



第四章DNA的损伤、修复和突变

概述：损伤因素及其类型

4.1 复制过程中的错配修复

4.2 损伤修复

4.3 限制和修饰

4.4 突变类型

4.5 回复突变(抑制突变)

4.6 突变剂和突变生成



第四章DNA的损伤、修复和突变

引起损伤的因素:

- ◆ 自发性损伤(复制中的损伤、碱基的自发性化学改变、自发脱碱基、细胞的代谢产物对DNA的损伤)
- ◆ 物理因素引起的损伤(电离辐射、紫外线)
- ◆ 化学因素引起的损伤(烷化剂、碱基类似物)

引起损伤的类型:

碱基脱落、碱基(或核苷)改变、错误碱基(碱基的取代)、碱基的插入或缺失、链的断裂、链交联(链内、链间)、嘧啶二聚体等等



第四章DNA的损伤、修复和突变

广义的修复系统:

- ◆ DNA聚合酶的校对功能(复制的范畴)
- ◆ 尿嘧啶-N-糖苷酶修复系统
(复制时U的渗入、C脱氨氧化成U)
- ◆ 错配修复系统
- ◆ 损伤修复系统(光复活、重组修复、SOS修复等)
- ★ 限制修饰系统-----对付外源DNA的入侵

4.1 复制过程中的错配的修复

1、错配修复碱基来源：校正活性所漏校的碱基
使复制的保真性提高 $10^2 \sim 10^3$ 倍

+ ---- A-----

- -----C---

DNA mismatch

错配修复
系统(MMR
Mismatch
Repair
System)

DNApol ($\xi = 10^{-8}$)
经第二次校正 $\xi = 10^{-11}$



2、错配修复系统（Mismatch repair system）

（1）组成

DNA腺嘌呤甲基化酶(m⁶A甲基化酶) → dam gene

DNA polymerase

Helicase SSB 外切核酸酶 (I 和VII) 连接酶

MCE (mismatch correct enzyme)

3 subunits mutH, L, S

{ 识别新生链中非m⁶A的GATC序列
扫描新生链中错配碱基
酶切含错配碱基的新生DNA区段

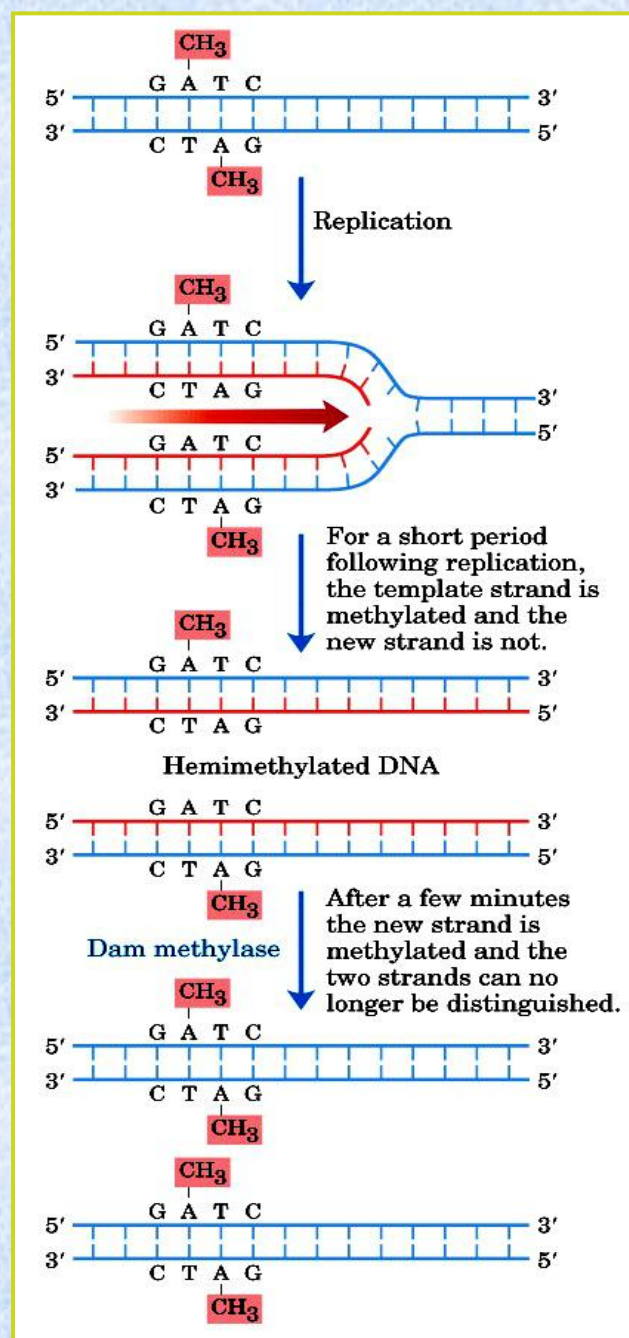
★ DNA合成过程中的甲基化变化

DNA中的GATC(palindromic seq.)

为m⁶A甲基化敏感位点

平均每2kb左右有一GATC seq.

错配修复系统受甲基化的引导



(2) 修复过程

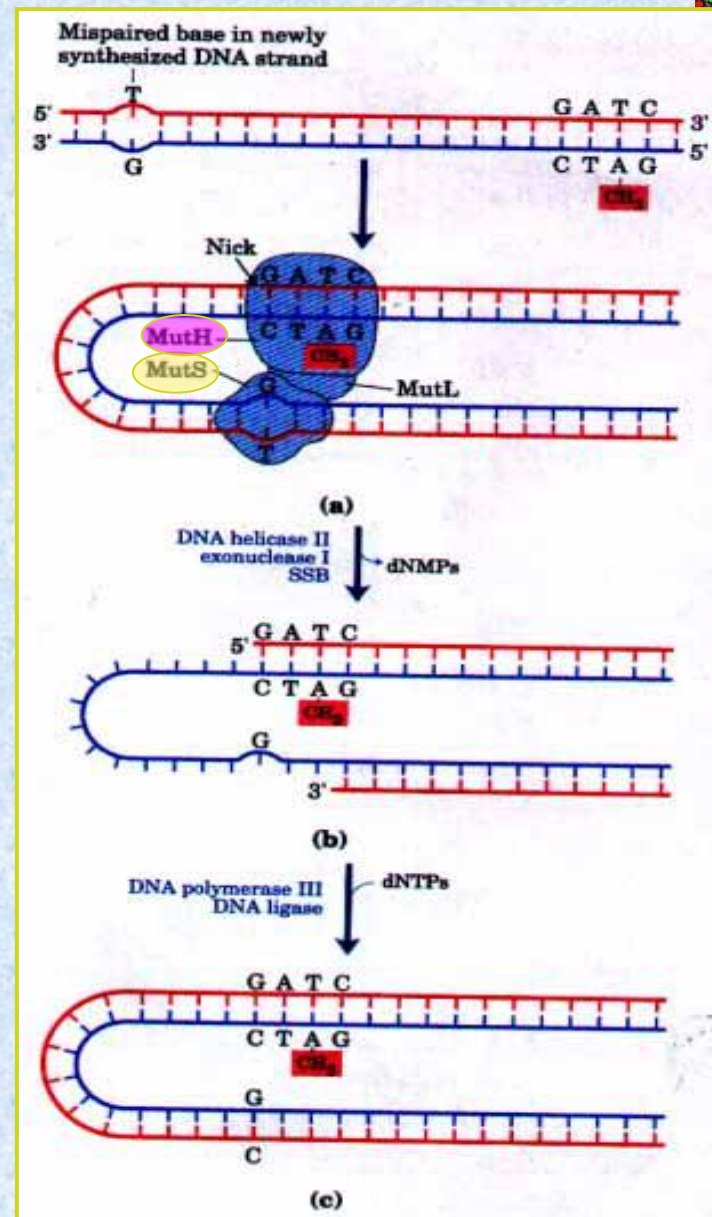
a、MutH/MutS 扫描识别错配碱基和邻近的GATC序列切点——甲基化GATC中G的5'侧

甲基化程度的差异

DNA helicase II, SSB, exonuclease I去除包括错配碱基的片段

DNA polymerase III 和 DNA ligase 填充缺口

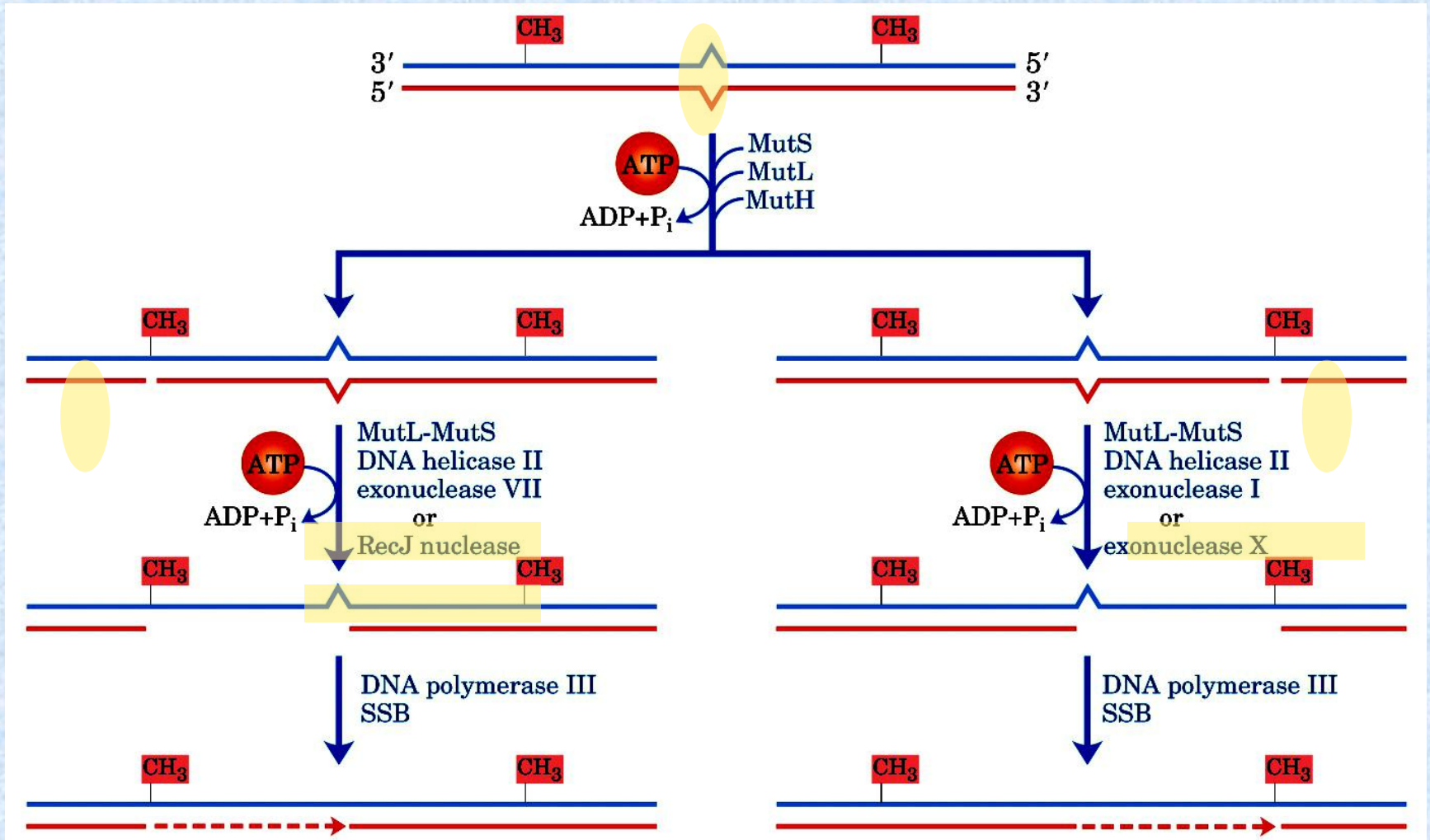
昂贵的代价用于保证DNA的准确性





外切核酸酶 I 切割切点的5'端 (错配碱基在切点的5'端)

-----VII-----3'端 (-----3'端)

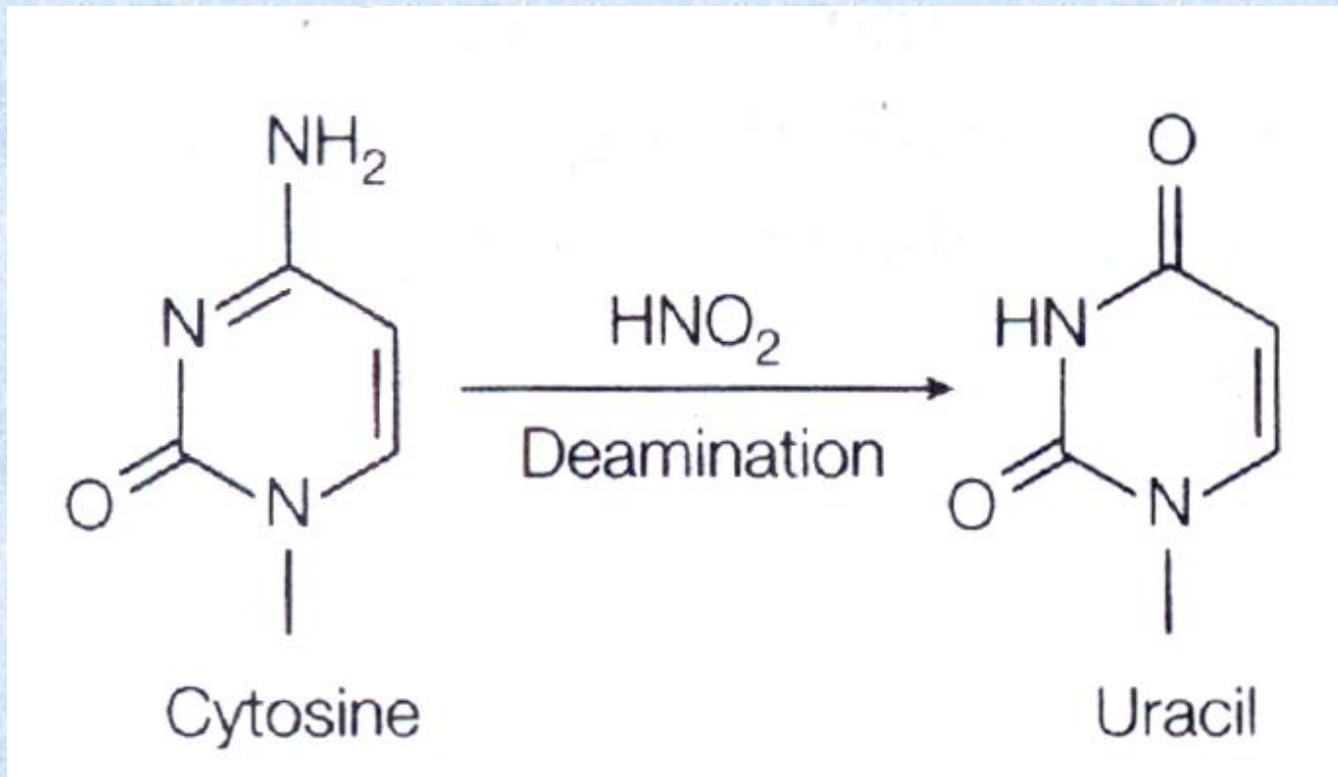


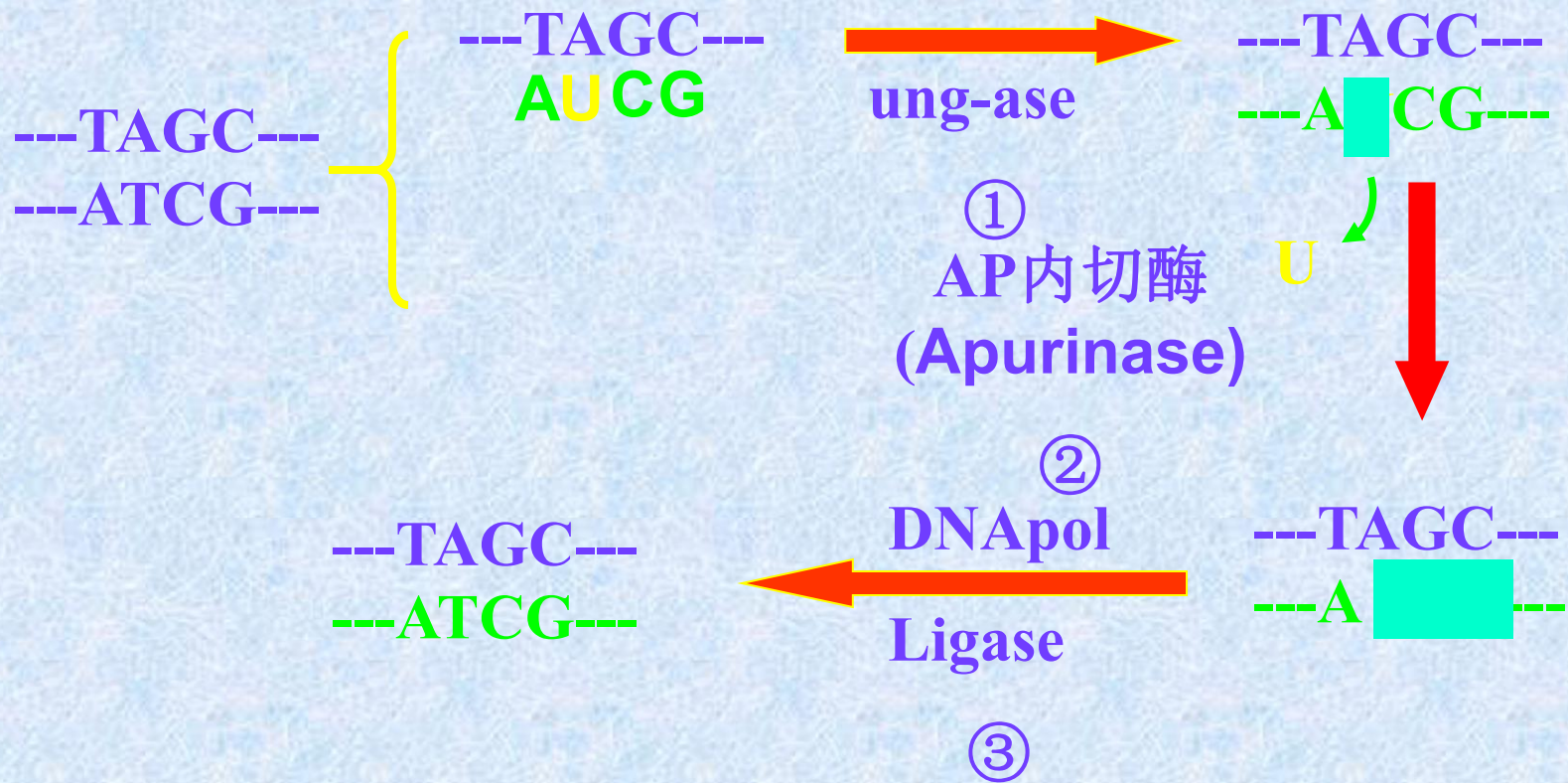


3、尿嘧啶-N-糖苷酶系统 (ung system)

修复尿嘧啶的来源：dUTP的渗入

胞嘧啶的自发脱氨氧化

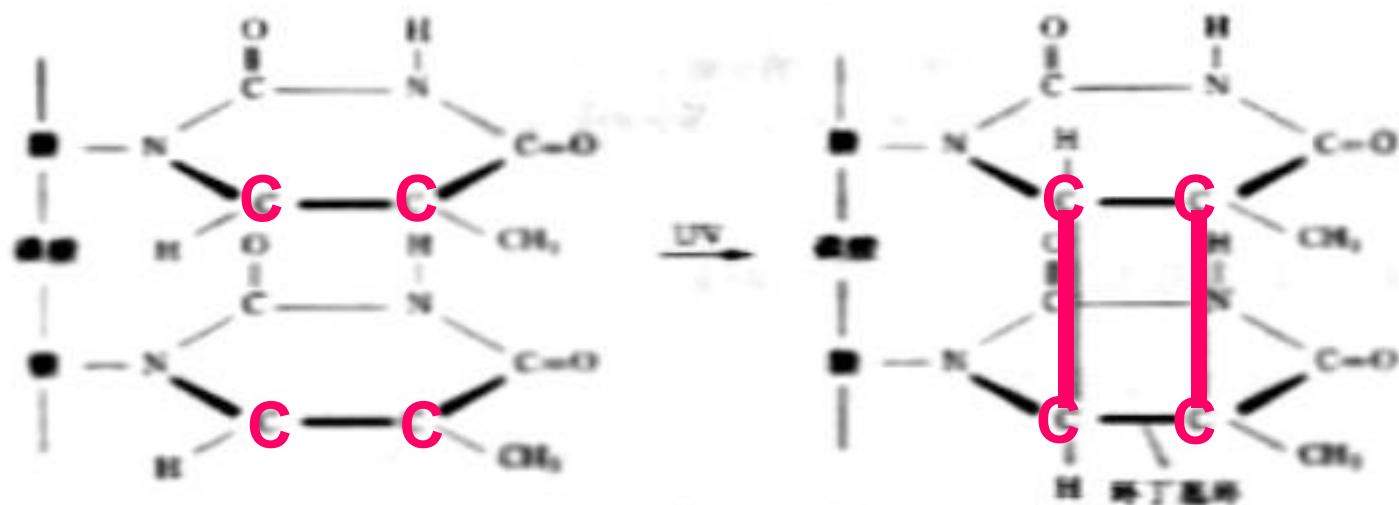




4.2 DNA损伤的修复

一、嘧啶二聚体的产生

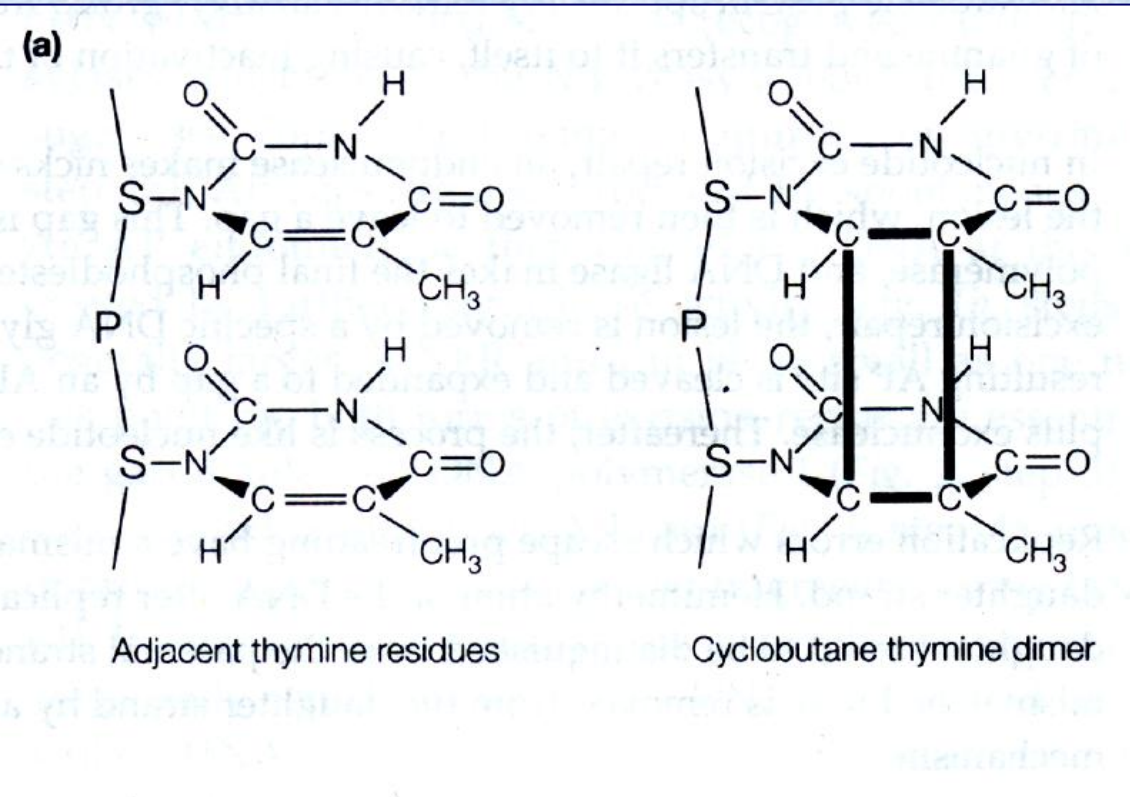
类型：TT二聚体（ $\overset{\wedge}{\text{TT}}$ ）、CC二聚体（ $\overset{\wedge}{\text{CC}}$ ）、
CT二聚体（ $\overset{\wedge}{\text{CT}}$ ）



相邻的胸腺嘧啶

胸腺嘧啶二聚体

图 4-3 胸腺嘧啶二聚体的形成(粗线表示嘧啶环靠近读者的一边)



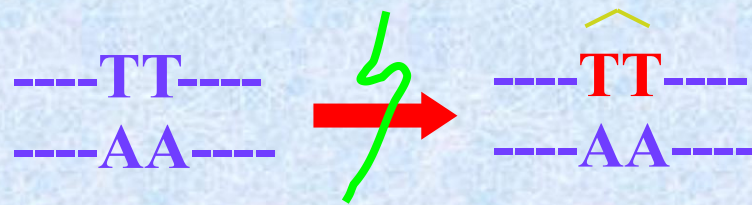
Thymine dimer
distorts duplex



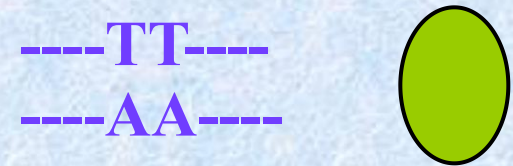


二、二聚体修复的机制

1、光复活（photo reactivation）



可见光激活
↓



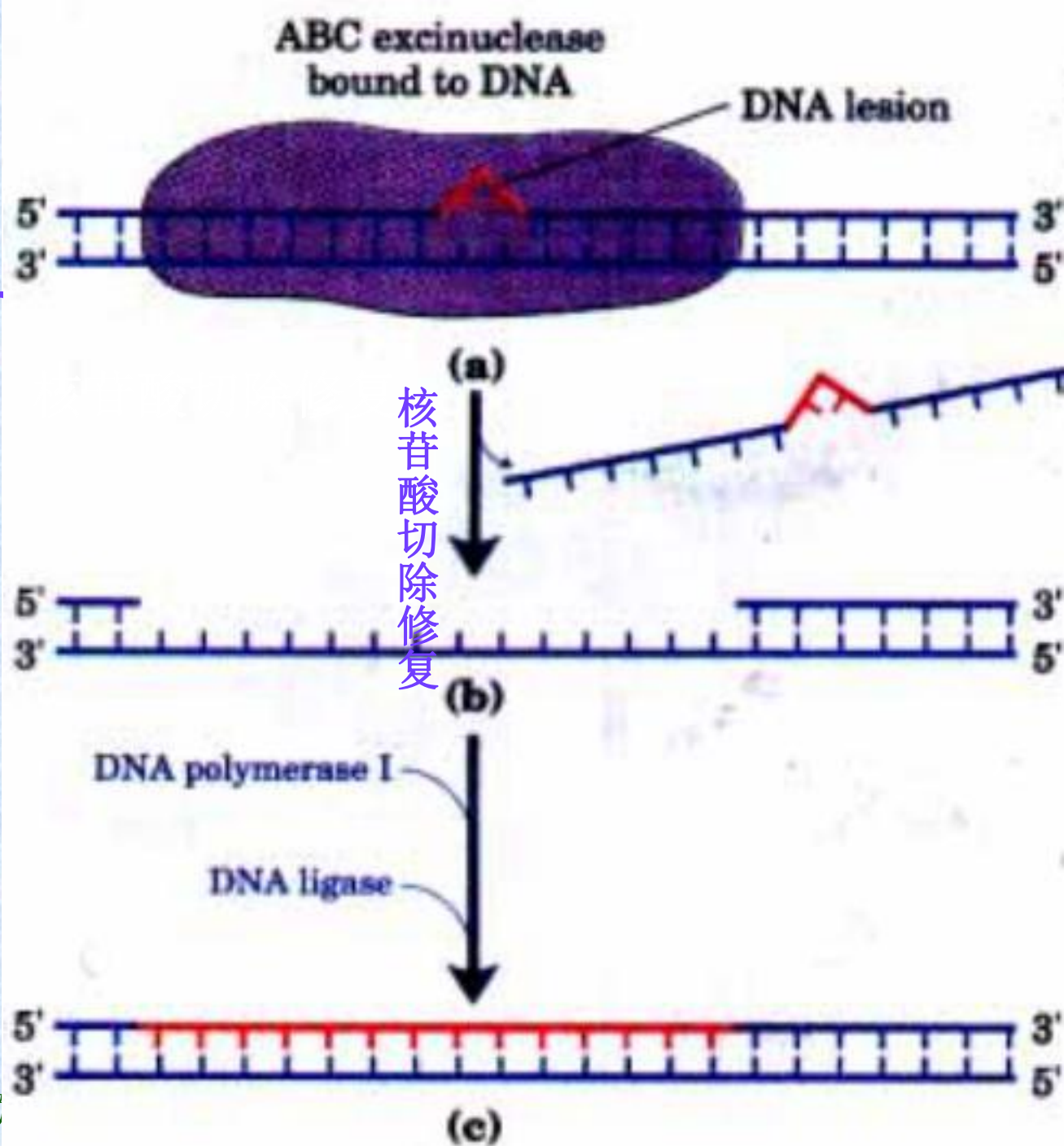
- 复制前、不容易出错

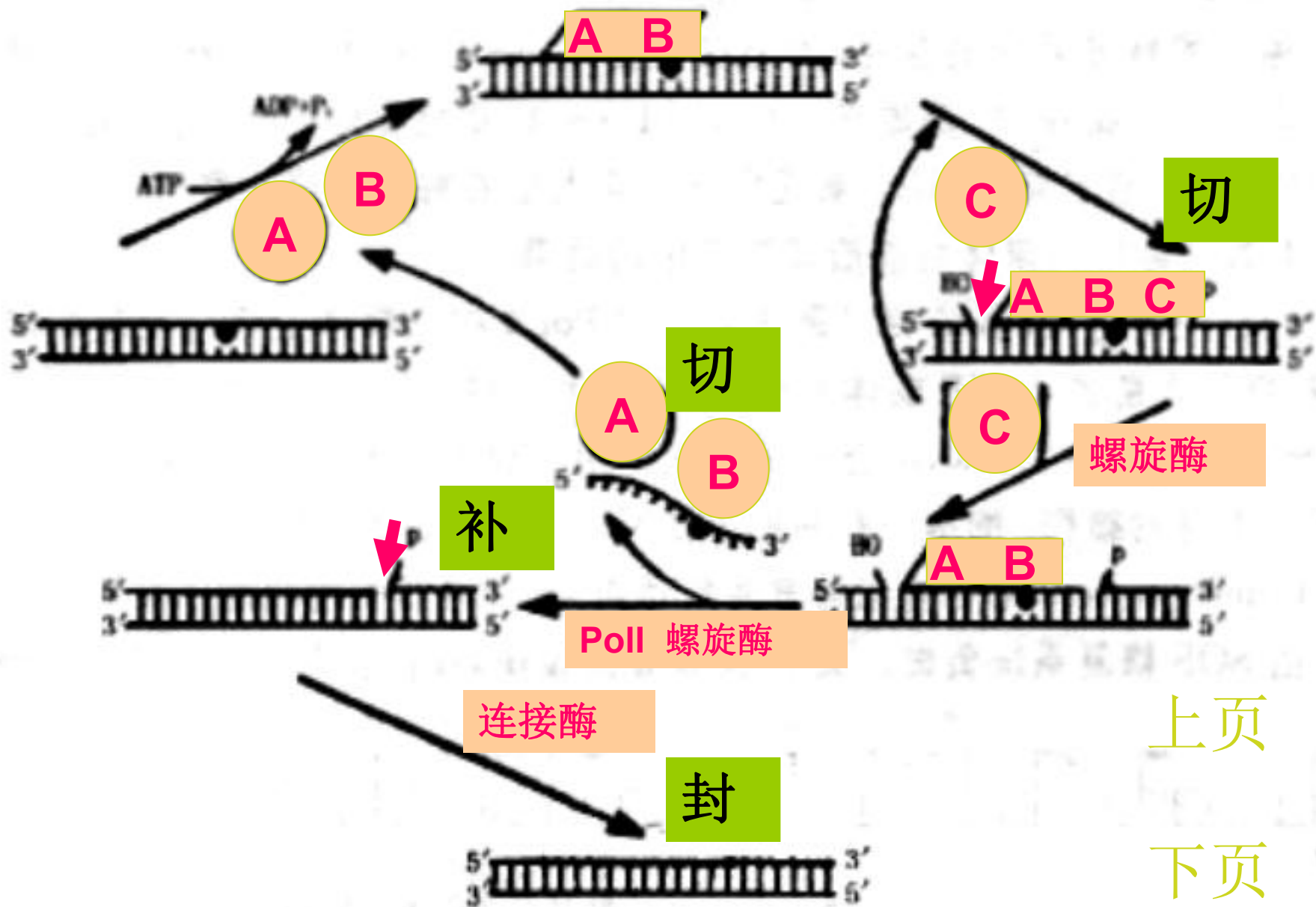
- 400 nm 蓝光、PR 酶
(photo-reactivation enzyme)
光敏裂合酶 (photolyase)

2. 切除修复

Exision—Repair

- 复制前进行
- 不易出错
- UvrA, B, C gene
内切核酸酶
(Endonucleases)
外切核酸酶
(Exonuclease)
- DNA pol
- Ligase





上页

下页

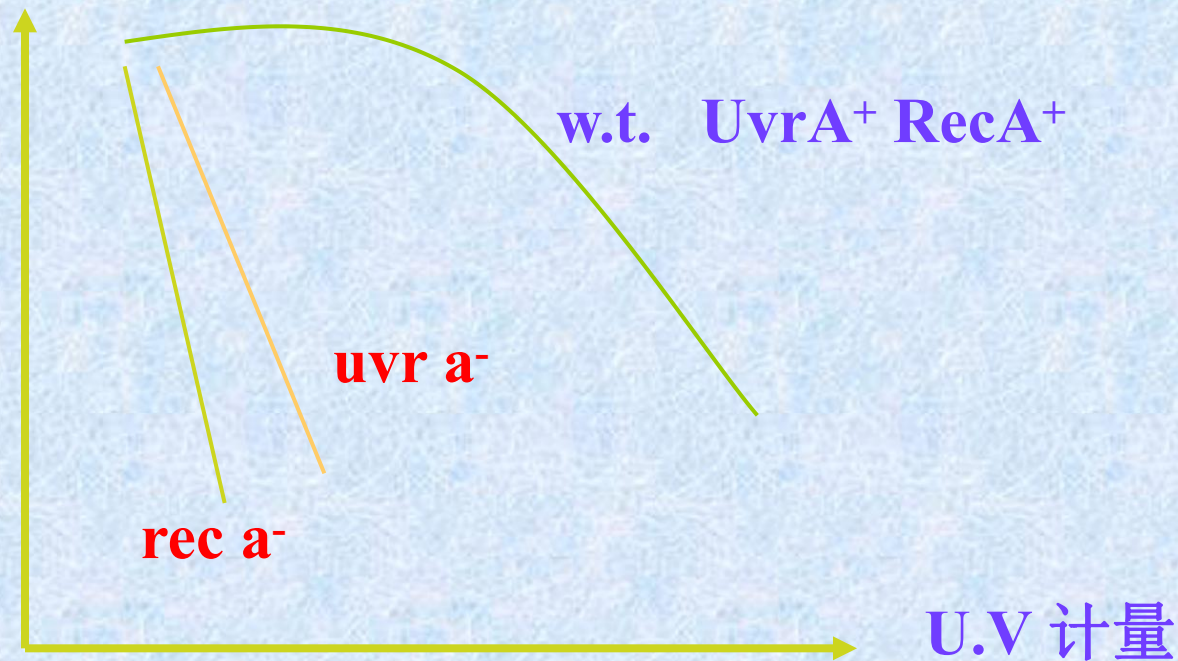
图 4-7 由 UvrABC 所发起的胸腺嘧啶二聚体及其他损伤的切除修复



3. 重组修复 (Recombinative—Repair)

后复制修复、**E.coli**的挽回系统

E.coli 存活%



该系统存在的实验证据



★ Rec-A. gene 以某种方式参与DNA损伤修复

◆ Rec修复系统比切除修复系统更有效

目前知道

♪ Uvr系统负责切除二聚体

♪ Rec系统负责消除没有被切除的二聚体

可能造成的后果



修复相关机制:

- 与Rec-A蛋白引起的重组(strand transfer)有关
- TT dimer未被修复，仅表现在后代群体中TT dimer浓度的稀释
- 链的非准确转移，导致突变机率的增加

重组修复 (链转移修复)

- 复制后修复
- 容易出错
- RecA, DNAPolymerase
- ligase

重组修复后的损伤位点可由其它机制进一步修复

二聚体后起始

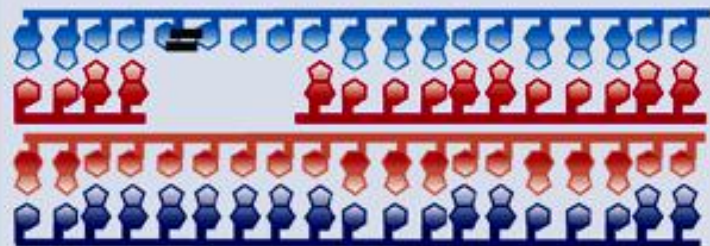
RecA

Damage

Bases on one strand of DNA are damaged

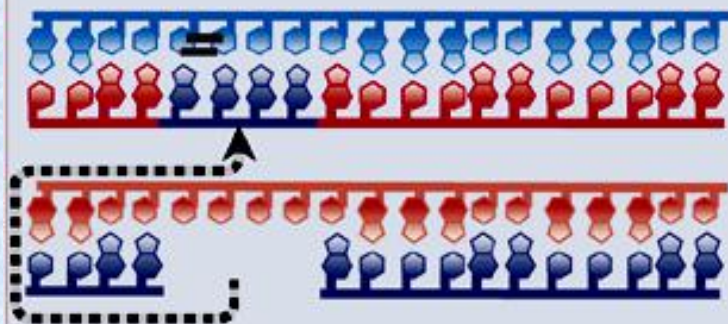


Replication generates a copy with gap opposite damage and a normal copy



Retrieval

Gap is repaired by retrieving sequence from normal copy



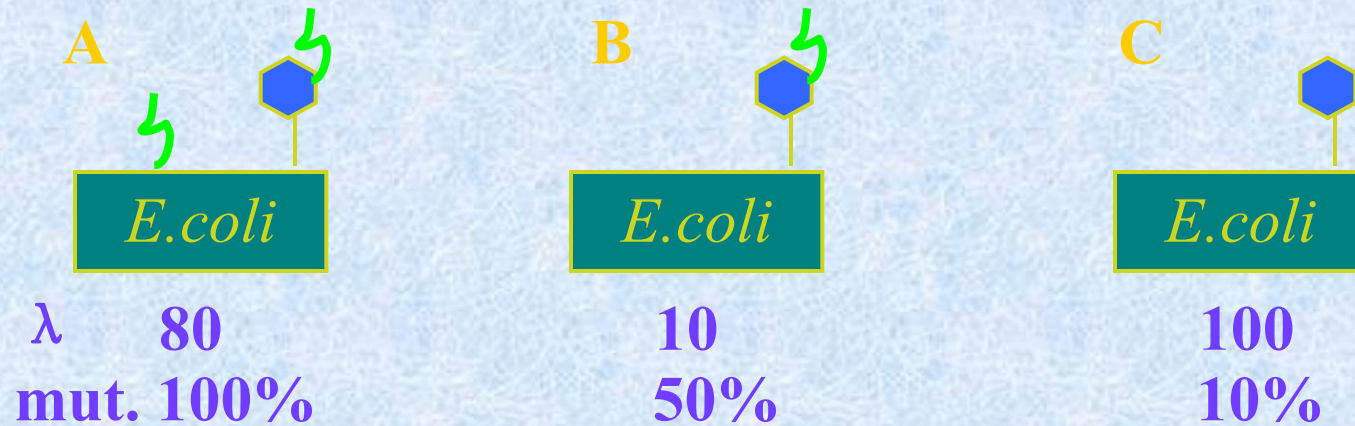
Gap in normal copy is repaired





4. 易错修复 (SOS修复 SOS repair)

(1) 实验证据



UV 复活或 W复活 (Jean Weigh)

- 损坏的噬菌体 DNA 在 *E. coli* A 被修复
- *E. coli* 的 SOS 修复能被 U.V. 诱导 (A & B)
- SOS 修复过程有非常高的突变频率(易出错)



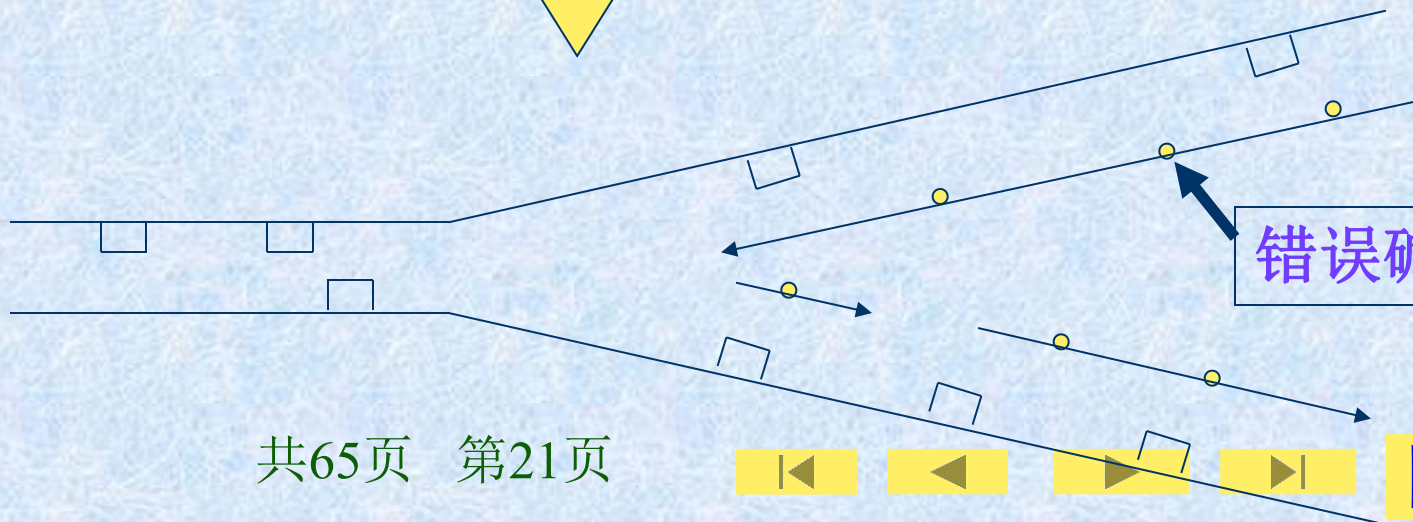
(2) SOS 修复机制

SOS 修复——无模板指导的DNA复制

大剂量的紫外线照射，大量的二聚体产生



SOS系统诱导，错误潜伏的复制超越二聚体而进行





SOS 修复只是SOS反应的一部分

RecA在SOS反应

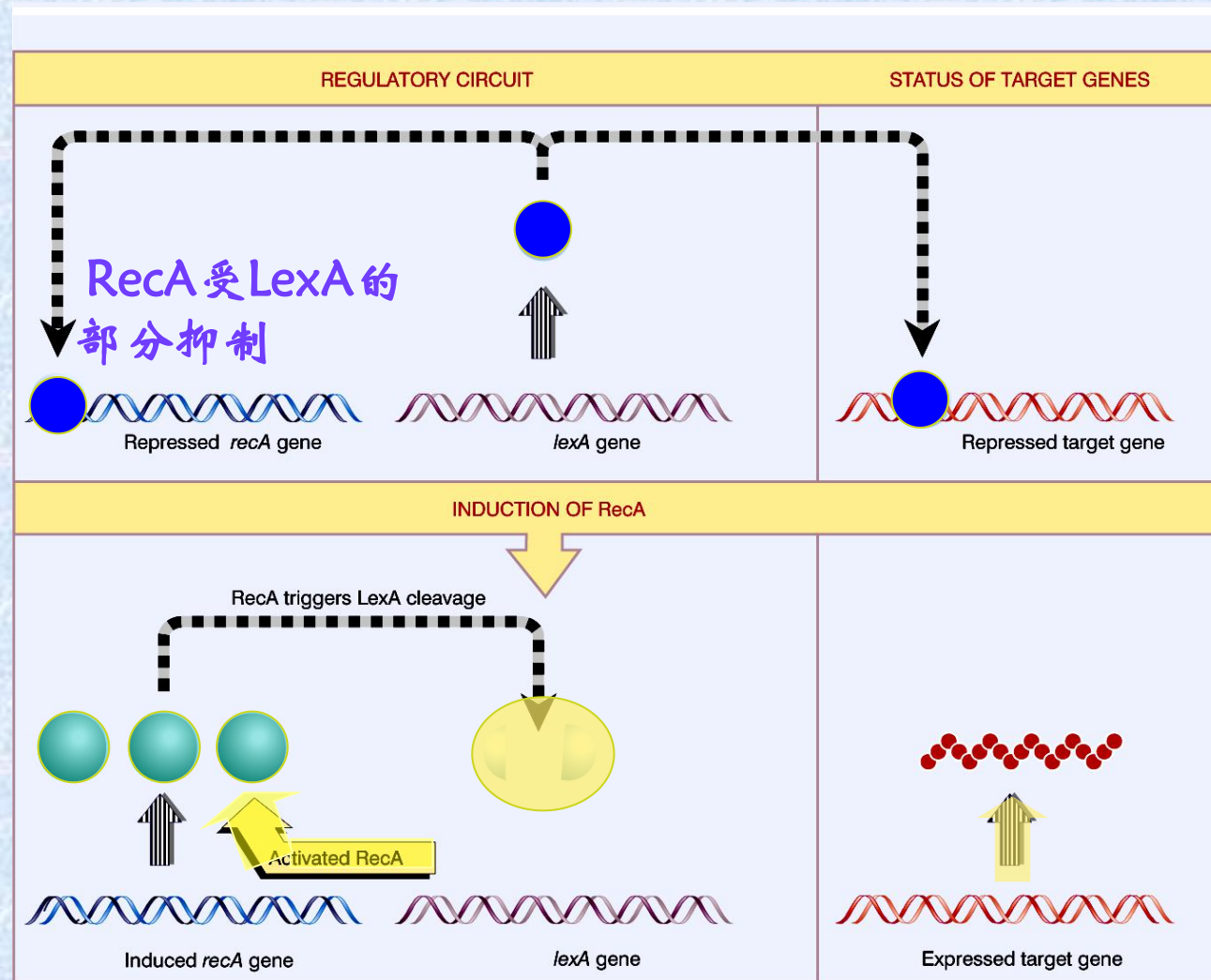
反应中起核心作用

RecA与LexA组成
调控环路



DNA 损伤

SOS





RecA-P; 三种功能

- a、 DNA 重组活性
- b、 与S.S. DNA结合活性
- c、 少数蛋白的proteinase活性

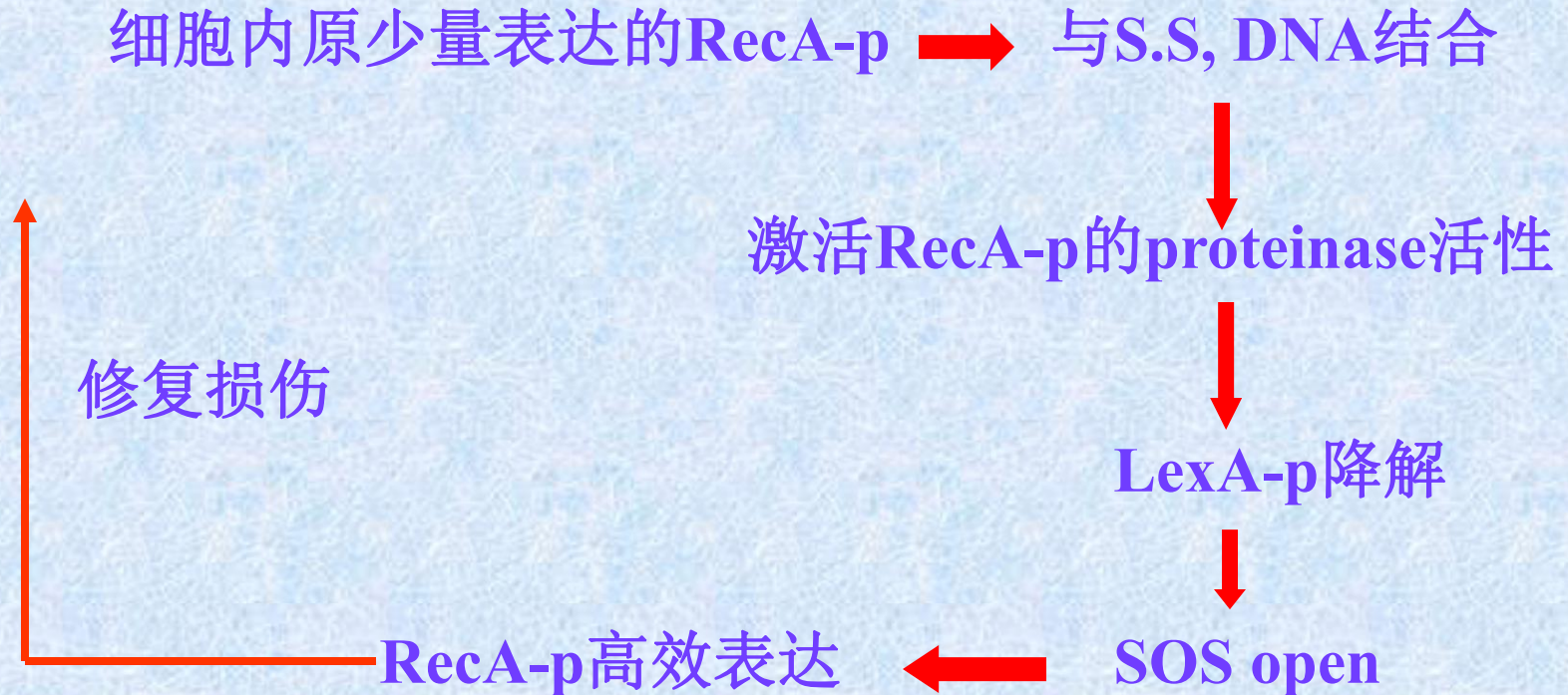
当DNA正常复制时

(无复制受阻, 无DNA损伤, 无TT dimer)

RecA-p不表现proteinase活性



当DNA复制受阻/ DNA damaged





当DNA复制度过难关后

RecA-p很快消失 → LexA gene on → SOS off

SOS repair 是一种错误倾向性极强的修复机制

是进化中形成的“竭尽全力，治病救人”的措施

(正常状态下，**SOS**是关闭的)



4.3 限制和修饰

1、限制—修饰现象(restriction and modificaion)

50年代初 Luria (T偶数噬菌体) Bertani (λ)

Weigle (P2噬菌体)

表 4-2 *E. coli* λ 噬菌体的限制和修饰模式(表中数字代表相对种植效率)

λ 噬菌体 <i>E. coli</i> 菌株	λ_K	λ_B	λ_C
K	1	10^{-4}	10^{-4}
B	10^{-4}	1	10^{-4}
C	1	1	1



- * **E.coli K**菌株和 **B**菌株各有自己的限制修饰系统
- * **E.coli C**菌株没有

结论:

- ♪ 菌体限制修饰系统中的限制性内切酶能将外来**DNA**切断
- ♪ 菌体本身的**DNA**可受甲基化酶的保护

两者称为限制-修饰作用
细菌借助于**限制-修饰系统**来区别自己**DNA**和外源**DNA**



自己DNA: 限制模式相同的DNA

同株系的不同个体DNA、寄生于其中的质粒和噬菌体

居民DNA(resident DNA): 同一个细胞内的不同类型的DNA,

包括细胞DNA, 质粒DNA, 噬菌体DNA等



2、限制—修饰系统

根据其特征分为两大组(三大类)

表 4-3 细菌中三种不同类型的修饰-限制酶

	I 类 酶	I 类 酶	II 类 酶
酶 分 子	内切酶和甲基化酶不在一起	三亚基双功能酶	二亚基双功能酶
识别位点	4bp~6bp 短序列大多数为回文结构	二分对称序列	5bp~7bp 非对称序列
切割位点	在识别位点中或靠近识别位点	距 离 识 别 位 点 至 少 1 000bp,无特异性	在识别位点下游 24bp~26bp 处
限制反应与甲基化反应	分开的反应	互 斥	同时竞争
限制作用是否需要 ATP	不 需 要	需 要	需 要



4.4 突变类型

突变(mutation): 可以通过复制而遗传的**DNA**结构的任何永久性改变
遗传状态

- 染色体突变 (Chromosome mutation)

chromosome number
chromosome structure

- 核苷酸突变 (dNt point mutation)



突变体(mutant): 携带突变的生物个体或群体或株系

突变基因(mutantgene): 存在突变位点的基因

野生型基因 (wild type gene) :

表示方法

表现型	Arg ⁺	Arg ⁻
基因型	arg ⁺	arg ⁻
野生型	正性状	



1、从突变作用来源上定义

自发突变——自然界的突变剂或偶然复制错误

诱变——人为使用突变剂

★ 碱基异构式引起DNA复制过程的错误 -----自发突变

碱基异构式



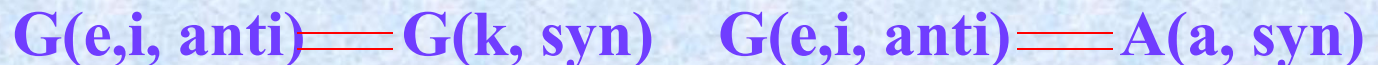
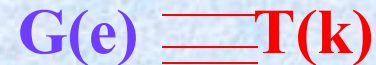
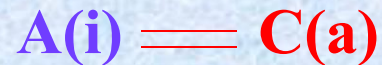
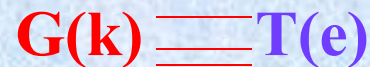
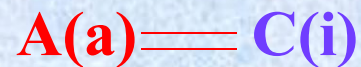


碱基异构式引起DNA复制的错配

正确配对

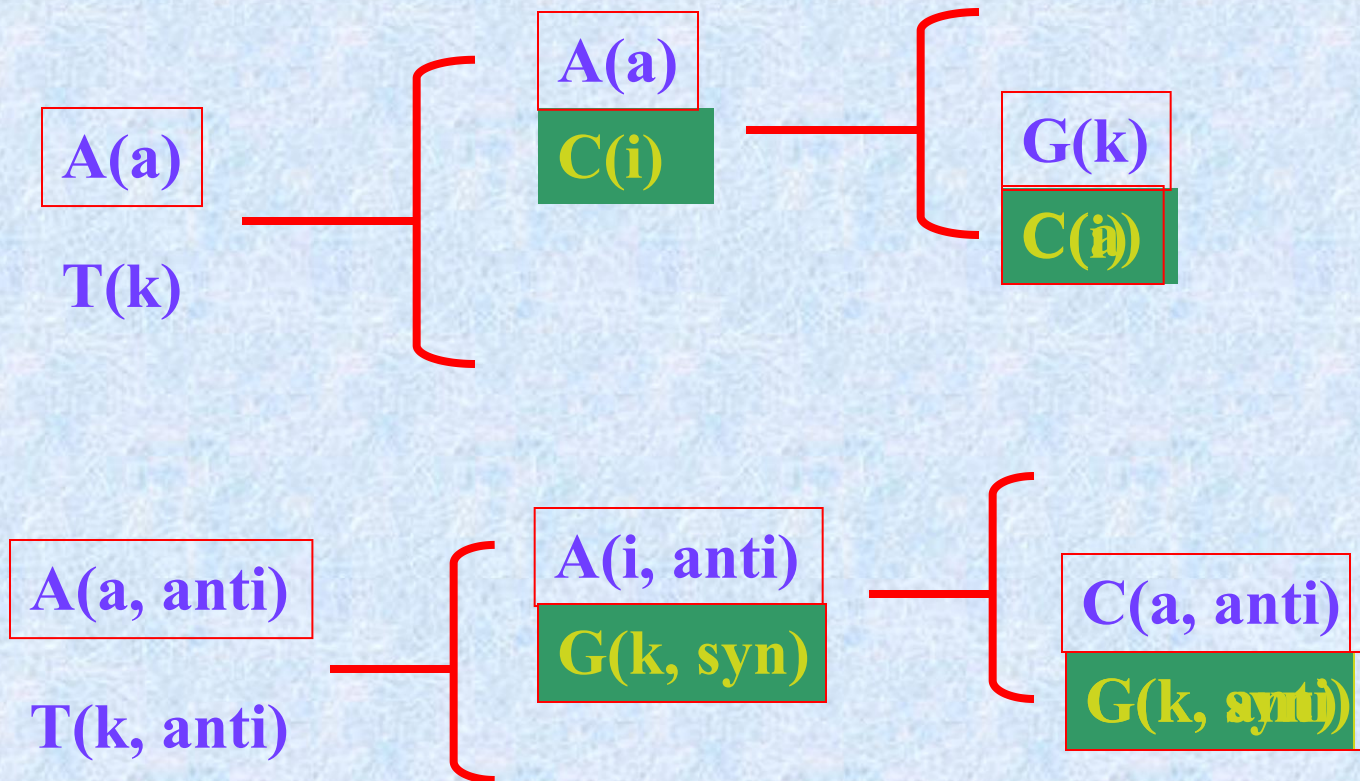


错误配对





碱基异构式引起DNA的错配突变





2、从序列改变多少上定义

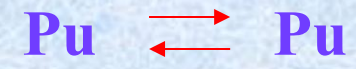
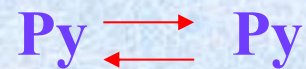
单点突变(point mutation) (点突变)

多点突变(multiple mutation)

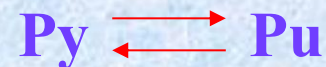
点突变———碱基替代、碱基插入、碱基缺失

● 碱基替代 (conversion)

转换(transition)



颠换(transversion)





3、从对阅读框的影响上定义

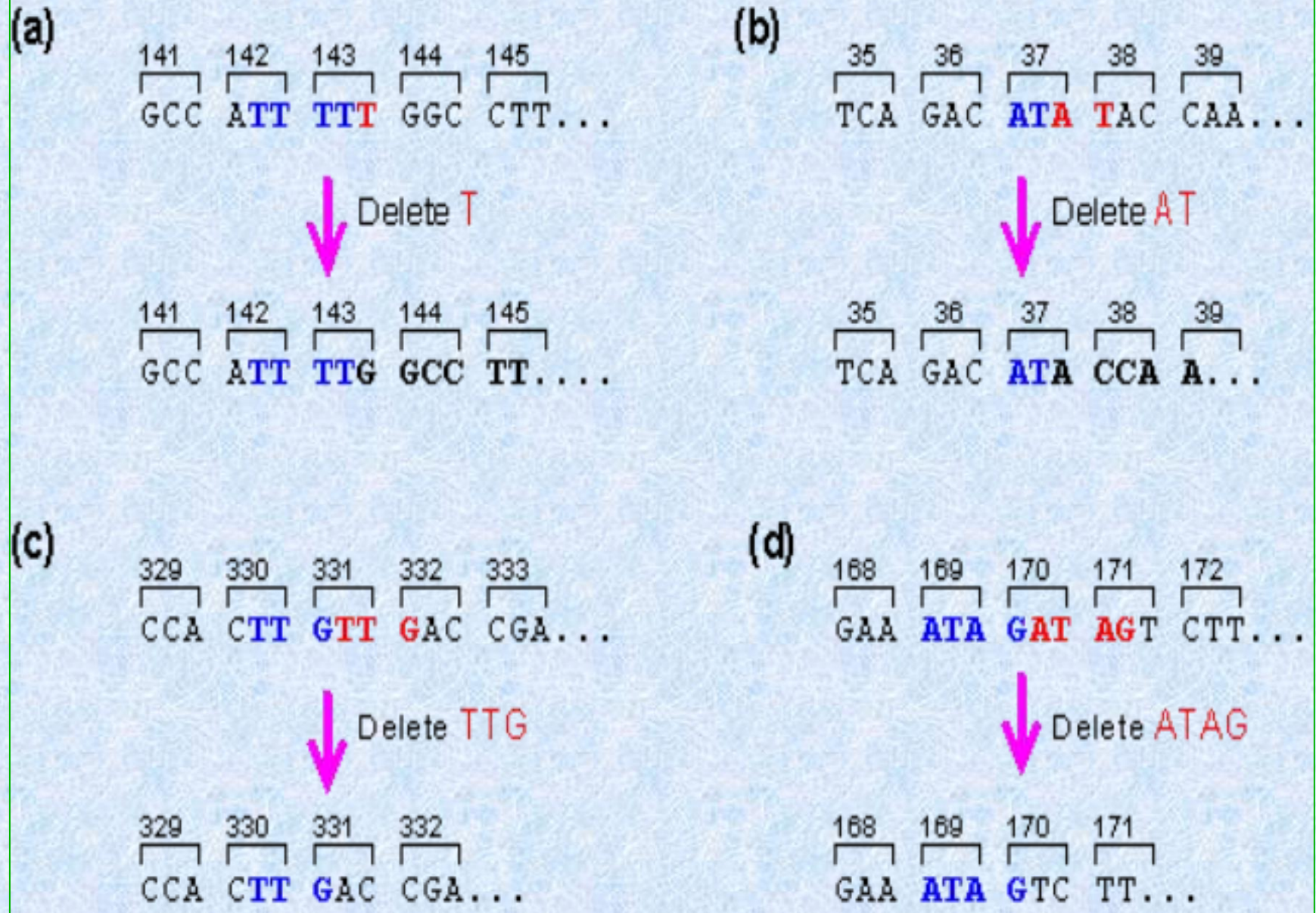
移框突变（**frameshift mutation**）：一个或两个碱基的插入或缺失，或扁平碱性染料分子插入，又叫移码突变

● 核苷酸缺失或插入（dNt deletion or insertion）

= 3x dNt ± n x Amino acid

≠ 3x dNt 移框（Framshift）

Examples of deletion mutations





4、从对遗传信息的改变上定义（点突变）

同义突变：没有改变产物氨基酸序列的密码子

错义突变：碱基序列的改变引起了氨基酸序列的改变

（中性突变、渗漏突变）

无义突变：碱基的改变使代表某种氨基酸的密码子变

为蛋白合成的终止密码子

● 碱基替代对遗传信息的改变

---同义突变

GAA → GAG Glu



---错义突变

$GAA \rightarrow AAA$ Lys

---无义突变

$GAA \rightarrow TAA(\text{stop})$

无义突变类型

UAA (Oc)

赭石型 (Ocher)

UAG (Am)

琥珀型 (amber)

UGA (Opal)

乳石型 (Opal)



5、从突变的表达类型 上定义

---非条件型突变:

---条件型突变: 突变的表现 = 突变基因型 + 诱导条件

(光, 温敏感不育)

6、从突变效应上定义

正向突变

回复突变:使突变体所失去的野生型性状得到恢复的第二次突变

真正的原位回复突变很少

大部分为第二点的回复突变———抑制突变

7、突变位点存在于负责基因调控的序列中



* 在启动子区域时:

启动子上升突变: 增强启动子对转录的发动作用的突变

启动子下降突变:

* 在操作子上或调节基因上

组成型突变: 产生组成型表达方式的操作子突变或调节基因的突变

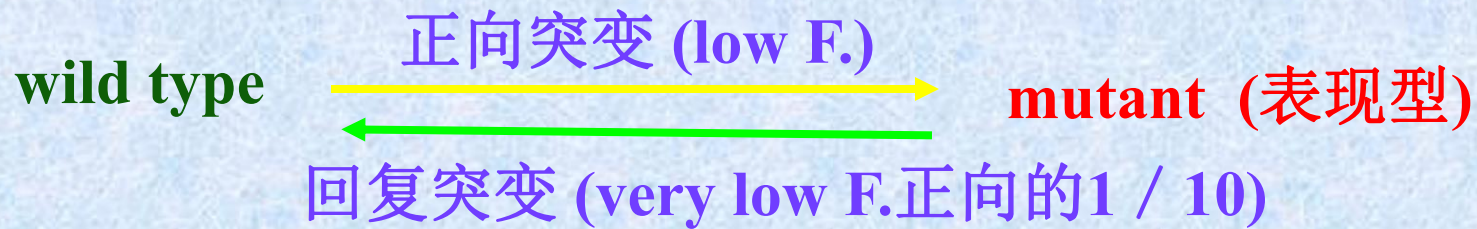
突变的操作子不能被阻遏蛋白所识别

调节基因突变不能产生有活性的阻遏蛋白

两者之一都使结构基因失去了负向控制



4.5 回复突变 (抑制突变)



1、抑制突变发生的部位

基因内抑制突变：抑制突变发生在正向突变的基因中

基因间抑制突变：抑制突变发生在正向突变基因外的其它
基因中



2、野生表型恢复作用的性质

直接抑制突变：通过恢复或部分恢复原来突变基因产物蛋白质的功能而恢复野生表型

间接抑制突变：不恢复正向突变基因蛋白质产物的功能,而是通过改变其它蛋白质的性质或表达水平而补偿原来突变造成的缺陷,从而恢复野生型



3、回复突变的分子机制

a) AGC (Ser) $\rightarrow$ ACC (Thr) $\rightarrow$ AGC (Ser)

b) AGC (Ser) $\rightarrow$ AGG (Arg) $\rightarrow$ AGT (Ser)

c) AGC (Ser) $\rightarrow$ AGG (Arg) $\rightarrow$ GGG (Gly)
if Ser $\approx$ Gly



4、抑制突变的分子机制

(1) 基因内抑制突变 (Intragenic suppression)

错义突变 移框突变

第二位点引起的基因内校正

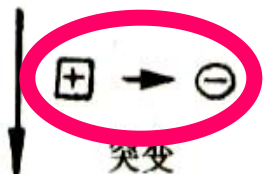
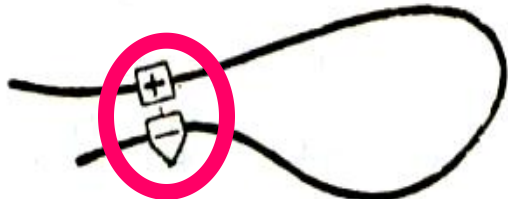
密码子间两次错义突变的互补

错义突变造成野生型表型的丧失——一部分原因
在于影响到蛋白质的空间结构

(正负电荷、疏水作用)

a、静电作用

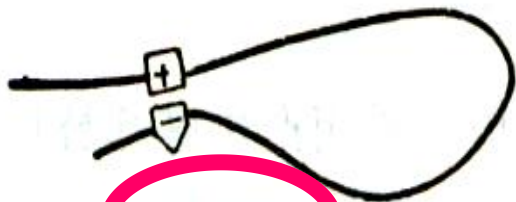
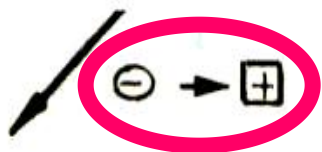
野生型蛋白质



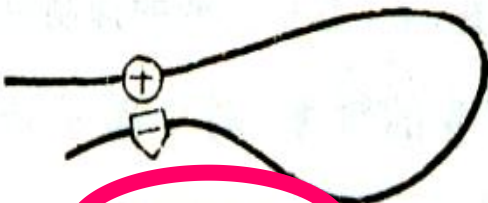
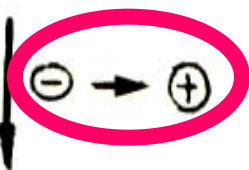
无活性的突变蛋白质



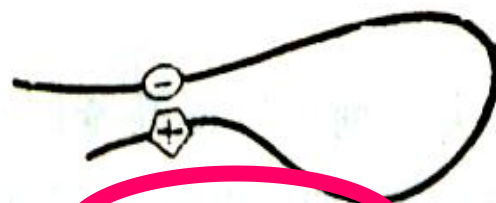
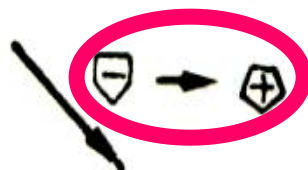
三种可能的回复突变



I 野生型



II 同点回复突变

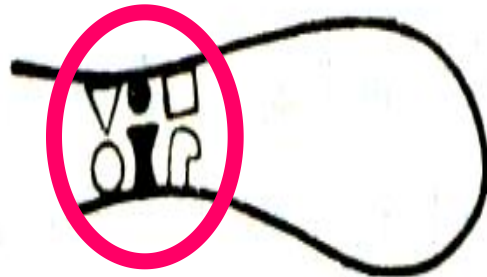


III 第二点回复突变

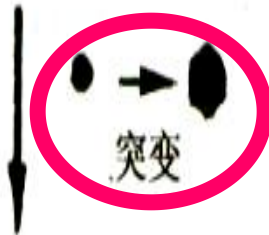


b、疏水作用

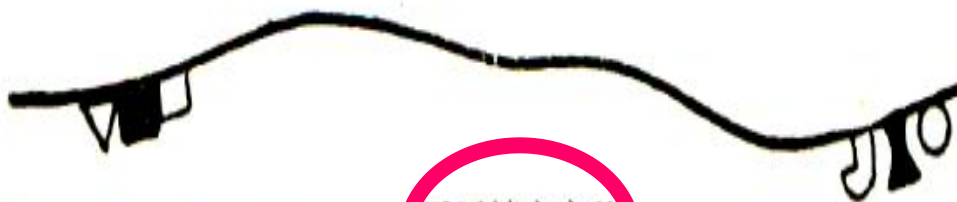
(b)



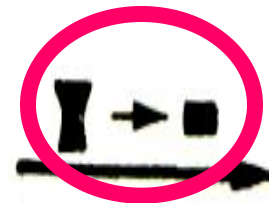
野生型



突变



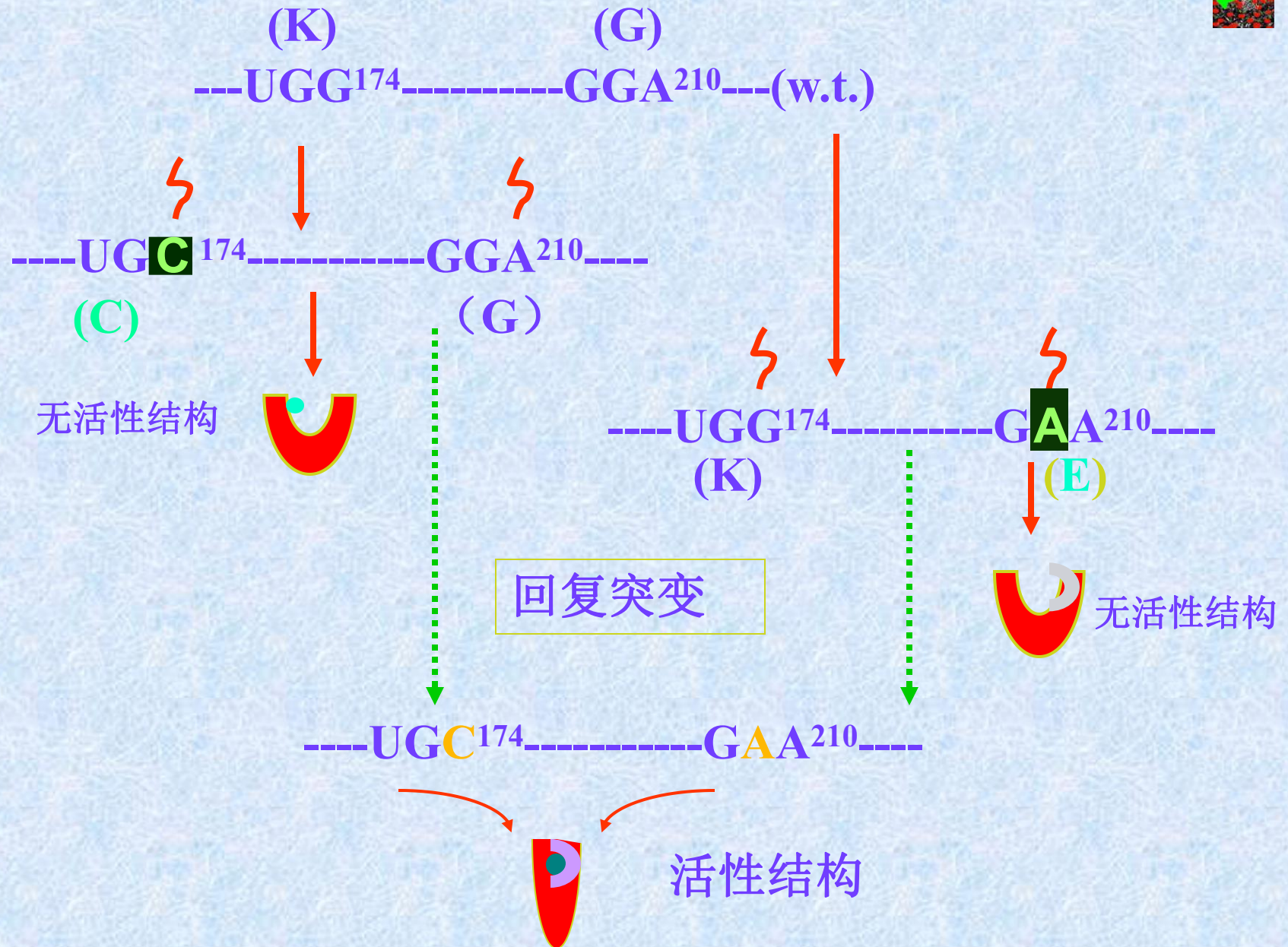
无活性突变体



回复突变



野生型蛋白质构象



移框突变的抑制突变(基因内第二点的插入或缺失)

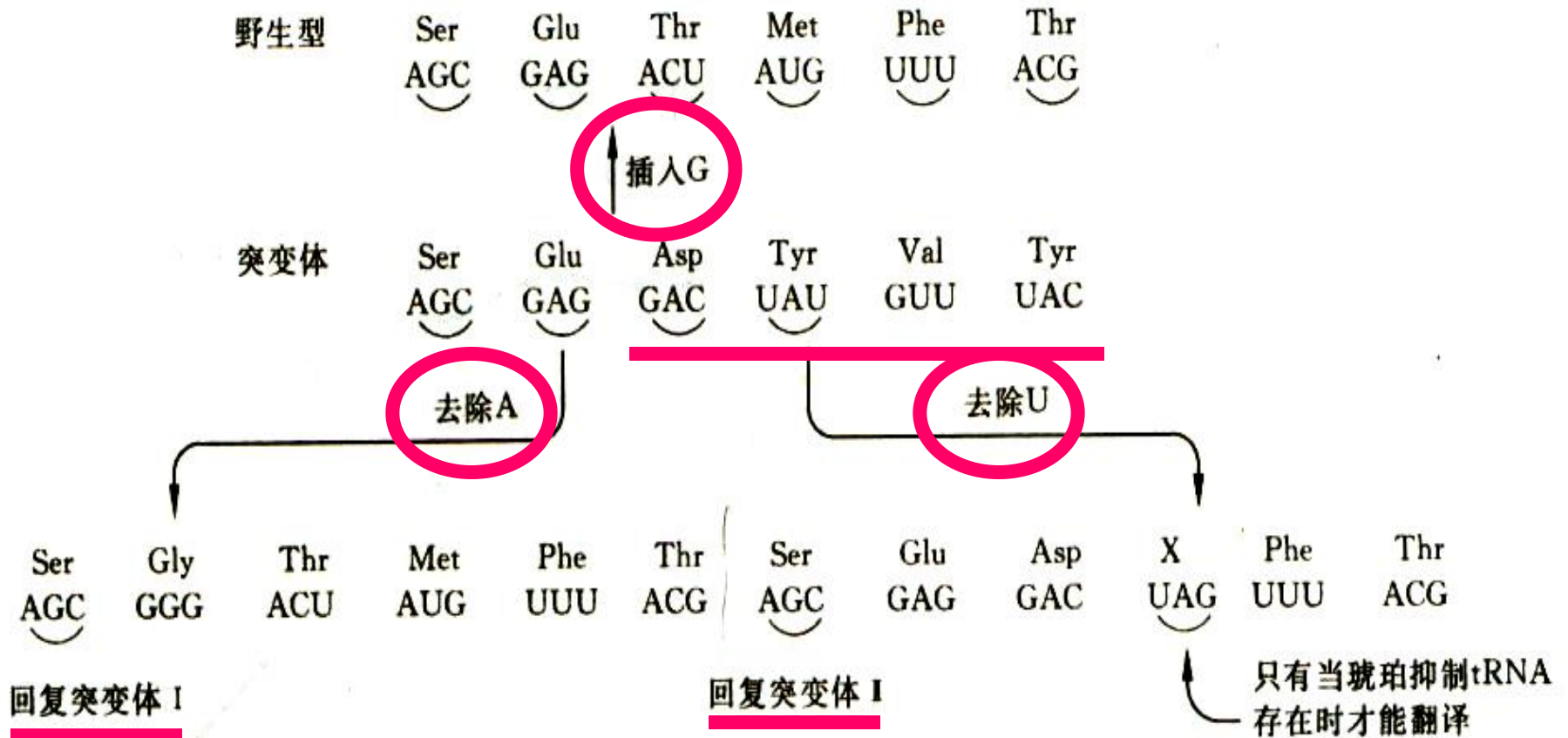


图5-2 移框突变的抑制突变



(2) 基因间的抑制突变

无义突变---无义抑制突变

错义突变---错义抑制突变

移框突变---移框抑制突变

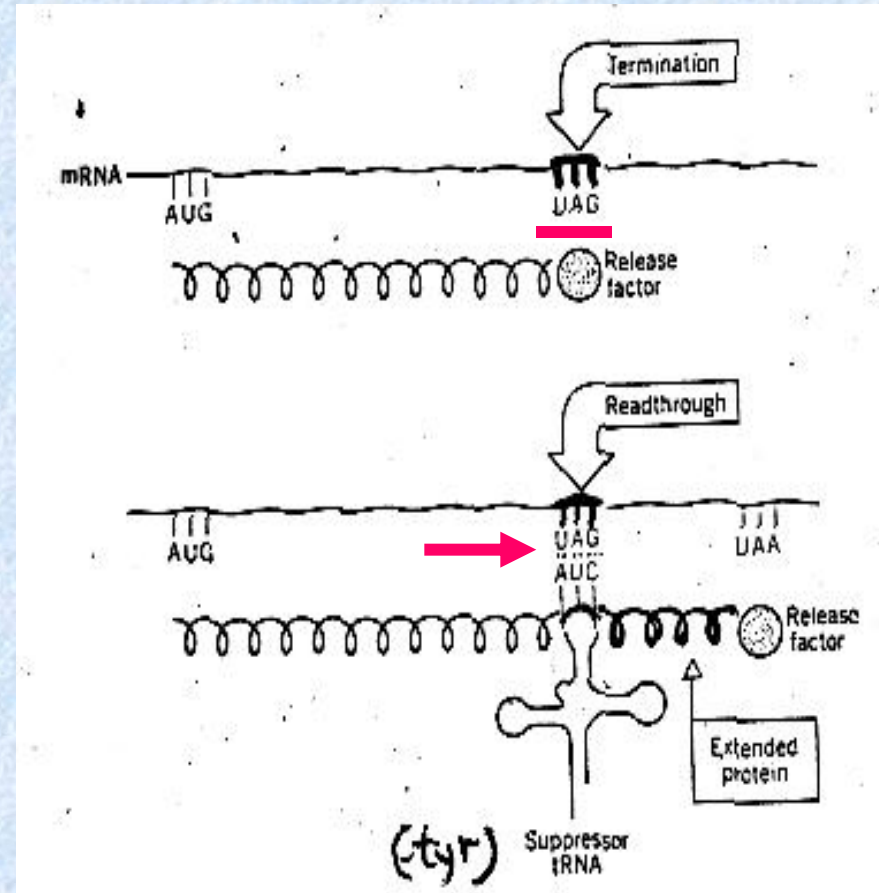
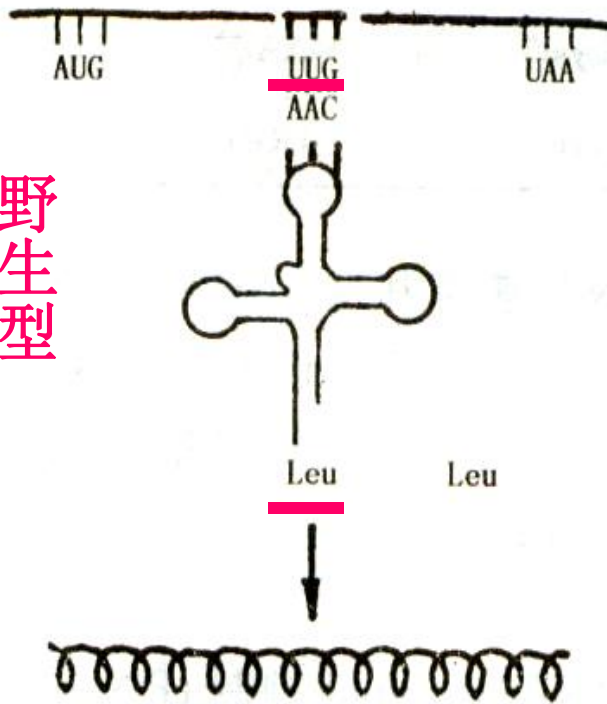
发生在

tRNA基因或与tRNA功能相关的基因上



a、基因间的无义抑制突变（ Nonsense suppressor ）

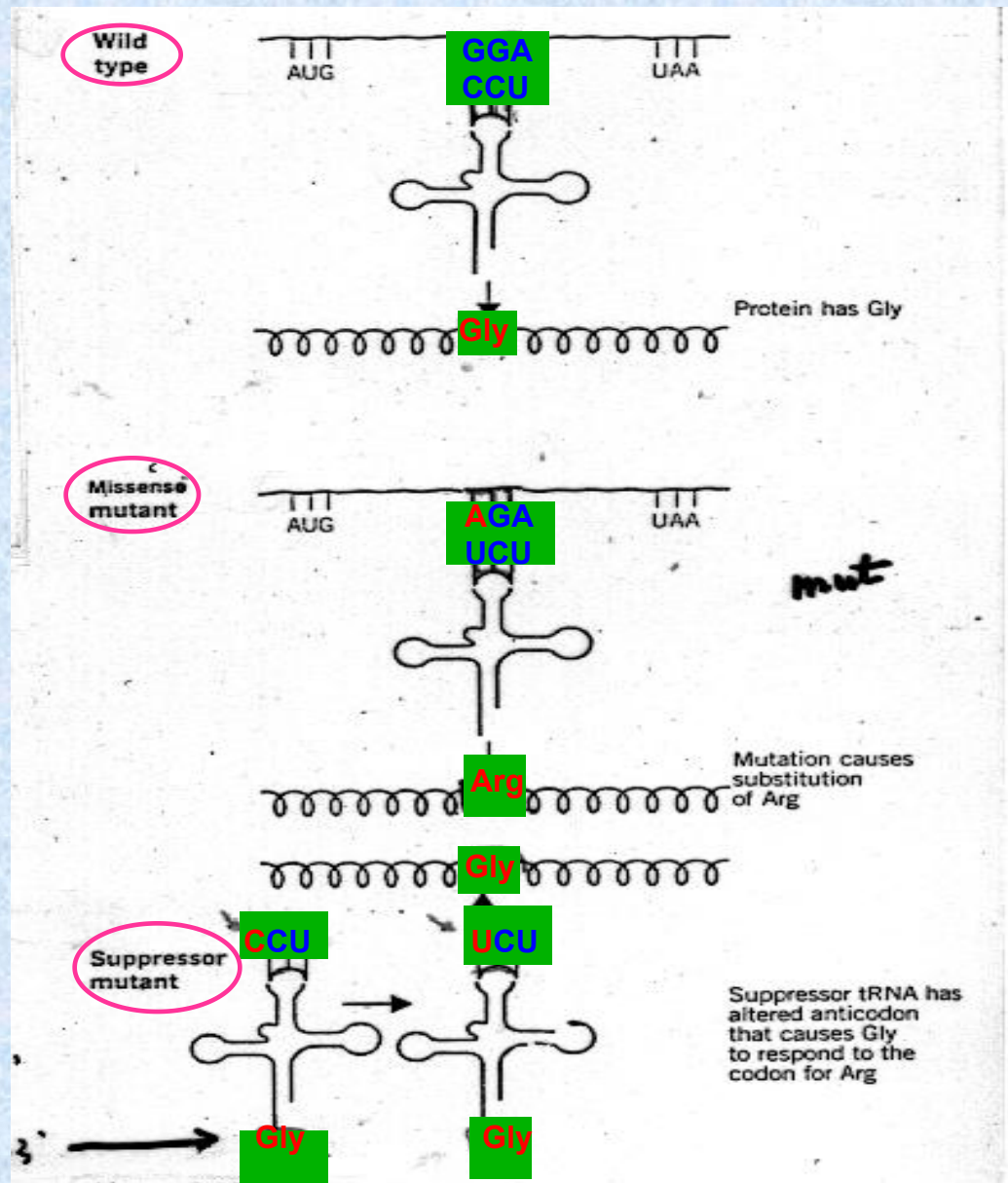
野生型



UAG、UGA、UAA——三种无义抑制 50%

赭石型无义抑制tRNA产生的几率很低，且抑制效率很低

b、基因间的错义抑制突变(Missense suppressor)



c、基因间移框抑制突变

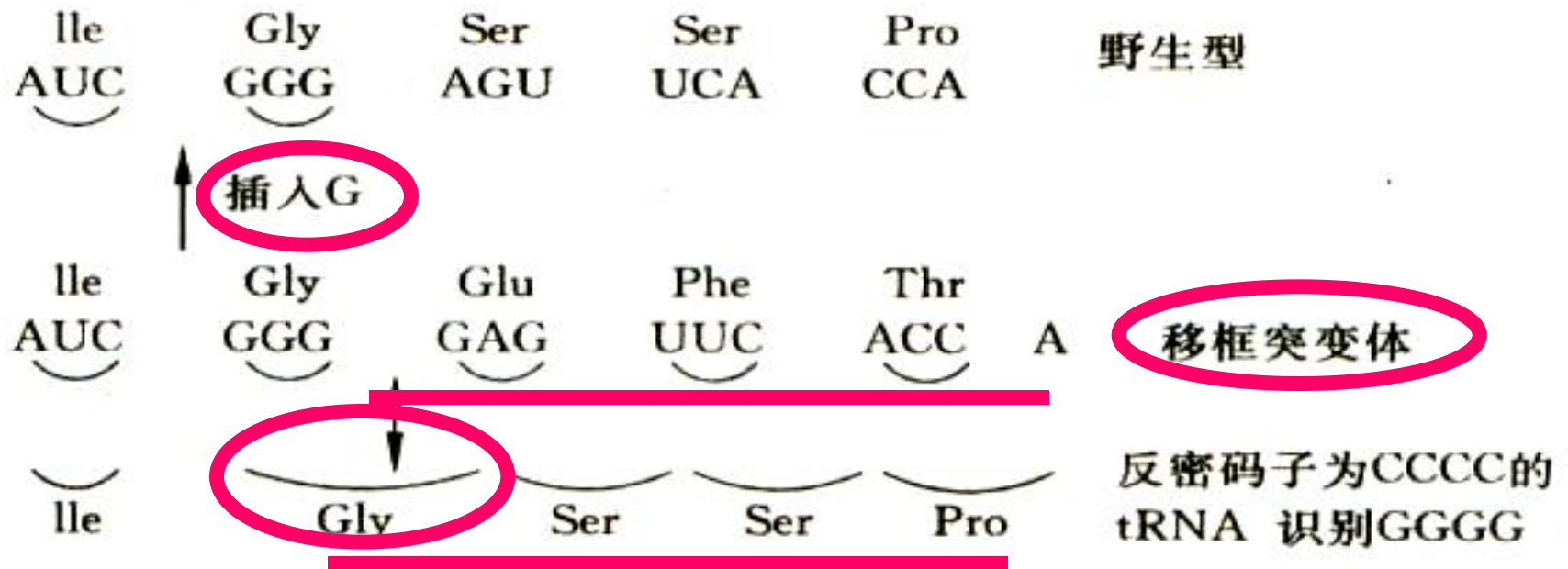


图5-6 突变的 tRNA 对移框突变的抑制

总结：基因内和基因间的错义（无义）、移框抑制突变均由相应的错义（无义）、移框突变抑制



本节小结

- 基因内的抑制突变
- 基因间的抑制突变
- 直接抑制突变
- 间接抑制突变
- 分子机制

◇ 基因内的抑制突变



错义
移码

◇ 基因间的抑制突变



错义
无义
移码

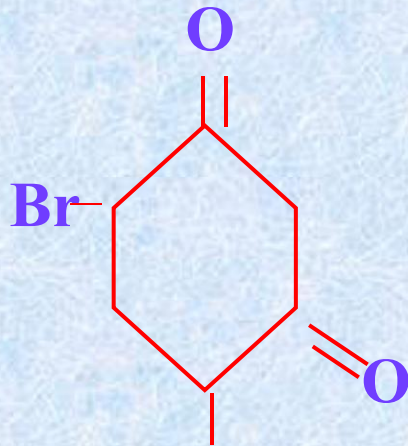


4.6 突变剂和突变生成

1、碱基类似物 (Base analog)

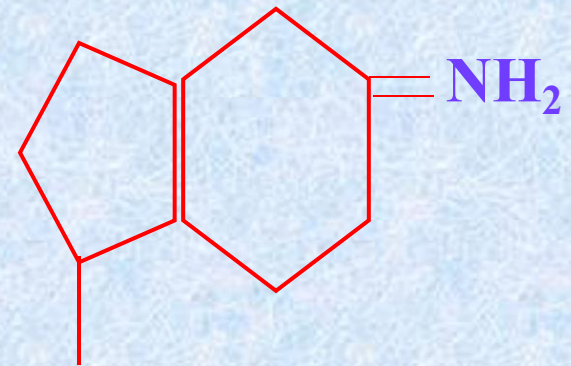
5-溴尿嘧啶

5-Bromine Uracil



2-氨基嘌呤

2-Amino purine





AGCTTCCTA
TCGAAGGAT

酮式5-BrU的渗入

AGCTBCCTA
TCGAAGGAT

第一轮复制

酮式到烯醇式的转变

AGCTTCCTA
TCGAAGGAT

第二轮复制

AGCTBCCTA
TCGAGGGAT

AGCTBCCTA
TCGAAGGAT

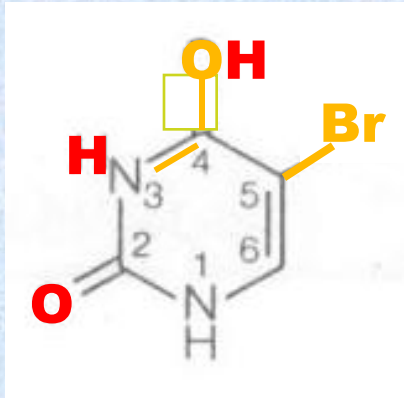
AGCTCCCTA
TCGAGGGAT

A·T → G·C 转变

烯醇式渗入为变

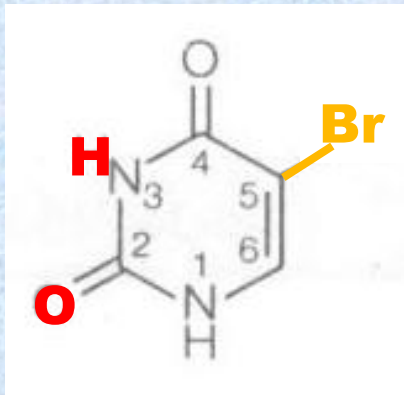
G·C → A·T 转

目录



:G

烯醇式enol



:A

酮式Keto

5-BrU





2、 碱基的化学修饰导致突变

又称化学突变剂:

亚硝酸 (nitrous acid HNO_2)

羟氨 (hydroxylamine HA)

甲磺酸乙酯 (ethyl methanesulfonate EMS)

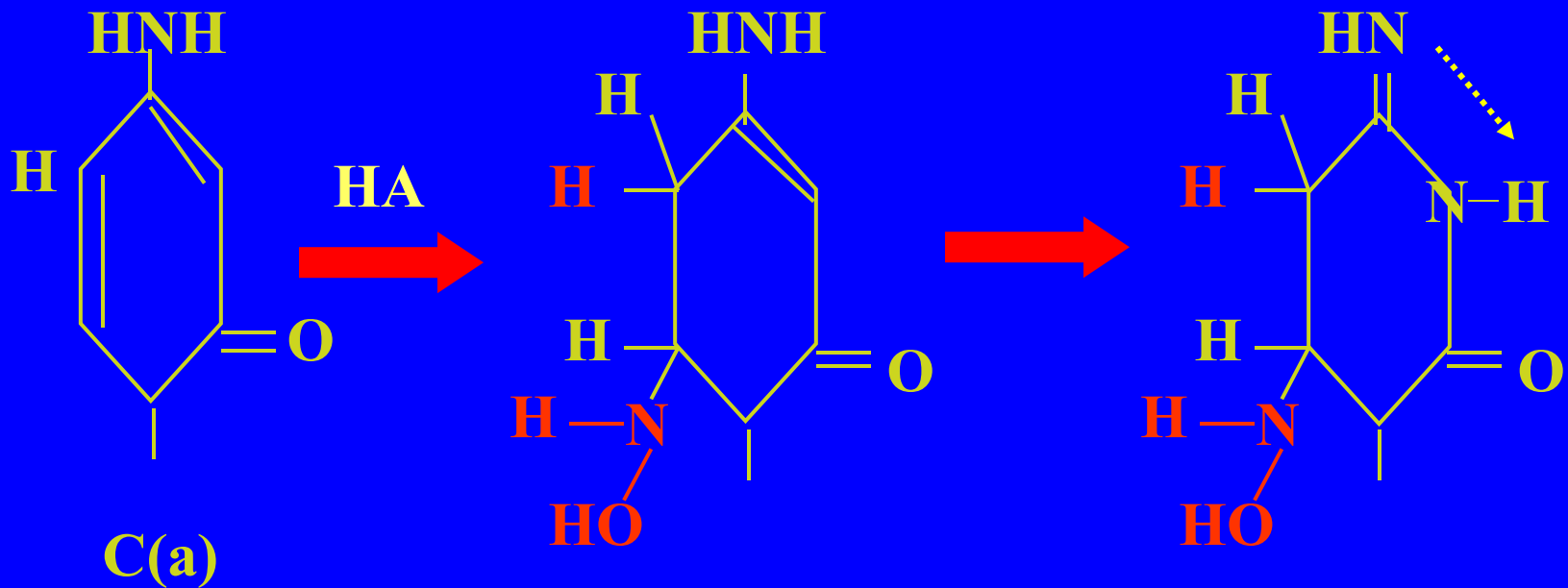
N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍

(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidion NNG)

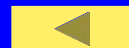
产生——错义突变



NH_2OH (Hydroxylamine HA 羟胺)



C(i) = A(a)





3、嵌合剂的致突变作用

吖啶橙 (Acridine Orange AO)

扁平染料分子

溴化乙锭 (Ethidium Bromide EB)

分子插入



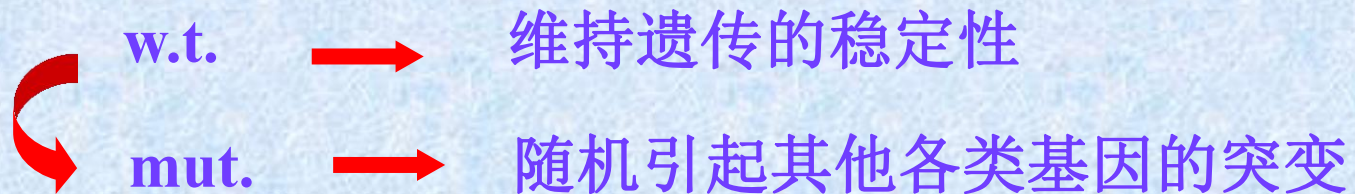
结果产生——移框突变



4、转座成分的致突变作用

5、增变基因（mutator gene）

生物体内有些基因与整个基因组的突变频率直接相关
其突变时，整个基因组的突变频率明显上升



一种误称



增变基因类别:

a、DNA polymerase 相关基因

3' → 5' 校正功能突变

b、错配修复系统的基因

MCE (mismatch correction enzyme)

c、DNA 损伤修复系统基因

错配, 损伤修复功能丧失 → 突变率升高



6、 突变热点（Mutation Hotpoint）

基因自发突变的频率是一定的

DNA分子上某些位点的突变频率大大平均数，
这样的位点称为———

a) 重复序列 (repetitive seq.) / palindromic seq.



本节小结

- 碱基类似物
- 碱基的化学修饰
- 嵌合剂
- 转座因子的致突变作用
- 增变基因
- 突变热点



DNA 的损伤修复与突变

Mutagen (诱变剂)

碱基的化学反应

DNA 损伤

损伤的修复

突变生成

完全修复

突变