生态中心在同源重组分子机制研究方面取得进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/22152.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！

生态中心在同源重组分子机制研究方面取得进展。

近日，中国科学院生态环境研究中心研究员汪海林团队在同源重组分子机制研究方面取得进展，相关研究成果以Flanking strand separation activity of RecA nucleoprotein filaments in DNA strand exchange reactions为题在线发表于Nucleic Acids Research。

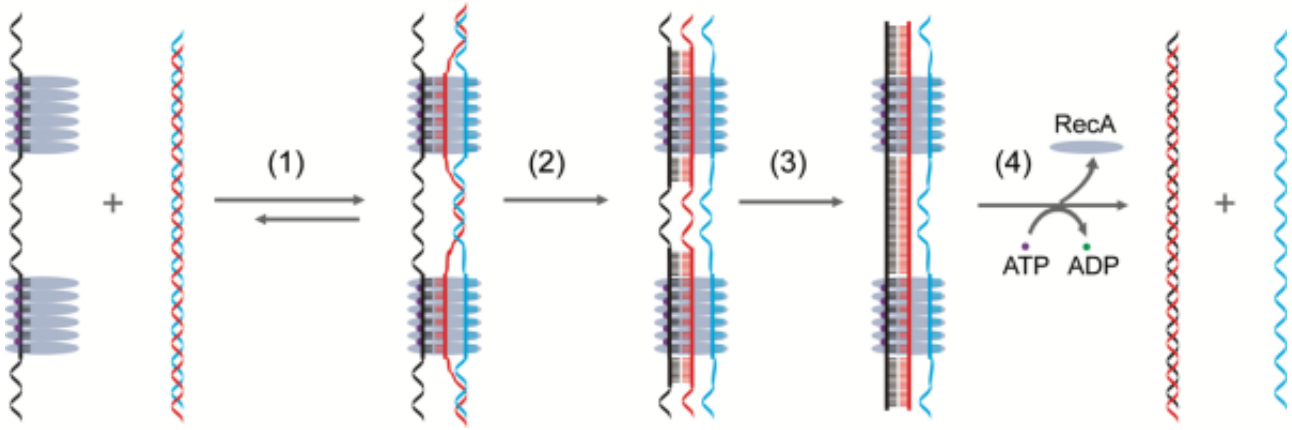
同源重组是一种十分保守的生物学机制，主要参与DNA双链断裂的准确修复和减数分裂过程中的非等位基因重组，在维持基因组稳定性和促进遗传多样性等方面发挥关键作用。同时，多种环境污染物可引起最为严重DNA损伤(双链断裂)，产生遗传毒性。而同源重组修复可有效消除这类遗传毒性。同源重组步骤繁多，需要多种蛋白质机器的协同参与，并受到精细调控。RecA/Rad51家族蛋白在单链DNA上组装形成的核蛋白纤维丝(nucleoprotein filament)具有同源寻找和识别功能，其介导的与同源双链DNA之间的链交换过程是同源重组的核心步骤，对其分子机制的解析是该领域的研究热点和难点。在前期研究工作中，汪海林团队通过发展新颖的分析方法(包括毛细管电泳-激光诱导荧光偏振、酶切保护介导的单DNA片段分子测序等)可解析RecA蛋白在单链DNA上的动态组装。研究表明，在生理条件下(即存在有效的ATP水解)，RecA在单链DNA组装形成低密度、不饱和的核蛋白纤维丝结构，含有大量裸露(未结合RecA蛋白)的核苷酸位点。经典模型中，RecA全覆盖的ssDNA形成的核蛋白纤维丝才能进DNA链交换。因此，他们的这一发现是对过去经典模型的颠覆。同时研究人员提出了新的科学问题：核蛋白纤维丝结构中RecA-缺失区域是如何进行链交换的?为了回答这一问题，需要对链交换这一过程进行精细测量。然而，由于RecA蛋白介导的链交换反应非常迅速，对其动态过程进行高分辨解析非常困难。针对这一难题，该团队将链交换核心过程进行有效“分解”，即双链的分离和新碱基配对的形成两个步骤。同时通过设计一系列非常规的DNA底物以及发展双色交替激发-单分子荧光成像技术在单分子水平对这两个关键步骤进行实时观察，研究不饱和组装RecA核蛋白纤维丝介导DNA链交换的分子机制。

该团队利用截短的单链DNA作为入侵链，发现其仍能与全长的供体双链DNA进行有效的链交换反应，表明供体双链上“多出”的DNA片段在此过程中也发生了双链解旋。由于缺少对应的入侵链，这一“多出”的部分不能被RecA蛋白直接接触，研究人员将这种不依赖RecA直接接触的解旋作用命名为RecA核蛋白纤维丝的侧翼链分离活性，并进一步利用两端同时延长的供体双链作为底物，对侧翼链分离所需的能量进行了评估。在此基础上，他们通过将1-3个不具有RecA成核能力的短片段(15个碱基长度)与较长的DNA片段(48-78个碱基长度)进行化学串联，构建了一种新的入侵链底物进行链交换反应。在ATP水解条件下，这些短片段不能被RecA结合，也不能与其对应的同源双链DNA发生链交换，但仍然具备碱基配对能力，因此能够用于模拟不饱和组装核蛋白纤维丝上未被RecA结合的裸露核苷酸位点。实验结果显示，相比于截短的入侵链，偶联有短片段的入侵链具有更高的链交换能力，表明这些短片段的碱基配对能力能够促进侧翼链双链分

离活性，使其达到一个较长的范围(>45个碱基长度)，揭示了长程侧翼链双链分离活性的存在。他们利用双色交替激发-单分子荧光成像技术对不同底物之间的链交换过程进行了实时观测并比较了它们的反应动力学，发现侧翼链分离是链交换反应的限速步骤，而入侵链与互补链的碱基配对可以通过降低能量壁垒加速这一过程。

基于上述实验结果，研究人员提出了一种侧翼链分离依赖的DNA链交换模型，揭示了不饱和组装RecA核蛋白纤维丝介导DNA链交换的分子机制。这一发现为深入理解同源重组及相关生物过程提供了新的方向。

相关研究工作得到国家自然科学基金的资助。



不饱和组装RecA核蛋白纤维丝介导DNA链交换的分子模型

研究团队单位：生态环境研究中心

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转发