

DNA损伤与修复

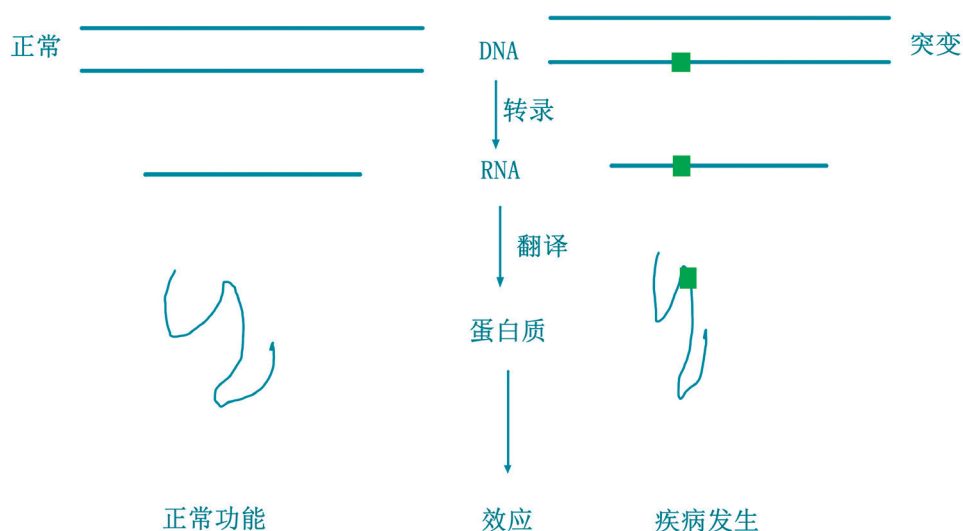
——2015年诺贝尔化学奖解读

撰文·供图 郭晓强

2015年，诺贝尔化学奖由三位在“DNA修复机制”研究领域做出卓越贡献的科学家分享，他们是英国弗朗西斯克里克研究所荣誉所长林达尔（Tomas Robert Lindahl）、杜克大学医学院生物化学教授和霍华德休斯医学研究所研究员莫德里奇（Paul Lawrence Modrich）、美国北卡罗来纳大学医学院生物化学和生物物理学讲座教授桑贾尔（Aziz Sancar）。

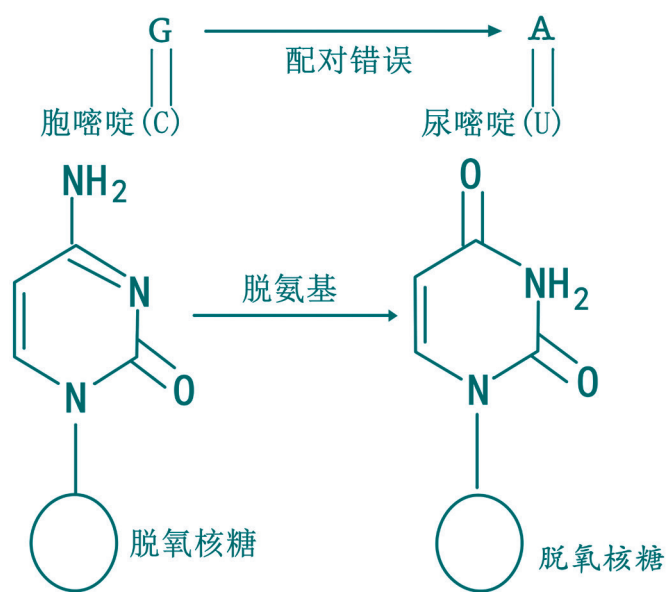
DNA:一种“脆弱”并“坚强”的分子

DNA是遗传信息载体，所携带信息由组成它的四种碱基A、G、C和T排列顺序（亦称DNA一级结构）决定，这些信息决定了生命体生、老、病、死等多种命运，因此DNA结构稳定性具有十分重要的作用。然而，DNA结构稳定性是个相对概念，细



DNA突变的后果

胞内DNA每时每刻都在面临着内外多重因素的威胁，包括内部碱基自身不稳定性、代谢产生的自由基、复制本身的相对精确性等，而外部因素则有紫外线、电离辐射、烷化剂等。这些不稳定因素使DNA非常容易出现损伤而引发基因变异。根据克里克的中心法则，遗传信息从DNA通过“转录”到RNA，再通过“翻译”到蛋白质，随后执行相应的生理功能。因此DNA的基因变异可引起相应RNA变化，进一步导致蛋白质序列改变而影响生物学功能，引发疾病发生。虽然基因变异是物种进化的推动力，但只允许出现有限数量的突变，过多突变引发的遗传不稳定将对物种产生毁灭性后果。现实情况是尽管多种损伤因素存在，但机体内DNA结构却出奇稳定，从而暗示存在一整套完整、精细的DNA修复系统。



胞嘧啶 (C) 变为尿嘧啶 (U) 过程 (C 上的 “NH₂” 可被脱去产生 “O” 而变为 U)

碱基切除修复 (base excision repair, BER)

1. 损伤原因

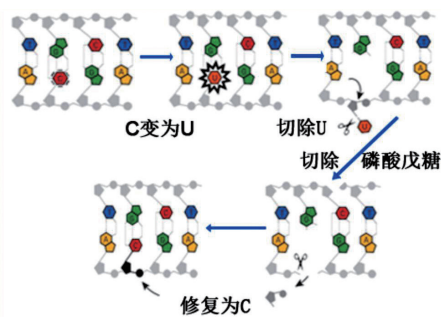
在自然界中，部分碱基容易自发化学反应而造成碱基类型和配对模式改变，从而引起突变发生。以胞嘧啶（C）为例，它非常容易发生脱氨基反应变为尿嘧啶（U），这种变化造成原来C-G配对而变成U-A配对。当细胞复制后可引发DNA突变，而如果该碱基处于关键位置，将产生更为严重后果。

2. 修复机制

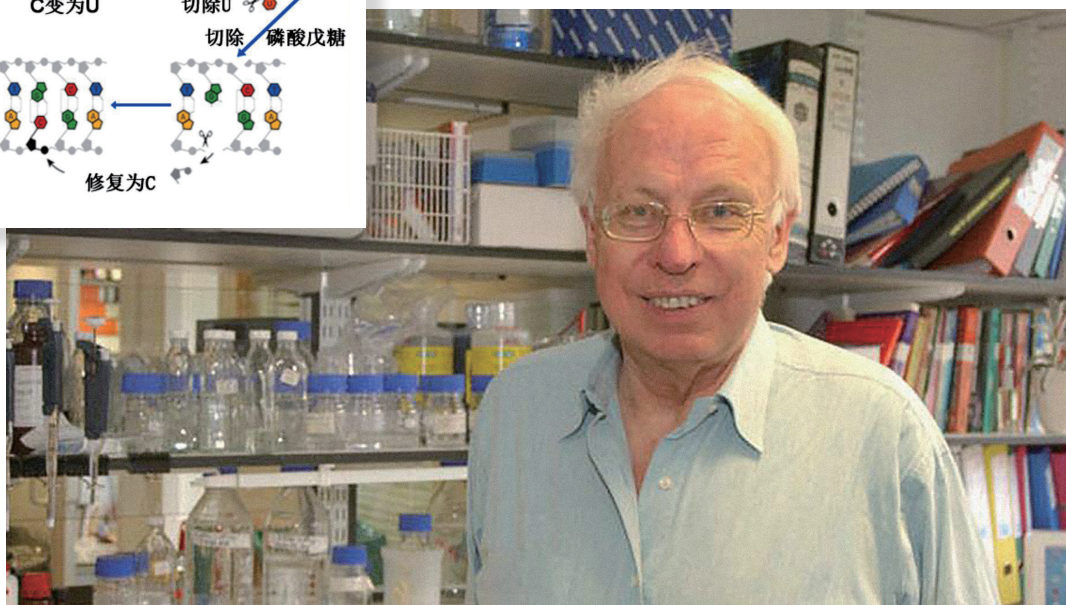
20世纪60年代末，从瑞典卡罗林斯卡医学院完成医学培训后，偏爱基础研究的林达尔决定探索DNA修复背后隐藏的神秘原因，因为他坚信细胞内必定存在一种机制可保证DNA稳定性。林达尔研究的是C脱氨基修复过程，该过程的关键是机体如何识别出C变为U而将其纠正。经过几年艰

苦卓越的寻找，功夫不负有心人，林达尔最终于1974年发现尿嘧啶-DNA糖基化酶（uracil-DNA glycosylase, UNG）。这是一种可特异性识别DNA中碱基U并将其切除的酶，随后研究人员又发现一系列特异性DNA糖基化酶（完成其他错误碱基的识别和切除），从而确定机体内存在一个全新的修复系统。林达尔开始深入研究糖基化酶如何完成碱基修复过程，经过近20年研究，终于于1994年在体外首先完成大肠杆菌的碱基修复过程，两年后又完成人的体外碱基修复。这两个进展具有非常重要的意义，因为它直接模拟了机体内的生物学过程。

以切除错误碱基U为例了解BER过程。首先，糖基化酶UNG需要在DNA双链众多碱基中寻找错误的U（U只存在于RNA，正常DNA不存在，因此将其作为“异物”看待），发现U后将其从DNA双螺旋内部翻转到链外，糖基化酶将碱基U和脱氧核



林达尔与BER

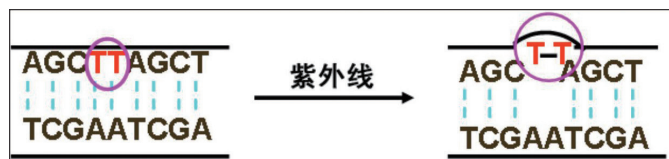


糖之间的糖苷键断裂而去除碱基U（整个过程最关键一步），剩下一个无碱基位点（apurinic/aprimidnic site, AP site）；随后，再被AP位点核酸内切酶及其他酶辅助催化去掉脱氧核糖骨架而出现单核苷酸缺口；接下来，DNA聚合酶根据模板信息G将缺失位置填补上正确碱基C；最终，DNA连接酶负责形成完整双链。由于这种系统首先切除的是碱基，故得名。

核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER)

1. 损伤原因

1960年，科学家发现一定剂量紫外线照射可造成细菌DNA两个相邻碱基TT自身共价相连形成二聚体，这种二聚体的存在可破坏DNA双螺旋结构，造成DNA复制过程中碱基错配甚至碱基缺失，细菌出现死亡。后来发现用可见光（光修复）或未照射过紫

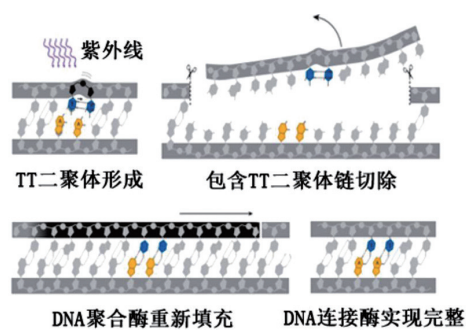


紫外线诱导TT二聚体（紫外线造成两个T形成二聚体，从而引发突变）

外线细菌裂解液（暗修复）处理则可恢复正常，但对这种现象的详细机制缺乏理解。

2. 修复机制

桑贾尔最初的梦想是成为一名医生，但在大学接触生物化学后而决定成为一名生物化学家。20世纪70年代，桑贾尔开始了美国的追梦之旅，其导师当时正在研究DNA修复过程，很早就对此具有浓厚兴趣的桑贾尔正式开始自己的学术生涯。1976年，桑贾尔成功鉴定了光修复酶（photolyase），从而完成在该领域的小试牛刀（后来桑贾尔还阐明了光修复的详细机制），随后将大部分精力投入暗修复系



桑贾尔与NER



统。早在1966年，研究人员借助紫外线敏感菌株证实三个基因UvrA、UvrB和UvrC对保证减少DNA损伤具有重要意义，从而奠定该系统的研究基础，但三个基因的具体机制却一直不详。1981年，在耶鲁大学担任技术员的桑贾尔完成三种蛋白UvrA、UvrB和UvrC的纯化，不久还在体外首次实现大肠杆菌三种蛋白UvrABC核酸内切酶重建，并证实该系统可实现对核苷酸的切除修复。1995年，桑贾尔进一步实现人类似的体外核苷酸切除过程，证明该系统具有较高保守性。

目前，对核苷酸切除修复过程已有较为清晰的理解，以细菌TT二聚体切除为例：首先，2个UvrA亚基和1个UvrB亚基形成三元复合物，沿双链DNA滑动以寻找损伤位点；待UvrA特异性识别TT二聚体之后，可激活UvrB解旋酶活性，从而使损伤部位局部结构松散；随后1个UvrC亚基代替2个UvrA亚基，启动损伤位置前后各一段距离的精确内切而去除12~13个核苷酸长度的片段；最后再由DNA聚合酶和连接酶催化完成空缺填补。

碱基错配修复 (DNA mismatch repair, MMR)

1. 损伤原因

尽管复制过程中DNA聚合酶具有较高保真度，但无法做到百分之百正确，总会在工作过程中出现“微小”的差错。DNA



DNA的碱基错配（DNA复制过程中偶尔出现A与C错配，由于携带甲基“M”，因此那条带有A的链为模板链，被认定为正确，因此切除另条链相应的C）

聚合酶本身的校对功能使错配频率降低到 5×10^{-5} ，但在碱基总体数量较大前提下，如人基因组有30亿对碱基，这个数量也不容小视，因此细胞还需二次校对系统的存在以保证将错配率降到最低。

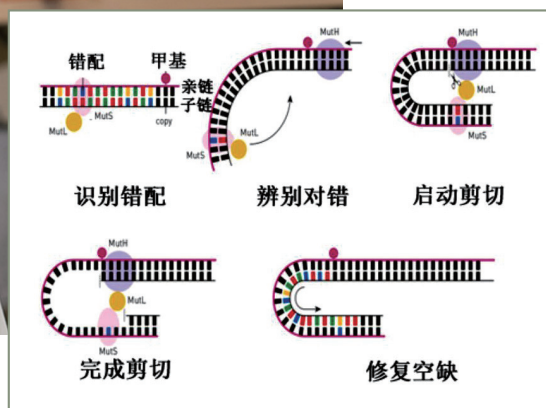
2. 修复机制

1963年，出生于美国新墨西哥州的17岁少年莫德里奇听父亲谈及DNA的重要性，而那一年恰是提出DNA双螺旋模型的沃森-克里克获诺贝尔生理学或医学奖的第二天，自此开始，莫德里奇就对DNA产生痴迷，并最终将DNA修复机制研究作为自己的科研方向。碱基错配修复系统最早在肺炎球菌中发现，随后在大肠杆菌中鉴定出多种基因与此相关。这些基因失活导致细菌突变率显著增加，因此将这些基因称为“Mut”基因（突变的前三个字母），最关键三个基因是MutS、MutH和MutL，但基因具体功能未知。1976年，发现正常情况下大肠杆菌不复制时的DNA两条链在GATC位点均存在甲基化，但在DNA复制过程中，新生的子代链一般不甲基化，只有亲代链甲基化，这一差别成为区分DNA复制过程亲代链与子代链的重要标志。同一年，分子生物学家马修·梅塞尔森（Matthew Meselson）小组发现，碱基错配修复过程中，修复基本只在一条链完成。1983年，莫德里奇等进一步确定GATC位点甲基化是碱基错配修复的重要识别标志，从而保证只修复子代链而不影响亲代链。借助高超实验技巧，莫德里奇先后纯化三种大肠杆菌错配修复相关基因产物MutS、MutH和MutL，最终于1989年在体外完成大肠杆菌碱基错配修复系统的重建。2004年，莫德里奇进一步在体外实现人碱基错配修复，并证明该系统保守性。

细菌DNA错配修复机制基本过程为：首要关键问题是两个配对碱基中那个错误，机体认定模板链上碱基正确，而新生链上



莫德里奇与MMR



对应碱基错误，因此区分模板链和新生链为最重要的第一步，细菌的MutH和模板链DNA甲基化GATC位点结合（选定正确标准），而MutS识别错配位置；第二步，MutL负责将MutH和MutS拉近形成一个三元复合物，从而激活MutH核酸内切酶活性，在靠近甲基化位点将新生链DNA切开，随后招募解螺旋酶从切口位置向错配位点移动而将双链解开，待跨过错配碱基位置后将子代链切除；最后亦由DNA聚合酶和连接酶催化完成空缺填补。

研究意义

和物理领域拥有相对论类似，生命科学领域拥有DNA中心论（也称为碱基论）。碱基论两条前提为：碱基顺序（A、G、C和T的排列），互补配对（AT配对和GC配对）。因此，DNA结构完整性（包括顺序和配对两种前提的准确无误）是生命

稳定得以维持的基础（突变造成的物种进化仅仅是小概率事件），而DNA修复系统无疑是一种至关重要的错误纠正机制（最大程度地减少突变），重要性显而易见。2015年诺贝尔化学奖授予在这一领域做出卓越贡献的三位科学家也是实至名归。这项发现的重要性一方面体现在深化对生命系统稳定遗传机制的理解和认识，另一方面也为部分疾病治疗带来新的希望。DNA修复系统的缺失或功能下降导致DNA损伤逐渐增加，引起编码基因突变、基因组不稳定等后果，最终出现衰老或癌症，如黑色素瘤、结肠癌等均已发现与DNA修复缺陷相关。通过设计特定药物增加细胞DNA修复能力而减少DNA损伤有望成为癌症治疗新思路，但从基础研究到最终临床应用仍有很长的路要走。

（责编 桑新华）