

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00679

DNA 合成的忠实性机制

谢兆辉

德州学院生物系, 山东省高校生物技术与生物资源利用重点实验室, 山东德州 253023

摘要: DNA 的忠实性合成对于基因组稳定和物种延续至关重要, 否则可能会产生严重的后果。DNA 合成具有极高的忠实性, 这主要基于 3 个步骤: (1) 基于氢键、碱基对构象或其他因素的核苷酸选择; (2) 基于 3'→5' 外切酶活性的校对, 方式有顺式校对和反式校对, 可以去除错误掺入的核苷酸; (3) 基于错配修复、切除修复、同源重组修复和跨损伤 DNA 合成的修复过程, 可以纠正逃过校对的错误核苷酸。由于 DNA 聚合酶不仅可以作为抗病毒或抗癌药物的靶标, 而且其忠实性还与抗药性或药物副作用有关, 所以深入研究 DNA 合成的忠实性具有重要的意义。文章主要论述了 DNA 合成的忠实性机制, 并对 DNA 聚合酶的应用前景做了展望。

关键词: DNA 合成; 忠实性; 核苷酸选择; 校对; DNA 修复

The fidelity mechanism of DNA synthesis

XIE Zhao-Hui

Key University Laboratory of Biotechnology and Utilization of Bio-resource of Shandong, Department of Biology, Dezhou University, Dezhou 253023, China

Abstract: Accurate DNA synthesis is vital to maintain genome stability and ensure propagation of species. Synthetic errors have far reaching consequences. Therefore, DNA synthesis is remarkably accurate. The high fidelity is mainly achieved through three steps: ① nucleotide selection, which is based on hydrogen, base pair shape, or some other elements; ② 3'→5' exonuclease proofreading, which removes mis-incorporated nucleotides in cis or trans; ③ repair process, which could correct mismatched nucleotides escaping from proofreading, such as mismatch repair, excision repair, homologous recombination repair, and translesion DNA synthesis. Because all polymerases are suitable targets for anticancer or antiviral drugs, their fidelity is involved in drug resistance and side effects. Understanding the molecular basis of synthesis fidelity is of vital importance. In this review, the fidelity mechanisms of DNA synthesis will be discussed in detail. Furthermore, their application perspective was discussed.

Keywords: DNA synthesis; fidelity; nucleotide selection; proofreading; DNA repair

DNA 合成具有高度的忠实性, 这对基因组稳定和抑制突变至关重要。多种因素可以影响 DNA 合成的忠实性: 如脱氧核苷酸(dNTP)的浓度及平衡, dNTP 浓度异常可以导致错误掺入率增加、DNA 链错

收稿日期: 2011-10-31; 修回日期: 2012-01-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30901023)资助

作者简介: 谢兆辉, 硕士, 副教授, 研究方向: 动物遗传学。Tel: 13969214206; E-mail: xiezh0523@163.com

致谢: 本文在撰写和修改过程中, 杨东英和曾强成博士给予了极大的帮助, 在此表示衷心感谢!

网络出版时间: 2012-4-24 11:44:34

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120416.1554.001.html>

排或移码突变^[4]。引物也对忠实性有贡献,因为新链比较短时,与模板不能有效结合而易滑动^[2]。但影响DNA合成忠实性最主要的因素是:核苷酸(rNTP)的选择、3'→5'外切酶校对和DNA修复机制,其中rNTP选择又包括基于氢键的选择,基于碱基对构象的选择和正负选择,校对包括顺式校对和反式校对,DNA修复包括错配修复(Mismatch repair, MMR)、碱基切除修复(Base excision repair, BER)、同源重组修复(Homologous recombination repair, HRR)和跨损伤DNA合成(Translesion DNA synthesis, TLS)。几乎所有的生物都需要DNA聚合酶(DNA polymerase, DNAP), DNAP不仅适合做药物靶标,而且也与一些病毒或癌细胞的抗药性,及药物的副作用有关,所以相关研究具有重要的理论意义和应用价值,但现在很多DNA忠实性的分子机制还不十分清楚。本文主要对DNA合成忠实性机制的研究进展做一论述,同时对相关研究的应用前景进行了展望。

1 DNA 聚合酶

自从1958年发现大肠杆菌DNAP I到现在,生物中已发现了多种DNAP,如真核生物中至少有15种DNAP,根据序列相似性可以分为A、B、C、D、X、Y和RT等多个家族,功能涉及合成、修复、抗体产生和染色单体粘结对等。一般DNAP都有一个“右手”状结构,手掌、手指和拇指等结构域成U型,可以定位模板-引物。手掌主要参与催化;手指可以与新结合的dNTP或新形成的碱基对相互作用,参与dNTP选择;拇指则参与双链DNA的结合或定向^[3]。手指和拇指结构域在不同家族之间功能比较保守,但结构差异很大,而手掌结构域在不同家族之间非常相似:两个保守的天冬氨酸与dNTP一起结合两个二价金属离子,这两个金属离子的催化机制在目前研究的所有DNAP中都存。除了聚合酶(polymerase, pol)中心,部分DNAP还具有3'→5'外切酶(Exonuclease, exo)中心,两个中心间隔30~40 Å。DNA合成初期,模板-引物双链结构先结合到pol中心,接着手掌结构域围绕DNA,随后新来的dNTP结合,酶从开放构象转换成封闭构象。然而,Wu等^[4]最近提出了一种3步反应机制:他们认为DNAP在开放和封闭构象之间有一种中间构象-半封闭构象,碱基在这时选择,正确的dNTP导致酶形成封闭构象,而错误dNTP引发

酶回到开放构象。根据忠实性高低DNAP分为两族:高忠实性的酶一般属于A或B族,是主要的合成酶,多具有exo中心;低忠实性的酶多属于Y族,一般没有exo中心,主要参与跨损伤修复。

2 核苷酸选择的忠实性

核苷酸选择是DNA忠实性合成最重要的一步,差错率只有 10^{-3} ~ 10^{-6} ,但选择的机制差异很大,现在并不十分清楚。最早提出的是基于氢键的选择模式,后来发现碱基对的几何构象也具有重要作用,最近又出现了一种“正负选择”模式。此外, DNAP活性中心的脱溶剂化和碱基堆积作用等也会影响选择忠实性。

2.1 基于氢键的核苷酸选择

氢键对于序列依赖性的核苷酸识别、遗传信息储存、合成、转录和翻译都具有重要作用。除了常见的Watson-Crick(WC)碱基对氢键之外,还有Hoogsteen碱基对氢键、摆动碱基对氢键、假氢键,或与酶形成的氢键。

WC碱基对氢键认识最早,最普遍,也被一些低忠实性的酶所证实,如人或疱疹病毒的引物酶, pol η 和pol I等,他们聚合不能形成WC氢键的核苷酸类似物的效率很低。WC碱基对中,模板核苷酸都采取反式构象,但在一些酶中,模板构象成顺式,不能形成WC氢键,只能形成Hoogsteen碱基对,如Y族的pol η 、pol ι 、pol κ 和Dpo4。一般DNAP与DNA双螺旋的小沟联系紧密,与大沟作用很弱,而Hoogsteen碱基对的形成弱化了与小沟的作用,形成了与大沟的密切联系,所以Hoogsteen氢键在跨小沟损伤修复中较常见,如pol κ 修复8-氧-鸟嘌呤^[5]和pol ι 修复O6-甲基-鸟嘌呤^[6],及Dpo4上的嘌呤-嘌呤碱基对^[7]。pol ι 的活性中心较大,可以利用多种碱基对方式,修复大沟损伤时,利用WC碱基对,修复小沟损伤时,利用Hoogsteen碱基对^[8]。碱基之间还可能形成摆动碱基对,导致碱基选择的特异性降低,如水生栖热菌pol I合成时出现的T:G或C:T摆动碱基对^[9]。最近的研究对氟不能形成氢键的观点提出了挑战,因为在dF:A碱基对中,氟和A环外氨基的距离与氢键一致,推测dF可以通过氢键结合A^[10]。这种氢键以后被称为假氢键,对核苷酸选择也有贡献^[11]。

数DNAP则可以以自身活性中心的氨基酸残基为模板。脱碱基位点是最常见的DNA损伤, X族DNAP利用酪氨酸指导A插入, 且A:酪氨酸构象类似A:T碱基对^[12]。Rev1的模板则为自身的一个精氨酸, 通过与C形成氢键指导C掺入^[13]。

2.2 基于碱基对构象的核苷酸选择

虽然氢键对于核苷酸选择有贡献, 但选择的忠实性并不能完全被正确或错误dNTP形成氢键的自由能差异所解释。像DNA自发突变中最常见的G:T或A:C错配, 原因不是氢键, 而是错配碱基对具天然碱基对的构象^[14], 这揭示碱基对构象对核苷酸选择也有较大贡献。

高忠实性的DNAP结合正确的dNTP时, 构象会从开放转化为封闭, 使酶活性中心的氨基酸正确排列。很多DNAP中, 这种构象变化为dNTP掺入的限速步骤, 如嗜热硫磺硫化叶菌的pol B1^[15]。错误的dNTP或rNTP的结合, 往往不能引发酶封闭构象形成。与此相一致的是高忠实性的DNAP往往具较小的dNTP结合空腔, 增加结合空腔导致忠实性降低, 如噬菌体RB69 DNAP的酪氨酸 567^[16]和酵母pol ϵ 的甲硫氨酸 644^[17]突变。有趣的是, 即使高忠实性DNAP, 结合空腔相对于天然碱基对还是有点大, 与底物的结合还没有达到最完美程度^[18]。构象变化对dNTP选择的影响可能是加速正确dNTP的掺入^[19], 也可能是阻止错配dNTP的掺入^[20]。

DNAP识别核苷酸是有序的, 先选择配对的核苷酸, 然后再识别rNTP, 往往通过核糖识别rNTP^[21]。大多数DNAP进化出了一种空间结构, 通过核糖 2'-OH阻止rNTP结合。这种空间结构或者是氨基酸大的侧链, 如A族为谷氨酸, B族、Y族和逆转录酶为酪氨酸/苯丙氨酸; 或者是肽链的主链结构, 如人pol λ 。这种空间结构变小会影响对rNTP的识别, 如pol μ 突变, 会导致每掺入 11 个核苷酸, 其中一个就可能是rNTP^[22]。噬菌体Dpo4 中一个氨基酸突变, 产生了容纳 2'-OH的空间, 大大降低了对rNTP的识别^[23]。

DNAP识别碱基对构象的方式主要是直接或间接利用氢键识别DNA的小沟: 正确配对时, 嘌呤N3和嘧啶O₂ 作为氢键受体在小沟正确定位, 错配时, N3和O₂ 位置改变, 会失去与DNAP的氢键作用^[24]。A和

B族DNAP通过与小沟识别, 可识别到活性中心上游 4~5 bp, 革兰氏阳性菌pol C可以识别到上游 8 bp^[25]。

2.3 “正负选择”模型

因为pol α 和Klenow 片段的聚合反应有时并不需要氢键或特定的碱基构象, 于是有人提出了一种“正负选择”模型, 也就是DNAP可以利用dNTP上的一些特殊的元素, 阻止错误dNTP掺入, 或促进正确dNTP聚合。如利用嘌呤核苷酸上的N-3 阻止错误dNTP掺入, 利用N-1 阻止错误掺入, 同时增强正确掺入^[26]。单纯疱疹病毒的DNAP也具有这种选择模式。此外还有脂肪嗜热芽孢杆菌的pol I, 但pol I中一些元素的作用与上述酶不同, 如pol I利用N-3 促进A或G掺入, 而pol 则利用N-3 阻止错误掺入^[27]。

3 校对

DNAP的校对功能可以去除错误掺入的核苷酸, 使忠实性提高 100 倍。因为即使酶的exo活性失活, 或没有错配碱基^[28], 引物也会向exo中心移位, 推测引物在两个中心之间的移位动力学决定了校对对忠实性的贡献。聚合反应往往具有较强的连续性, 校对反应却是不连续的, 如果有两个连续的错配碱基, 切除第一个后, 引物末端需要先回到pol中心, 然后再回到exo中心^[29]。校对方式可以分为顺式和反式两种。

3.1 顺式校对

顺式校对中, 引物在同一个酶中从pol中心移位到exo中心校对, 移位方式有两种: (1)引物末端与模板解链后单独向exo中心移位, 解链的长度因酶而异, Klenow片段至少要解 4 bp, 而噬菌体T4 和T7 的DNAP只需要解 2~3 bp^[30], 这种方式比较普遍。(2)引物-模板两条链都向exo中心移位。如C族DNAP, 伴随双链结合结构域旋转离开pol位点, 引物末端向exo位点移动, 类似的还有pol γ ^[31]。

3.1.1 引物移位的动力

有人认为引物向exo中心的移位是自然发生的, 主要受热力学的影响^[32]。也有人认为与张力有关: 错误dNTP的掺入, 导致DNA双螺旋扭曲, 产生一种张力, 引发合成停顿, 引物-模板卷曲, 及引物移位

[33]。这种模式也可以被DNA构象变化证实,天然DNA双螺旋为B型,合成过程中,B-型构象在靠近活性位点时会转换成A-型[34],但当引物末端结合到exo中心,DNA又呈现B型构象[28],也许这种构象的变化产生了一种张力,导致引物末端的移位。DNAP上也发现了一些影响移位的结构:如噬菌体phi29 exo中心的Tyr148, pol δ 的 β -发夹结构[35],人类pol δ 的p12 亚基则被称为移位调节变速排档[36]。

3.1.2 影响引物解链或移位的因素

多种因素会影响引物解链或移位过程:① 温度:温度升高对exo活性的影响比pol活性大,同时又利于引物解链向exo中心移位[37];② 引物末端序列:一般引物末端与模板间没有氢键或氢键弱时,利于引物解链向exo中心移位。像T4 DNAP合成时,临近是AT碱基对比GC碱基对的校对速率快4倍[38]。但大肠杆菌pol II合成富含AT的序列时,由于延伸速率高于GC序列,忠实性反而下降[39];③ DNAP突变:噬菌体T4 DNAP或酵母pol 的一个亮氨酸突变,导致引物向exo中心移位缺陷[40]。人pol γ 的exo中心突变,会降低酶对DNA的亲和力,促进引物向exo中心移位[41];④ 蛋白质因子:影响移位最大的因子可能是延伸因子:火球菌pol B与延伸因子有两个结合位点,第二个位点可以调节引物移位,该位点突变会大大提高移位速率[42]。其他延伸因子,如单纯疱疹病毒的UL42 和噬菌体T4 DNAP的gp45[43]也具调节移位功能;⑤ dNTP浓度:如果dNTP过高,可以导致聚合与校对之间的平衡向聚合移动,降低忠实性。

顺式校对还有一种可能:错配导致DNA与酶解离,以后DNA又重新结合到相同的酶上。研究发现:DNA与DNAP结合时,可以直接结合到pol或exo中心,但含有错配碱基的DNA更容易结合到exo 中心[44]。

3.2 反式校对

反式校对中一个DNAP产生的错误,被另一个DNAP或蛋白质校对。越来越多的证据表明,反式校对在细胞中非常普遍,说明它具有重要的意义。首先,没有校对功能DNAP的错误可以被另一种具校对功能的DNAP校对。反式校对最早在体外实验中发现,即小牛胸腺pol δ 可以校对pol α 产生的错配,以后又在酵母细胞中发现[45]。此外, pol ϵ 也能够校对

pol α 的产物[46],而pol δ 或pol 则能够校对pol η 错误掺入的G[47]。其次,DNAP的错误还可以被另一种具有3'→5'外切酶活性的蛋白校对:线粒体中,p53 能够为pol γ 提供校对[48]。胞浆中,p53 可以为病毒合成酶提供校对。WRN则可以校对pol β 错误掺入的核苷酸[49]。Ape1 被称为pol β 的“校对员”,不仅可以弥补pol β 缺失校对功能,还可以为逆转录酶提供校对[50]。Ape2 则可以在PCNA依赖性的跨8-oxoG损伤修复中提供校对功能[51]。另外,具校对功能DNAP之间的可以相互校对。如大肠杆菌pol II 可以校对pol III产生的错误[52], pol δ 与pol ϵ 互相提供校对[46]。最近发现, pol II 还可以通过阻止pol IV结合引物,降低合成差错率[53],揭示pol II对大肠杆菌DNA忠实性复制非常重要。

顺式和反式校对并不是排斥的,也可以发生在同一个酶中。反式校对中两种酶的转换可能涉及酶的释放,类似冈崎片段延伸中 pol α 和 pol δ 的转换,有时还需要辅助因子,如RPA、RFC、PCNA等。

4 DNA 的修复过程

维持合成忠实性的DNA修复主要为MMR和BER[54]。MMR主要去除合成过程中逃过校对的错误,包括碱基置换、掺入或缺失突变,其次,也可以去除损伤造成的错配,使合成忠实性增加50~1 000倍。MMR有两种识别错误碱基的方式:一种发生在真核生物和大多数细菌中,通过链的不连续性识别,这种不连续性在滞后链源于冈崎片段,在前导链源于dUMP掺入;另一种方式发生在大肠杆菌及其亲缘关系较近的一些细菌,通过甲基化差异来识别[55]。原来认为MMR主要发生在细胞周期S期。现在发现MMR只是在S期活性达到最高,在其他时期也存在[56]。碱基切除修复可以修复小的、非双螺旋扭曲的损伤,如合成过程中错误掺入的dUMP。U是RNA中的一个正常碱基,但可以错误掺入到DNA中,人类细胞可以修复,但有些细菌却不能,推测U是细胞一种先天的抗病毒机制。双链断裂是最严重的DNA损伤之一,但可以通过HRR途径和非同源末端连接(Non-homologous end joining, NHEJ)途径修复。HRR主要发生在细胞周期的后S期到M期,首先利用核酸酶切除DNA末端,再招募Rad51 形成核蛋白丝以有利于同源搜索和3'突出末端侵入,以后以未

损伤的同源序列为模板延长 3'末端,最后完成修复[57]。NHEJ途径不需要同源DNA序列,主要发生在G₁期,末端结合蛋白Ku首先使断裂的DNA链彼此靠近,然后再由专一性的DNA连接酶封闭缺口[58]。HRR途径和NHEJ途径的联系一直未明,最近发现NHEJ途径可能发生的比较早,如果不能完成修复,HR途径则会发挥作用,在这种方式转变中,Ku起着重要作用[59]。TLS是细胞应答DNA损伤时的一种耐受机制,该过程中,通常一种高忠实性的DNA聚合酶会被另一种低忠实性的酶置换,这些低忠实性的酶多属于Y族,PCNA在酶的置换过程中起着关键作用[60]。参与TLS的酶通常没有3'→5'外切酶校对活性,最近发现它们可能具有一种特殊的校对方式-焦磷酸解,以清除错误掺入的核苷酸[61]。

5 遗传信息流动的忠实性机制总结

遗传信息流动的每一步都具有高度的忠实性,其中主要涉及4种酶:DNAP、RNA聚合酶(RANP)、氨酰-tRNA聚合酶(aaRS)和核糖体,他们的忠实性机制有很多相似之处(表1)。另外,DNAP与RNAP与核糖体一样,主要通过双螺旋构象,来识别错配底物,这比序列识别有较大优势,因为即使错误当时没能识别,以后还可能被识别。如pol_I可以识别离引物末端4~5 bp的错配碱基[34]。但他们虽然都具有校对功能,但只有DNAP进化出了独立的校对结构域,这不仅提高了校对的效率,而且也提高了选择的忠实性,因为引物移位到exo中心,可以阻止合成,防止错误核苷酸掺入。与其他3种酶比较,DNAP种

类多,结构差异大,所以每种机制对不同DNAP忠实性的贡献不同,如氢键和碱基对不同DNAP影响就不一样。焦磷酸解在转录中也具有一定的校对功能,但对DNA合成却有相反的观点,有人认为可以作为校对活性,增加忠实性[62],近来也得到一些实验的支持,但很多人认为焦磷酸解也会降低DNAP忠实性。

6 DNA 聚合酶应用前景展望

DNA合成忠实性的研究深化了人们对一些医学现象的认识。如在药物毒副作用方面:逆转录酶抑制剂是重要的抗病毒药物,最近发现它的副作用是影响pol_γ的功能,使线粒体DNA合成受阻[48],或影响损伤修复酶,影响DNA损伤修复[22]。在抗药性方面,Ape1或焦磷酸解都可以使HIV或乙肝病毒产生抗药性。MMR缺陷可以使恶性疟原虫产生多重抗药性,包括对新型特效药-青蒿琥酯类[66]。pol_I可以通过BER,pol_I可以通过复制癌细胞DNA损伤部位,使癌细胞产生抗药性,包括对蒂清[67]和阿霉素[68]等药物。几乎任何生物的生长和繁殖都需要DNAP,作为最常见的药物靶点之一,也许将来应加强这几方面的研究:(1)应该进一步加强pol_γ忠实性机制,以及其与细胞质聚合酶的差异研究,以研发安全、低副作用的药物;(2)由于很多抗病毒或抗癌的核苷酸类似物,在体内需要转化成三磷酸形式,所以应该加强在三磷酸核苷酸类似物方面的研究,使药物能够更快的发挥作用;(3)DNA损伤修复原本是

表 1 遗传信息流动的忠实性机制

酶	酶的结构	忠实性机制			参考文献
		底物选择	校对	修复	
DNAP	聚合酶和外切酶活性在两个位点		外切酶活性 (顺式或反式)	错配修复	[54] [58] [60]
				切除修复	
				同源重组修复	
				跨损伤 DNA 合成	
RNAP	聚合酶和核酸酶活性在同一个位点		核酸酶活性		[54, 63]
aaRS	氨酰化和编辑活性在两个位点		焦磷酸解		
			转位前编辑		[64]
核糖体	聚合酶和水解酶活性在同一个位点		转位后编辑 (顺式或反式)		
			水解或释放 肽酰-tRNA		[65]

一种维持基因组完整性的机制,但会导致病毒或癌细胞产生抗药性,所以研发作用于该途径的药物,

可能非常有前景。近来这方面在pol 中的研究较多；(4)DNAP和氨酰tRNA合成酶均具有exo位点，后者新近发现了一些针对exo位点的高效抗菌药物，如AN2690^[69]，但DNAP中exo位点还是空白，也许exo位点也可以成为新的药物靶点。相信DNA研究不仅具有重要的理论价值，而且更具有重要的应用价值。

参考文献(References):

- [1] Kumar D, Abdulovic AL, Viberg J, Nilsson AK, Kunkel TA, Chabes A. Mechanisms of mutagenesis *in vivo* due to imbalanced dNTP pools. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(4): 1360–1371. [DOI](#)
- [2] Kuchta RD, Stengel G. Mechanism and evolution of DNA primases. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804(5): 1180–1189. [DOI](#)
- [3] Eoff RL, Sanchez-Ponce R, Guengerich FP. Conformational changes during nucleotide selection by *Sulfolobus solfataricus* DNA polymerase Dpo4. *J Biol Chem*, 2009, 284(31): 21090–21099. [DOI](#)
- [4] Wu EY, Beese LS. The structure of a high fidelity DNA polymerase bound to a mismatched nucleotide reveals an “ajar” intermediate conformation in the nucleotide selection mechanism. *J Biol Chem*, 2011, 286(22): 19758–19767. [DOI](#)
- [5] Vasquez-Del Carpio R, Silverstein TD, Lone S, Swan MK, Choudhury JR, Johnson RE, Prakash S, Prakash L, Aggarwal AK. Structure of human DNA polymerase κ inserting dATP opposite an 8-OxoG DNA lesion. *PLoS One*, 2009, 4(6): e5766. [DOI](#)
- [6] Pence MG, Choi JY, Egli M, Guengerich FP. Structural basis for proficient incorporation of dTTP opposite *O*⁶-methylguanine by human DNA polymerase ι . *J Biol Chem*, 2010, 285(52): 40666–40672. [DOI](#)
- [7] DeCarlo L, Gowda ASP, Suo ZC, Spratt TE. Formation of purine-purine mispairs by *Sulfolobus solfataricus* DNA polymerase IV. *Biochemistry*, 2008, 47(31): 8157–8164. [DOI](#)
- [8] Donny-Clark K, Shapiro R, Broyde S. Accommodation of an N-(deoxyguanosin-8-yl)-2-acetylaminofluorene adduct in the active site of human DNA polymerase ι : Hoogsteen or Watson-Crick base pairing? *Biochemistry*, 2009, 48(1): 7–18. [DOI](#)
- [9] Hassan AEA, Sheng J, Zhang W, Huang Z. High fidelity of base pairing by 2-selenothymidine in DNA. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(7): 2120–2121. [DOI](#)
- [10] Pallan PS, Egli M. Pairing geometry of the hydrophobic thymine analogue 2,4-difluorotoluene in duplex DNA as analyzed by X-ray crystallography. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(35): 12548–12549. [DOI](#)
- [11] Watts JK, Martín-Pintado N, Gómez-Pinto I, Schwartzen-truber J, Portella G, Orozco M, González C, Damha MJ. Differential stability of 2'F-ANA·RNA and ANA·RNA hybrid duplexes: roles of structure, pseudohydrogen bonding, hydration, ion uptake and flexibility. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(7): 2498–2511. [DOI](#)
- [12] Obeid S, Blatter N, Kranaster R, Schnur A, Diederichs K, Welte W, Marx A. Replication through an abasic DNA lesion: structural basis for adenine selectivity. *EMBO J*, 2010, 29(10): 1738–1747. [DOI](#)
- [13] Nair DT, Johnson RE, Prakash L, Prakash S, Aggarwal AK. Rev1 employs a novel mechanism of DNA synthesis using a protein template. *Science*, 2005, 309(5744): 2219–2222. [DOI](#)
- [14] Bebenek K, Pedersen LC, Kunkel TA. Replication infidelity via a mismatch with Watson-Crick geometry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(5): 1862–1867. [DOI](#)
- [15] Brown JA, Suo ZC. Elucidating the kinetic mechanism of DNA polymerization catalyzed by *Sulfolobus solfataricus* P2 DNA polymerase B1. *Biochemistry*, 2009, 48(31): 7502–7511. [DOI](#)
- [16] Trzemecka A, Jacewicz A, Carver GT, Drake JW, Bebenek A. Reversal of a mutator activity by a nearby fidelity-neutral substitution in the RB69 DNA polymerase binding pocket. *J Mol Biol*, 2010, 404(5): 778–793. [DOI](#)
- [17] Pursell ZF, Isoz I, Lundström EB, Johansson E, Kunkel TA. Regulation of B family DNA polymerase fidelity by a conserved active site residue: characterization of M644W, M644L and M644F mutants of yeast DNA polymerase ϵ . *Nucl Acids Res*, 2007, 35(9): 3076–3086. [DOI](#)
- [18] Kim TW, Delaney JC, Essigmann JM, Kool ET. Probing the active site tightness of DNA polymerase in subangstrom increments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(44): 15803–1588. [DOI](#)
- [19] Jin ZN, Johnson KA. Role of a GAG hinge in the nucleotide-induced conformational change governing nucleotide specificity by T7 DNA polymerase. *J Biol Chem*, 2011, 286(2): 1312–1322. [DOI](#)
- [20] Zhang H, Beckman J, Wang JM, Konigsberg W. RB69 DNA polymerase mutants with expanded nascent base-pair-binding pockets are highly efficient but have reduced base selectivity. *Biochemistry*, 2009, 48(29): 6940–6945. [DOI](#)
- [21] Garalde DR, Simon CA, Dahl JM, Wang HY, Akeson M,

- Lieberman KR. Distinct complexes of DNA polymerase I (Klenow fragment) for base and sugar discrimination during nucleotide substrate selection. *J Biol Chem*, 2011, 286(16): 14480–14492. [DOI](#)
- [22] Brown JA, Suo ZC. Unlocking the Sugar “Steric Gate” of DNA Polymerases. *Biochemistry*, 2011, 50(7): 1135–1142. [DOI](#)
- [23] Kirouac KN, Suo ZC, Ling H. Structural mechanism of ribonucleotide discrimination by a Y-Family DNA polymerase. *J Mol Biol*, 2011, 407(3): 382–390. [DOI](#)
- [24] Kukreti P, Singh K, Ketkar A, Modak MJ. Identification of a new motif required for the 3′-5′ exonuclease activity of *Escherichia coli* DNA polymerase I (Klenow fragment): the RRRY motif is necessary for the binding of single-stranded DNA substrate and the template strand of the mismatched duplex. *J Biol Chem*, 2008, 283(26): 17979–17990. [DOI](#)
- [25] Evans RJ, Davies DR, Bullard JM, Christensen J, Green LS, Guiles JW, Pata JD, Ribble WK, Janjic N, Jarvis TC. Structure of PolC reveals unique DNA binding and fidelity determinants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(52): 20695–20700. [DOI](#)
- [26] Beckman J, Kincaid K, Hocek M, Spratt T, Engels J, Cosstick R, Kuchta RD. Human DNA polymerase α uses a combination of positive and negative selectivity to polymerize purine dNTPs with high fidelity. *Biochemistry*, 2007, 46(2): 448–460. [DOI](#)
- [27] Trostler M, Delier A, Beckman J, Urban M, Patro JN, Spratt TE, Beese LS, Kuchta RD. Discrimination between right and wrong purine dNTPs by DNA polymerase I from *Bacillus stearothermophilus*. *Biochemistry*, 2009, 48(21): 4633–4641. [DOI](#)
- [28] Datta K, Johnson NP, LiCata VJ, von Hippel PH. Local conformations and competitive binding affinities of single- and double-stranded primer-template DNA at the polymerization and editing active sites of DNA polymerases. *J Biol Chem*, 2009, 284(25): 17180–17193. [DOI](#)
- [29] da Silva EF, Reha-Krantz LJ. DNA polymerase proofreading: active site switching catalyzed by the bacteriophage T4 DNA polymerase. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(16): 5452–5463. [DOI](#)
- [30] Cowart M, Gibson KJ, Allen DJ, Benkovic SJ. DNA substrate structural requirements for the exonuclease and polymerase activities of procaryotic and phage DNA polymerases. *Biochemistry*, 1989, 28(5): 1975–1983. [DOI](#)
- [31] Bailey CM, Anderson KS. A mechanistic view of human mitochondrial DNA polymerase gamma: providing insight into drug toxicity and mitochondrial disease. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804(5): 1213–1222. [DOI](#)
- [32] Xie P. A possible mechanism for the dynamics of transition between polymerase and exonuclease sites in a high-fidelity DNA polymerase. *J Theor Biol*, 2009, 259(3): 434–4349. [DOI](#)
- [33] Ibarra B, Chemla YR, Plyasunov S, Smith SB, Lázaro JM, Salas M, Bustamante C. Proofreading dynamics of a processive DNA polymerase. *EMBO J*, 2009, 28(18): 2794–2802. [DOI](#)
- [34] Federley RG, Romano LJ. DNA polymerase: structural homology, conformational dynamics, and the effects of carcinogenic DNA adducts. *J Nucleic Acids*, 2010, 2010, pii: 457176. [DOI](#)
- [35] Swan MK, Johnson RE, Prakash L, Prakash S, Aggarwal AK. Structural basis of high-fidelity DNA synthesis by yeast DNA polymerase δ . *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(9): 979–986. [DOI](#)
- [36] Meng X, Zhou YJ, Lee EYC, Lee MY, Frick DN. The p12 subunit of human polymerase δ modulates the rate and fidelity of DNA synthesis. *Biochemistry*, 2010, 49(17): 3545–3554. [DOI](#)
- [37] Bessman MJ, Reha-Krantz LJ. Studies on the biochemical basis of spontaneous mutation. V. Effect of temperature on mutation frequency. *J Mol Biol*, 1977, 116(1): 115–123. [DOI](#)
- [38] Bloom LB, Otto MR, Eritja R, Reha-Krantz LJ, Goodman MF, Beechem JM. Pre-steady-state kinetic analysis of sequence-dependent nucleotide excision by the 3′-exonuclease activity of bacteriophage T4 DNA polymerase. *Biochemistry*, 1994, 33(24): 7576–7586. [DOI](#)
- [39] Wang ZJ, Lazarov E, O'Donnell M, Goodman MF. Resolving a fidelity paradox: why *Escherichia coli* DNA polymerase II makes more base substitution errors in AT-compared with GC-rich DNA. *J Biol Chem*, 2002, 277(6): 4446–4454. [DOI](#)
- [40] Nick McElhinny SA, Stith CM, Burgers PM, Kunkel TA. Inefficient proofreading and biased error rates during inaccurate DNA synthesis by a mutant derivative of *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerase delta. *J Biol Chem*, 2007, 282(4): 2324–2332. [DOI](#)
- [41] Szczepanowska K, Foury F. A cluster of pathogenic mutations in the 3′-5′ exonuclease domain of DNA polymerase gamma defines a novel module coupling DNA synthesis and degradation. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(18): 3516–3529. [DOI](#)
- [42] Nishida H, Mayanagi K, Kiyonari S, Sato Y, Oyama T, Ishino Y, Morikawa K. Structural determinant for switching between the polymerase and exonuclease modes in the

- PCNA-replicative DNA polymerase complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(49): 20693–20698. [DOI](#)
- [43] Bedinger P, Alberts BM. The 3'-5' proofreading exonuclease of bacteriophage T4 DNA polymerase is stimulated by other T4 DNA synthesis proteins. *J Biol Chem*, 1983, 258(16): 9649–9656. [DOI](#)
- [44] Reha-Krantz LJ. DNA polymerase proofreading: Multiple roles maintain genome stability. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804(5): 1049–1063. [DOI](#)
- [45] Pavlov YI, Frahm C, Nick McElhinny SA, Niimi A, Suzuki M, Kunkel TA. Evidence that errors made by DNA polymerase α are corrected by DNA polymerase δ . *Curr Biol*, 2006, 16(2): 202–2027. [DOI](#)
- [46] Preston BD, Albertson TM, Herr AJ. DNA replication fidelity and cancer. *Semin Cancer Biol*, 2010, 20(5): 281–293. [DOI](#)
- [47] Bebenek K, Matsuda T, Masutani C, Hanaoka F, Kunkel TA. Proofreading of DNA polymerase η -dependent synthesis errors. *J Biol Chem*, 2001, 276(4): 2317–2320. [DOI](#)
- [48] Bakhanashvili M, Grinberg S, Bonda E, Rahav G. Excision of nucleoside analogs in mitochondria by p53 protein. *AIDS*, 2009, 23(7): 779–788. [DOI](#)
- [49] Sharma S, Doherty KM, Brosh RM Jr. Mechanisms of RecQ helicases in pathways of DNA metabolism and maintenance of genomic stability. *Biochem J*, 2006, 398(3): 319–337. [DOI](#)
- [50] Chou KM, Cheng YC. An exonucleolytic activity of human apurinic/aprimidinic endonuclease on 3' mispaired DNA. *Nature*, 2002, 415(6872): 655–659. [DOI](#)
- [51] Burkovics P, Hajdú I, Szukacsov V, Unk I, Haracska L. Role of PCNA-dependent stimulation of 3'-phosphodiesterase and 3'-5' exonuclease activities of human Ape2 in repair of oxidative DNA damage. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(13): 4247–4255. [DOI](#)
- [52] Curti E, McDonald JP, Mead S, Woodgate R. DNA polymerase switching: effects on spontaneous mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2009, 71(2): 315–331. [DOI](#)
- [53] Gawel D, Pham PT, Fijalkowska IJ, Jonczyk P, Schaaper RM. Role of accessory DNA polymerases in DNA replication in *Escherichia coli*: analysis of the *dnaX36* mutator mutant. *J Bacteriol*, 2008, 190(5): 1730–1742. [DOI](#)
- [54] de Koning B, Blombach F, Brouns SJ, van der Oost J. Fidelity in archaeal information processing. *Archaea*, 2010, 2010, pii: 960298. [DOI](#)
- [55] Fukui K. DNA mismatch repair in eukaryotes and bacteria. *J Nucleic Acids*, 2010, 2010, pii: 260512. [DOI](#)
- [56] Edelbrock MA, Kaliyaperumal S, Williams KJ. DNA mismatch repair efficiency and fidelity are elevated during DNA synthesis in human cells. *Mutat Res*, 2009, 662(1-2): 59–66. [DOI](#)
- [57] Raynard S, Niu HY, Sung P. DNA double-strand break processing: the beginning of the end. *Genes Dev*, 2008, 22(21): 2903–2907. [DOI](#)
- [58] Pardo B, Gómez-González B, Aguilera A. DNA repair in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(6): 1039–1056. [DOI](#)
- [59] Hsu DW, Kiely R, Couto CA, Wang HY, Hudson JJ, Borer C, Pears CJ, Lakin ND. DNA double-strand break repair pathway choice in *Dictyostelium*. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt 10): 1655–1663. [DOI](#)
- [60] Guo CX, Kosarek-Stancel JN, Tang TS, Friedberg EC. Y-family DNA polymerases in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(14): 2363–2381. [DOI](#)
- [61] Crespan E, Maga G, Hübscher U. A new proofreading mechanism for lesion bypass by DNA polymerase- λ . *EMBO Rep*, 2011, 13(1): 68–74. [DOI](#)
- [62] Vaisman A, Ling H, Woodgate R, Yang W. Fidelity of Dpo4: effect of metal ions, nucleotide selection and pyrophosphorolysis. *EMBO J*, 2005, 24(17): 2957–2967. [DOI](#)
- [63] Kahn JD, Hearst JE. Reversibility of nucleotide incorporation by *Escherichia coli* RNA polymerase, and its effect on fidelity. *J Mol Biol*, 1989, 205(2): 291–314. [DOI](#)
- [64] 谢兆辉. 氨酰-tRNA 合成酶维持翻译忠实性的机制. *中国生物化学和分子生物学报*, 2011, 27(2): 110–116. [DOI](#)
- [65] Zaher HS, Green R. Quality control by the ribosome following peptide bond formation. *Nature*, 2009, 457(7226): 161–166. [DOI](#)
- [66] Castellini MA, Buguliskis JS, Casta LJ, Butz CE, Clark AB, Kunkel TA, Taraschi TF. Malaria drug resistance is associated with defective DNA mismatch repair. *Mol Biochem Parasitol*, 2011, 177(2): 143–147. [DOI](#)
- [67] Stachelek GC, Dalal S, Donigan KA, Hegan DC, Sweasy JB, Glazer PM. Potentiation of temozolomide cytotoxicity by inhibition of DNA polymerase β is accentuated by BRCA2 mutation. *Cancer Res*, 2010, 70(1): 409–417. [DOI](#)
- [68] Liu SK, Wu M, Zhang ZZ. Involvement of DNA polymerase beta in repairing oxidative damages induced by antitumor drug adriamycin. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 246(3): 163–170. [DOI](#)
- [69] Zhou XL, Tan M, Wang M, Chen X, Wang ED. Post-transfer editing by a eukaryotic leucyl-tRNA synthetase resistant to the broad-spectrum drug AN2690. *Biochem J*, 2010, 430(2): 325–333. [DOI](#)