

中国科大首次揭示基因组稳定性调控最核心激酶 ATR 的激活机制



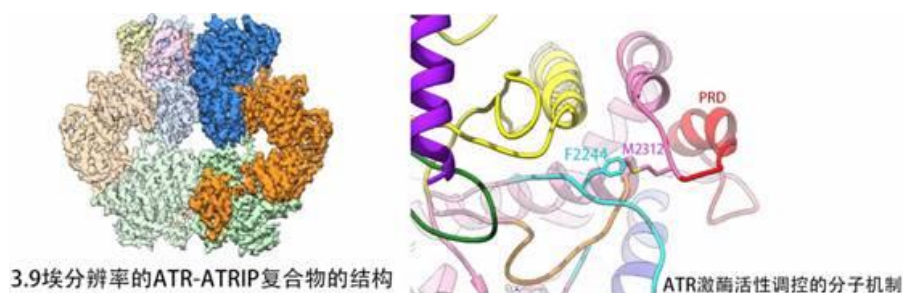
蔡刚

【Science 系列】中国科学技术大学蔡刚课题组，与南京农业大学王伟武课题组合作，首次揭示了 ATR-ATRIP 复合体的近原子分辨率结构，揭示了 ATR 激酶活化的分子机制，为研制新型 ATR 激酶抑制剂用于肿瘤治疗奠定了结构基础，该研究成果以“3.9 Å structure of the yeast Mec1-Ddc2 complex, a homolog of human ATR-ATRIP”为题发表于 12 月 1 日出版的《Science》杂志上。

基因组稳定性维持是一切生命活动的基础，然而，多种外源和内源因素作用下产生的广泛 DNA 损伤和复制压力，构成了基因组不稳定的主要来源。ATR 激酶负责启动细胞对基因组不稳定的响应和修复，一旦感应到 DNA 损伤和复制叉压力会迅速活化，直接磷酸化细胞内超过 1000 个重要底物（包括抑癌基因 p53 编码蛋白、细胞周期调控蛋白等），全局性地调控基因组的稳定。ATR 及其参与的信号通路对基因组稳定，肿瘤的发生、发展和治疗至关重要。真核生物生存严格依赖 ATR 激酶的活性，然而，ATR 激酶活化的具体分子机制尚不清楚。

基因组不稳定性和易突变是肿瘤细胞的一个基本特征，通常伴随着大量稳定和修复基因组 DNA 的功能缺失，因此癌细胞更加依赖 ATR 激酶。大量功能和临床前的实验数据表明 ATR 激酶抑制剂能直接高效杀死肿瘤细胞；此外，常规的化疗和放疗更进一步加剧了肿瘤细胞的基因组不稳定性，抑制 ATR 活性能协同增强常规肿瘤治疗对癌细胞的杀伤活性。因此，ATR 激酶抑制剂在癌症治疗上具有重要应用前景，目前已经有两种 ATR 抑制剂进入了临床试验，但是，现有抑制剂的特异性和稳定性有待加强；研制新型的 ATR 抑制剂在肿瘤治疗上具有重要临床应用价值和意义。

随着冷冻电镜技术的迅猛发展，ATR 激酶结构解析的竞争非常激烈，国内外的竞争对手都拥有最好的冷冻电镜平台、计算平台和深厚基础的研究团队。蔡刚课题组在中国科大高端冷冻电镜平台尚未建成、计算平台和成熟研究团队短缺的不利条件下，蔡刚教授亲力亲为带领王雪娟副研究员和实验室成员，全力拼搏努力。在中科院生物物理所生物成像中心收集高端冷冻电镜数据，三维重构在租用公司的 GPU 服务器和微尺度国家实验室资助下组装的 GPU 工作站上完成。主要的研究工作由王雪娟副研究员和蔡刚教授共同完成；其中，王雪娟完成了 ATR 活性测定、冷冻样品制备、三维重构、结构分析、与南农王伟武教授合作搭建原子结构模型等高度挑战的工作。



蔡刚教授课题组成功解析了来源酵母的 ATR 激酶及其结合蛋白 ATRIP 复合物(ATR-ATRIP) 的近原子分辨率 (3.9 Å) 结构，发现细胞内的 ATR 以 ATR-ATRIP 异二聚体的同源二聚体的形式存在。已鉴定的和 ATR 激活直接相关的 ATR PRD 结构域和 ATRIPcoiled-coil 构成了最主要的 ATR-ATR 和 ATRIP-ATRIP 同源二体的作用界面；鉴定了 PRD 和 Bridge 结构域是调节 ATR 生物学功能的关键位点，并发现这两个关键调节位点在 mTOR，ATM 和 DNA-PKcs 等激酶中高度保守；清晰揭示了在未激活状态下，ATR 激酶的活化环 (activation loop) 被其 PRD 结构域，通过一个特异性的疏水性相互作用所锚定，因而，被锁定在待激活状态。ATR 特异性激活蛋白可以利用其高度保守的疏水残基竞争性地解除 PRD 对活化环的抑制，迅速活化 ATR 的激酶。该成果不仅揭示了 ATR 激酶活化的分子机制，具有帮助阐明基因组稳定性调控机制的重大科学意义；也揭示了 ATR 激酶上 PRD 和 Bridge 等调控位点可用于指导新型 ATR 激酶抑制剂的设计，为肿瘤治疗新型药物的研发提供了重要结构基础。

本研究工作得到了国家科技部（2014CB910700 和 2013CB910200）、自然科学基金委优秀青年基金（31222017）以及合肥微尺度物质科学国家实验室的资助。



3.9 Å structure of the yeast Mec1-Ddc2 complex, a homolog of human ATR-ATRIP

揭示基因组稳定性调控最核心激酶 ATR 的激活机制

中国科学技术大学蔡刚

2017 年 12 月 1 日

DOI: 10.1126/science.aan8414

The ataxia telangiectasia–mutated and Rad3-related (ATR) kinase is a master regulator of DNA damage response and replication stress in humans, but the mechanism of its activation remains unclear. ATR acts together with its partner ATRIP. Using cryo–electron microscopy, we determined the structure of intact Mec1-Ddc2 (the yeast homolog of ATR-ATRIP), which is poised for catalysis, at a resolution of 3.9 angstroms. Mec1-Ddc2 forms a dimer of heterodimers through the PRD and FAT domains of Mec1 and the coiled-coil domain of Ddc2. The PRD and Bridge domains in Mec1 constitute critical regulatory sites. The activation loop of Mec1 is inhibited by the PRD, revealing an allosteric mechanism of kinase activation. Our study clarifies the architecture of ATR-ATRIP and provides a structural framework for the understanding of ATR regulation.