
DNA聚合酶分子马达精确动态工作机制研究获进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/16554.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

从细胞最基本的各种功能原件开始，进而精确认识其动态工作机制，是认识生命、有效干预生命过程的第一步。随着冷冻电镜技术的发展，蛋白质静态晶体结构可高效获取，为突破生命科学认知局限提供便利。解析蛋白质分子内部复杂部件的动态反应机理，是生命科学未来亟须解决的难题。明晰DNA/RNA聚合酶等马达分子精确动态工作机制，将为高效研发控制病毒复制的有效药物提供可行性前提。当前，模糊状态的工作机理，使控制病毒的有效药物研发耗时长、投入大、效率低下。

中国科学院物理研究所/北京凝聚态物理国家研究中心软物质物理实验室SM1组研究员谢平运用广义第一性原理进行理论计算和模拟，探索生命活动的核心部件——各种分子马达的工作机理。鉴于生物科学研究手段限制（传统生化实验笼统平均化、晶体结构的数据静态化和新生代单分子实验数据的分散差异性及其可观数据局限性），聚合酶分子马达等功能蛋白分子的精确动态工作机制研究面临困难，至今不甚明了，只能给出卡通画式简单模型加以定性描述。2013年，谢平提出了DNA聚合酶Klenow片段（被广泛研究的高保真聚合酶模型分子）连续动态工作机制的理论模型。该模型解释了当时所有传统生化和单分子技术关于这一马达分子的实验数据，并对国际同行单分子实验结果实现了高度拟合。基于此模型，谢平提出Klenow聚合酶马达分子在受到外力时催化速率精确变化的理论预言。

近日，软物质物理实验室SM1组副研究员刘玉如和李伟，采用单分子操控技术检测该理论预言，实验结果与理论预言完全吻合。科研团队自主设计组装的高通量、高时空分辨率、高计算处理能力单分子磁镊仪器操纵系统，使纳米尺度实时高效测定Klenow聚合酶这一低持续性、多停顿的单分子催化反应速率成为可能。研究运用物理逻辑推理、理论计算与高质量实验结果的高通量分析，解析验证了DNA聚合酶Klenow在外力诱导下的催化活性变化，在实验中精确检测分子马达实时动态合成反应的速率变化。实验发现，在小外力（3.8pN）阻滞下，Klenow聚合酶的合成速率达到峰值，这一反直觉现象反映了高保真DNA聚合酶Klenow分子内部各部件之间的作用机制。

该研究首次诠释了DNA聚合酶Klenow的连续动态自动化工作机制。从DNA聚合酶分子内部原子与DNA之间相互作用隧道和关键位点的理论计算和逻辑推理，得出酶分子在催化位点处（nth position）保持最大相对结合能，从而使得酶分子在反应过程中实现于动态微扰中始终落入起始位点的化学机械偶联机理。今后，该工作在新实验数据基础上继续深化和细化，将为未来高效研发控制病毒、细菌和癌症等重大疾病的有效药物奠定前驱基础。

相关研究结果发表在Chinese Journal of Physics上，并被选为推荐论文（Editor's Suggestion）。研究工作得到国家自然科学基金委、科技部和中科院的支持。

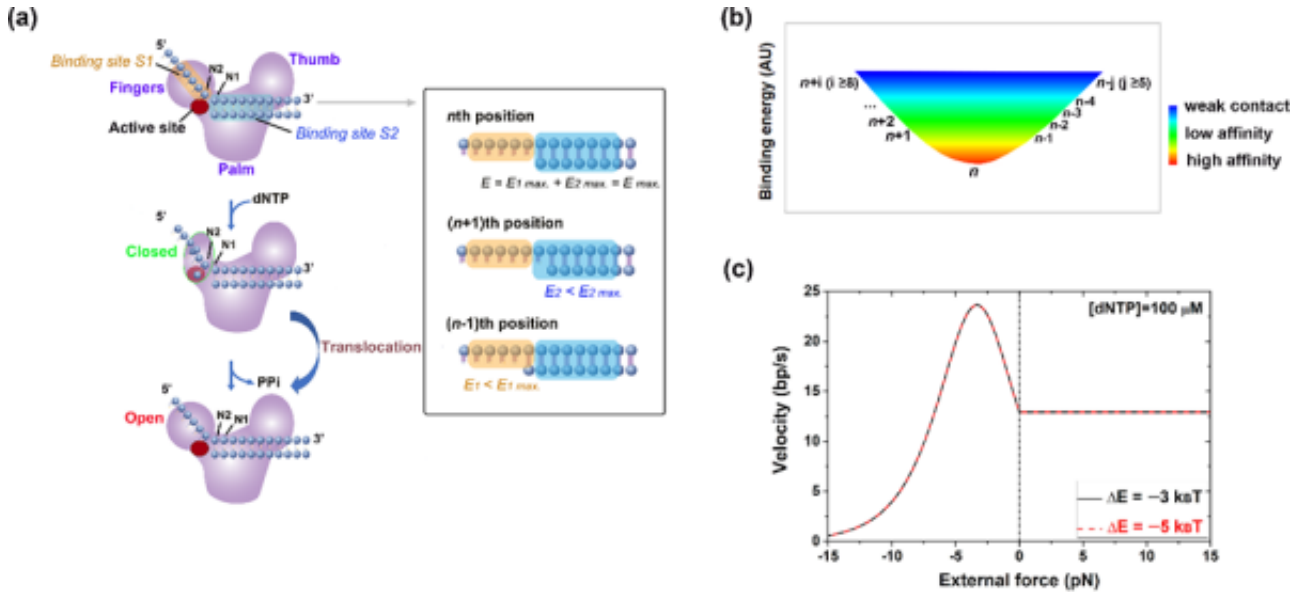


图1.DNA聚合酶（Klenow聚合酶）的自动移位机理图（a），与底物DNA不同结合位点的相对结合能（b），理论预言聚合反应在不同外力下的催化速率（c）。对DNA聚合酶分子内部原子与DNA之间相互作用隧道和关键位点的理论计算和逻辑推理，得出酶分子在催化位点处（nth position）保持最大相对结合能，从而使得酶分子在反应过程中实现于动态微扰中始终落入起始位点的化学机械偶联机理。根据酶分子内部fingers结构域不断开合和与DNA模板相互作用，提出理论预言——外力对Klenow聚合酶的催化速率具有显著影响，如图（c）所示，正向外力对催化速率没有影响；反向外力在小的力值（3.8pN）左右，使催化速率显著升高，更大的反向外力使催化速率降低。

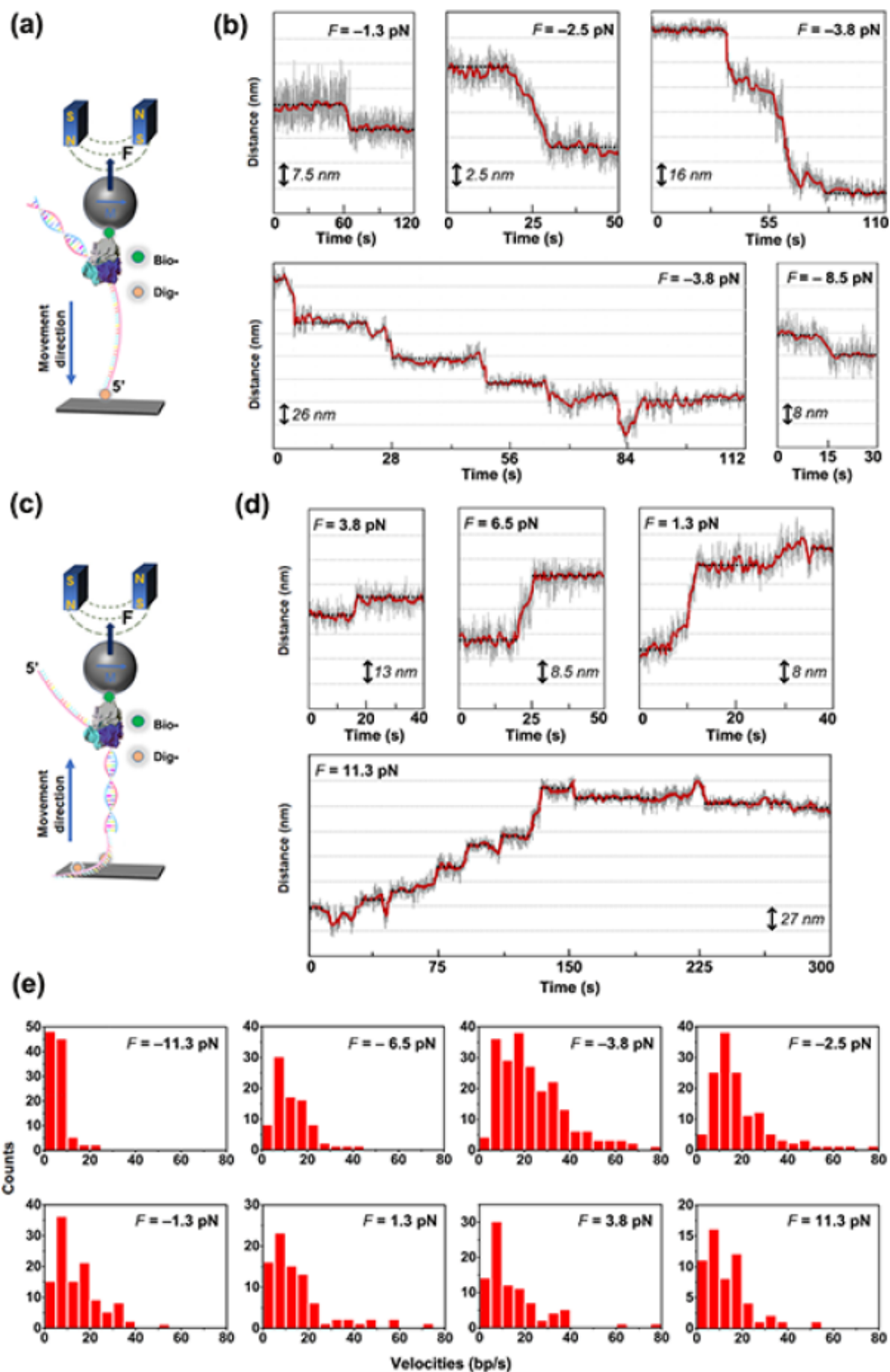


图2.单分子磁镊技术对DNA聚合酶的催化反应进行实时动态监测。(a)和(c)分别为监测反向和正向外力的实验装置示意图；(b)和(d)分别为反向和正向外力作用下酶催化反应的动态曲线；(e)为不同外力作用下的酶催化速率分布统计。

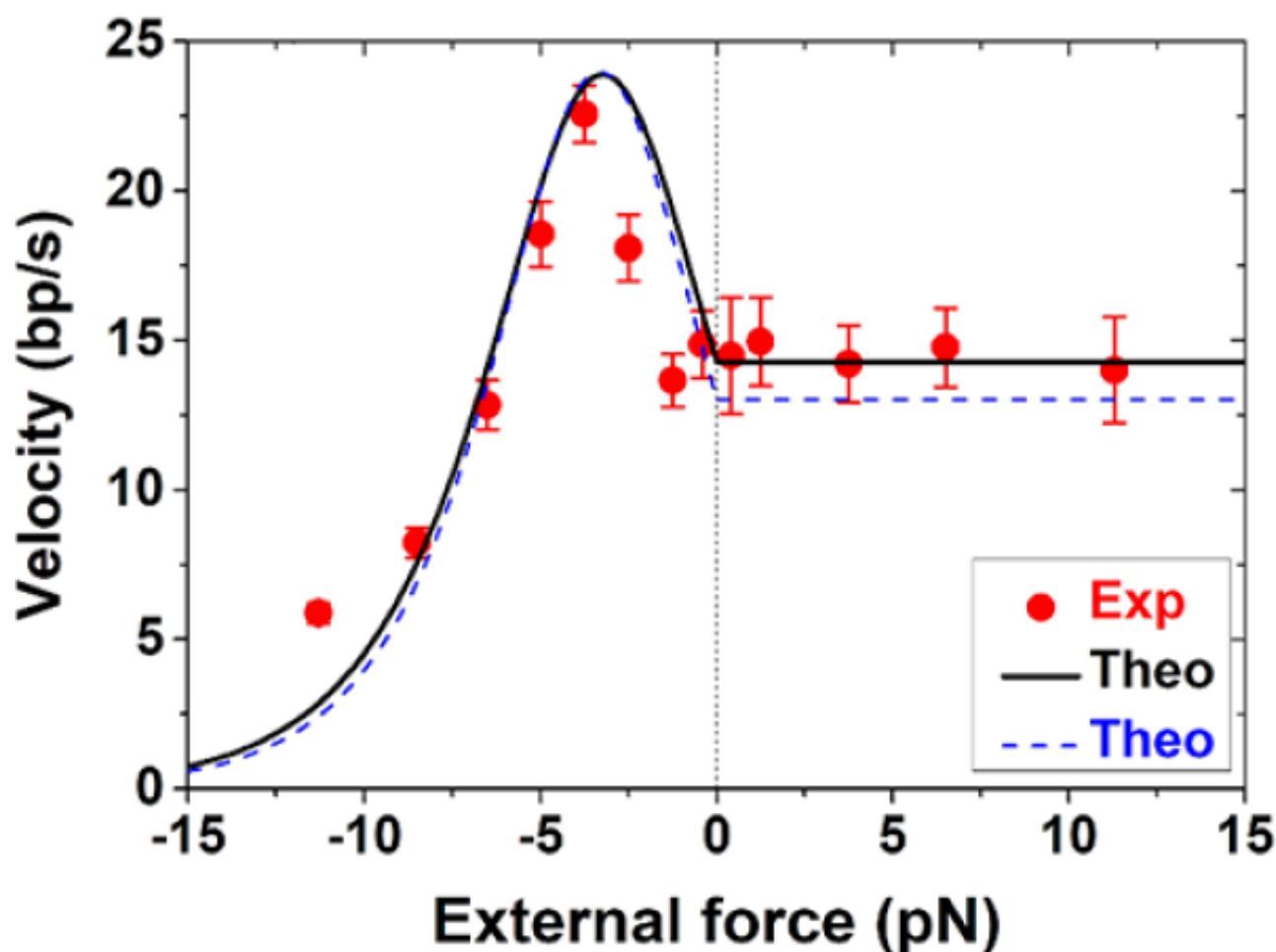


图3.理论预言结果与实验测量结果吻合。实验测量结果为红色圆点表示；运用本研究实验体系微调后的参数拟合理论结果显示为黑色实线；运用历史文献参数拟合的理论结果显示为蓝色虚线。

研究团队单位：物理研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发