

DNA 拓扑学与拓扑异构酶

王理开 徐晓利

(中山医科大学生化教研室 广州)

提 要

生物体内 DNA 的拓扑态对其生理功能具有重要意义。本文简述 DNA 拓扑学的基本知识及拓扑异构酶的概况。

一、DNA 拓扑学

拓扑学是数学的一个分支,它研究形状或图象在逐一连续变化时保持不变的性质。此种性质称为拓扑性质。例如在一块橡皮膜上的几何图形,如一个圆,此圆的圆周上的点与圆内某点 i 及圆外某点 o 的位置关系,具有拓扑性质,当使橡皮膜作各种弹性操作,如伸拉、扭折及各种变形时,圆周与 i 及 o 的位置关系始终保持不变, i 仍在圆内, o 仍在圆外。

DNA 由两股纤长的脱氧核糖核酸链构成,它们相互盘绕而形成复杂的空间结构,也具有拓扑性质。例如两条相互盘绕的闭合环状 DNA,无论 DNA 链如何扭曲、盘绕或伸拉,两链之间相互盘绕的次数也不会改变,因此称为拓扑环绕数。Vinograd 和 Wang 对 DNA 拓扑学的研究作了先驱性工作。前者于 1965 年提出了 DNA 超螺旋的概念,后者于 1971 年发现了能改变 DNA 拓扑态的第一个酶(ω -蛋白)。其后由于数学家与生物化学家的共同努力,使 DNA 拓扑学的研究获得较大进展。

DNA 在空间结构上极其复杂,用拓扑学方法进行研究有很大优越性,表现在: 1. 拓扑性质恒定性,双链闭环 DNA 只要保持不断裂,其拓扑性质无论在体内或体外均保持不变; 2. 定量性, DNA 结构可用数学进行定量,而且一些

拓扑学概念可用带子模型获得直觉的理解; 3. 强力性,无论 DNA 拓扑异构体数量如何巨大,都可用数字加以区分。

DNA 拓扑学主要分打结与解结;连环与解连环;超螺旋与松弛等方面。

DNA 纤长而柔软,在空间运动时,特别在复制末期及染色体部位专一性重组时,会出现打结。图 1a 是最简单的闭环 DNA 打结,呈三叶草形缚紧。有时则出现更复杂的打结,如 P_4 嗜菌体头部 DNA 由许多双链闭环 DNA 构成,每个闭环 DNA 含 11,000 碱基对,它们呈多样化打结而使体积不同程度压缩,电泳迁移率表现极不均一,如果完全解结,闭环 DNA 则呈松弛态,体积增大,电泳迁移率减慢并且一致。DNA 拓扑异构酶催化 DNA 的断裂,链通过缺口及链的再连接,因而可进行解结。

闭环 DNA 相互套环,则形成连环体,如图 1b。依套环的 DNA 数不同,可为二连环体、三连环体……等。闭环 DNA 的复制末期,子链

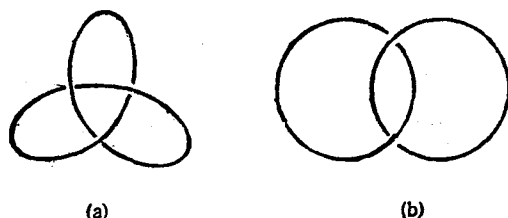


图 1 打结 a 与连环 b

DNA 与母链 DNA 将形成连环体, 由于体内存在 DNA 拓扑异构酶, 可催化解连环反应, 使子链 DNA 能与母链 DNA 分开。锥体虫的动肌体 DNA (K-DNA) 由许多双链闭环 DNA 构成, 它们相互套环形成巨型连环体, 而呈网状结构。

超螺旋为 DNA 在双螺旋结构基础上的进一步盘绕扭曲, 可分为两种(图 2)。一种是闭环 DNA 形成相互盘绕式超螺旋 (Interwound Supercoil), 亦称同向超螺旋 (Plectonemic Supercoil)。此种 DNA 一般较小, 存在于质粒、线粒体、叶绿体和某些病毒 DNA 中。另一种是螺线管式超螺旋 (Solenoidal Supercoil), 存在于真核细胞染色质中。DNA 环绕组蛋白八聚体而构成核小体, 每个核小体为 DNA 环绕 1.75 圈, 许多核小体连结成串珠状。真核细胞染色质的 DNA 超螺旋结构极其复杂, 经数级的超螺旋使近两米长的 DNA 链能压缩至微小体积而容纳于一个细胞核中。

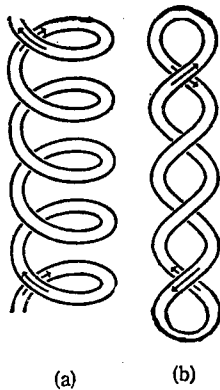


图 2 两种形式超螺旋

a. 螺线管式超螺旋 b. 相互盘绕式超螺旋

双链闭环 DNA 超螺旋的拓扑学是研究得较为广泛和深入的。它可用如下方程式描述:

$$LK = T_w + W,$$

式中 T_w 称为双链环绕数或全绕率, 是在一定条件下 DNA 双链环绕螺旋轴旋转的周数。它不一定是整数, 受环境因素(如湿度、离子强度、解链剂等)的影响, 与 DNA 的构象有关。在高湿度、低离子强度条件下(与机体内环

境相似), DNA 一般呈 B 型构象 (典型的 Watson-Crick DNA 结构), 每 10 或 10.4 碱基对环绕螺旋轴旋转一周。已知 DNA 的构象及碱基对长度, 可计算出其双链环绕数。

W , 称为超螺旋数或拧数。在带子模型中, 螺旋轴拧转的周数即为拧数, 也不一定是整数。 T_w 和 W , 是几何性质的量, 它们可以互相转换而彼此消长。

LK 称为连环数或拓扑环绕数, 是两条相互盘绕的闭环 DNA 中, 一条链盘绕另一条链的周数。它一定是整数。只要 DNA 链不断裂, 连环数就保持不变, 因此 LK 是拓扑性质的量。如其中一条 DNA 链发生断裂, 严格地说 LK 等于 0。 LK 有正负值, 呈右手螺旋盘绕的 DNA 规定为正值。在模型系统中, 将相互盘绕的 DNA 投影于平面上, 两链交点总数的一半即为 LK 。生物体内 DNA 的 LK 可通过计算 T_w 与 W 之和而求得。例如某双链闭环 DNA 含 5,000 碱基对, 在体内条件下呈 B 型构象, 实验测得其超螺旋数为 -25, 则

$$LK = T_w + W, = \frac{5,000}{10} + (-25) = 475$$

当连环数小于双链环绕数, 即 DNA 双链相互盘绕不足 (underwound) 时, 产生负超螺旋。当连环数等于双链环绕数时, DNA 处于松弛态, 不产生超螺旋。当连环数大于双链环绕数, 即 DNA 双链相互盘绕过度 (Overwound) 时, 产生正超螺旋。

至今测得的自然界存在的 DNA 均为负超螺旋。双链闭环 DNA 的相互盘绕式负超螺旋是右手性的。读者可作如下简单的模型操作而获得直觉理解。取一根长而稍扁的橡皮条代表双股螺旋 DNA (橡皮两边各代表 DNA 单链)。当连环数等于双链环绕数时, 橡皮不扭转而将两端连接起来, 此时形成松弛态闭环 DNA。当连环数小于双链环绕数, 即双螺旋处于盘绕不足时, 应将橡皮条一端固定, 另一端按顺时针方向 (左手性旋转) 扭转若干次, 然后将两端连接起来, 此时可见橡皮条呈右手性相互盘绕式超螺

旋。相反,当连环数大于双链环绕数时,橡皮条一端固定,另一端按上述相反方向扭转,然后将两端连接起来,可得左手性相互缠绕式正超螺旋。

真核细胞染色质的 DNA 亦处于负超螺旋态,但它环绕核小体是呈左手性的螺线管式(或间歇螺线管式)超螺旋。这与双链闭环 DNA 的右手性相互盘绕式负超螺旋并不矛盾。读者可通过如下的模型操作而获得直觉理解。仍用一根橡皮条代表双股螺旋 DNA,将橡皮条一端固定,另一端顺时针扭转(代表负超螺旋)若干次,然后可按左手性环绕于一圆柱形木棒上(类似 DNA 环绕核小体),橡皮扁面可紧贴木棒表面旋转而不呈现橡皮自身的扭转,再将橡皮两端连接起来,除去木棒,原来左手性螺线管式负超螺旋此时将转变成右手性相互盘绕式负超螺旋,如图 3 所示。因此两种负超螺旋虽然手性不同,但本质是一致的。

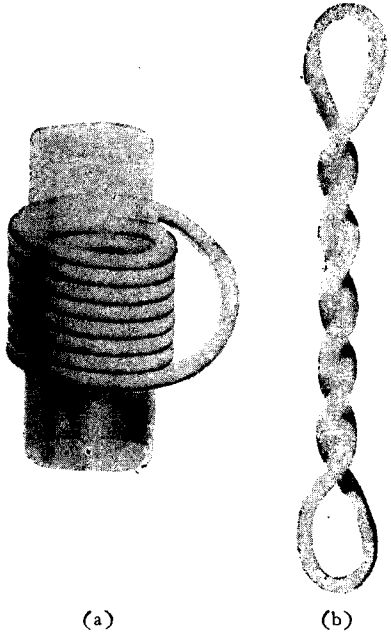


图 3 负超螺旋由左手性螺线管式 (a) 转变成右手性相互盘绕式 (b)

另一些学者用方程式 $a = \beta + \tau$ 描述双链闭环 DNA 的拓扑学,与上述方程式意义相同, a 为 DNA 拓扑环绕数, β 为双链环绕数, τ 为超螺旋数。早期文献中,还用 a 代表连环数, a^0 代表松弛态时两链相互盘绕数(相当于双链环

绕数), Δa 代表两者之差(相当于超螺旋数)。

$$\Delta a = a - a^0 \text{ 或 } a = a^0 + \Delta a$$

溴乙啶是个平面分子,能与 DNA 结合,嵌入 DNA 双链之间而使 DNA 螺旋解开,因而可降低双链环绕数。初期认为每个溴乙啶分子可使螺旋解开 12° ,后来用电泳、粘度法等确定每个溴乙啶可使螺旋解开 26° ,14 个左右溴乙啶可解开一圈 DNA 螺旋。随着负超螺旋逐渐被解开,其沉降速度亦逐渐减小,当 DNA 过渡至松弛态时,其沉降速度减至最小,进一步增加溴乙啶浓度, DNA 则转变成正超螺旋,此时沉降速度又逐渐增加,如图 4。

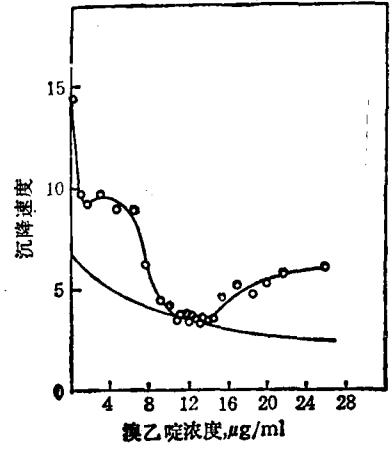


图 4 溴乙啶浓度与闭环 DNA 沉降速度关系

随着溴乙啶浓度增加, DNA 负超螺旋向正超螺旋过渡,可从方程式的计算证明。例如在上述同一例的双链闭环 DNA,含 5,000 碱基对,连环数为 475,超螺旋数为 -25 。现向该 DNA 溶液加入某一浓度的溴乙啶,原来 DNA 链每 10 碱基对互绕一圈可松解为每 11 碱基对互绕一圈,此时

$$\begin{aligned} \text{超螺旋数} &= \text{连环数} - \text{双链环绕数} \\ &= 475 - \frac{5,000}{11} = +20 \end{aligned}$$

由计算可知,原来负超螺旋 DNA 由于溴乙啶浓度增加已转变成正超螺旋。必须指出,在这种转变过程中, DNA 没有断裂, LK 保持不变,故 DNA 的拓扑性质没有改变,若除去溶液中的溴乙啶, DNA 将恢复为原来的负超螺旋。

旋态。

DNA 超螺旋程度可用超螺旋密度 (σ) 来表示, 它的含意是每一圈 DNA 螺旋所含的超螺旋数。

$$\sigma = \tau / \beta^0$$

其中 β^0 等于 DNA 碱基对的 1/10。

自然界生物体内 DNA 的超螺旋密度一般在 $-0.03 \sim -0.09$, 平均为 -0.06 。

测定 DNA 超螺旋密度的方法可分为染料(溴乙锭)法和非染料法两种,前者包括染料-沉降速度法 (Dye/S) 和染料-平衡密度法 (Dye/ θ), 后者包括电泳法, 碱-平衡密度法, 电泳法等。其中染料-平衡密度法有较多优点, DNA 用量少, 不要求很纯, 准确度较高, 只需一次离心即可得到结果, 任何大小的 DNA 都可测定等。故此法应用较为广泛。分子较小的 DNA 用琼脂糖凝胶电泳法, 测出超螺旋与松弛 DNA 之间的梯形带数目, 即为超螺旋数, 可进而计算出超螺旋密度。此法较为简便, 但不易测得准确, 有些梯形带可能不明显, 因此测得的超螺旋数可能为最小值。一些 DNA 的超螺旋密度值列于表 1。

表 1. DNA 超螺旋密度

宿 主	DNA	测定方法	超螺旋密度
大肠杆菌	质粒 15	Dye/S	-0.061
	ϕ X RF ₁	Dye/S	-0.057
	pSM ₁	Dye/ θ	-0.063
	pSM ₂	Dye/ θ	-0.075
	pSM ₄	Dye/ θ	-0.068
	pSM ₅	Dye/ θ	-0.092
	pSM ₇	Dye/ θ	-0.088
	pSM ₈	Dye/ θ	-0.088
	pSM ₉	Dye/ θ	-0.088
	λ b ₂ b ₃ c	Dye/ θ	-0.032
猴子	SV40 病毒	平均值	-0.057
小鼠	多瘤病毒	平均值	-0.048
牛	多瘤病毒	Dye/S	-0.053
鸡肝	线粒体	Dye/S	-0.055
兔肝	线粒体	Dye/ θ	-0.069
大鼠肝	线粒体	Dye/ θ	-0.071
小鼠 L 细胞	线粒体	Dye/ θ	-0.035
HeLa 细胞	线粒体	Dye/ θ	-0.061

二、DNA 拓扑异构酶

在同一种双链闭环 DNA 中, 它们的碱基对组成、数目、顺序均相同, 但连环数不同而构成 DNA 拓扑异构体。不同的拓扑异构体在空间结构上不同, 沉降速度及电泳迁移率各异。DNA 拓扑异构酶是催化 DNA 拓扑异构体相互变换的一类酶。在体内, DNA 拓扑异构酶可调节和修饰 DNA 的拓扑态。

1. 拓扑酶的种类及其主要理化特性

在初期, 拓扑酶的分类根据其能松弛超螺旋 DNA 或引进 DNA 超螺旋而分为 R 型和 T 型。R(+) 拓扑酶松弛负超螺旋 DNA, R(-) 拓扑酶松弛正超螺旋 DNA, 两者均称 I 型拓扑酶, 能同时松弛正和负超螺旋 DNA 者为 II 型拓扑酶。DNA 迴旋酶可引进 DNA 超螺旋, 属 T 型拓扑酶。

进入八十年代以来, 随着对拓扑酶作用机制研究逐渐深入, 拓扑酶的分类转为根据该酶对单链 DNA 或双链 DNA 的作用而分为 I 型和 II 型酶两类, 每类包含若干亚型。

I 型拓扑酶通过对单链 DNA 的切断, 配对链通过切口及断端再连接而改变 DNA 拓扑态。一步反应可改变连环数 1。作用过程如图 5。II 型拓扑酶通过对双链 DNA 同时切断, 另一段 DNA 通过切口, 然后断端按原位连接而改变 DNA 拓扑态。一步反应可改变连环数 2, 作用过程如图 6。

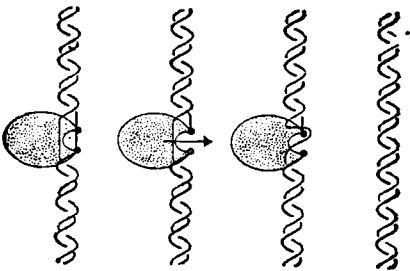


图 5 拓扑酶 I 作用过程示意图

用带子模型操作较易理解拓扑酶 II 一步反应可改变连环数 2。读者可用闭合的长条纸带子代表双链闭环 DNA, 带子两条边各代表

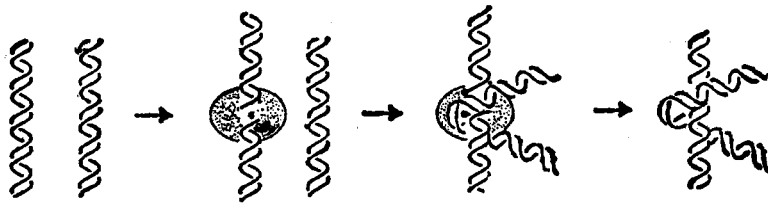


图 6 拓扑酶 II 作用过程示意图

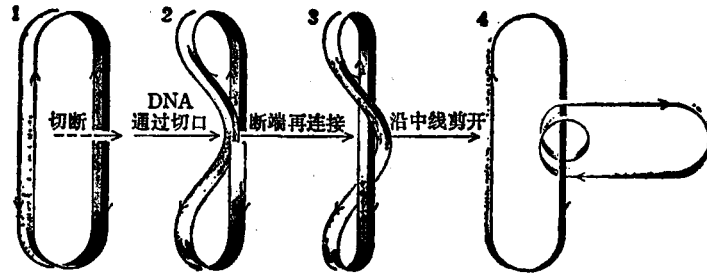


图 7 拓扑酶 II 一步反应改变连环数 2 的模型操作

两条 DNA 单链。将带子剪断，固定断端，带子另一段通过切口一次，再将断端按原位连接，再沿带子纵轴剪开而一分为二，此时可见代表 DNA 单链的两条闭合带子互相缠绕了两周(图 7)，可见拓扑酶 II 的一步作用可改变连环数 2。

现将 I 型及 II 型拓扑酶的主要亚型及理化特性列表简述如下。

其中真核细胞 I 型拓扑酶广泛存在于各种生物中。在不同种属中测出的此酶活性曾被称为许多不同的名称。如在果蝇、小牛胸腺的称为 ω -蛋白，在大鼠肝和酵母的称为解缠酶，在 KB 细胞、爪蟾卵、鸡红细胞和猴子的称为松弛酶，在 HeLa 细胞、小鼠、痘苗病毒的称为缺口-封闭酶等，也曾称为转节酶。现已趋于统称为拓扑酶 I。

近年还发现一种新的 I 型酶，称拓扑酶 III，它能催化负超螺旋 DNA 的松弛反应，但它与原核细胞的 ω -蛋白是不同的。

应该指出，在某些条件下拓扑酶切断 DNA 链并转移它所结合的链至另一链的接受基因上，此时拓扑酶起 DNA 链转移酶的功能。有一些酶正常功能是起 DNA 链转移作用的，但在适当条件下同样可催化 DNA 异构化作用。

例如，与 DNA 复制启动有关的 ϕ X174 嗜菌体的 A 基因蛋白，fd 嗜菌体的 II 基因蛋白，与部位专一性重组有关的 λ 嗜菌体 int 基因产物，P1 嗜菌体 cre 基因产物等。这些酶可认为是特殊的拓扑酶。为了与这些酶相区别，上述表中所列的 I 型和 II 型拓扑酶有时亦称为原型拓扑酶 (Archetype Topoisomerase)。

2. 拓扑酶的活力测定

无论原核细胞还是真核细胞的拓扑酶的活力测定都是用双链闭环 DNA 作底物的。真核细胞染色质 DNA 呈线性，分子量巨大，且与组蛋白结合，分离提纯过程无法保存原来的拓扑态。目前尚不能用真核细胞染色质 DNA 作为底物。用双链闭环 DNA 作为底物测得的真核细胞拓扑酶活性是否代表真核细胞拓扑酶在体内催化的真实反应，尚需实验证明。目前测定拓扑酶活力最有效而简便的方法是琼脂糖凝胶电泳，用肉眼观察 DNA 拓扑异构体的转化情况而了解酶活力。

I 型酶的活力测定用双链闭环超螺旋 DNA 作底物，测定其松弛超螺旋的活力。酶反应后走琼脂糖凝胶电泳，然后用溴乙啶染色，在紫外光下观察结果。在酶的催化下，超螺旋 DNA 转变成松弛 DNA，松弛不完全的 DNA

表2 DNA 拓扑异构酶简介

类型	主要亚型	催化拓扑异构化反应	主要理化性质	发现者及时间
I 型	原核细胞 拓扑酶 I	松弛负超螺旋 DNA, 单链 DNA 的打结或解结, 连环或解连环	早期称为 ω -蛋白, 由单肽链构成, 分子量 10—11 万。反应需 Mg^{2+} , 不需 ATP。单价阳离子及单链 DNA 有抑制作用。松弛负超螺旋 DNA 作用不完全, 能与 DNA 单链 5' 端共价结合形成中间物	1971 年, J. C. Wang 在大肠杆菌发现
	真核细胞 拓扑酶 I	松弛正或负超螺旋 DNA, 其他反应同上	由单肽链构成, 早年测得分子量 6—7 万, 近年测得为 10—13 万, 前者可能是后者的水解片段。反应不需 Mg^{2+} 或 ATP。0.15—0.2 mol/L 单价阳离子时活性最大, HMG 蛋白及组蛋白 H ₁ 促进酶活性。能完全松弛正或负超螺旋, 能与单链 DNA 3' 末端共价结合形成中间物	1972 年, J. J. Champoux 在小鼠发现
II 型	DNA 回旋酶 (细菌)	引进 DNA 负超螺旋, 双链 DNA 的打结或解结, 连环或解连环, 无 ATP 时, 缓慢松弛负超螺旋 DNA	由两 A 亚基及两 B 亚基构成四聚体, A 亚基分子量 10—10.5 万, 能破裂 DNA 链并与其 5' 端片段共价结合成中间物, B 亚基分子量 9—9.5 万, 可能与 ATP 酶活性有关, 全酶分子量 40 万。反应需 Mg^{2+} 及 ATP, 精胺促进酶活性, 新生霉素、香豆霉素抑制酶活性	1976 年, M. Gellert 在大肠杆菌发现
	T ₄ 噬菌体 拓扑酶 II	松弛正或负超螺旋 DNA, 双链 DNA 打结或解结, 连环或解连环	由分子量为 5.65, 4.8 及 1.8 万的三个亚基构成。反应需 Mg^{2+} 及 ATP, 4.8 万亚基能与 DNA 的 5' 端共价结合形成中间物。亦能破裂及结合单链 DNA, 酶活性不受新生霉素抑制	1979 年, L. F. Liu 等在 T ₄ 噬菌体感染的大肠杆菌中发现
	真核细胞拓 扑酶 II	与 T ₄ 噬菌体拓扑酶 II 相同	由单肽链构成, 分子量 15—18 万。反应需 Mg^{2+} 及 ATP。是某些抗肿瘤药物的作用目标, 它中介这些药物对 DNA 的破裂反应。酶活性受较高浓度的新生霉素及香豆霉素 A 抑制	1980 年, M. I. Baldi 等在爪蟾生发泡中发现
	逆向 DNA 回 旋酶(细菌)	引进 DNA 正超螺旋, 无 ATP 时, 松弛负超螺旋 DNA	存在于嗜热性细菌中, 反应在 55—75℃ 进行, 需 Mg^{2+} 和 ATP	1984 年, A. Kikuchi 等在酸性嗜热性细菌 (Sulfolobus) 发现

则呈梯形带, 分布于超螺旋与松弛 DNA 之间 (图 8, 见图版 II)。

DNA 回旋酶的活力测定用双链闭环松弛 DNA 作底物, 反应液中应含 Mg^{2+} 、ATP、精胺等。酶反应后出现负超螺旋 DNA 产物 (图 9, 见图版 II)。

真核细胞拓扑酶 II 的活力测定, 可用 P₁ 噬菌体头部 DNA 作底物, 测定此酶催化解结的活力。此种双链闭环 DNA 呈多样化打结, 由于结的松紧度极不一致, 电泳时 DNA 呈迁移率极不一致的涂布状。拓扑酶 II 催化解结反应而使 DNA 松弛, 完全松弛的 DNA 电泳迁移率降低, 并且呈一致性 (图 10, 见图版 II)。也可用动肌体 DNA (K-DNA) 作底物, 测定此酶催化解连环反应的活力。K-DNA 由许多双链闭环 DNA 相互套环而成巨大连环体, 电泳几乎停留在原点, 拓扑酶 II 催化解连环反应, 使 K-DNA 解连环为各个双链闭环 DNA, 后者电泳迁移率增高 (图 11, 见图版 II)。

某些酶活力测定需鉴别反应产物中存在的负超螺旋还是正超螺旋 DNA, 此时可用双向凝胶电泳法。将反应产物走完第一向琼脂糖凝胶电泳后, 浸泡于溴乙锭溶液中 1 小时, 然后转 90° 角再走第二向电泳。溴乙锭使负超螺旋 DNA 松弛而降低负超螺旋拓扑异构体的电泳迁移率, 溴乙锭使正超螺旋 DNA 的超螺旋密度增加而使正超螺旋拓扑异构体的电泳迁移率增加, 于是可区分出正或负超螺旋 DNA (图 12, 见图版 III)。

3. 关于拓扑异构酶的生物学功能

在原核细胞, 维持 DNA 于一定的超螺旋度对其执行许多细胞过程 (如 DNA 复制、转录、重组、外来 DNA 的整合作用等) 都是非常重要的。大肠杆菌含 DNA 回旋酶及拓扑酶 I, 前者引入 DNA 负超螺旋, 后者松弛负超螺旋, 两者作用的平衡可维持 DNA 于一定的超螺旋度。一些大肠杆菌突变种缺失拓扑酶 I 基因, 但仍能正常生长, 说明拓扑酶 I 非生长必需。

可能的解释是大肠杆菌的迴旋酶发生了补偿性突变,或存在其他类的拓扑酶而使拓扑酶 I 缺失得到补偿,因而仍能维持 DNA 超螺旋密度的平衡。但迴旋酶是细菌生长必需的, DNA 复制的启动及复制末期子链 DNA 的分离都须有迴旋酶的参与。饶有趣味的是迴旋酶的生成是由 DNA 超螺旋密度来调节控制的,降低 DNA 超螺旋密度可刺激迴旋酶基因的表达。

真核细胞拓扑酶的生物学功能尚不清楚,文献[10]已作了讨论。拓扑酶 I 广泛分布于各种真核生物中,并广泛存在于生物的各器官组织中。我们对大鼠肝、脾、肾、脑、肺及再生肝、癌变肝和胚胎组织进行了活力检测,结果表明这些组织均存在拓扑酶 I; 拓扑酶 I 基因在胚胎早期就已开始表达,并且在以后发育、生长、成熟过程,此酶基因均处于开放状态。用拓扑酶 I 抗体作萤光免疫定位表明它倾向于分布在染色质的活性转录部位。痘苗病毒的核心颗粒含有许多与转录有关的酶,其中也可测出拓扑酶 I 活力。不成熟的爪蟾卵的核仁一般测不出 DNA 复制的活性,但转录活性很活跃,此核仁亦可测出拓扑酶 I 活性。rRNA 基因上游有 DNase I 高敏感部位,拓扑酶 I 在 SDS 存在下可使 DNA 断裂,断裂的位置很接近 DNase I 高敏感部位。在体外,拓扑酶 I 能与核小体紧密结合, HMG 蛋白可促进拓扑酶 I 活力。从

这些事实看来,拓扑酶 I 似与基因的表达或表达的调节有关。一些患自身免疫性疾病(如硬皮病)的病人血清存在拓扑酶 I 抗体,其意义有待深入研究。

真核细胞拓扑酶 II 已被鉴定为有丝分裂时染色体的骨架蛋白。在细胞周期的 S 期,拓扑酶 II 活力显著增加,肝细胞再生,淋巴细胞受刀豆球蛋白 A 刺激而增生时,拓扑酶 II 活力均显著增加。这些事实说明真核细胞拓扑酶 II 似与 DNA 的复制关系较密切。近年来的研究表明,拓扑酶 II 是某些抗癌药物的作用目标,这些抗癌药物要通过拓扑酶 II 的参与和中介而使肿瘤细胞的 DNA 破裂,从而获得抗癌效果。

参 考 文 献

- [1] Bauer, W. R.: *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 1978, 7, 287.
- [2] Champoux, J. J.: *Ann. Rev. Biochem.*, 1978, 47, 447.
- [3] Gellert, M.: *Ann. Rev. Biochem.*, 1981, 50, 879.
- [4] Bauer, W. R. et al.: *Scientific Amer.*, 1980, 243(1), 100.
- [5] Wang, J. C.: *Scientific Amer.*, 1982, 24(1), 84.
- [6] Kikuchi, A. et al.: *Nature*, 1984, 309, 677.
- [7] Drlica, K.: *Microbiol. Rev.*, 1984, 48(4), 273.
- [8] Wang, J. C.: *Ann. Rev. Biochem.*, 1985, 54, 665.
- [9] Wasserman, S. A. et al.: *Science*, 1986, 232, 951.
- [10] 曾桂超:《生物化学杂志》, 1986, 2(1), 1.

[本文于 1987 年 8 月 3 日收到]

(上接第 362 页)

- [11] Shelton J. A.: *J. Reproductive Immunology*, 1985, 8, 321.
- [12] Liang Z. G.: *J. Exp. Zoology*, 1986, 240, 377.
- [13] Goldman R. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1983, 80, 3774.
- [14] Shelton J. A.: *Biology of Reproduction*, 1985, 32, 556.
- [15] Goldberg E.: *Immunological Approaches to contraception and Promotion of fertility*, Plenum Publishing Corp. 1986. 219—230.
- [16] Shelton J. A.: *Biology of Reproduction*, 1986, 35, 873.
- [17] Wheat T. E.: *Molecular Immunology*, 1985, 22, 643.
- [18] Wheat T. E.: *Molecular Immunology*, 1985, 22, 1195.
- [19] Beyler S. A.: *Biology of Reproduction*, 1985, 32, 1201.

[本文于 1987 年 6 月 5 日收到]

王理开等: “DNA 拓扑学与拓扑异构酶”一文的附图 8,9,10,11,

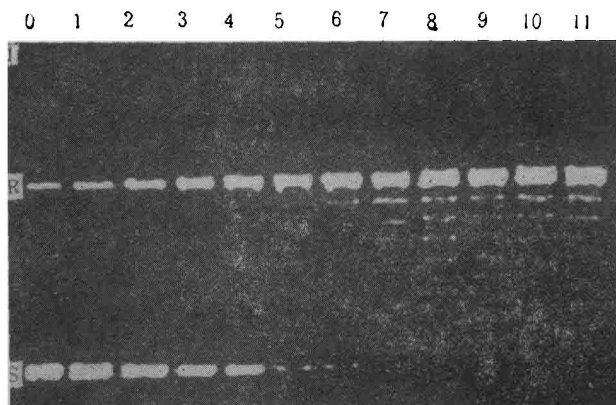


图 8 拓扑酶 I 松弛超螺旋 DNA 反应
O, 对照; 1—11, 酶反应, 反应时间逐渐增加; I, 原点;
R, 松弛 DNA; S, 超螺旋 DNA

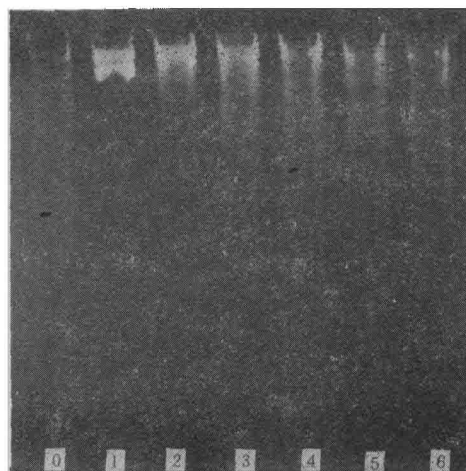


图 10 拓扑酶 II 解结反应
O, P₁DNA 对照; 1—6, 酶反应,
酶浓度逐渐减少

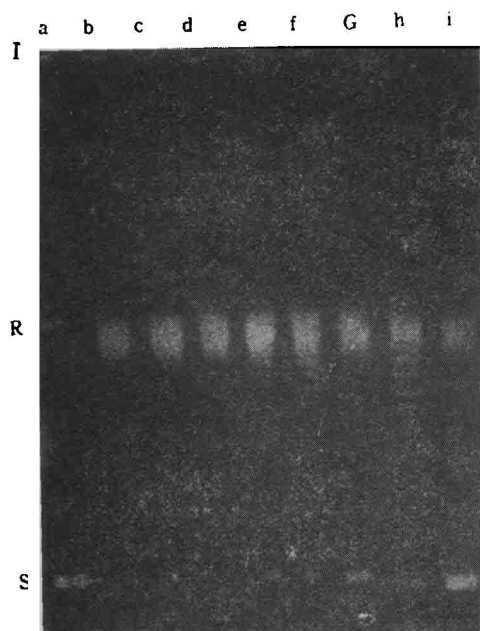


图 9 DNA 螺旋酶引进 DNA 超螺旋反应
a. 超螺旋 DNA 对照; b. 松弛 DNA 对照; c—i,
酶反应, 酶含量逐渐增加。I, 原点; R, 松弛 DNA;
S, 超螺旋 DNA

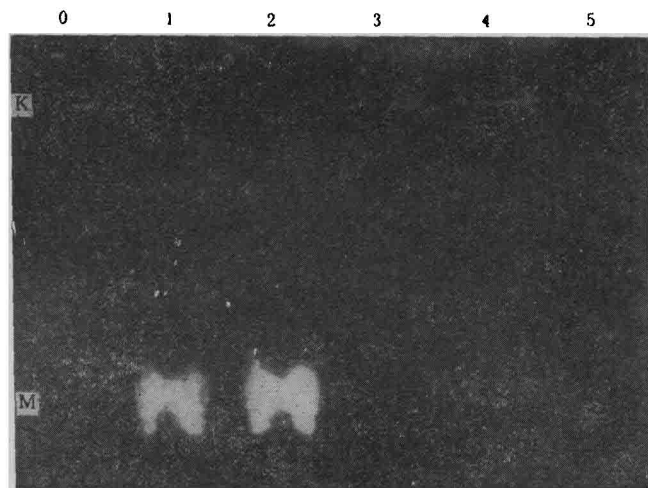


图 11 拓扑酶 II 解连环反应
O, K-DNA 对照; 1—5, 酶反应, 酶浓度逐渐减少。
K, K-DNA; M, 小环状 DNA

王理开等：“DNA “拓扑学与拓扑异构酶”一文的附图 12

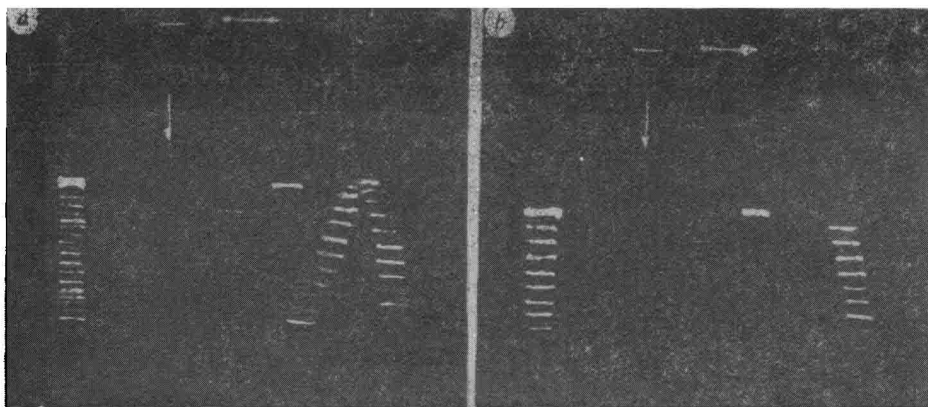


图 12 双向电泳鉴别正、负超螺旋 DNA

- a. 对照,含正和负超螺旋 DNA,左侧为单向电泳,右侧为双向电泳,DNA 呈拱形分形,拱形左翼为负超螺旋 DNA,右翼为正超螺旋 DNA
- b. 实验,左侧为单向电泳,右侧为双向电泳,只见存在拱形右翼,说明样品只含正超螺旋 DNA

周世宁：“一个新的细胞粘菌肌动蛋白基因”一文中的图 3

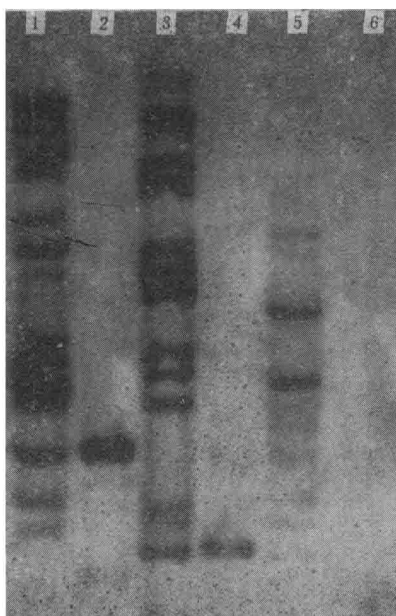


图 3 79A 片段与细胞粘菌基因组 DNA 的 Southern 杂交

样品 1, 3, 5 均为基因组 DNA, 分别被下列各组酶消化: HindIII/Bgl II, HpaII/Bgl II, TagI/BglII, 样品 2, 4, 6 为 pMB9—79 DNA, 依次分别被上述各组酶消化, 作为对照。探针为 79A 的 Hind III-Bgl II 片段