研究揭示植物质体DNA复制中切除RNA引物的关键核酸酶及作用机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/34168.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！

研究揭示植物质体DNA复制中切除RNA引物的关键核酸酶及作用机制。近日，中国科学院分子植物科学卓越创新中心巫永睿团队与张余团队，联合上海师范大学王文琴团队，发现了植物质体DNA（ptDNA）复制体中RNA引物切除的核心核酸酶组分plastid-localized and Mn^{2+}-dependent 5′-3′ exonuclease 1（PEN1）。长期以来，植物ptDNA复制中负责RNA引物切除的核酸酶未被鉴定，而PEN1的发现填补了领域的空缺，完善了ptDNA复制理论。

DNA复制是生命科学的核心问题之一。双链DNA解旋后，引物酶在模板链上合成RNA引物。前导链仅需合成一个RNA引物即可由高持续合成能力的DNA聚合酶实现连续延伸，滞后链需合成多个RNA引物，进而通过不连续的冈崎片段合成方式完成复制。DNA复制后，RNA引物由核酸酶负责切除，从而保证基因组的完整性。在原核生物中，DNA聚合酶III是负责DNA复制的酶，DNA聚合酶I是负责切除RNA引物的酶。DNA聚合酶I具有聚合酶活性及5′-3′外切酶活性。DNA聚合酶I在延伸DNA链时，同步利用其外切酶活性切除RNA引物。

在内共生过程中，光合蓝细菌被非光合真核生物整合共生，进而演变成质体。质体是半自主的细胞器，Pol1A和Pol1B负责ptDNA复制，但缺乏类似于DNA聚合酶I的5′-3′外切酶结构域。目前，负责ptDNA复制过程RNA引物切除的核酸酶尚不清楚。研究发现，在拟南芥中，AtRNH1C可能参与RNA引物切除，而这一过程并非完全高效；AtRNH1C切割后，RNA-DNA连接处残留1至3个核糖核苷酸，从而抑制DNA片段连接。因此，研究推测，需要其他尚未被鉴

定的质体定位的核酸酶来完全切除RNA引物并允许DNA片段连接，进而确保ptDNA复制完成。

该研究分离*Pen1*
位点，发现其编码质体特异定位的5′-3′外切酶。PEN1与ptDNA
复制体的其他成分即Pol1A/1B和连接酶LIG1
共定位于叶绿体拟核。研究显示，PEN1能够高效切割RNA
引物切除过程中间体，并完全移除RNA-DNA
连接处的核糖核苷酸，从而促进LIG1
连接。研究在体外重建了由PEN1、Pol1A/1B和LIG1介导的质体RNA
引物去除过程，证实PEN1参与ptDNA复制过程RNA引物移除。

进一步，该研究解析了PEN1-双链DNA
二元复合物的晶体结构。在PEN1的催化中心，被切割DNA链的第1个核苷酸的5
单磷酸基团与活性中心的$Mg2^{+}$形成配位键，且连接第2和第3
个核苷酸的磷酸二酯键的同时与K250、R264、R283
形成3个盐桥，使被切割DNA
链在活性中心的相对位置被固定，进而使PEN1精确切割第1个和第2
个核苷酸之间的磷酸二酯键，发挥核
酸外切酶活性。为探讨*Pen1*突变对ptDNA的影响，研究分离ptDNA和Detail-Seq发现，*Pen1*
功能缺失导致ptDNA断裂，且断点主要积累在ptDNA
正义链上。同时，研究显示，*Pen1*功能缺失抑制ptDNA
的复制和转录活性，从而影响质体的正常发育和功能。

上述研究发现质体特异性的5′-3′外切酶PEN1能够直接催化质体DNA
复制过程中RNA
引物移除，并阐明了其结构基础。
这为质体复制尤其是RNA
引物移除过程提供了进一步的理解，有望推动作物改良的质体遗传工程进展。

6月25日，相关研究成果发表在《自然-植物》（*Nature Plants*）上。研究工作得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、中国科学院战略性先导科技专项（B类）等的支持。

论文链接

PEN1介导ptDNA复制RNA引物的移除

研究团队单位：分子植物科学卓越创新中心

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