

第十一章 DNA复制

DNA复制

- 1 DNA复制的一般特征
- 2 参与复制的主要酶和蛋白质
- 3 DNA复制的详细机制
- 4 DNA损伤、修复和突变



DNA复制的一般特征



中心法则图解

核酸生物合成的一般规则

- ❖ 绝大多数细胞核酸的合成，都是按照Watson-Crick碱基互补的原则，通过拷贝预先存在的DNA链（模板链）来产生

- ✦ **复制**：以亲代DNA或RNA为模板，根据碱基配对原则，合成与亲代相同的子代DNA或RNA的过程
- ✦ **转录**：以DNA为模板，按照碱基配对原则合成RNA，即将DNA所含的遗传信息传给RNA，形成一条与DNA链互补的RNA的过程
- ✦ **翻译**：也叫转译，以mRNA为模板，将mRNA的密码解读成蛋白质氨基酸序列的过程
- ✦ **逆转录**：以RNA为模板，在逆转录酶的作用下，生成DNA的过程



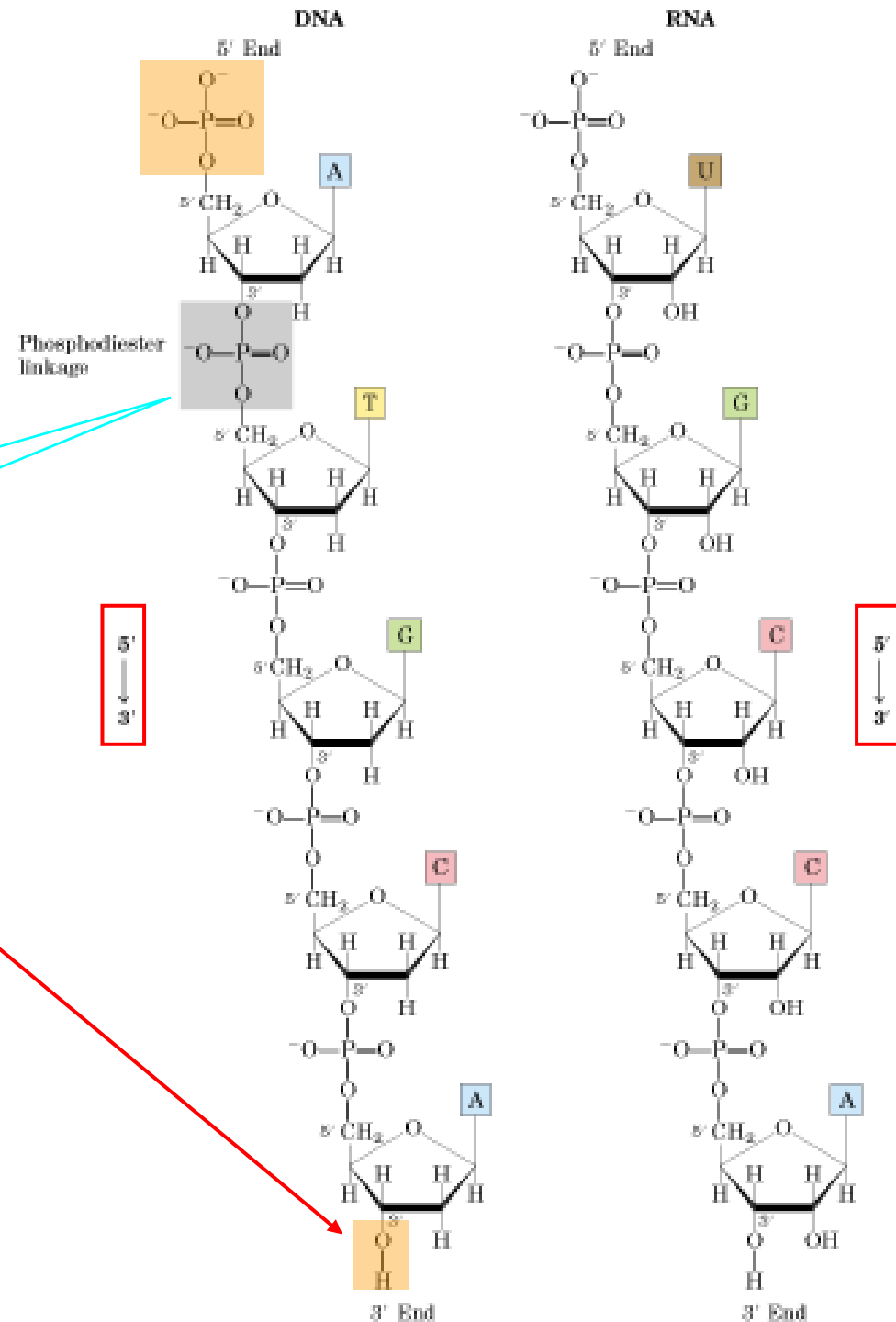
DNA复制的一般特征

❖ 核酸链的合成方向只有一个：**5'→3'**

3', 5'-磷酸二酯键

延伸部位

❖ 特异的**聚合酶**催化合成DNA或RNA



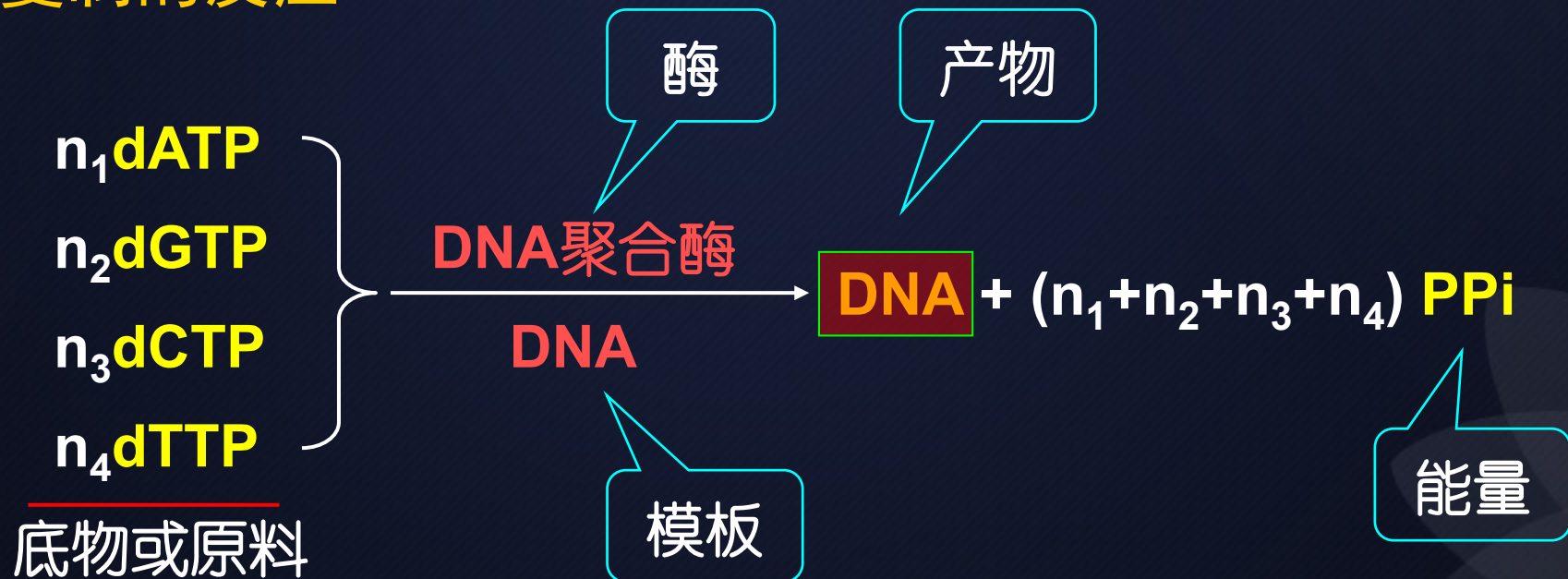
DNA复制的一般特征

DNA复制的一般特征

复制的部位

- 真核生物：细胞核
- 原核生物：核质区

复制的反应

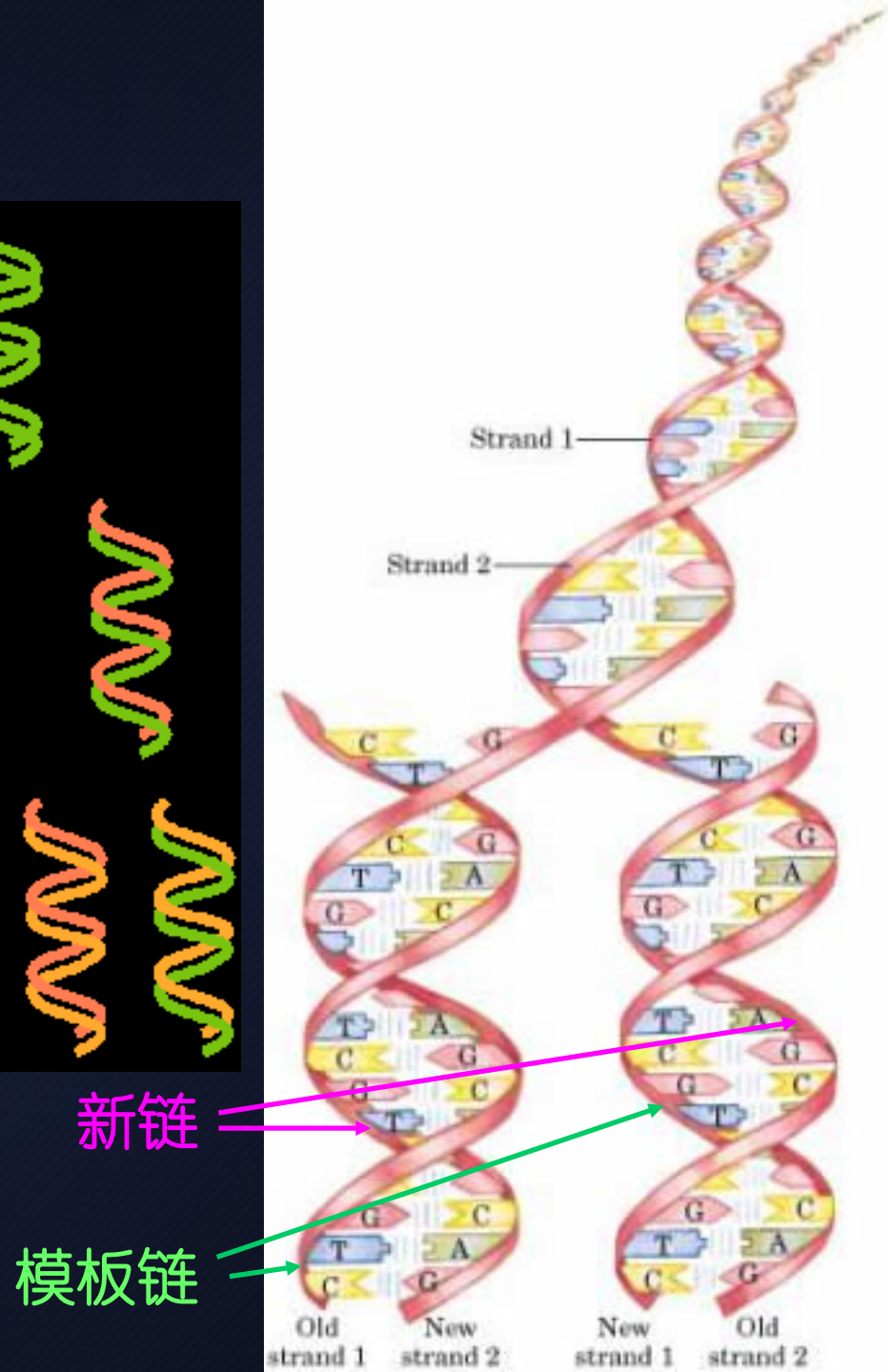
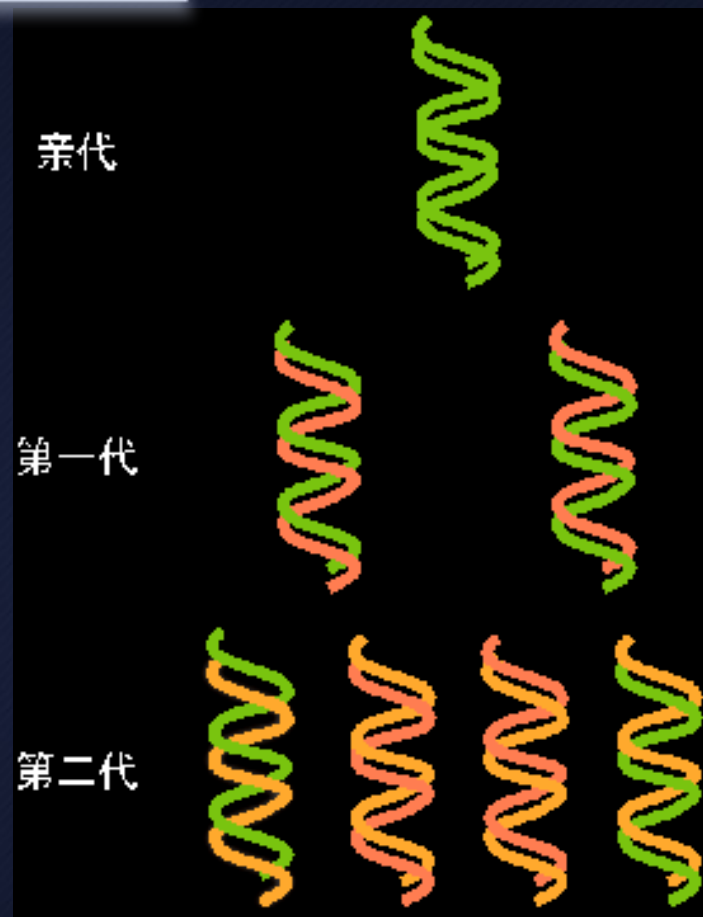


DNA复制的一般特征

复制的方式

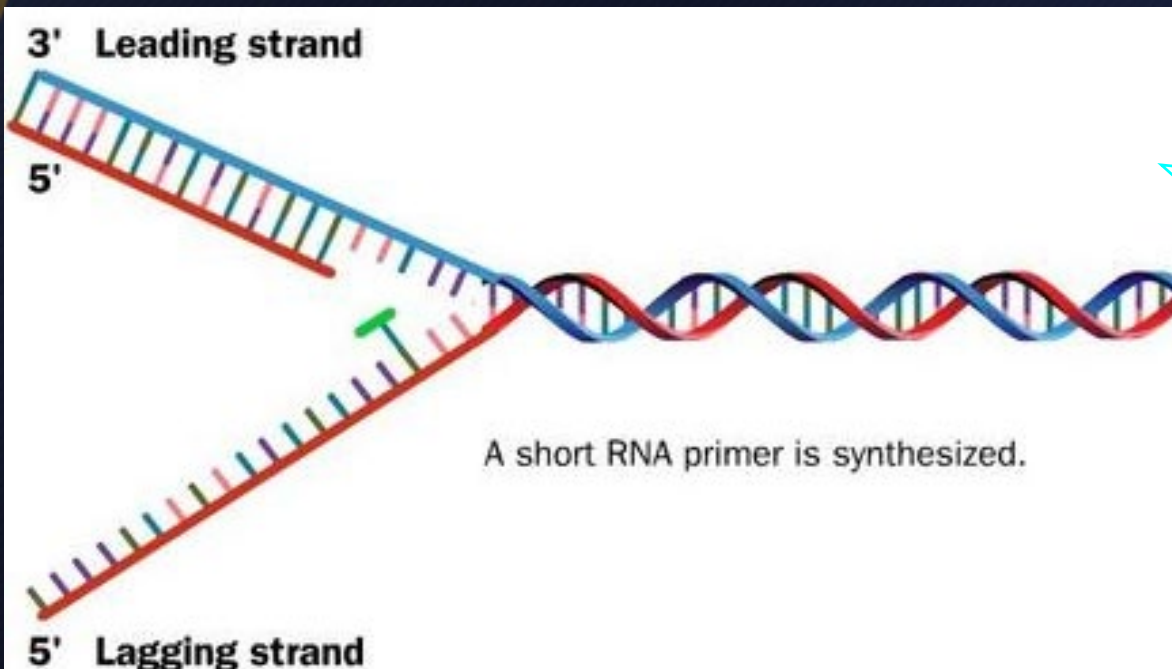
半保留复制

亲代 DNA 的双螺旋先解旋和分开，然后以每条链为模板，按照碱基配对原则，各形成一条互补链的复制方式。每个子代 DNA 分子中有一条链来自亲代 DNA，另一条则是新合成的



DNA复制的一般特征

复制的启动



复制起始区 (ori)

- ✦ 作为复制起点的碱基序列
- ✦ 多个短的重叠序列
- ✦ 能被多亚基的复制起始蛋白识别
- ✦ 富含AT碱基对

复制子 (replicon)

- ✦ 每一个复制起始区构成的一个最小独立的复制单位
- ✦ 复制启动，复制区解链形成复制叉结构

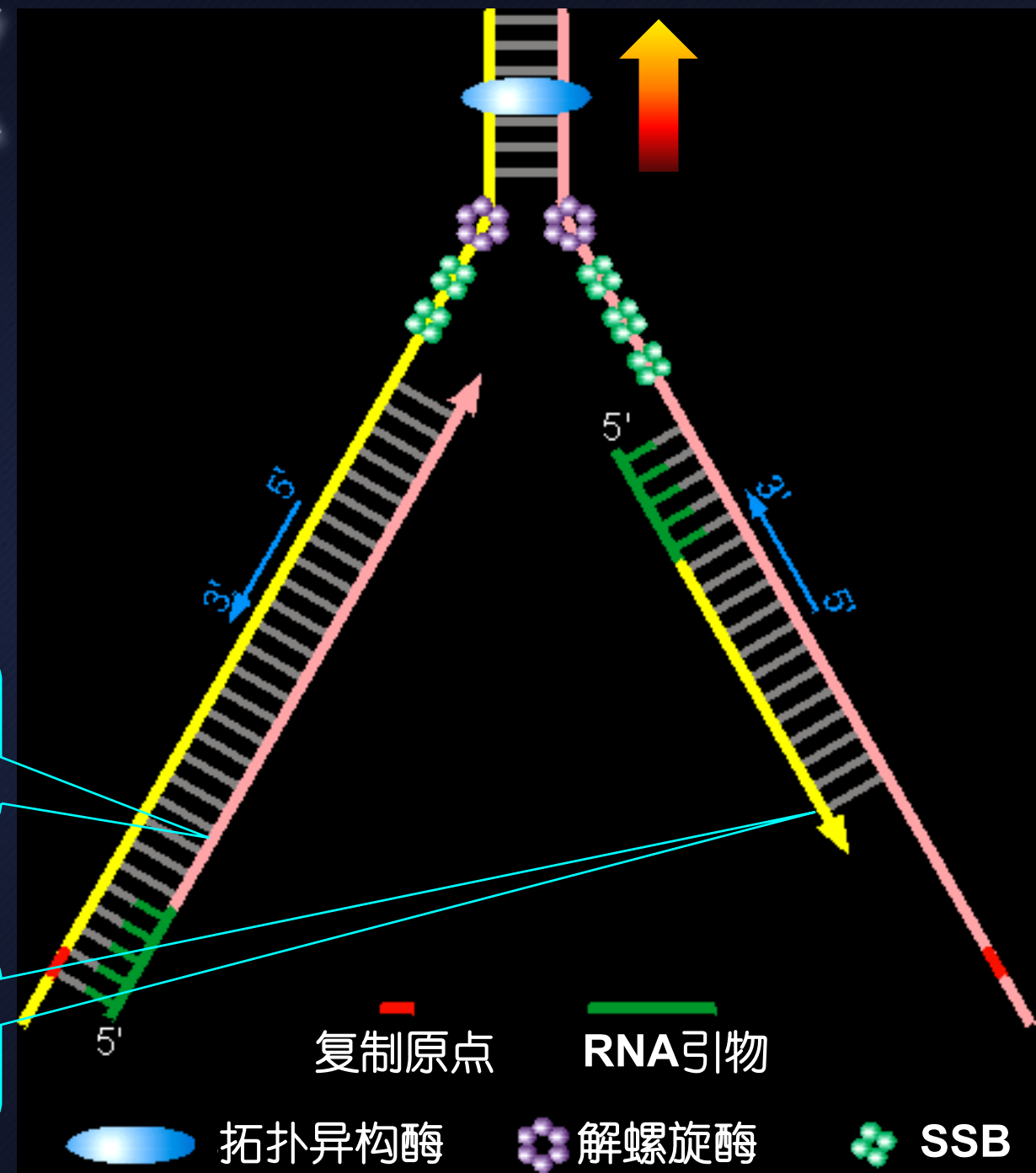
DNA复制的一般特征

半不连续复制

复制叉推进的方式

前导链：合成方向和复制叉前进方向**相同**，可连续复制

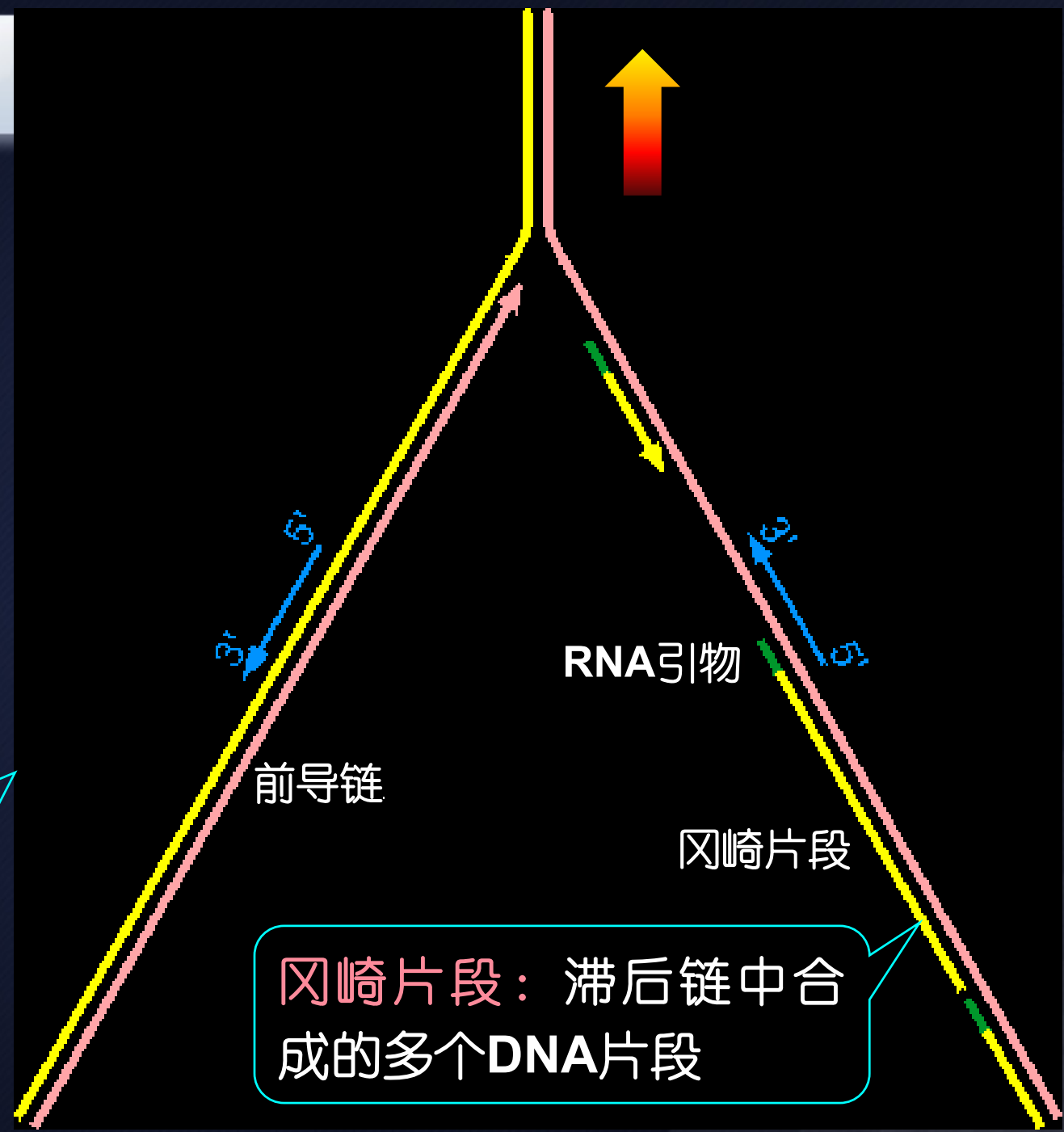
滞后链：合成方向和复制叉前进方向**相反**，不能连续复制，只能分成几个片段合成





DNA复制的一般特征

半不连续复制： DNA双螺旋的两条链是**反向平行**的，而合成方向只能是**5'→3'**。所以在DNA复制时，一条链可连续复制，而另一条链不能连续复制，只能先合成**冈崎片段**后再连接起来



◎ DNA复制的一般特征

错误率为 $10^{-9} \sim 10^{-10}$

DNA复制的忠实性

- ❖ DNA聚合酶与模板结合后**构象**发生改变，从而**精确选择**dNTP（具有高度精确性）
- ❖ DNA聚合酶还对新掺入的核苷酸进行**校对**，一旦碱基错配，则通过其3'→5'**核酸外切酶**的活性进行切除
- ❖ DNA合成都是从先合成的一小段**RNA引物的3'-OH**开始，然后再切除引物
- ❖ DNA的**损伤修复系统**

参与复制的主要酶和蛋白质

❖ DNA聚合酶

以DNA为模板的**DNA合成酶**

大肠杆菌

- ✦ DNA聚合酶I
- ✦ DNA聚合酶II
- ✦ DNA聚合酶III

基本活性

- ✦ 5'→3'聚合活性
- ✦ 3'→5'核酸外切活性

- ✦ 以四种**脱氧核苷三磷酸**为底物
- ✦ 反应需要有**模板**的指导
- ✦ 反应需要有**3'-OH**存在
- ✦ DNA链的合成方向为**5'→3'**

Klenow片段：DNA 聚合酶I经过枯草杆菌蛋白酶（或胰蛋白酶）处理后切成两个片段，其中大片段分子质量为76kD，通常称为Klenow片段，保留了DNA聚合酶I的5'→3'聚合活性和3'→5'外切活性，但缺少完整酶的5'-3'外切酶活性

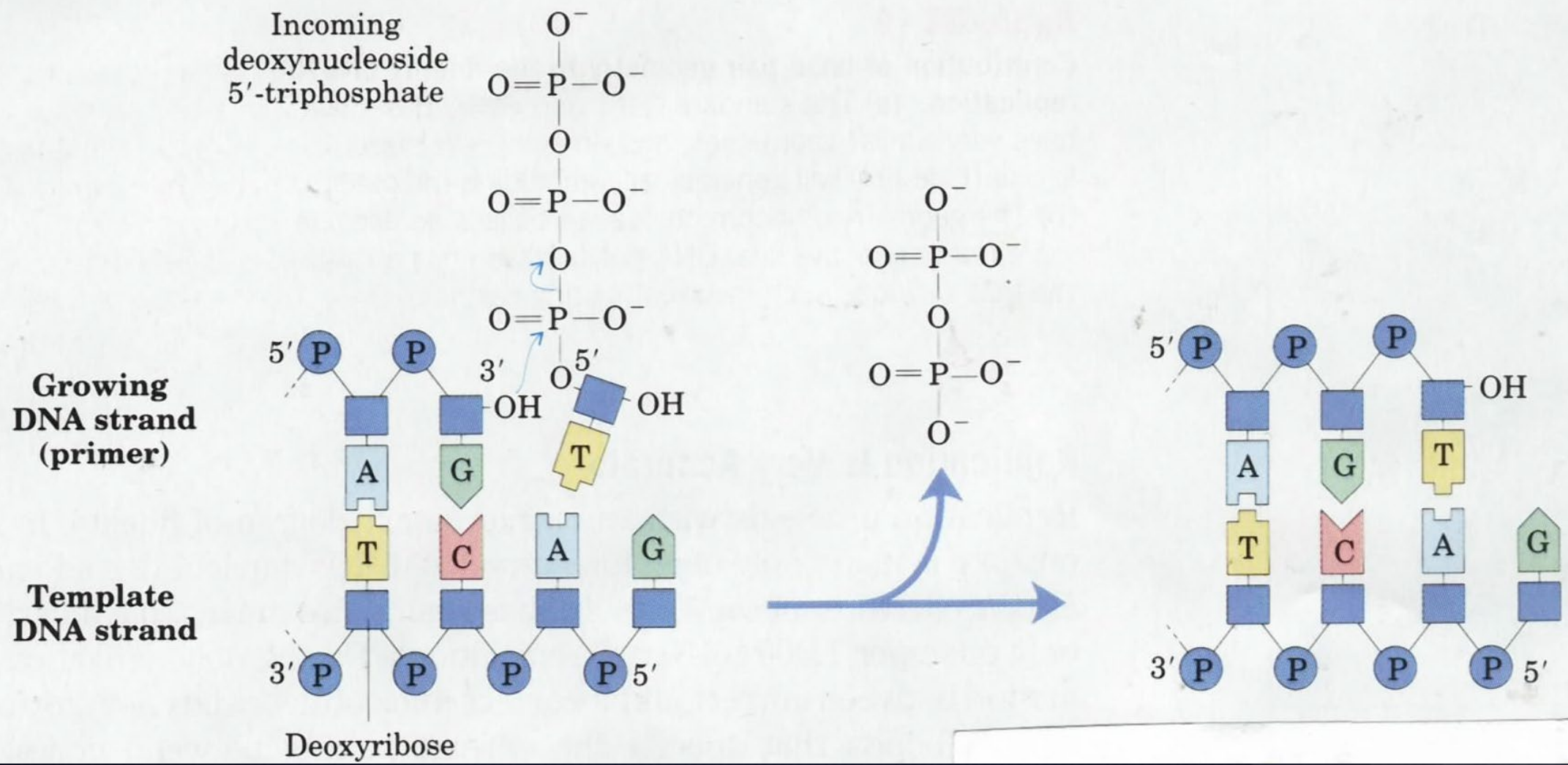
参与复制的主要酶和蛋白质

大肠杆菌DNA聚合酶的催化活性和功能

DNA聚合酶	催化活性	功 能
DNA聚合酶I	5'→3'核酸聚合酶活性	催化DNA链沿5'→3'方向延长
	5'→3'核酸外切酶活性	切去引物RNA或损伤的DNA片段，补上正确的DNA片段
	3'→5'核酸外切酶活性	切除单链DNA的3'末端，“校对”功能，对DNA复制的忠实性极为重要
DNA聚合酶II	5'→3'核酸聚合酶活性	与DNA修复有关
	3'→5'核酸外切酶活性	
DNA聚合酶III	5'→3'核酸聚合酶活性 3'→5'核酸外切酶活性	真正负责从新合成DNA的复制酶

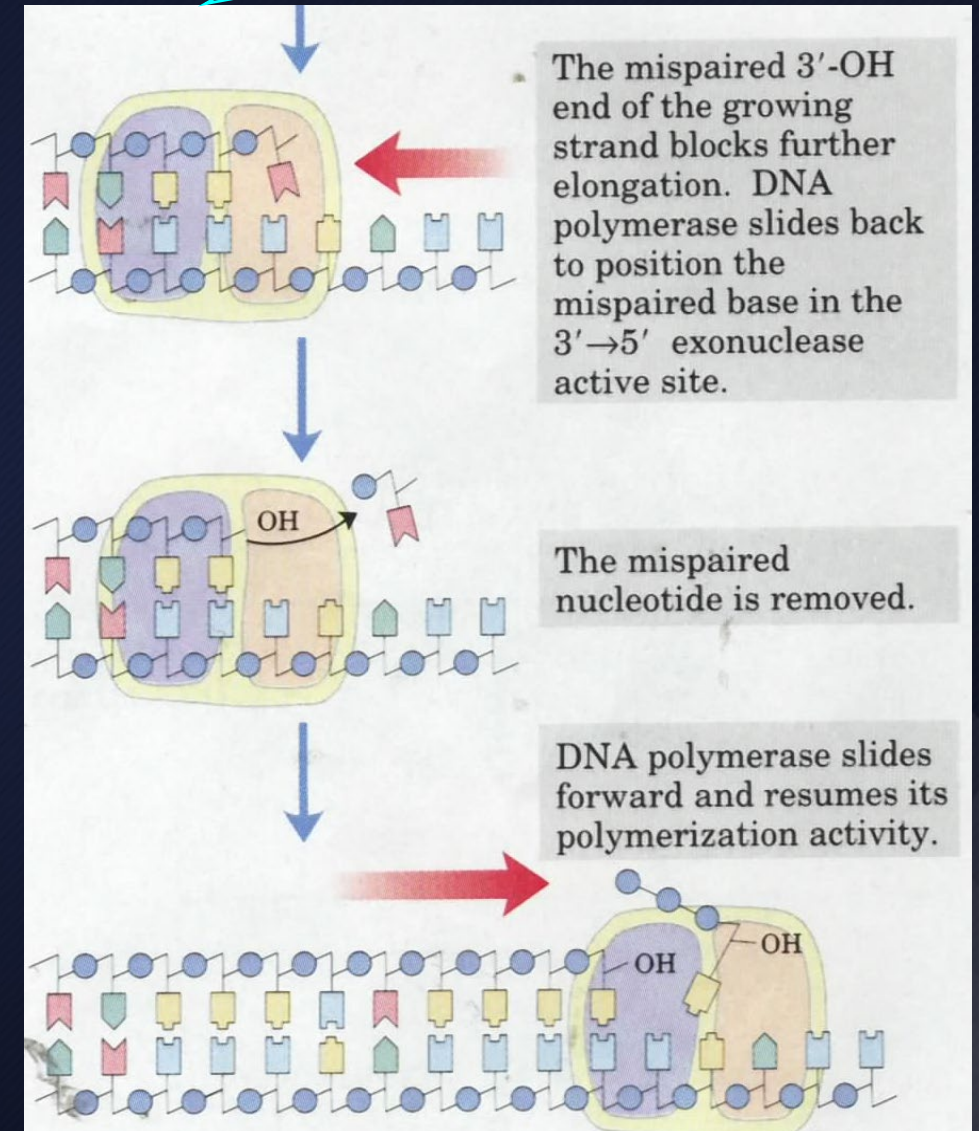
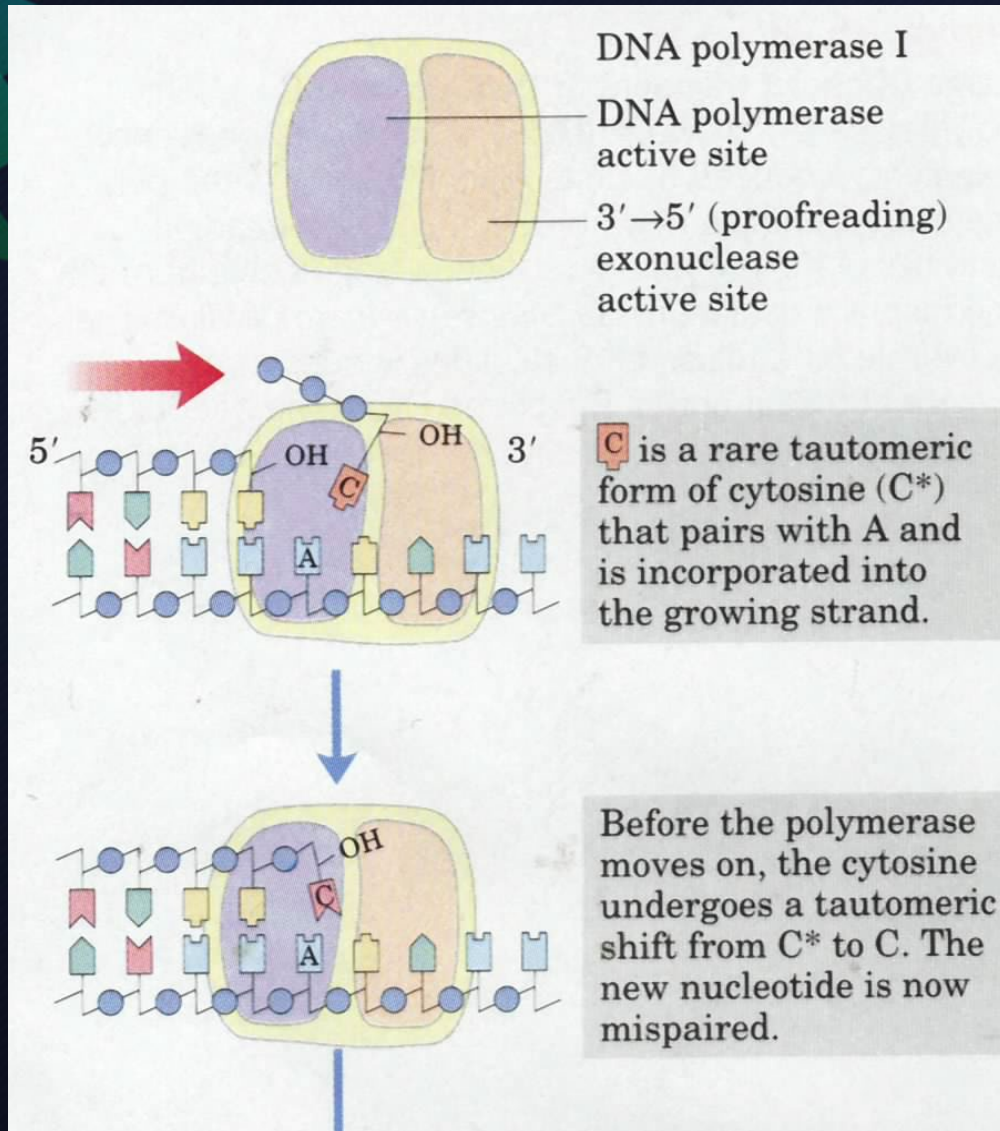
参与复制的主要酶和蛋白质

DNA聚合酶的
5'→3'聚合活性



DNA的生物合成与修复

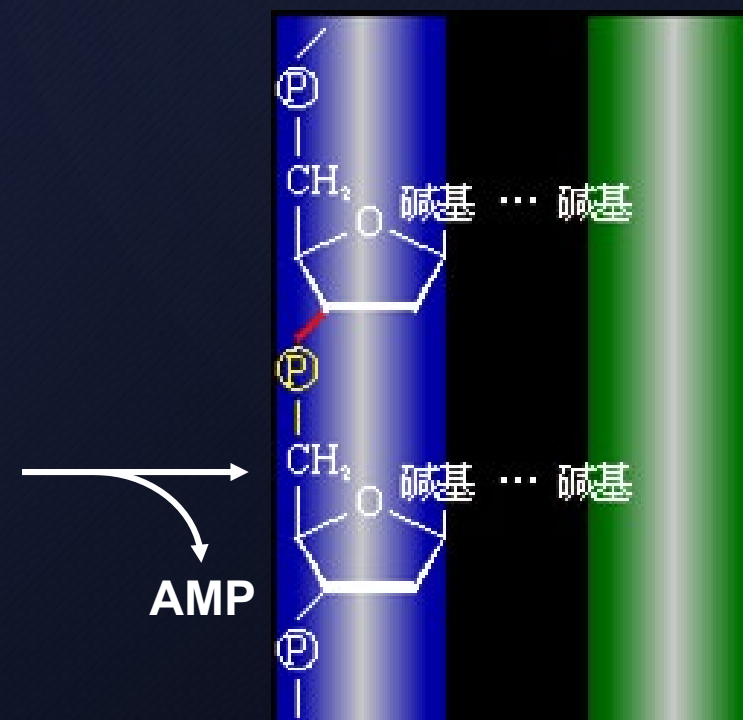
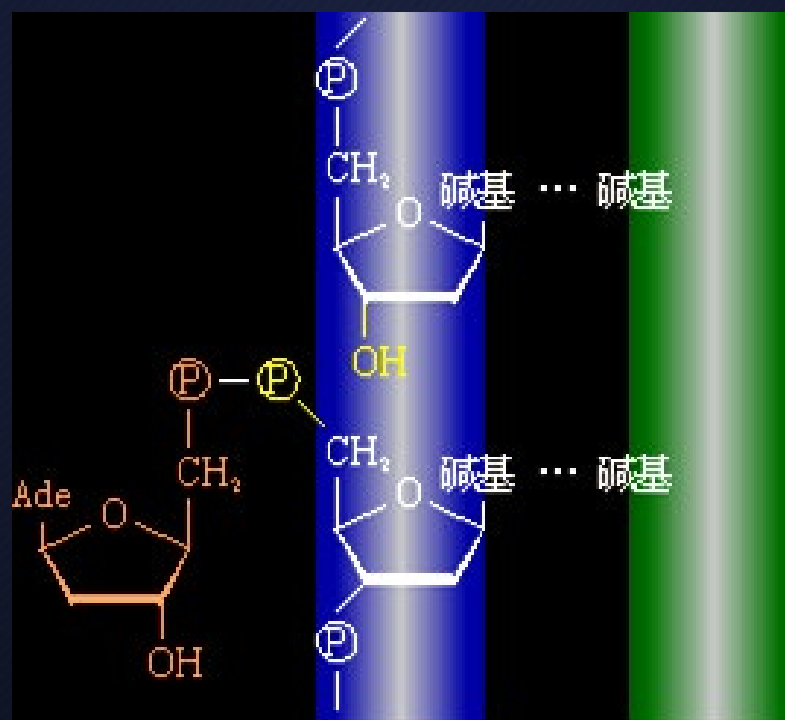
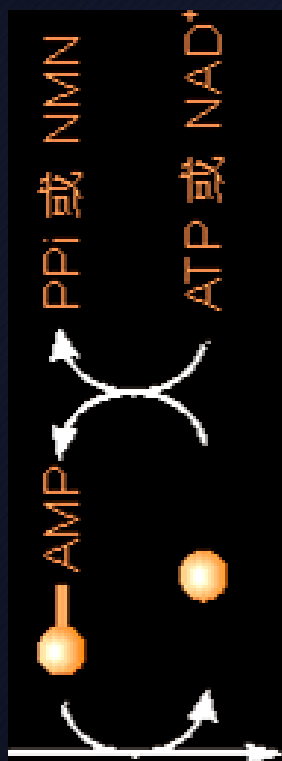
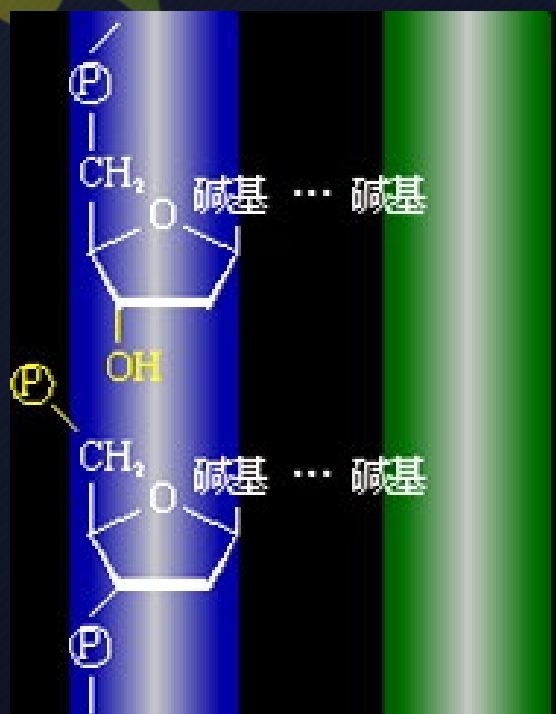
DNA聚合酶 I 催化的反应 ($3' \rightarrow 5'$ 外切酶活性)



参与复制的主要酶和蛋白质

❖ DNA连接酶

催化DNA双链中一条链上的切口（3'-OH 与它下游相邻的核苷酸的 5'-磷酸之间）共价连接形成磷酸二酯键



参与复制的主要酶和蛋白质

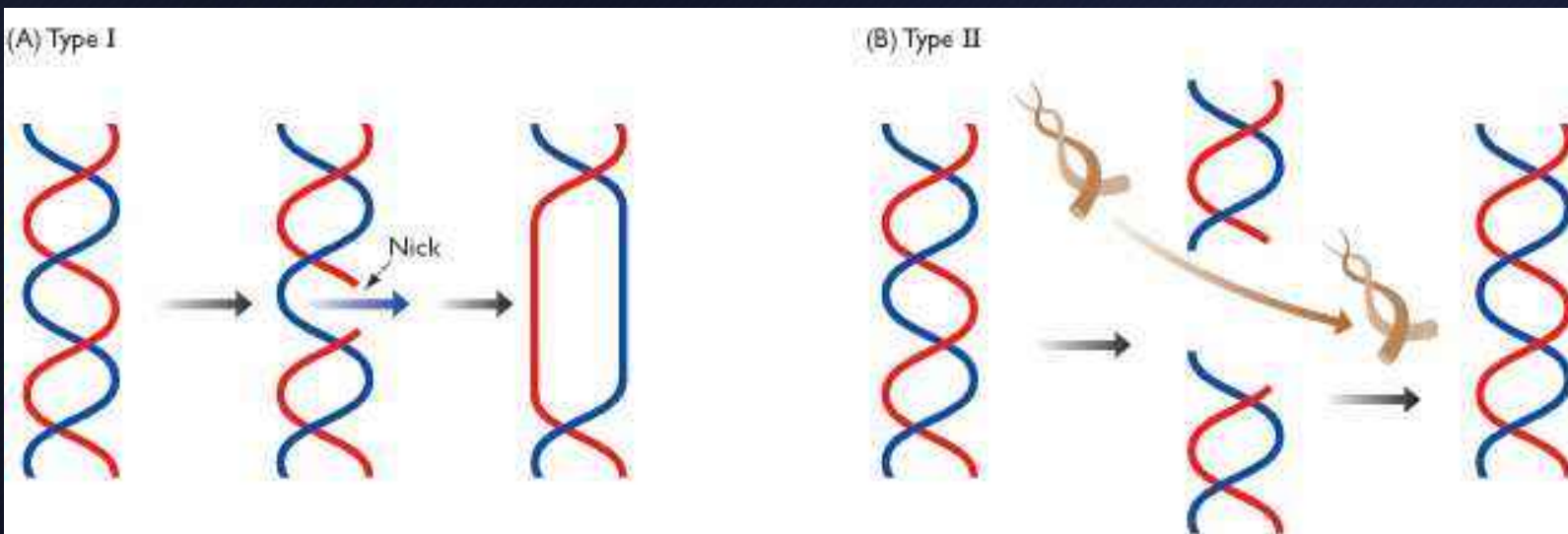
❖ 引物酶

以单链DNA为模板，以ATP、GTP、CTP、UTP为原料，从5'→3'方向合成出RNA片段，即引物

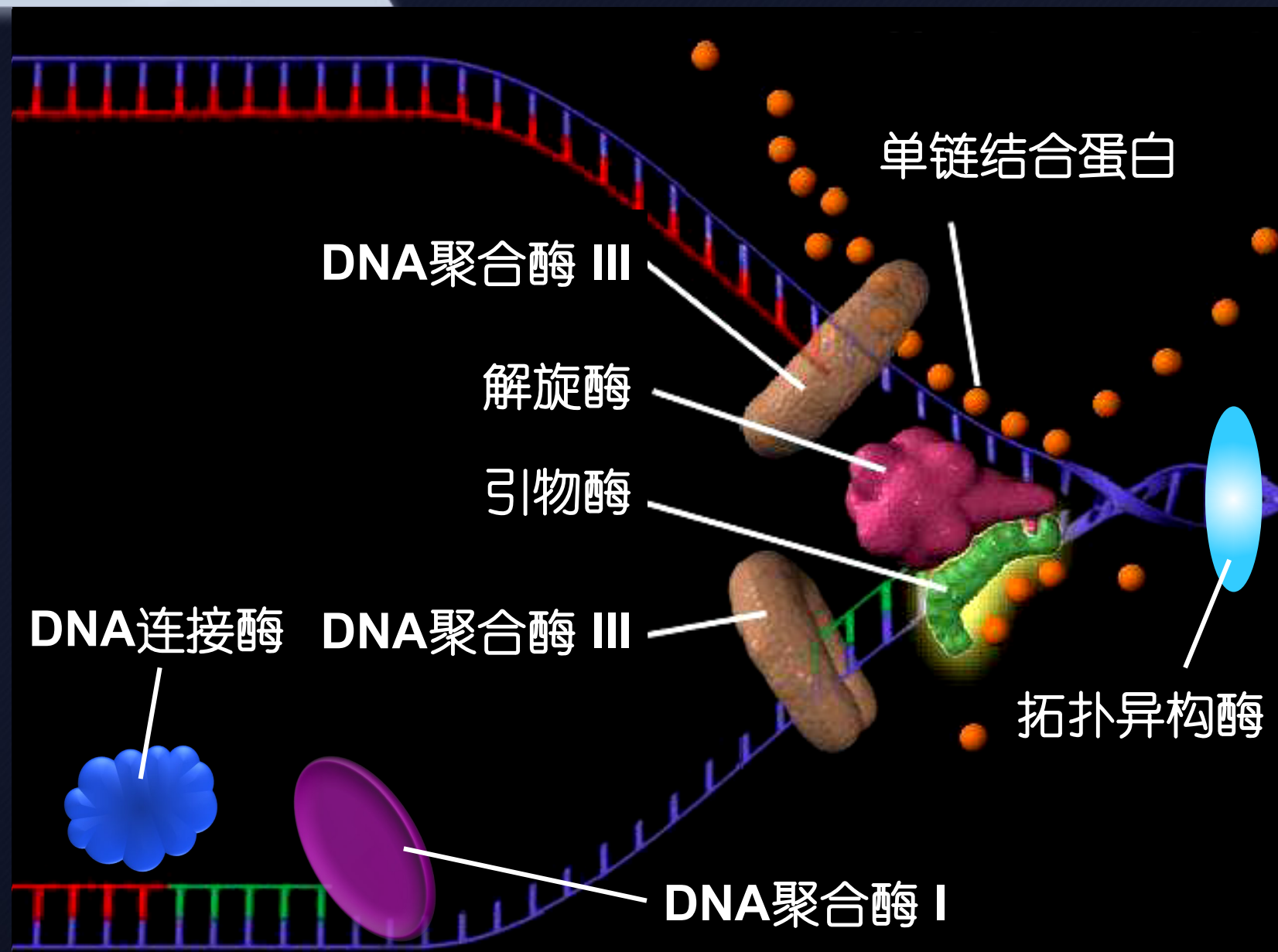
❖ 使DNA双螺旋解开的酶和蛋白质

- ✦ 解螺旋酶（解链酶）
- ✦ 单链结合蛋白（SSB）
- ✦ 拓扑异构酶

拓扑异构酶



参与复制的主要酶和蛋白质



参与复制的酶与蛋白质



DNA复制的详细机制

以大肠杆菌为代表的“ θ -复制”



DNA复制的基本过程

- ❖ 解旋：拓扑异构酶解除DNA的超螺旋结构
- ❖ 解链：解螺旋酶解开双链DNA，单链结合蛋白与之结合
- ❖ 识别起点：由DNA指导的RNA聚合酶即引物酶完成
- ❖ 合成引物：以DNA为模板在引物酶催化下转录生成RNA引物
- ❖ DNA的合成：在引物3'末端上由DNA聚合酶 III催化生成
- ❖ 切除引物：DNA聚合酶 I 催化切除引物即得冈崎片段
- ❖ 补齐封口：DNA聚合酶 I 沿5'→3'填补两个冈崎片段之间的缺口。其3'末端羟基与下一个DNA片段5'末端磷酸基，在DNA连接酶催化连接，最终形成DNA模板链的互补链

DNA复制的详细机制

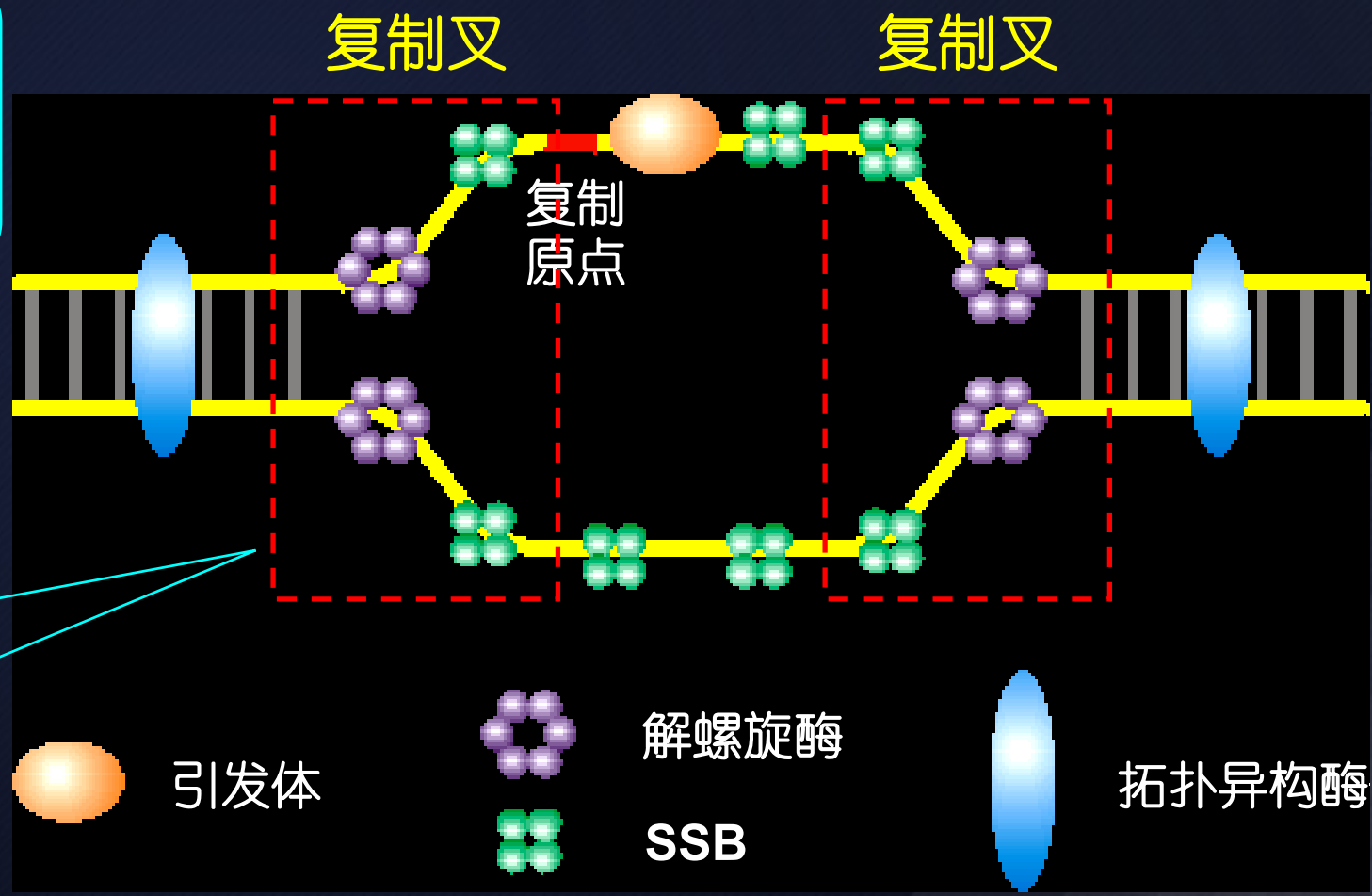
复制的启动

复制起点 (*ori*)

- ✦ 原核生物：一般只有一个
- ✦ 真核生物：多个

复制眼的形成

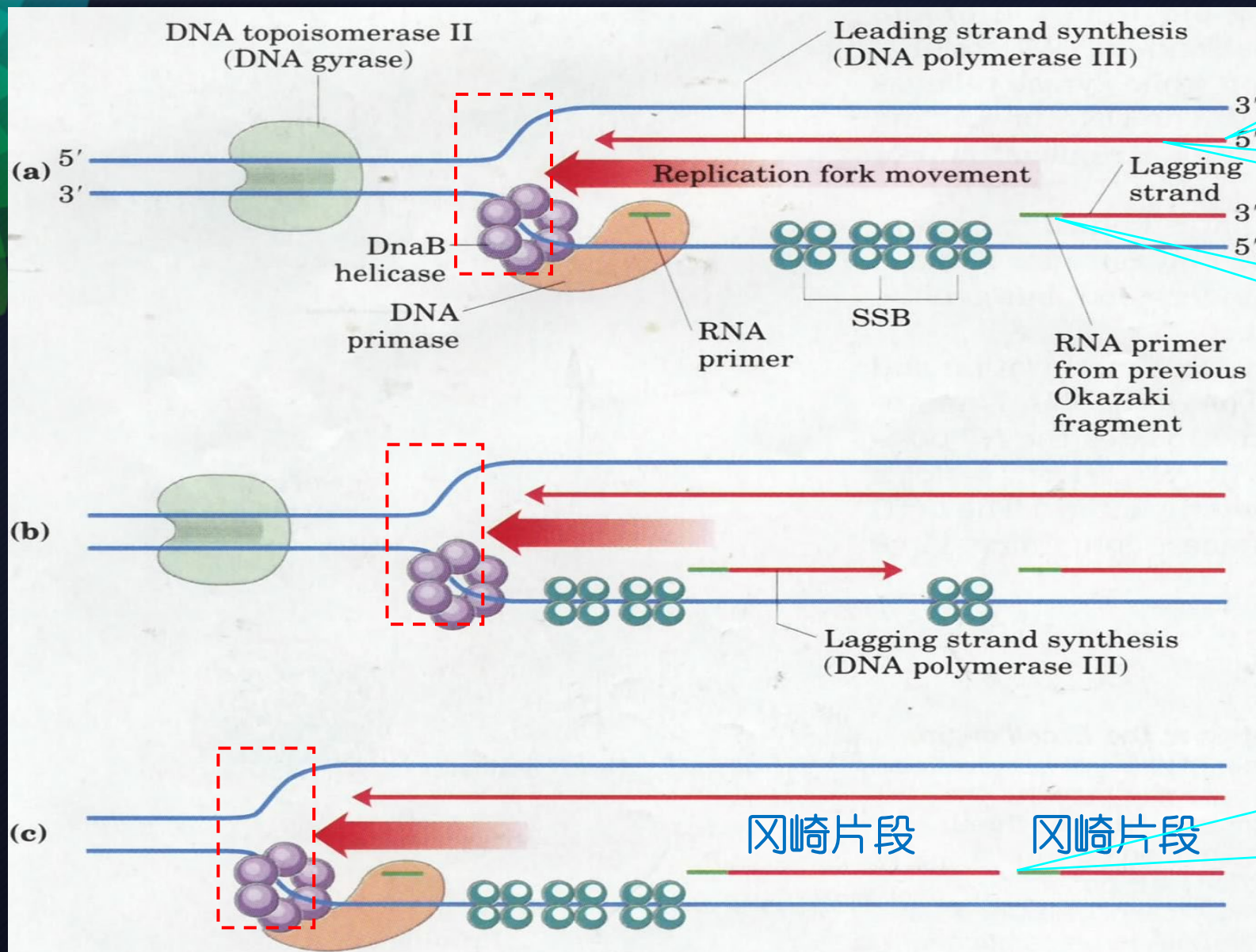
复制叉：复制眼形成后，其两端的叉子状结构，是DNA新链的生长点





DNA复制的详细机制

复制叉的推进



前导链引物合成

前导链的合成

滞后链引物合成

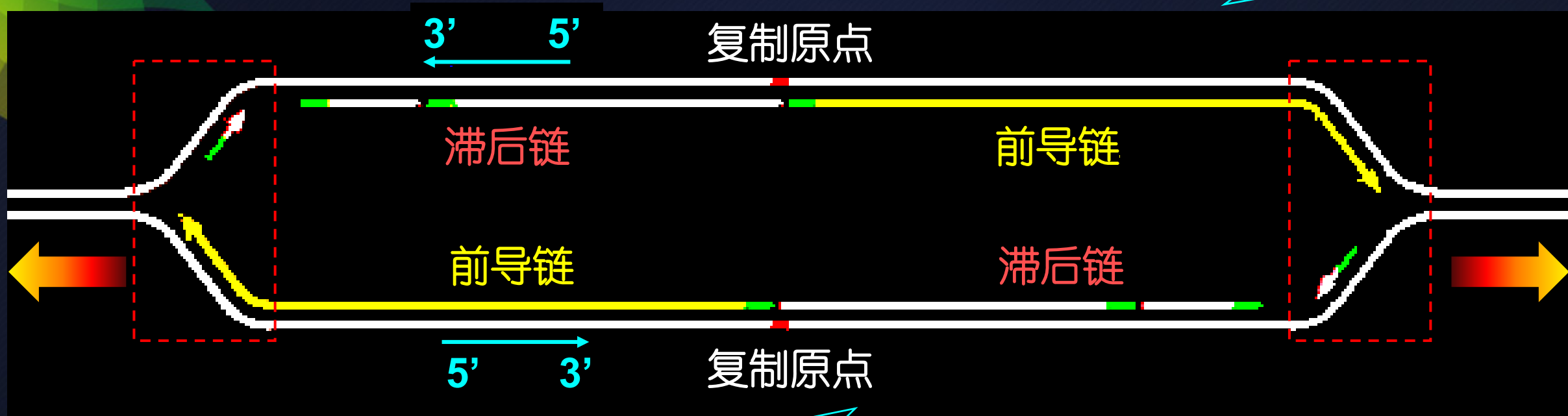
滞后链的合成

新形成冈崎片段
延长至下游冈崎
片段的RNA引物

DNA复制的详细机制

复制眼的增大

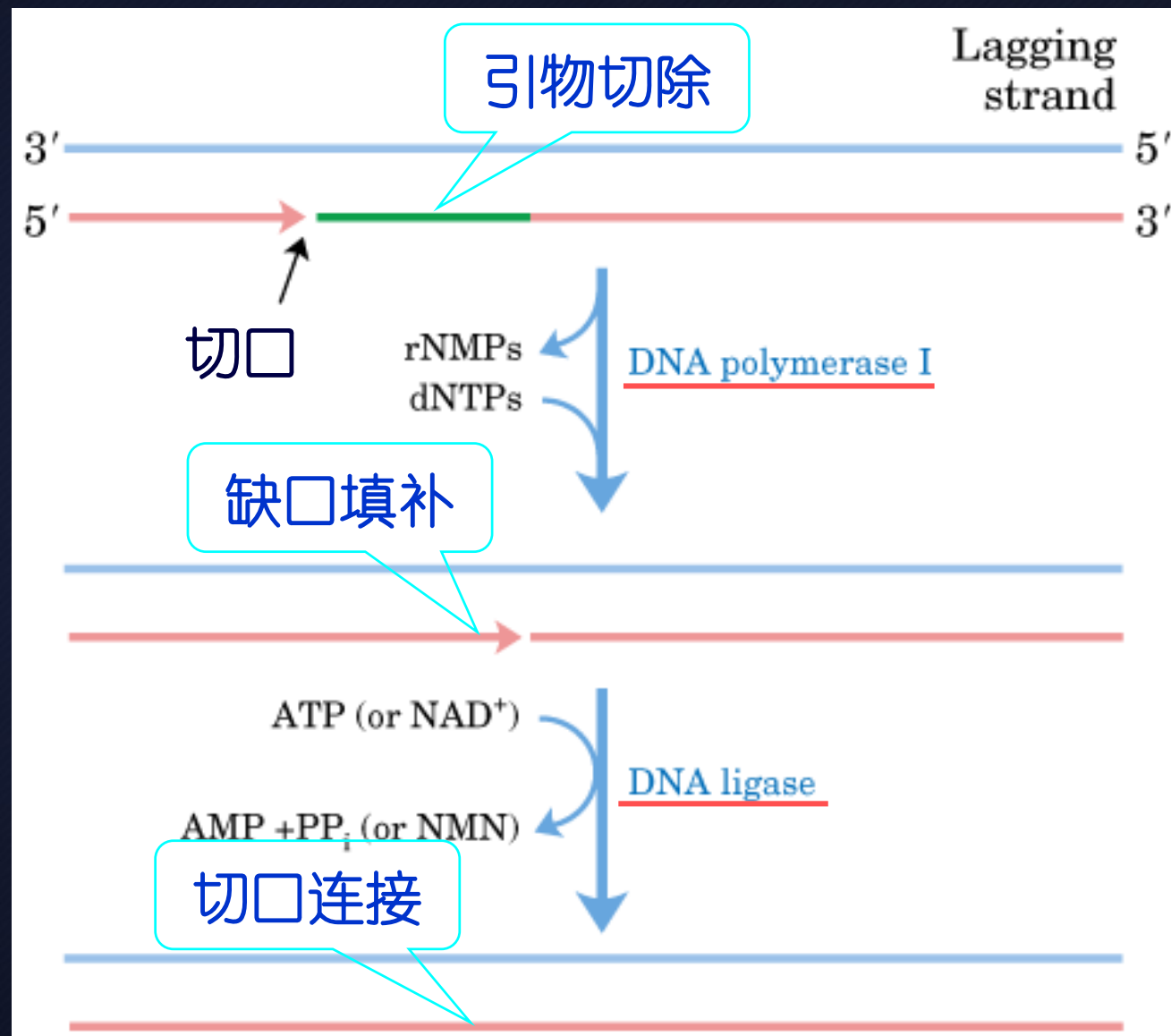
双向复制：DNA复制时，从复制原点向两个方向解链，形成两个推进方向相反的复制叉。两个复制叉都是**生长点**



每条新合成的DNA链中既有前导链，又有滞后链

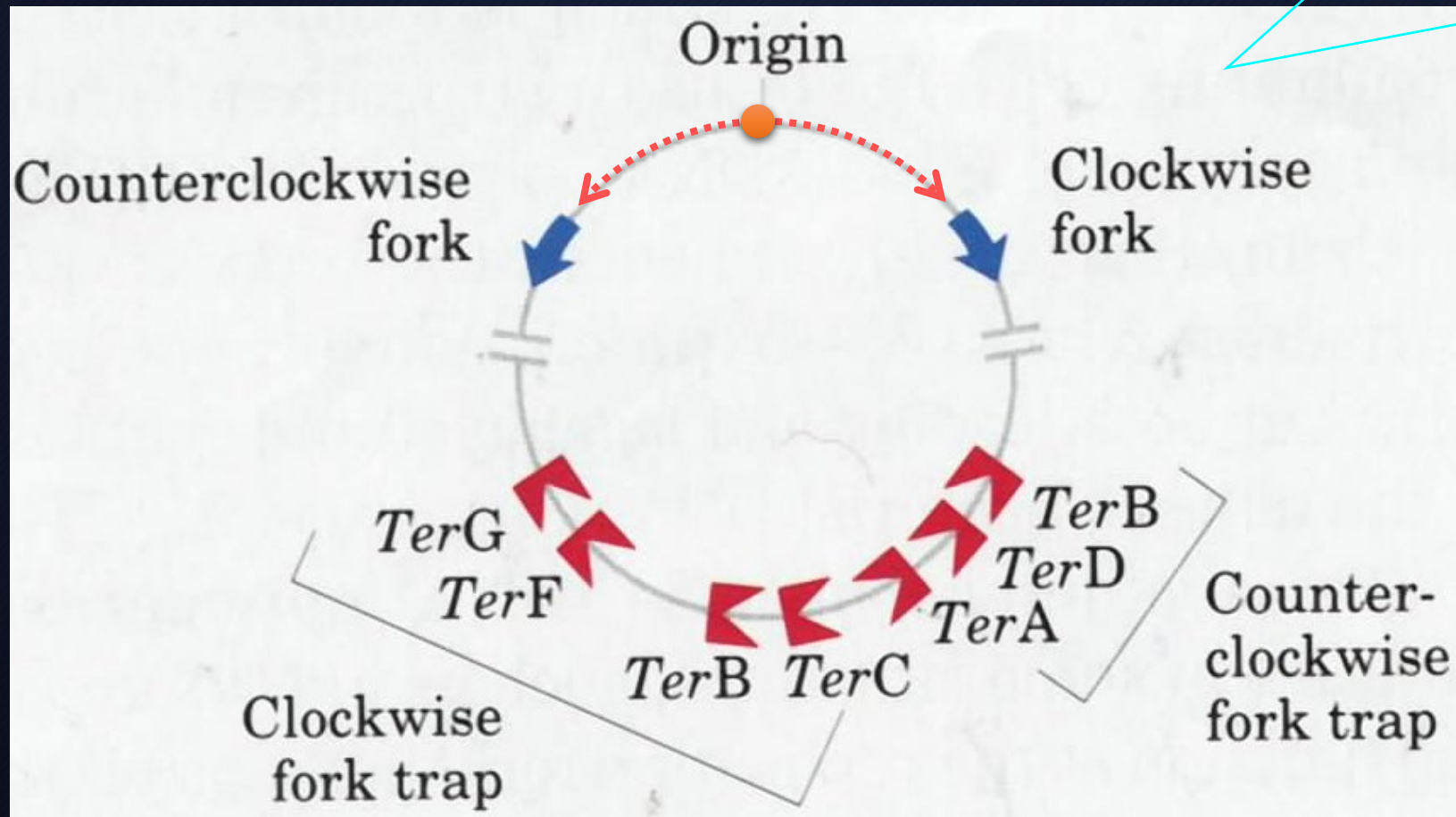
DNA复制的详细机制

复制的结束



DNA复制的详细机制

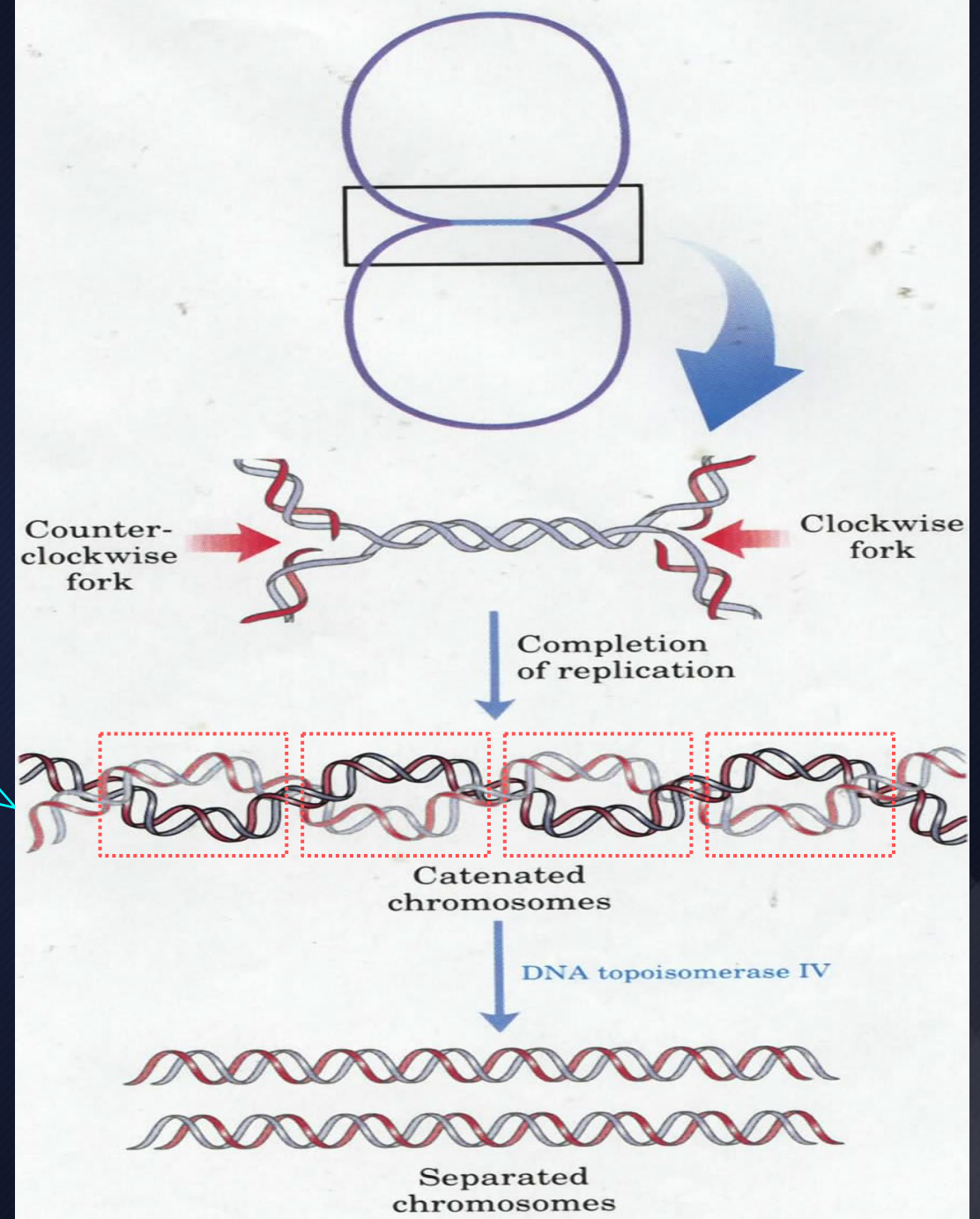
原核生物：环状的DNA从单点开始双向复制，使两个复制叉在复制原点的对面处相遇并合并，从而结束复制，形成两个环状DNA分子





DNA复制的详细机制

真核生物：线状DNA上有多个复制起点，因此形成多个复制眼，复制叉的推进使复制眼增大，直至各个复制眼融合复制终止，形成两个线状DNA分子



◎ DNA复制的详细机制

■ PCR技术

即**聚合酶链式反应**，指在**引物**指导下由**酶**催化的对特定**模板**（克隆或基因组**DNA**）的扩增反应，是模拟体内**DNA**复制过程，在体外特异性扩增**DNA**片段的一种技术



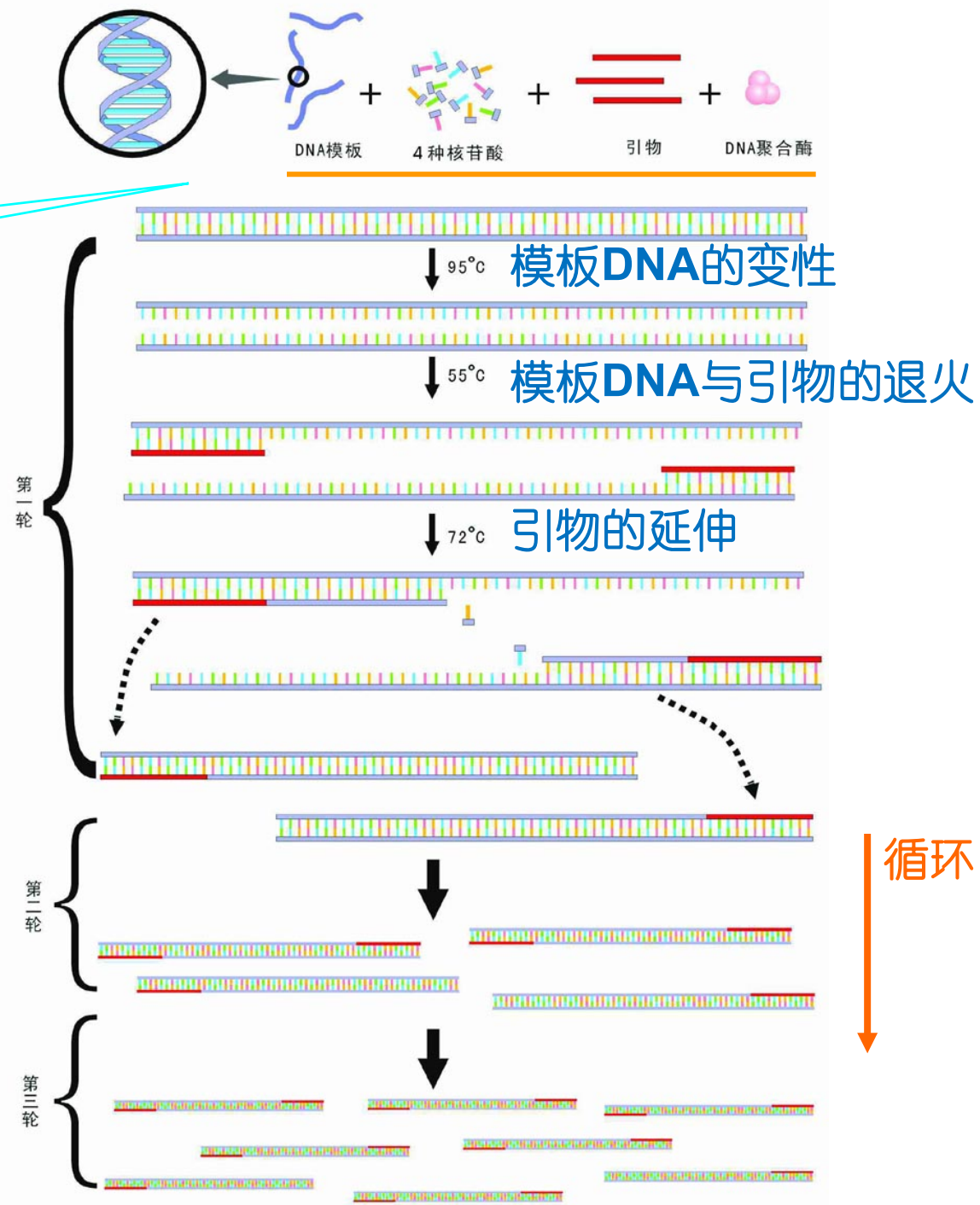


DNA复制的详细机制

PCR反应的五个元素：引物、酶、dNTP、模板和 Mg^{2+}



PCR反应的基本过程



◎ DNA损伤、修复和突变

■ DNA的损伤

DNA损伤的类型

❖ 碱基损伤

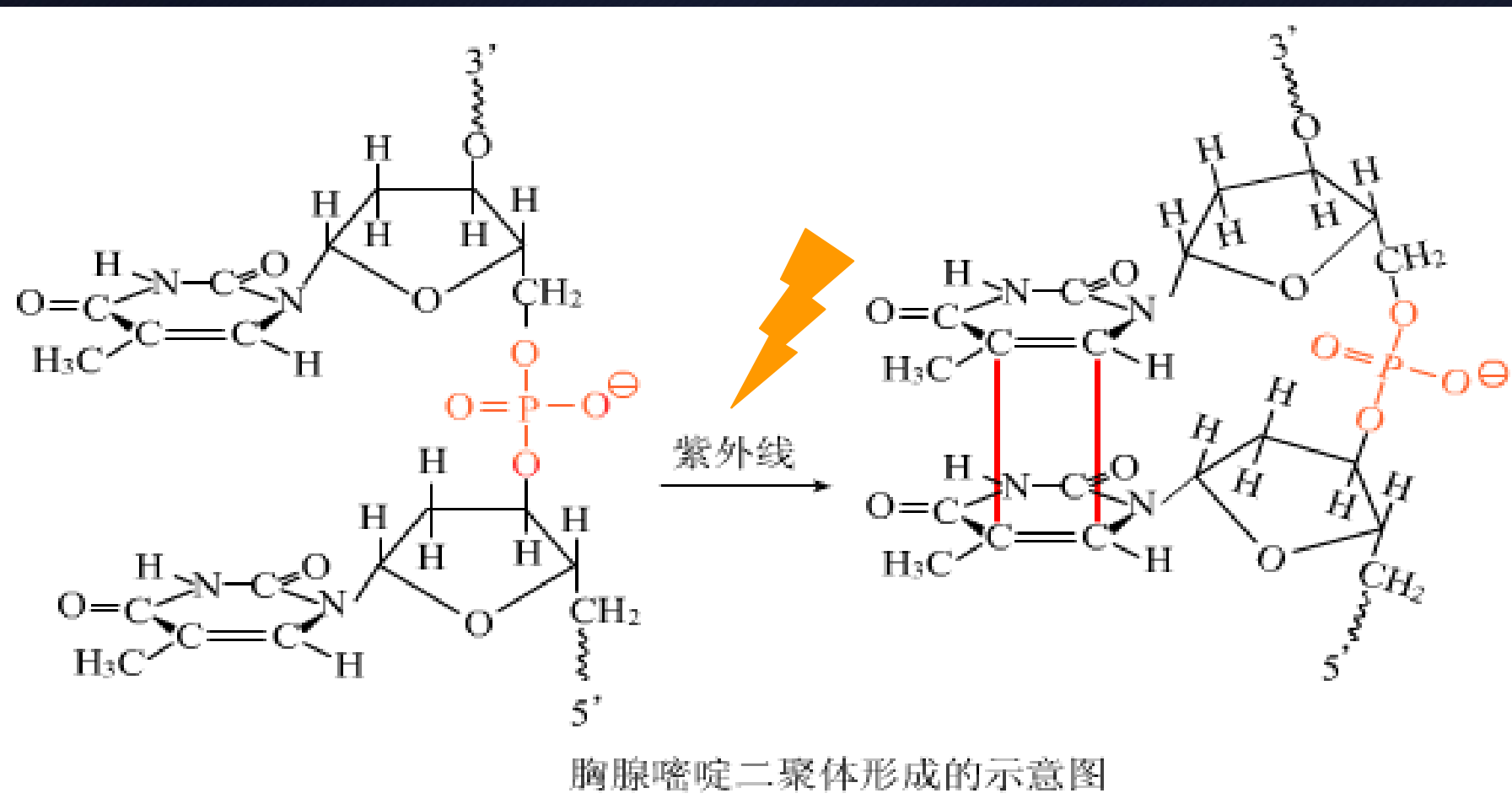
- ✦ 碱基脱落
- ✦ 碱基转换
- ✦ 碱基修饰
- ✦ 碱基交联
- ✦ 碱基错配

❖ DNA链损伤

细胞内的**DNA**可能因物理或化学因素而受到损伤，例如射线辐射、化学诱变剂和受热等。此外，**DNA**复制产生的误差也可能造成**DNA**损伤

- ✦ 核糖核苷酸的插入
- ✦ **DNA**链的断裂
- ✦ **DNA**链的交联
- ✦ **DNA**与蛋白质之间的交联

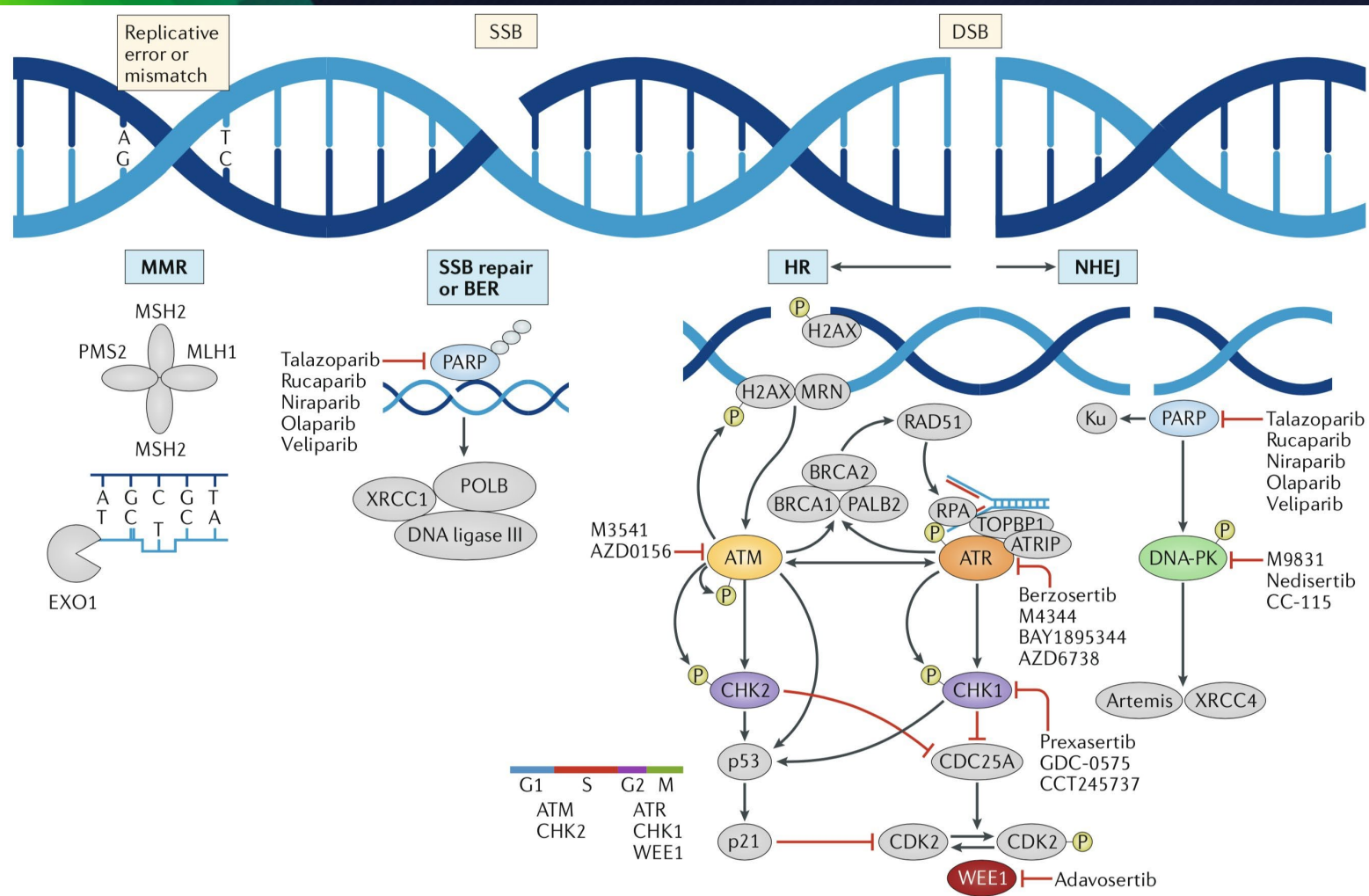
DNA损伤、修复和突变



碱基交联

DNA损伤、修复和突变

DNA的修复



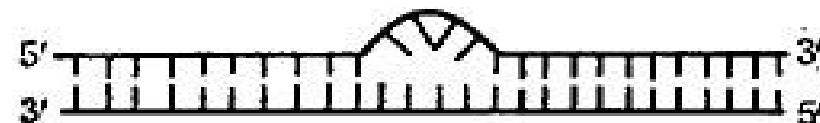
- **直接修复：**光复活
- **切除修复：**碱基、核苷酸和错配修复
- **双链断裂修复：**同源重组、非同源末端连接修复
- **损伤跨越：**重组跨越、跨损伤合成

DNA损伤、修复和突变

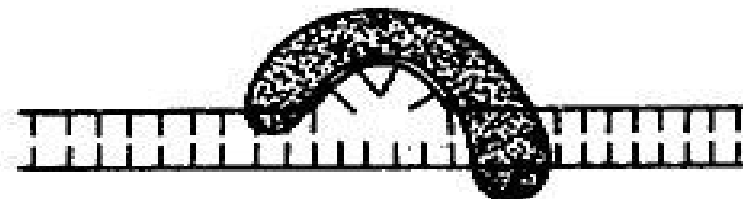
❖ 光复活

可见光（400nm）能激活细胞内的光复活酶、光裂合酶，可分解因紫外线照射而形成的嘧啶二聚体

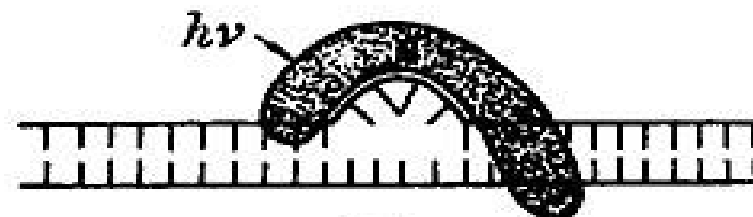
A. 形成嘧啶二聚体



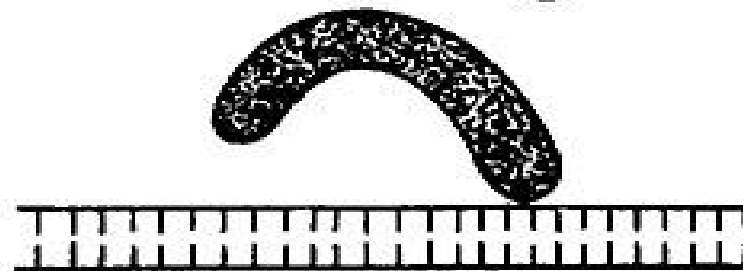
B. 光复活酶结合于损伤部位



C. 酶被可见光所激活



D. 修复后释放酶



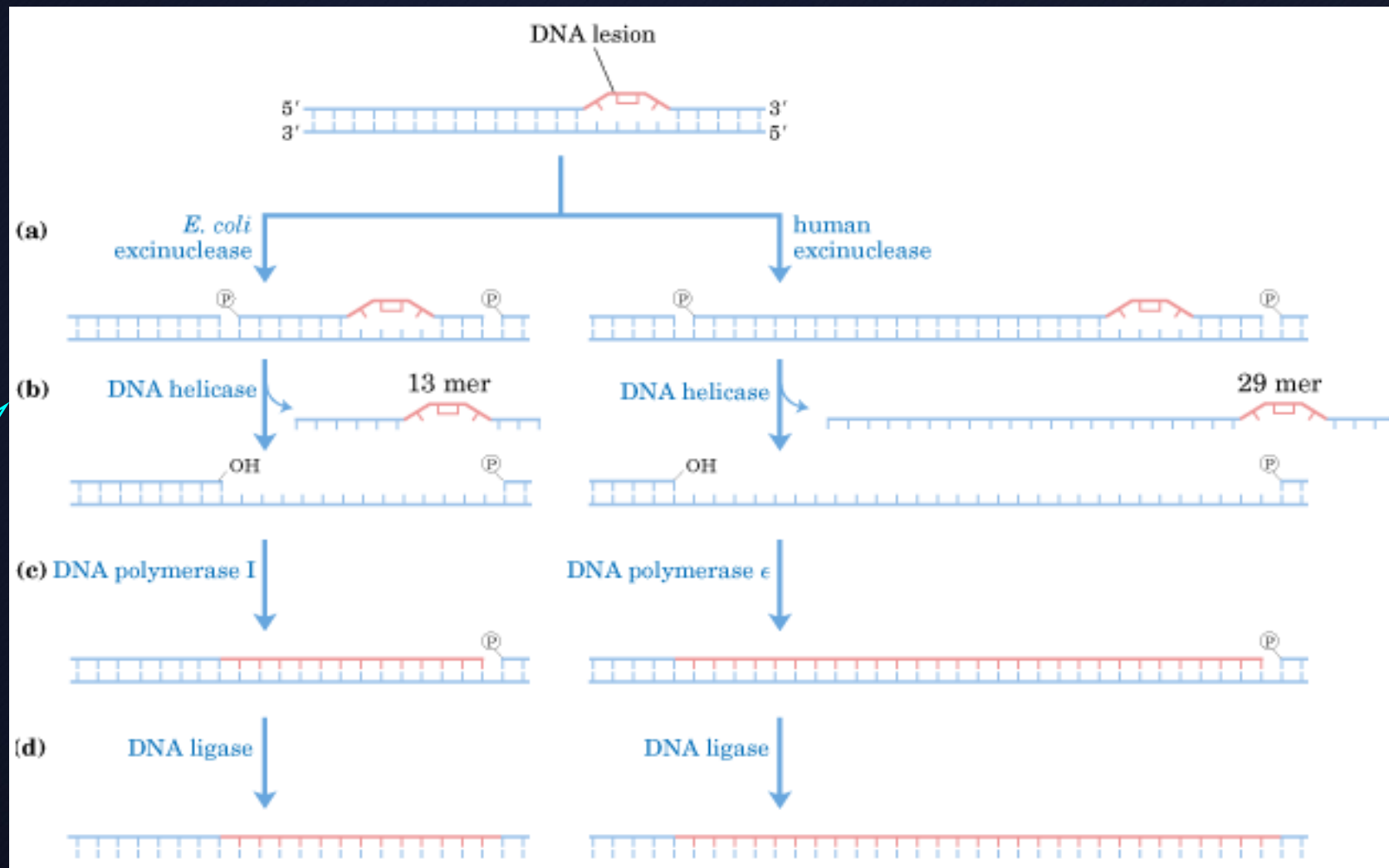
紫外线损伤的光复活过程

DNA损伤、修复和突变

最普遍

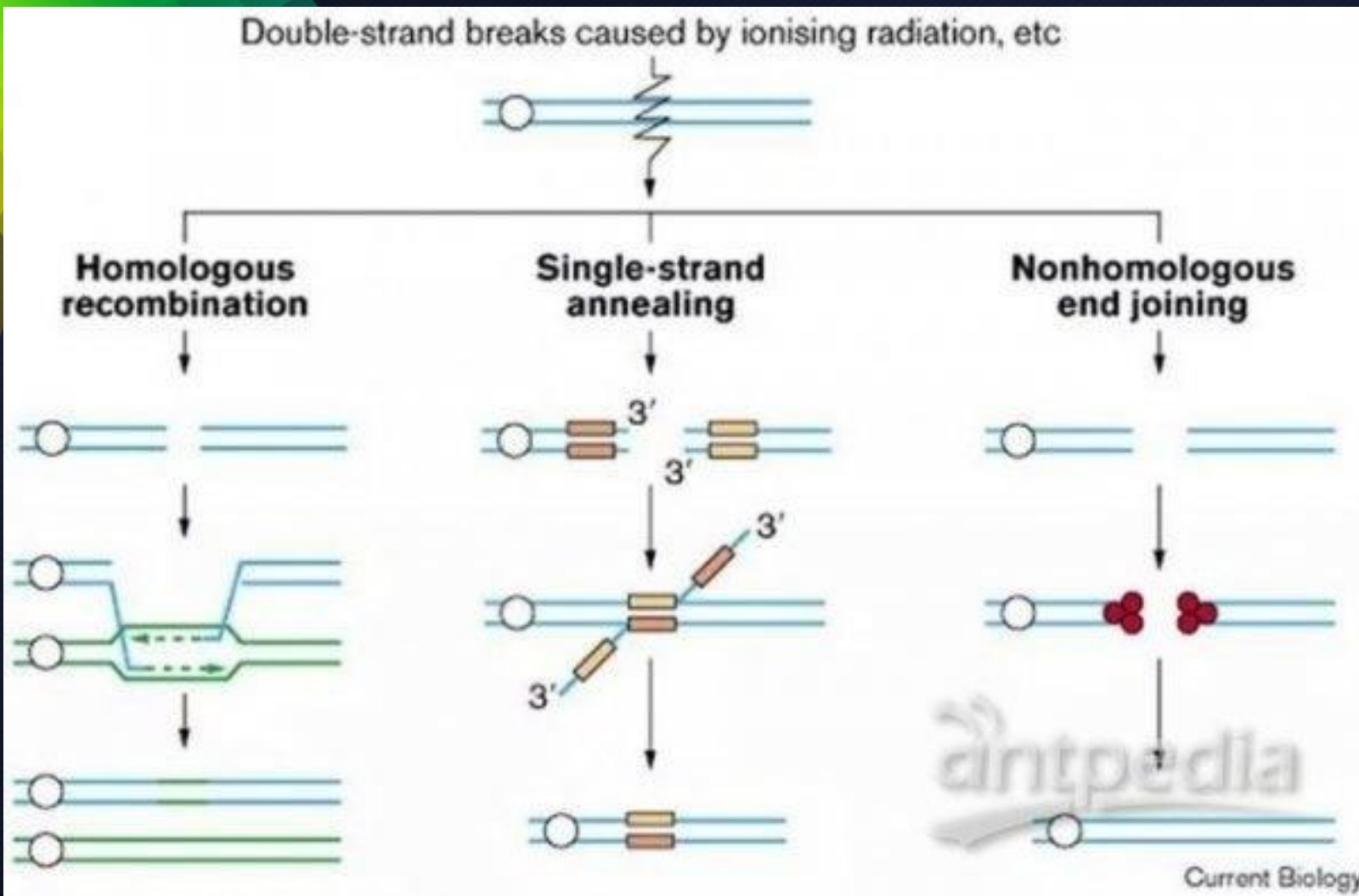
❖ 切除修复

✦ 切开 (切)
✦ 切除 (切)
✦ 合成 (补)
✦ 连接 (缝)



DNA损伤、修复和突变

❖ 双链断裂修复

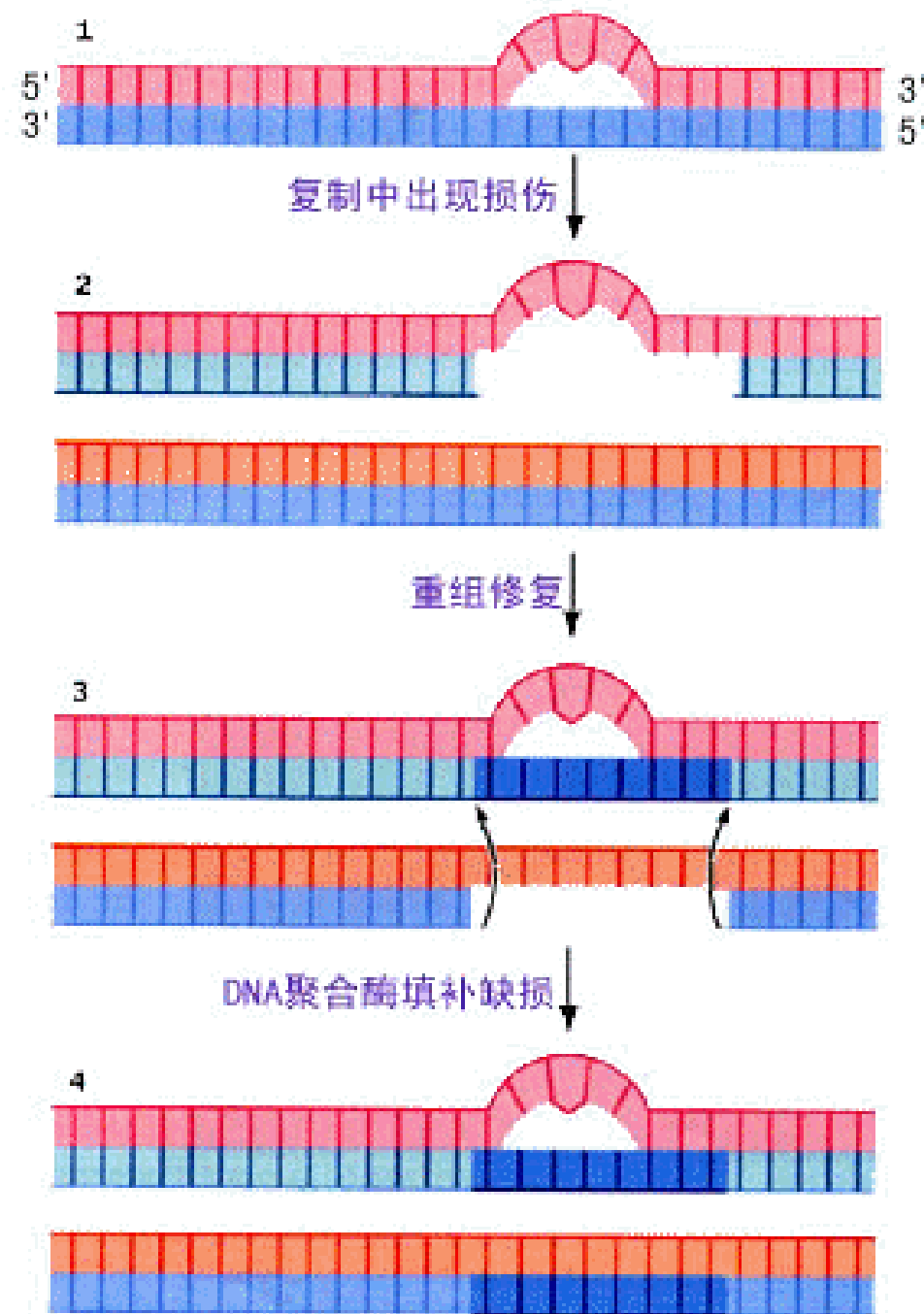


- ✦ **同源重组修复：**利用细胞内一些促进同源重组的蛋白质，从同源染色体获取合适的修复断裂信息，进行重组修复
- ✦ **非同源末端连接修复：**再无同源序列的情况下，让断裂的末端重新连接，易出错

DNA损伤、修复和突变

❖ 损伤跨越

受损伤的DNA在复制时，跳过损伤部位，在子代DNA链与损伤相对应部位出现缺口。通过分子间重组，从完整的母链上将相应的碱基顺序片段移至子链的缺口处，然后再用合成的多核苷酸来补上子链的空缺，此过程即重组修复，并非完全校正



◎ DNA损伤、修复和突变

❖ SOS修复

DNA受到严重损伤、细胞处于危急状态时所诱导的一种**DNA**修复方式，修复结果只是能维持基因组的完整性，提高细胞的生存率，但留下的错误较多

DNA损伤、修复和突变

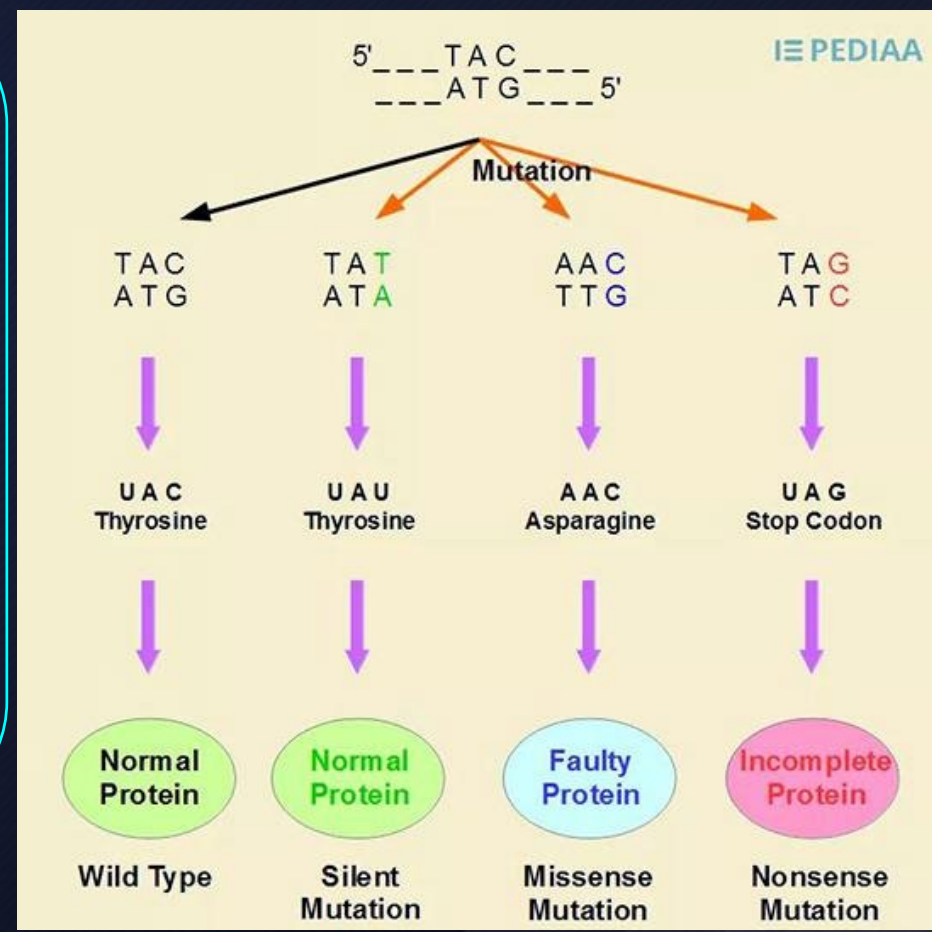
■ DNA的突变

发生在DNA分子上可以遗传的结构变化

❖ 点突变

- ❖ 沉默突变或同义突变
- ❖ 错义突变
- ❖ 无义突变和加长突变

又称碱基对置换，指DNA分子某一位点上所发生的一种碱基对变成另一种碱基对的突变，分为转换（同类碱基之间）和颠换（嘌呤碱基与嘧啶碱基之间）

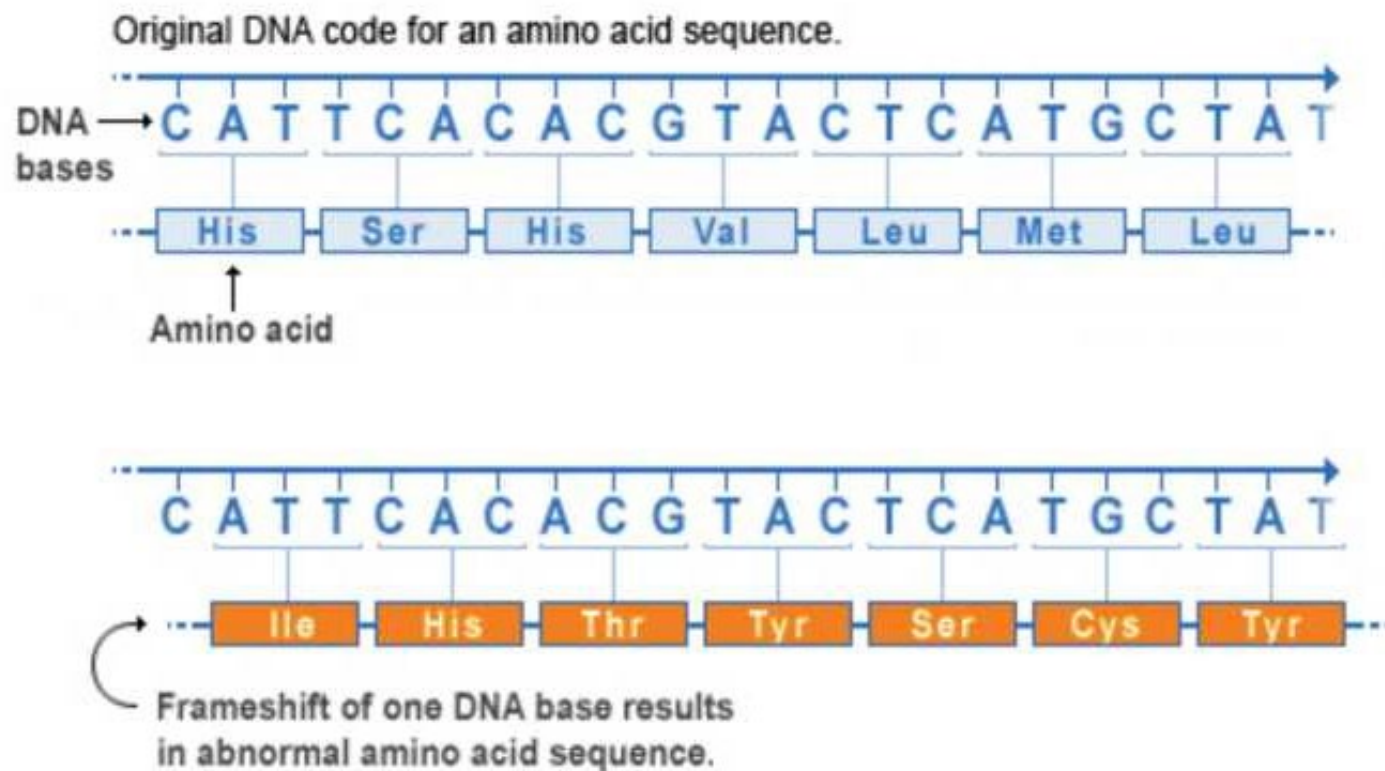


DNA损伤、修复和突变

❖ 移码突变

指一个蛋白质基因的**编码区**发生的一个或多个核苷酸**非3整数倍**的缺失或插入，从而导致阅读框发生改变，致使突变下游的氨基酸序列发生根本性改变

Frameshift mutation



U.S. National Library of Medicine

A frameshift mutation changes the amino acid sequence from the site of the mutation.