

诺贝尔化学奖和拉斯克基础医学研究奖共同奖励 DNA 修复机制研究

杭海英

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0321

2015 年诺贝尔化学奖授予瑞典出生的托马斯·林达尔(Tomas Lindahl)、美国人保罗·莫里奇(Paul Modrich)和土耳其出生的阿齐兹·桑卡尔(Aziz Sancar), 以奖励他们在“DNA 修复机制研究”中的杰出贡献。2015 年拉斯克基础医学研究奖虽然也奖给 DNA 损伤修复主题, 但获奖人却不同, 授予了两位美国人伊夫林·威特金(Evelyn M. Witkin)和史蒂芬·埃利奇(Stephen J. Elledge), 以奖励他们关于“DNA 损伤响应——保护所有生物基因组的机制”的发现。

在每个细胞中每天都会产生成千上万的 DNA 损伤。这些损伤来源于细胞内和生物体内的生理活动以及外源的辐射(如紫外线)、化学物质的侵袭。如果没有一套修复机制, 生理活动就不能正常进行, 生命不能传代延续。自然进化过程中, 生物进化出一套极其复杂又高度协调的 DNA 损伤监控和修复系统, 以分别应对和修复种类繁多的 DNA 损伤。另外, 正常生命活动过程中伴随各种 DNA 结构改变, 如 DNA 复制错误、复制过程中单链形成, 抗体基因形成中的 DNA 断裂、重组和突变, DNA 修饰和去修饰等, 这些过程均需 DNA 结构状态监控和修复因子参与。只有 DNA 修复能力胜过 DNA 损伤产生, 才能维持正常生命活动。DNA 损伤监控和修复基因的突变可造成多种疾病(如肿瘤、退行性神经活动失调、免疫疾病等)的发生。过度暴露于环境 DNA 损伤因子(如吸烟和过度紫外线照射), 尽管有正常修复系统也会导致相关疾病^[1]。

目前已知的更正和修复 DNA 方式包括:
a. DNA 多聚酶复制错误自动纠错; b. 简单碱基错误直接回复修复(如紫外线造成的嘧啶碱基二联体光驱动酶解聚修复); c. 碱基切除修复(化学修

饰、氧化等体积变化不大的错误碱基的去除); d. 错配修复(DNA 双链不匹配的修复); e. 核苷酸切除修复(DNA 双链上连接有体积较大分子的修复, 这类结合分子称为加合物, 多为致突变致癌化学物质, 如三四苯并芘); f. DNA 双链断裂同源重组修复(依赖于无错同源 DNA 链为模板的修复); g. DNA 双链断裂末端链接修复(不依赖同源链的 DNA 断端链接修复); h. DNA 跨错修复^[1]。图 1 对几种重要的 DNA 损伤和修复方式进行了总结。

拉斯克基础医学研究奖获奖人威特金 1944 年就开始研究细菌抗辐射机制。1944 年她鉴定出具有抗辐射能力的大肠杆菌^[2], 并且发现抗辐射的特征是可遗传的, 开启了细菌抗辐射的遗传学研究。后来越来越多的证据证明, DNA 是遗传物质和基因载体, 威特金的研究逐渐聚焦到大肠杆菌对 DNA 损伤响应的研究, 她无疑是研究 DNA 损伤响应和修复的先驱。她发现, 细菌病毒(即噬菌体)的释放、易错类型的 DNA 复制和细菌生长及分裂等 DNA 损伤响应具有许多共同的特征。这些研究为后来提出的细菌 DNA 损伤应急 SOS 机制奠定了基础。1970 年, 米罗斯拉夫·拉德曼(Miroslav Radman)将 SOS 响应机制的假说写在一封信中寄给业内多个科学家, 其中包括威特金。后继的研究证实了 SOS 响应机制的存在^[3-4]。现在知道, SOS 响应机制还参与了 DNA 的无误差修复(核酸切除修复), SOS 系统包括 40 多个基因。SOS 的关键蛋白是分子质量为 36 ku 的 RecA。当 DNA 受到损伤并衍生出单链 DNA 时, RecA 以多聚链状方式结合到单链 DNA 上。这种状态的 RecA(RecA*)促进结合于多个基因 5' 端的基因阻遏蛋白 LexA 的部分水解, 解除其对下游基因的抑制, 诱发这些下游基因

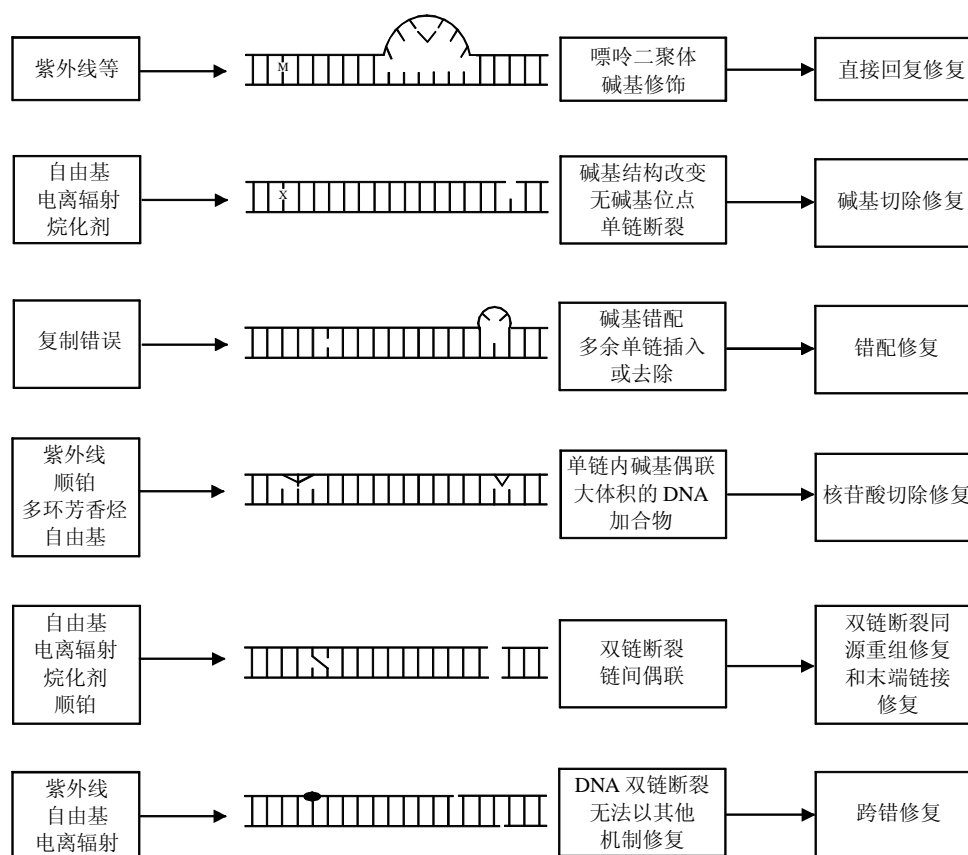


图 1 几种重要的 DNA 损伤及相应的修复方式

的高表达, 这些高表达的蛋白进而参与各种 SOS 应急反应. *RecA** 还切除噬菌体基因阻遏蛋白促进噬菌体的大量繁殖及细菌裂解. 另外, *RecA** 也直接或间接切断 *UmuD* 形成 *UmuD'*, 进而促进易错重组修复. 这是跨错修复最早的工作.

诺贝尔化学奖获得者林达尔的主要贡献是揭示碱基切除修复的分子机理. 这个通路修复碱基结构改变, 如氧化、脱氨基、甲基化等. 细胞有各种 DNA 糖苷酶识别各类损伤的碱基, 并将损伤碱基从糖链上切割下来, 这是修复的第一步. 后继步骤包括切除不带碱基的糖单位、重新填入碱基和连接单链断头. 这个过程有许多酶和辅助蛋白因子参与, 以保证其高效准确进行. 林达尔 1974 年从大肠杆菌中分离了第一个能够识别受损碱基的糖苷酶 (DNA N-glycosidase)^[5]. 后继, 又研究了该通路碱基切除后的步骤. 1996 年, 他用体外重组各种人碱基修复蛋白因子的方法证明人细胞也有碱基切除体系^[6]. 林达尔的研究工作是 DNA 修复领域第一个研究清楚的需要多因子参与的修复通路. 由于碱基损伤在细胞内频繁发生, 该机理的揭示具有重要

意义, 对于研究其他修复通路机理有至关重要的启迪作用.

诺贝尔化学奖获得者桑卡尔的主要贡献是揭示核苷酸切除修复分子机制. 这个通路修复 DNA 双链结合加合物或明显异常结构改变. 在碱基切除修复通路中, 由不同的蛋白质识别不同种类碱基损伤. 而在核苷酸切除修复中, 损伤识别蛋白具有包容性, 同一个识别蛋白能够识别各种不同损伤, 使得这种修复能够应对多种核酸损伤. 基本过程是识别损伤、在受损单链损伤点两侧附近切断单链、去除含损伤的这段单链, 重新以对侧完整互补链为模板合成单链并连接两端断点完成修复过程. 桑卡尔 1983 年发表的论文显示, 用多个纯化的大肠杆菌核酸切除蛋白因子组合能完成核酸切除修复^[7]. 后来, 他采用同样的方法证明人细胞中也存在类似的修复系统. 只是人的修复系统更为复杂, 参与的蛋白因子更多. 桑卡尔还在光激活直接回复修复中做出了非常杰出的工作.

诺贝尔化学奖获奖人莫里奇的主要贡献是揭示 DNA 错配修复分子机理^[8]. 在 DNA 复制过程中出

现错误、互补链上碱基不能匹配时, DNA 错配修复发挥作用纠正不匹配的碱基. 从流程上讲, 错配修复很像核苷酸切除修复(在错配点两端附近制造切口、去除含错配的核酸短链、依赖完整互补链重新合成正确单链、连接断点形成正确配对双链), 但损伤不一样, 参与的多数蛋白因子也不一样. 莫里奇先后用体外重组方法分别以大肠杆菌和人的错配修复蛋白实现错配修复.

三位诺贝尔化学奖获奖人研究的共同特点是, 纯化参与修复通路的核心蛋白质, 在体外重组揭示各个蛋白质因子在通路中各步骤的作用, 这是非常有难度的经典生物化学工作.

2015 年拉斯克基础医学奖获奖人埃利奇相对前四位科学家最为年轻. 他早年进入 DNA 修复领域时也用大肠杆菌研究 DNA 重组修复, 但很快将注意力转到真核生物 DNA 损伤响应和修复的研究. 研究材料包括酵母、小鼠和人细胞, 研究方法包括酵母遗传学、小鼠基因敲除和系统生物学. 他的贡献颇多, 但最突出的是 DNA 损伤识别 - 修复信息调控通路的机理研究^[9].

同一年拉斯克基础医学研究奖和诺贝尔奖授予同一研究领域不同科学家是过去没有发生过的. 究其原因, 是该研究领域从 20 世纪 40 年代已经开始, 可圈可点的原创成果非常多. 许多科学家在其他修复通路也做出了非常杰出的原创工作. 同时, 这些修复通路在细胞内也有交叉重叠, 还与其他生

物途径(如凋亡、细胞周期、衰老、代谢、免疫反应、减数分裂等)紧密交叉. 史蒂芬的研究显示, 在人细胞中, DNA 受到损伤后, DNA 损伤关键调控蛋白激酶磷酸化 700 多个蛋白. DNA 修复通路间和 DNA 修复与其他生物过程间的协调机理等待进一步研究突破. 相对来讲, DNA 损伤及修复在临床上的应用成果并不多. 这方面的基础研究如何延伸到临床等待大家的努力.

参 考 文 献

- [1] Friedberg E C, Walker G C, Siede W, Wood R D, Schultz R A, Ellenberger T. DNA Repair and Mutagenesis. 2nd. Washington DC: ASM Press, 2006
- [2] Witkin E M. Inherited differences in sensitivity to radiation in *Escherichia coli*. Genetics, 1946, **32**: 59-68
- [3] Witkin E M. Ultraviolet mutagenesis and inducible dna repair in *Escherichia coli*. Bacteriological Reviews, 1976, **40**: 869-907
- [4] Bridges B A. Error-prone DNA repair and translesion DNA synthesis II: The inducible SOS hypothesis. DNA Repair, 2005, **4**: 725-739
- [5] Lindahl T. An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from dna containing deaminated cytosine residues. Proc Natl Acad Sci USA, 1974, **71**: 3649-3653
- [6] Kubota Y, Nash R A, Klungland A, Schar P, Barnes D E, Lindahl T. Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins, interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. EMBO, 1996, **15**: 6662-6670
- [7] Sancar A, Rupp W D. A novel repair enzyme: UVRABC excision nuclease of *Escherichia coli* cuts a DNA strand on both sides of the damaged region. Cell, 1983, **33**: 249-260
- [8] Lahue R S, Au K G, Modrich P. DNA mismatch correction in a defined system. Science, 1989, **245**: 160-164
- [9] Matsuoka S, Ballif B A, Smogorzewska A, McDonald III E R, Hurov K E, Luo J, Bakalarski C E, Zhao Z, Solimini N, Lerenthal Y, Shiloh Y, Gygi S P, Elledge S J. ATM and ATR substrate analysis reveals extensive protein networks responsive to DNA damage. Science, 2007, **316**: 1160-1166