

DNA 聚合酶

March 2000 Molecule of the Month by David Goodsell

译者：吴焕焕（农科院棉花所）

王兴兴（农科院蔬菜所）

关键词： DNA 复制；生物技术；taq 聚合酶；校正；复制的保真性；聚合酶链式反应；DNA 指纹技术

生命的秘密

在生命进程中 DNA 聚合酶具有非常重要的作用，它承担着遗传信息的复制这一重要任务。细胞分裂中，DNA 聚合酶复制 DNA 并将遗传信息传递给子代细胞，遗传信息通过这种方式一代又一代地传递下去。DNA 复制创建了一条遗传链，我们每个人的细胞都可追溯至亿万年前的最初的原始细胞。我们的 DNA 中包含的遗传信息可以从亲代传递到子代，并且经过上千年的修饰与改良，是最珍贵的遗传资源。

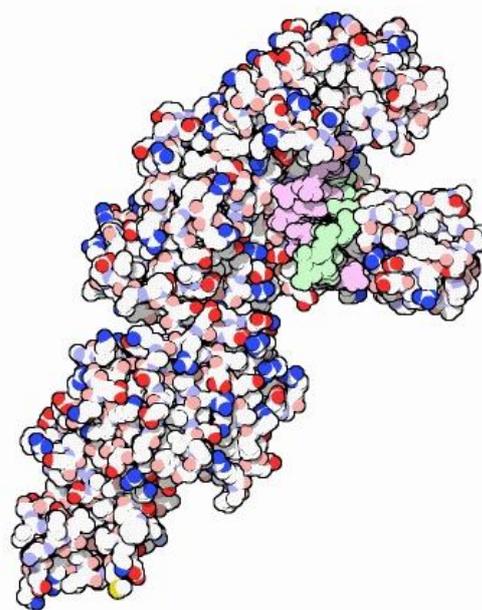
奇特的精确性

DNA 聚合酶是最精准的酶类。DNA 复制都是非常准确的，错误率低于 10^{-9} ，远远好于现实生活中的信息：想象一下阅读一千篇小说，却只发现一个错误！DNA 语言鸟嘌呤与胞嘧啶、腺嘌呤与胸腺嘧啶通过碱基特异性配对，可达到很高的精确性。在每个碱基复制结束后，DNA 聚合酶增加了额外的一步，对复制后的信息进行校正并剪切错误配对的碱基。

罪犯与血统

DNA 是独一无二的，比指纹还要独特。我们的 DNA 是双亲 DNA 的混合物，或许还会有一些突变。在刑事法庭上经常会利用 DNA 的独特性，根据犯罪现场遗留的血迹，经 DNA 分析与犯罪嫌疑人的 DNA 进行比对，若两者匹配，即可当场抓住罪犯。

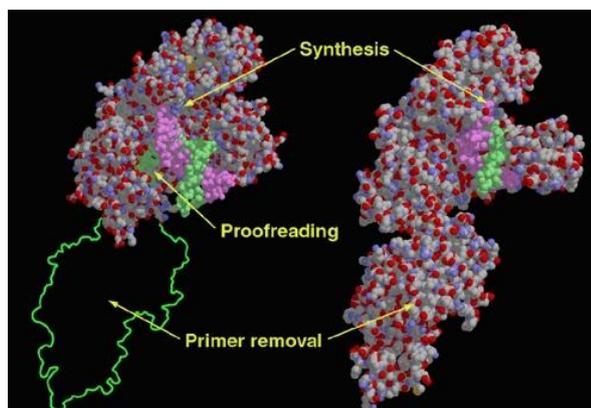
当然，干枯的血迹只含有非常少量的 DNA，使得 DNA 聚合酶进入法医取证环节。一份较小量 DNA 样品经过 RCR（聚合酶链式反应）成倍扩增后可得到大量的样品，进而有利于对样品进行分析。首先，将一份微量样品放置在试管中，加入 DNA 聚合酶进行 DNA 复制。然后对样品进行瞬间加热，DNA 两条链分开，在 DNA 聚合酶作用下每一条单链重新构建新的双螺旋结构。两条 DNA 双链再经加热、复制后得到四条 DNA 双链。经



过多次循环后即可得到大量同一的 DNA 双链。人类体内的 DNA 聚合酶和大多数生物的 DNA 聚合酶在加热这一步时都会被破坏。栖热水生菌 (*Thermus aquaticus*) 生活在温泉中，它的 DNA 聚合酶在 70°C 时依然很活跃 (如图)，可用作 PCR 试验中的 DNA 聚合酶。PDB 条目 1tau 描述这种酶。

结构研究

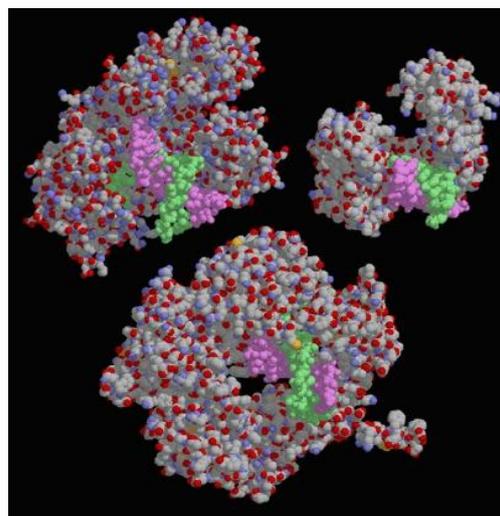
简单 DNA 聚合酶的结构类似于一个手掌。图中是两种细菌的 DNA 聚合酶：左侧是大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DNA 聚合酶，PDB 条目 1kln；右侧是栖热水生菌 (*Thermus aquaticus*) DNA 聚合酶，PDB 条目 1tau。研究大肠杆菌酶类的切割构型：丢失部分标注为绿色，在 PDB 中没有这方面的文章。“手指”与“拇指”的间距刚好适于 DNA 双螺旋，酶类在工作状态下，刚好与 DNA 双螺旋结构匹配。图中紫色部分代表模板链，绿色部分为新生链。DNA 聚合酶含有三个独立的活跃位点，顶端为聚合酶结合位点，添加核苷酸合成新 DNA 链；中心部位是 3'-5'核酸外切酶结合位点，大肠杆菌 DNA 聚合酶可以校对新加入的核苷酸，而栖热水生菌 DNA 聚合酶不具有校对能力，也可能在其生存的温度条件下会表现出相同的作用；底部是 5'-核酸外切酶结合位点，作用是移除小 RNA 片段，一般用于 DNA 复制。



插图是利用 RasMol 软件制作的，先点击加入代码，然后点击“视图结构”可以得到类似的图片。

DNA 聚合酶

所有生物都含有 DNA 聚合酶。如图所示，有些物种的 DNA 聚合酶相当简单：一种酶具有所有功能。人类细胞中的 DNA 聚合酶较为复杂，由松散螺旋结构的离散的蛋白质组成，构建 RNA 引物并合成新 DNA 链。有些酶只有一条环状蛋白质，聚合酶与 DNA 链紧密连接。一个细胞往往具有几种不同的聚合酶类：复杂的聚合酶作用于细胞分裂时重要 DNA 的复制，较简单的聚合酶则利于 DNA 的日常修复和维持。



右图为三种简单的聚合酶，分别与微小 DNA 片段相连。图片中，紫色部分是 DNA 模板链，绿色为新生 DNA 链。左上角是大肠杆菌 DNA 聚合酶 I，PDB 条目 1kln。右上角是人类 DNA 聚合酶，PDB 条目 1zqa。底部是病毒 DNA 聚合酶，PDB 条目 1clq。它们的大小与结构各不相同，但需要关注它们如何缠绕在 DNA 上，如何附加在 DNA 末端形成一个口袋结构并

进行合成反应。

插图是利用 RasMol 软件制作的。先点击加入代码，然后点击“视图结构”可以得到类似的图片。

结构讨论

讨论以下三种结构：

