

真核细胞 DNA 聚合酶 δ 的结构与功能

张海江, 韩世炜, 桑建利*

(北京师范大学生命科学学院细胞生物学研究所, 北京 100875)

摘要: DNA 聚合酶 δ (Pol δ) 在真核细胞的 DNA 复制过程中具有核心酶的作用, 同时还参与 DNA 的修复。Pol δ 是一种由多个亚基组成的复合体, 目前已从哺乳动物、裂殖酵母和芽殖酵母等多种真核生物细胞中分离出, 并对它们的亚基组成进行了分析, 但还未得到确切一致的结果。Pol δ 在 DNA 复制中的具体作用已基本了解, 它参与催化整个前导链的复制以及一些或大部分滞后链的复制。此外, Pol δ 还参与 DNA 的修复, 此酶的这一功能可减少 DNA 的变异, 但目前对其作用机理还知之较少。在 Pol δ 活性调控方面, 主要研究了一些相关蛋白因子对 Pol δ 活性的调控作用以及转录因子对催化亚基表达的调控作用。

关键词: DNA 聚合酶 δ ; DNA 复制; DNA 修复; 调控

中图分类号: Q785 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-9977(2004)03-271-05

DNA 聚合酶是指以脱氧核苷三磷酸为底物催化合成 DNA 的一类酶。真核生物的 DNA 聚合酶被发现后, 随着研究工作的深入进行, 发现真核细胞中的 DNA 聚合酶有多个种类。为了便于分析研究, 哺乳动物中的 DNA 聚合酶用希腊字母命名, 酵母中的 DNA 聚合酶用罗马数字命名^[1]。1989 年在美国冷泉港召开的真核细胞 DNA 复制讨论会上, 决定将这两种命名方法统一起来, 都采用希腊字母命名系统。十几年以前, 这个系统已包含了 6 种 DNA 聚合酶: α , β , γ , δ , ϵ 和 ζ ^[2]。最近几年又有几类新的真核细胞 DNA 聚合酶被发现, 它们被称之为: η , θ , ι , κ , λ , μ 和 σ ^[3]。在种类如此繁多的 DNA 聚合酶家族中, 聚合酶 δ (Pol δ) 因在真核细胞 DNA 复制和修复中所占有重要地位而最引人注目。

1 Pol δ 酶的亚基组成

Pol δ 最早于 1976 年在哺乳动物中作为一种具有 3' 至 5' 外切酶活性的新的 DNA 聚合酶被 Byrnes 等人发现^[4], 随后陆续在很多真核细胞中分离纯化出这种聚合酶。哺乳动物细胞中, Pol δ 最早分离出来的组成形式是一个 125kDa 的催化亚基和一个 50kDa 或 48kDa 亚基组成的异二聚体^[5]。近来, 又鉴定出第 3 个亚基(p68 或 p66)和第 4 个亚基(p12)。Hughes P 等人利用 PCNA 亲和层析和甘油梯度离心技术, 从鼠 FM3A 细胞中分离得到了 p66。他们还发现 p48 与

p66 亚基不但是 Pol δ 的组成亚基, 也是 DNA 连接酶 I 的组成部分^[6]。从目前的研究成果看, p125 是 Pol δ 中具催化作用的关键亚基, 而其他亚基的功能尚未研究清楚。

在芽殖酵母(*S.cerevisiae*)中, Pol δ 的组成为 3 个亚基: Pol13(125kDa), Pol131(55kDa)与 Pol132(40kDa), 通过对纯化的制备物的分析, 3 个亚基之比为 1:1:1。最初, 根据对 Pol δ 的凝胶过滤的研究, 人们认为这个酶可能是通过 Pol132 的作用形成的一个二聚体的催化核心^[7]。后来通过对 pol δ 及其亚基的凝胶过滤、甘油梯度沉降及 Pol132-Pol132 的双杂交实验等多种方法, 进行了更深入的分析, 发现所有的 pol132 复合物在研究条件下都是单体的。因此, 从目前的研究结果看, pol132 在芽殖酵母中的组成是一个单体^[8]。

裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)中分离出的 Pol δ 则至少含有 4 个亚基: 一个 125kDa 的催化亚基 Pol3 和 3 个较小的亚基 Cdc1, Cdc27 以及 Cdm1, 其分子量分别为 51,42 和 19kDa^[9]。催化亚基对于芽殖和裂殖酵母中 Pol δ 功能的维持无疑是最为重要的, 同时研究证实其他亚基的功能也具有重要意义。Liu 等人在杆状病毒转染的昆虫细胞中, 同时

收稿日期: 2003-09-15; 修回日期: 2003-11-03

国家自然科学基金资助项目(No.30270663)国家重点基础研究发展规划资助项目(No.G1999053901)

* 通讯作者, E-mail: sangjianli@263.net

表达这些亚基的多肽重建了四聚体复合物。纯化出来的经克隆得到的 spPol δ 与天然的 spPol δ 具有相同的理化性质。另外,他们还分离出了只含有 Pol3、Cdc1 和 Cdm1 这 3 个亚基的复合物。三亚基与四亚基的复合物在进行 DNA 复制时都需要 PCNA 和复制因子 C。但是,在聚合酶复合物比较低水平的情况下,三亚基复合物在进行 DNA 复制时的效率比四亚基复合物要低。通过添加 Cdc27,这种低效率可以得到改善。凝胶过滤分析实验证明三亚基的复合物是异源三聚体(Pol3, Cdc1 及 Cdm1)形成的一个单体,而四亚基的复合物是异源四聚体(Pol3, Cdc1, Cdc27 及 Cdm1)所形成的一个二聚体蛋白,天然 spPol δ 也有这一特点。他们还证明了 Cdc1 与 Cdc27 可相互作用形成异源二聚体。这些结果说明 Cdc27 对于 Pol δ 二聚体的形成起重要作用^[6]。Cdm1 可能对于稳定 Pol δ 全酶是必需的,因为从裂殖酵母中纯化去除 Cdm1 亚基的 Pol δ 的尝试一直没能成功^[10]。

在真核生物中获取的 Pol δ , 其亚基组成存在一定的差异,这些亚基的不同,是由于在这些生物中 Pol δ 的亚基确实各异,还是由于分离纯化的生化技术的不同所致,目前还难以确定。从目前研究成果分析,催化亚基对于 Pol δ 的活力都是必需的,第 2 个亚基即 p55/p50、Cdc1 和 Pol31 是高度保守的,它们之间有很高的同源性。对 Cdc1 和 Pol31 的研究表明它们对酵母的增殖是必需的。对于催化亚基或第二亚基缺失突变的菌株中,其生长会受阻并可导致细胞死亡。现在需要进一步研究的是芽殖酵母 Pol δ 是否也含有第 4 个亚基。表 1 总结了哺乳动物、裂殖酵母和芽殖酵母 Pol δ 亚基的组成。

2 Pol δ 的功能

Pol δ 的功能主要是参与 DNA 的复制与修复。

2.1 在 DNA 复制方面的功能

Pol δ 是真核细胞中主要的 DNA 聚合酶,它催化以前导链为模板的新链合成,也催化一些或大部分以滞后链为模板的新链合成。Pol δ 在结构上类似于大肠杆菌聚合酶 III。体外复制系统的重组实验表

明 Pol δ 是 DNA 复制过程中的核心酶。在 Pol α 完成引物合成后,Pol δ 既能以前导链也能以滞后链为模板合成新链^[11]。近期关于裂殖酵母 Pol δ 的研究也说明 Pol δ 可能通过第 4 个亚基 Cdm1 而参与到冈崎片段的合成过程中。Pol δ 的 B 亚基对于 DNA 复制可能也起着重要的作用,因为 Cdc1 突变的细胞会导致 S 期延长,并且对复制抑制物羟基脲敏感^[12]。另外,在基于酵母的体外复制系统中,Pol3 突变的酵母细胞在 DNA 复制上出现缺陷^[13]。在哺乳动物细胞中,已证实 Pol δ 可与新生的细胞 DNA 交联,说明它对于染色体 DNA 复制是必需的^[14]。除了聚合酶活性以外,Pol δ 催化亚基还具有 3' 至 5' 外切酶的活性^[13]。外切酶活性区域的突变可导致 DNA 复制的低保真性,Pol δ 中具有校读作用的外切酶活性的存在,说明该酶实际上最适于有细微错误存在的 DNA 复制。

目前对于 Pol δ 参与的真核细胞 DNA 的复制已有较清楚的了解。在 DNA 复制过程中,前导链的复制是由 Pol α 起始的,在复制蛋白 A(replication protein A, RPA)与 DNA Pol α -引物酶作用下形成引发体,由 Pol α 中的引物酶亚基合成 RNA 引物引发复制的起始后,复制因子 C(replication factor C, RFC)介导 Pol δ 的开启,最终使 Pol δ 代替 Pol α 。Pol δ 通过与 PCNA 及 RFC 的相互作用结合到模板,在引物末端开始连续地复制前导链,Pol δ 完成全部前导链的复制合成。在滞后链上 DNA 复制过程与前导链类似,只是由于不能连续复制,需要不断引发复制的起始。当 DNA 聚合酶到达下游冈崎片段的 RNA 引物时, RNA 酶 H1 降解该 RNA,只剩下一个核糖核苷酸; FEN1/RTH1 再去除这最后一个核糖核苷酸,Pol δ 或者 Pol ϵ 补平缺口,然后 DNA 连接酶将两个冈崎片段连接起来。

2.2 Pol δ 在 DNA 修复方面的功能

DNA 是能在体内进行修复的生物大分子。由于 DNA 含有所有细胞增殖、分化、生长、行使功能的必需信息,如果它受到损伤整个有机体就会面临很大的发生变异的危险。一些基本蛋白的合成信息可能会永久改变。

Pol δ 已被证明具有 DNA 修复的功能。已发现 pol δ 具有 3'-5' 核酸外切酶活性,因此可以校对错配,同时能在引物 3' 端加入核苷酸。错配修复可以校正复制过程中碱基配对所造成的错误。近来体外实验已说明 Pol δ 在修复错配的 DNA 时是必需的^[15]。Pol δ 3'-5' 外切酶活性的突变可导致芽殖酵母的基因

表 1 哺乳动物、裂殖酵母和芽殖酵母 Pol δ 亚基组成的比较

亚基类别	哺乳动物	裂殖酵母	芽殖酵母
A	P125	Pol3	Pol3/CDC2
B	p55/p50	Cdc1	Pol31/Hys2
C	p66/KIAA0039	Cdc27	Pol32
D	P12/THC112256	Cdm1	

组不稳定^[16],早期对于酵母 Pol δ 外切酶突变的研究证明, Pol δ 参与 DNA 复制的校正通路并与一个错配修复基因 PMS1 协同作用^[17]。Pol δ 还可能参与修复紫外损伤的 DNA,因为在 HeLa 细胞核提取物中, Pol δ 的抗体可以抑制紫外损伤的质粒 DNA 的修复^[18], pol δ 会使复制叉停留在胸腺嘧啶二聚体(T-T)前,暂停复制,随后由 Pol η 在 T-T 处插入 A,从而完成损伤修复,该过程仍然需要 PCNA^[19]。与此相一致的是, PCNA 的抗体也可以抑制修复过程^[18]。另外,在酿酒酵母中的研究也说明 Pol δ 能像 Pole 一样,进行紫外损伤 DNA 的修复^[20]。Pol δ 还参与复制后修复,该过程是在 DNA 损伤没有被正常的修复通路修复时被激活的。这个过程由复制通路旁路辅助,有实验证明 Pol δ 对于紫外损伤 DNA 的复制后修复是必需的^[21]。Pol δ 还参与碱基外切修复^[22],并且被认为可参与依赖于 PCNA 的 DNA 长缺口的合成^[23]。

为了通过复制旁路修复 DNA 的损伤, Pol δ 被一个 TLS(translesion synthesis)聚合酶替代;而在完成 DNA 复制时,这个新的 TLS 聚合酶又被复制聚合酶所替代,这也说明 Pol δ 参与了 TLS 作用过程。在酵母研究中, Gio 等人发现 Pol δ 是阻止复制损伤的 TLS 所必需的。还发现 POL3 的等位基因在损伤诱导突变发生中有缺陷, Giot 等人在酵母中分离出 Pol3-13, POL3 的一个温度敏感等位基因,对 UV 射线、 γ 射线和 MMS 敏感, Pol3-13 能增加自发的 CanR 突变。

Pol δ 可能是 DNA 合成中修复自由错配所必需的。在酵母中发现两个复制后修复自由错配模型,一个是由 Pol δ 和 PCNA 参与的;另一个是 Rad5 参与的。在碱基切除修复中,长补丁修复包括 Pol β 或者 δ/ϵ , 引入 6 个或者更多的核苷酸。长补丁修复可能有两条通路,一是 PCNA 和 Pol β 参与,引入 6 个核苷酸;二是 PCNA 和 δ/ϵ 参与,引入 6 个以上的核苷酸。

除了修复功能以外, Pol δ 看来还可以维持基因组的完整性,因为它可以与 Pol α 一起调节端粒的长度^[24]。此外, Pol δ 的变异将导致某些疾病的发生,利用小鼠实验证明细胞癌变与 Pol δ 的变异相关^[25]。

3 与 Pol δ 相互作用的因子及其调控

3.1 Pol δ 与 PCNA 的相互作用

Pol δ 与 PCNA 之间的关系是 Pol δ 研究的一个热

点。PCNA 是一种仅在活跃增殖的细胞中发现的,分子量为 29kDa 的同源三聚体^[26]。酵母 PCNA 的晶体结构揭示该三聚体形成一个闭合的环围绕住 DNA 双链^[27]。1998 年, Schurtenberger 等利用小视角中子扫描术对人 PCNA 进行研究,证实 PCNA 在溶液中也呈三维环状结构,并且所得数据与从酵母中提取的 Pol δ 晶体结构非常一致^[28]。Pol δ 的催化亚基(p125)与 PCNA 之间存在着直接的相互作用。从小牛胸腺细胞或 HeLa 细胞抽提物中得到的以及在 Cos 7 细胞中异位共表达的 p125 与 PCNA 都可以发生免疫共沉淀。由于 Pol δ 包含多个亚基白,这种作用也有可能是间接的。因此,需要更有力的证据来证明 p125 催化亚基与 PCNA 之间的直接作用。在 Sf9 细胞中共表达的 p125 与 PCNA 能够形成一个复合物,该复合物能够通过凝胶过滤检测到。

利用酵母双杂交系统也可以证明 p125 与 PCNA 之间的相互作用^[29]。但也存在着不同意见,有人认为 PCNA 与 Pol δ 小亚基(p50)之间存在着直接作用。Lu 等人报告 PCNA 与人 p50 可发生免疫共沉淀,但与 p125 则不能发生免疫共沉淀。在 p50 的 N 末端还可鉴别出一个与 PCNA 结合的结构域,该结构域应与噬菌体 RB69 的 DNA 聚合酶上的滑动环结合结构域类似。利用 Far Western 方法可以发现含有该序列(MRPFL)的一个 22 个氨基酸的寡肽能够与 PCNA 结合,并且与在免疫共沉淀实验中与 p50 竞争结合 PCNA。p50 与 PCNA 的结合可被 p21 所抑制,说明这两种蛋白有可能竞争 PCNA 上的同一结合位点。以上这些结果说明 PCNA 与 Pol δ 之间的作用是通过 Pol δ 的小亚基介导的^[30]。

3.2 Pol δ 与其他因子的相互作用

除了 PCNA 之外, Pol δ 还与另一个辅助蛋白,即复制因子 C(RFC)相互作用。RFC 是一种依赖于 DNA 的 ATP 酶(DNA dependent ATPase),它参与细胞周期检验点的调控^[31,32]和姐妹染色单体结合处的建立^[33]。尽管 PCNA 能在线性的 DNA 双链模板上刺激 Pol δ 活性,但是它需要 RFC 的装载才能和模板结合,PCNA 与模板结合后才能和 Pol δ 结合, DNA 复制过程才能进行。

近期有报道指出, Pol δ 也与沃纳综合症蛋白 WRN(Werner's syndrome protein)相互作用^[34-36]。WRN 是解旋酶的突变形式,存在于沃纳综合症(Werner's syndrome)——一种常染色体隐性疾病,表现为早衰和易患癌症。突变编码沃纳综合症解旋

酶的 wrn 基因, 则导致沃纳综合症^[37, 38]。在去除重复 DNA 的发夹结构过程中, WRN 是 Pol δ 必需的一个辅助因子。WRN 可在 PCNA 缺失的情况下通过 Pol δ 刺激 DNA 合成^[35], 这说明 WRN 有可能在持续的 DNA 合成并不必需的条件下调节 Pol δ 活性。这个作用也可能发生在 DNA 修复期间。这种相互作用看来是通过 Pol δ 的 B-亚基和第3个亚基介导的^[34]。

人 Pol δ 催化亚基 p125 基因的启动子区域已发现有转录因子 E₂F 的结合区域, 但是至今没有报道 E₂F 对 p125 确切的调控作用。转录因子 SP1 和 SP3 对 p125 的表达有正调控作用^[39], 而 p53 则具有负调控作用, 它和 SP1 作用于 p125 基因调控序列的同一位点^[40]。Pol δ 是一个磷酸化蛋白, 当细胞处于 S 期时处于过磷酸化状态(hyperphosphorylated)^[18]。当 Pol δ 与各种 Cyclin-Cdks 在昆虫细胞中共表达时, Pol δ 能和 Cyclin D3/Cdk4、CyclinE/Cdk2 相互作用, 并且被磷酸化, 这些结果表明 G₁ 后期或者 G₁/S 转换期的 Cdks 与 Pol δ 的活性相关。然而, 令人意外的是, 有人通过体外实验表明, Cdks 磷酸化 Pol δ 并不影响其活性^[41]。

参 考 文 献

- [1] WEISSBACH A, BALTIMORE D, BOLLUM F, *et al.* Nomenclature of eukaryotic DNA polymerases[J]. *Science*, 1975, **190**(4212): 401 — 402.
- [2] BURGERS P M J, BAMBARA R A, CAMPBELL J L, *et al.* Revised nomenclature for eukaryotic DNA polymerases [J]. *Eur J Biol Chem*, 1990, **191**(3): 617 — 618.
- [3] BURGERS P M, KOONIN E V, BRUFORD E, *et al.* Eukaryotic DNA polymerases: proposal for a revised nomenclature [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 43487 — 43490.
- [4] BYRNES J J, DOWNEY K M, BLACK V L, *et al.* A new mammalian DNA polymerase with 3' to 5' exonuclease activity: DNA polymerase delta[J]. *Biochemistry*, 1976, **15**: 2817 — 2823.
- [5] LEE M Y, TAN C K, DOWNEY K M, *et al.* Further studies on calf thymus DNA polymerase δ purified to homogeneity by a new procedure[J]. *Biochemistry*, 1984, **23**: 1906 — 1913.
- [6] HUGHES P, TRATNER I, DUCOUX M, *et al.* Isolation and identification of the third subunit of mammalian DNA polymerase delta by PCNA-affinity chromatography of mouse FM3A cell extracts[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, **27** (10): 2108 — 2114.
- [7] BURGERS P M, GERIK K J. Structure and processivity of two forms of *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerase delta[J]. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 19756 — 19762.
- [8] JOHANSSON E, MAJKA J, BURGERS P M. Structure of DNA polymerase delta from *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(47): 43824 — 43828.
- [9] ZUO S, GIBBS E, KELMAN Z, *et al.* DNA polymerase delta isolated from *Schizosaccharomyces pombe* contains five subunits[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 11244 — 11249.
- [10] ZUO S, BERMUDEZ V, ZHANG G, *et al.* Structure and activity associated with multiple forms of *Schizosaccharomyces pombe* DNA polymerase[J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 5153 — 5162.
- [11] WAGA S, STILLMAN B. Anatomy of a DNA replication fork revealed by reconstitution of SV 40 DNA replication in vitro[J]. *Nature*, 1994, **369**: 207 — 212.
- [12] MACNEILL S A, MORENO S, REYNOLDS N, *et al.* The fission yeast Cdc1 protein, a homologue of the small subunit of DNA polymerase δ binds to Pol3 and Cdc27[J]. *EMBO J*, 1996, **15**: 4613 — 4628.
- [13] BROWN W C, DUNCAN J A, CAMPBELL J L. Purification and characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerase δ overproduced in *Escherichia coli*[J]. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 982 — 990.
- [14] ZLOTKIN T, KAUFMANN G, JIANG Y, *et al.* DNA polymerase epsilon may be dispensable for SV40- but not cellular-DNA replication[J]. *EMBO J*, 1996, **15**: 2298 — 2305.
- [15] LONGLEY M J, PIERCE A J, MODRICH P. DNA polymerase delta is required for human mismatch repair *in vitro* [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 10917 — 10921.
- [16] JIN Y H, OBERT R, BURGERS P M, *et al.* The exonuclease of DNA polymerase delta can substitute for the 5' flap endonuclease Rad27/Fen1 in processing Okazaki fragments and preventing genome instability[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 5122 — 5127.
- [17] MORRISON A, SUGINO A. The 3'-->5' exonucleases of both DNA polymerases delta and epsilon participate in correcting errors of DNA replication in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Gen Genet*, 1994, **242**: 289 — 296.
- [18] ZENG X R, JIANG Y, ZHANG S J, *et al.* DNA polymerase delta is involved in the cellular response to UV damage in human cells[J]. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 13748 — 13751.
- [19] SHIVJI M K, PODUST V N, HUBSCHER U, *et al.* Nucleotide excision repair DNA synthesis by DNA polymerase epsilon in the presence of PCNA, RFC, and RPA[J]. *Biochemistry*, 1995, **34**: 5011 — 5017.
- [20] BUDD M E, CAMPBELL J L. DNA polymerases required for repair of UV-induced damage in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, **15**: 2173 — 2179.
- [21] GIOT L, CHANET R, SIMON M, *et al.* Involvement of the yeast DNA polymerase delta in DNA repair *in vivo*[J]. *Genetics*, 1997, **146**: 1239 — 1251.
- [22] BLANK A, KIM B, LOEB L A. DNA polymerase delta is required for base excision repair of DNA methylation damage in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 9047 — 9051.
- [23] FORTINI P, PASCUCCI B, PARLANTI E, *et al.* Different DNA polymerases are involved in the short- and long-patch base excision repair in mammalian cells[J]. *Biochemistry*, 1998, **37**: 3575 — 3580.
- [24] DIEDE S J, GOTTSCHLING D E. Telomerase-mediated

- telomere addition *in vivo* requires DNA primase and DNA polymerases alpha and delta [J]. *Cell*, 1999, **99**: 723 – 733.
- [25] GOLDSBY R E, LAWRENCE N A, HAYS L E, *et al.* Defective DNA polymerase-delta proofreading causes cancer susceptibility in mice[J]. *Nat Med*, 2001, **7**: 638 – 639.
- [26] BAUER G A, BURGERS P M. Molecular cloning, structure and expression of the yeast proliferating cell nuclear antigen gene[J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, **18**: 261 – 265.
- [27] KRISHNA T S, KONG X P, GARY S, *et al.* Crystal structure of the eukaryotic DNA polymerase processivity factor PCNA[J]. *Cell*, 1994, **79**(7): 1233 – 1243.
- [28] SCHURTENBERGER P, EGELHAAF S U, HINDGES R, *et al.* The solution structure of human proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and its interaction with other proteins and DNA[J]. *J Mol Biol*, 1998, **275**(1): 123 – 132.
- [29] ZHANG P, MO J Y, PEREZ A, *et al.* Direct interaction of proliferating cell nuclear antigen with the p125 catalytic subunit of mammalian DNA polymerase delta[J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(38): 26647 – 26653.
- [30] LU X, TAN C K, ZHOU J Q, *et al.* Direct interaction of proliferating cell nuclear antigen with the small subunit of DNA polymerase delta[J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**(27): 24340 – 24345.
- [31] KIM H S, BRILL S J. Rfc4 interacts with Rpa1 and is required for both DNA replication and DNA damage checkpoints in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, **21**: 3725 – 3737.
- [32] KRAUSE S A, LOUPART M L, VASS S, *et al.* Loss of cell cycle checkpoint control in *Drosophila* Rfc4 mutants[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, **21**: 5156 – 5168.
- [33] MAYER M L, GYGI S P, AEBERSOLD R, *et al.* Identification of RFC(Ctf18p, Ctf8p, Dcc1p): an alternative RFC complex required for sister chromatid cohesion in *S. cerevisiae* [J]. *Mol Cell*, 2001, **7**: 959 – 970.
- [34] SZEKELY A M, CHEN Y H, ZHANG C, *et al.* Werner protein recruits DNA polymerase delta to the nucleolus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 11365-11370.
- [35] KAMATH-LOEB A S, JOHANSSON E, BURGERS P M, *et al.* Functional interaction between the Werner Syndrome protein and DNA polymerase δ [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 4603 – 4608.
- [36] KAMATH-LOEB A S, LOEB L A, JOHANSSON E, *et al.* Interactions between the Werner syndrome helicase and DNA polymerase delta specifically facilitate copying of tetraplex and hairpin structures of the d(CGG)_n trinucleotide repeat sequence[J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 16439 – 16446.
- [37] SHEN J C, LOEB L A. The Werner syndrome gene: the molecular basis of RecQ helicase-deficiency diseases[J]. *Trends Genet*, 2000, **16**: 213 – 220.
- [38] KAROW J K, WU L, HICKSON I D. RecQ family helicases: roles in cancer and aging[J]. *Curr Opin Genet & Dev*, 2000, **10**: 32 – 38.
- [39] ZHAO L, CHANG L S. The human POLD1 gene. Identification of an upstream activator sequence, activation by Sp1 and Sp3, and cell cycle regulation[J]. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 4869 – 4882.
- [40] LI B, LEE M Y. Transcriptional regulation of the human DNA polymerase {delta} catalytic subunit gene (POLD1) by p53 tumor suppressor and Sp1[J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 29729 – 29739.
- [41] WU S M, ZHANG P, ZENG X R, *et al.* Characterization of the p125 subunit of human DNA polymerase delta and its deletion mutants. Interaction with cyclindependent kinase-cyclins [J]. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 9561 – 9569.

Structure and Function of Eukaryotic DNA Polymerase δ

ZHANG Hai Jiang, HAN Shi Wei, SANG Jian Li*

(Institute of Cell Biology, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: DNA polymerase δ (Pol δ) is the core enzyme involved in the replication of DNA in eukaryote cell, and participates in several DNA repair pathways at the time. Pol δ is a complex which is consist of several subunits. It has been now purified from mammalian, *Schizosaccharomyces pombe* and *Saccharomyces cerevisiae* and their composition of subunits were analyzed. But it is not known clearly. The general functions of Pol δ are recognized now. Pol δ plays a role in the replication of the whole leading strand, and it is required for the completion of Okazaki fragment synthesis. Otherwise Pol δ is also involved in DNA repair. This function of DNA repair can reduce the mutation of DNA, however, the mechanism is not clear now. In the control of Pol δ activation the researchers focus on the regulation of several protein factors on the activation of Pol δ and regulation of transcription factors on the expression of the catalytic subunit.

Key words: DNA polymerase δ ; DNA replication; DNA repair; regulation