peptides produced by human isolates of *Acinetobacter gyllenbergii* and *Klebsiella pneumoniae* // ACS Chemical Biology. 2017. Vol. 12. No. 3. Pp. 814–824.

7. Nudler E. RNA polymerase backtracking in gene regulation and genome instability // Cell. 2012. Vol. 149. No. 7. Pp. 1438–1445.

8. Saba J., Chua X. Y., Mishanina T. V., Nayak D., Windgassen T. A., Mooney R. A., Landick R. The elemental mechanism of transcriptional pausing // eLife. 2019. January 8. P. e40981.

9. Zhao Y., Chen D., Yue H., French J. B., Rufo J., Benkovic S. J., Huang T. J. Lab-on-a-chip technologies for single-molecule studies // Lab on a Chip. 2013. Vol. 13. No. 12. P. 2183.

10. Neuman K.C., Nagy A. Single-molecule force spectroscopy: Optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy // Nature Methods. 2008. Vol. 5. No. 6. Pp. 491–505.

Savitzky A., Golay M. J. E. Smoothing and differentiation // Analytical Chemistry. 1964. Vol. 36. No. 8. Pp. 1627–1639.

12. Neuman K. C., Abbondanzieri E. A., Landick R., Gelles J., Block S. M. Ubiquitous transcriptional pausing is independent of RNA polymerase backtracking // Cell. 2003. Vol. 115. No. 4. Pp. 437–447.

13. Shaevitz J. W., Abbondanzieri E. A., Landick R., Block S. M. Backtracking by single RNA polymerase molecules observed at near-base-pair resolution // Nature. 2003. Vol. 426. No. 6967. Pp. 684–687.

14. Hodges C., Bintu L., Lubkowska L., Kashlev M., Bustamante C. Nucleosomal fluctuations

govern the transcription dynamics of RNA polymerase II // Science. 2009. Vol. 325. No. 5940. Pp. 626–628.

15. Bintu L., Ishibashi T., Dangkulwanich M., Wu Yu-Yi, Lubkowska L., Kashlev M., Bustamante C. Nucleosomal elements that control the topography of the barrier to transcription // Cell. 2012. Vol. 151. No. 4. Pp. 738–749.

16. **Mejia Y. X., Nudler E., Bustamante C.** Trigger loop folding determines transcription rate of *Escherichia coli's* RNA polymerase // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2015. Vol. 112. No. 3. Pp. 743–748.

17. Adelman K., Yuzenkova J., La Porta A., Zenkin N., Lee J., Lis J. T., Borukhov S., Wang M. D., Severinov K. Molecular mechanism of transcription inhibition by peptide antibiotic microcin J25 // Molecular Cell. 2004. Vol. 14. No. 6. Pp. 753–762.

#### REFERENCES

1. Dulin D., Lipfert J., Moolman M. C., Dekker N. H., Studying genomic processes at the single-molecule level: introducing the tools and applications, Nat. Rev. Genet. 14 (1) (2013) 9–22.

2. Kamsma D., Creyghton R., Sitters G., et al., Tuning the music: Acoustic force spectroscopy (AFS) 2.0, Methods. 105 (1 August) (2016) 26–33.

3. Sitters G., Kamsma D., Thalhammer G., et al., Acoustic force spectroscopy, Nat. Methods. 12 (1) (2015) 47–50.

4. Mohapatra S., Lin Ch.-T., Feng X. A., et al., Single-molecule analysis and engineering of DNA motors, Chem. Rev. 120 (1) (2020) 36–78.

5. Yin H., Wang M. D., Svoboda K., et al., Transcription against an applied force, Sci. 270 (5242) (1995) 1653–1657.

6. Metelev M., Arseniev A., Bushin L. B., et al., Acinetodin and klebsidin, RNA polymerase targeting lasso peptides produced by human isolates of *Acinetobacter gyllenbergii* and *Klebsiella pneumonia*, ACS Chem. Biol. 12 (3) (2017) 814–824.

7. Nudler E., RNA polymerase backtracking in gene regulation and genome instability, Cell. 149 (7) (2012) 1438–1445.

8. Saba J., Chua X. Y., Mishanina T. V., et al., The elemental mechanism of transcriptional pausing, eLife. (Jan. 8) (2019) e40981.

9. Zhao Y., Chen D., Yue H., et al., Lab-on-a-chip technologies for single-molecule studies, Lab Chip. 13 (12) (2013) 2183.

10. Neuman K.C., Nagy A., Single-molecule force spectroscopy: Optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy, Nat. Methods. 5 (6) (2008) 491–505.

11. Savitzky A., Golay M. J. E., Smoothing and differentiation, Anal. Chem. 36 (8) (1964) 1627–1639.

12. Neuman K. C., Abbondanzieri E. A., Landick R., et al., Ubiquitous transcriptional pausing is independent of RNA polymerase backtracking, Cell. 115 (4) (2003) 437–447.

13. Shaevitz J. W., Abbondanzieri E. A., Landick R., Block S. M., Backtracking by single RNA polymerase molecules observed at near-base-pair resolution, Nature. 426 (6967) (2003) 684–687.

14. Hodges C., Bintu L., Lubkowska L., et al., Nucleosomal fluctuations govern the transcription dynamics of RNA polymerase II, Sci. 325 (5940) (2009) 626–628.

15. Bintu L., Ishibashi T., Dangkulwanich M., et al., Nucleosomal elements that control the topography of the barrier to transcription, Cell. 151 (4) (2012) 738–749.

16. Mejia Y. X., Nudler E., Bustamante C., Trigger loop folding determines transcription rate of Escherichia coli's RNA polymerase, Proc. Natl. Acad. Sci. 112 (3) (2015) 743–748.

17. Adelman K., Yuzenkova J., La Porta A., et al., Molecular mechanism of transcription inhibition by peptide antibiotic microcin J25, Mol. Cell. 14 (6) (2004) 753–762.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**АРСЕНИЕВ Анатолий Николаевич** — научный сотрудник научно-исследовательского комплекса «Нанобиотехнологии» Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29 arsenievanatoly@gmail.com ORCID: 0000-0003-0901-4188

ПАНФИЛОВ Михаил Андреевич — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия. 195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29

miha-panf@yandex.ru ORCID: 0000-0003-2875-7315

ПОБЕГАЛОВ Георгий Евгеньевич — кандидат физико-математических наук, научный сотрудник научно-исследовательского комплекса «Нанобиотехнологии» Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29 lwdrums@gmail.com ORCID: 0000-0003-0836-0732

ПОТЫСЬЕВА Алина Сергеевна — студентка Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия. 195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29 alina.potyseva@yandex.ru ORCID: 0000-0003-0121-1494

**ПАВЛИНОВА Полина Андреевна** – лаборант-исследователь лаборатории молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29 polina.pavlina1004@gmail.com ORCID: 0000-0003-4269-5632

**ЯКУНИНА Мария Вячеславовна** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29 yakuninam@gmail.com ORCID: 0000-0003-2083-3643

**ХОДОРКОВСКИЙ Михаил Алексеевич** — кандидат физико-математических наук, директор научно-исследовательского комплекса «Нанобиотехнологии» Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

195251, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29 khodorkovskii@gmail.com ORCID: 0000-0003-0562-0156

## THE AUTHORS

### **ARSENIEV** Anatolii N.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia arsenievanatoly@gmail.com ORCID: 0000-0003-0901-4188

#### PANFILOV Mikhail A.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia miha-panf@yandex.ru ORCID: 0000-0003-2875-7315

#### **POBEGALOV Georgii E.**

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia lwdrums@gmail.com ORCID: 0000-0003-0836-0732

#### **POTYSEVA Alina S.**

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia alina.potyseva@yandex.ru ORCID: 0000-0003-0121-1494

## PAVLINOVA Polina A.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia polina.pavlina1004@gmail.com ORCID: 0000-0003-4269-5632

#### YAKUNINA Maria V.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia yakuninam@gmail.com ORCID: 0000-0003-2083-3643

#### KHODORKOVSKII Mikhail A.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University 29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia khodorkovskii@gmail.com ORCID: 0000-0003-0562-0156

Статья поступила в редакцию 07.12.2021. Одобрена после рецензирования 15.12.2021. Принята 15.12.2021. Received 07.12.2021. Approved after reviewing 15.12.2021. Accepted 15.12.2021.

<sup>©</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 2022