

RAD51 调控 REV1 参与 DNA 双链断裂修复

黄敏^{1,2}, 杨业然^{1,2}, 孙晓艳¹, 张婷¹, 郭彩霞^{1,2,3}

1. 中国科学院北京基因组研究所, 中国科学院精准基因组医学重点实验室, 北京 100101
2. 中国科学院大学, 北京 100049
3. 中国科学院未来技术学院, 北京 101408

摘要: REV1 是跨损伤聚合酶 Y 家族的重要成员之一, 它不仅作为支架蛋白介导 Y 家族聚合酶招募至损伤位点完成跨损伤 DNA 合成(translesion DNA synthesis, TLS), 还可利用自身的 dCMP 转移酶活性在一些损伤位点对侧整合 dCMP 参与 TLS。此外, REV1 也被报导参与调控同源重组修复。为进一步探讨 REV1 互作蛋白 RAD51 和 RAD51C 在其参与的同源重组修复通路中的调控作用, 本研究采用脉冲氮激光微辐射实验, 发现 RAD51 可调控 REV1 到双链断裂位点的募集。同时, 免疫荧光实验结果证明 REV1 也反过来影响 RAD51 应答 CPT 损伤。然而敲低 RAD51C 并不影响 REV1 到 DNA 双链断裂位点的招募。结果表明, REV1 和 RAD51 在 HR 通路中存在彼此相互调控的关系。

关键词: REV1; DNA 双链断裂修复; 同源重组; RAD51; RAD51C

RAD51 regulates REV1 recruitment to DNA double-strand break sites

Min Huang^{1,2}, Yeran Yang^{1,2}, Xiaoyan Sun¹, Ting Zhang¹, Caixia Guo^{1,2,3}

1. CAS Key Laboratory of Genomics and Precision Medicine, Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
3. School of Future Technology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China

Abstract: REV1 is one of the major Y-family DNA polymerases. It not only functions as a scaffold protein to mediate other specialized DNA polymerases to sites of lesions, but also inserts deoxycytidine across the lesion strand during translesion DNA synthesis (TLS). Meanwhile, REV1 has been reported to be involved in homologous recombination (HR) repair. Here we further explore the roles of REV1-interacting proteins RAD51 and RAD51C in REV1-mediated DNA double-strand break (DSB) repair. We found that RAD51 but not RAD51C regulates REV1 recruitment to DSB sites via

收稿日期: 2018-06-29; 修回日期: 2018-10-19

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2018YFA0108500)和国家自然科学基金项目(编号: 81630078, 31471331)资助[Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFA0108500) and the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81630078, 31471331)]

作者简介: 黄敏, 博士研究生, 专业方向: 生物化学与分子生物学。E-mail: huangmin@big.ac.cn

通讯作者: 郭彩霞, 博士, 研究员, 研究方向: DNA 损伤应答与肿瘤发展的机制研究。E-mail: guocx@big.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.18-176

网络出版时间: 2018/10/30 18:23:46

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20181030.1822.004.html>

pulsed laser microirradiation. Interestingly, immunofluorescence staining exhibits that REV1 also regulates RAD51 focus formation in response to CPT treatment. These results suggest that REV1 and RAD51 might be mutually dependent on each other in the REV1-related HR pathway.

Keywords: REV1; DNA double-strand breaks repair; homologous recombination; RAD51; RAD51C

跨损伤 DNA 合成(translesion DNA synthesis, TLS)是哺乳动物细胞耐受 DNA 损伤的一种重要的方式^[1],可防止复制叉崩解导致的细胞死亡。一般来说,当复制叉遇到受损的 DNA 时,高保真的 DNA 聚合酶无法继续完成复制继而发生停滞,随后跨损伤 DNA 聚合酶将高保真 DNA 复制酶置换下来,进而在损伤模板对侧整合核苷酸,然后由同一种或者另一种跨损伤 DNA 聚合酶继续延伸几个核苷酸,最后再由高保真的 DNA 复制酶负责完成 DNA 复制工作。由于跨损伤聚合酶的低保真性,一般认为,其能在 DNA 损伤模板对侧整合错误的碱基,从而引发基因组变异^[1,2]。迄今为止,已在哺乳动物中发现约有 11 种跨损伤 DNA 聚合酶,其中 Pol η 、Pol κ 、REV1 和 Polt 属于 Y 家族 DNA 聚合酶,它们在维持基因组完整性方面发挥了重要功能^[1-6],其功能异常与肿瘤的发生、发展和耐药密切相关。

近年来研究表明,Y 家族聚合酶除了参与 TLS 通路之外,还在其他一些 DNA 损伤修复通路中发挥作用^[7]。例如,Pol κ 可在显微辐射(micro-irradiation)诱导的损伤位点处募集,参与调控氧化损伤诱发的单链和双链断裂修复^[8];Pol η 也可参与双链断裂(DNA double-strand break, DSB)修复^[9]。DSB 是最严重的 DNA 损伤类型之一,如果不能及时修复将导致细胞死亡。DSB 主要通过非同源末端连接(nonhomologous end joining, NHEJ)和同源重组(homologous recombination, HR)两条途径进行修复。Pol η 被报道能与 HR 通路中的重组酶 RAD51 相互作用,在 RAD51 调控下催化 D-loop 延伸^[9]。2005 年,REV1 在鸡(*Gallus domesticus*) DT40 细胞中被发现参与重组依赖的免疫球蛋白的基因转换^[10]。随后 REV1 在出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)^[11]和黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)^[12]也被报道有类似功能。与此同时,在人源细胞中的研究也发现,REV1 与跨损伤聚合酶 Pol ζ 以复合体的形式参与 DSB 修复^[13]。

随着研究的深入,REV1 在 HR 通路中分子调控的具体机制也被逐渐揭示。Yang 等^[14]研究表明,RAD18 能通过单泛素化的 FANCD2 (FANCD2-mUb) 调控 REV1 在 UVA 激光诱发的双链断裂损伤处的招募。REV1 通过其泛素结合域(ubiquitin-binding motifs, UBM)与 FANCD2-mUb 有较强的相互作用,被招募至 DSBs;通过突变 REV1 的 UBM 降低其与 FANCD2-mUb 的结合,则会导致 REV1 招募到 DSBs 的比例明显低于野生型。同时,BRCA1 和 BRCA2 也能参与调控 REV1 的招募。细胞存活实验表明,敲除 REV1 或者敲低 FANCD2 的细胞均对可诱导 DNA 双链断裂的药物喜树碱(camptothecin, CPT)敏感性增强。此外,REV1 还能通过稳定 RAD51 filaments 的方式来保护阻滞的复制叉处新生链不被降解。Wang 等^[15]发现 miRNA-96 通过靶向 REV1 和 RAD51 的 mRNA 抑制两者的蛋白表达水平,降低 HR 修复效率,同时对 PARP 抑制剂(AZD2281)和顺铂更加敏感。

由于 REV1 与 RAD51 存在相互作用,而 RAD51 在介导阻滞的复制叉处的重启以及 HR 修复过程中发挥了重要功能^[16]。本文对 RAD51 与 REV1 在 HR 通路中的调控关系做了进一步研究,发现敲低 RAD51 会导致 GFP-REV1 的招募比例明显下降,表明 RAD51 可以调控 REV1 到 UVA ($\lambda=365$ nm)激光诱导的 DSB 位点的招募即。有意思的是,REV1 反过来也可以调控 RAD51 在 CPT 诱导的 DSB 位点的募集。RAD51C 作为 RAD51 的同源物,虽然与 REV1 也存在相互作用,但是其并不调控 REV1 招募到 DSB 位点。

1 材料和方法

1.1 材料

HEK293T 和 U2OS 细胞系均来自美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection),MRC5 细胞来自英国萨塞克斯大学 Alan Lehmann 实验室。这些

细胞均置于 37℃ 且有 5% CO₂ 的培养箱中培养, 培养基为含有 10% 胎牛血清的 DMEM。实验过程中所用 siRNAs 均购自于苏州吉玛公司, 具体序列信息为 siRAD51 (5'-GGCAGUAGAUGUGCAGAUUA-3'), siREV1-1 (5'-GAACAGUGACGCAGGAAUATT-3'), siREV1-2 (5'-GCAUCAAAGCUGGACGACUTT-3')^[17], siNC (5'-UUCUCCGAACGUGUCACGU-3')。靶向 RAD51C 的 shRNA-RAD51C (TRCN00000146298 和 TRCN00000147658) 及 NC (shRNA-SHC002) 均购于美国 Open Biosystems 公司。

1.2 激光微辐射共聚焦显微镜检测 GFP-REV1 招募

本实验采用脉冲氮激光微辐射仪(Spectra-Physics, 365 nm, 10 Hz pulse), 可诱发细胞核内 DNA 发生 DSBs。仪器将荧光显微成像系统与微辐射系统相结合, 可实时检测目的蛋白在损伤位点的招募情况。在 35 mm 的培养皿中铺适宜细胞密度的 U2OS 细胞, 培养过夜, 分别转染靶向 RAD51 的 siRNA 或者 siNC oligos。第 2 天将细胞传代至激光切割专用培养皿(MatTek cultureware)中, 待细胞贴壁完全后, 转染 GFP-REV1, 24 h 后, 进行激光显微切割。每组统计 25~30 个细胞里 GFP-REV1 的招募情况, 进行 3 次独立的生物学实验重复。

1.3 免疫荧光检测 RAD51 的招募

在 35 mm 的培养皿中铺适宜细胞密度的 U2OS 细胞, 培养过夜, 分别转染靶向 REV1 的 siRNA 或者 siNC oligos。第 2 天将细胞传代至盖玻片, 培养过夜, CPT 损伤处理或不作任何处理。收集细胞, 先用 PBS 洗 2 遍, 再用含 0.5% Triton X-100 的预抽缓冲液在室温预抽 5 min, PBS 洗 3 次。在 4% PFA 里室温条件下固定细胞 15 min, PBS 洗 3 遍后, 在 3% BSA 里室温封闭 1 h, 再与 RAD51 抗体在 4℃ 孵育过夜, PBST 洗 8 次, 与荧光二抗室温孵育 1 h 后, PBST 洗 8 次, 最后用含 DAPI 的封片剂封片^[18]。荧光显微镜拍照统计 RAD51 的表达情况, 每组样品至少统计 200 个细胞。

1.4 检测 REV1 和 SFB-RAD51C 的相互作用

在 6 cm 的培养皿中铺适宜细胞密度的 HEK293T

细胞, 培养过夜后转染 SFB-RAD51C 的全长或者其一系列删除不同区域的变体^[19]。48 h 后收集细胞, 用 4℃ 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次, 离心收集细胞, 用含有蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1% Triton X-100)于 4℃ 裂解细胞。然后低温离心, 收集蛋白裂解液上清, 与预洗过的 S 琼脂糖珠子于 4℃ 孵育 2 h, 离心后再分别和等量的预先纯化好的 His-mREV1 蛋白(带 His 标签的小鼠 REV1 蛋白)^[20]于低温孵育 1 h, 随后用裂解缓冲液分别快洗和慢洗(4℃ 旋转, 10 min/次)3 次。加入适量蛋白上样缓冲液, 95℃ 加热 5 min 后离心, 用于后续 Western blot 检测。

1.5 建立 RAD51C 稳定敲低的 MRC5 细胞系

1.5.1 在 MRC5 细胞株中确定 puromycin 药物筛选的适宜浓度

由于不同细胞株或者不同实验室的同种细胞株对 puromycin 的敏感性存在差异, 因此在准备建立稳定细胞系前, 需要摸索在 3~5 天内, 杀死全部 MRC5 细胞的 puromycin 的最适宜浓度。将 MRC5 细胞以 1×10^5 /孔接种至 6 孔板, 培养过夜后, 将 puromycin 按照从 0.5 μ g/mL 到 5 μ g/mL, 每隔 0.5 μ g/mL 递增的浓度加至不同培养孔中。期间, 每天更换含有对应 puromycin 浓度的新鲜培养基。观察细胞死亡情况, 最优 puromycin 浓度为 3~5 天内杀死全部细胞的最低 puromycin 浓度, 用于后续稳定细胞系筛选。

1.5.2 筛选 RAD51C 稳定敲低的 MRC5 单克隆细胞株

转染前 24 h, 将 HEK293T 细胞接种于 6 cm 培养皿, 使其第 2 天细胞密度在 70% 左右。将慢病毒包装质粒分别和 shRNA-SHC002 或者 shRNA-RAD51C 转染至 HEK293T 细胞, 48 h 和 72 h 后收集病毒上清, 用于感染 MRC5 细胞。

将 MRC5 细胞提前 1 天铺于 6 cm 培养皿中, 保证其被感染时的细胞密度约为 70%。分别收集感染 48 和 72 h 后的病毒上清, 用 0.45 μ m 的滤器过滤去除细胞碎片, 加入终浓度为 8 μ g/mL 的 polybrene, 混合均匀。将收集的病毒上清分别感染 MRC5 细胞

2次,在第一次感染48 h后,加入适宜浓度的puromycin进行药物筛选3天。

通过药物筛选得到的混合克隆以适宜细胞数目接种至10 cm培养皿,待单克隆长至大小覆盖整个显微镜视野后,挑取单克隆至24孔板,并扩大培养。随后,取部分细胞进行Western blot鉴定,其余的继续培养。鉴定结果为阳性的单克隆,用去除支原体的试剂处理1周后,继续扩大培养并冻存,用于后期实验。

2 结果与分析

2.1 RAD51 调控 REV1 在 DSBs 位点的招募

由于REV1能够通过稳定RAD51 filaments保护阻滞复制叉处的新生链不被降解,同时REV1和RAD51存在相互作用。为进一步研究二者间的调控关系,分别转染siNC或者siRAD51至U2OS细胞。48 h后,再转染GFP-REV1,然后对U2OS细胞进行UVA激光显微切割,检测GFP-REV1在UVA诱导的DSBs处的招募情况。结果显示,GFP-REV1能够被招募至UVA诱导的损伤位点(图1A)。同时,在siNC组GFP-REV1的招募比例为59.9%,敲低RAD51后,REV1的招募比例明显降低到34.7%(图1B)。与此同时,收集细胞裂解液利用Western blot

进一步检测RAD51的敲低效果,结果证实RAD51的敲低效果明显(图1C)。以上结果表明,RAD51调控REV1在DSBs处的招募,即RAD51是GFP-REV1在UVA诱导的DSBs位点最适招募所必需的。

2.2 REV1 调控 RAD51 在 DSBs 位点的招募

DNA损伤修复通路中很多信号分子间的关系并不是简单的单向上下游调控关系,因此本研究进一步检测了REV1是否调控RAD51在DSBs处的招募。在U2OS细胞中,分别转染siNC或者siREV1-1、siREV1-2,用双链断裂试剂CPT损伤处理后,检测RAD51的招募情况。结果发现,敲低REV1并用CPT处理后,RAD51的招募比例相较于NC组均明显下降(图2A)。免疫荧光的统计结果显示,相较于siNC转染组RAD51 foci的比例53.5%,siREV1-1和siREV1-2转染组RAD51 foci的比例明显分别下降至21.1%和16.6%(图2B)。同时,Western blot检测结果显示REV1敲低效果很好(图2C)。以上结果证明,REV1和RAD51存在相互调控的作用机制。

2.3 REV1 在 DSBs 位点的招募不依赖于 RAD51C

2.3.1 REV1 与 RAD51C 存在相互作用

在HEK293T细胞中瞬时转染一系列SFB-RAD51C的删除RAD51C不同区域的突变体,48 h

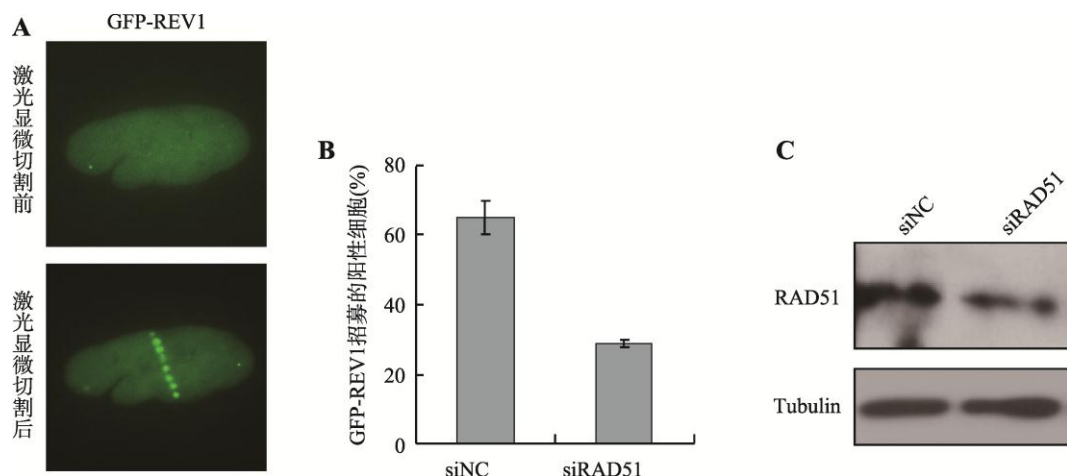


图1 RAD51 调控 GFP-REV1 到 UVA 诱导的 DSBs 位点的招募

Fig. 1 RAD51 regulates the recruitment of GFP-REV1 to laser-induced DSBs

A: U2OS 细胞瞬时转染 GFP-REV1。荧光检测结果显示 GFP-REV1 被招募至 UVA 诱导的 DSBs 损伤位点处。B: 检测敲低 RAD51 对 GFP-REV1 招募的影响。数据为 3 次独立的生物学重复的统计结果。C: 敲低 RAD51 的 Western blot 检测结果。Tubulin 为内参对照。

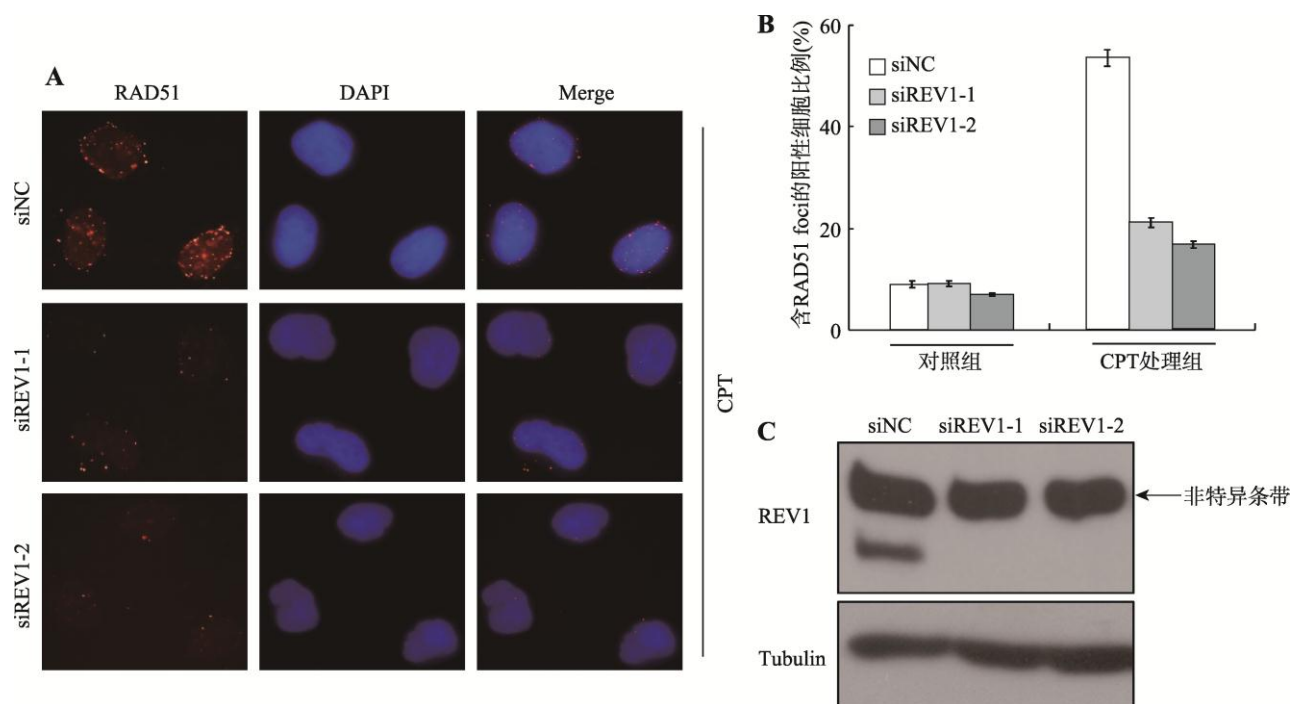


图 2 REV1 促进 CPT 处理后 RAD51 在 DSBs 位点的招募

Fig. 2 REV1 facilitates the accumulation of RAD51 at DSBs after CPT treatment

A: RAD51 免疫荧光染色代表图。在 U2OS 细胞中瞬时敲低 REV1, 48 h 后, 用 5 μ mol/L CPT 处理 3 h, RAD51 招募情况的免疫荧光代表图; B: 含有 RAD51 foci 的阳性细胞的比例。在 U2OS 中敲低 REV1 后, 不作任何损伤处理及 CPT 处理后, 含 RAD51 foci 的细胞的统计结果, 数据为 3 次独立的生物学重复的统计结果; C: Western blot 检测 REV1 的敲低效果, Tubulin 为内参对照。

后, 收集细胞并裂解, 离心后收集到的上清与 S 琼脂糖珠子孵育后再次离心, 再与纯化好的 His-mREV1 蛋白于低温孵育 1 h, 结果发现 SFB-RAD51C 相较于 SFB 空载, 结合更多的 REV1 蛋白, 表明 RAD51C 和 REV1 存在明显的相互作用(图 3A)。同时, 实验结果还表明 RAD51C 的 N 端是其结合 REV1 所必需的。

2.3.2 利用 MRC5 细胞构建稳定敲低 RAD51C 的细胞系

将慢病毒包装质粒和不靶向任何基因的质粒 shRNA-SHC002 或者靶向敲低 RAD51C 的质粒 shRAD51C 转染至 HEK293T 细胞, 收集慢病毒上清, 分别感染 MRC5 细胞。感染 48 h 后, 加入 puromycin 进行药物筛选, 以得到稳定敲低 RAD51C 的单克隆。收集部分单克隆细胞, 进行 Western blot 验证, 检测单克隆中 RAD51C 的表达情况。结果显示, shRAD51C 的 1# 和 2# 克隆相较于 shRNASHC002 (即 shNC) 的 1# 克隆, RAD51C 的表达明显下降, 可用于后续实验 (图 3B)。

2.3.3 在稳定敲低 RAD51C 的细胞系中检测 GFP-REV1 的招募情况

在 shNC-1#、shRAD51C-1# 和 2# 三株稳定细胞系中分别瞬时转染 GFP-REV1, 48 h 后, 对细胞进行激光显微切割, 检测 GFP-REV1 的招募情况。结果显示, 在 shNC-1# 稳定细胞系中, GFP-REV1 的招募比例为 59.1%。同时, 在 RAD51C 稳定敲低的两株细胞系中, GFP-REV1 的招募比例分别为 66.7% 和 59.3% (图 3C)。以上结果表明, REV1 在 DSBs 位点的募集不依赖于 RAD51C。

3 讨论

细胞时刻会受到各种内源或者外源损伤因素的影响, 造成基因组 DNA 的损伤, 如果损伤不能被及时修复, 会造成复制叉阻滞而导致更为严重的 DNA 双链断裂, 甚至细胞死亡。跨损伤合成利用 TLS 聚合酶可以在受损的碱基对侧整合碱基, 保证

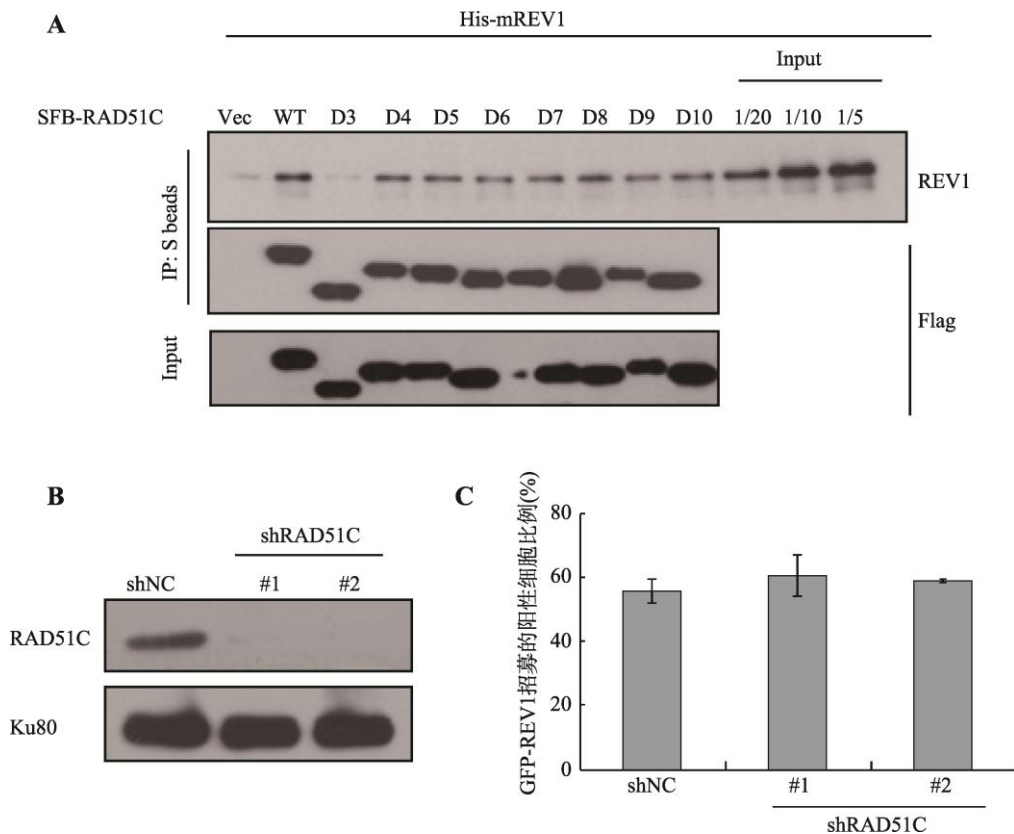


图 3 RAD51C 结合 REV1 但是不调控 REV1 的招募

Fig. 3 The recruitment of REV1 is independent on RAD51C, although they interact with each other

A: REV1 和 RAD51C 存在相互作用。在 HEK293T 细胞中瞬时转染 SFB 载体或者 SFB-RAD51C 一系列删除其不同区域的变体, 将蛋白裂解液与 S beads 孵育后离心, 再与纯化好的 His-mREV1 于低温孵育 1 h, 检测 REV1 与前者的相互作用; **B:** 检测稳定细胞系中 RAD51C 的蛋白水平。利用 Western blot 检测稳定敲低 RAD51C, 以及 shNC 的 MRC5 单克隆细胞系中 RAD51C 蛋白的表达情况, Ku80 为内参对照; **C:** 检测敲低 RAD51C 对 REV1 招募的影响。在稳定细胞系中瞬时转染 GFP-REV1, 统计 GFP-REV1 在 UVA 诱导的 DSBs 损伤位点处的招募, 数据为 3 次独立的生物学重复的统计结果。

复制继续进行^[21]。近些年来, 越来越多的证据表明 TLS 聚合酶也参与其他 DNA 损伤修复通路^[7], 其中 Y 家族聚合酶 Pol η , REV1 都被报道参与调控 HR 通路^[10, 22, 23]。一方面, REV1 与 Pol ζ 以复合体的形式参与调控 HR 通路^[13]。另一方面, REV1 通过其 UBM 结构域, 以依赖 RAD18 和 FANCD2-mUb 的方式, 被招募至 DSBs 位点, 同时 REV1 可通过稳定 RAD51 filaments 保护复制叉处新生链不被降解^[14]。然而, REV1 是如何被招募至 DSBs 具体的分子调控机制仍不是非常清楚。

RAD51 重组酶在 HR 介导的 DSBs 修复过程中发挥了重要功能^[24]。一方面 RAD51 介导了复制叉崩解后的 HR 修复, 另一方面它在复制叉短期阻滞后的复制重启中也发挥了重要功能^[16]。同时, REV1

和 Pol ζ 在 HR 中的共同作用依赖于上游 RPA 和 RAD51^[13], 暗示着 RAD51 可能介导 REV1 在 DSBs 处的招募。本研究通过敲低 RAD51, 检测 GFP-REV1 到 DSBs 位点的招募, 发现敲低 RAD51 后 REV1 的招募比例显著下降。同时, 在 REV1 敲低细胞中, 也对 RAD51 在应答双链断裂试剂 CPT 处理后的募集情况进行了检测。结果显示, 在 CPT 处理后, RAD51 在 REV1 敲低细胞中的募集均明显低于对照组。因此, REV1 和 RAD51 不仅是单向调控的上下游关系, 而是存在一个复杂的双向调控^[25], 即 RAD51 可调控 REV1 的招募, 而 REV1 也可以调控 RAD51 的招募。类似地, 以往的研究也支持在 DNA 损伤应答通路中, 许多调控分子的关系都不是简单的单向线性调控, 如 BRCA2 和 RAD51 彼此依赖, 调控相

互的蛋白表达水平^[26], 而 PRP19 可被 ATR 介导招募至损伤位点进而促进 RPA 的多泛素化, 从而进一步前馈调控 ATR-ATRIP 的招募^[27]。考虑到 REV1 与 RAD51 和 BRCA1 均具有很强的相互作用^[14,28], 并且 BRCA1/PALB2/BRCA2 复合体也调控 RAD51 的招募^[29,30], 其中 BRCA2 是介导 RAD51 被招募至单链 DNA 从而起始 HR 通路的关键蛋白^[31-33], 由此推测在起始 HR 通路激活过程中, REV1 的招募依赖于上游 RAD51, 而 REV1 可能通过 BRCA1/PALB2/BRCA2 复合体进一步前馈调控 RAD51 的招募。

RAD51C 作为 RAD51 的同源物, 与 RAD51 的其他同源物协同调控 HR 通路, 并在 HR 通路的早期和晚期均发挥功能^[34]。研究表明, 在鸡 DT40 细胞和仓鼠细胞里, 敲低 RAD51C 会导致 RAD51 的募集以及 HR 修复效率均减少^[34]。因此, 本研究首先证明了 RAD51C 和 REV1 存在相互作用, 进一步在人源细胞中敲低 RAD51C, 检测了 REV1 的招募情况, 结果却显示 REV1 的招募并不受 RAD51C 调控。关于 RAD51C 与 REV1 互作的生物学意义仍有待进一步研究。

本研究进一步加深了人们对 REV1 在 HR 调控通路中的作用机制的理解, 即 REV1 和 RAD51 在 HR 通路中存在彼此相互调控的关系。RAD51 调控 REV1 的招募, 而 REV1 可能是通过某些蛋白, 如 BRCA1/PALB2/BRCA2 复合体, 进一步前馈调控 RAD51 的招募, 但是具体两者间是如何调控仍需深入研究。

致谢

感谢英国萨塞克斯大学 Alan Lehmann 博士提供 MRC5 细胞; 感谢浙江大学黄俊博士提供 RAD51C 质粒。

参考文献(References):

- [1] Sale JE, Lehmann AR, Woodgate R. Y-family DNA polymerases and their role in tolerance of cellular DNA damage. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(3): 141–152. [DOI]
- [2] Guo CC, Kosarek-Stancel JN, Tang T-S, Friedberg EC. Y-family DNA polymerases in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(14): 2363–2381. [DOI]
- [3] Vaisman A, Woodgate R. Translesion DNA polymerases in eukaryotes: what makes them tick? *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, 52(3): 274–303. [DOI]
- [4] Yang W. An overview of Y-Family DNA polymerases and a case study of human DNA polymerase η . *Biochemistry*, 2014, 53(17): 2793–2803. [DOI]
- [5] Ma XL, Liu HH, Li J, Wang Y, Ding YH, Shen H, Yang Y, Sun C, Huang M, Tu Y, Liu Y, Zhao Y, Dong MQ, Xu P, Tang TS, Guo C. Pol η O-GlcNAcylation governs genome integrity during translesion DNA synthesis. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1941. [DOI]
- [6] Huang M, Zhou B, Gong J, Xing L, Ma X, Wang F, Wu W, Shen H, Sun C, Zhu X, Yang Y, Sun Y, Liu Y, Tang TS, Guo C. RNA-splicing factor SART3 regulates translesion DNA synthesis. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(9): 4560–4574. [DOI]
- [7] Lehmann AR. New functions for Y family polymerases. *Mol Cell*, 2006, 24(4): 493–495. [DOI]
- [8] Zhang X, Lv L, Chen Q, Yuan F, Zhang T, Yang Y, Zhang H, Wang Y, Jia Y, Qian L, Chen B, Zhang Y, Friedberg EC, Tang TS, Guo C. Mouse DNA polymerase kappa has a functional role in the repair of DNA strand breaks. *DNA Repair (Amst)*, 2013, 12(5): 377–388. [DOI]
- [9] McIlwraith MJ, Vaisman A, Liu Y, Fanning E, Woodgate R, West SC. Human DNA polymerase eta promotes DNA synthesis from strand invasion intermediates of homologous recombination. *Mol Cell*, 2005, 20(5): 783–792. [DOI]
- [10] Okada T, Sonoda E, Yoshimura M, Kawano Y, Saya H, Kohzaki M, Takeda S. Multiple roles of vertebrate REV genes in DNA repair and recombination. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(14): 6103–6111. [DOI]
- [11] Hirano Y, Sugimoto K. ATR homolog Mec1 controls association of DNA polymerase zeta-Rev1 complex with regions near a double-strand break. *Curr Biol*, 2006, 16(6): 586–590. [DOI]
- [12] Kane DP, Shusterman M, Rong Y, McVey M. Competition between replicative and translesion polymerases during homologous recombination repair in *Drosophila*. *PLoS Genet*, 2012, 8(4): e1002659. [DOI]
- [13] Sharma S, Hicks JK, Chute CL, Brennan JR, Ahn JY, Glover TW, Canman CE. REV1 and polymerase zeta facilitate homologous recombination repair. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(2): 682–691. [DOI]
- [14] Yang Y, Liu Z, Wang F, Temviriyankul P, Ma X, Tu Y, Lv L, Lin YF, Huang M, Zhang T, Pei H, Chen BP, Jansen JG, de Wind N, Fischhaber PL, Friedberg EC, Tang TS, Guo C.

- FANCD2 and REV1 cooperate in the protection of nascent DNA strands in response to replication stress. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(17): 8325–8339. [DOI]
- [15] Wang Y, Huang JW, Calses P, Kemp CJ, Taniguchi T. MiR-96 downregulates REV1 and RAD51 to promote cellular sensitivity to cisplatin and PARP inhibition. *Cancer Res*, 2012, 72(16): 4037–4046. [DOI]
- [16] Petermann E, Orta ML, Issaeva N, Schultz N, Helleday T. Hydroxyurea-stalled replication forks become progressively inactivated and require two different RAD51-mediated pathways for restart and repair. *Mol Cell*, 2010, 37(4): 492–502. [DOI]
- [17] Wang ZF, Huang M, Ma X, Li H, Tang T, Guo C. REV1 promotes PCNA monoubiquitylation through interacting with ubiquitylated RAD18. *J Cell Sci*, 2016, 129(6): 1223–1233. [DOI]
- [18] Dong S, Han J, Chen H, Liu T, Huen MSY, Yang Y, Guo C, Huang J. The human SRCAP chromatin remodeling complex promotes DNA-end resection. *Curr Biol*, 2014, 24(18): 2097–2110. [DOI]
- [19] Huang J, Huen MS, Kim H, Leung CC, Glover JN, Yu X, Chen J. RAD18 transmits DNA damage signalling to elicit homologous recombination repair. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(5): 592–603. [DOI]
- [20] Guo CC, Fischhaber PL, Luk-Paszyc MJ, Masuda Y, Zhou J, Kamiya K, Kisker C, Friedberg EC. Mouse Rev1 protein interacts with multiple DNA polymerases involved in translesion DNA synthesis. *EMBO J*, 2003, 22(24): 6621–6630. [DOI]
- [21] Lv LL, Tang TS, Guo CC. Advances of study on translesion DNA synthesis polymerase kappa in mammalian cells. *Prog Biochem Biophys*, 2011, 38(3): 204–209.
吕翎娜, 唐铁山, 郭彩霞. 哺乳动物跨损伤DNA聚合酶 Polκ研究进展. 生物化学与生物物理进展, 2011, 38(3): 204–209. [DOI]
- [22] Hirota K, Sonoda E, Kawamoto T, Motegi A, Masutani C, Hanaoka F, Szuts D, Iwai S, Sale JE, Lehmann A, Takeda S. Simultaneous disruption of two DNA polymerases, Poleta and Polzeta, in Avian DT40 cells unmasks the role of Poleta in cellular response to various DNA lesions. *PLoS Genet*, 2010, 6(10): e1001051. [DOI]
- [23] Kawamoto T, Araki K, Sonoda E, Yamashita YM, Harada K, Kikuchi K, Masutani C, Hanaoka F, Nozaki K, Hashimoto N, Takeda S. Dual roles for DNA polymerase eta in homologous DNA recombination and translesion DNA synthesis. *Mol Cell*, 2005, 20(5): 793–799. [DOI]
- [24] Filippo JS, Sung P, Klein H. Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem*, 2008, 77: 229–257. [DOI]
- [25] Palle K, Vaziri C. Rad18 E3 ubiquitin ligase activity mediates Fanconi anemia pathway activation and cell survival following DNA Topoisomerase 1 inhibition. *Cell Cycle*, 2011, 10(10): 1625–1638. [DOI]
- [26] Magwood AC, Malysewich MJ, Cealic I, Mundia MM, Knapp J, Baker MD. Endogenous levels of Rad51 and Brca2 are required for homologous recombination and regulated by homeostatic re-balancing. *DNA Repair (Amst)*, 2013, 12(12): 1122–1133. [DOI]
- [27] Maréchal A, Li JM, Ji XY, Wu CS, Yazinski SA, Nguyen HD, Liu S, Jimenez AE, Jin J, Zou L. PRP19 transforms into a sensor of RPA-ssDNA after DNA damage and drives ATR activation via a ubiquitin-mediated circuitry. *Mol Cell*, 2014, 53(2): 235–246. [DOI]
- [28] Tian F, Sharma S, Zou J, Lin SY, Wang B, Rezvani K, Wang H, Parvin JD, Ludwig T, Canman CE, Zhang D. BRCA1 promotes the ubiquitination of PCNA and recruitment of translesion polymerases in response to replication blockade. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(33): 13558–13563. [DOI]
- [29] Zhang F, Ma J, Wu J, Ye L, Cai H, Xia B, Yu X. PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. *Curr Biol*, 2009, 19(6): 524–529. [DOI]
- [30] Sy SM, Huen MS, Chen J. PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(17): 7155–7160. [DOI]
- [31] Buisson R, Lawrence MS, Benes CH, Zou L. APOBEC3A and APOBEC3B activities render cancer cells susceptible to ATR inhibition. *Cancer Res*, 2017, 77(17): 4567–4578. [DOI]
- [32] Lord CJ, Ashworth A. RAD51, BRCA2 and DNA repair: a partial resolution. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(6): 461–462. [DOI]
- [33] Pellegrini L, Venkitaraman A. Emerging functions of BRCA2 in DNA recombination. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(6): 310–316. [DOI]
- [34] Somyajit K, Subramanya S, Nagaraju G. RAD51C: a novel cancer susceptibility gene is linked to Fanconi anemia and breast cancer. *Carcinogenesis*, 2010, 31(12): 2031–2038. [DOI]