

教学

生物化学教材中*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ的组成和结构变化丁航¹, 伍俊^{2*}, 李彩虹¹, 兰柳波¹, 张海涛^{1*}¹广东医科大学生物化学与分子生物学教研室, 湛江 524023; ²广东医科大学附属医院, 湛江 524000)

摘要: 所有生物化学教材均把大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*) DNA聚合酶Ⅲ当做DNA复制的模式分子介绍, 但新的研究结果发现, 最新探索的*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ的结构与原来描述的结构已有很大的不同。我国目前的生物化学教材对*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ的结果描述仍旧采用旧的模型, 已经落后于新的研究发现, 需要及时更新。为促进我国生物化学教材建设, 本文介绍了新版国际生物化学教材《Lehninger Principles of Biochemistry》描述的*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ结构, 以供教学交流。

关键词: 生物化学; DNA聚合酶Ⅲ; 结构; 教材

Brief introduction of the composition and structural changes of *E. coli* DNA polymerase Ⅲ in the textbook of Biochemistry

DING Hang¹, WU Jun^{2*}, LI Caihong¹, LAN Liubo¹, ZHANG Haitao^{1*}¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China;²Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China)

Abstract: *Escherichia coli* (*E. coli*) DNA polymerase Ⅲ is introduced in all Biochemistry textbooks as a model molecule for DNA replication, but new research results have revealed that the newly explored structure of *E. coli* DNA polymerase Ⅲ is significantly different from the previous structure. The current Biochemistry textbooks in China have a negative impact on the description of the results of *E. coli* DNA polymerase Ⅲ. The old model is still uses, which has fallen behind the new research findings and needs to be updated in a timely manner. This paper introduces the *E. coli* DNA polymerase Ⅲ structure described in the updated international Biochemistry textbook—Lehninger Principles of Biochemistry, for teaching exchange.

Key Words: Biochemistry; DNA polymerase Ⅲ; structure; textbook

高等教育是培养各种专门人才的高层次、专业性教育, 是通过传授系统化知识来培养学生的学

习、思考和领悟能力, 而大学进行教学的主要工具是教材, 教材也是大学开展教学研究和保障教学质量的重要基础^[1]。生物化学是一门跨越生物、医学、药学的, 在分子水平上研究各种生命现象

的学科, 是目前医学各学科中发展最为迅速的学科之一, 也是临床医学和基础医学的重要基础课程^[2,3]。因此, 教材的科学性和准确性尤为重要。由于生物化学与分子生物学研究日新月异的发展, 生物化学涉及的内容不断更新和深化。创新性地编写生物化学教材是非常重要的, 并且新教

收稿日期: 2023-07-14

基金项目: 广东省本科高校教学质量与教学改革工程建设项目(粤教高函[2021]29号); 2022年度广东省教育科学规划课题(高等教育专项)项目(2022GXJK207); 2023年度广东医科大学高等教育教学研究项目(2JY23016); 广东省“新医科”教指委2023年教学改革项目(198)

第一作者: E-mail: 462579515@qq.com

*通信作者: 张海涛, E-mail: taohaizhang33@163.com; 伍俊, E-mail: 630206063@qq.com

材应体现最新的研究成果和研究领域的前沿内容^[3,4]。结构生物学新的研究结果更新了生物化学教材中一些重要的蛋白质结构和功能。一些经典蛋白质结构的新发现已经与现行的生物化学教材描述有很大差异,其中包括*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ的结构研究。

在原核细胞中,与DNA链的延长有关的DNA聚合酶有3种,其中DNA聚合酶Ⅲ是促进DNA链延长的主要酶。它既有5'→3'方向聚合酶活性,也有3'→5'核酸外切酶活性。

上世纪70年代在大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)中发现了DNA聚合酶Ⅲ,随后确定其是大肠杆菌DNA复制延长反应的主导聚合酶,因此所有生物化学教材均把DNA聚合酶Ⅲ作为模式分子用来介绍DNA的复制过程。鉴于DNA聚合酶Ⅲ的重要性,DNA聚合酶Ⅲ的结构研究一直是基础分子生物学研究的重点,对其研究的结果和认识不断更新。根据新的研究结果^[5,6],从《Lehninger Principles of Biochemistry》(第七版)起对DNA聚合酶Ⅲ的结构描述与旧版已经有很大不同,而我国的生物化学教材仍旧采用旧的模式进行介绍。这意味着我国的生物化学教材知识更新已经落后于国外生物化学教材,这也与我国的基础生物化学研究仍旧与国外有一定的差异有关。本文将对《Lehninger Principles of Biochemistry》(第七版)中描述的DNA聚合酶Ⅲ结构和工作方式进行介绍,以期促进我国生物化学教材的更新和编撰。

对于DNA聚合酶Ⅲ的结构和工作方式,不同时期的教科书描述是不同的:早期教科书描述复制时,每条解开的单链各结合一分子DNA聚合酶,领头链由一分子聚合酶连续复制,而随从链是以冈崎片段为单位,每一个冈崎片段由一分子聚合酶催化合成。《Lehninger Principles of Biochemistry》第一版至第六版介绍DNA聚合酶Ⅲ由10个亚基组成(图1),我国目前的教材也均采用此模型(表1)。这版教材描述的DNA聚合酶Ⅲ是一个异源二聚体,有两个核心酶,每个核心酶负责一条单链复制,两个核心酶在物理上属于一个复合体,生理功能上相对独立,分别催化先导链和滞后链合成^[7]。

然而,McInerney^[5]在2007年发表的研究中指

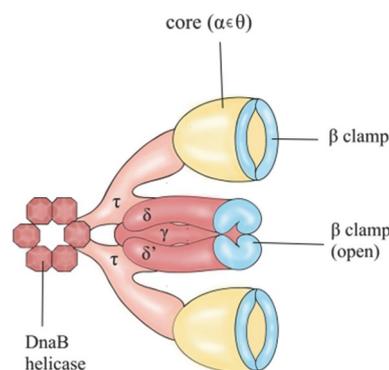


图1 《Lehninger Principles of Biochemistry》(第六版)的*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ示意图^[7]

表1 《Lehninger Principles of Biochemistry》(第六版)教材的*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ组成^[7]

亚基	全酶中数量	亚基相对分子质量	编码亚基的基因	亚基的功能
α	3	129 900	polC(dnaE)	聚合酶活性
ϵ	3	27 500	dnaQ(mutD)	3'→5'校正活性
θ	3	8 600	holE	稳定 ϵ 亚基
τ	2	71 100	dnaX	稳定模板:核心酶二聚化
γ	1	47 500	dnaX*	夹钳装载机
δ	1	38 700	holA	启动夹钳组装
δ'	1	36 900	holB	夹钳装载机
χ	1	16 600	holC	与SSB相互作用
ψ	1	15 200	holD	与 τ 亚基、 χ 亚基相互作用
β	6	40 600	dnaN	可持续性替换更新的DNA夹钳

出,*E. coli* DNA聚合酶Ⅲ是由9种亚基构成,每个聚合酶全酶有三个核心酶。根据这一发现,从《Lehninger Principles of Biochemistry》第七版起更新了对DNA聚合酶Ⅲ组成的描述^[8]。最明显的区别在于《Lehninger Principles of Biochemistry》第七版根据2007年的文献^[6]报道删除了DNA聚合酶Ⅲ的 γ 亚基,亚基的种类由10种修改为9种(表2),每个DNA聚合酶Ⅲ全酶含有的核心酶数量由2个修改为3个(图2)^[6]。

目前确定的DNA聚合酶Ⅲ由9种亚基构成,相对分子质量为1 065 400。DNA聚合酶Ⅲ的活性为DNA聚合酶Ⅰ的15倍,DNA聚合酶Ⅱ的300倍。核心酶由 θ 亚基与 α 和 ϵ 结合形成,可以催化DNA子链复制,但连续性有限。其中具有5'→3'方向聚合酶活性的 α 亚基由pol C基因(*dnaE*)编码,以每分钟约5万个核苷酸的速度延长新的DNA链, ϵ 亚基具有3'→5'核酸外切酶活性的矫正功能。DNA聚合

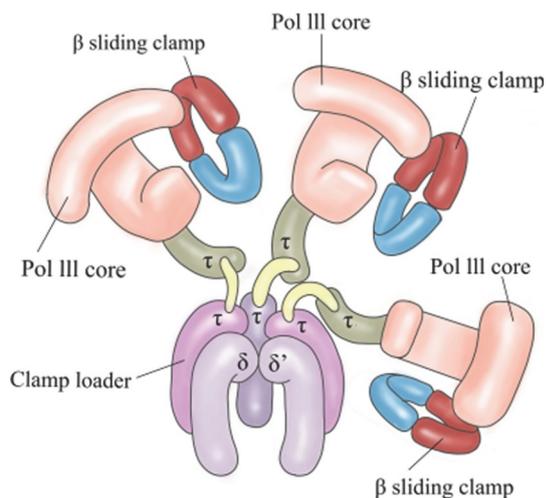


图2 《Lehninger Principles of Biochemistry》(第七版)的E. coli DNA聚合酶III示意图^[8]

表2 《Lehninger Principles of Biochemistry》(第七版)的E. coli DNA聚合酶III组成^[8]

亚基	全酶中数量	亚基相对分子质量	编码亚基的基因	亚基的功能
α	3	129 900	polC(dnaE)	聚合酶活性
ϵ	3	27 500	dnaQ(mutD)	3'→5'校正活性
θ	3	8 600	holE	稳定 ϵ 亚基
τ	3	71 100	dnaX	稳定模板结合: 核心酶二聚化
δ	1	38 700	holA	启动夹钳组装
δ'	1	36 900	holB	夹钳装载机
χ	1	16 600	holC	与SSB相互作用
ψ	1	15 200	holD	与 τ 和 χ 相互作用
β	6	40 600	dnaN	可持续性替换更新的DNA夹钳

酶III由三个核心聚合酶通过 τ (tau)亚基与一个由五个亚基组成的夹装复合体(τ 3 δ δ')连接。另外两个亚单位 χ (chi)和 ψ (psi), 与夹装复合体结合。其中, 16个蛋白质亚基(8种不同类型)的整个组合被称为DNA聚合酶III*。

DNA聚合酶III*可以聚合DNA, 但其聚合速率很低。当添加 β 亚基后, 合成效率和连续性增加。 β 亚基以二聚体形式成对结合形成甜甜圈形的结构, 包围DNA并起到夹子的作用。每个 β 亚基二聚体与聚合酶III*的一个核心酶组合结合, 并沿DNA滑动。 β 滑动夹防止DNA聚合酶III从DNA分离, 显著增加了合成的连续性。 β 亚基的加入将DNA聚合酶III*转化为DNA聚合酶III全酶。

《Lehninger Principles of Biochemistry》(第七

版)描述的DNA聚合酶III工作模式如下^[8]: 先导链由一个核心酶单位持续催化完成, 而滞后链可由2个核心酶单位轮流替换催化合成不同的冈崎片段, 因此可出现1条或2条冈崎片段(滞后链)与领头链同时合成(图3)。实际上, 三个核心酶组成的DNA聚合酶III有利于DNA复制持续合成。这种模式尽可能地缩短了先导链和滞后链的合成时间差, 可防止DNA复制出现障碍^[5]。此外, 这种模式也可以保证复制过程中出现DNA损伤时, 复制复合体不会提前终止, 这点在保证先导链合成出现损伤时复制能持续进行显得尤为关键^[6]。

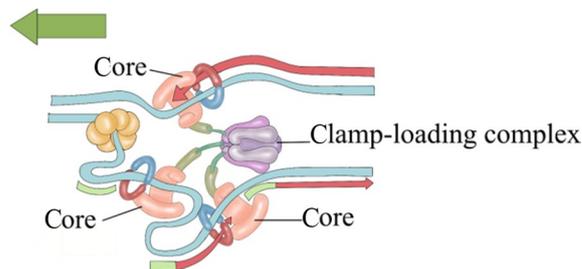


图3 E. coli DNA聚合酶III工作模式^[8]

由于DNA聚合酶III的结构相对复杂, 而且由于篇幅所限, 现行的教材提供的图谱只有一张DNA聚合酶III工作的静态图, 不好理解其工作模式。学生对该酶如何完成滞后链的复制常感到很困惑。建议在编撰教材时, 采用连续展示不同工作状态的DNA聚合酶III与滞后链在空间转换的相对位置变换图谱。在实际教学中, 如果仅采用现行国内教材的单一图示模式, 很难在课堂中完全解释DNA聚合酶III复制滞后链的方式, 应该采用多图动态模式或直接制作合理的动画模式重点介绍DNA聚合酶III复制滞后链的动态过程, 将会使课堂效果更佳。

随着高等医学教育的快速发展, 为适应健康中国发展战略, 我们必须重视医学类教材建设。对于医科学生来说, 高质量的教材可以为他们燃灯指路, 是他们学习的重要依据和主要资料^[9]。新技术快速进展促进结构生物学新的研究成果不断出现, 更新了我们对于生物大分子结构和功能的认识, 同时也更新了教材中一些经典蛋白质结构。这就要求编写人员能够及时了解相关生物化学领域中最新的研究动态, 并通过自己的感悟整理总

结, 吸收新的理论和观点, 结合新的被证实的研究结果, 更新旧理论、旧概念, 对医学发展的客观规律充分尊重, 从而让学生更透切、更深入掌握最新的医学知识, 激发其学习兴趣, 培养其创新意识、树立远大理想和目标, 对于提高学生的认知有着积极意义。

此外, 在DNA聚合酶Ⅲ教学中, 教师引导学生理解生命进化适应性的信息, 如细胞经过进化, 细胞总是会选择一套最合适生存和繁殖的方法以适应环境; 三个核心酶组成的DNA聚合酶Ⅲ的工作模式相比两个核心酶组成的DNA聚合酶能更好地保证DNA复制效率和完整性; 多出的一个核心酶组分相当于战斗中的预备队, 其不仅可以提高滞后链的复制效率, 还时刻防止复制损伤时造成复制提前终止并及时弥补措施, 保证复制的完整性。思政方面可以引导学生认识到在工作中合理的备份有利于工作任务的实施和提高效率, 防止准备不足导致工作迟滞造成损失。同时也告诉学生随着生命科学研究的深入总会刷新我们对生物大分子组成的“生化机器”的认识。这些“生化机器”不仅效率高, 还具有一种艺术美感。我们将来可以根据其构造和工作原理设计出

相应的效率高的机器为人类服务。

参考文献

- [1] 陈心航, 刘璐, 吴红斌, 等. 我国高等医学教材建设的变迁历程与演变逻辑. *科技与出版*, 2021(5): 93-100
- [2] 李品艾, 杨艳杰, 张玲. 生物化学教材中几个值得商榷的化学问题探讨. *中国继续医学教育*, 2016, 8(29): 26-27
- [3] 彭亚会, 郑天虎, 刘远莉, 等. 新医科背景下医学生物化学课程内外大学生创新思维培养模式的探索. *生命的化学*, 2022, 42(10): 1931-1936
- [4] 丛方地, 王俊斌, 李涛, 等. 《生物化学》教材编写的创新性调查与分析. *河北农业大学学报(农林教育版)*, 2017, 19(5): 51-54
- [5] McInerney P, Johnson A, Katz F, et al. Characterization of a triple DNA polymerase replisome. *Mol Cell*, 2007, 27(4): 527-538
- [6] Yao NY, O'Donnell M. Replisome dynamics and use of DNA trombone loops to bypass replication blocks. *Mol BioSyst*, 2008, 4(11): 1075-1084
- [7] David L. Nelson, Michael M. Cox. *Lehninger Principles of Biochemistry* (6th ed) [M]. New York: W. H. Freeman, 2013
- [8] David L. Nelson, Michael M. Cox. *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th ed) [M]. New York: W. H. Freeman, 2017
- [9] 蔡维维, 陈俊良, 杜斌, 等. 医学类教材中的困惑与思考——维生素B12到底在小肠什么部位被吸收. *教育教学论坛*, 2018(2): 85-86