

核酸部分

第十章 DNA 的结构与功能

第一节 DNA 的一级结构

第二节 DNA 的双螺旋结构

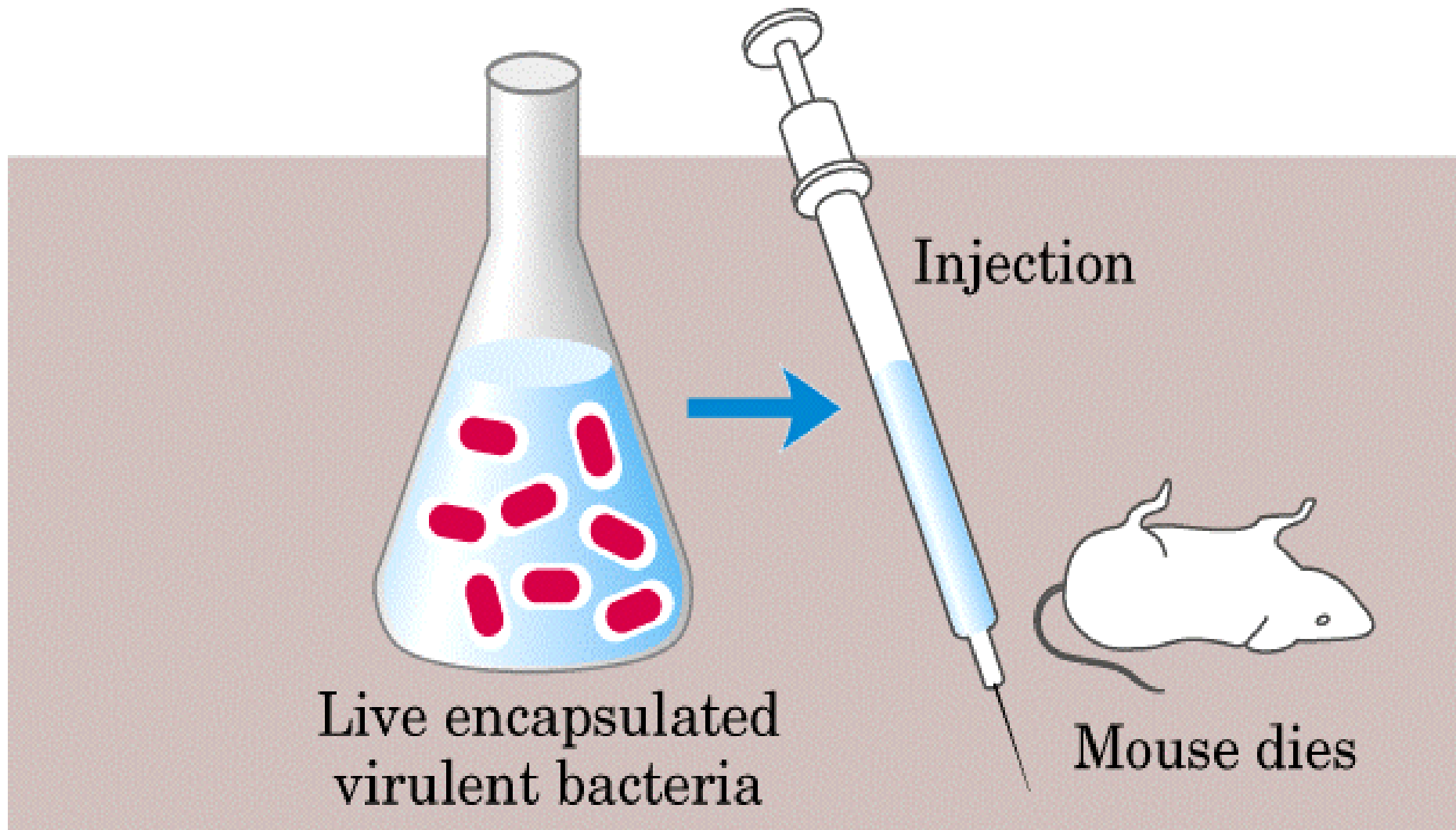
第三节 DNA 的超螺旋结构和其他结构

第四节 DNA 的功能

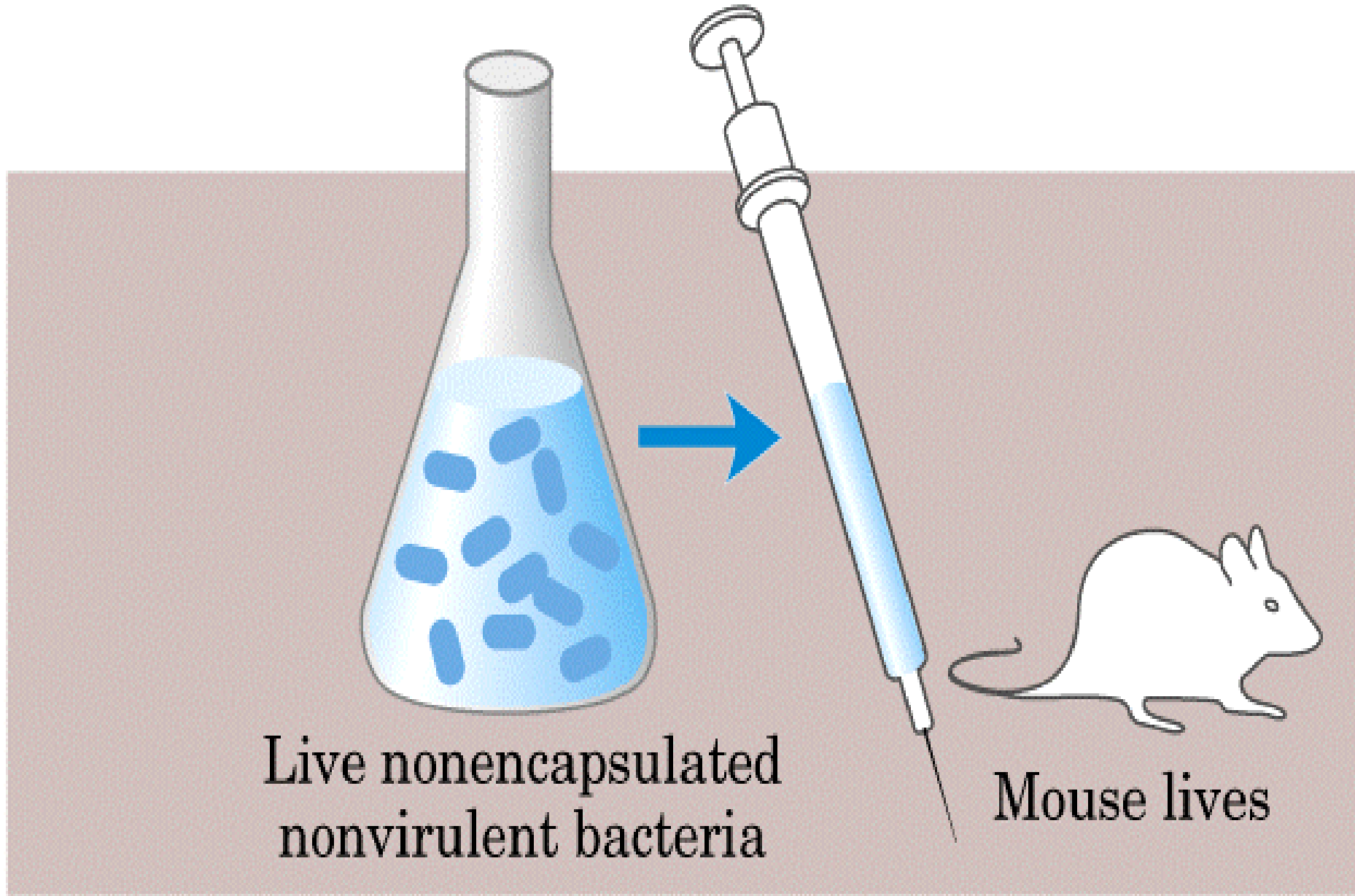
DNA 是一种十分庞大的生物大分子，在 10^6 bp 以上。人： 10^9 bp 以上。胞内 **DNA** 分子大小大体与进化水平呈正相关，但也有例外，如南非肺鱼为 5×10^{10} bp, 比人高 15 倍

因此 **DNA** 分子中蕴藏着的无穷奥秘，随着重组 **DNA** 技术的建立和发展，随着人类基因组计划的完成和后基因组计划的实施，**DNA** 将逐渐被人们所了解和认识

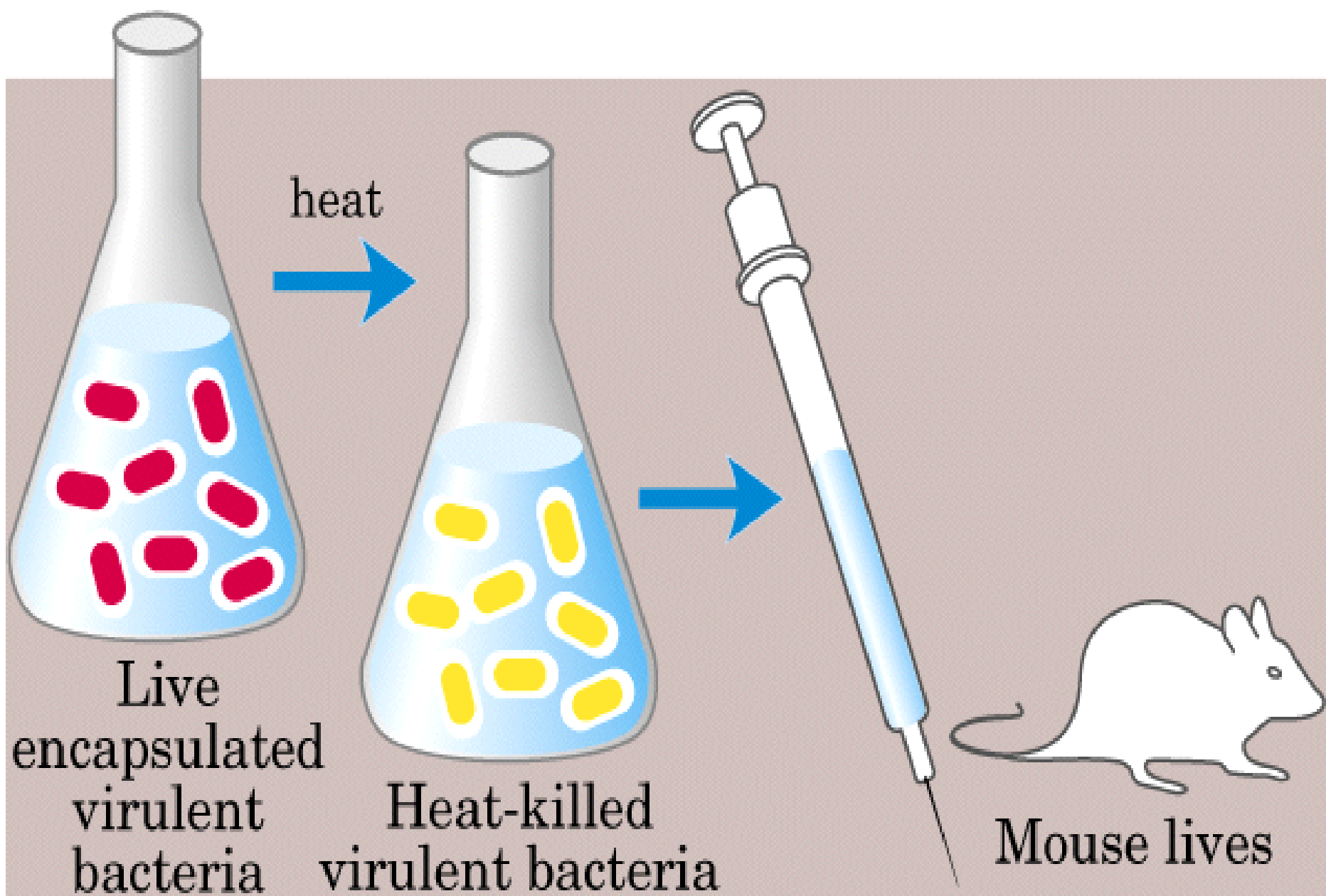
O. Avery test:



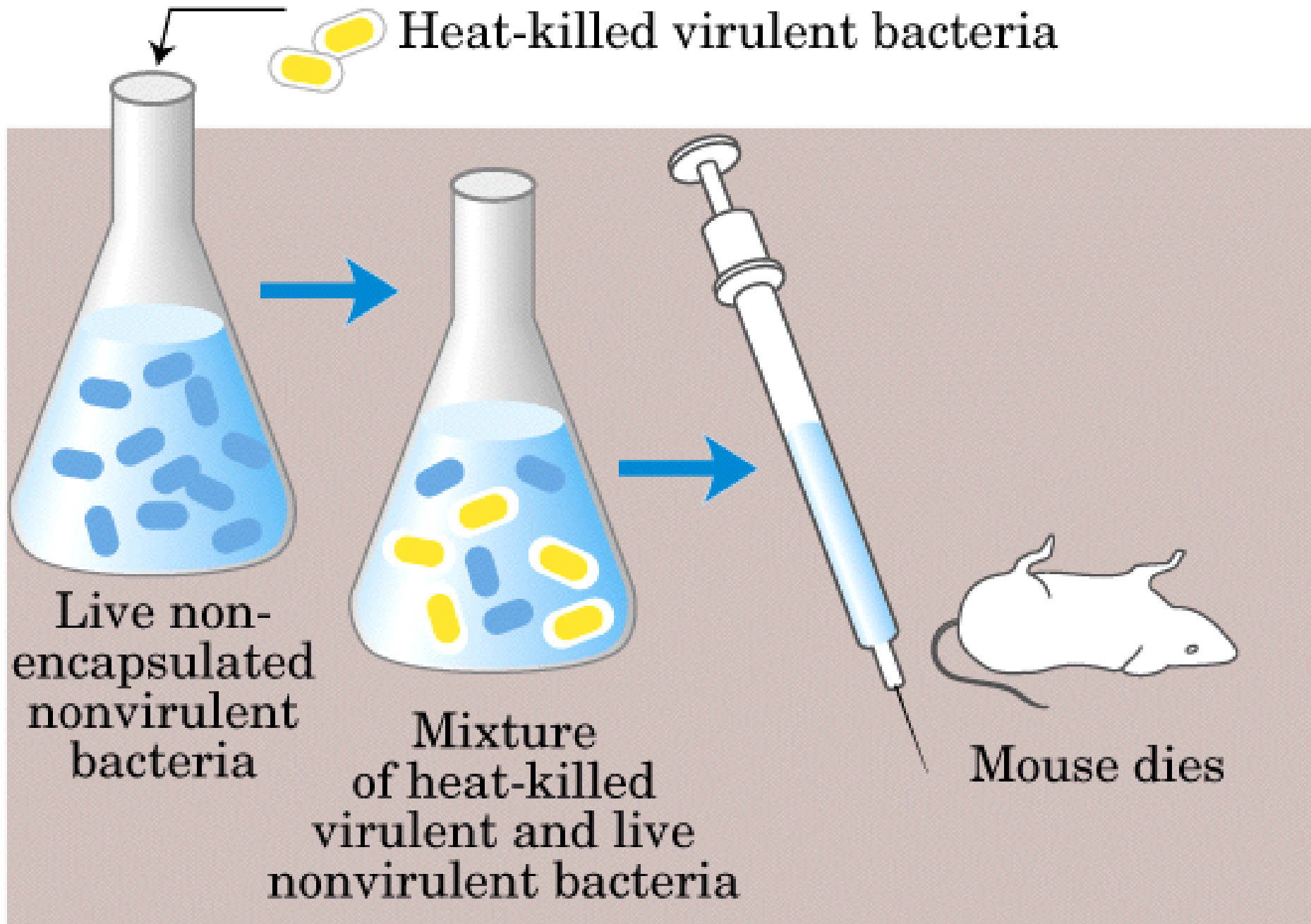
(a)



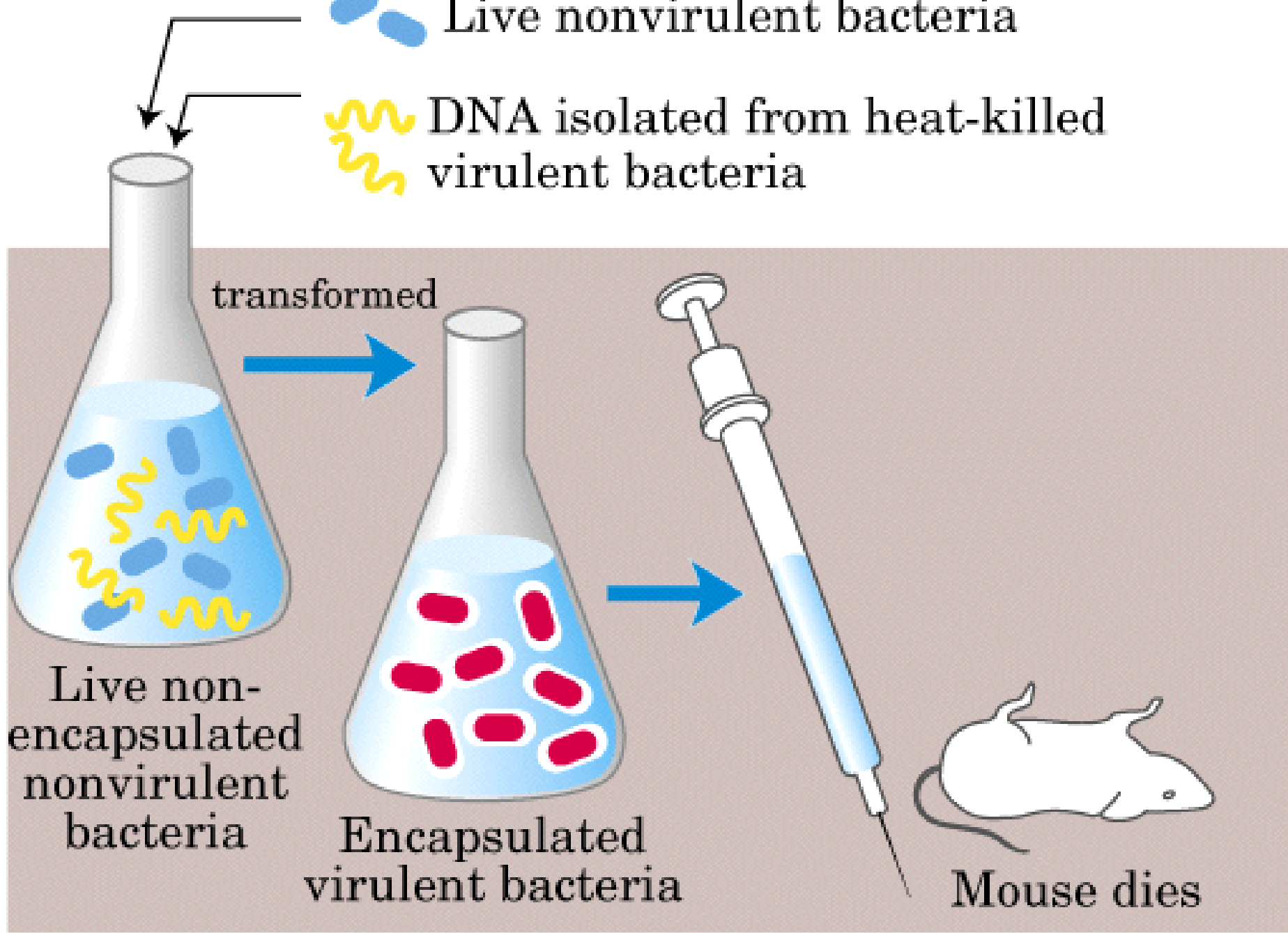
(b)



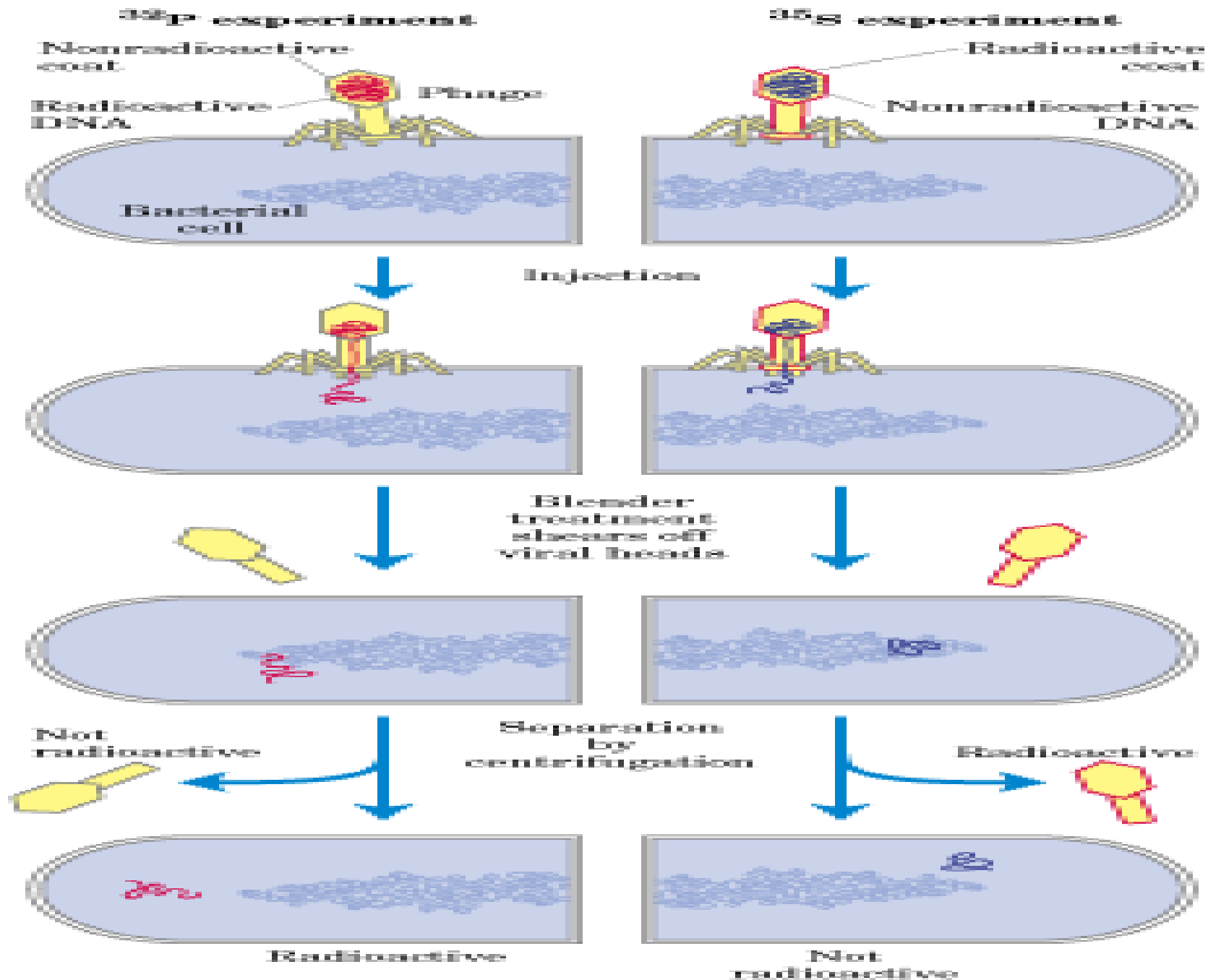
(c)



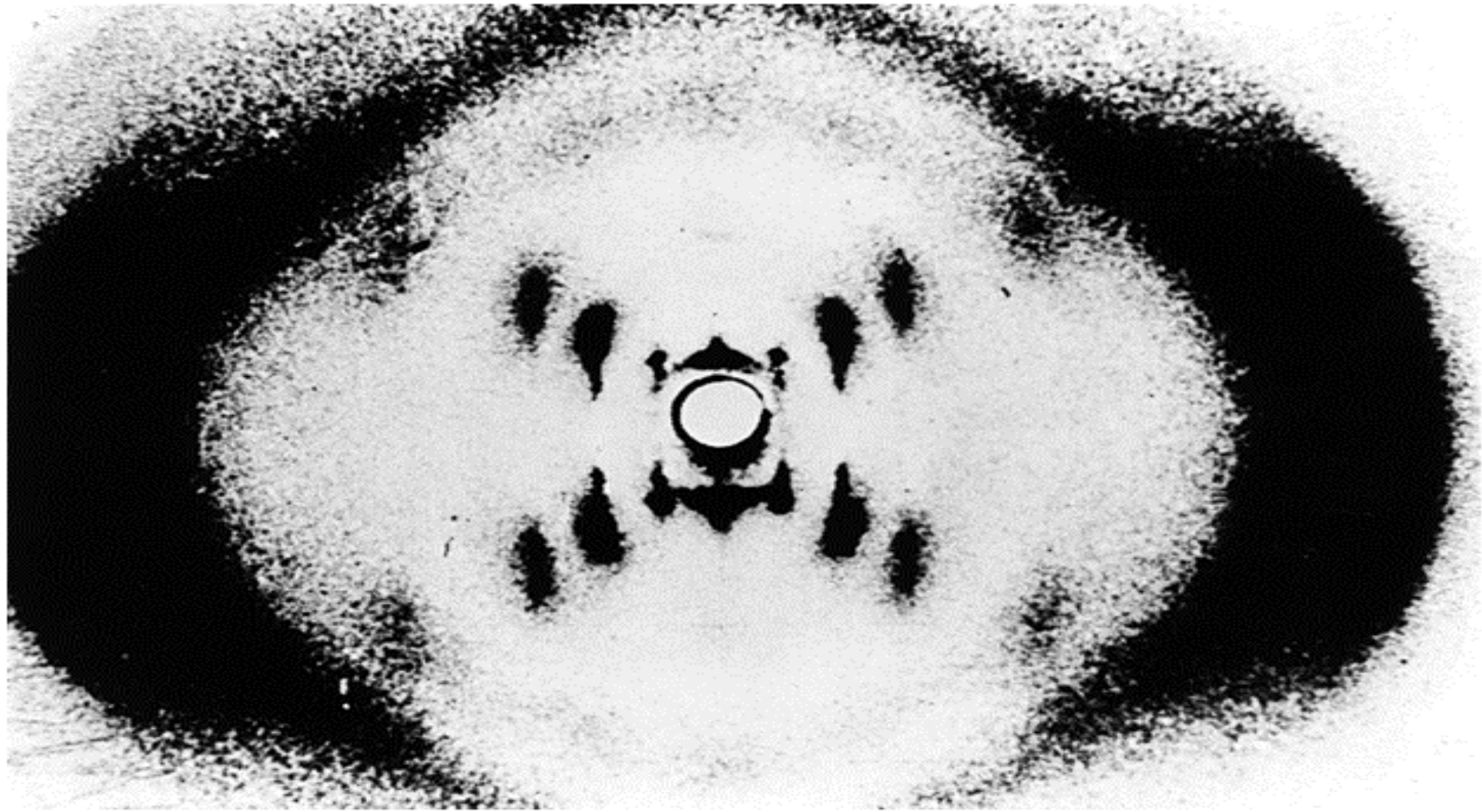
(d)



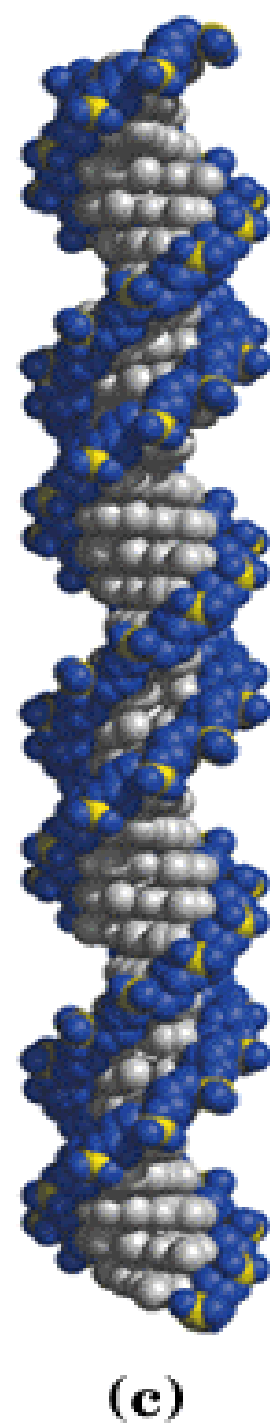
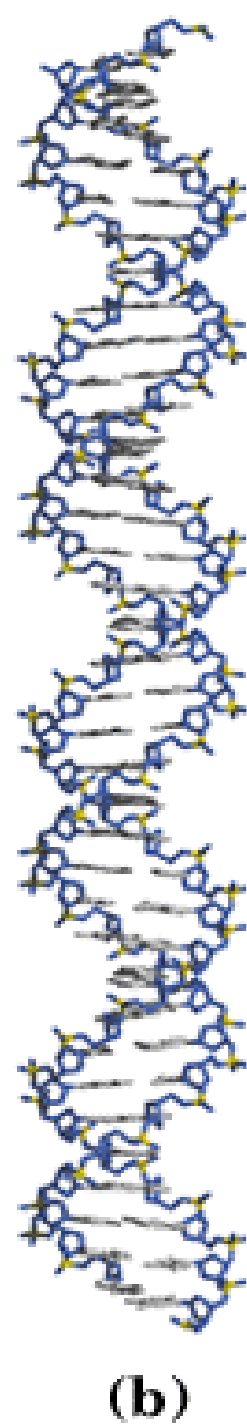
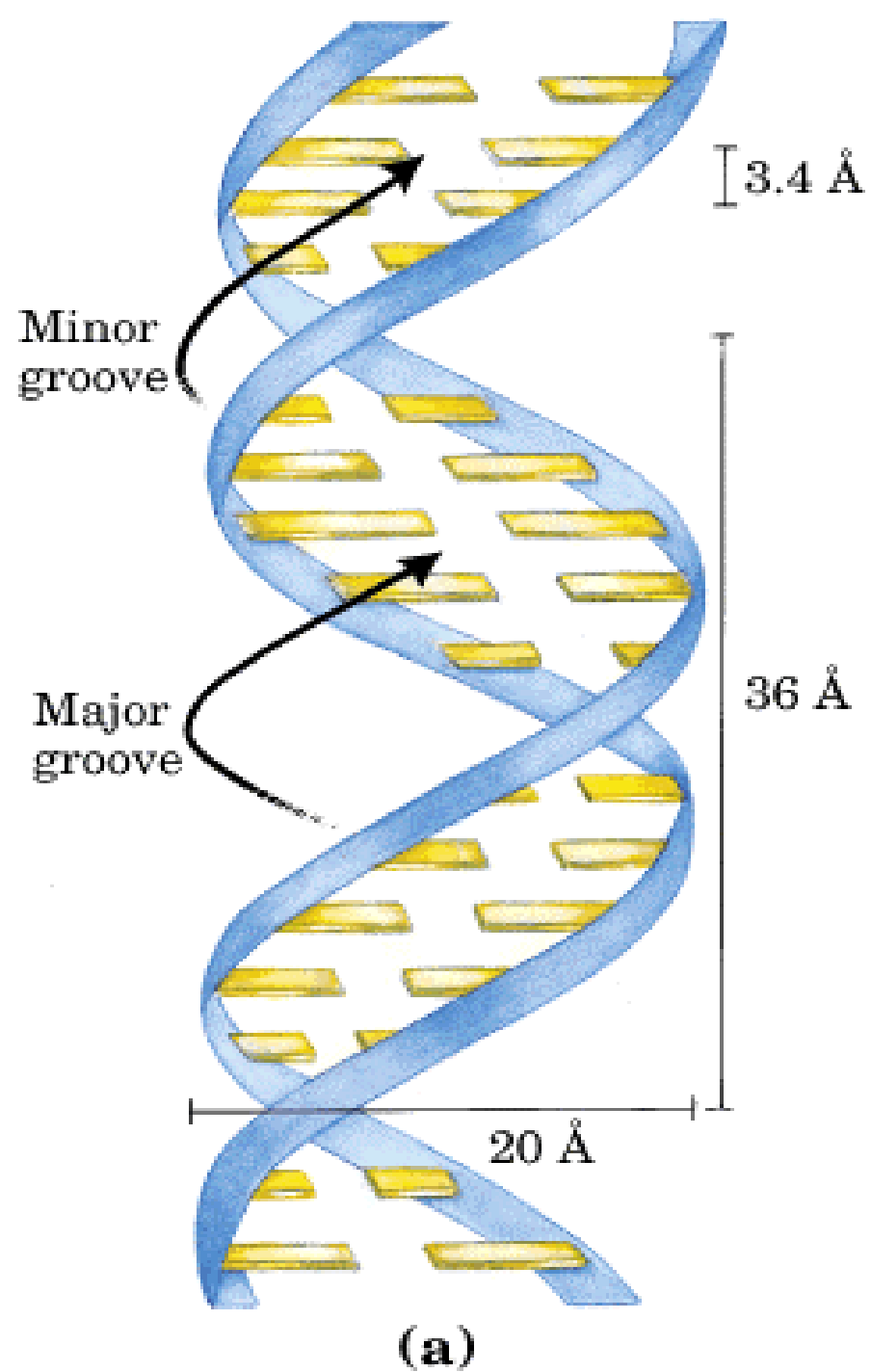
(e)



Watson and Crick Test



水化DNA纤维的X光衍射图，十字交叉是双螺旋的特征，强弧形是 3.4\AA 碱基对堆集的特征。



第一节 DNA 的一级结构

一、DNA 的组成

二、DNA 的连接

三、DNA 的一级结构及序列测定

四、线性 DNA 末端-端粒结构和功能

一、DNA 的组成

脱氧核苷酸由脱氧核糖、磷酸和碱基3种成分组成。

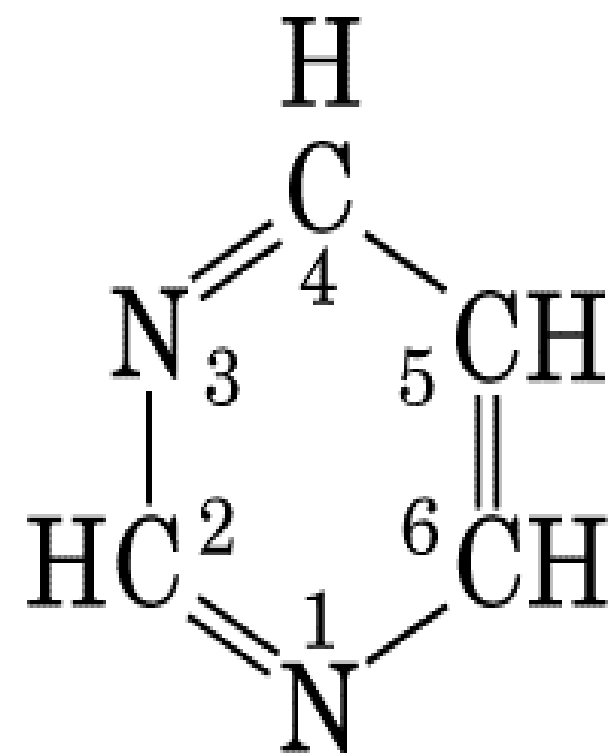
脱氧核糖是在 2' 位没有羟基的五碳糖。

碱基有两类：嘧啶和嘌呤。

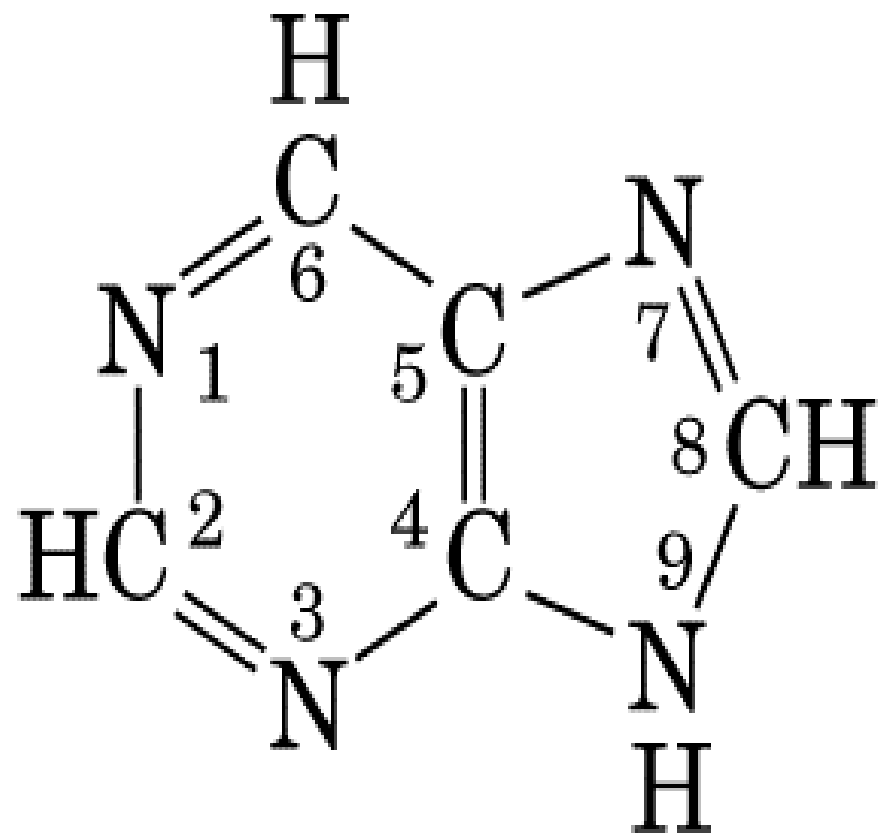
嘧啶又有两种：胸腺嘧啶（T）和胞嘧啶（C）；

嘌呤也有两种：腺嘌呤（A）和鸟嘌呤（G）。

碱基有两类： 嘧啶和嘌呤

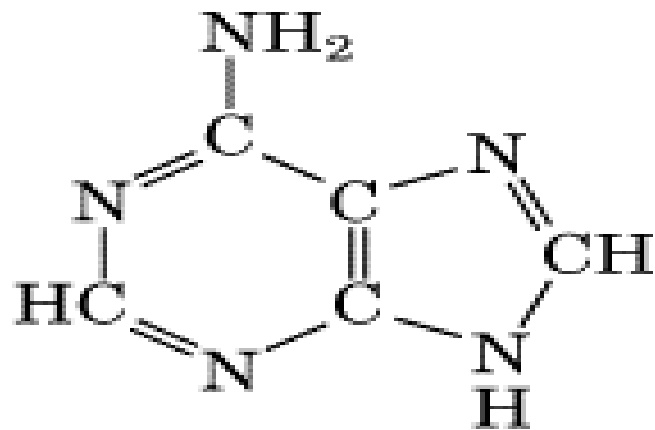


Pyrimidine

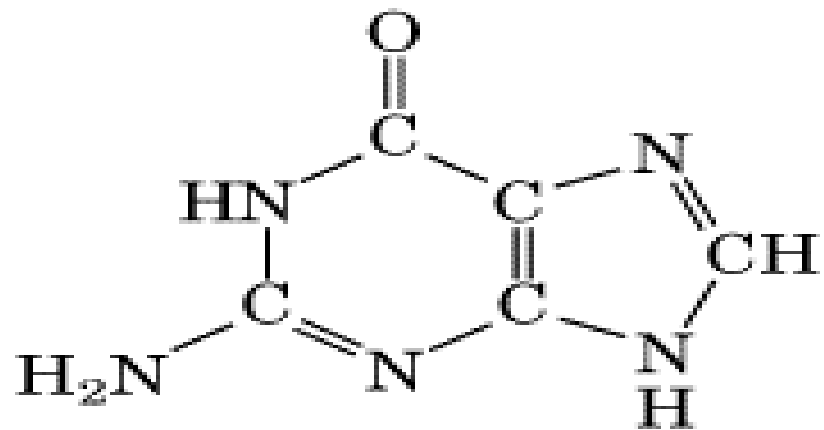


Purine

(b)

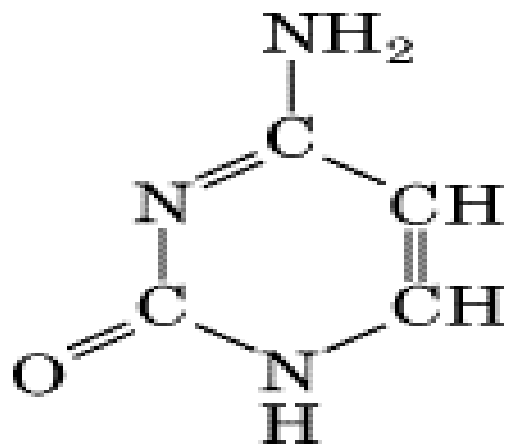


Adenine

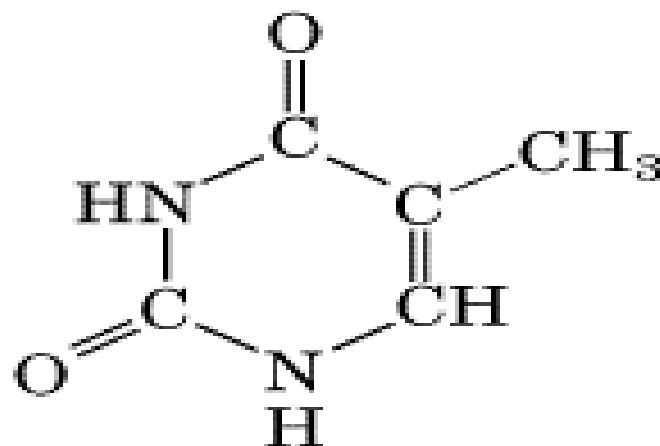


Guanine

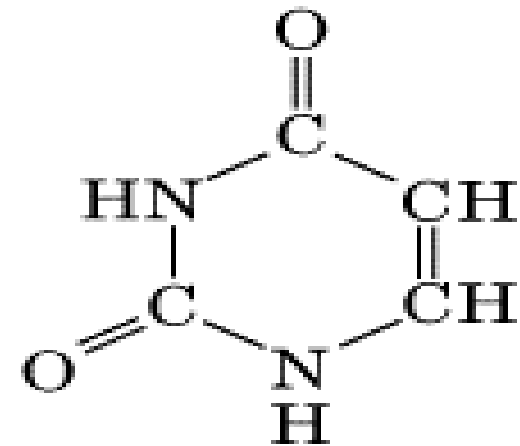
Purines



Cytosine



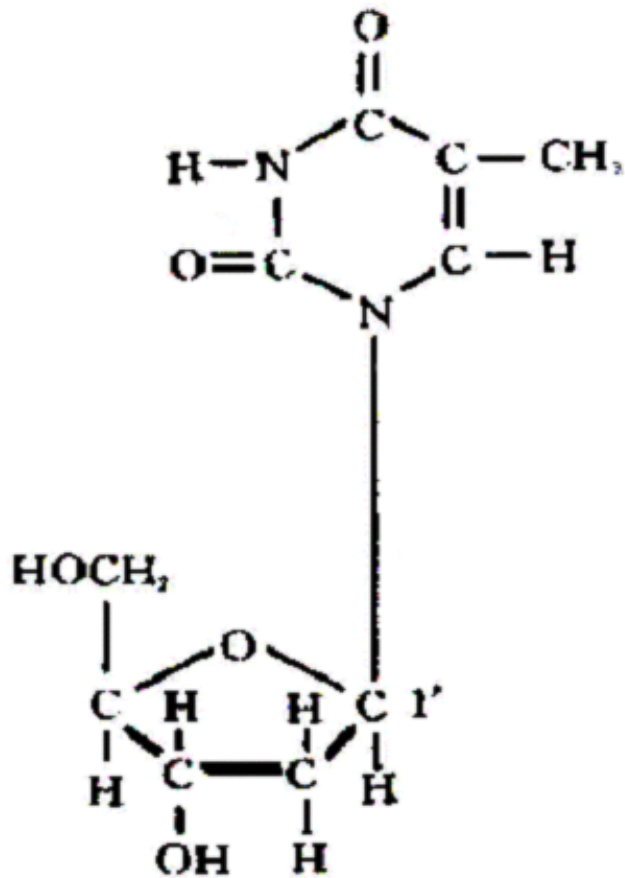
Thymine
(DNA)



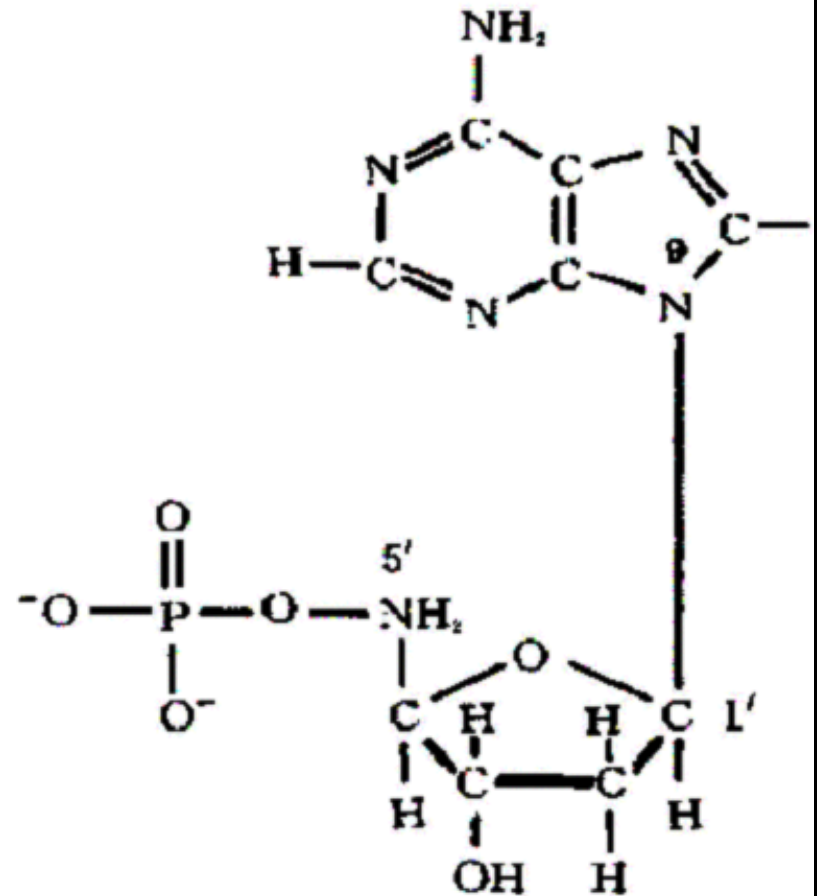
Uracil
(RNA)

Pyrimidines

磷酸基团连接于脱氧核糖 3'位羟基和 5'位羟基，
碱基连接于脱氧核糖的 1'位



脱氧胸腺嘧啶核苷



脱氧腺嘌呤核苷酸

DNA分子中有4种脱氧核糖苷酸：

腺嘌呤脱氧核苷酸（dAMP）

鸟嘌呤脱氧核苷酸（dGMP）

胸腺嘧啶脱氧核苷酸（dTMP）

胞嘧啶脱氧核苷酸（dCMP）。

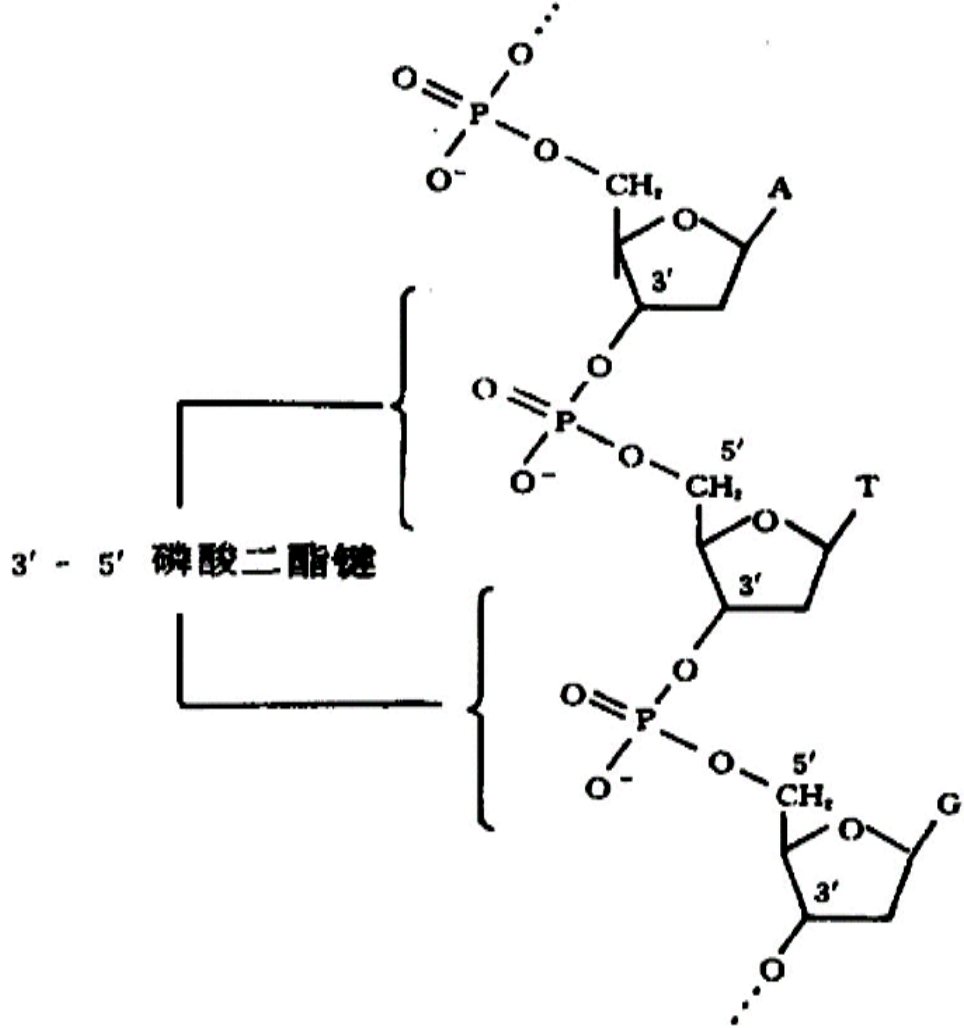
4种脱氧核糖苷酸是DNA分子构成的基本单元，4种脱氧核糖苷酸的3种成分中脱氧核糖和磷酸是相同的，唯有碱基不同。

二、DNA 的连接方式

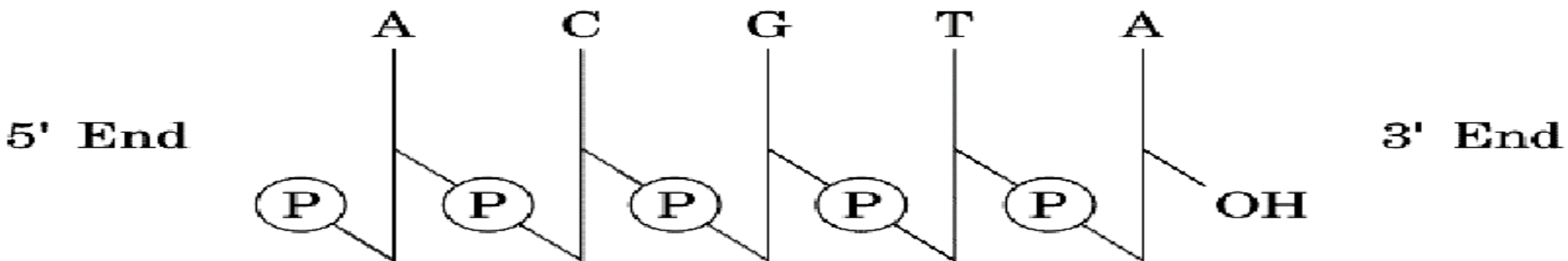
构成DNA分子的脱氧核苷酸通过3', 5'-磷酸二酯键相连接形成直链DNA分子。

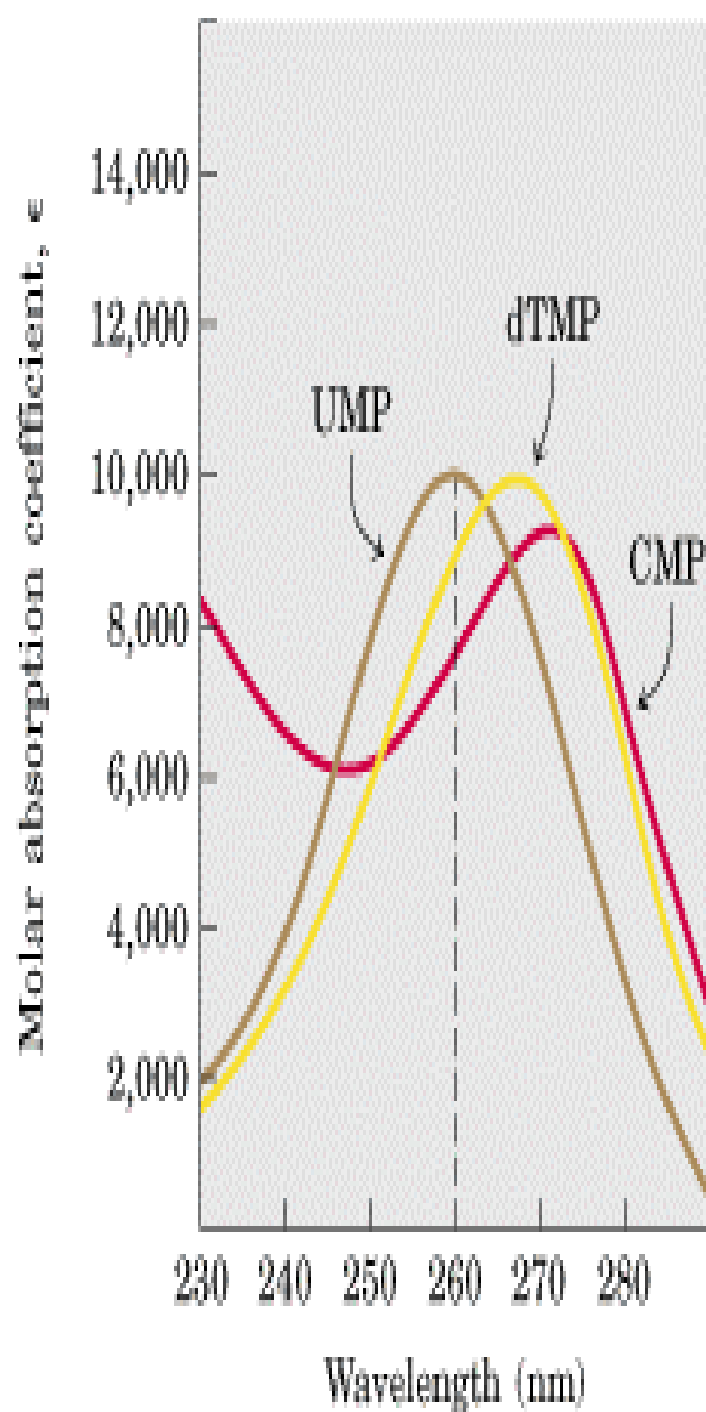
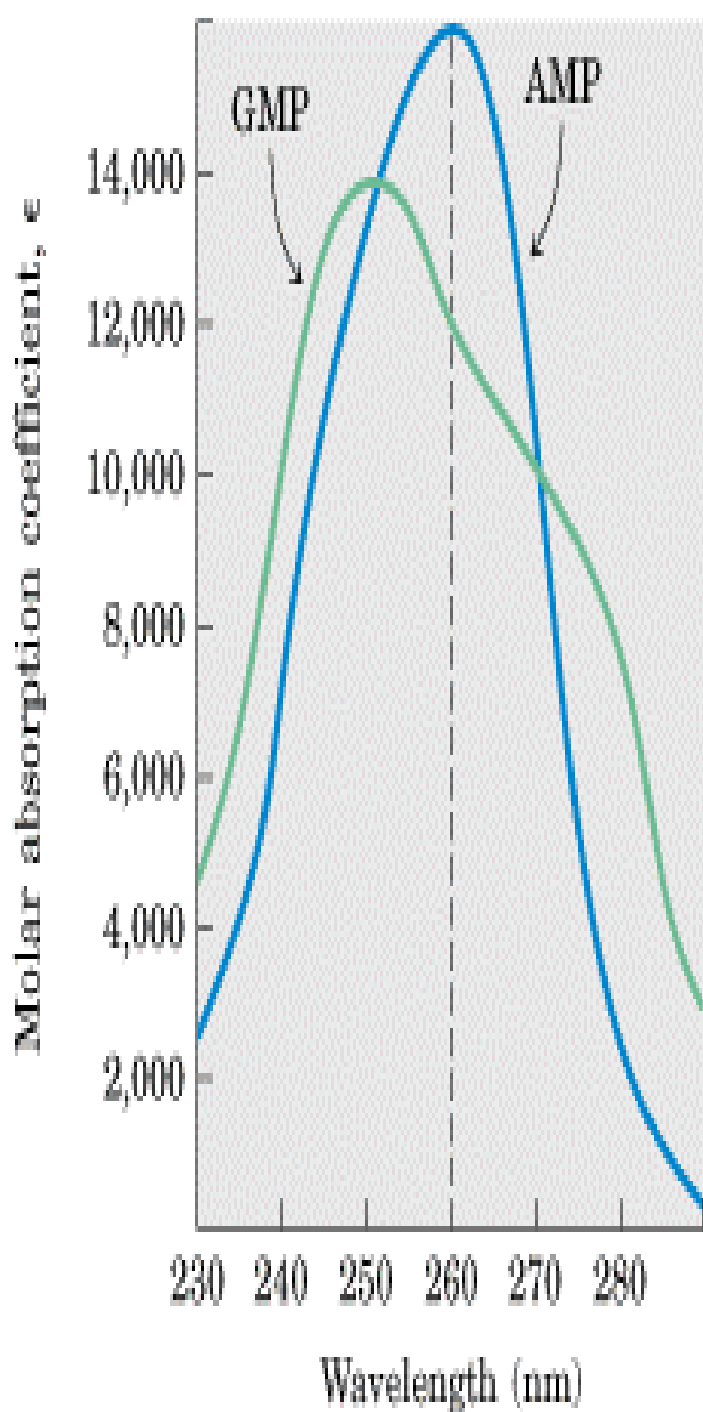
多聚糖脱氧核苷酸的两端，一端是脱氧核糖的5'碳原子羟基端（磷酸），另一端是脱氧核糖的3'碳原子的羟基端（磷酸），因此多聚核苷酸有方向性。

多核苷酸的连接方式



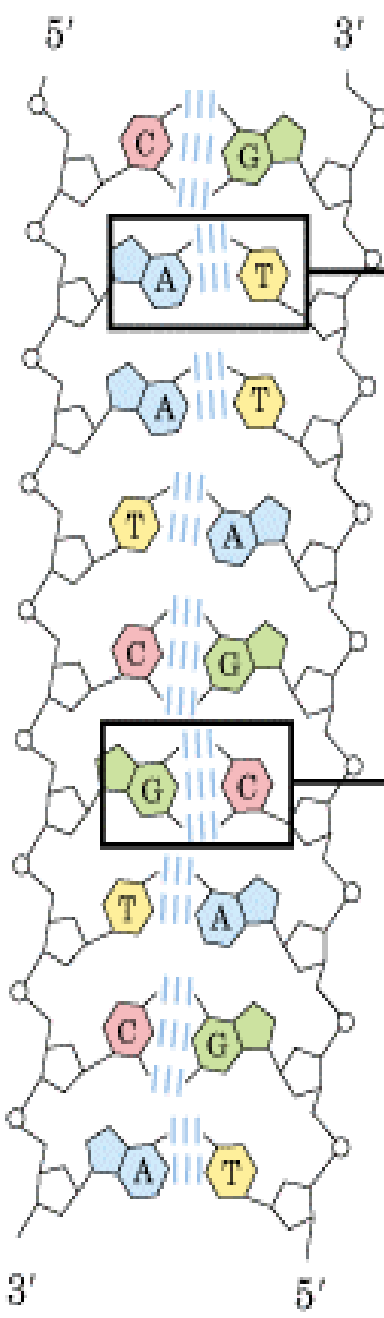
多核苷酸的缩写式



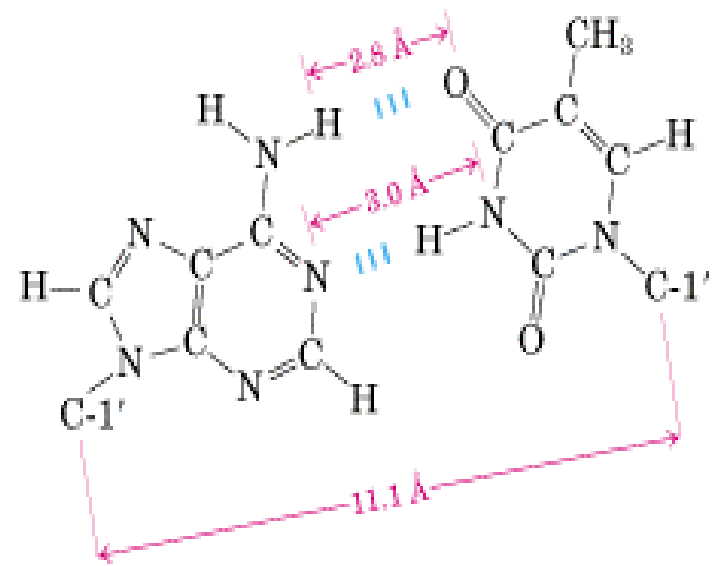


Molar absorption coefficient at 260 nm, ϵ_{260} ($M^{-1}cm^{-1}$)

AMP	15,400
GMP	11,700
CMP	7,500
UMP	9,900
dTMP	9,200

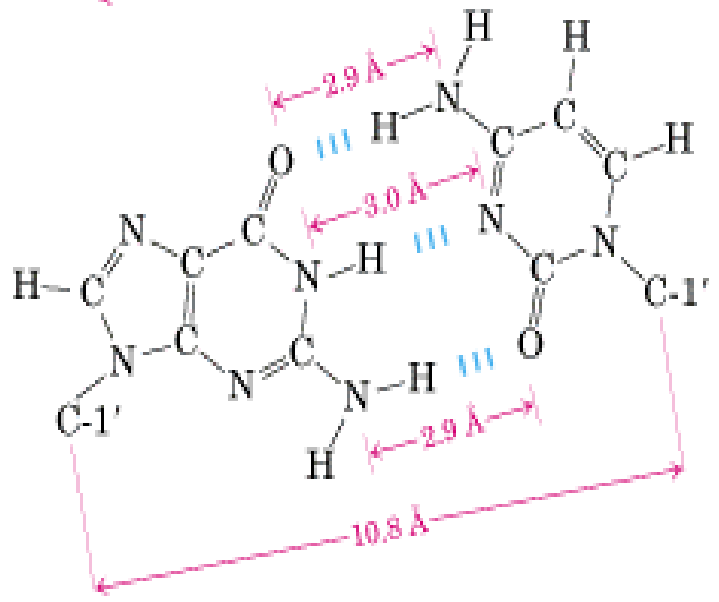


Adenine



Thymine

Guanine

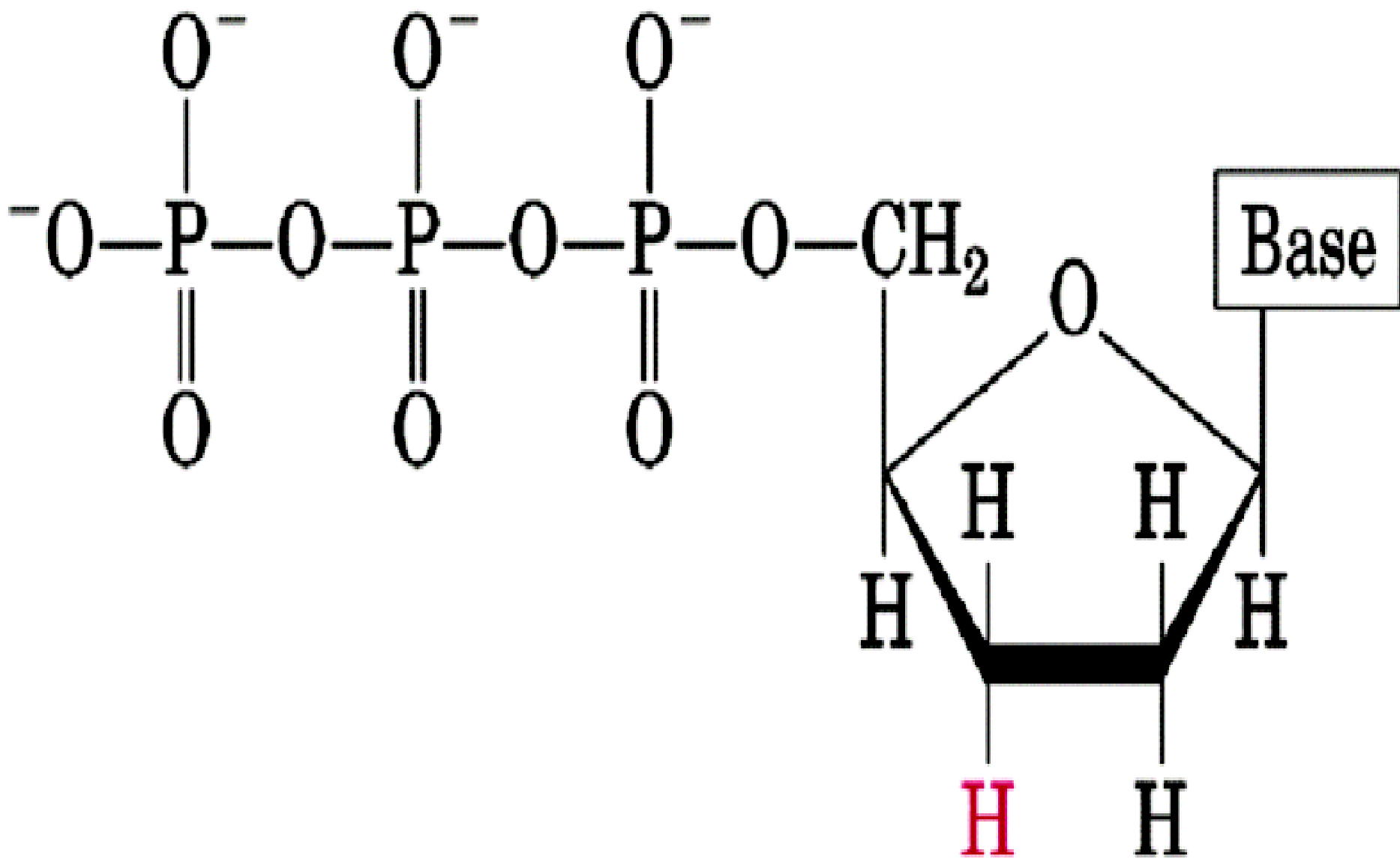


Cytosine

三、DNA 的一级结构及序列测定

1. 双脱氧末端终止法 — Sanger 法

采用核苷酸链终止剂，**2', 3'**-双脱氧三磷酸可终止DNA的延长。由于它缺少形成**3', 5'**-磷酸二酯键所需要的**3'-OH**，一旦参入到DNA链中，此DNA链就不能进一步延长。



ddNTP

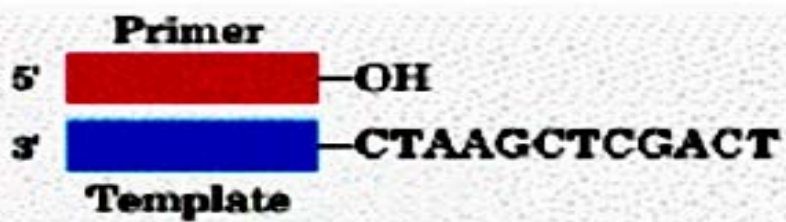
在模板链、引物及DNA聚合酶存在下，将ddTTP加到4种正常的dNTP混合物中。

根据碱基配对原则，每当DNA聚合酶需要dTTP参与到正常延长的DNA链中时，就有两种可能性：

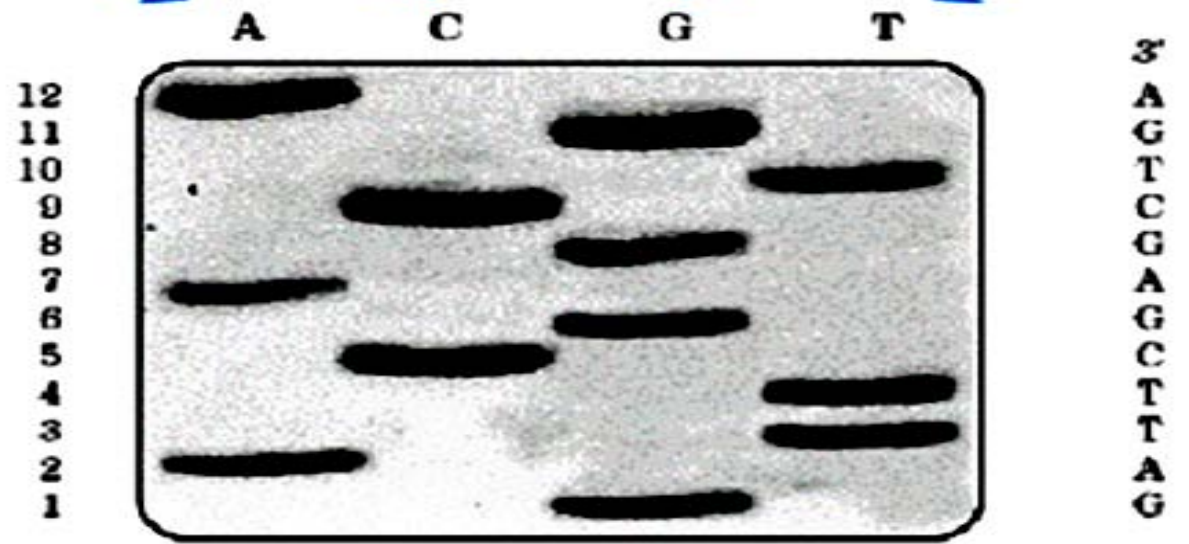
一是参入ddTTP，结果导致脱氧核苷酸链延长的终止；

二是参入dTTP，DNA链仍可延长，直到参入下一个ddTTP。

根据这一方法，就可得到一组以ddTTP结尾的长短不一的DNA片段。



+
 dCTP, dGTP, dATP, dTTP



Autoradiogram of electrophoresis gel

Sequence of complementary strand

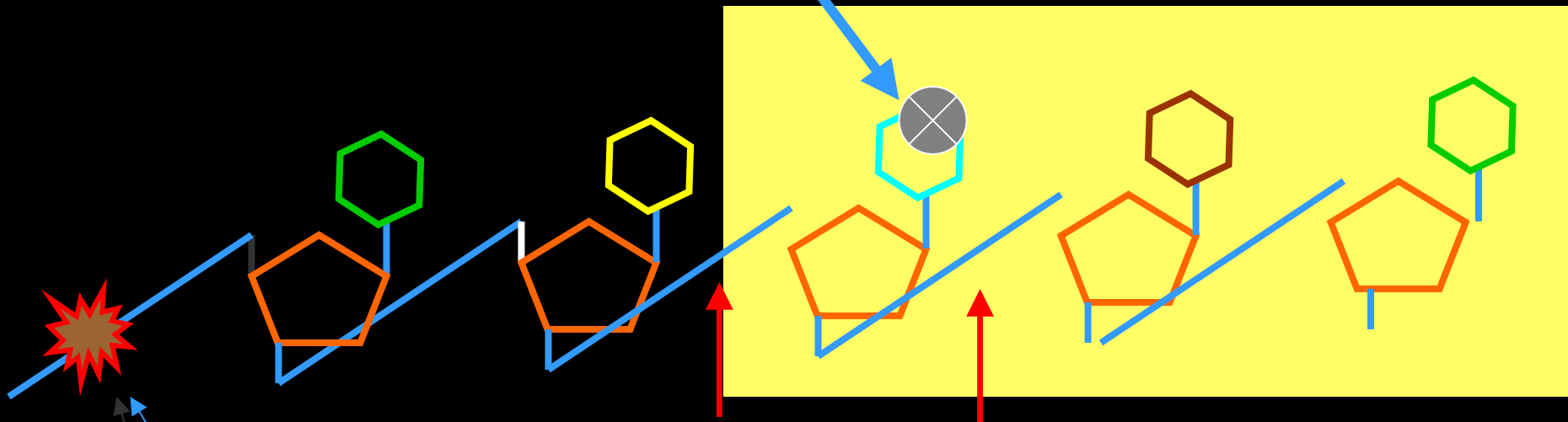
2. 化学法 — **Maxam-Gilbert** 法

本法原理是先将待测 **DNA** 片段进行

末端放射性核素标记，然后用专一性的化

学试剂将 **DNA** 降解

识别碱基



断裂位置

末端标记

MG DNA 测序法所需试剂及其作用

Base specificity

Base reaction

G	dimethyl sulphate (硫酸二甲酯), G 断裂
A + G	methylation acid (哌啶甲酸), pH 2.0 , 脱嘌呤
C + T	hydrazine (肼), 打开嘧啶环; 哌啶去碱基
C	hydrazine + NaCl (1.5 M) , 只有C与肼反应
A > C	90°C, NaOH (1.2M) , 断裂反应A>C

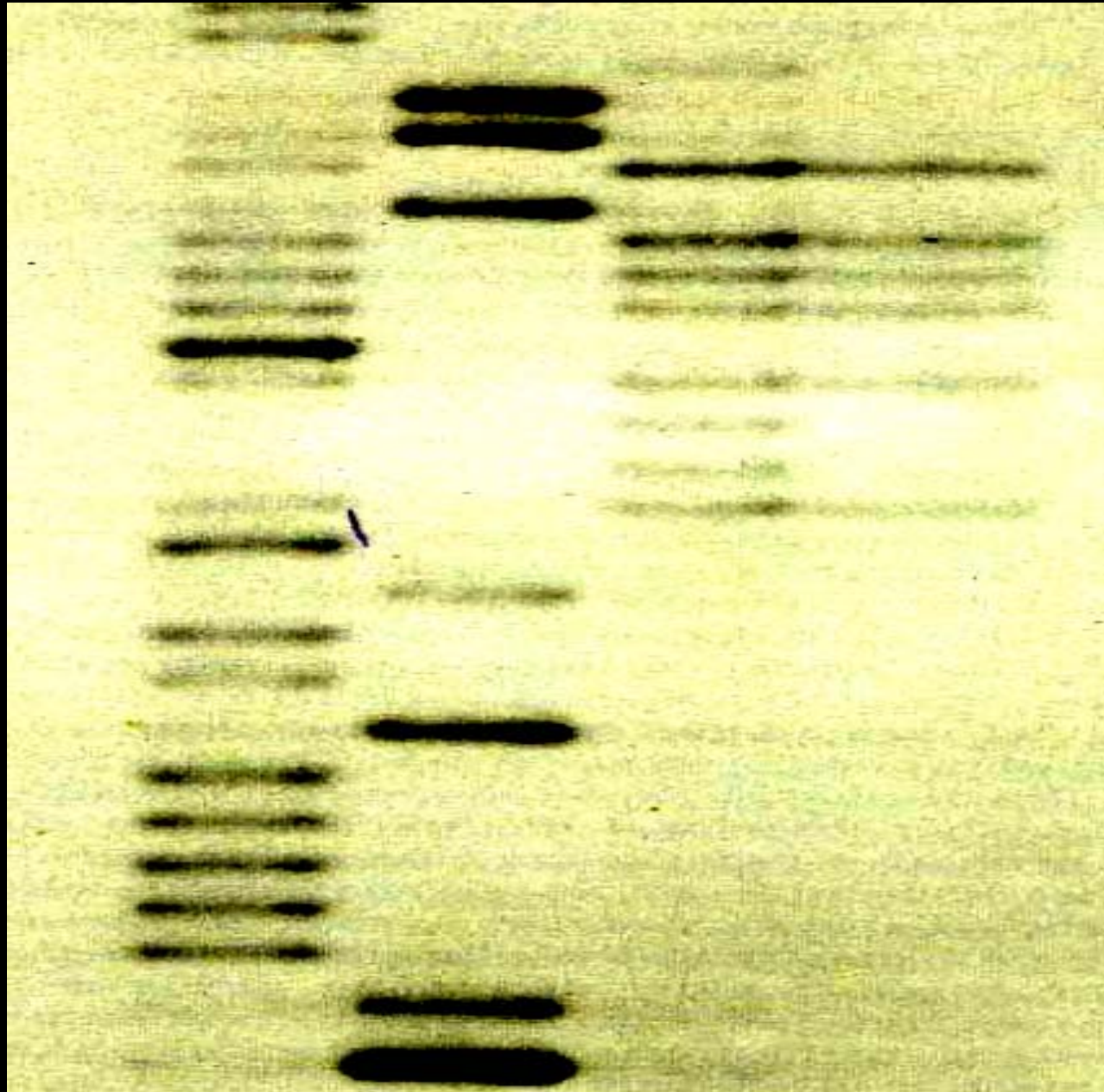
哌啶 (90 °C, 1M) 在修饰位点两端使 DNA 的糖-磷酸链发生裂解

A>C

G

T+C

C



3. 新的 DNA 测序技术

Sanger测序方法一般一次仅能读出200bp，最多也不会超过1000bp，不能满足基因组全序列测定的需要，因此需要发展和建立新的测序技术。测序技术的发展有两个方面：

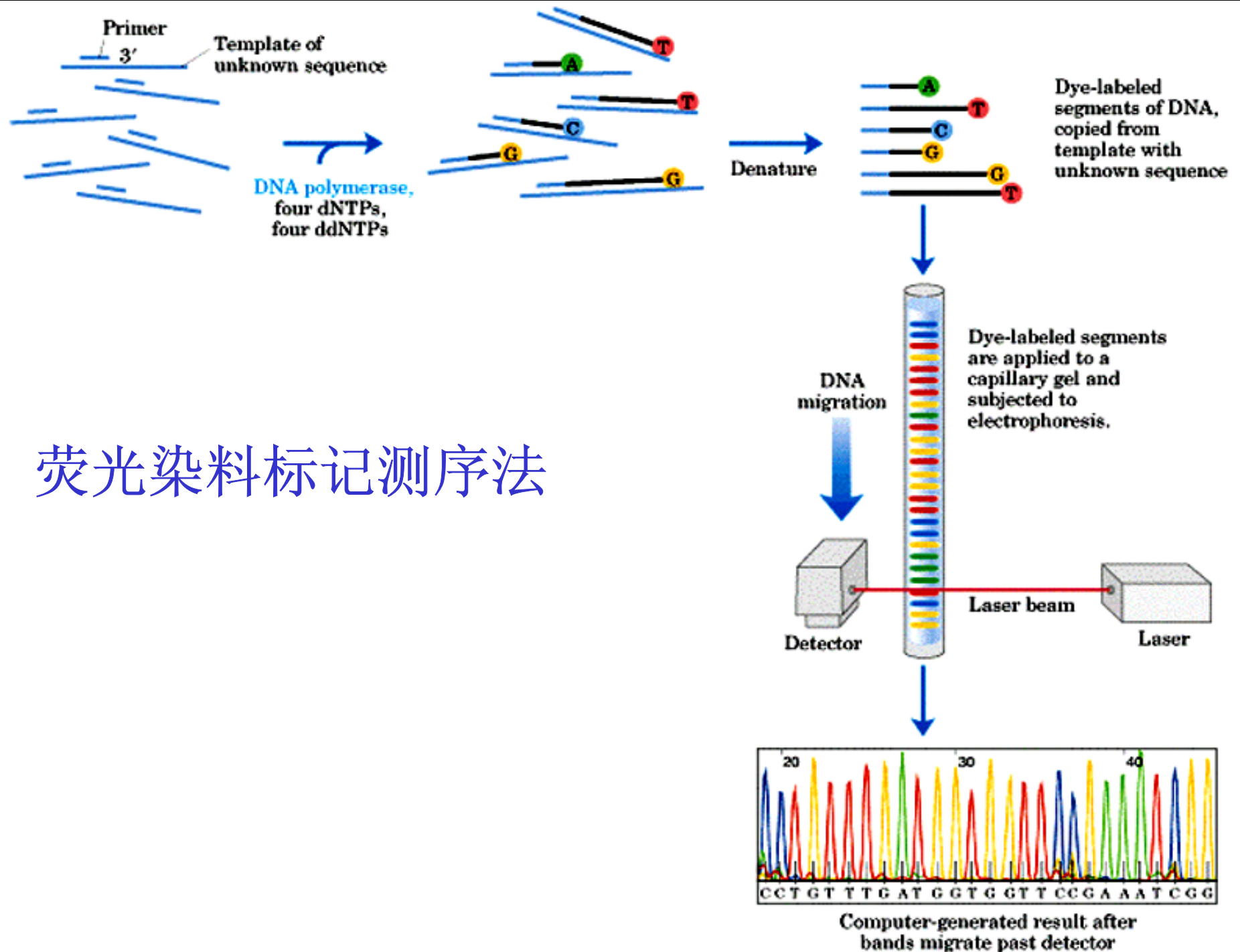
一是以原有方法为基础，发展自动化测序仪器，现已有多种型号的自动DNA测序仪在市场上销售，但电泳技术没有什么改进。

二是发展和建立新原理的测序技术。这类新的测序技术有：

荧光染料标记法:

4种不同的荧光染料标记4种核苷酸，在模板上合成DNA单链，然后在DNA外切酶的作用下进行碱基的连续水解和释放，激光识别和记录释入的碱基。

荧光染料标记测序法



杂交法：

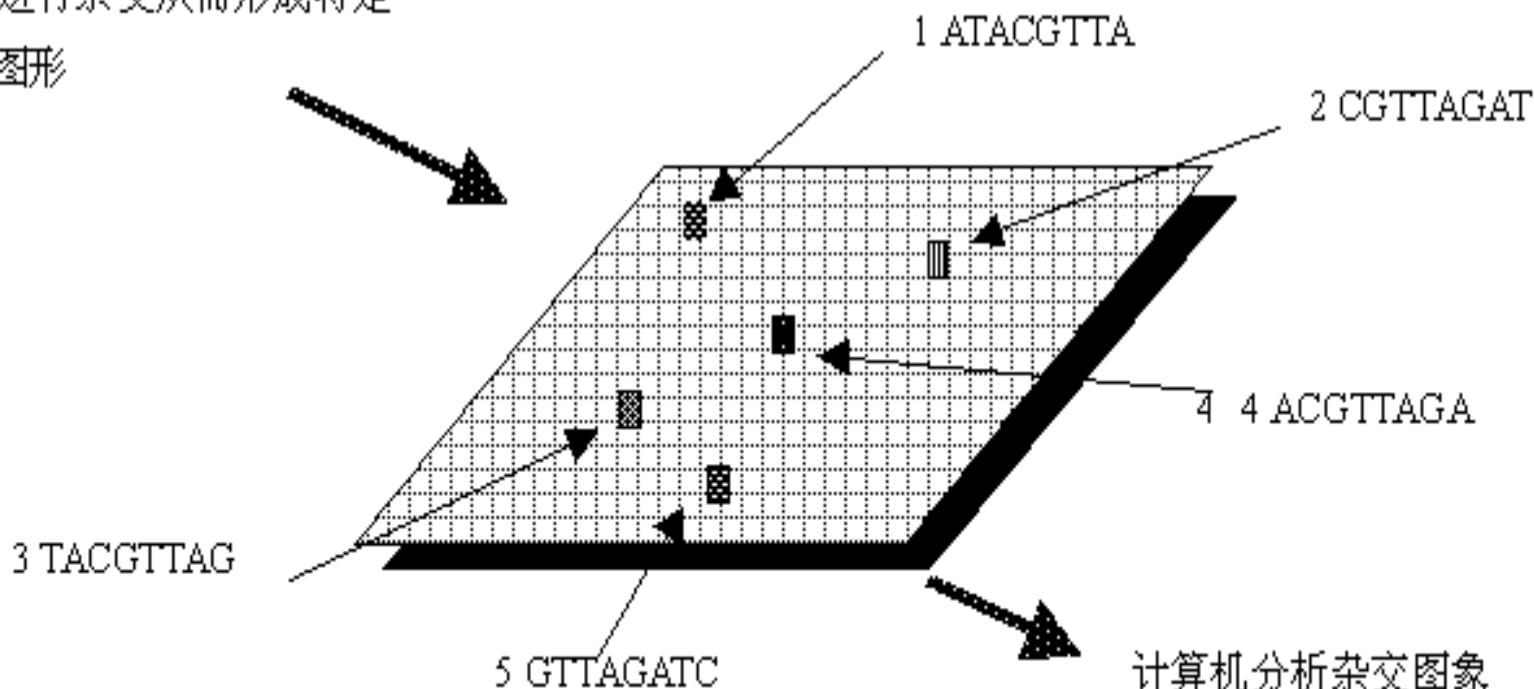
用10万个已知序列的寡核苷酸作探针，通过分子杂交法探测待测单链DNA互补序列的存在。根据重叠序排列出待测单链DNA的序列。

扫描隧道显微镜法：

直接测定不同碱基等。

杂交法测序原理

DNA 样品 TATGCAATCTAG
与基因芯片上 65,000 种可能的
八聚体进行杂交从而形成特定的
结合图形



1 ATACGTTA

3 TACGTTAG

4 ACGTTAGA

2 CGTTAGAT

5 GTTAGATC

互补序列为: ATACGTTAGATC

样品序列为: TATGCAATCTAG

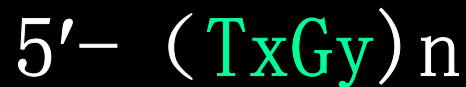
四、线性 DNA 末端

-端粒结构和功能

1. 端粒的结构

2. 端粒的功能

端粒 (telomere) 是一段DNA和蛋白质形成的复合体，是真核细胞染色体末端特有的结构，端粒的DNA序列相当保守，一般由多个串联在一起的短寡核苷酸 (5-8bp) 序列组成，其中 x , y 是碱基数，一般在1-4范围内， n 是寡核苷酸的重复次数，可以多达数千。

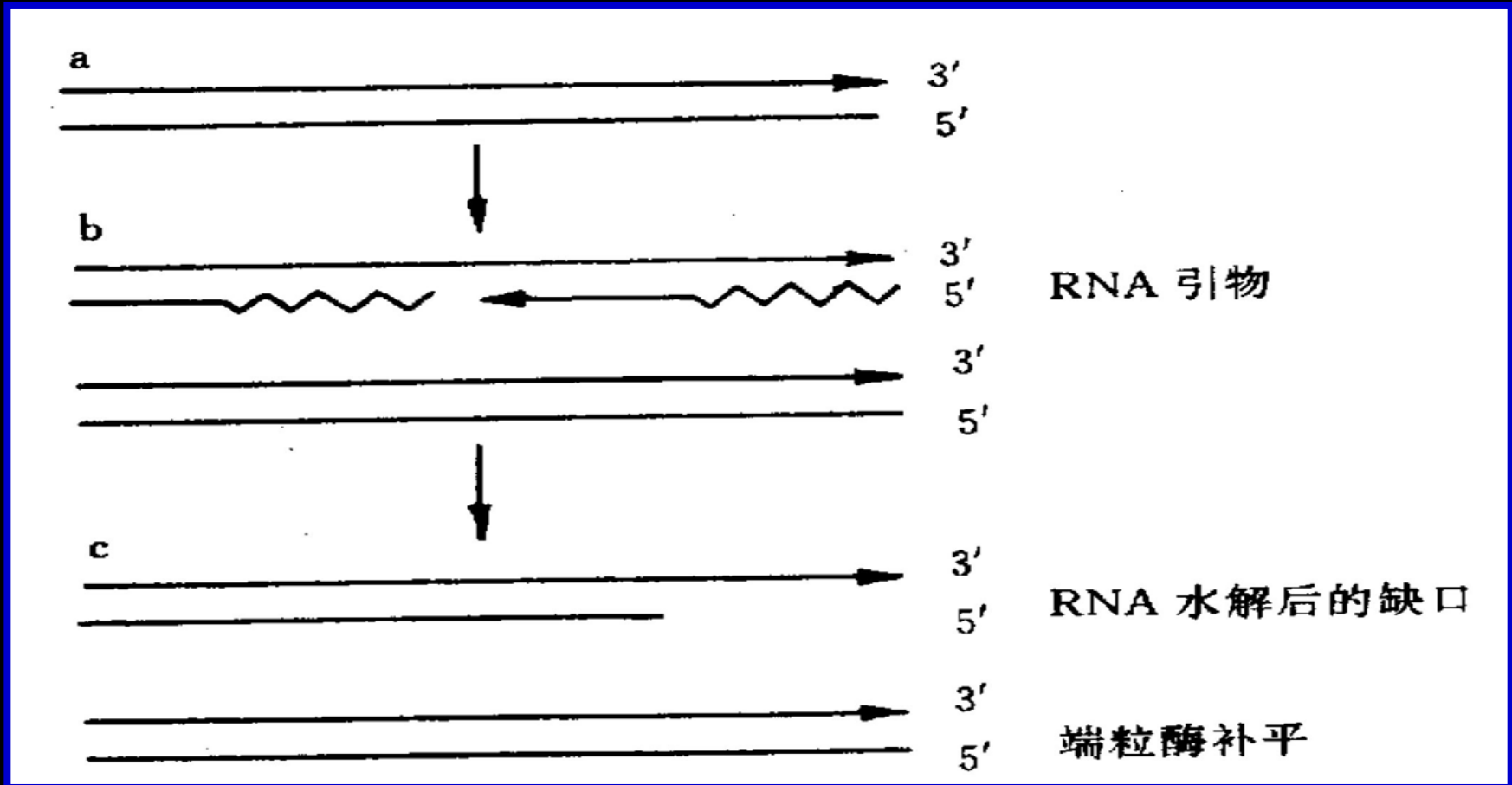


碱基对成分因种属而异，
例如人类和脊椎动物为T2AG3，
纤毛原生物为T4G4，
四膜虫为T2G4，
酵母为TG（1-3）。

在不同的生物中变化较大，小鼠的端粒DNA
达150kb，人类的端粒DNA约5-5kb。

2. 端粒的功能

(1) 保证线性DNA的完整复制



(2) 保护染色体末端

端粒结构与特异结合蛋白结合形成复合物，保护染色体不受核酸酶水解和不发生染色体的异常重组。

(3) 决定细胞的寿命

胚系细胞含有端粒酶，可以重建和延长端粒DNA；而体细胞不表达端粒酶，端粒DNA随着复制次数的增加而逐步缩短。细胞每分裂一次端粒DNA缩短50-200bp，缩短至1-4kb时，细胞就停止分裂，而进入凋亡。

因此能重建端粒的细胞，可维持细胞永生分裂，如表达端粒酶较多的恶性肿瘤细胞。

第二节 DNA 的双螺旋结构

一、右手双螺旋DNA结构

二、左手双螺旋DNA结构

—Z型DNA结构

三、DNA的变性、复性和核苷酸
的分子杂交

Watson和Crick提出的DNA构象是DNA 分子的常见构象，通常称B-DNA。

在不同的环境因素中DNA可形成不同的构象，如B、A、Z-DNA。

产生的原因有二：

📞 呋喃糖环构象的柔性。

📞 平面碱基与糖环的定向。

呋喃糖环构象的柔性

通常呋喃糖环是非平面的，可折叠产两种形式：

- ①信封式 (envelope, E) : 四个原子在一个平面上，第五个原子偏离平面约 0.5\AA
- ②扭曲式 (twist, T) : 3个原子在一个平面上，两个原子在平面的对侧（信封）。

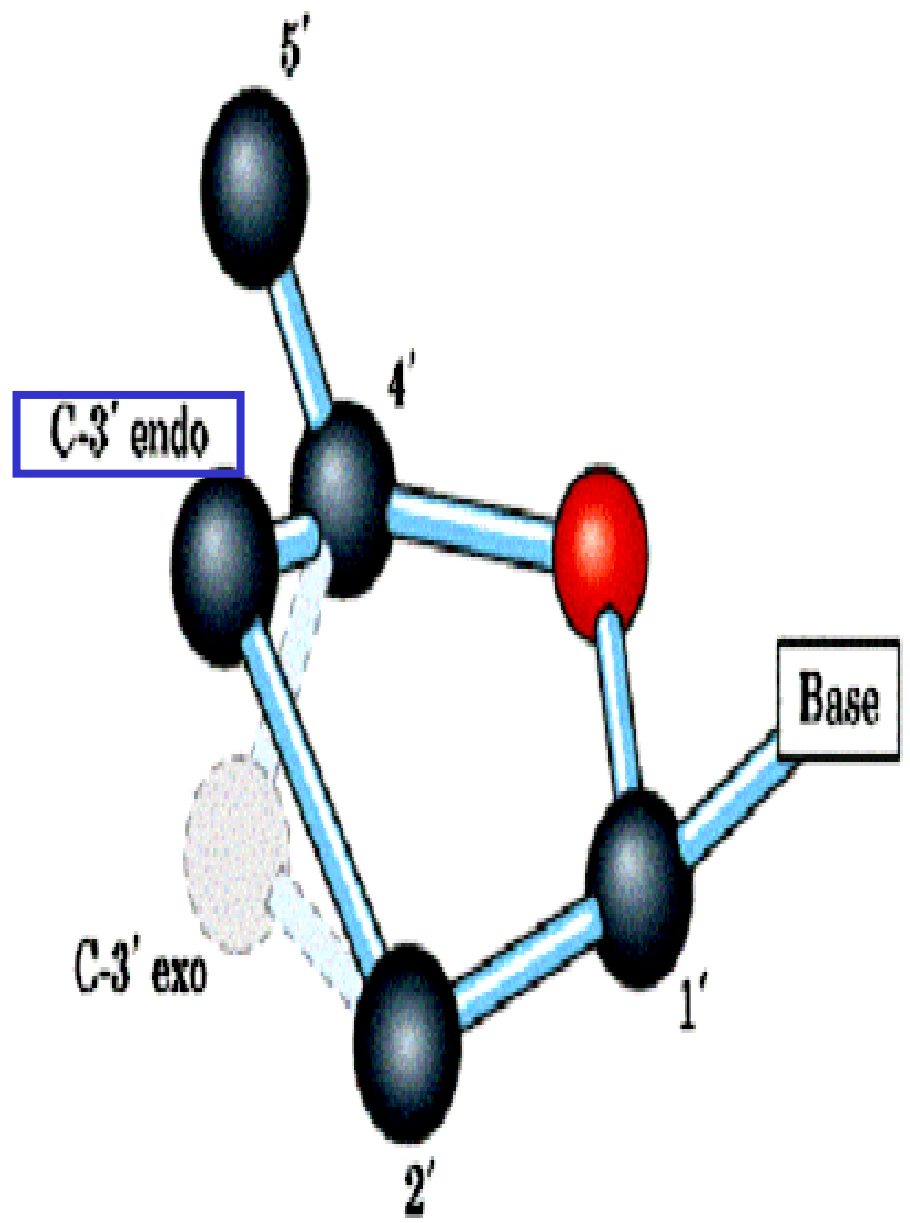
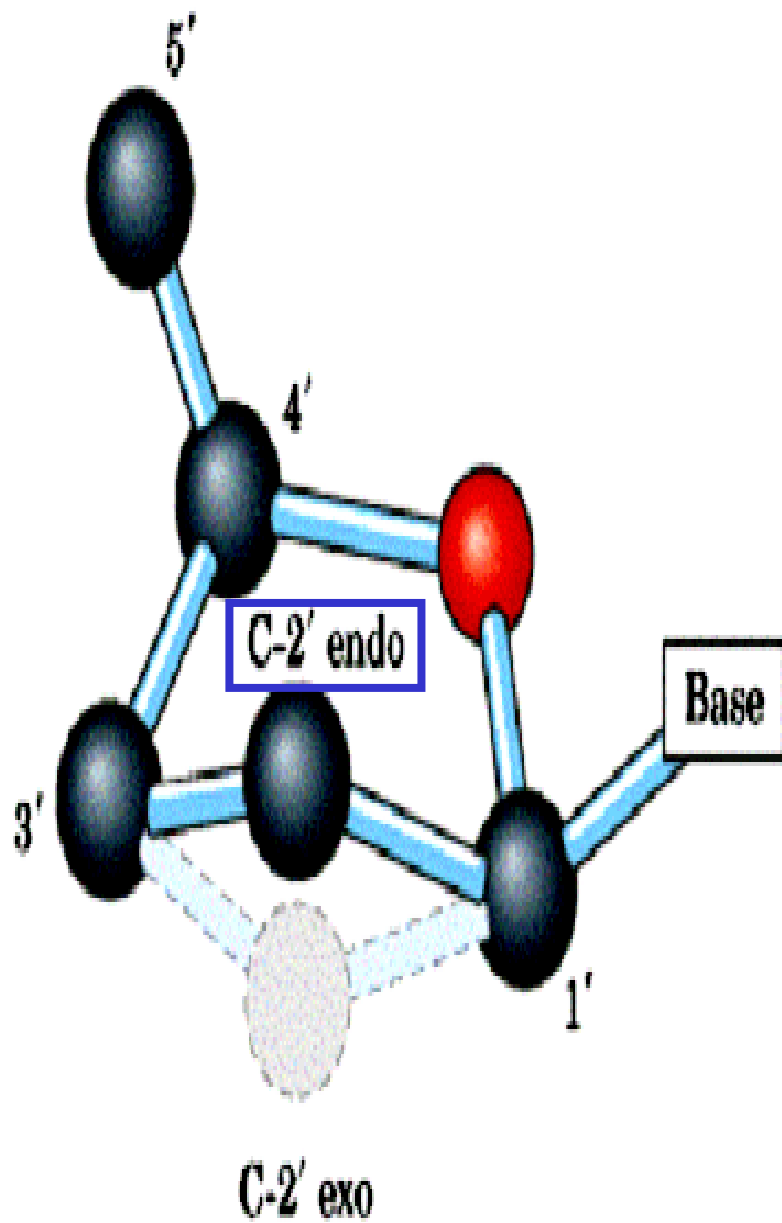
E和T式之间可进行连续转换，无实质的势能垒。

在呋喃糖环的平面上，与C₅同侧原子称内式（endo），而在对侧称为外式（exo）。

在B-DNA中，糖环取C'2-endo；

而在A-DNA

Z-DNA中，糖环取C'3-endo.



B-DNA

A, Z-DNA

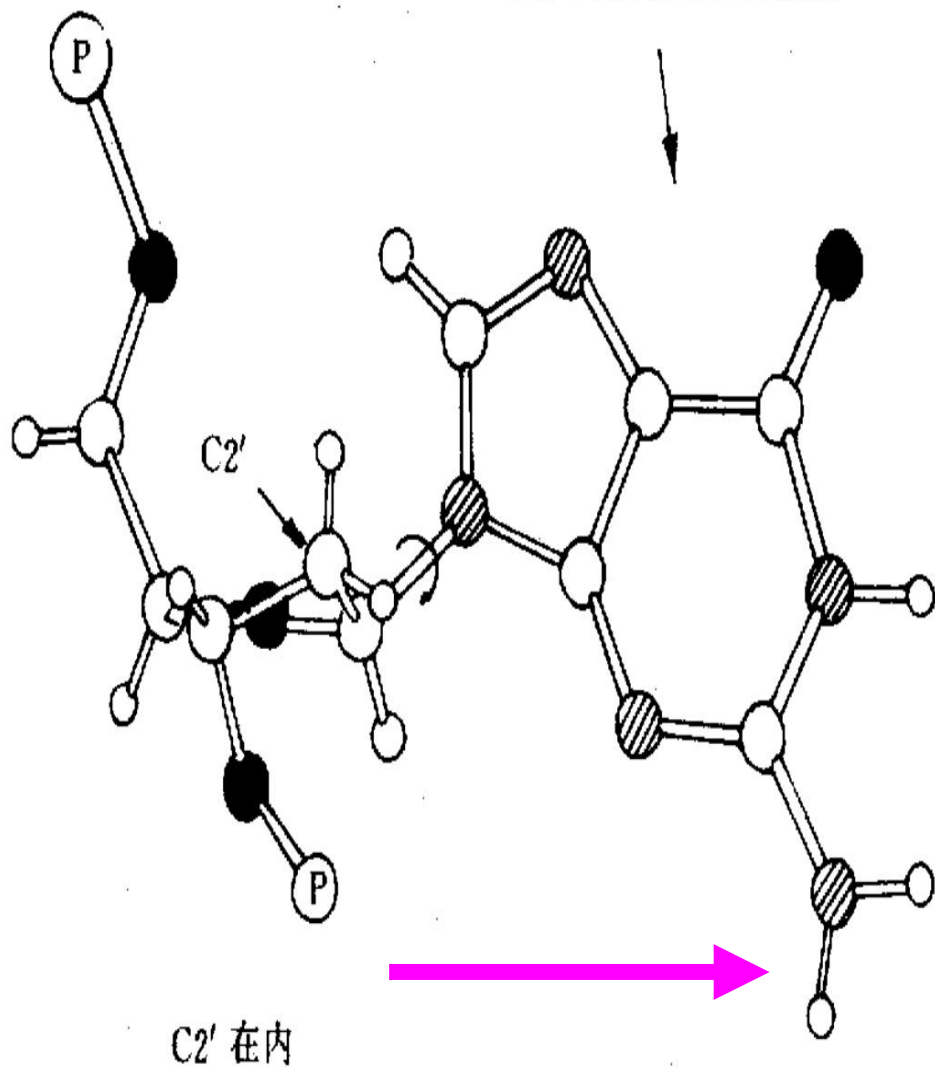
平面碱基与糖环的定向

平面碱基可因修饰等原因，可使平面碱基与糖环的定向取顺式（syn）或反式（anti）。

syn：碱基的取向指向糖环。

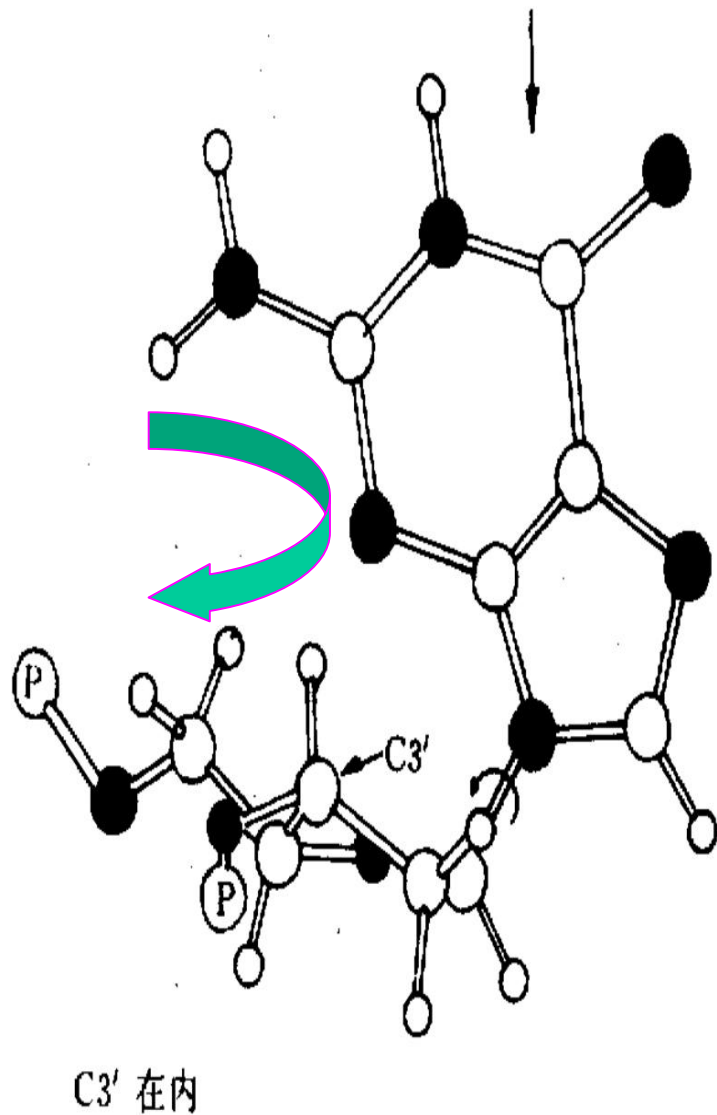
anti：碱基的取向指向糖环的远方。

鸟嘌呤的反式(anti)位置



B-DNA

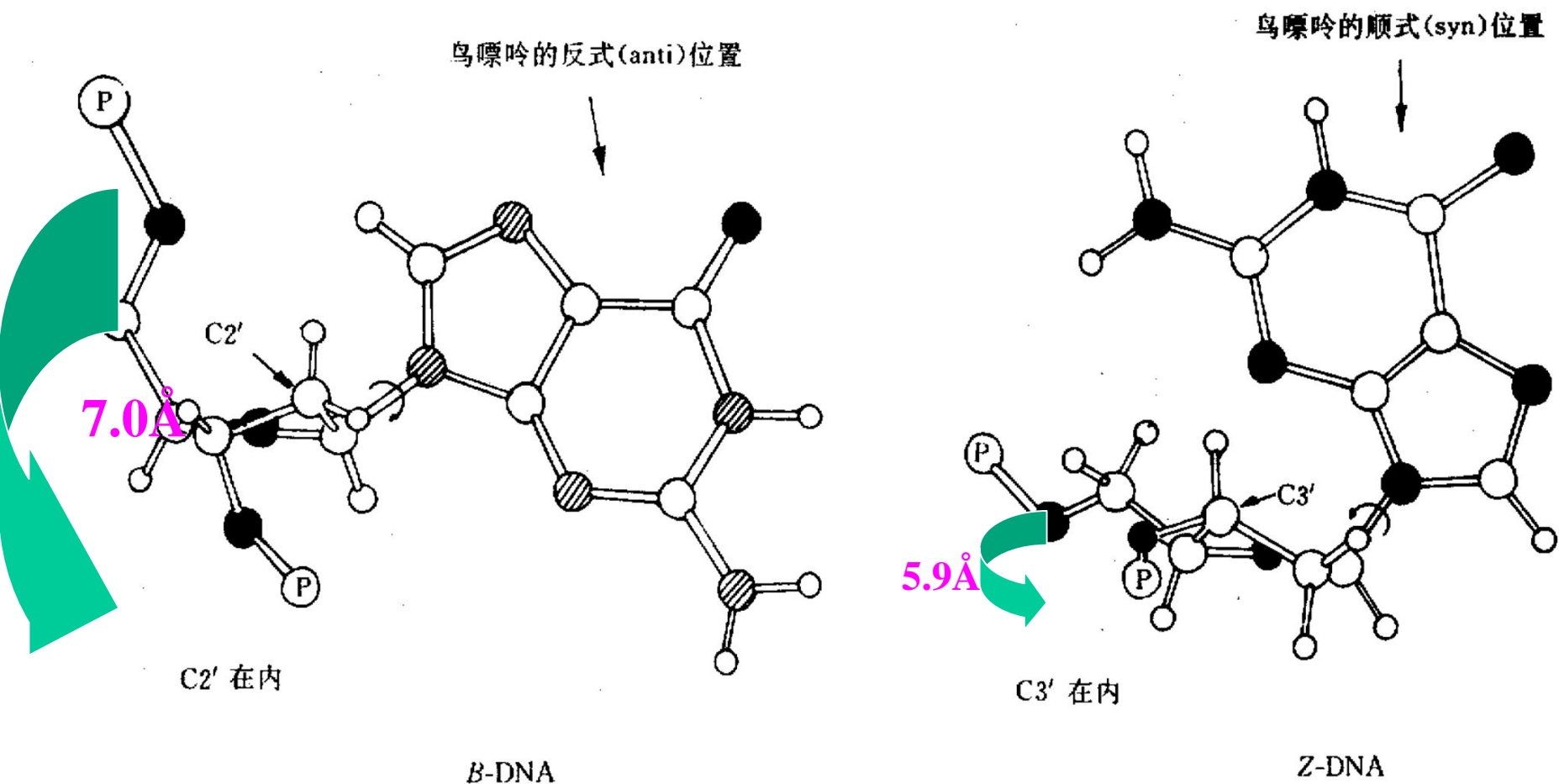
鸟嘌呤的顺式(syn)位置



Z-DNA

- 通常嘌呤核苷中syn和anti大体相等，而嘧啶核苷中则anti多于syn。
- DNA中主要取C' 2-endo和C' 3-exo (C' 2-endo的一种变体)，在RNA中总保持C' 3-endo.
- 当嘌呤C8或嘧啶C6的取代基直接与核糖作用，使syn↔anti平衡式偏向syn.
- 通常anti优先取C' 3-endo.
syn优先取C' 2-endo

C' 2-endo与 C' 3-endo折叠的改变，使沿链相邻的两个磷酸基之间约有1Å以上的距离变化，从而引起骨架构象的改变。



一、右手双螺旋 DNA 结构

1. B 型 DNA 结构

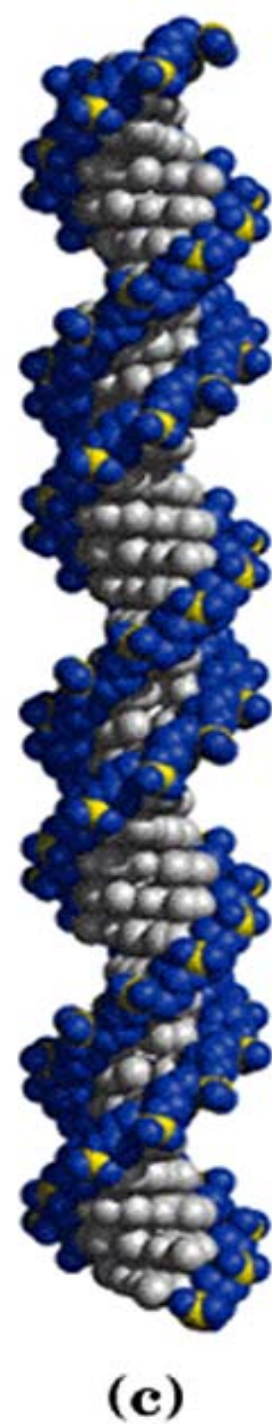
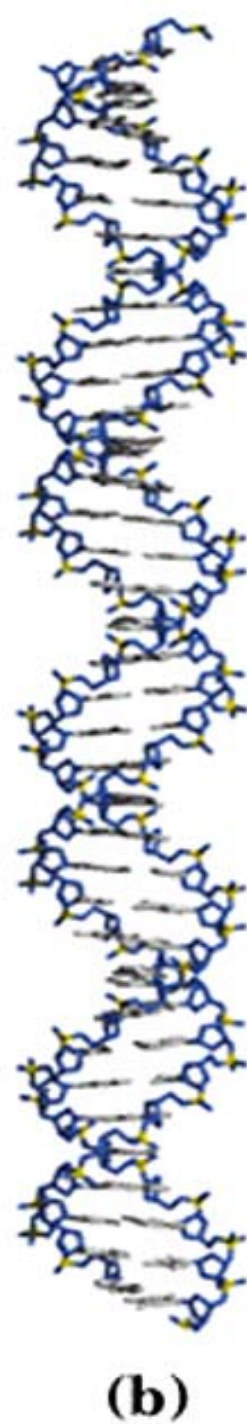
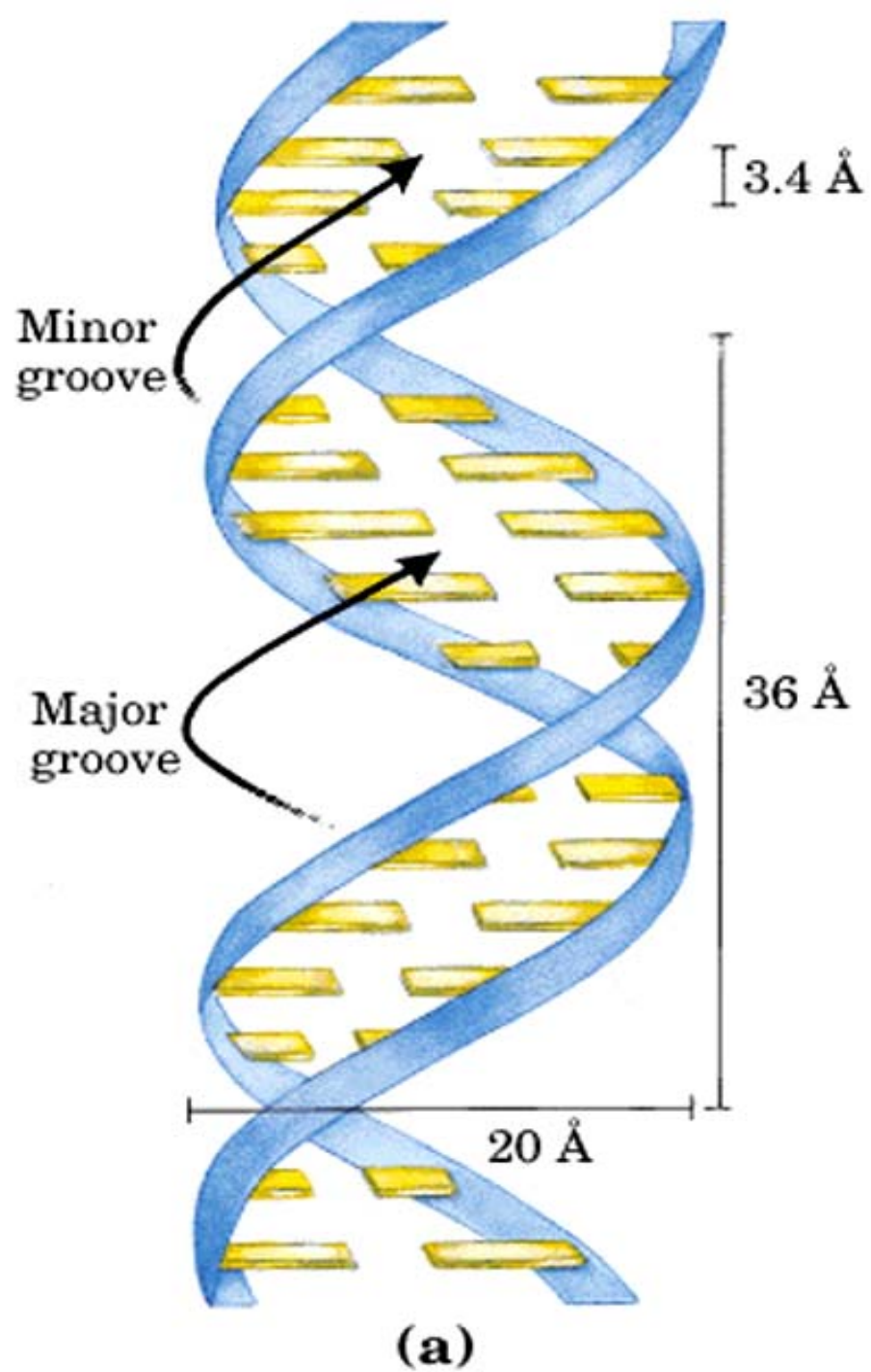
Watson 和 **Crick** 提出 **DNA** 双螺旋模型科学假设的主要依据有两个方面：

一是 **DNA** 的碱基组成分析

二是 **DNA** 纤维的 **X** 射线晶体衍射分析



B-DNA



2. A 型 DNA 结构

DNA 在不同的条件下，呈现结构的多态性，有 **A、B、C、D、E 和 Z** 等多种构象

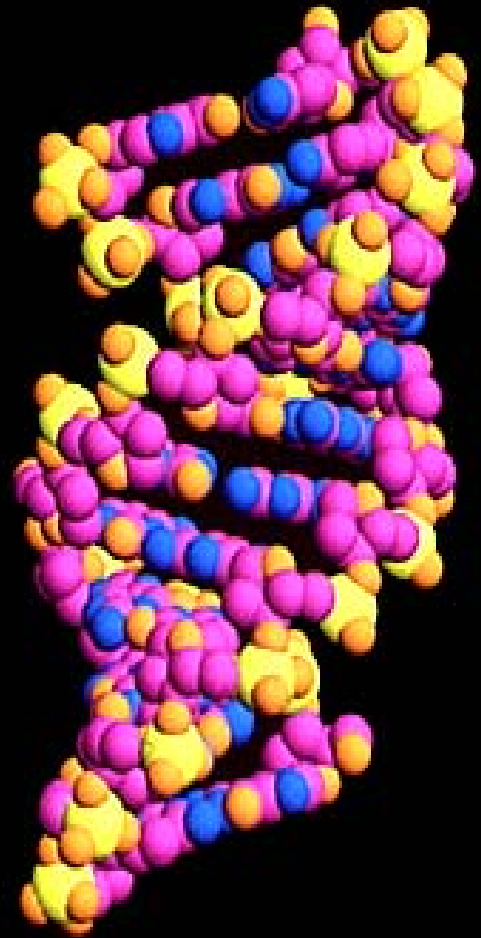
Watson 和 Crick 在分析 DNA 的双螺旋结构时，就注意到存在**2种构象状态 A 和 B**，他们认为 **B 型 DNA 是含水更多的 DNA**，是具有**主要生物学意义的构象**，因此很长时间里人们很少注意 **B 型 DNA 以外的其他构象**

A 型 DNA 同 B 型 DNA 一样，也是右手双螺旋结构，具有共同的基本特征：

- ① 两条链环绕一中心轴盘旋
- ② 两条链走向相反
- ③ 碱基以 **A=T** 和 **C=G** 配对，以氢键相互作用
- ④ **C** 和 **G** 的糖苷键也是反式构型

A 型 DNA 存在的差别

- ① 更紧密，碱基平面距离 **0.256 nm**，每螺旋为 **11** 对碱基，螺距为 **2.8 nm**
- ② C 和 G 中脱氧核糖的折叠不同，A 型为 **C3'** 内，B 型为 **C2'** 在内
- ③ 碱基的方向有细微的差别，导致大沟和小沟有细微的差别



A-DNA

二、左手双螺旋 DNA 结构—Z 型 DNA 结构

Wang和Rich用X射线晶体衍射法分析人工合成DNA小片段d(CGCGCG)的晶体时，发现是左手双螺旋结构，称为Z-DNA。

同A和B型DNA一样，它由两条反平行的链组成，两条链的碱基以氢键配对；但同A和B型DNA不同的是螺旋旋转时的方向相反，呈左手螺旋。

大沟消失

小沟加深



Z-DNA

Z-DNA 结构的主要特征

- ① 糖-磷酸主链的走向呈“之”字形，分子呈左手螺旋。
- ② Z-DNA较细而“舒展”，螺旋直径1.8nm，碱基平面距离为0.37nm，每螺旋圈含12对碱基，螺距为4.5nm。

- ③ 鸟嘌呤绕糖苷键旋转呈顺式 (syn), 胞嘧啶为反式, 糖环折叠为C3'在, 而B-DNA为C2'在。
- ④ 大沟消失, 小沟加深, 有较高的负电荷密度。

影响 Z 型 DNA 形成的因素

一些阳离子 (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+})
和有机溶剂有利 Z-DNA 构象的形成。

碱基组成及序列影响 Z-DNA 的形成，嘧啶和嘌呤交替序列，特别是 C-G 有利于 Z-DNA 的形成， $d(5\text{CH}_3\text{-C-G})_n$
> $d(\text{C-G})_n$ > $d(\text{T-G})_n$ > $d(\text{C-A})_n$
> $d(\text{T-A})_n$ 。

聚精氨酸有利于poly d(CG)转变成Z-DNA，而聚赖氨酸则无该作用。

在 Mn^{2+} 存在下，组蛋白H3、H4、H2b、H2a及鱼精蛋白可稳定Z-DNA，H1和H5促进B-DNA转变为Z-DNA。

几种DNA螺旋主要构象参数

螺旋类型	每圈螺旋中的碱基对数	每个碱基旋转的角度(度)	每个碱基对的垂直高度(nm)	螺距(nm)	螺旋直径(nm)
A	11	+32.7	0.256	2.8	2.3
B	10	+36.0	0.338	3.4	2.0
Z	12	-30.0	0.371	4.5	1.8

三、DNA 的变性、复性 和核苷酸的分子杂交

1. DNA的变性

DNA分子呈双螺旋结构。在加热、碱性等条件下，链间氢键断裂，形成两条单链结构，这种现象称为DNA变性 (denaturation)。

DNA的变性伴随着一系列的物理化学性质的改变，如紫外吸收增强，此种现象称增色效应(hyperchromicity)；溶液粘度的降低；沉降速度增加等。这些物理常数常用来研究各种DNA的结构和功能。

对DNA来说，紫外吸收强度 (A_{260}) 双链

DNA < 单链DNA。

紫外吸收强度的增加与变性（解链）
程度成正比。

若将 A_{260} 的增加作为温度的函数作图，
可得解链曲线。

DNA的**热变性**也称DNA的“**融解**”。50%

DNA分子解链的温度，称为 T_m 或称为**熔点**。

不同DNA有不同的 T_m ， T_m 随(C+G)%含量

呈**线性增加**。

增加1% (C+G)， T_m 增加约 0.4°C ，是由于G/C

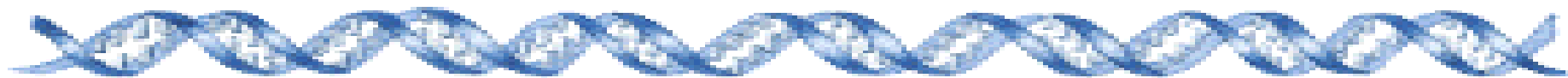
碱基对之间的氢键多于A/T对。

离子强度对 T_m 有较大影响，单价阳离子浓度

每增加10倍， T_m 增加 16.6°C 。

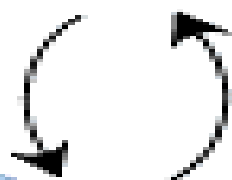
有些化学试剂能显著影响 T_m 值，例如甲酰胺能

破坏氢键，使 T_m 大大降低。

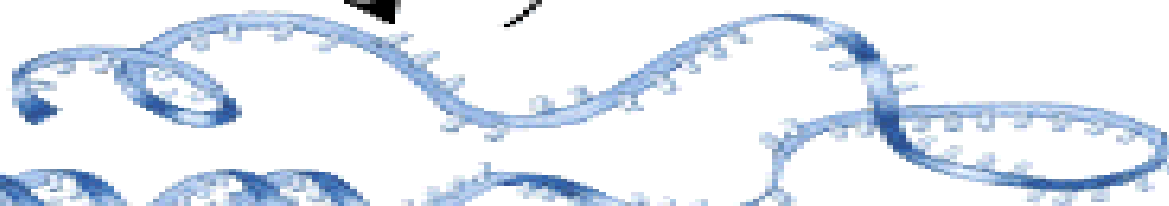


**Double-helical
DNA**

Denaturation



Annealing



**Partially denatured
DNA**

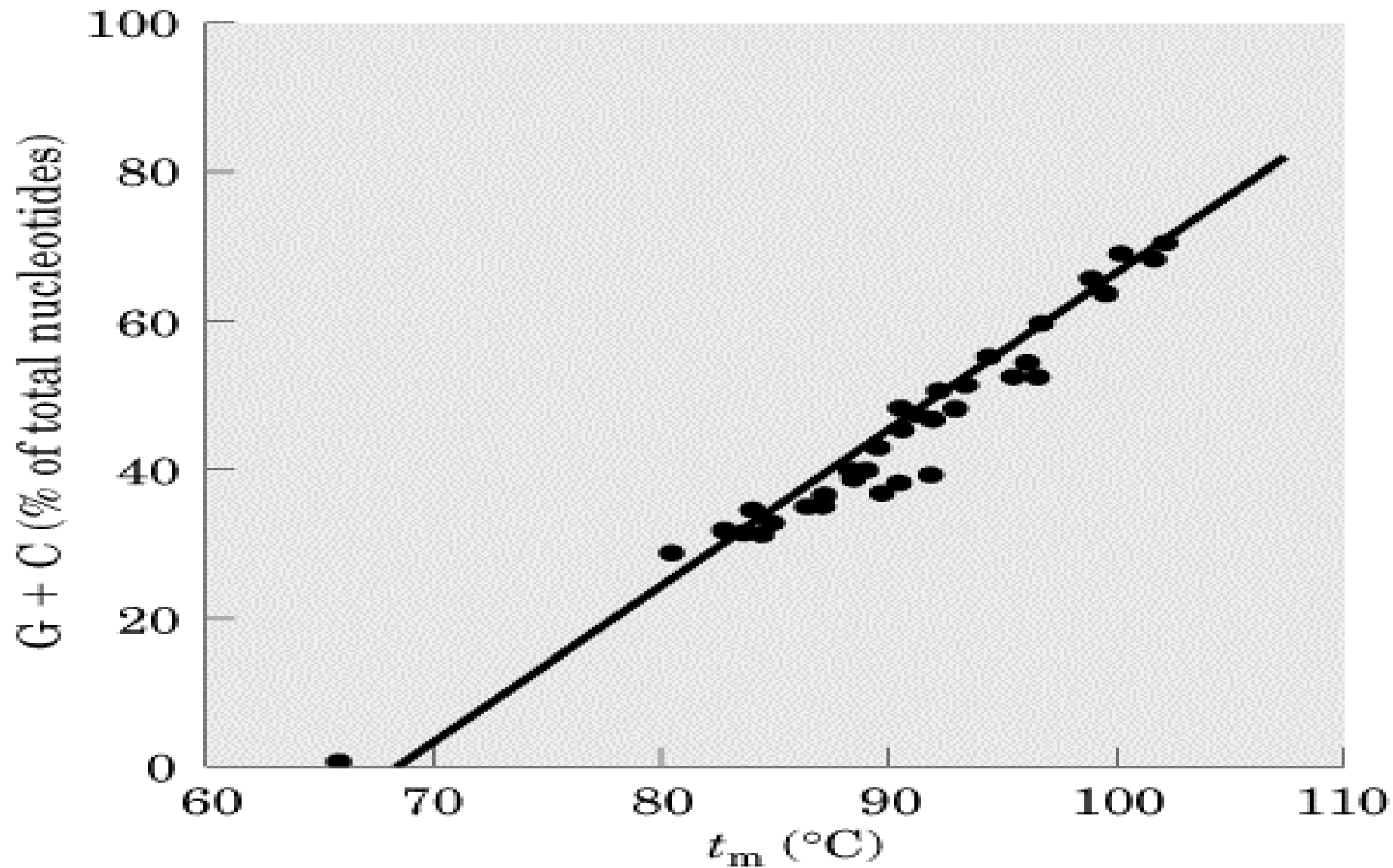
**Separation
of strands**



**Association of
strands by base
pairing**

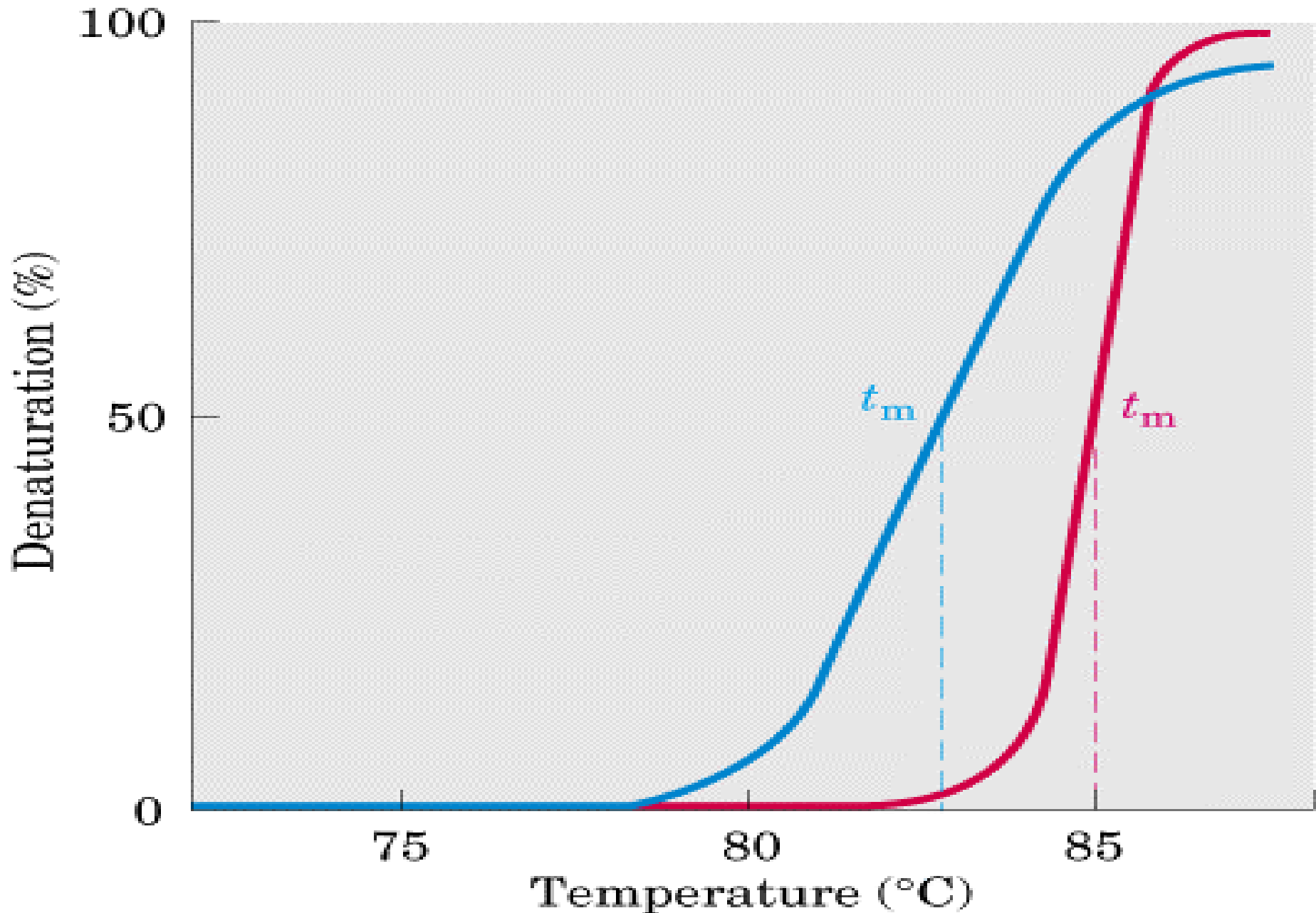


**Separated strands
of DNA in random coils**

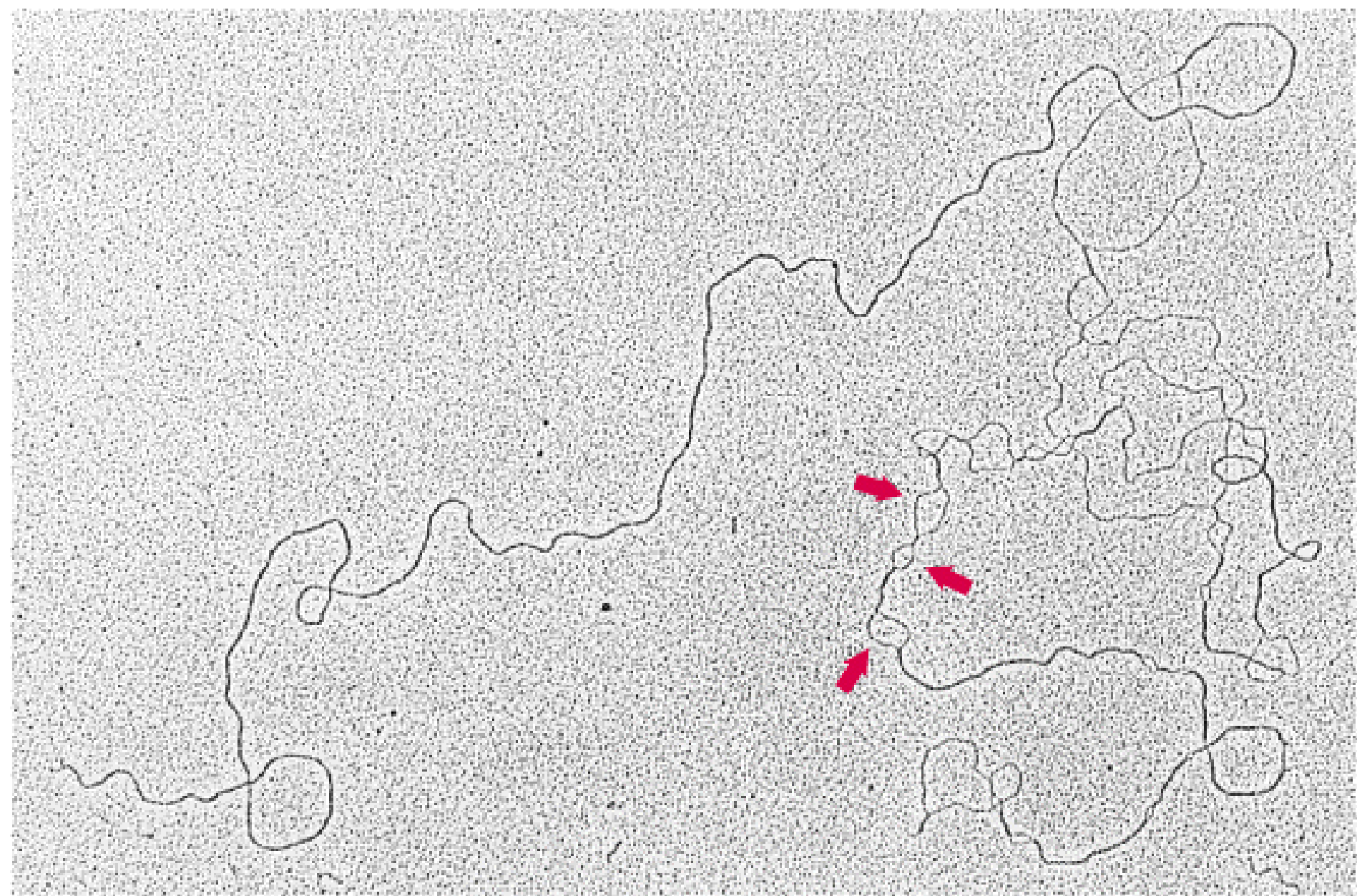


(b)

T_m 随 (C+G) % 含量的增加 T_m 呈线性增加



(a)



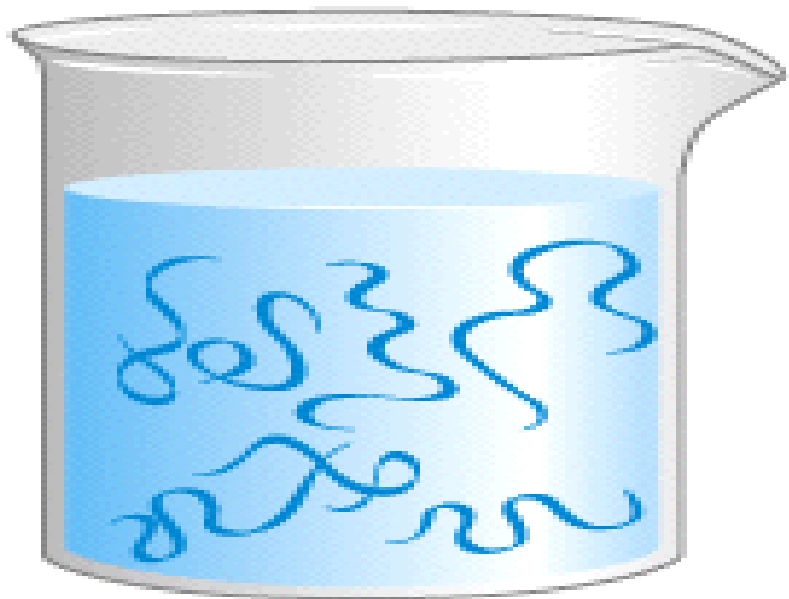
3 μm

(二) DNA的复性

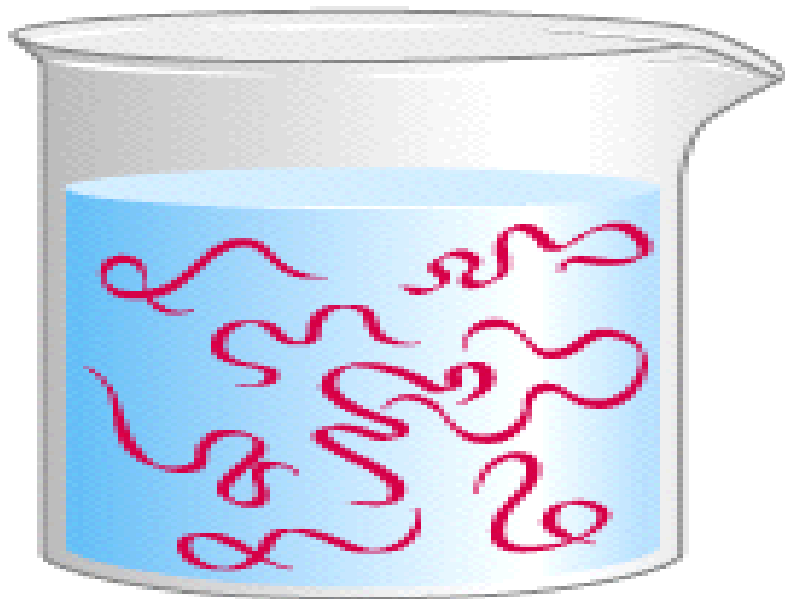
去除变性条件后，变性的单链DNA可以回复成双链结构，恢复原有的物理化学特性和生物学活性，这种现象称为DNA复性(renaturation)

。

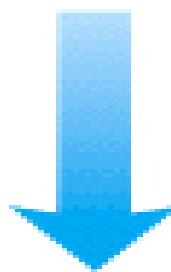
变性与复性主要与温度、盐浓度以及变性剂的浓度有关，也与链间碱基互补相关。



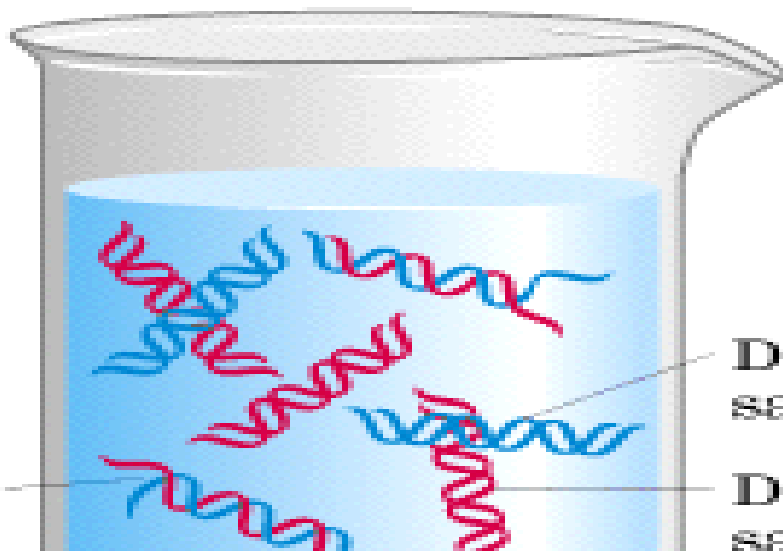
Sample 1



Sample 2



Mix
and cool



Hybrid
duplex

Duplex of
sample 1

Duplex of
sample 2

(三) 核酸的分子杂交

核酸分子杂交技术分两类：

 **固相杂交：**待测核酸（DNA或RNA）固相化，如固定在硝酸纤维膜上，然后探针进行杂交。

包括Southern Blot；Northern Blot；斑点杂交；组织细胞原位杂交；染色体原位杂交和菌落或噬菌原位杂交。

 **液相杂交：**待测核酸和探针在液相中。

用放射性同位素或荧光素及其他物质标记的已知核酸片段或寡聚核苷酸作为探针，分析未知的核酸样品。

被测
DNA



变性



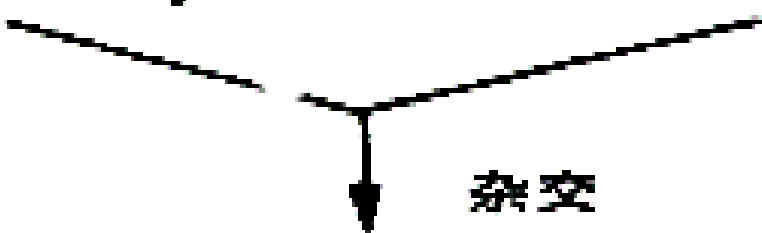
探针
DNA



变性



杂交



(2) 常用的分子杂交技术

☞ Southern印迹分析法:

英国科学家Southern首先提出, 故称Southern印迹法。具体步骤:

- **抽提染色体DNA:** 防止剧烈振摇, 尽量提取到较大的DNA片段;
- **酶解:** 用合适的限制性内切酶解成一定的片段;

●电泳：将酶解的DNA在琼脂糖凝胶上进行电泳

分离；

●转移（印迹）：电泳后的凝胶碱处理，使DNA成

单链，用印迹法（毛细管原理）将DNA

转移到硝酸纤维膜上，干燥固定；

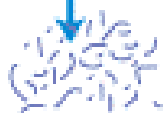
● **杂交**：放射性核素或其他物质**标记**已知核酸片段，或寡核苷酸作**探针**，与固定在膜上的核酸进行**分子杂交**；

● **放射自显影**：能与探针杂交的核酸片段，就会出现**自显影条带**。



Chromosomal DNA
(e.g., Suspect 1)

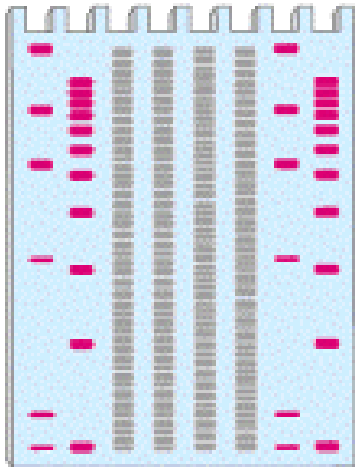
Cleave with restriction
endonucleases.



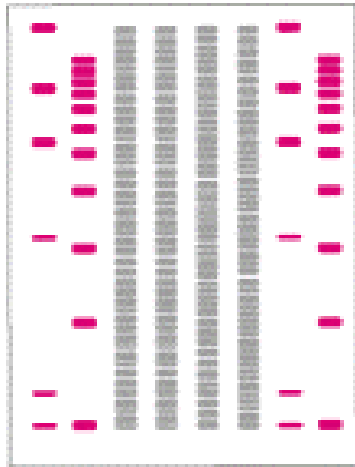
DNA fragments

Separate fragments by agarose
gel electrophoresis (unlabeled).

DNA markers
DNA markers
Suspect 1
Evidence
Victim
Suspect 2
DNA markers
DNA markers



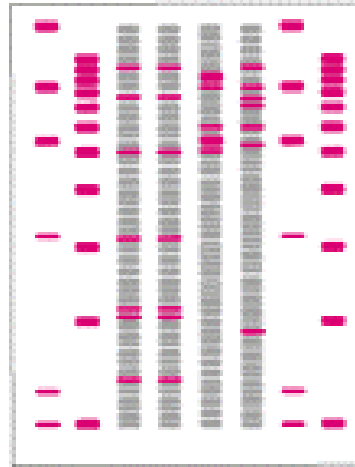
Denature DNA, and
transfer to nylon
membrane.



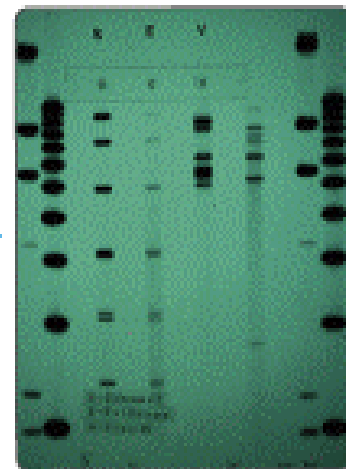
Incubate
with probe,
then wash.



Radiolabeled
DNA probe



Expose x-ray
film to
membrane.



Northern印迹法:

根据Southern法的基本原理，将RNA经电泳分离，转移到硝酸纤维素膜上，用已知DNA作探针，分析检测RNA。

Southern（南方），将Northern译为（北方印迹）。主要步骤:

- **抽提RNA**：是最关键的一步，防止RNA污染上RNA酶；
- **RNA变性凝胶电泳**：破坏RNA局部双链结构，形成完全单链分子；
- **印迹转移**；
- **杂交**；
- **放射自显影**。

☞斑点杂交：

提取的RNA或DNA经变性后，直接点样于硝酸纤维素膜上，然后进行分子杂交。

☞细胞原位杂交：

在组织切片或细胞上进行分子杂交；

菌落或噬菌斑原位杂交：

将硝酸纤维素膜置于菌落或噬菌斑的平板上，使平板上细菌或噬菌斑粘到硝酸纤维素膜上；碱处理，裂解细菌，变性DNA固定在硝酸纤维素膜上，再进行分子杂交。

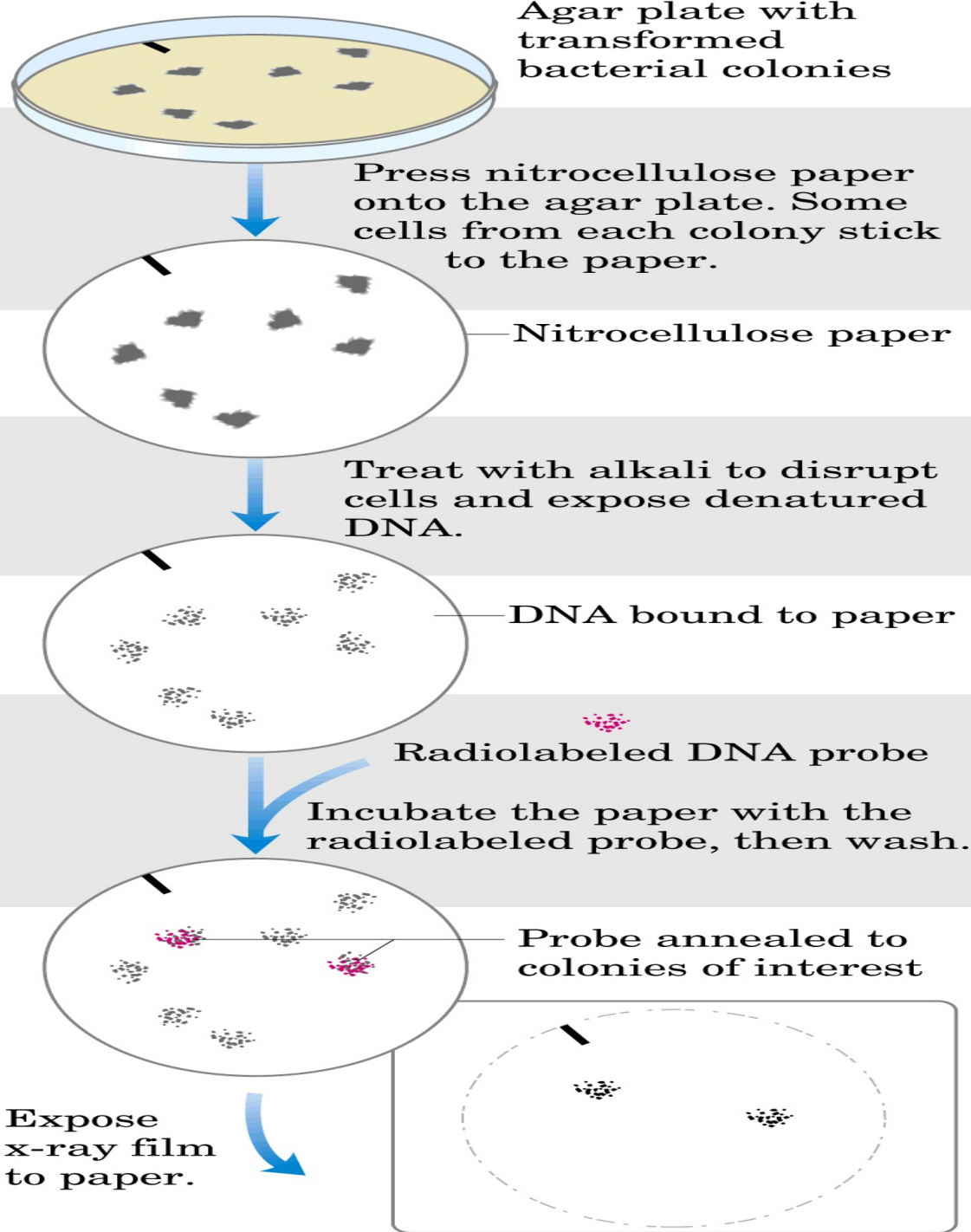
菌落或噬菌斑

菌斑粘到硝酸纤维素膜上

碱处理，裂解细菌

标记探针杂交

放射自显影



分子杂交技术应用

- Southern印迹法：主要用于**基因的结构**（缺失、突变等）、**基因限制性内切酶片段长度多态性**（RFLP）、**基因同源性及基因拷贝数**的分析。
- Northern印迹法：主要用于检测**特异的mRNA**，分析**基因表达的情况**，**mRNA分子的大小**。

●斑点杂交：研究基因缺失，基因的表达。

根据斑点的灰度进行相对量的比较。

●细胞原位杂交：检测特异基因表达产物

的细胞内分布和表达水平。

●菌落原位杂交：检测特异基因库，从

cDNA库中筛选某种克隆。

分子杂交探针的标记

探针是分子杂交的必要工具，是带有某种标记的一段碱基序列。

它与待测DNA、RNA、寡聚核苷酸互补，杂交，通过探针的分子标记，检测具有互补序列的基因或基因片段。

■ 探针的放射性标记：

如³²P、³⁵S、³H等标记，在脱氧三磷酸单核酸相应部位，通过切口平移 (nick translation) 标记法、末端标记法或随机引物 (random primer) 标记法，将标记的单核苷酸参入到探针的分子中。

优点：是灵敏度高，可检测到0.03-1pg

(10^{-12}) 的核酸。

缺点：是半衰期短 (^{32}P 为14日, ^{35}S 为85

日), 射线对操作者有损害, 需要

很好的防护和严格的废物处理等。

切口平移标记： DNA聚合酶I有5' -3'的外切活性，双链DNA中一条链断裂时，DNA聚合酶I可从切口处合成新链，同时逐一切去损伤链。

末端标记： DNA聚合酶I大片段Klenow标记双链DNA的3'一端，而T4噬菌体多核苷酸激酶标记DNA的5一端。

随机引物标记：通过小牛胸腺DNA水解

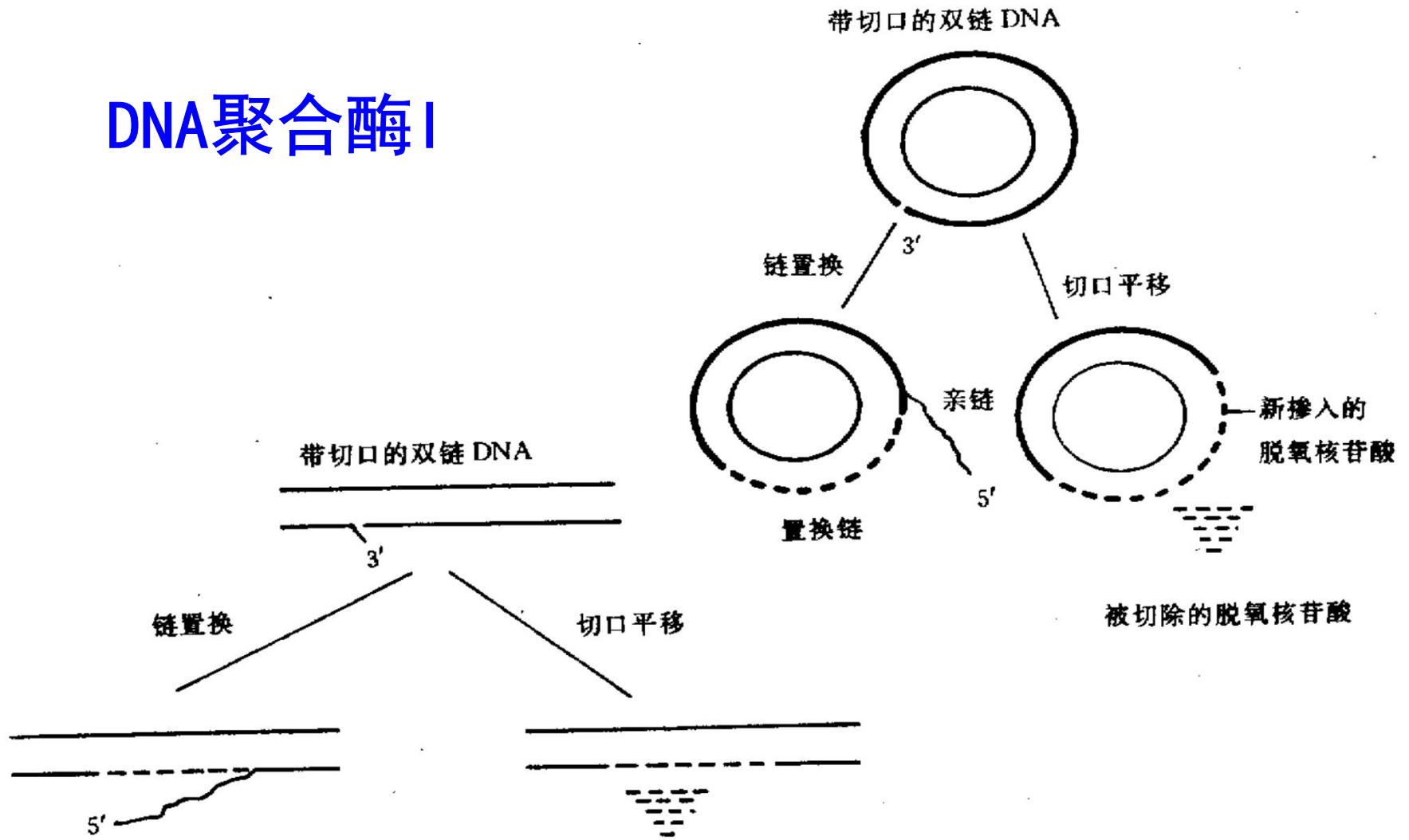
或合成的6—12nt的寡核苷酸，可以与

模板的许多位置杂交，因此模板上的

每一个核苷酸被拷贝进产物的机率相

同。

DNA聚合酶 I



切口平移和 (nick translation) 链置换反应 (strand displacement)

■非放射性标记探针：

地辛高 (digoxin) 标记探针：酶标地高辛抗体和酶底物显色。原理是：地高辛抗体识别掺入到探针中的地高辛-dUTP。

生物素标记探针：酶标亲和素 (avidin) 和酶底物显色。

酶标记探针：酶底物显色。

第三节 DNA 的超螺旋结构和其他结构

一、DNA 的超螺旋结构

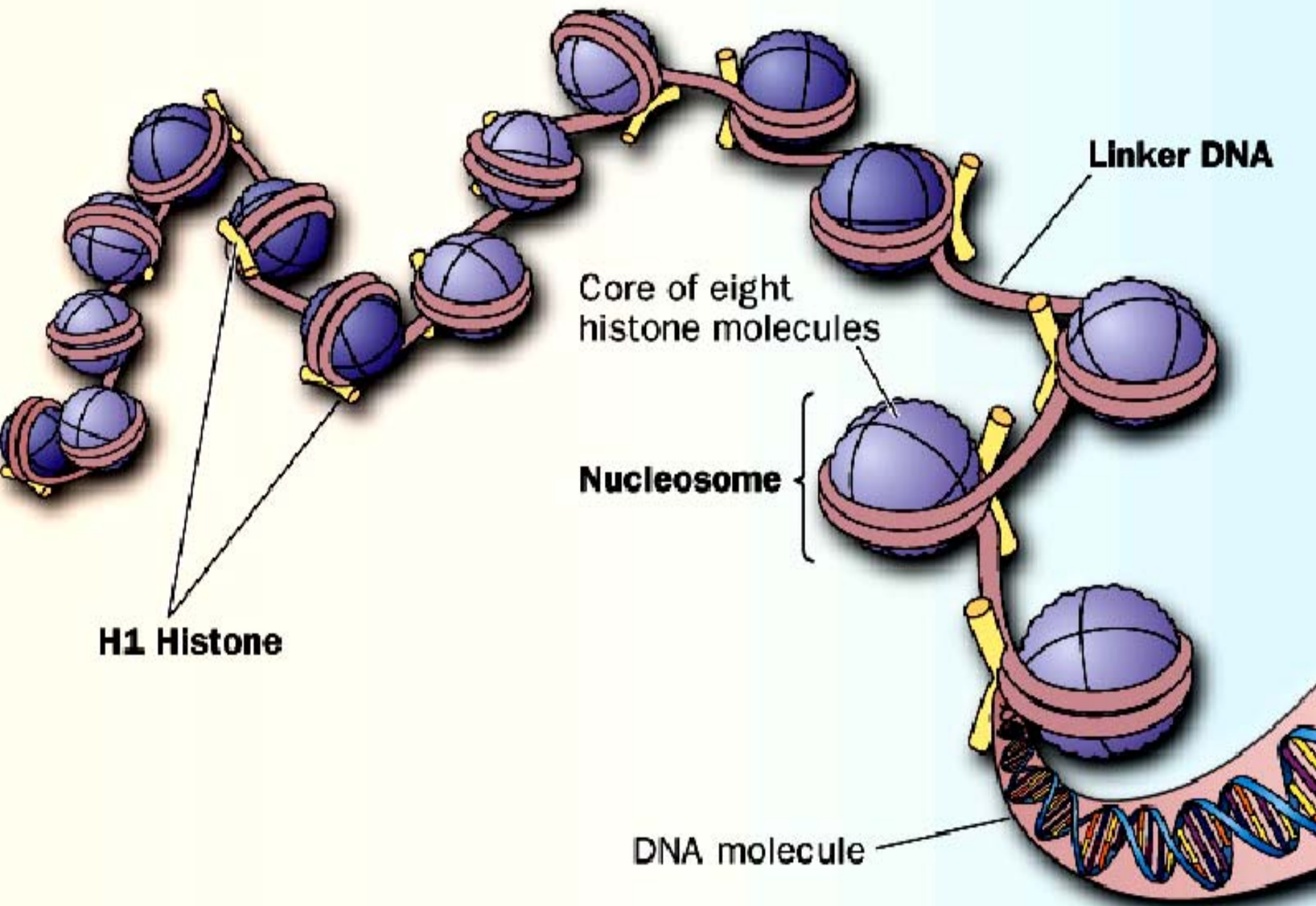
二、DNA 的其他结构

一、DNA 的超螺旋结构

原核DNA一般都是封闭结构，没有游离末端。

真核DNA是线状的，但由于分子巨大，经反复盘绕折叠，往往形成许多相当于环状的结构。这种封闭的环状结构使DNA能形成超螺旋结构

(supercoil)，即螺旋的螺旋原核 DNA 一般都是封闭结构，没有游离末端。



Linker DNA

Core of eight histone molecules

Nucleosome

H1 Histone

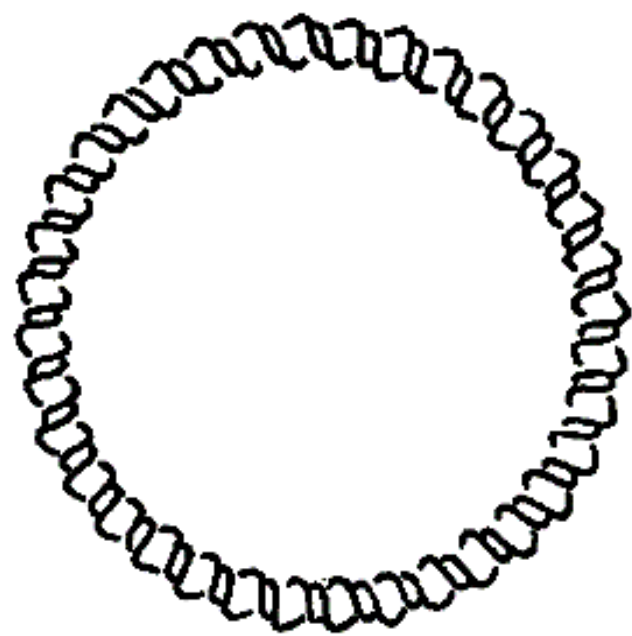
DNA molecule

超螺旋有两种

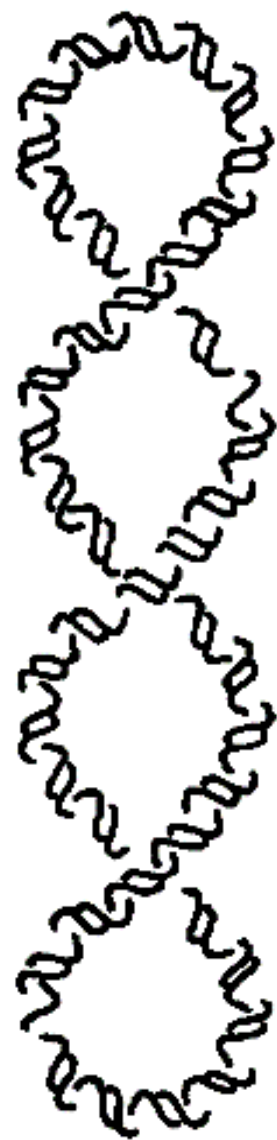
负超螺旋DNA: 中心轴的盘绕与双螺旋中两条链盘绕方向相反, 即与解链方向相同, 也称盘绕不足 (underwound) DNA ;

正超螺旋DNA: 与负超螺旋相反, 也称过分盘绕 (overwound) DNA) 。

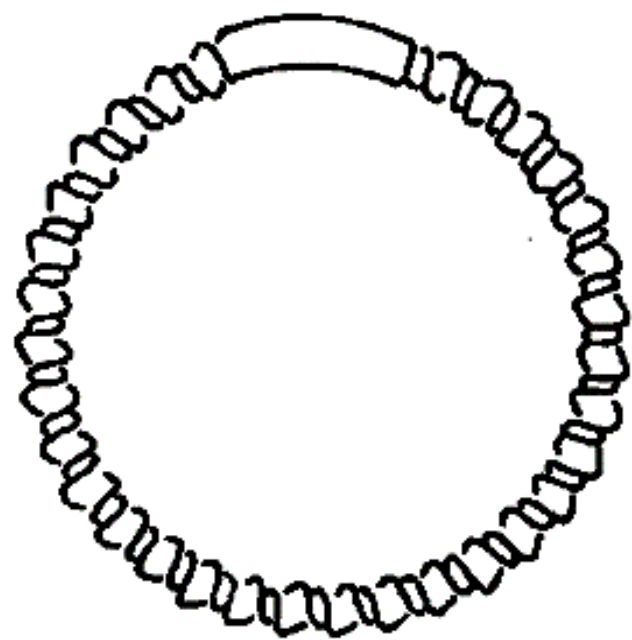
松弛型 (relaxed form): 凡没有超螺旋结构的DNA, 无论是开链还是环状结构。



松弛型环状 DNA



负超螺旋 DNA



负超螺旋引起链的分离

超螺旋可能有两方面的生物意义

可能有两方面：

 超螺旋DNA比松弛型DNA更紧密，使DNA分子

体积变得更小，得以包装在细胞内；

 超螺旋能影响双螺旋的解链程度，因而影

响DNA分子与其他分子相互作用，如酶、

蛋白质分子。

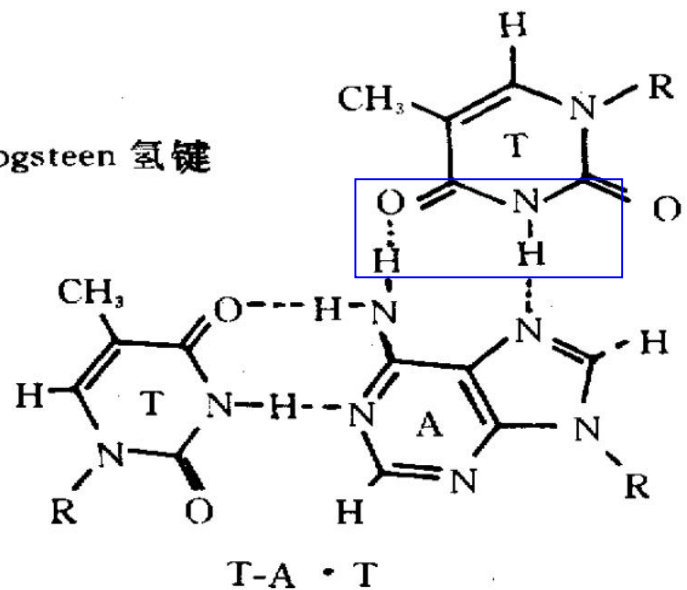
二、DNA 的其他结构

DNA的三螺旋结构

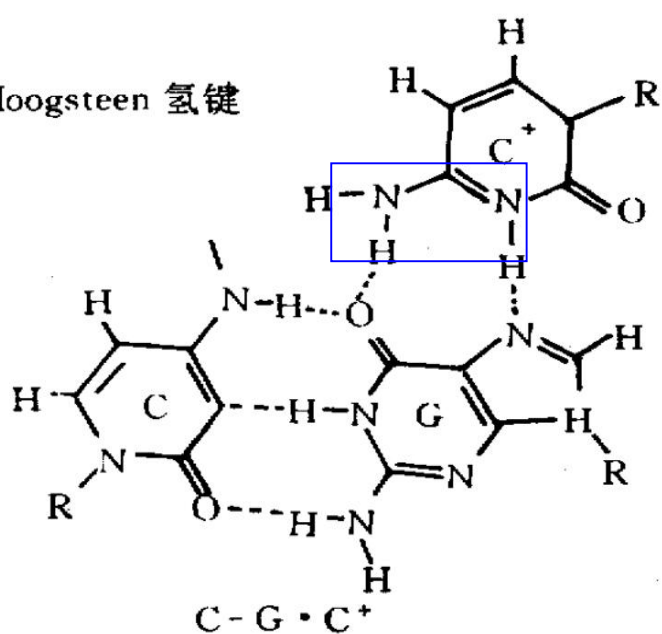
聚dA链首先与一条聚dT链互补形成双螺旋，然后，在高盐条件下，另一条dT链再同双螺旋形成三股螺旋结构。

双螺旋结构通过Watson-Crick氢键稳定，而第三股螺旋通过Hoogsteen氢键稳定。

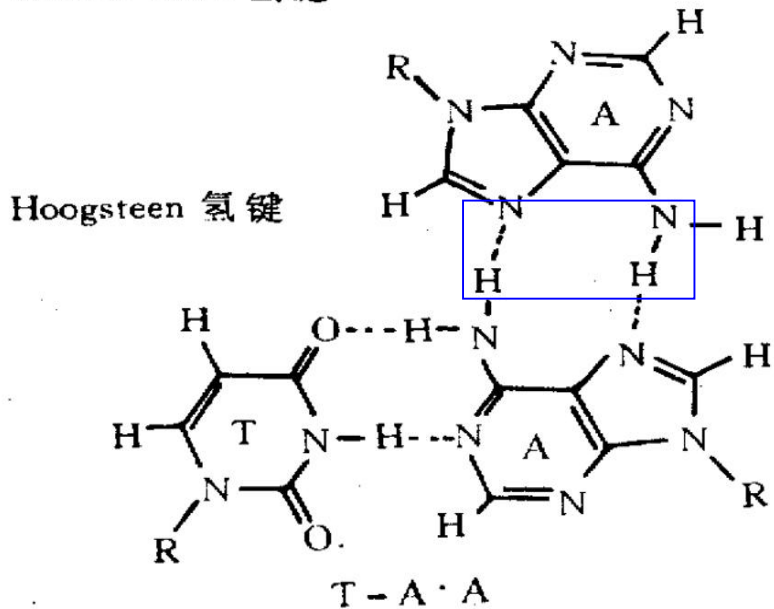
Hoogsteen 氢键



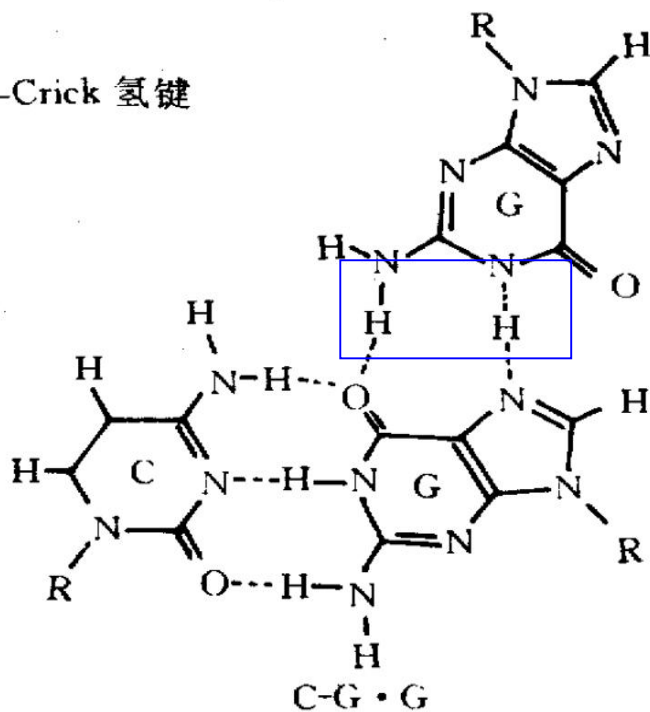
Hoogsteen 氢键



Watson-Crick 氢键

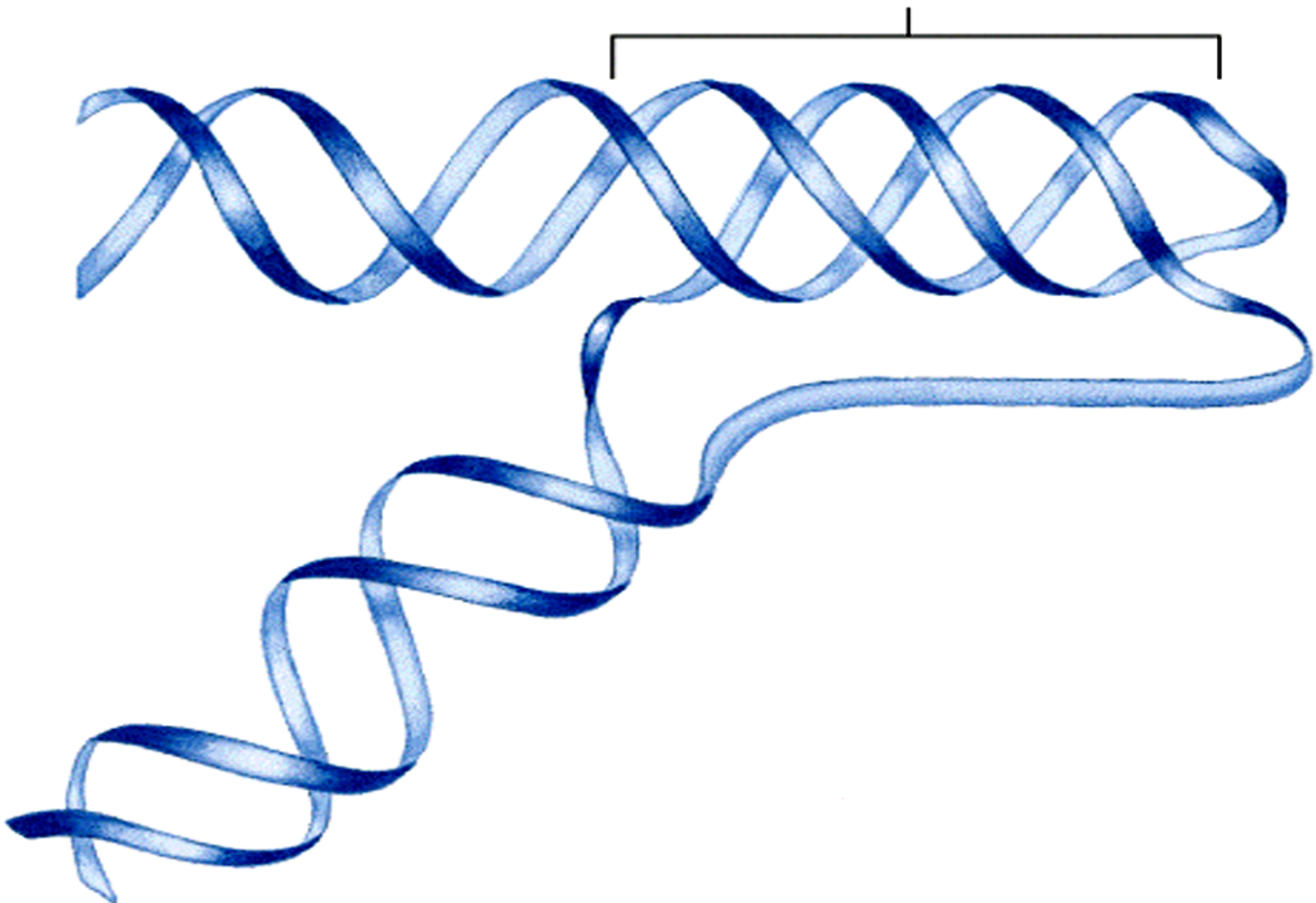


Watson-Crick 氢键



Hoogsteen 氢键

Triple helix



三股螺旋有两种结构类型：

● 嘧啶—嘌呤·嘧啶，即T-A·T，C-G·C⁺；

● 嘌呤·嘌呤—嘧啶，即A·A-T，G·G-C。

— 为Watson-Crick氢键

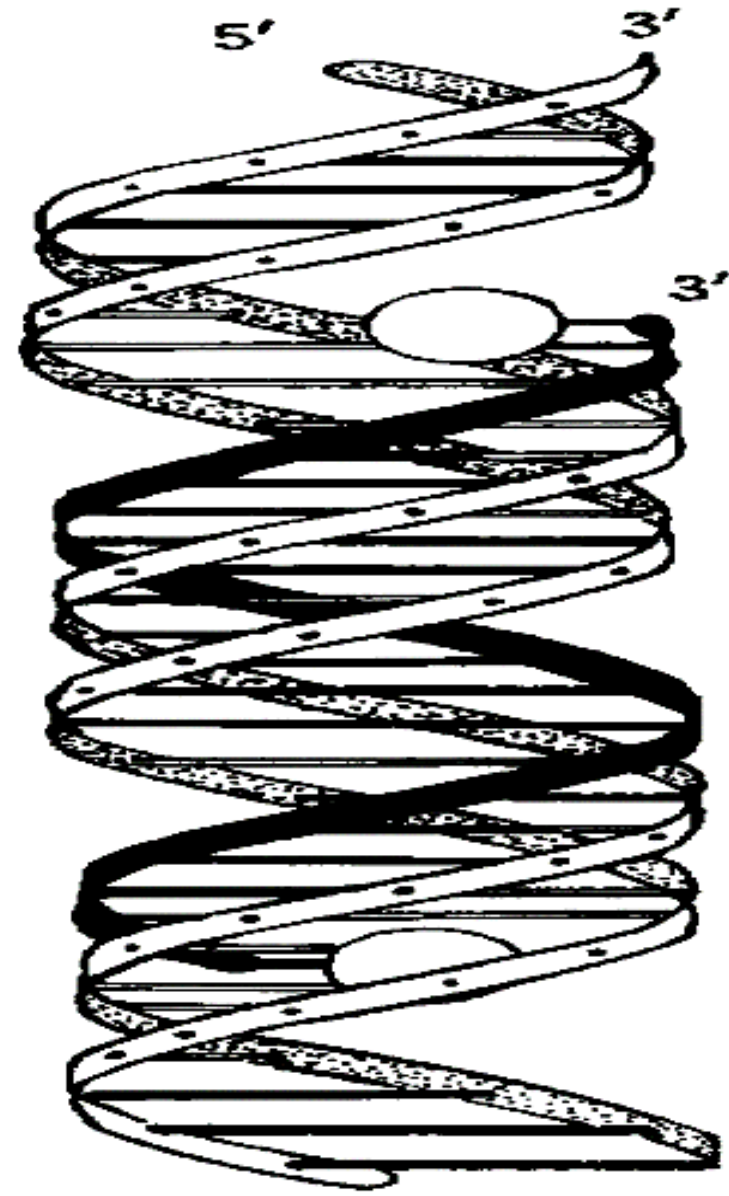
● 为Hoogsteen配对

+ 代表质子化的C。

现已阐明

- ① 形成三股螺旋的核苷酸链长度至少含有8个碱基；
- ② 处于中间的一股必需是多聚嘌呤核苷酸。

	3'	3'
	T	A
	G	C
	C	G
	T	A
	A	T
	G	C
	G	C
	A	T
	A	T
	A	T
	A	T
	G	C
	A	T
	A	T
	A	T
	A	T
	G	C
	A	T
	A	T
	A	T
	G	C
	A	T
	G	C
	C	G
	C	G
	C	G
	A	T
	G	C



单链DNA结构

极少数生物的DNA是单链环状的。主要是一些小分子的病毒DNA，如噬菌 ϕ X174、M13的DNA都是单链环状的。

它们在宿主细胞内复制补链, 形成双链环状DNA, 称复制型DNA。

第四节 DNA 的功能

一、DNA 的生物学功能

二、DNA 的半保留复制

三、基因突变和 DNA（基因）
的损伤与修复

一、DNA 的生物学功能

DNA的第一个功能：遗传信息储存者；

DNA的第二个功能：通过自我复制能将储存的遗传信息稳定地、忠实地从一代细胞传至下一代细胞。

DNA的第三个功能：将DNA储存的遗传信息通过转录和翻译产生蛋白质。

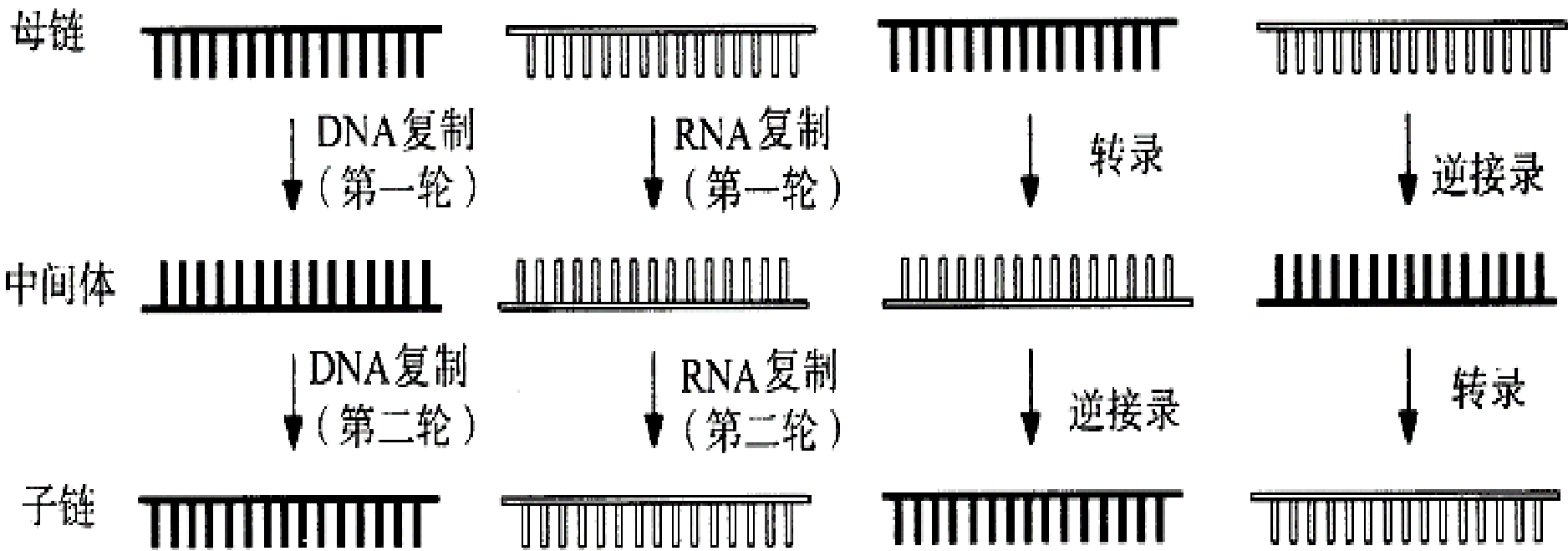
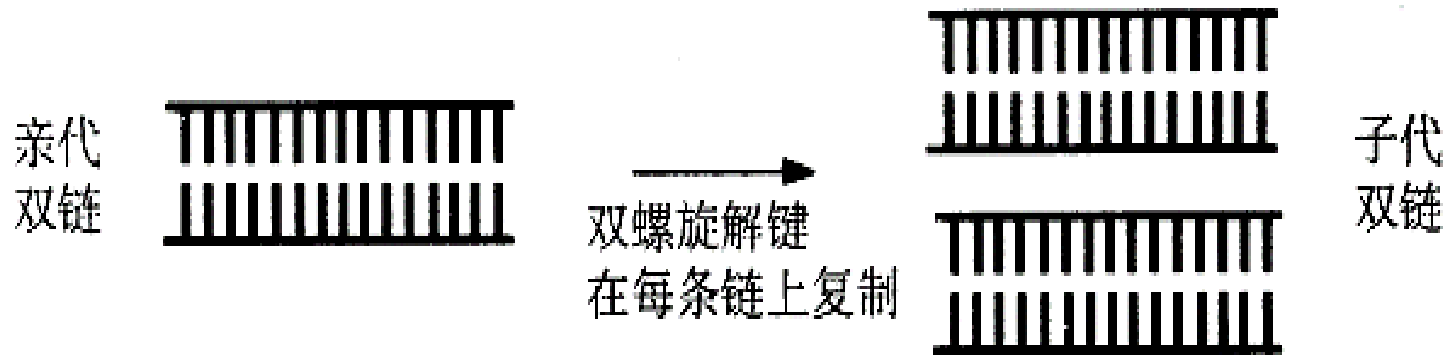
从而体现生物体的生命活动和生命现象。

生物的遗传性和变异性同时存在，在一定范围内的突变性是生物产生新的遗传特性和新的生物物种所必需的，没有突变，就没有生物的进化，生物界就不能进步，所以变异也可以说是DNA的一个功能。

二、DNA 的半保留复制

1. DNA 的半保留复制
2. DNA 复制的半不连续性
3. DNA 复制的方向性
4. DNA 复制的基本过程
5. 端粒 DNA 的合成
6. 参与 DNA 复制的酶类
7. DNA 复制的调控与细胞周期

1. DNA 的半保留复制



2. DNA 复制的半不连续性

模板链（正向模板，forward template）：

3'→5'方向，连续互补合成5'→3'先导链，
(leading strand)；

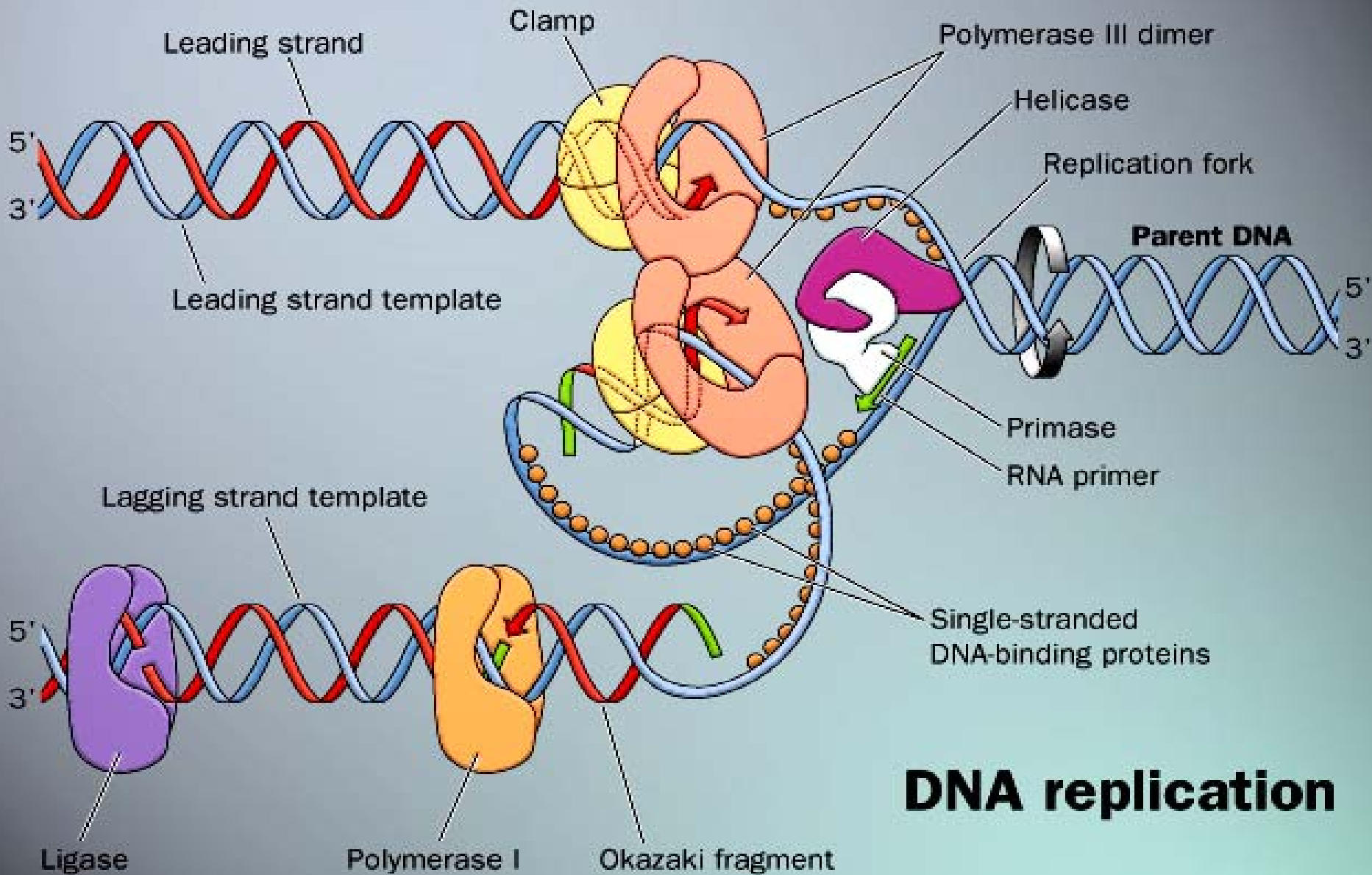
模板链（逆向模板，retrograde template）：

5'→3'方向，互补合成随后链(lagging strand)。

DNA聚合酶只能催化5'→3'方向新生链合成，随后链它不能连续合成，只能按5'→3'方向合成许多100-2000bp的冈崎片段(Okazaki fragment)，再经连接酶连接成一条连续的新生链。

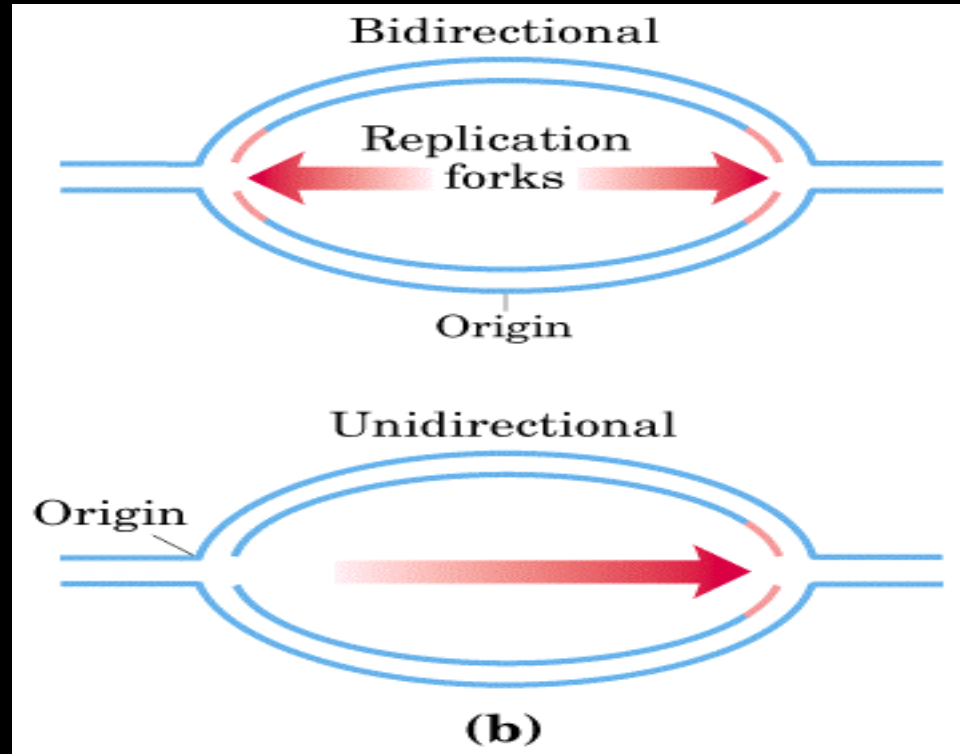
这种DNA复制方式称半不连续性(semidiscontinuity)。

半不连续性 (semidiscontinuity)



3. DNA 复制的方向性

大多数 DNA 复制是双向 (**bidirection**)。部分病毒及线粒 DNA 是单向复制



DNA 复制的方向常用温度敏感性变异菌株并结合放射自显影技术。大肠杆菌的一个温度敏感株在 42°C 时能使 DNA 在完成复制后不再开始新的复制过程，而在 25°C 时复制功能恢复。将此温度敏感株先在 42°C 培养一段时间后，再移入 25°C ，使其在同一时间开始复制，细菌同步生长。先将这种同步生长的突变株在含低比度 $^3\text{H-TdR}$ 中生长几分钟，再移入高比度 $^3\text{H-TdR}$ 中作脉冲标记。然后对菌体 DNA 作放射自显影分析。

4. DNA 复制的基本过程

DNA 复制的基本过程主要包括：

复制起始，链延伸和复制终止。

需要多种特异性酶和蛋白因子的参与。

(1) DNA 复制的起始

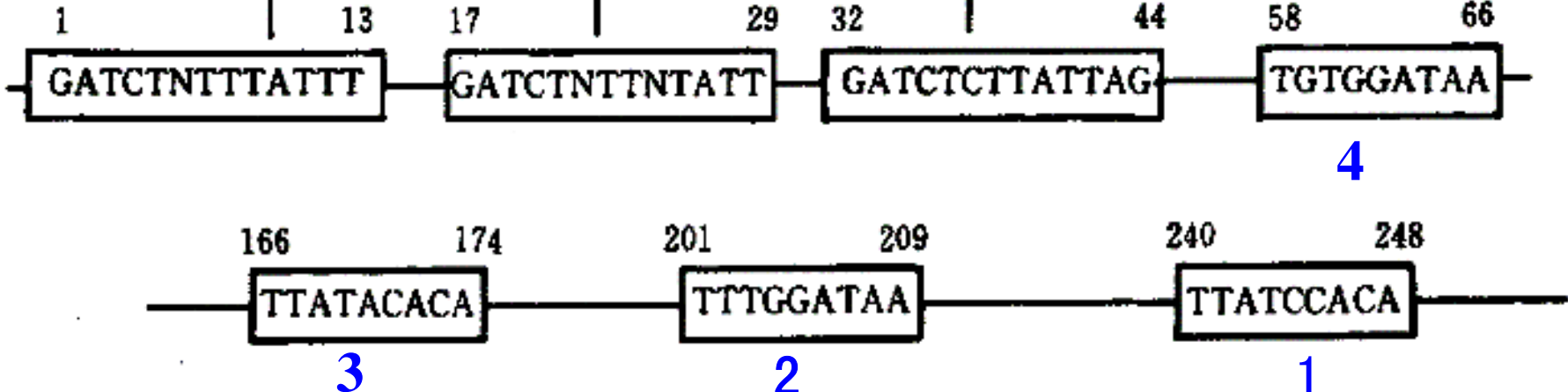
● DNA复制起始部位

DNA复制有特定的起始部位，称为 *Ori*。大多原核生物基因组和细菌质粒只有一个 *Ori* 位点，而真核生物染色体中至少有400个 *Ori*。

由一个复制起始点构成的DNA复制单位称为复制子 (replicon)

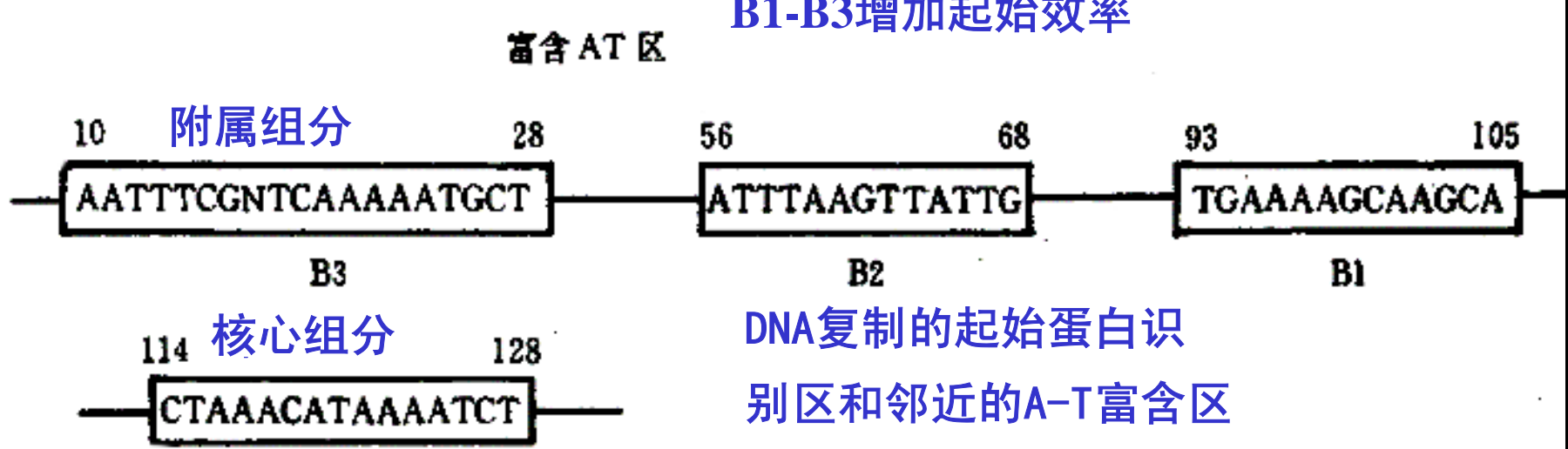
每个复制子在一个细胞周期中必须而且只能起动一次。

大肠杆菌DNA复制起始点



四个9bp重复序列可与起始蛋白DnaA特异结合

酵母细胞DNA复制起始点



DNA复制的起始蛋白识别区和邻近的A-T富含区

●复制起始蛋白

利用DNA足迹 (foot printing) 实验，发现了多种复制起始蛋白。它们受磷酸化和去磷酸化调节，一旦被磷酸化，不仅能识别并结合 *Ori* 区的特异序列，还能形成寡聚体，以某种方式使DNA解旋解链。

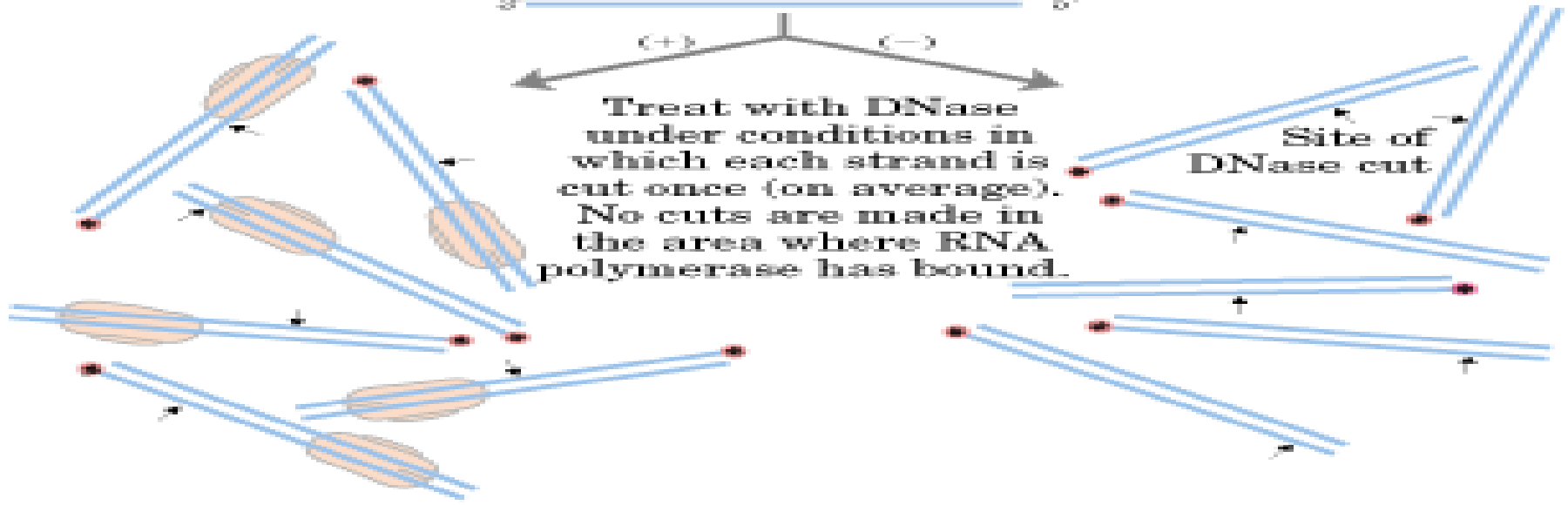
DNA足迹实验: 蛋白质抽提、SDS-PAGE、转膜、标记探针杂交、切下杂交信号带、用相同探针作对照、Dnase酶解、序列胶电泳、观察结合蛋白的保护位点。

**Solution of identical DNA fragments
radioactively labeled \bullet at one end of one strand.**

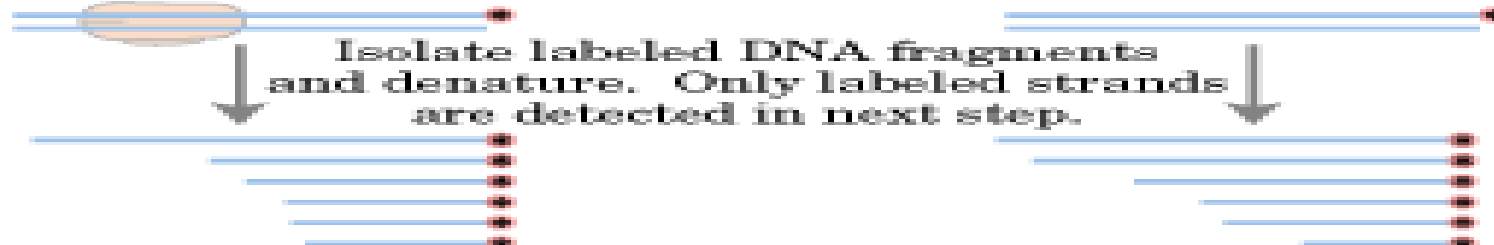


**Treat with DNase
under conditions in
which each strand is
cut once (on average).
No cuts are made in
the area where RNA
polymerase has bound.**

**Site of
DNase cut**



**Isolate labeled DNA fragments
and denature. Only labeled strands
are detected in next step.**



**Separate fragments by polyacrylamide gel electrophoresis
and visualize radiolabeled bands on x-ray film.**

**Uncut DNA
fragment**

**Missing bands indicate
where RNA polymerase
was bound to DNA.**

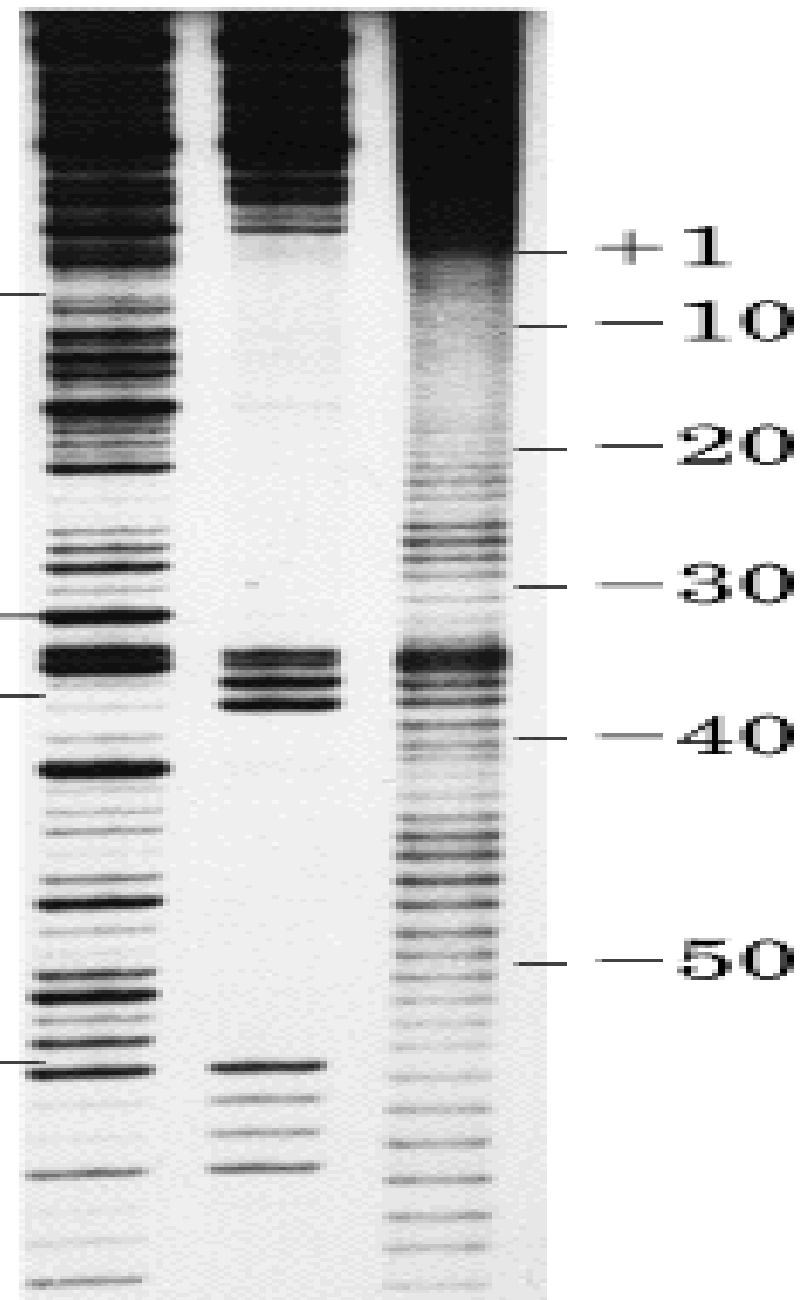


**DNA
migration**



Nontemplate strand

- + C



+1

-10

-20

-30

-40

-50

Regions bound by
RNA polymerase

大肠杆菌DNA复制起始所需的蛋白质

名称	功能
DnaA	结合Ori区，具ATP酶活性，使A-T富含区解链，促进AnaB形成复合物
DnaB	DNA螺旋酶，有解旋和解链作用
DnaC	运输DnaB，形成起始复合物。
DnaG	DNA引发酶，对利福平不敏感，促进起始复合物形成
Hu	促进起始复合物的形成
回旋酶	松弛正超螺旋，促进单链DNA产生
单链结合蛋白	促进DNA解链，稳定单链DNA

真核生物:

SV40的研究表明, T抗原具有类似原核生物起始蛋白的功能。

N端 (135-249) 是DNA结合区, 能识别SV40 *Ori* 区的重复序列GAAGC;

C端 (371-625) 有螺旋酶活性。

T抗原与 *Ori* 区结合后, 能沿着DNA链从3'→5'方向移动;

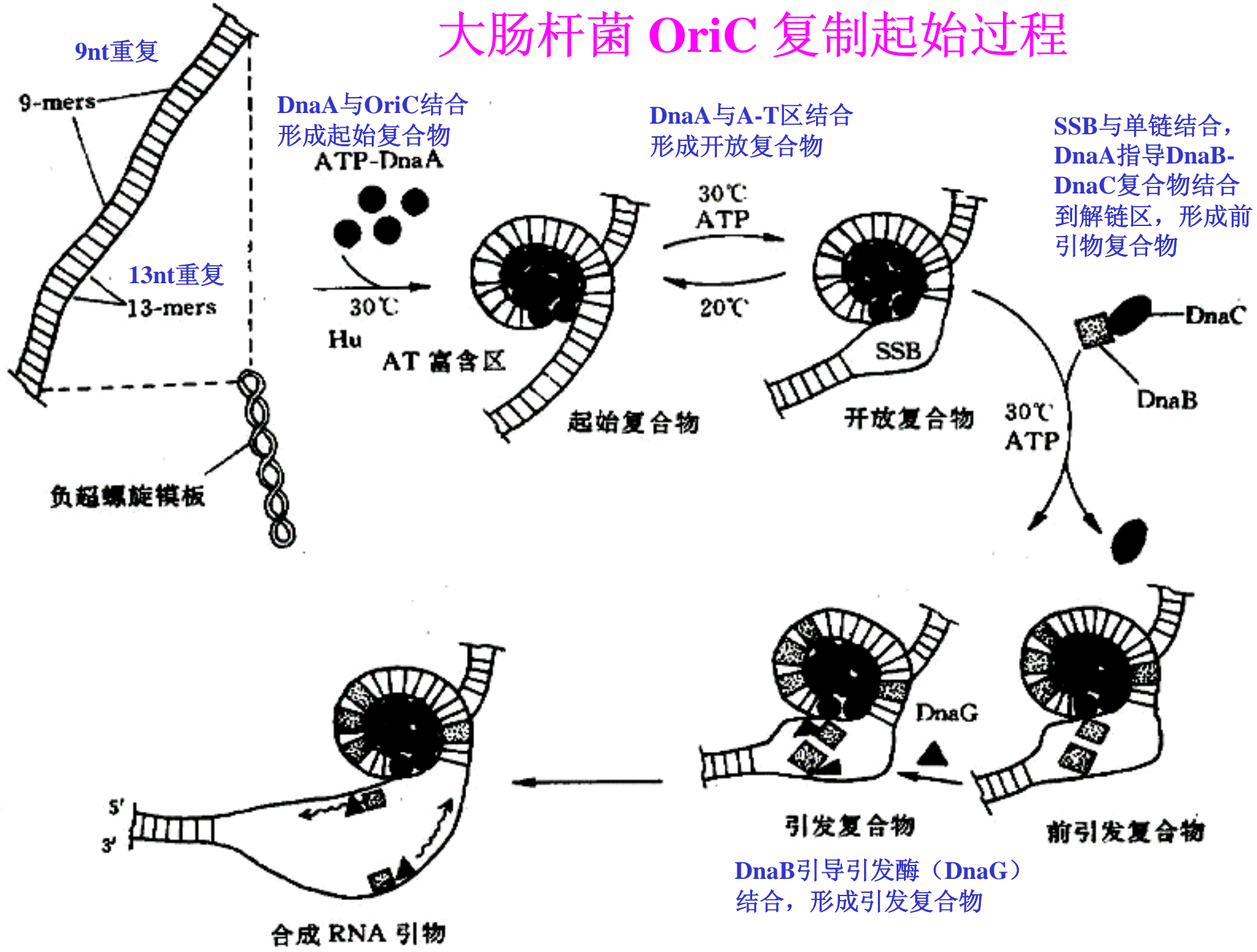
在ATP和复制因子A（RFA）协助下，其螺旋酶活性使 *Ori* 区的双链解开。

T抗原还能与真核DNA聚合酶 α 结合，引导DNA聚合酶 α -引物酶结合到单链DNA上，合成RNA引物及DNA链。

●复制起始- 引发(priming):

DNA聚合酶不能催化新生链合成的起始。因此，在DNA复制时，先在模板上合成一段RNA引物，提供3'-OH，然后在DNA聚合酶（pol）催化下合成新生链。合成RNA引物的过程称为引发。

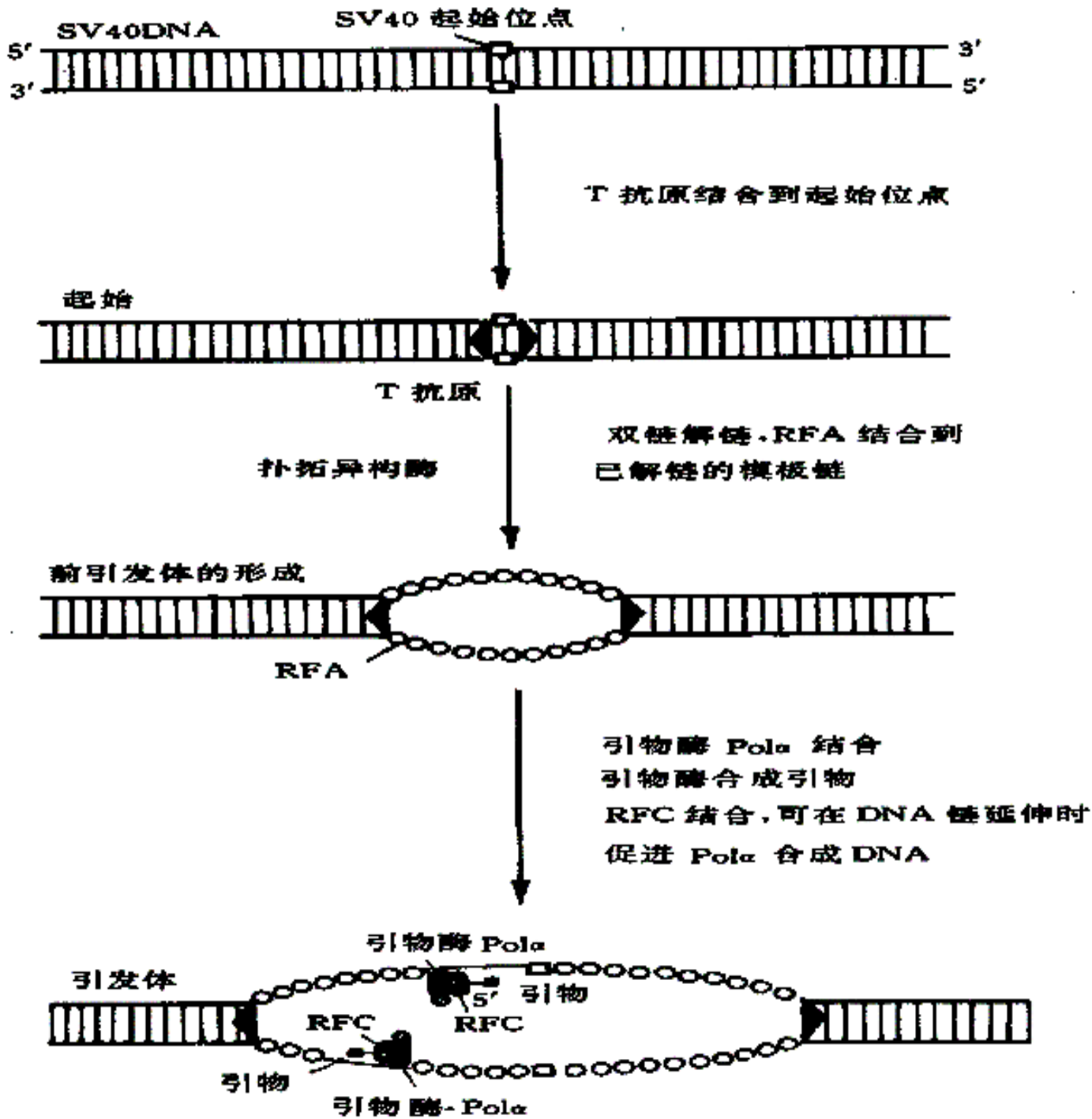
大肠杆菌 OriC 复制起始过程



SV40 DNA的复制过程比大肠杆菌要复杂得多，至少需要8个蛋白质或酶的作用。

这8个组分是：T抗原、拓扑异构酶（TPI） I 或 II、复制因子A（RFA）、复制因子C（RFC）、增殖细胞核抗原（PCNA）、DNA聚合酶 α （pol α ）-引物酶复合物、DNA聚合酶 δ （pol δ ）等。

真核生物 DNA 复制的起始过程

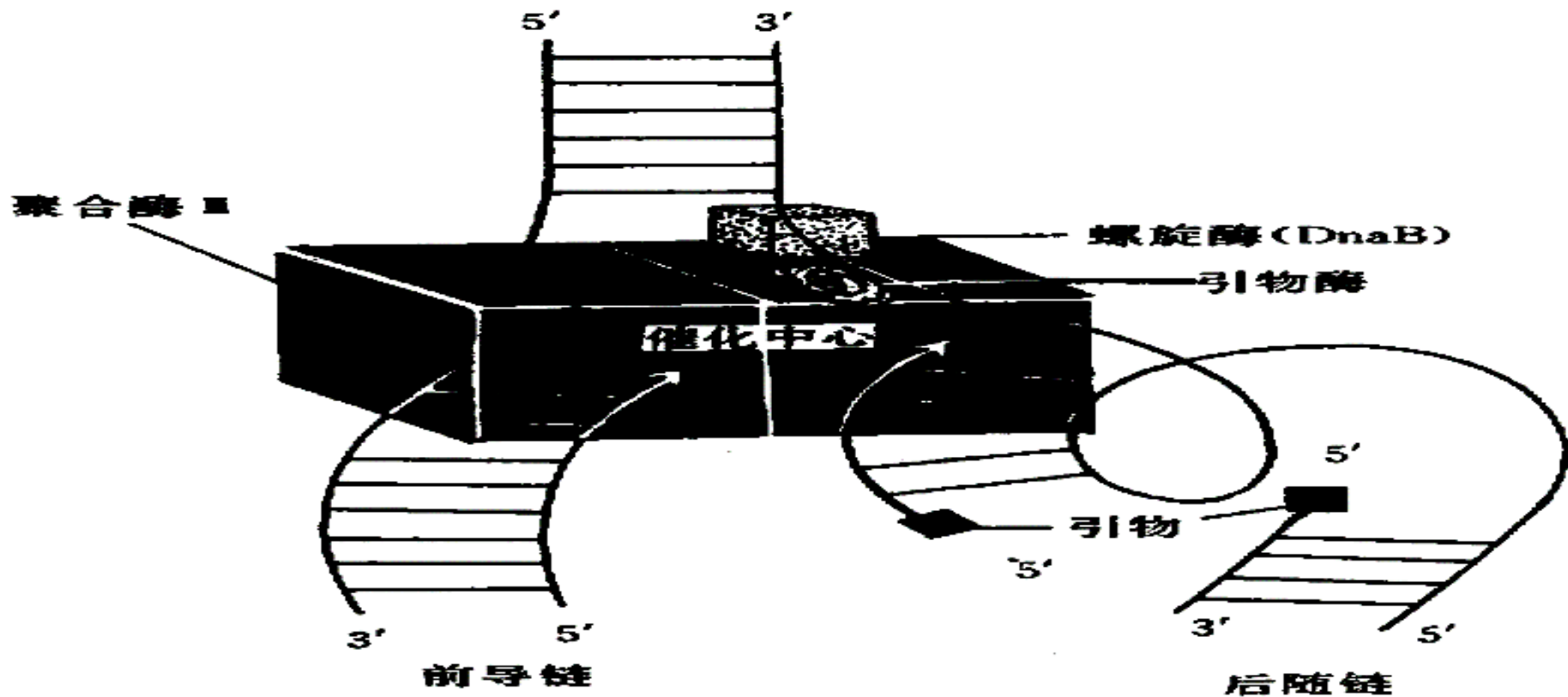


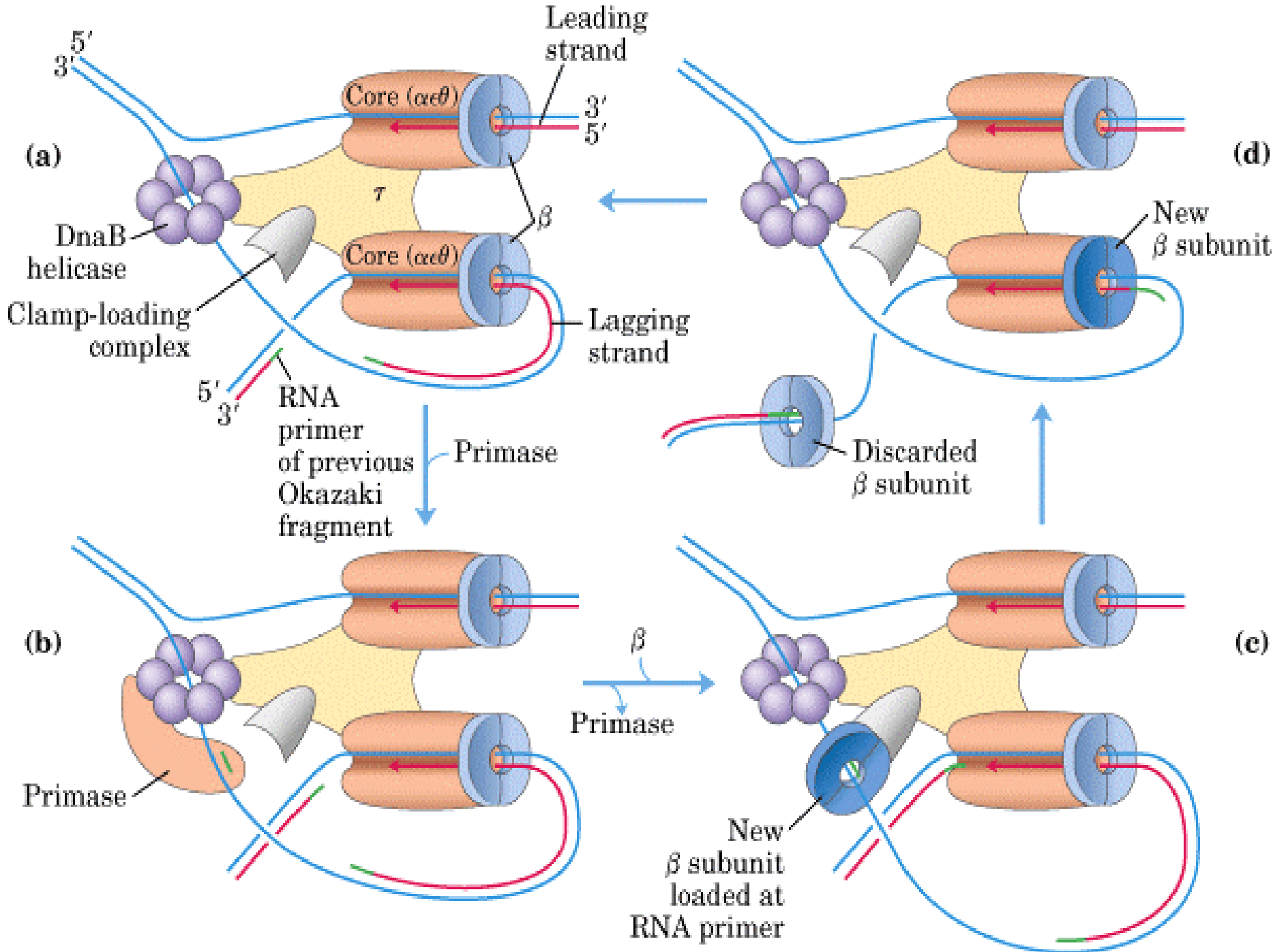
T 抗原有螺旋酶活性, 在 Ori 区解旋解链

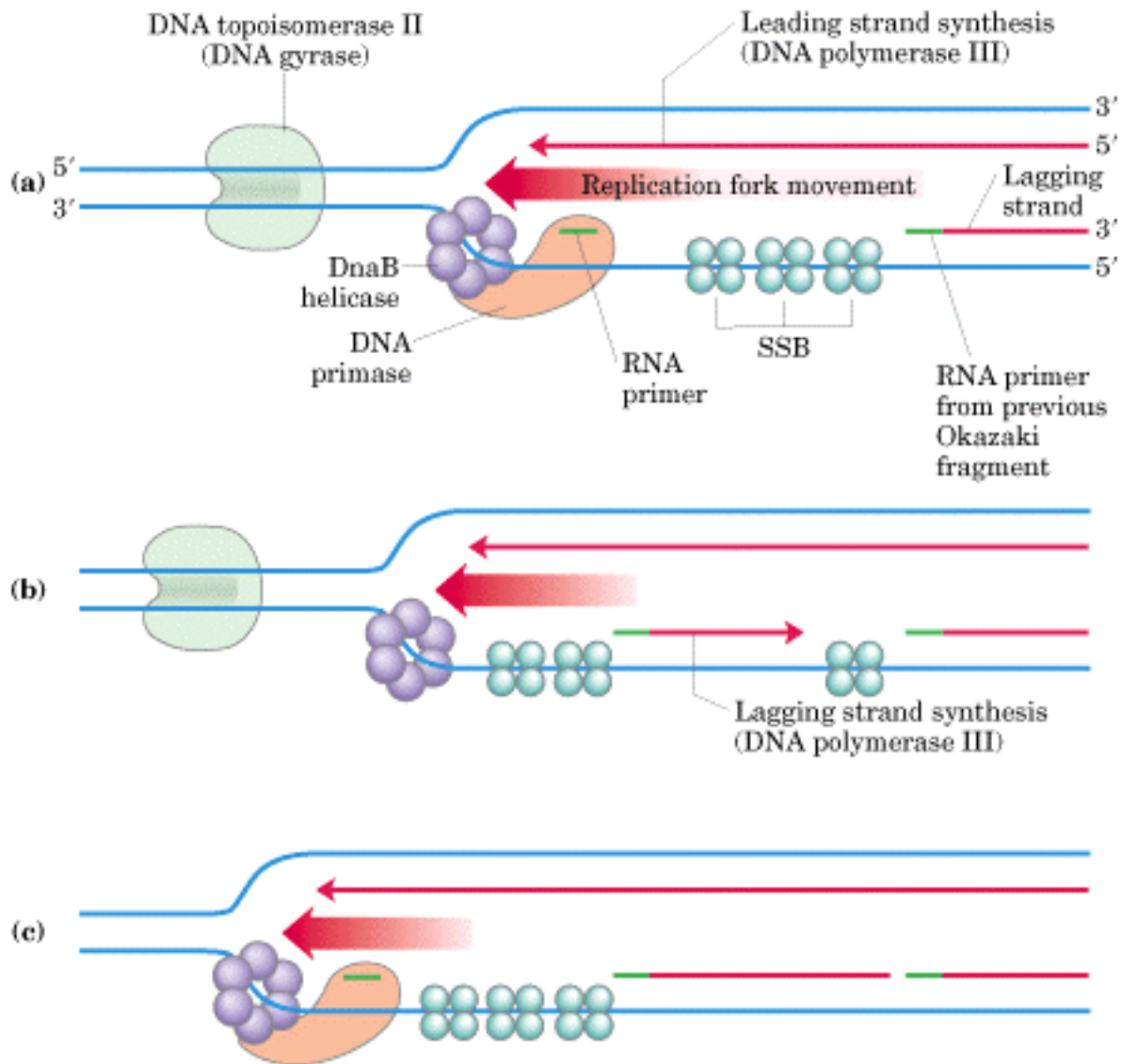
RFA 与 Top 协同

(2) DNA链的延伸

原核生物 DNA 链的延伸：后随链的模板折叠 180° ，围绕在 DNA polIII 核心酶的催化位点上，使后随链的合成方向与前导链相同







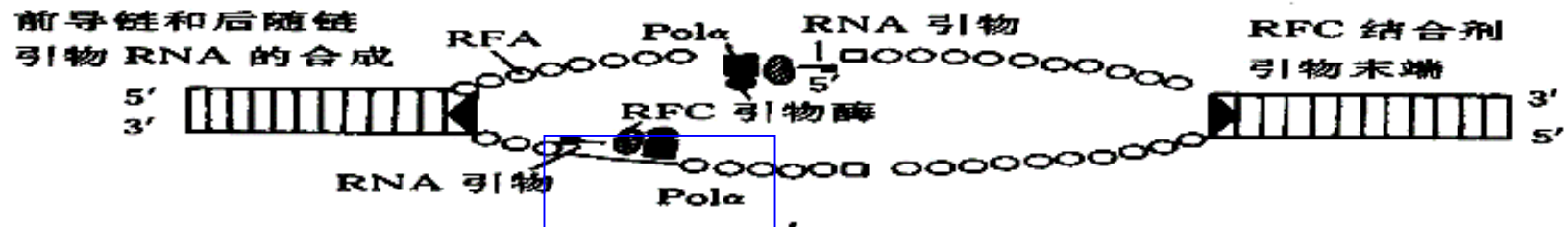
真核生物:

前导链和后随链的合成是由两个不同的DNA聚合酶催化完成。RNA引物约为10个核苷酸。

当 $\text{pol } \alpha$ -引物酶合成RNA引物后，继续在RNA的3'OH端延长10-20个脱氧核苷酸。

然后，在RFC和PCNA参与下，向 $\text{pol } \delta$ 转换，由 $\text{DNApol } \delta$ 继续合成冈崎片段。

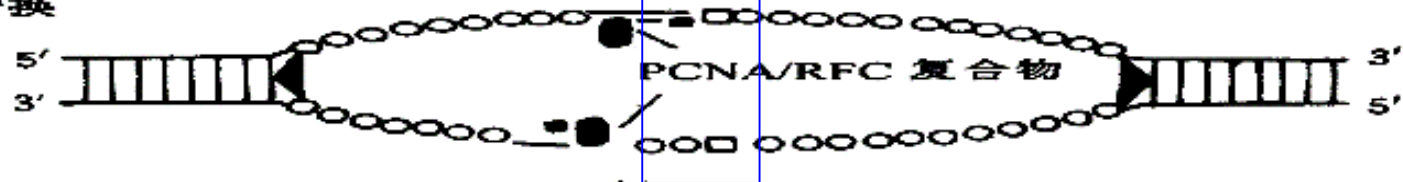
当 $\text{DNApol } \delta$ 接近下游的冈崎片段的RNA引物时， $\text{pol } \delta$ 解离，又在上游引发另一个冈崎片段合成的起始。



PCNA 结合到 RFC 引物末端
形成复合体

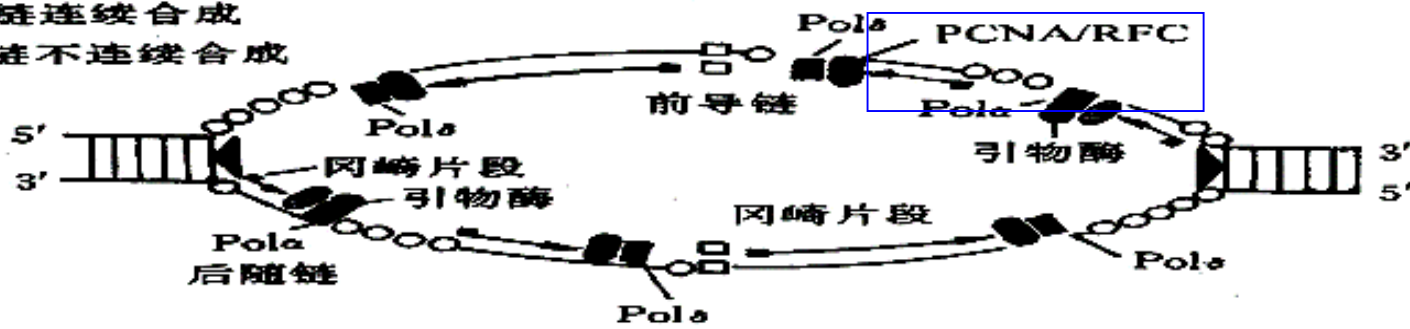
Pola 解离
前导链合成的中断
向 Pol δ 转换

DNAPol α 向
DNAPol δ 的
转换



Pol δ 与 PCNA/RFC
复合物结合, 前导链的连续合成。
Pola-引物酶以及 RFC 和后随链
模板结合, 不连续合成后随链

前导链连续合成
后随链不连续合成



后随链的许多RNA引物必须除去。除去RNA由两个酶执行：

📄 **核糖核酸酶H1**：在RNA-DNA连接处上游1个核糖核酸处切开磷酸二酯键，除去引物；

📄 **FEN1/RTH1核糖核酸酶**：水解DNA链上游留下的单个5'-核糖核苷酸。

由DNA聚合酶I补平空隙，连接酶作用下，连接冈崎片段，成为完整的新生链。

3. DNA复制的终止

大肠杆菌DNA有两个 T_1 、 T_2 终止位点。

T_1 使反时针方向移动的复制叉终止，

T_2 使顺时针方向移动的复制叉终止。

环状双链DNA复制终止后，要借助拓扑异构酶 II 在其中一条DNA链上打开缺口，使两个子代DNA分子分离，再连接缺口。

线性DNA复制到达复制叉末端时，复制终止，子代DNA自行分开。

但有实验证实，酵母染色体复制完成后，也需要TPI II才能使子代DNA分开。

（五）端粒DNA的合成

真核生物线性DNA末端具有端粒结构。

1. **端粒酶**：催化端粒合成的酶称为端粒酶（telomerase），由一条RNA和多种蛋白质构成的核糖核蛋白复合体。

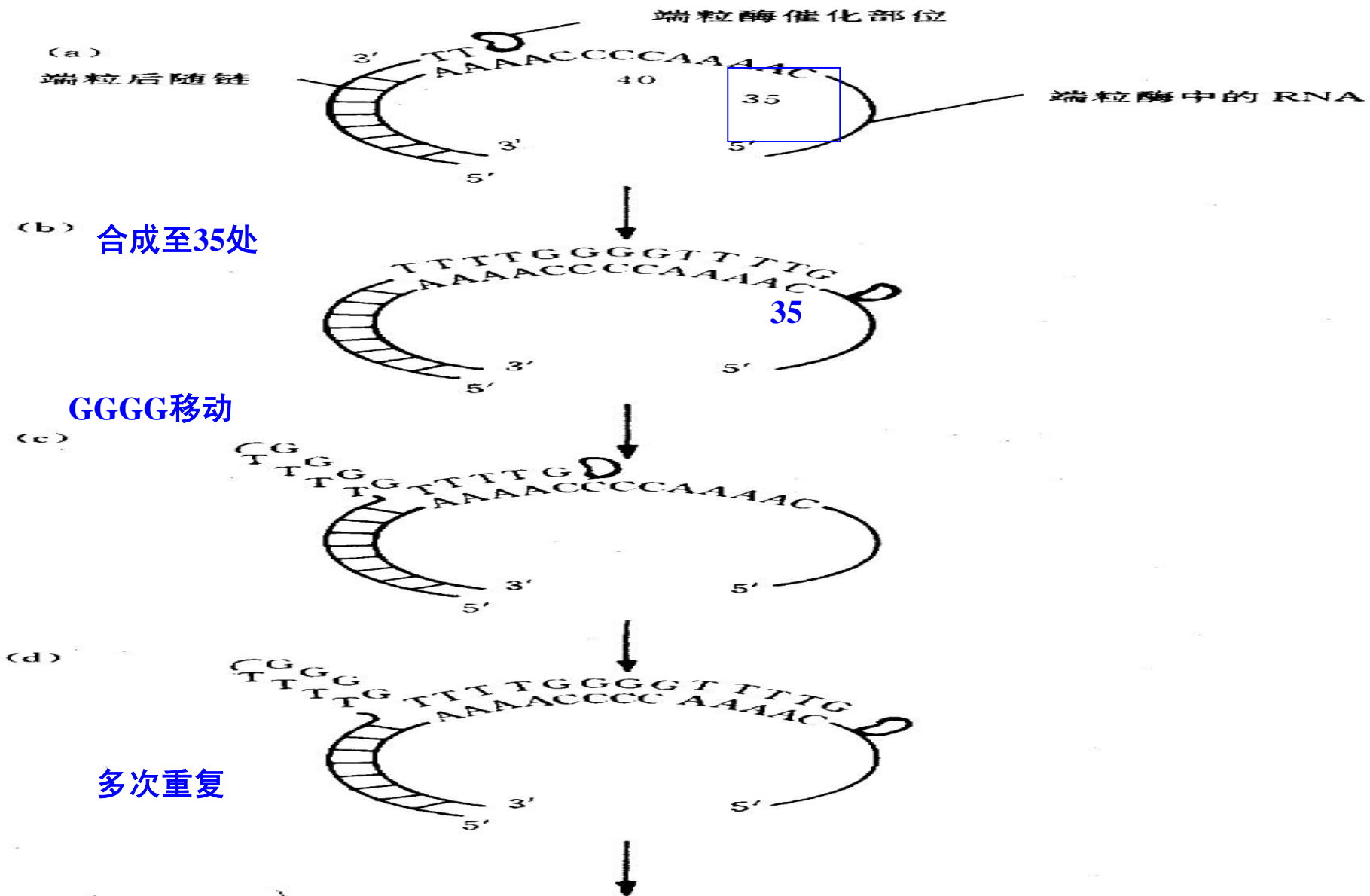
端粒酶中RNA有一段富含C序列，可作为端粒区重复序列延长的模板，与端粒区的重复序列互补。

端粒酶中蛋白部分具有逆转录酶活性，能以自身携带的RNA为模板逆转录合成端粒DNA。

各种物物端粒酶RNA组分序列和长度

生物体	端粒DNA序列	RNA模板区序列	RNA大小 (nt)
四膜虫	TTGGGG	CAACCCCAA	150
整倍体细胞	TTTTGGGG	CAAACCCCAA AA CC	190
棘豆细胞	TTTTGGGG	CAAACCCCAA AA CC	190
人	TTAGGG	CUAACCCU	450
小鼠	TTAGGG	CUAACCCU	450
啤酒酵母	TG (1-3)	CACCACCCACA CAC	130
放线菌	TTTGATTAGGTA TG	UCAAAUCCGUACA CCAC	1300

2. 合成端粒的过程 棘豆细胞



近来发现，染色体端粒DNA的结构，特别是细胞内端粒酶的活性与细胞的生长、繁殖、衰老、凋亡以及肿瘤发生密切相关。

如胚原细胞，端粒酶活性较高，端粒未缩短；而体细胞几乎没有端粒酶活性，随多次细胞分裂端粒逐渐缩短，细胞失去其增殖能力。

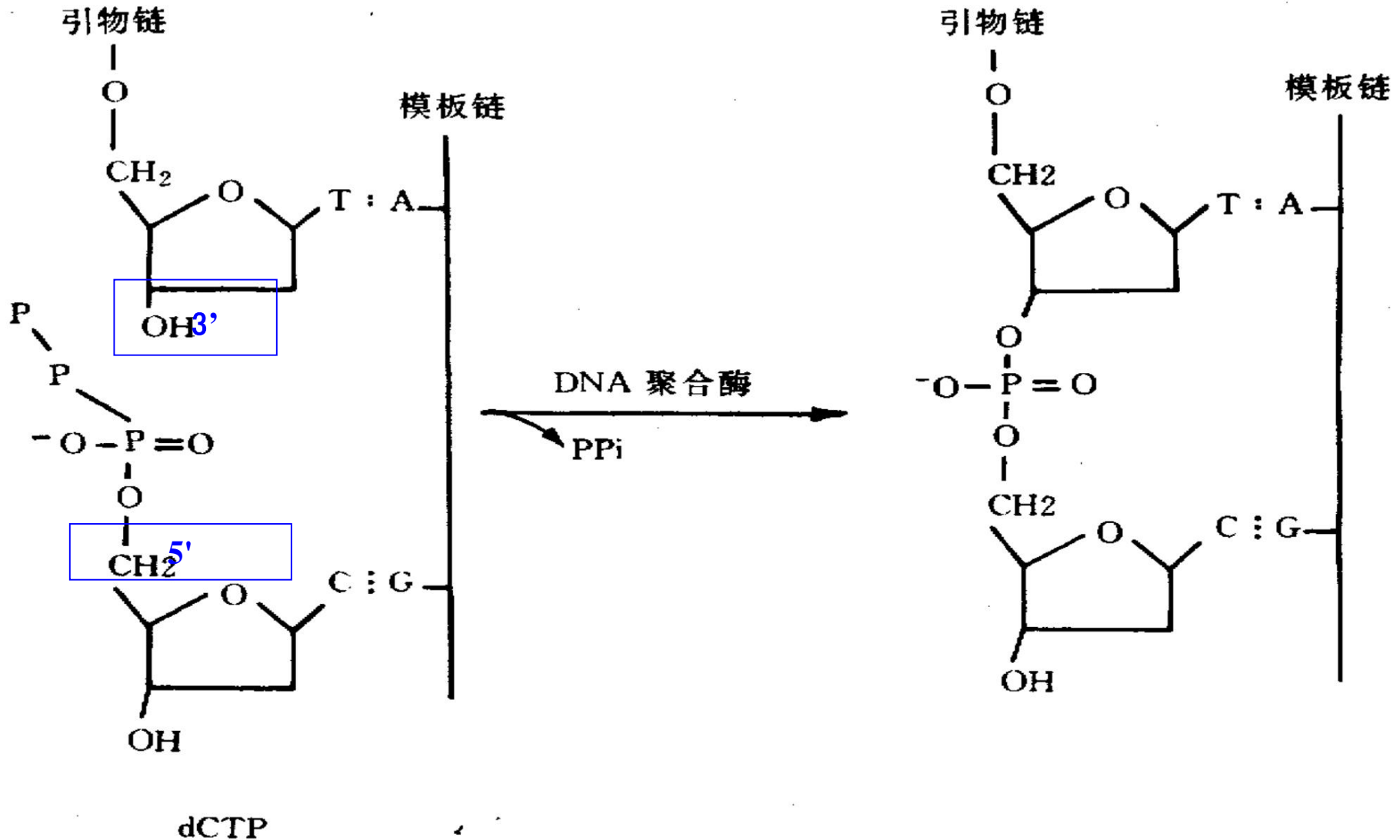
某些肿瘤细胞端粒酶重新获得活性，以维持端粒结构致使染色体稳定，而成为永生细胞。

(六) 参与 DNA 复制的酶类

DNA 复制至少有 20 多种蛋白质参与。

下面讨论参与复制的主要酶和蛋白因子。

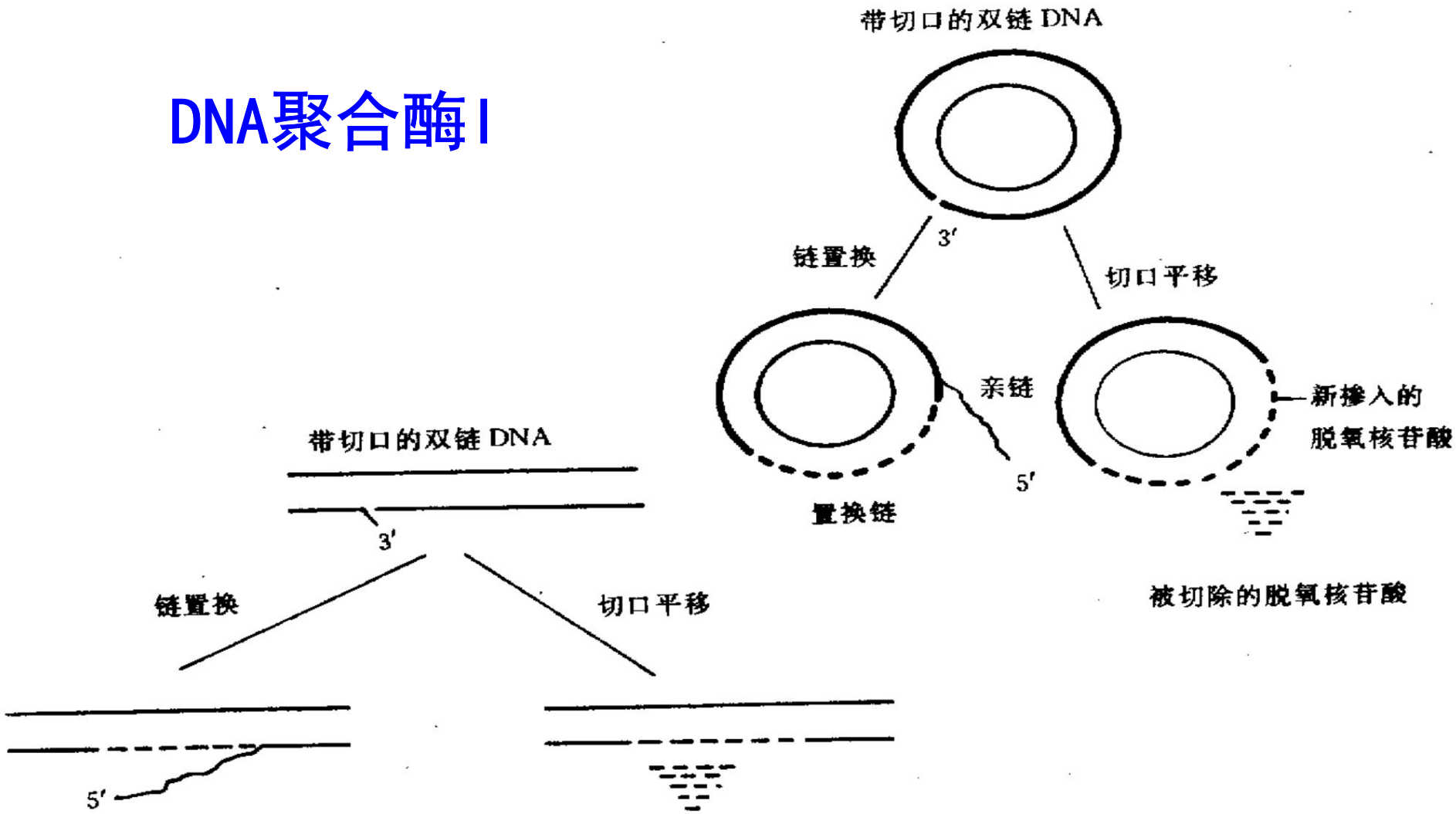
1. DNA 聚合酶 (DNA polymerase)



原核生物 DNA 聚合酶

DNA 聚合酶特性	I	I	II
分子量($\times 10^3$)	109	90~120	>600
5'→3'聚合酶活性	+	+	+
3'→5'外切酶活性	+	+	+
5'→3'外切酶活性	+	-	-
催化效率(bp/分)	600	200	30 000
每个细胞分子数	400	?	10~20
致死突变	+	-	+
功 能	切除 RNA 引物, 补平 空隙, DNA 修复	DNA 修复, 参与 DNA 应急修复	DNA 链延伸反应 应急修复

DNA聚合酶 I



切口平移和 (nick translation) 链置换反应 (strand displacement)

真核生物 DNA 聚合酶

	α	β	χ	δ	ϵ
Mr ($\times 10^3$): 催化亚基	16.5	4.0	14.0	12.5	25.5
相关亚基	7.0(调节亚基)	—	未知	4.8	未知
	5.8~4.8 (引物酶亚基)				
胞内定位	细胞核	细胞核	线粒体	细胞核	细胞核
内在的聚合酶活性	中等	低	高	低	高
PCNA 结合的聚合酶活性	—	—	—	高	—
5' → 3' 外切酶活性 *	+	+	+	+	+
3' → 5' 外切酶活性	—	—	+	+	+
与引物酶结合	+	—	—	—	—
复制的保真性	高	低	高	高	高
对蚜肠霉素(aphidocolin) 的敏感性	+	—	—	+	+
功能	起始引发, 引物酶亚基合成 RNA 引物, 合成冈崎片段	DNA 碱基切除修复	线粒体 DNA 复制	延伸 DNA 链, 核苷酸切除修复	补平引物切除后的空隙, DNA 核苷酸切除修复和重组

2. 真核生物DNA聚合酶附属蛋白

增殖细胞核抗原 (PCNA)

复制因子C (RFC)

引物识别蛋白 (PRP₁和PRP₂)

聚合酶 α 相关因子 (AAF) 等

● **PCNA**: 是DNA pol δ 的附属蛋白, 能极大地促进DNA pol δ 的合成活性。

M_r 为36000。人、大鼠、小鼠、果蝇、酵母等PCNA的氨基酸序列有较高同源性, 结构也相当保守。

PCNA可能是通过RFC和ATP自由结合到引物末端, 或通过ATP非依赖方式滑动到引物末端, 而增强DNA pol δ 的催化效率。

PCNA在DNA的切除修复中也起一定作用。

●RFC : 是一个多亚基复合物, 体外能增强DNA pol α 和 δ 的活性。

因细胞类型的不同, RFC亚基数从3个到7个不等。 M_r 140000的大亚基识别DNA模板-引物, M_r 40000的小亚基结合ATP。

RFC与PCNA结合形成PCNA/RFC引物识别复合物, 此复合物对DNA pol δ 的亲和力 $>$ DNA pol α 。

● PRP₁和PRP₂: 富脯氨酸蛋白质，引物识别蛋白。

M_r 分别为36000和43000，它们降低引物末端的 K_m ，使DNA pol α 与模板-引物末端的亲和力增加20~30倍，从而促进DNA pol α 的活性。

● AAF: α 干扰素激活因子, 一种DNA pol

α -引物酶的活化因子。

由两个亚基组成, M_r 分别为132000和44000。它是一种模板亲和蛋白, 有促进DNA pol α -引物酶利用未经引发的模板。

3. DNA引物酶

大肠杆菌: 引物酶由 *DnaG* 基因编码, 合成的引物是 pppAC (N)_{7-10} (N为任一核苷酸)。

真核生物: 引物酶是由 M_r 为 48000 和 58000 的两个亚基组成的异二聚体, 与 DNA pol α 形成紧密复合物, 合成的引物为 pppA (N)_{10} 。

特点: 是缓慢起始、快速聚合及在 DNA pol α 起始合成 DNA 前准确终止。

4. DNA连接酶

DNA连接酶催化冈崎片段间磷酸二酯键的形成。

DNA连接酶除了可以闭合双链DNA中的单链切口，还可闭合RNA-DNA杂交体双链中的单链切口，但不能闭合双链RNA中的单链切口。

在有过量ATP存在时，T4噬菌体连接酶可连接平头双链

DNA，但大肠杆菌连接酶不能催化这种连接

反应。

5. DNA解旋和解链有关的酶

在双链DNA复制过程中，DNA双螺旋不断解开，由于复制叉的移动速度快（原核生物为1000bp/s，真核生物为100bp/s），复制叉前方产生正超螺旋甚至打结现象，因此，可由一系列DNA解旋解链酶，不断消除产生的正超螺旋。

☞ DNA螺旋酶 (DNA helices) : 也称DNA解旋蛋白 (DNA unwinding protein)

催化双螺旋 DNA的解旋和解链。需水解ATP提供能量 (打开一个AT对约需 $5\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) 。

从大肠杆菌分离得到数种DNA螺旋酶, 分别称为螺旋酶I、II、III和rep蛋白等, 后三者与大肠杆菌DNA复制有关。

☞拓扑异构酶 (topoisomerase)

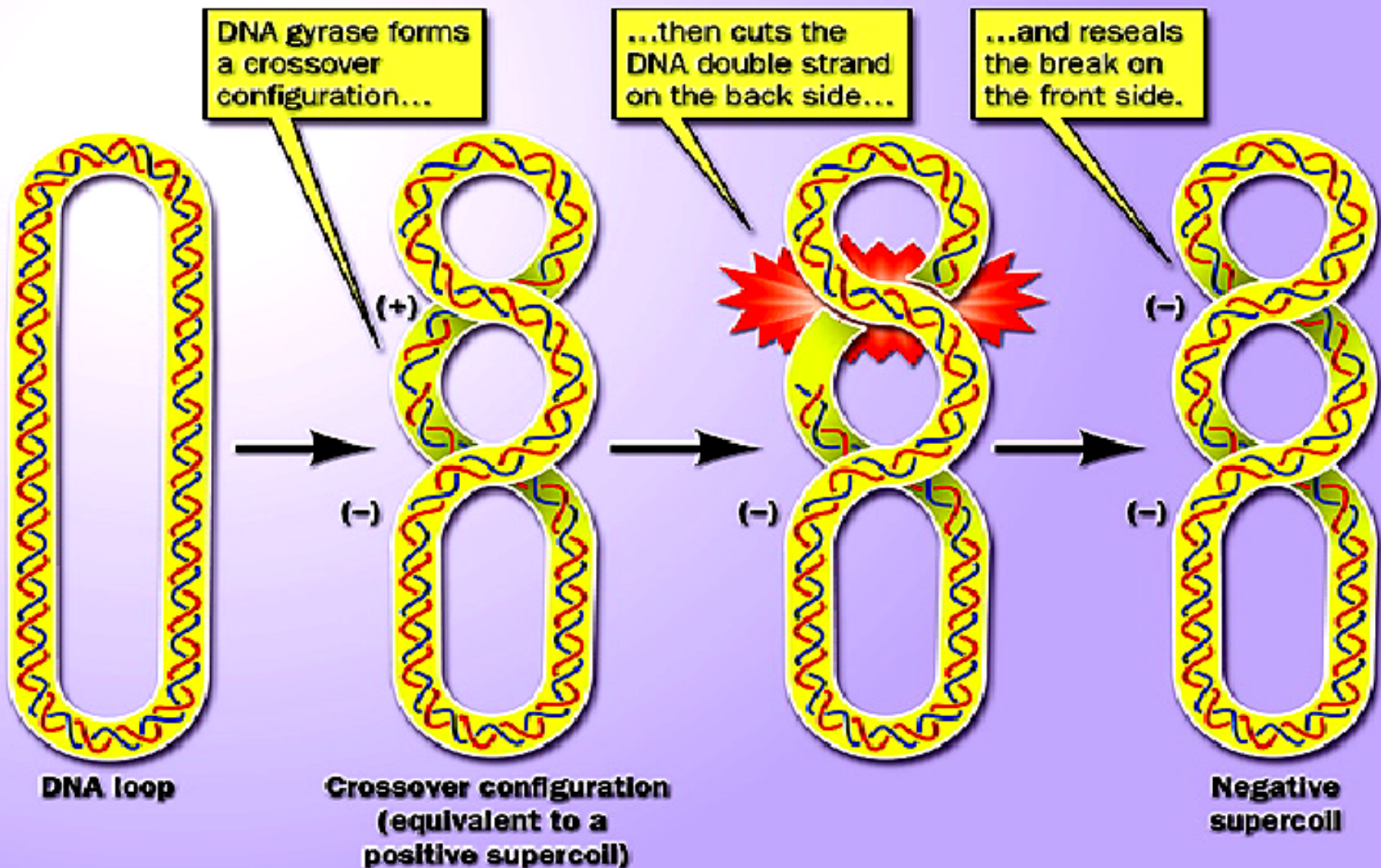
在原核和真核生物中都发现两类拓扑异构酶 (Top I和II)。

原核生物:

Top II, 与复制有关, 又称DNA回旋酶 (DNA gyrase), 旋转酶;

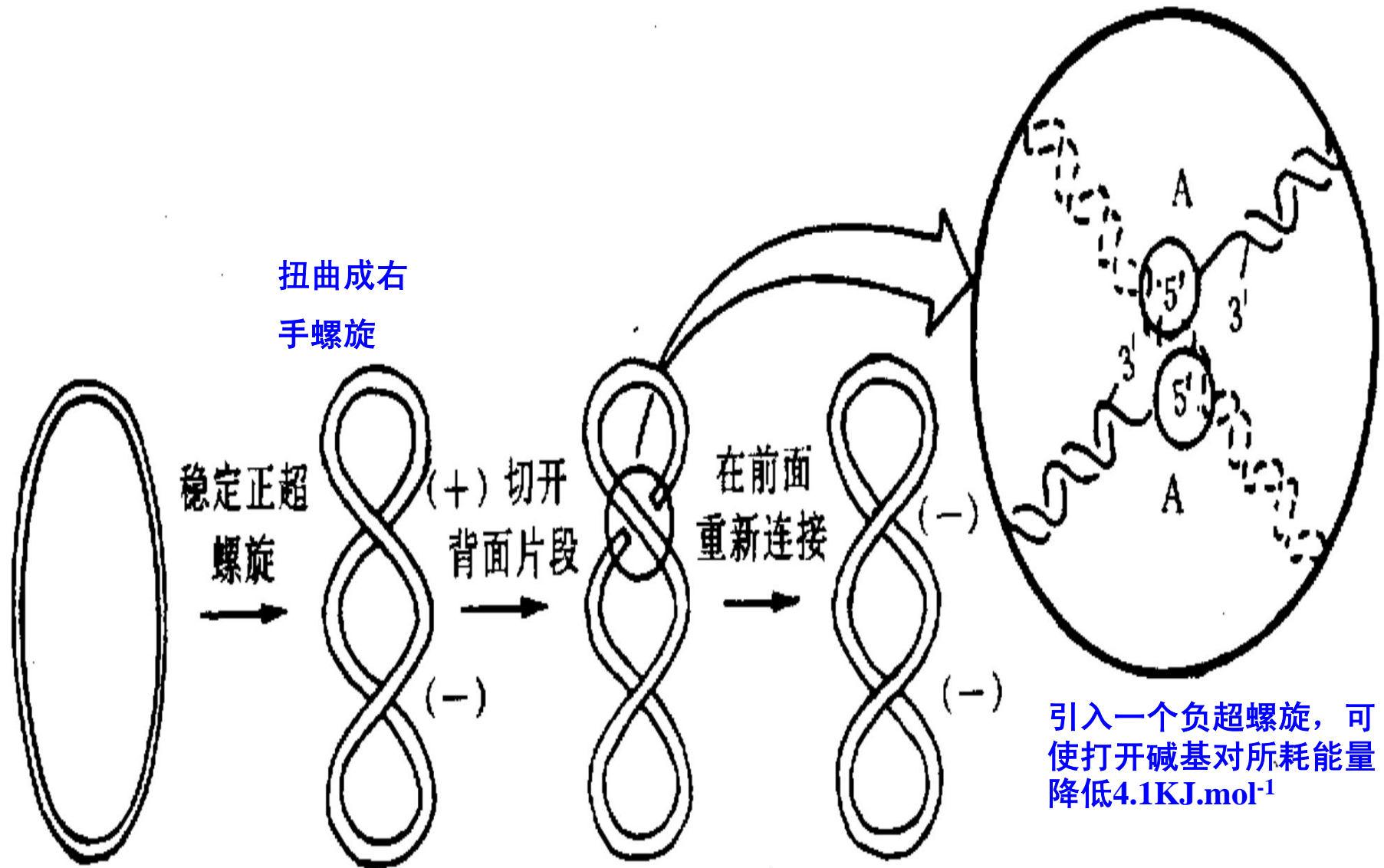
Top I, 与转录有关。

DNA回旋酶的作用是在水解ATP的同时使松弛态环状DNA → 负超螺旋DNA。



DNA 回旋酶使松弛态 DNA 转变为负超螺旋 DNA

DNA回旋酶使松弛态DNA转变为负超螺旋DNA。



真核生物：

Top I 和II均与复制有关。

Top I 不消耗ATP，其酪氨酸残基能与DNA 3'磷酸基团形成共价结合的中间产物，使负或正超螺旋变为松弛态。

Top II 需要ATP供能，不仅参与DNA复制，还促进子代DNA分子的分离。

☞单链结合蛋白（single-strand binding protein, SSB）：

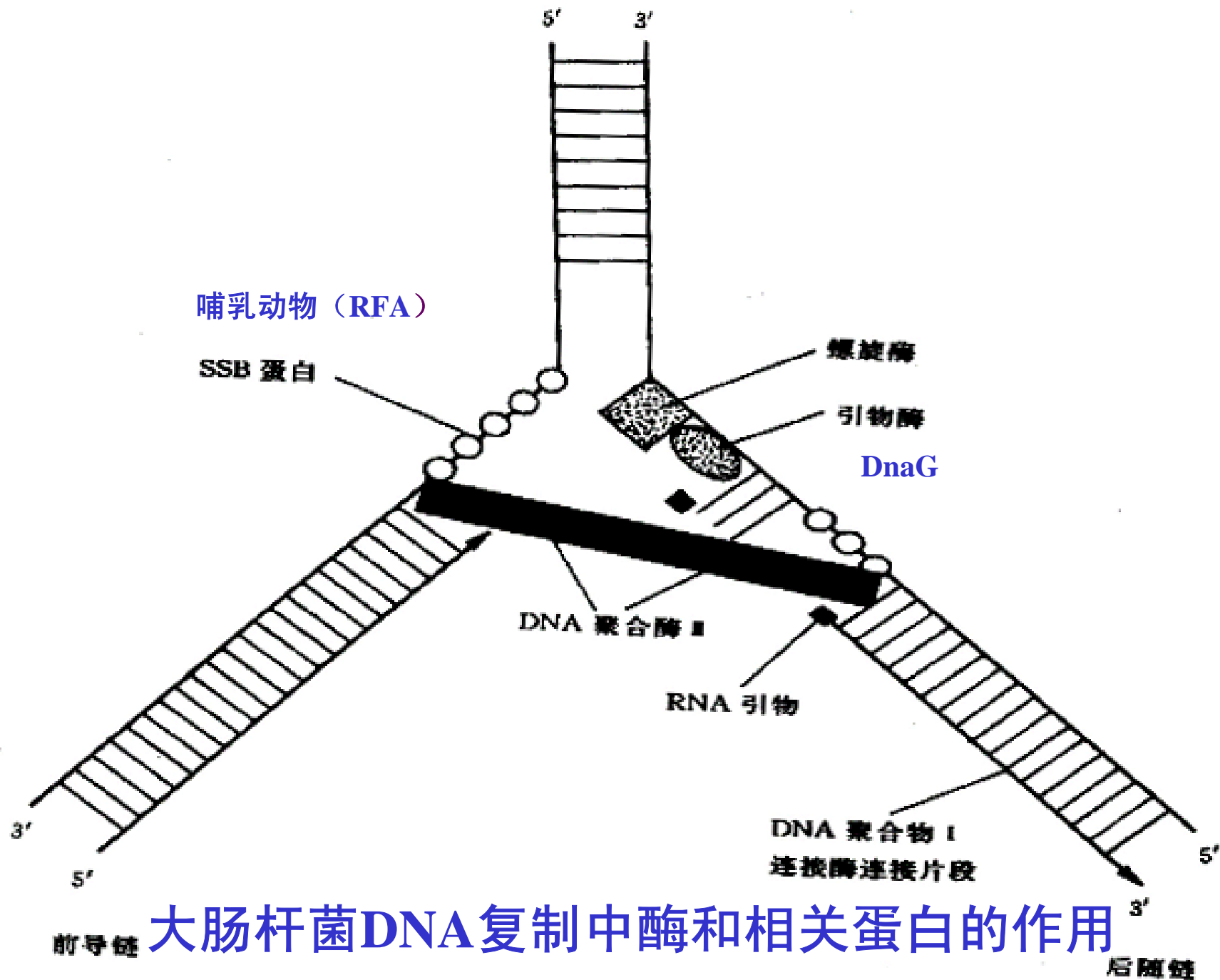
SSB对单链DNA的亲合力极高，但几乎没有序列特异性。

作用是结合单链DNA，刺激DNA聚合酶的活化并与其他复制蛋白形成复合物等。

SSB蛋白是T4噬菌体基因32产物。

哺乳动物单链结合蛋白，称复制因子A

（RFA）



大肠杆菌DNA复制中酶和相关蛋白的作用

前导链

后随链

(七) DNA复制的调控与细胞周期

真核细胞周期分为G1、S、G2、M四期。

细胞能否分裂主要取决细胞能否进入S期，
即是否进行DNA复制。

细胞周期调控主要发生在G1→S和G2→M
这两个关键点上。

调节两个关键点涉及蛋白激酶

对多种蛋白质特殊调节位点的磷

酸化而激活或抑制它们的活性，

以适应其功能需要。

激酶 = 调节亚基 + 催化亚基

调节亚基：称为**细胞周期蛋白**（cyclin），
其浓度随细胞周期而变化；

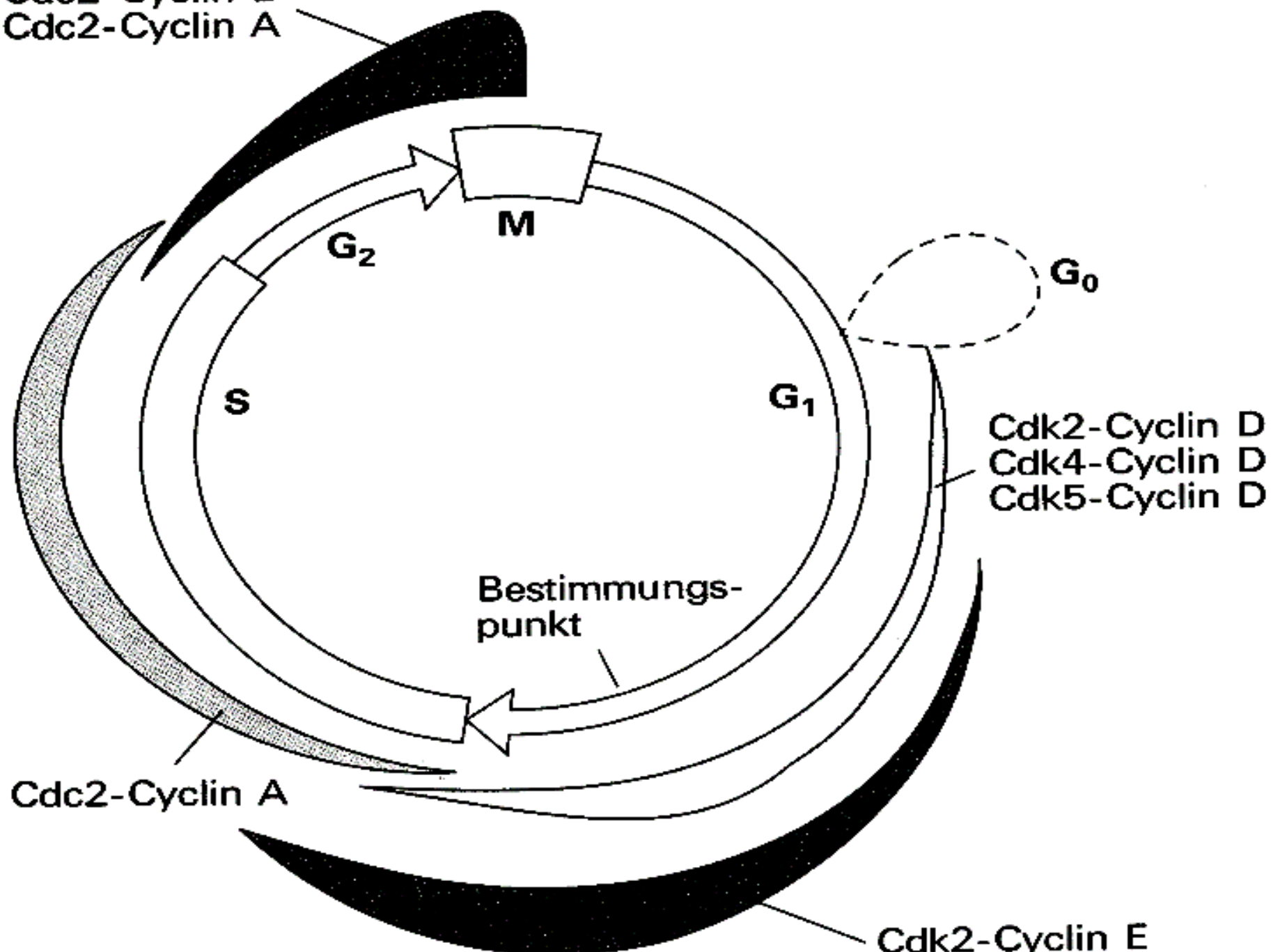
催化亚基：又称**细胞周期蛋白依赖激酶**
（CDK）。

CDK是一个家族，同一CDK可与不同的
周期蛋白相连接以决定不同的蛋白质被磷
酸化。

各种CDK和周期蛋白与细胞周期调控

CDK	相关的周期蛋白	调控点
啤酒酵母细胞		
CKC28	Cln1, Cln2, Cln3	G1→S转变
	Clb1, Clb6	S期
	Clb1, Clb2, Clb3, Clb4	G2→M转变
哺乳动物		
CDK2	周期蛋白D1, D2, D3	G1期
	周期蛋白E	G1→S转变
	周期蛋白A	S期
CDK4	周期蛋白D1, D2, D3	G1期
CDK5	周期蛋白D1, D2, D3	G1期
CDC2 (CDK1)	周期蛋白A, B	G2→M转变

Cdc2-Cyclin B
Cdc2-Cyclin A



Cdk2-Cyclin D
Cdk4-Cyclin D
Cdk5-Cyclin D

Cdc2-Cyclin A

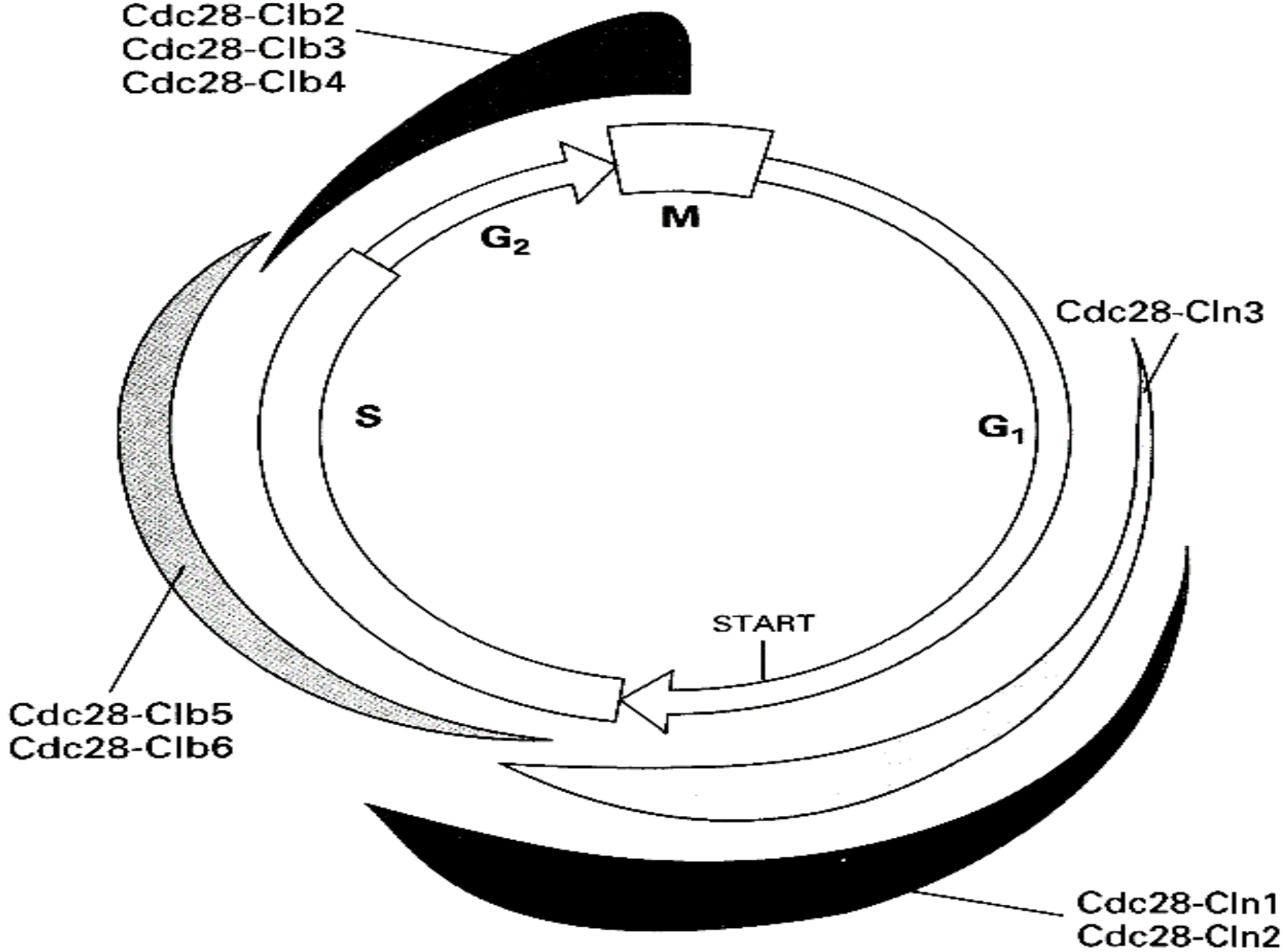
Cdk2-Cyclin E

酵母细胞中的S期启动蛋白（S-phase promoting factor, SPF）：

细胞周期蛋白依赖激酶CDC28 + 周期蛋白G1（包括Cln1、Cln2、Cln3）。

CDC28蛋白由 *cdc28* 基因编码，在温度敏感突变株中，CDC28失活，细胞不能进入S期，DNA不能合成。编码G1蛋白的基因有三个：
cln1、*cln2*、*cln3*。

Cdc28-Clb1
Cdc28-Clb2
Cdc28-Clb3
Cdc28-Clb4



Cdc28-Cln3

START

Cdc28-Cln1
Cdc28-Cln2

Cdc28-Clb5
Cdc28-Clb6

S

G₂

M

G₁

CDK的抑制物:

在哺乳动物体内发现多种CDK的抑制物，它们大都是抑癌基因物。根据其作用方式可分为两类:

- ankynin家族: 包括p15、p18、p19等，抑制CDK4和CDK6的活性。
- 双重特异性家族(dual specificity family): 主要包括P21，广谱抑制CDK活性，还能抑制PCNA的功能。

三、基因突变和 DNA（基因） 的损伤与修复

1. 基因突变

2. 基因的损伤


3. 引起基因突变或损伤的因素

4. 修复


(一) 基因突变

1. 基因突变的分类
2. 突变可能造成的后果
3. 突变引起遗传信息的改变
4. 基因突变的特征

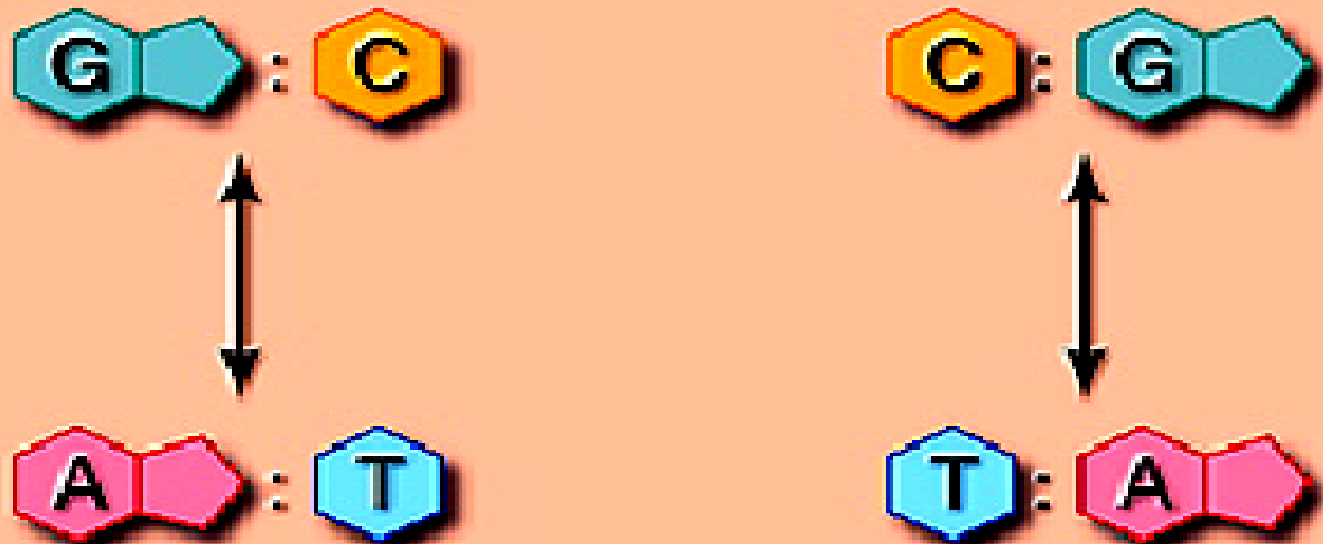
1. 基因突变的分类

 **点突变**: DNA分子中单个碱基的改变。同类碱基之间的取代, 如A被G取代, C被T, 称**转换** (transition)。不同类碱基间的取代, 称**颠换** (transversion)。

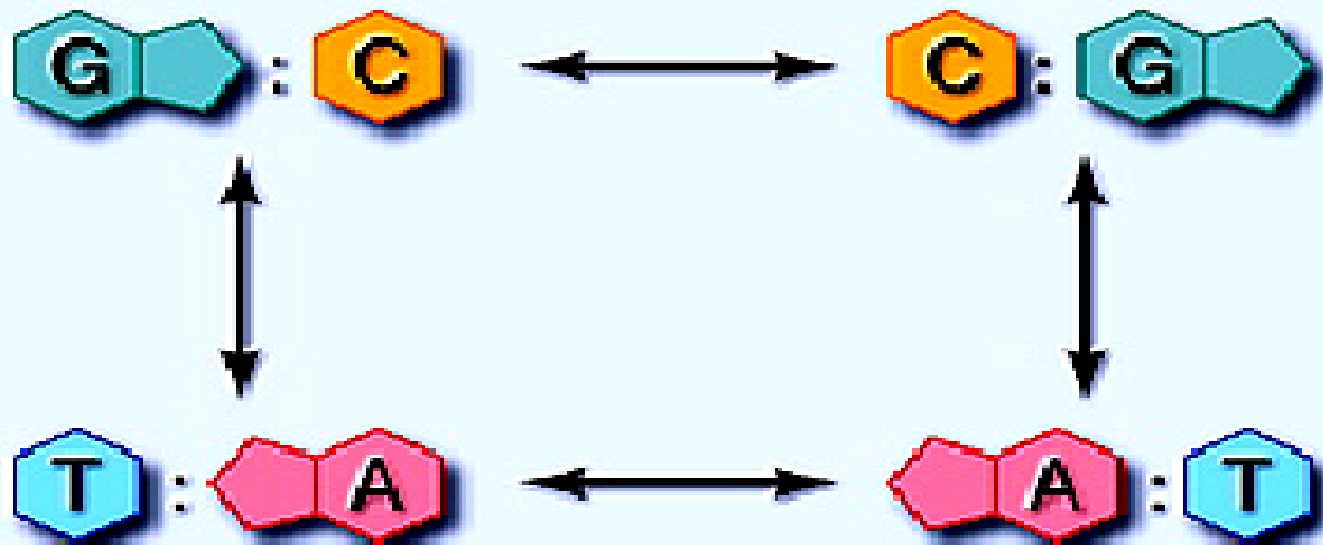
 **碱基的插入突变**: 在DNA的某一位点插入一个或一个以上的碱基。

 **碱基缺失突变**: 在DNA的某一位点缺失一个或一个以上的碱基。

Transitions



Transversions



2. 突变可能造成的后果

- 突变使生物更有利于适应环境。
- 生物体死亡或生命力下降，属致死突变。
- 产生先天性疾病。
- 细胞癌变。
- 不发生任何变化和影响。

3. 突变引起遗传信息的改变

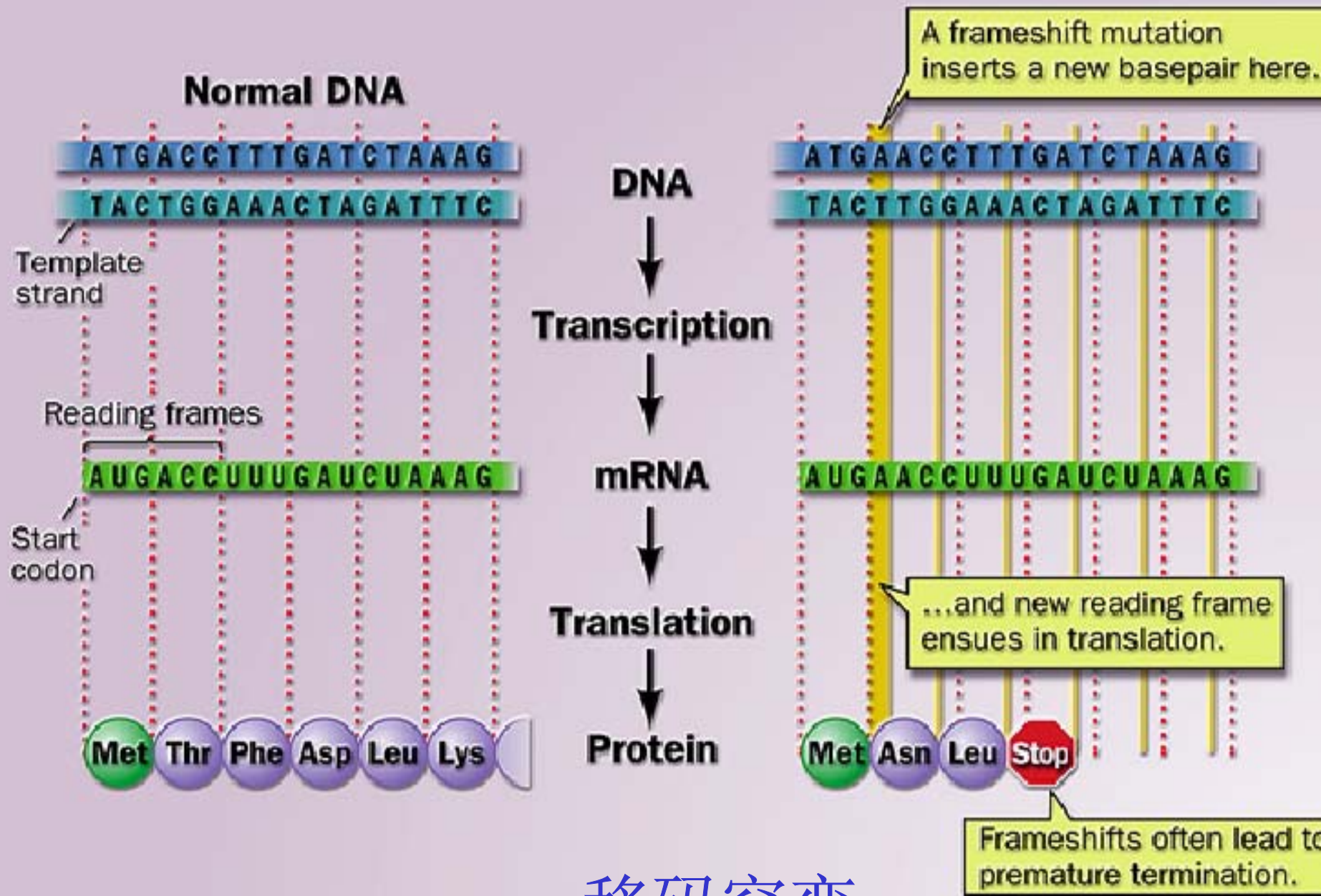
- 突变发生在密码子的第三个碱基，引起同义突变，不改变蛋白质的结构和性质，不发生任何表型的变化。

●发生在密码子第一或第二个碱基，
引起错义突变，氨基酸发生改变，
编码蛋白质的结构和性质发生变化，
蛋白质的功能丧失或改变。

●发生在终止密码，可引起无义突变，使蛋白质合成提前终止，合成不完整、没有功能的蛋白质。

●插入或丢失1个、2个或不是3的倍数的碱基，可发生移码突变。

- 突变发生在基因表达的调控部位，引起基因不表达。
- 突变发生在mRNA前体的加工部位，不能正确进行加工，不能产生有功能的mRNA



移码突变

4. 基因突变的特点

📖 突变以一定的概率随机发生。

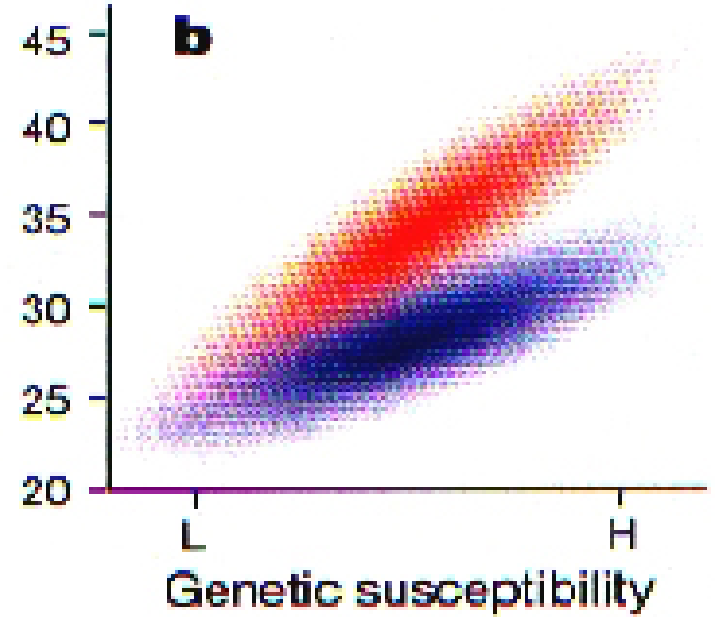
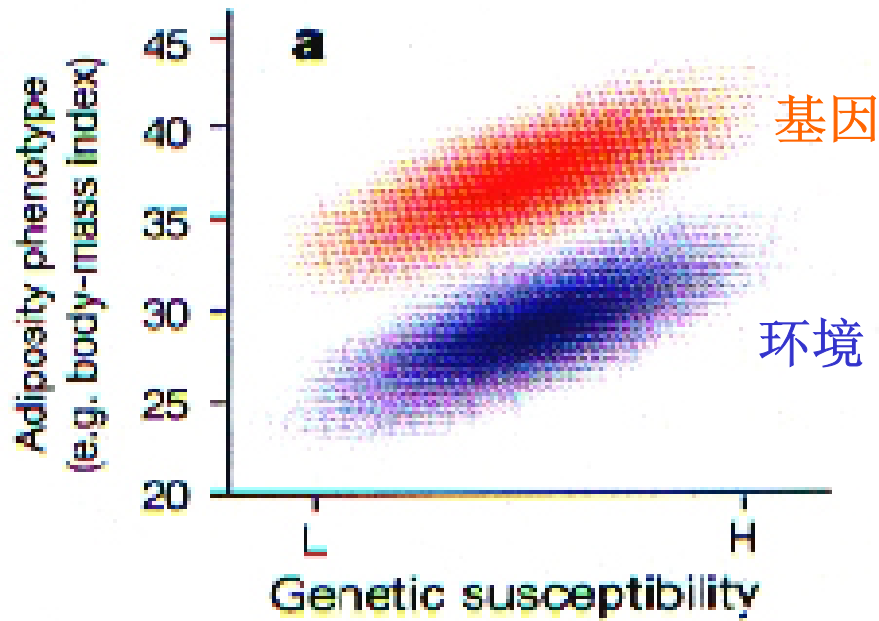
📖 突变有可逆性。

回复突变：突变回复到野生型基因；

性状回复：一个基因突变后，另一种基因生突变，使第一次突变的表型得到纠正，但突变基因仍然存在。

📖 突变的发生率可被外界因素所加强。

📖 突变可以遗传。



颜色的强度表示出现的频率。

A、 环境和基因不互动时，环境因素对肥胖影响较大；而且这种影响与遗传因素无关。

B、 基因与环境互动时，环境因素对遗传的影响具有放大作用

（二）基因（DNA）损伤

使DNA结构和功能发生改变，称DNA损伤。

- ♠ 碱基损伤：形成嘧啶二聚体，碱基修饰，碱基脱氨基，烷基化，脱碱基等。
- ♠ DNA链断裂：单链断裂、双链断裂。

(三) 引起基因突变或损伤的因素

1. 物理因素

紫外线： DNA链上两个相邻的**胸腺**

嘧啶形成二聚体。使DNA的结构发生改 变

，阻止DNA的复制和转录。

电离辐射： X 、 α 、 β 、 γ 射线的

电离辐射引起DNA结构的损伤。

包括主链断裂，碱基聚合，糖苷

链断裂等。

2. 化学因素

烷化剂：烷基硫酸酯类，烷基碳酸酯类，亚硝基化合物类，环氧化合物类，重氮化合物类和氮芥类等。与DNA碱基反应，生成7-烷基化鸟嘌呤和3-烷基化腺嘌呤等。在DNA复制时，引起碱基配对错误。

核苷酸类似物：如5-溴尿嘧啶
引起碱基置换突变。

代谢活性物质：如苯并芘、黄
曲霉素、活性氧离子 (reactive
oxygen species, ROS)

3. 生物因素：

病毒感染、质粒转移、基因重组、转座子的转位等都可能使DNA发生改变，引起基因突变。

4. 自发损伤或突变：

碱基错配、碱基的互变异构、自发脱氨基。

(四) 修复

1. 直接修复
2. 碱基切除修基
3. 核苷酸切除修复

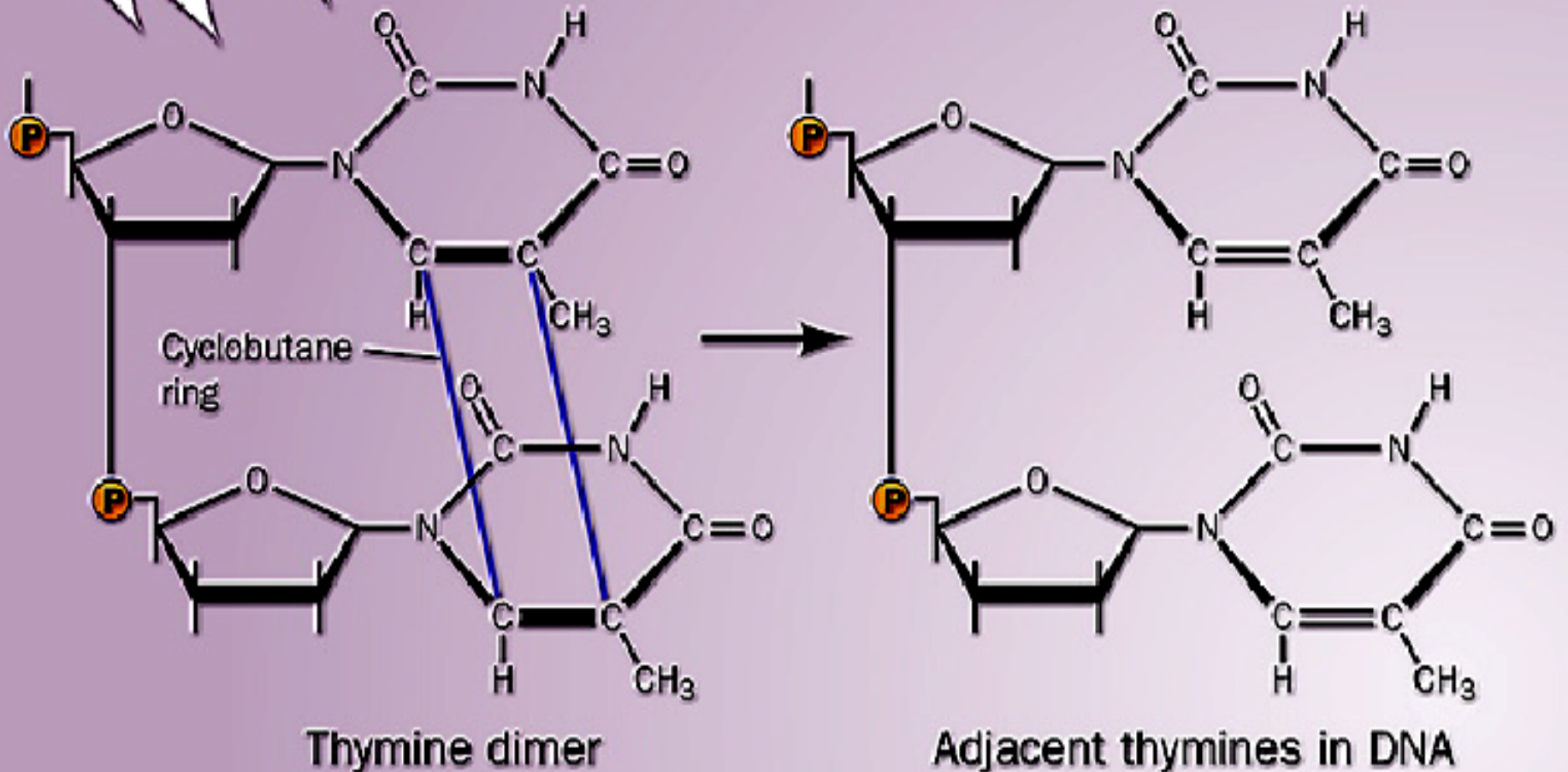
1. 直接修复

光复活修复 (photoreactivation repair)：光修复酶结合到嘧啶二聚体上，吸收光子，通过电子转移，使环断开。

主要存在大肠杆菌、酵母、植物、昆虫、鸟类、鱼类等生物中。不存在于人体内。

White light and
photolyase

光复活修复



烷基转移： O^6 -甲基鸟嘌呤DNA甲基转移

酶是一种自杀性酶，它将 O^6 -甲基

鸟嘌呤的甲基转移到酶自身的半

胱氨酸残基上，从而修复DNA。

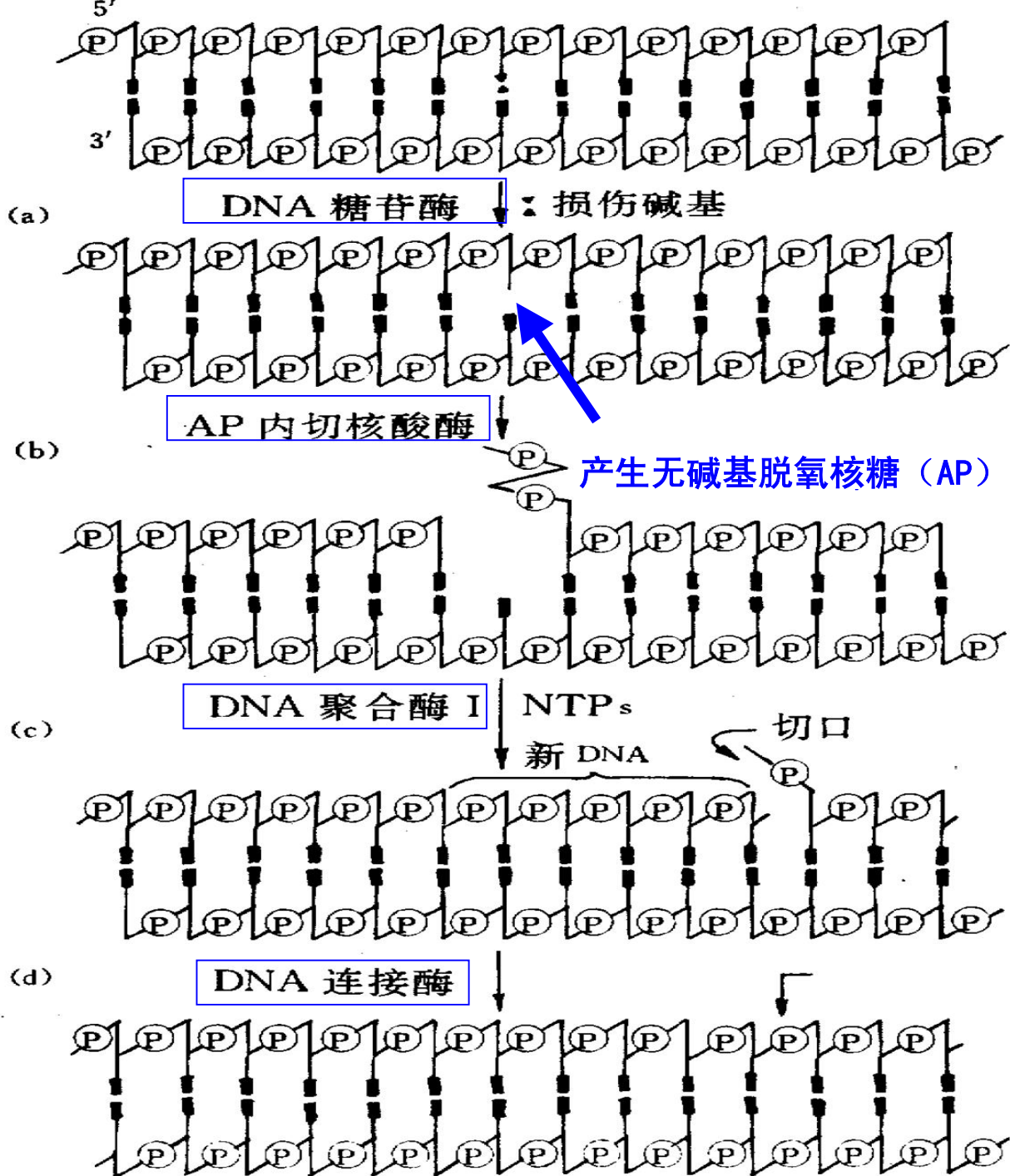
2. 碱基切除修复

修复小段DNA（3-4nt）的损伤，如烷化剂、氧化和电离辐射损伤等。

有DNA糖苷酶、AP内切核酸酶、DNA聚合酶和连接酶参与。

着色性干皮病（Xeroderma pigmentosa）是一种遗传病，患者对日光和紫外线敏感，表皮细胞缺乏碱基切除修复相关的酶。

碱基切除修复模式



人类细胞5种DNA糖苷酶：

尿嘧啶DNA糖苷酶；

羟甲基尿嘧啶DNA糖苷酶；

胸腺嘧啶二乙醇DNA糖苷酶；

N-甲基嘌呤DNA糖苷酶；

8-羟基鸟嘌呤DNA糖苷酶。

一种AP内切核酸酶：

功能是切开AP位点两侧的磷酸二酯键，除去无碱基脱氧核糖。

已发现两类AP内切核酸酶：

酶I切开AP位点3'侧的磷酸二酯键（人缺）；

酶II切开AP位点5'侧的磷酸二酯键。

3. 核苷酸切除修复

大段DNA损伤修复系统，也能修复直接修复和碱基切除修复所能修复的损伤。

修复机制：ATP依赖的切除核酸酶

(excinuclease) 切割损伤部位两侧的

磷酸二酯键，除去损伤的寡核苷酸。

3'侧的切割位点：大肠杆菌、人细胞都

是在损伤部位的3'侧第5个磷酸

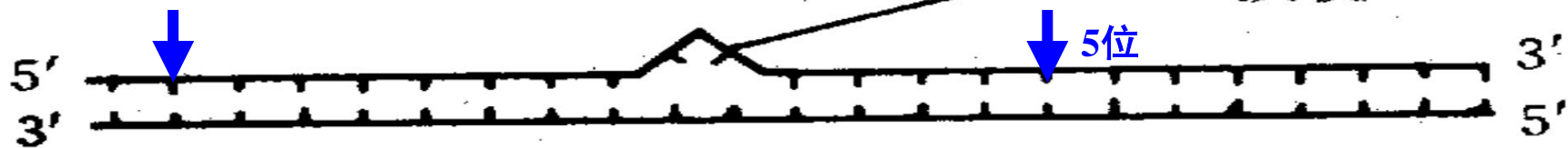
二酯键，

5'侧的切割位点：大肠杆菌是第8个，而

人细胞是第24个磷酸二酯键。

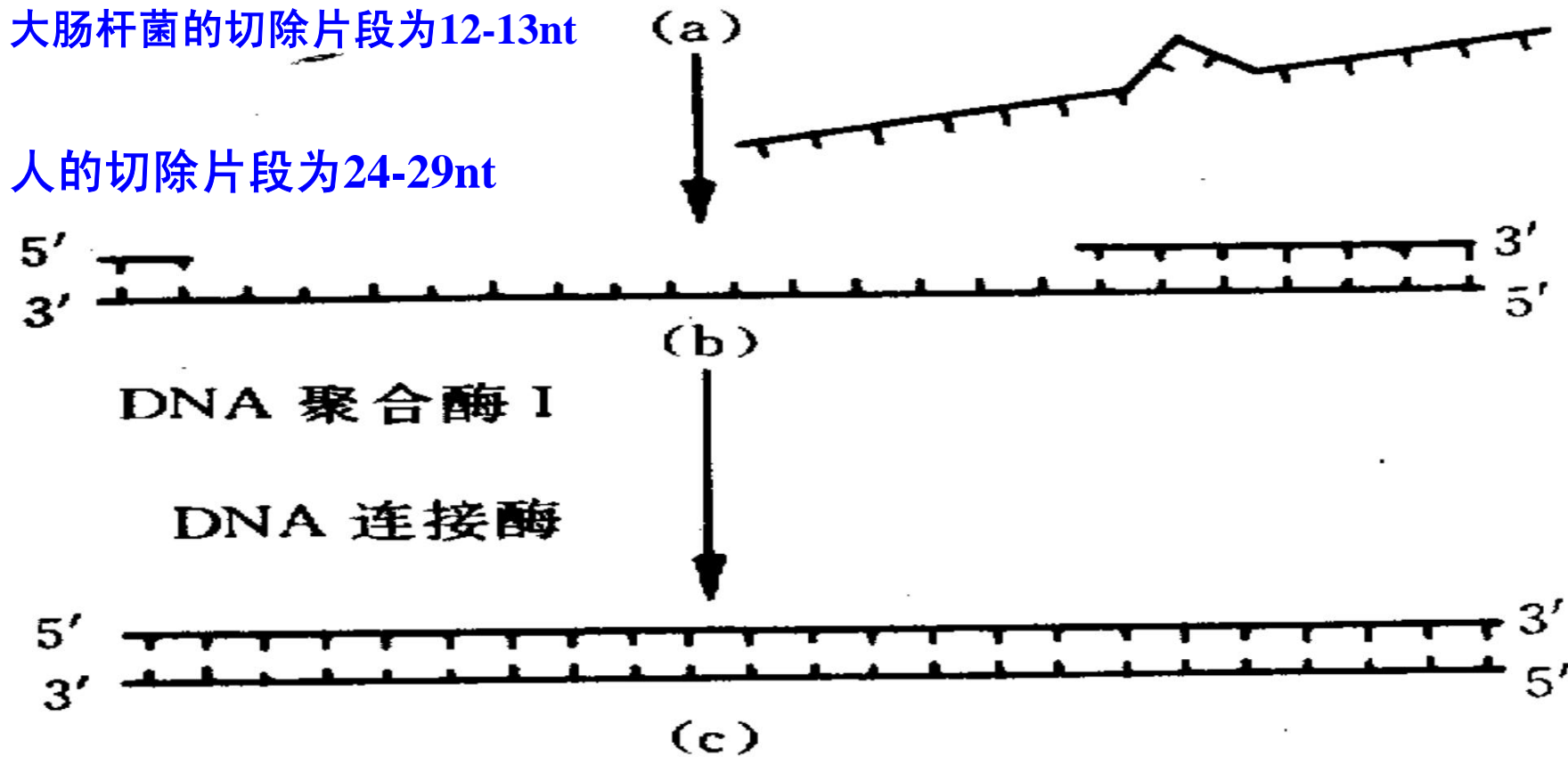
切除核酸酶

8 or 24 结合到 DNA



大肠杆菌的切除片段为12-13nt

人的切除片段为24-29nt



核苷酸切除修复模式

切除核酸酶：

大肠杆菌3个亚基，

人体内的酶是16个亚基；

人修复合成需要PCNA.

RFC/PCNA复合物有两个功能：

📞将切除产物复合物解离下来；

📞把DNA聚合酶装到DNA上。

还有多种修复机制，如复制后修复，交联修复，双链切口修复等。