

退火解旋酶 SMARCAL1 在维持基因组稳定中的作用与机制

文雅蕾¹, 吕柯舜², 徐小康¹, 张欣¹, 丁良¹, 潘学峰^{1,2,3}

1. 河北大学医学院药理室, 保定 071000
2. 北京理工大学生命学院, 北京 100081
3. 河北大学化学与环境学院, 保定 071000

摘要: SMARCAL1 是属于 SWI/SNF (SWITCH/Sucrose Non-Fermentable) 相关、基质相关和激动蛋白依赖的染色质调节因子家族成员 ATP 驱动的 DNA 退火解旋酶。SMARCAL1 在体外和体内能催化单链结合蛋白 RPA 结合的 DNA 单链与其互补链退火成双链 DNA。人 *Smarcal1* 基因的突变与 Schimke 免疫骨性发育不良 (Schimke immuno-osseous dysplasia, SIOD) 所能表现出的临床症状呈高度相关。本文对 SMARCAL1 在 DNA 损伤部位 DNA 复制叉的重塑、在 DNA 双链断裂 (double-stranded DNA, dsDNA) 处参与经典的非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 修复, 以及在人染色体端粒完整性维护等方面的作用与机制进行了梳理, 对 *Smarcal1* 基因突变类型与 SIOD 症状之间的对应关系进行了更新, 并对 SMARCAL1 在三核苷酸重复序列扩增关联的神经-肌肉退行性病变过程中的可能作用进行了分析和讨论, 旨在更好地理解该退火解旋酶在维持基因组稳定中的作用和机制。

关键词: SMARCAL1; RPA; DNA 复制叉; SIOD; 三核苷酸重复序列扩增

SMARCAL1, roles and mechanisms in genome stability maintenance

Yalei Wen¹, Kenao Lü², Xiaokang Xu¹, Xin Zhang¹, Liang Ding¹, Xuefeng Pan^{1,2,3}

1. Department of Pharmacology, Medical College of Hebei University, Baoding 071000, China
2. School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China
3. School of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071000, China

Abstract: SMARCAL1 is an ATP-driven DNA annealing helicase that is similar in structure to the chromatin regulators in the subfamily A group of the SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent chromatin regulators. SMARCAL1

收稿日期: 2019-07-07; 修回日期: 2019-09-04

基金项目: 北京自然科学基金项目 (编号: 5132014) 和河北省医学科学重点项目 (编号: 20160051) 资助 [Supported by the Beijing Natural Science Foundation (No. 5132014) and the Hebei Provincial Key Research Programs for Medical Science (No. 20160051)]

作者简介: 文雅蕾, 硕士研究生, 专业方向: 分子药理学。E-mail: 491574395@qq.com

通讯作者: 丁良, 博士, 教授, 研究方向: 分析化学。E-mail: 345823685@qq.com

潘学峰, 博士, 教授, 研究方向: 生物化学、分子遗传学和药理等。E-mail: xuefengpancam@aliyun.com

DOI: 10.16288/j.ycz.19-158

网络出版时间: 2019/9/27 9:18:00

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20190926.1625.002.html>

catalyzes the formation of dsDNA by annealing the single-stranded binding protein RPA coated ssDNA with its complementary strand both *in vitro* and *in vivo*. In humans, different mutations of *Smarcal1* gene are found to be closely related to different symptoms shown in individuals with Schimke immuno-osseous dysplasia (SIOD). This paper reviews the recent research progress of SMARCAL1 functions in remodeling DNA replication forks at damaged DNA sites, working in classical non-homologous end joining (NHEJ) repair of DNA double-stranded breaks, and in maintaining chromosomal telomere integrity. The relationships between the mutations of *Smarcal1* gene in different SIOD symptoms, and the possible involvements of SMARCAL1 in neuromuscular degenerative diseases associated with trinucleotide repeats expansions are also updated and discussed to better understand the roles and mechanisms of the annealing helicase in genome stability maintenance.

Keywords: SMARCAL1; RPA; DNA replication fork; SIOD; expansions of trinucleotide repeats

基因组不稳定常见于人类遗传疾病、癌症及神经-肌肉退行性疾病的病理过程^[1]。常见的基因组不稳定主要包括基因的点突变、插入/缺失突变、DNA 链断裂(单链断裂和双链断裂)、DNA 链交联、基因组的倍性改变等类型^[1,2]。引发基因组不稳定的原因可依据 DNA 是否受损分为两类:一类源于细胞内源性或细胞外源性因素造成 DNA 损伤;一类则起因于基因组内特定 DNA 序列在 DNA 复制、转录或重组过程中发生了错误折叠^[1,2]。据统计,无论是原核细胞还是真核细胞,均需要 130 种以上的蛋白组份参与基因组稳定维护^[1]。其中,退火解旋酶 SMARCAL1 (SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A-like protein 1), 因广泛参与 DNA 损伤部位 DNA 复制叉的重塑、DNA 双链断裂部位的非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)修复、以及染色体端粒的维护而受到高度重视^[3-7]。

SMARCAL1 普遍存在于真核生物细胞中,属于一类依赖 ATP 的染色质“重塑因子”SNF2 (sucrose non-fermenting 2, SNF2)家族的一员^[4]。SNF2 家族的染色质重塑因子需要利用 ATP 水解供能,广泛参与细胞周期调控、基因转录、DNA 重组、DNA 损伤修复和 DNA 甲基化修饰等过程^[5]。除 SMARCAL1 之外,通过影响 DNA 复制过程维持基因组稳定性的 ZRANB3 和 HLTFT 也是 SNF2 家族的重要成员^[6]。这些蛋白均含有一个由 7 个保守基序(motif)组成的类似“解旋酶”(与常见的 DNA 和 RNA 解旋酶类似)的 ATPase 结构域^[7]。尽管 SMARCAL1 具有 DNA“退

火解旋酶”(annealing helicase)活性,但目前并未被归类于已有的 6 个 DNA 解旋酶超家族(DNA helicase superfamily)中^[8]。

人 *Smarcal1* 基因定位于 2q34-q36 区段,含 17 个外显子,编码一个由 954 个氨基酸残基组成的蛋白质^[7]。在人(*Homo sapiens*)和小鼠(*Mus musculus*)的所有组织中均见 *Smarcal1* 基因表达,如在人免疫系统中,*Smarcal1* 在单核细胞、B 淋巴细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞中的表达量分别为 1.259‰、1.584‰、1.259‰、1.995‰和 0.100‰;在内分泌系统的胰腺细胞、前列腺细胞中表达量约为 0.100‰和 0.016‰;在睾丸细胞中表达量则为 0.158‰^[9-16]。*Smarcal1* 基因突变与 Schimke 免疫骨性发育不良(Schimke immuno-osseous dysplasia, SIOD)密切相关^[17,18]。SIOD 是一种累及多系统、进行性加重的罕见常染色体遗传病,主要表现为 T 细胞免疫缺陷、局灶节段性肾小球硬化、脑发育受损、肾功能衰竭和骨骼发育不良造成的生长迟缓等^[8,12,19-21]。除此之外,部分 SIOD 患者还表现有甲状腺功能减退、骨髓衰竭、头发稀薄、角膜混浊、动脉粥样硬化、中风和偏头痛等^[8,12,21]。

本文将对 SMARCAL1 在 DNA 损伤部位借退火解旋酶活性重塑 DNA 复制叉,在 DNA 双链断裂部位参与非同源末端连接(NHEJ)修复,以及在端粒完整性维护过程等方面的作用与机制进行梳理。同时,对 *Smarcal1* 基因突变型与 SIOD 症状的相关性的最新进展进行了更新,对其在累及多达 40 余种人神经-肌肉退行性疾病中的三核苷酸重复序列扩增性不稳

定和脆性不稳定发生过程中的可能作用进行了分析。

1 SMARCAL1 的结构与功能

SMARCAL1 含有复制蛋白 A(replication protein A, RPA)结合基序、退火解旋酶活性结构域、ATP 酶结构域等(图 1)^[22]。其中,与 RPA 作用的基序位于 N-末端(28 个高度保守的氨基酸残基序列);与“退火解旋活性”有关的结构域位于 239~307 和 331~4002 区间的“HARP”结构域(每个“HARP”各含 60 个氨基酸残基)^[23]。C-末端是解旋酶结构域,具有 ATP 酶催化活性(由 115 个氨基酸残基组成的“RecA 样”结构域,DEXDc 和 HELICc)和 SWI/SNF“核小体重塑蛋白”结构域(图 1)^[24]。

SMARCAL1 的 ATP 依赖 DNA 退火解旋酶含有 2 个 HARP 结构域组成的 ATPase^[25~27]。当 DNA 出现损伤时,与单链 DNA 结合的单链 DNA 结合蛋白 RPA32 识别位于 SMARCAL1 的 N 端 RPA 作用结构域(图 1),并招募 SMARCAL1 至 dsDNA-ssDNA 的单链 DNA 一侧,这一反应可见于 S 期细胞周期关卡通路激活、停滞的复制叉重塑、端粒 DNA 完整性维护以及利用 NHEJ 机制修复 DNA 双链断裂损伤等过程^[3,24,25,28~31]。

1.1 SMARCAL1 与 DNA 复制叉的维护

在人体细胞中,Smrca11 缺失常影响细胞对 DNA 复制逆境(replication stress)应答能力^[4]。Smrca11 缺陷的细胞内可见 DNA 双链断裂,且对多种影响 DNA 复制的物质敏感,表明 SMARCAL1 与 DNA 复制忠实性的监管有关^[3,24,28]。研究发现,SMARCAL1

可通过与 RPA 作用参与停滞的 DNA 复制叉的“重塑”^[29],否则停滞的 DNA 复制叉有可能衍生为 DNA 双链断裂从而使 DNA 突变和染色体重排的风险增高^[32]。真核生物的 RPA 是一个由 RPA70、RPA32、RPA14 亚基组成的异源三聚体,可借 4 个 DNA 结合结构域(DNA-binding domain, DBD)与单链 DNA 结合^[33]。RPA 异三聚体参与 DNA 损伤部位修复蛋白的募集和组装,同时规避单链 DNA 错误折叠出非 B 型 DNA 构象^[33,34]。SMARCAL1 借其 N-末端与 RPA32 的 N 端结合,从而被快速高效地定位到复制叉的单链 DNA 部位^[3,35~37]。

活性氧自由基、紫外辐射及一些化学物质(如放线菌素等)会损伤 DNA 模板,影响细胞周期 S 时相的 DNA 复制^[3]。为此,细胞需针对相应的 DNA 损伤类型做出应答,包括利用 ATR 对单链空缺(single stranded gap, SSG)损伤应答,利用 ATM、DNA-PK 等激酶对 DNA DSBs 应答等^[1]。这些激酶对 SMARCAL1 蛋白的磷酸化修饰有助于有序启动 DNA 损伤修复^[38]。比如,SMARCAL1 第 652 位丝氨酸(S652)残基被 ATR 磷酸化修饰,可抑制 SMARCAL1 的 ATP 酶活性,从而降低其 DNA 复制叉重塑能力,避免 DNA 复制叉崩解^[39]。

体外研究表明,SMARCAL1 的退火解旋酶活性的发挥需要与 DNA 结合,并由 ATP 水解供能^[22]。在这个过程中,SMARCAL1 借 RPA 结合蛋白与单链 DNA 结合,并利用 ATP 水解提供的能量催化彼此互补的单链 DNA 重新形成双链 DNA,并同时解除 RPA 与单链 DNA 的结合(图 2, A 和 B)^[24]。现已发现,上述反应可以发生在 DNA 复制叉部位,帮助 DNA 复制叉内的单链 DNA 发生“分支迁移”和“分

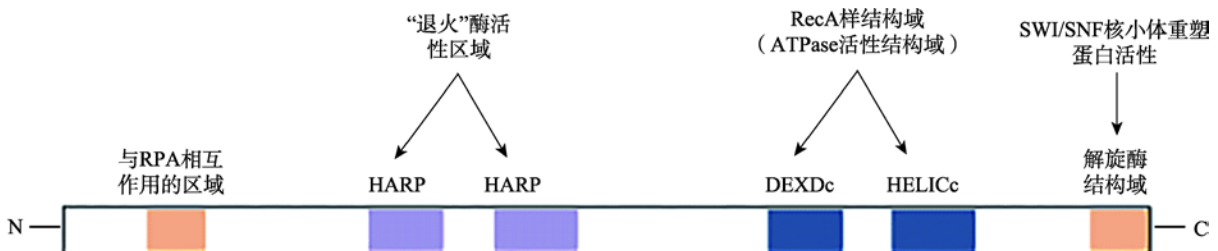


图 1 退火解旋酶 SMARCAL1 的功能结构域分布

Fig. 1 The functional domains of SMARCAL1 annealing helicase

SMARCAL1 在其 N 端区域包含与 RPA 相互作用基序和 2 个退火活性所需的 HARP 结构域,在其 C 末端含有解旋酶结构域,为 DEXDc 和 HELICc 基序^[23,25]。

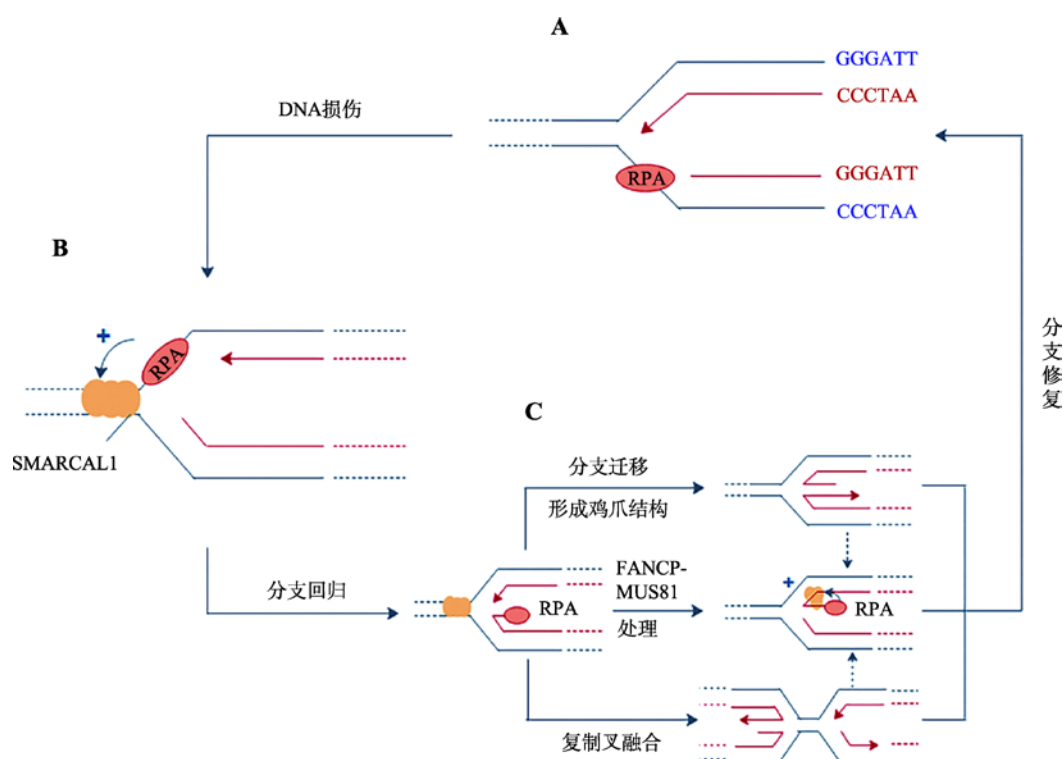


图 2 SMARCAL1 修复受损 DNA 复制叉的机制

Fig. 2 Proposed Mechanism of SMARCAL1 in remodeling a damaged DNA replication fork

A: DNA 链复制受阻, 复制型 DNA 聚合酶和所“偶联”的 DNA 解旋酶脱离, 导致前导链模板上产生 ssDNA 空缺; B: 在停滞的复制叉上, RPA 与单链 DNA 结合后行成 RPA-ssDNA, 并招募 SMARCAL1, 启动复制叉回转; C: SMARCAL1 在复制叉回转后以 3 种可能的方式催化复制叉的修复, 包括持续分支迁移产生“鸡爪”状的 Holliday 结构; 与相邻的重新建立的 DNA 复制叉发生“融合”获得拯救; 以及用 FANCP-MUS81 处理后产生对应于新生前导链的 ssDNA 链, 然后生成单末端 DNA 双链断裂(DSB)。RPA 协助 SMARCAL1 用互补的模板链与新生的 ssDNA 前导链“退火”, 重构出可正常复制的 DNA 复制叉^[25,39,40]。

支重塑”^[4,22,40], 使停滞的 DNA 复制叉“重塑”出“鸡爪”状四臂交叉中间体结构^[41,42](图 2C)。图 2C 中的“鸡爪”结构可以稳定停滞的 DNA 复制叉, 又能使带伤的单链 DNA 重新“退回”双链 DNA 状态, 可以赢得修复时间, 或利用“模板转换”(template switching)使新生 DNA 链的 3' 生长端“绕过”带伤 DNA 模板后重启 DNA 复制^[6,27,29,33,43](图 2 B 和 C)。

需要特别指出的是 SMARCAL1 催化的上述 DNA 复制叉重塑在体外也可以由大肠杆菌的 DNA 解旋酶 RecG 催化^[29]。大肠杆菌 RecG 是一个 3'→5' DNA 解旋酶, 具有催化 Holliday 中间体(同源重组过程中出现的交叉结构)发生分支迁移能力^[29]。在催化 DNA 复制叉回转时, RecG 类似 SMARCAL1, 需要借 DNA 单链结合蛋白与 DNA 复制叉结合。在这个过程中 DNA 单链结合蛋白还可以进一步稳定 RecG 与 DNA 复制叉的结合, 有利于 RecG 催化 DNA

复制叉回转(图 2)^[44]。因此, 虽然 SMARCAL1 在结构上与大肠杆菌 RNA 聚合酶结合蛋白 HepA 相似(被称为 HepA 相关蛋白, HARP), 但在催化 DNA 底物结构重塑时则更类似于大肠杆菌的 DNA 解旋酶 RecG^[9-11]。

1.2 SMARCAL1 在维持端粒稳定过程中的作用

人染色体端粒 DNA 一般由“TTAGGG”六聚体重复序列组成, 可形成包括 G-四链体、D(t)环等在内的非 B 型 DNA 结构。尽管这些 DNA 结构为端粒稳定所必需, 但如果它们出现在 DNA 复制过程中则会造成 DNA 复制叉停滞, 使端粒变短^[45-47]。维持端粒稳定是保证细胞增殖能力的关键。肿瘤细胞的端粒长度的维持机制有两种, 一是重新激活端粒酶, 一是利用同源重组“替补”机制维持(统称为端粒延长替代机制, alternative lengthening of telomere, ALT)^[48]。

ALT 细胞(缺乏端粒酶而需要 ALT 维持端粒长度的细胞)中可见由端粒 DNA 的额外染色体形成的 C-环(C-circles), 可用于 ALT 活性的标记^[43]。

DNA 损伤修复系统对端粒酶复制稳定端粒发挥着重要的调控作用^[49]。Cox 等^[49]发现 SMARCAL1 参与端粒的 ALT 维持机制。在 ALT 细胞内, SMARCAL1 与端粒 DNA 结合, 协助停滞的 DNA 复制叉重启, 应对端粒 DNA 复制应激^[49]。而缺失 SMARCAL1 的 ALT 细胞则会出现端粒 DNA 复制困难, 表现为 DNA 复制叉持续停滞, 并最终形成 DSBs, 表现出高强度染色体融合(图 3)^[49]。与此同时, SMARCAL1 缺失会影响端粒的长度异质性, 推测与 ALT 细胞中 SMARCAL1 水平过低催生了更多的 C-环有关^[49]。

此外, Poole 等^[50]发现 SMARCAL1 在端粒处发挥作用时无需 RPA 协助, 因为端粒部位重复 DNA 序列更倾向于形成 G-四链体等非 B 型 DNA 二级结构, 而 G-四链体本身就可有效招募 SMARCAL1。但是, 当 SMARCAL1 与 DNA 复制叉内的前导链模板结合时则需要 RPA 激活^[33,50]。

1.3 SMARCAL1 与 DNA 双链断裂修复

真核细胞内与 DNA DSBs 修复有关的机制有两

类, 一类是依赖 DNA 同源性的同源重组修复(homologous recombination, HR), 一类则是不严格依赖 DNA 同源性(无需模板)的非同源末端连接(NHEJ)^[51]。HR 常用于细胞周期的 S、G₂ 等时相, 而 NHEJ 则可用于整个细胞周期, 特别当细胞处于 G₀/G₁ 和 S 期早期, 由于缺乏“同源染色体”, NHEJ 对 DSBs 修复起着关键的作用^[52~54]。

Keka 等^[55]发现 SMARCAL1 参与 G₁ 期 DSBs 的 NHEJ 修复过程。SMARCAL1 的退火解旋酶活性可以协助 DNA 末端结合蛋白 Ku70/80 “获取”双链 DNA 末端, 有利于进一步依序招募参与 NHEJ 修复的蛋白因子, 以完成 NHEJ 或 MMEJ(小同源末端连接, microhomology-mediated end-joining, MMEJ)在 G₁ 时相对 DNA DSBs 修复。在此过程中, SMARCAL1 的 ATP 依赖的退火能力可能避免了 RPA 在 DSB 末端与 ssDNA 结合, 因此促进 Ku70/Ku80/DNA-PKcs 复合体对 DNA 双链末端识别、结合和保护, 为后续 XRCC4 和 DNA 连接酶 IV 在断裂末端的积聚提供便利, 从而提供了 NHEJ 修复的精确度^[55~60](图 4)。

SMARCAL1 在 Ku70/Ku80/DNA-PKcs 聚积的 DNA 末端协助 Mre11、RAD50、Nbs1 组装成 MRN

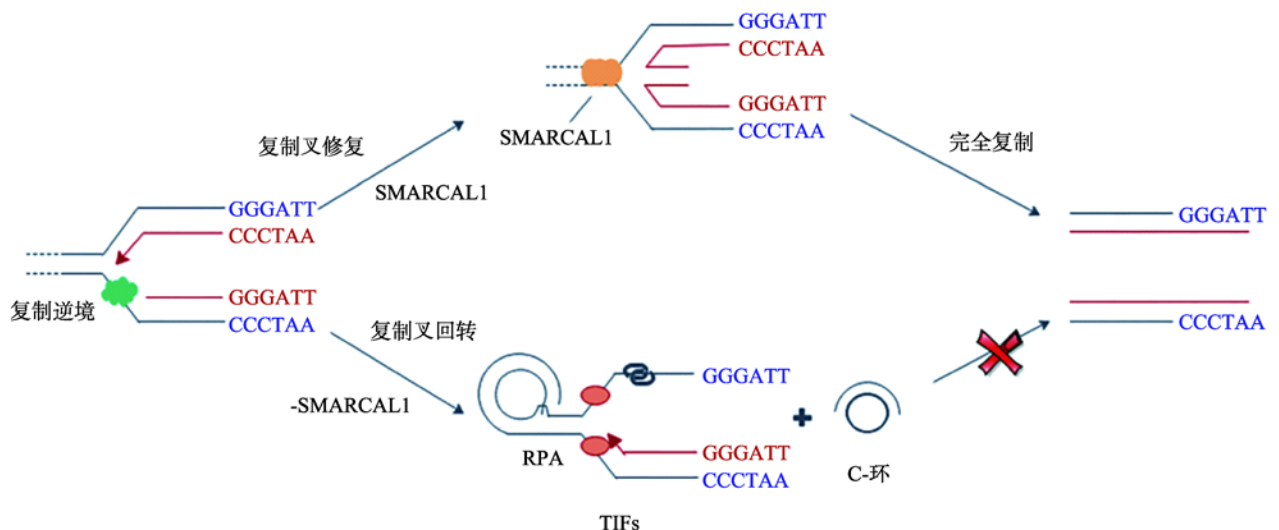


图 3 SMARCAL1 在维持端粒稳定中的作用

Fig. 3 The role of SMARCAL1 in telomere maintenance

ALT 细胞内的染色体端粒易出现复制逆境, SMARCAL1 帮助重塑端粒 DNA 上停滞的复制叉, 确保端粒序列的完全复制^[46,47]。在 SMARCAL1 缺陷的情况下, ALT 端粒上持续停滞的复制叉会催生 DNA 双链断裂, 出现端粒 DNA 复制障碍及形成 C-环, 此时, 染色体易融合, 造成基因组不稳定^[49,50]。

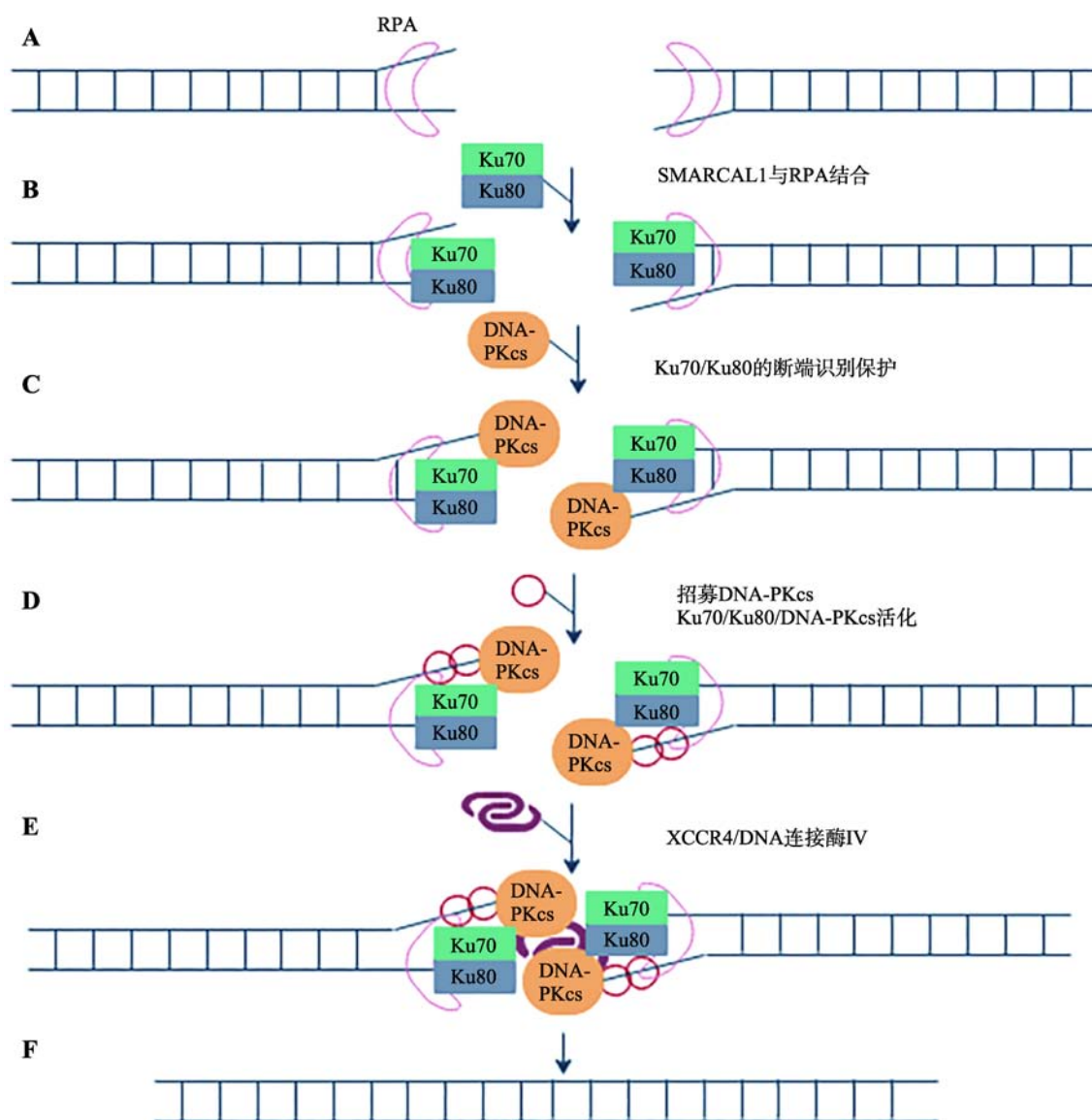


图 4 SMARCAL1 在 NHEJ 修复 DNA 双链断裂中的可能作用

Fig. 4 Possible role of SMARCAL1 in DNA double-strand break repair using a NHEJ

A: DSB 形成后, RPA 识别并结合 DNA 断端, 之后, 招募 SMARCAL1。SMARCAL1 的退火解旋酶活性保证 DSB 断口 DNA 呈双链状态; B: Ku70/Ku80 组成的异源二聚体与 DNA 末端结合; C: DNA-Ku 复合体招募 DNA-PKcs, 形成 Ku70/Ku80/DNA-PKcs 复合体; D: SMARCAL1 促进 Ku70/Ku80/DNA-PKcs 复合体稳定结合在 DSB 端口, 并激活 DNA-PKcs。DNA-PKcs 对包括自身在内的蛋白进行磷酸化修饰; E: DSB 断端的 SMARCAL1 促进 Ku70/Ku80/DNA-PKcs 复合体招募 DNA 连接酶 IV 和 XRCC4 复合体, 进一步形成 Ku70/Ku80/DNA-PKcs/XRCC4/DNA 连接酶 IV 修复复合体; F: 含有连接酶的复合体完成两个 DNA 断端的连接^[55-64]。

复合物(Mre11-RAD50-Nbs1)^[65,66]。具体过程如下: DSB 信号被 ATM “捕获”, ATM 将 H2AX 磷酸化成 γ -H2AX。 γ -H2AX 与 Nbs1 作用进一步促进 RAD50 和 Mre11 在 DSB 断端处形成 MRN 复合体(RAD50-Mre11-Nbs1, MRN)^[67-69]。其中, RAD50 二聚体上的 ATP 酶(Walker A 和 Walker B)负责与 DSB 两个末端

结合, 避免末端错位或漂移。Nbs1 则协助 SMARCAL1 退火可被 NHEJ 修复的 DNA 断端, 使之保持双链状态, 并由 RAD50 的绞链区将两个断端“固定”^[70]。

此外, SMARCAL1 也和 RAD50 一起参与阻止复制叉反转, 通过调节 Mre11 的核酸酶活性, 防止

Mre11 过度降解新生 DNA 区段^[71]。

1.4 SMARCAL1 与基因转录

SMARCAL1 作为 SWI/SNF 家族(负责催化核小体重塑)中的成员同时拥有解旋酶(helicase)和 ATPase 活性, 因此有可能参与某些基因转录过程中的核小体重塑。当前研究较多的是 SMARCAL1 对 *c-myc* 基因转录的调节。*c-myc* 编码一种亮氨酸拉链蛋白, 参与人类基因组中 5%~15% 的基因的转录, 在细胞增殖、分化、生长和凋亡中发挥重要作用^[72~74]。SMARCAL1 作为辅因子参与 *c-myc* 基因的转录^[72~74]。Heravi 等^[75]发现 SMARCAL1 通过 ATP 依赖性方式改变 DNA 结构, 调节 *c-myc* 的转录^[75]。Tapan 等^[76]发现 SMARCAL1 是 *c-myc* 转录的负调控因子。通过与激活蛋白 BRG1 和 RNA 聚合酶 (RNAP) “争夺” *c-myc* 基因 P1 启动子上游的一段富含 GC 碱基的 159 bp DNA 区域(*Myc-B159*), 当激活蛋白 BRG1 和 RNAP 占据 *myc-B159* 时, *c-myc* 基因转录; 当该区域被 SMARCAL1 占据时, *c-myc* 基因关闭^[76]。SMARCAL1 与 *myc-B159* 结合后使得相应部位的染色质结构更难与 BRG1 和 RNAP 结合, 故可抑制 *c-myc* 的转录^[76]。

2 SMARCAL1 在三核苷酸重复序列扩增中的潜在作用

人基因组中特定基因部位处的三核苷酸重复序列(CAG)_n·(CTG)_n 的“动态”扩增与多种遗传性脊髓-小脑共济失调、亨廷顿疾病、阿尔兹海默综合征等神经-肌肉系统退行性病变的发生密切相关^[77~79]。已有的研究表明, (CAG)_n 重复序列的扩增与 DNA 剪切修复过程中产生的单链 DNA 错误、DNA 复制过程中出现 DNA 链断裂、DNA 复制过程中新生链和模板链间发生“滑动”、链转换(strand switching)、蛋白质与重复 DNA 序列结合等许多因素有关。上述过程可能起因于(CAG)_n 重复 DNA 形成的含错配碱基对的 DNA 发卡结构, DNA 发卡结构可能会直接干扰 DNA 复制、修复和重组。不仅如此, 在基因转录过程中(CAG)_n 三核苷酸重复序列一旦形成 R 环结构(DNA 杂交体与非模板链形成)也可影

响 DNA 复制叉的移动, 导致非模板链 DNA 断裂, 甚至可被用于 DNA 重新复制的引物^[77~79]。本实验室已有的研究表明, *Smarcal1* 基因的正本基因 *recG* (*ΔrecG*) 功能丧失的大肠杆菌细胞内, 疾病相关的(CAG)_n·(CTG)_n 序列呈特异性扩增(待发表)。鉴于 SMARCAL1 在催化 DNA 复制叉重塑及避免 DNA 复制叉崩解的过程中与 RecG 功能一致, 推测出现在人类患者细胞内的(CAG)_n·(CTG)_n 序列扩增有可能与 DNA 复制叉重塑和 DNA 复制重起始失败有关(图 5A), 或出现在(CAG)_n 重复序列内的 R 环结构影响了 DNA 复制, 并在 RecG/SMARCAL1 功能异常的情况下诱生 DNA 链重排或造成该处 DNA 局部额外复制^[77~79](图 5B)。最近, 类似图 5A 的工作机制已被 Kononenko 等^[80]的工作证实。他们利用小鼠幼红细胞白血病细胞系验证了可导致人脆性 X 染色体综合征(马丁-贝尔综合征)的三核苷酸重复序列(CGG)_n 的扩增不稳定与 SMARCAL1 所具有的功能直接有关^[80]。但是, 目前尚无有工作表明 SMARCAL1 自身是否具有类似于 RecG 的 RNA 解旋酶活性与其他 RNA 解旋酶一起参与 RNA 转录, 故图 5B 所描述的机制依然有待进一步检验。

为了阐释长期困扰国际医学界的亨廷顿疾病、阿尔兹海默综合征和多种遗传性脊髓-小脑共济失调综合征等发病过程中出现的(CAG)_n 扩增的原因, 以及明确其他与三核苷酸重复序列失稳定引发的人类神经-肌肉退行性病变的病理机制, 当前亟需深入分析 SMARCAL1 在包括(CAG)_n 重复序列在内的三核苷酸重复序列稳定维护过程中可能发挥的作用^[77~79]。

3 SMARCAL1 的基因突变型与 SIOD 的症状关联

世界范围内 SIOD 的发病率约为 1/300 万~1/100 万^[8,9,81,82]。导致 SIOD 发生的 *Smarcal1* 基因突变为双等位基因功能缺失、错义突变、插入/缺失(insertion and deletion, Ins/Del)、大片段缺失以及 SMARCAL1 mRNA 拼接错误(表 1)^[9,83]。上述基因改变常出现在 SMARCAL1 的 RecA 样结构域 I 中(图 1), 由于突变影响了 SMARCAL1 的 ATP 酶活性, 故常

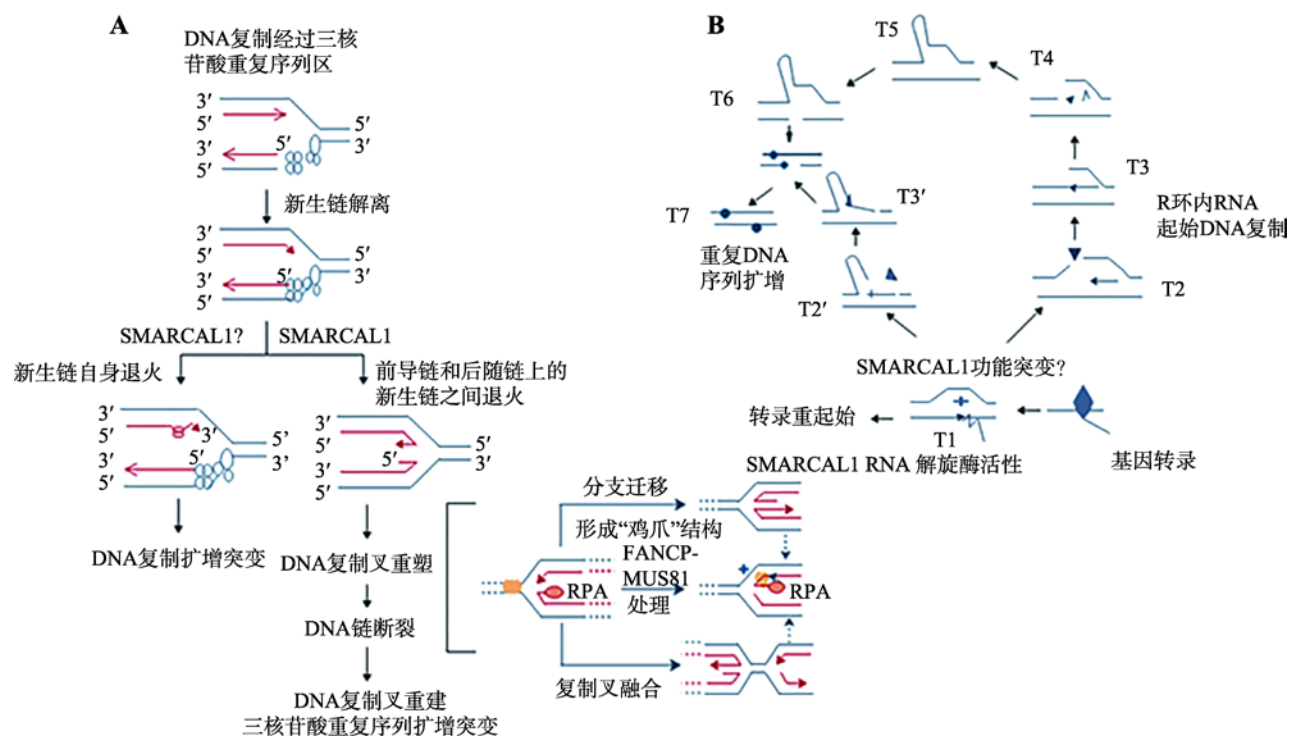


图 5 SMARCAL1 及其可能的突变体基因在三核苷酸重复序列稳定维护中的潜在作用

Fig. 5 Possible roles of SMARCAL1 and its mutants in the stable maintenance of triplet repeats

A :SMARCAL1 参与三核苷酸重复序列部位处 DNA 复制叉的重塑。根据参考文献^[80]修改绘制 ;B :SMARCAL1 自身或引导其他 RNA 解旋酶清除在三核苷酸重复序列转录过程中形成的 R-环结构^[77-79]。

见疾病的严重程度与突变体 SMARCAL1 所表现出的 ATP 酶活性成反比^[82]。SMARCAL1 等位基因缺失、无义或移码突变常见于重症患者。重症 SIOD 患者的症状在孕期外显，表现为胎儿生长迟缓、甲状腺功能减退症、骨髓衰竭、短暂性脑缺血发作、中风和肾衰竭等，一般死于 5 岁前。SMARCAL1 等位基因错义突变患者症状较轻，多数发病较晚，常见 8~13 岁以后发病，数年后进展至肾衰^[84,85](表 1)。

表 1 Smarcal1 基因突变型与 SIOD 的症状关联

Table 1 The correlations of Smarcal1 mutations and the symptoms of SIOD patients

突变位点	突变类型	功能	症状	参考文献
c.1129G > C, p. E377Q	错义突变	SNP 和非致病突变	无	[86]
c.1933C > T, p. R645C		ATP 酶活性缺失和 解旋酶活性缺失	T 细胞免疫缺陷、肾功能衰竭和生长 迟缓	
c.1334+1G > A	剪切突变	非致病突变	无	
c.2142-1G > A				
NM_014140.3 : c.2070p2insT	mRNA 剪切突变	非致病突变	无	[20]
p.[M288_D366del]+[M288_D366del]	双等位基因突变	缺乏解旋酶活性	生长迟缓、全血细胞减少症、短暂性 脑缺血和肾病综合征	[12]
p.[E377Q]+[I755fsX2]	双等位基因突变	缺乏解旋酶活性	T 细胞免疫缺陷、FSGS 和生长迟缓	
p.[Y342X]+[I755S]	双等位基因突变	缺乏解旋酶活性	生长迟缓、全血细胞减少症、反复感 染和肾病综合征	
c.445C>T(p.Q149X)	无义突变	导致氨基酸的改变	生长迟缓、蛋白尿和 T 细胞免疫缺陷	[87]

续表

突变位点	突变类型	功能	症状	参考文献
p.R817H	错义突变	缺乏解旋酶活性	生长迟缓、T 细胞免疫缺陷和肾功能不全	[88]
c.1615C> G(p.[Leu539Val])	错义突变	缺乏解旋酶活性	生长迟缓、FSGS、肾衰竭和 T 细胞免疫缺陷	[89]
p. R247P	错义突变	退火酶活性	甲状腺功能不全、骨骼发育不良和蛋白尿	[90]
p. E848*	无义突变	退火酶活性		
p.L397fsX40	移码突变	退火酶活性	FSGS、T 细胞免疫缺陷、生长发育不良和鼻窦癌	[91]
p.S859P	错义突变	ATP 酶活性		
c.3G> A(p.M1 ?)	剪切突变	与 RPA 相互作用	生长迟缓、复发感染和中性粒细胞增多症、FSGS , T 细胞免疫缺陷和严重腕骨骨质衰老	[92]
c.1682G> A(p. R561H)	错义突变	ATP 酶活性		
R561C	错义突变	ATP 酶活性	T 细胞免疫缺陷、面部畸形、肾病综合征和 FSGS	[93]
c.2542G> T, p.E848x	无义突变	退火酶活性	生长迟缓和慢性肾功能衰竭	[94]
c.1934G> A, p.R645H	错义突变	ATP 酶活性		
IVS4-2A>G	剪接突变	非致病突变	肾脏畸形、生长迟缓和 T 细胞免疫缺陷	[14]
1136A> C, H379P	无义突变	非致病突变	生长迟缓、肾衰、FSGS 和 T 细胞免疫缺陷	[95]
836T> C, F279S	错义突变	ATP 酶活性		
1-BP INS,1849C	插入		生长迟缓和面部畸形	[96]
1-BP DEL.2161C	缺失			
R586W	错义突变	ATP 酶活性	生长迟缓、蛋白尿和 T 细胞免疫缺陷	[97]
R644W	错义突变	ATP 酶活性	生长迟缓、FSGS、肾衰竭和 T 细胞免疫缺陷	
R645C	错义突变	ATP 酶活性	生长迟缓、蛋白尿和 T 细胞免疫缺陷	
R764Q	错义突变	ATP 酶活性	生长迟缓、FSGS、肾衰竭和 T 细胞免疫缺陷	
c.797-798delCC	微缺失突变	解旋酶活性	骨骼发育不良、蛋白尿和肾病综合征	[81]
IVSA7+1G > 7	剪切突变	ATP 酶活性		
A468P	错义突变	ATP 酶活性	生长迟缓、蛋白尿和 T 细胞免疫缺陷	[83]
I548N	错义突变	ATP 酶活性		
S579L	错义突变	ATP 酶活性		

“ ? ” 核苷酸或氨基酸突变的位置待确认。

SIOD 的共有临床症状是 T 细胞免疫缺陷。在淋巴细胞发育过程中，编码免疫球蛋白和 T 细胞受体抗原结合域的功能基因需要经过与 NHEJ 类似的 V(D)J 重组才能形成^[98,99]。与 NHEJ 类似，V(D)J 重排也需产生 DNA 双链断裂，并由 NHEJ 机制完成断链末端的连接^[98,99]。而突变体 SMARCAL1 常影响

NHEJ 在 V(D)J 重排重组的连接效率，这可能是 SIOD 患者常见 T 细胞免疫缺陷的原因之一^[96,100]。此外，突变体 SMARCAL1 有可能通过影响 *c-myc* 基因表达进一步影响 SIOD 的征候。研究发现成年小鼠的肾脏和脑组织中，*c-myc* 不表达而 *Smarcal1* 高表达^[13,101]。暗示 SIOD 患者表现出的肾功能不全

和脑发育受损可能与 SMARCAL1 突变体不能正确调节 *c-myc* 表达有关^[19]。Tapan 等^[76]发现 SIOD 患者的染色质也会出现异常, 这种情况暗示 SMARCAL1 可能依然具有染色质重塑活性。可能由于 trxG 和 PcG 的复合体诱导组蛋白的翻译后修饰, 影响染色体的结构。而 SMARCAL1 通过结合染色质直接影响基因表达。

4 结语与展望

目前, DNA 退火酶 SMARCAL1 的功能异常与 SIOD 之间的关联已经得到了明确, 但 SIOD 患者所能表现的症候差异与不同 *Smarcal1* 基因突变型的对应关系的细节依然处于不断更新状态。由于临床上 SIOD 症状可累及人体多个系统, 轻重患者之间的临床表现并不尽然一致, 也很难呈现一种症状的渐进发展特征, 暗示 *Smarcal1* 基因突变可能依附携带突变的组织和器官, 一种可能的情形是 *Smarcal1* 基因突变对不同组织细胞内的染色质结构、基因转录、DNA 损伤修复依细胞类型不同而具有差异。因此, 目前亟需对有关 *Smarcal1* 基因表达的组织特异性机制加深了解。在鉴定出的分子机制方面, SMARCAL1 的退火酶活性在复制叉重塑过程中的作用已被体外实验证实, 但尚缺乏体内实验证据的支持。不仅如此, *Smarcal1* 不同突变型对其活性的影响呈现多样性(表 1), 如何关联 SIOD 症状也需要进一步积累体内实验数据。近年来本实验室对 SMARCAL1 的原核生物功能类似物 DNA 解旋酶 RecG 的研究发现, RecG 缺陷突变后的大肠杆菌细胞容许与亨廷顿疾病、阿尔兹海默综合症以及多种遗传型小脑-脊髓共济失调在内的 40 多种神经-肌肉系统退行性疾病直接有关的三核苷酸重复序列 CAG 出现特异性扩增, 类似的情形是否也有可能出现在携带某些 *Smarcal1* 突变类型的患者体内需要给予重视。当前关于 SMARCAL1 分子机制的研究主要集中于其对 DNA 复制叉重塑、DNA 双链断裂损伤修复及端粒完整性维持等方面。作为 SWI/SNF 相关、基质相关和激动蛋白依赖的染色质调节因子家族成员的 SMARCAL1 在染色质重塑、组蛋白修饰编码(histone code)方面是否依然具有作用尚缺乏更多了解。

综上所述, 深入开展 *Smarcal1* 基因及其突变型的分子遗传学和 SMARCAL1 蛋白的体内分子生物学研究将不仅有助于系统理解 SIOD 发病机制, 而且对破解长期困扰人类健康的 40 余种进行性神经-肌肉系统退行性疾病的致病原因提供借鉴和参考。

参考文献(References):

- [1] Pan XF ed. The Molecular Biology of Gene and Diseases. Beijing: Chemical Industry Press, 2014, 1–450.
潘学峰. 基因疾病的分子生物学. 北京: 化学工业出版社, 2014, 1–450. [DOI]
- [2] Pan XF, Xiao P, Li HQ, Zhao DX, Duan F. The gratuitous repair on undamaged DNA misfold, *DNA Repair*, 2011: 401–430. [DOI]
- [3] Poole LA, Cortez D. Functions of SMARCAL1, ZRANB3, and HLTf in maintaining genome stability. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, 52(6): 696–714. [DOI]
- [4] Bansal R, Arya V, Sethy R, Rakesh R, Muthuswami R. RecA-like domain 2 of DNA-dependent ATPase A domain, a SWI2/SNF2 protein, mediates conformational integrity and ATP hydrolysis. *Biosci Rep*, 2018, 38(3): BSR20180568. [DOI]
- [5] Bansbach CE, Bétous R, Lovejoy CA, Glick GG, Cortez D. The annealing helicase SMARCAL1 maintains genome integrity at stalled replication forks. *Genes Dev*, 2009, 23(20): 2405–2414. [DOI]
- [6] Bétous R, Mason AC, Rambo RP, Bansbach CE, Badu-Nkansah A, Sirbu BM, Cortez D. SMARCAL1 catalyzes fork regression and Holliday junction migration to maintain genome stability during DNA replication. *Genes Dev*, 2012, 26(2): 151–162. [DOI]
- [7] Lugli N, Sotiriou SK, Halazonetis TD. The role of SMARCAL1 in replication fork stability and telomere maintenance. *DNA Repair*, 2017, 56: 129–134. [DOI]
- [8] Severino M, Giacomini T, Verrina E, Prato G, Rossi A. Reversible cerebral vasoconstriction complicating cerebral atherosclerotic vascular disease in Schimke immunosseous dysplasia. *Neuroradiology*, 2018, 60(9): 885–888. [DOI]
- [9] Driscoll R, Cimprich KA. HARPing on about the DNA damage response during replication. *Genes Dev*, 2009, 23(20): 2359–2365. [DOI]
- [10] Kakar S, Fang X, Lubkowska L, Zhou YN, Shaw GX, Wang YX, Kashlev M, Ji X. Allosteric activation of

- bacterial Swi2/Snf2 (Switch/Sucrose non-fermentable) protein RapA by RNA polymerase: biochemical and structural studies. *J Biol Chem*, 2015, 290(39): 23656–23669. [DOI]
- [11] Hargreaves DC, Crabtree GR. ATP-dependent chromatin remodeling: genetics, genomics and mechanisms. *Cell Res*, 2011, 21(3): 396–420. [DOI]
- [12] Morimoto M. Characterization of the disease pathogenesis of Schimke immuno-osseous dysplasia. *University Of British Columbia*, 2016: 27–46. [DOI]
- [13] Baradaran-Heravi A, Raams A, Lubieniecka J, Cho KS, DeHaai KA, Basiratnia M, Mari PO, Xue Y, Rauth M, Olney AH, Shago M, Choi K, Weksberg RA, Nowaczyk MJ, Wang W, Jaspers NG, Boerkoel CF. SMARCA1 deficiency predisposes to non-Hodgkin lymphoma and hypersensitivity to genotoxic agents *in vivo*. *Am J Med Genet A*, 2012, 158A(9): 2204–2213. [DOI]
- [14] Dekel B, Metsuyanin S, Goldstein N, Pode-Shakked N, Kovalski Y, Cohen Y, Davidovits M, Anikster Y. Schimke immuno-osseous dysplasia: expression of SMARCA1 in blood and kidney provides novel insight into disease phenotype. *Pediatr Res*, 2008, 63(4): 398–403. [DOI]
- [15] Haokip, Thangminlen D, Kumari. Human SMARCA1-a member of the SWI2/SNF2 family-is required for cell division. *Faseb J*, 2011, 25(12): 3515–3524. [DOI]
- [16] Elizondo LI, Cho KS, Zhang W, Yan J, Huang C, Huang Y, Choi K, Sloan EA, Deguchi K, Lou S, Baradaran-Heravi A, Takashima H, Lücke T, Quiocho FA, Boerkoel CF. Schimke immuno-osseous dysplasia: SMARCA1 loss-of-function and phenotypic correlation. *J Med Genet*, 2009, 46(1): 49–59. [DOI]
- [17] Patne K, Rakesh R, Arya V, Chanana UB, Sethy R, Swer PB, Muthuswami R. BRG1 and SMARCA1 transcriptionally co-regulate DROSHA, DGCR8 and DICER in response to doxorubicin-induced DNA damage. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2017, 1860(9): 936–951. [DOI]
- [18] Baradaran-Heravi A, Lange J, Asakura Y, Cochat P, Massella L, Boerkoel CF. Bone marrow transplantation in Schimke immuno-osseous dysplasia. *Am J Med Genet A*, 2013, 161A(10): 2609–2613. [DOI]
- [19] Zhang L, Fan S, Liu H, Huang C. Targeting SMARCA1 as a novel strategy for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 427(2): 232–235. [DOI]
- [20] Carroll C, Hunley TE, Guo Y, Cortez D. A novel splice site mutation in SMARCA1 results in aberrant exon definition in a child with schimke immunoosseous dysplasia. *Am J Med Genet A*, 2015, 167A(10): 2260–2264. [DOI]
- [21] Prato G, Grandis ED, Mancardi MM, Croci C, Pisciotta D, Uccella S, Costanzo C, Severino S, Tortora D, Pavanello M, Venesellidovits E. Schimke Immuno-osseous dysplasia: a peculiar EEG pattern. *Neuropediatrics*, 2018, 49(S 01): S1–S12. [DOI]
- [22] Yusufzai T, Kadonaga JT. HARP is an ATP-driven annealing helicase. *Science*, 2008, 322(5902): 748–750. [DOI]
- [23] Ghosal G, Yuan J, Chen J. The HARP domain dictates the annealing helicase activity of HARP/SMARCA1. *EMBO Rep*, 2011, 12(6): 574–580. [DOI]
- [24] Ciccio A, Bredemeyer AL, Sowa ME, Terret ME, Jallepalli PV, Harper JW, Elledge SJ. The SIOD disorder protein SMARCA1 is an RPA-interacting protein involved in replication fork restart. *Genes Dev*, 2009, 23(20): 2415–2425. [DOI]
- [25] Hauk G, Bowman GD. Structural insights into regulation and action of SWI2/SNF2 ATPases. *Curr Opin Struct Biol*, 2011, 21(6): 719–727. [DOI]
- [26] Aydin ÖZ, Vermeulen W, Lans H. ISWI chromatin remodeling complexes in the DNA damage response. *Cell Cycle*, 2014, 13(19): 3016–3025. [DOI]
- [27] Kohashi K, Yamamoto H, Yamada Y, Kinoshita I, Taguchi T, Iwamoto Y, Oda Y. SWI/SNF Chromatin-remodeling Complex Status in SMARCB1/INI1-preserved Epithelioid Sarcoma. *Am J Surg Pathol*, 2018, 42(3): 312–318. [DOI]
- [28] Han JJ, Song ZT, Sun JL, Yang ZT, Xian MJ, Wang S, Sun L, Liu JX. Chromatin remodeling factor CHR18 interacts with replication protein RPA1A to regulate the DNA replication stress response in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 2018, 220(2): 476–487. [DOI]
- [29] Bétous R, Couch FB, Mason AC, Eichman BF, Manosas M, Cortez D. Substrate-selective repair and restart of replication forks by DNA translocases. *Cell Rep*, 2013, 3(6): 1958–1969. [DOI]
- [30] 芦广庆, 段金志, 张昱. 哺乳动物 DNA 连接酶在 DNA 双链断裂修复通路中的作用. *遗传*, 2016, 38(2): 178–179. [DOI]
- [31] Maréchal A, Zou L. RPA-coated single-stranded DNA as a platform for post-translational modifications in the DNA damage response. *Cell Res*, 2015, 25(1): 9–23. [DOI]
- [32] Holsclaw JK, Sekelsky J. Annealing of complementary DNA sequences during Double-Strand Break repair in

- Drosophila* is mediated by the ortholog of SMARCAL1. *Genetics*, 2017, 206(1): 467–480. [DOI]
- [33] Bhat KP, Bétous R, Cortez D. High-affinity DNA-binding domains of replication protein A (RPA) direct SMARCAL1-dependent replication fork remodeling. *J Biol Chem*, 2015, 290(7): 4110–4117. [DOI]
- [34] Oakley GG, Patrick SM. Replication protein A: directing traffic at the intersection of replication and repair. *Front Biosci*, 2010, 15: 883–900. [DOI]
- [35] Xie S, Lu Y, Jakoncic J, Sun H, Xia J, Qian C. Structure of RPA32 bound to the N-terminus of SMARCAL1 redefines the binding interface between RPA32 and its interacting proteins. *FEBS J*, 2014, 281(15): 3382–3396. [DOI]
- [36] Sotiriou SK, Kamileri I, Lugli N, Evangelou K, Da-Ré C, Huber F, Padayachy L, Tardy S, Nicati NL, Barriot S, Ochs F, Lukas C, Lukas J, Gorgoulis VG, Scapozza L, Halazonetis TD. Mammalian RAD52 functions in break-induced replication repair of collapsed DNA replication Forks. *Mol Cell*, 2016, 64(6): 1127–1134. [DOI]
- [37] Feldkamp MD, Mason AC, Eichman BF, Chazin WJ. Structural analysis of replication protein A recruitment of the DNA damage response protein SMARCAL1. *Biochemistry*, 2014, 53(18): 3052–3061. [DOI]
- [38] Lovejoy CA, Cortez D. Common mechanisms of PIKK regulation. *DNA Repair*, 2009, 8(9): 1004–1008. [DOI]
- [39] Couch FB, Bansbach CE, Driscoll R, Luzwick JW, Glick GG, Bétous R, Carroll CM, Jung SY, Qin J, Cimprich KA, Cortez D. ATR phosphorylates SMARCAL1 to prevent replication fork collapse. *Genes Dev*, 2013, 27(14): 1610–1623. [DOI]
- [40] Bétous R, Glick GG, Zhao R, Cortez D. Identification and characterization of SMARCAL1 protein complexes. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63149. [DOI]
- [41] Atkinson J, McGlynn P. Replication fork reversal and the maintenance of genome stability. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(11): 3475–3492. [DOI]
- [42] Neelsen KJ, Lopes M. Replication fork reversal in eukaryotes: from dead end to dynamic response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(4): 207–220. [DOI]
- [43] Margalef P, Kotsantis P, Borel V, Bellelli R, Panier S, Boulton S J. Stabilization of reversed replication forks by telomerase drives telomere catastrophe. *Cell*, 2018, 172(3): 439–453. [DOI]
- [44] Bianco PR, Lyubchenko YL. SSB and the RecG DNA helicase: an intimate association to rescue a stalled replication fork. *Protein Sci*, 2017, 26(4): 638–649. [DOI]
- [45] Wu XM, Tang WR, Luo Y. ALT-Alternative lengthening of telomere. *Hereditas(Beijing)*, 2009, 31(12): 1185–1191.
- 吴晓明, 唐文如, 罗瑛. ALT-端粒延长替代机制. 遗传, 2009, 31(12): 1185–1191. [DOI]
- [46] Ying SY, Xiong JX, Mai HX, Lin JJ, Jiang LN, Cheng L, Ye QN. Advances on the regulation of telomerase. *Hereditas(Beijing)*, 2016, 38(4): 289–299.
- 营孙阳, 熊加秀, 麦洪旭, 林佳佳, 姜丽娜, 程龙, 叶棋浓. 端粒酶调控研究进展. 遗传, 2016, 38(4): 289–299. [DOI]
- [47] Sfeir A, Kosiyatrakul ST, Hockemeyer D, MacRae SL, Karlseder J, Schildkraut CL, de Lange T. Mammalian telomeres resemble fragile sites and require TRF1 for efficient replication. *Cell*, 2009, 138(1): 90–103. [DOI]
- [48] Sobinoff AP, Pickett HA. Alternative lengthening of telomeres: DNA repair pathways converge. *Trends Gene*, 2017, 33(12): 921–932. [DOI]
- [49] Cox KE, Maréchal A, Flynn RL. SMARCAL1 resolves replication stress at ALT telomeres. *Cell Rep*, 2016, 14(5): 1032–1040. [DOI]
- [50] Poole LA, Cortez D. SMARCAL1 and telomeres: replicating the troublesome ends. *Nucleus*, 2016, 7(3): 270–274. [DOI]
- [51] Pannunzio NR, Watanabe G, Lieber MR. Nonhomologous DNA end-joining for repair of DNA double-strand breaks. *J Biol Chem*, 2018, 293(27): 10512–10523. [DOI]
- [52] Orthwein A, Fradet-Turcotte A, Noordermeer SM, Canny MD, Brun CM, Strecker J, Escribano-Diaz C, Durocher D. Mitosis inhibits DNA double-strand break repair to guard against telomere fusions. *Science*, 2014, 344(6180): 189–193. [DOI]
- [53] Sims J, Copenhaver GP, Schloegelhofer P. Meiotic DNA repair in the nucleolus employs a non-homologous end joining mechanism. *Plant Cell*, doi: https://doi.org/10.1101/553529. [DOI]
- [54] Lu HM, Shamanna RA, de Freitas JK, Okur M, Khadka P, Kulikowicz T, Holland PP, Tian J, Croteau DL, Davis AJ, Bohr VA. Cell cycle-dependent phosphorylation regulates RECQL4 pathway choice and ubiquitination in DNA double-strand break repair. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 2039. [DOI]
- [55] Keka IS, Mohiuddin, Maede Y, Rahman MM, Sakuma T, Honma M, Yamamoto T, Takeda S, Sasanuma H. Smarcal1 promotes double-strand-break repair by nonho-

- mologous end-joining. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(13): 6359–6372. [DOI]
- [56] Mimitou EP, Symington LS. Ku prevents Exo1 and Sgs1-dependent resection of DNA ends in the absence of a functional MRX complex or Sae2. *Embo J*, 2010, 29(19): 3358–3369. [DOI]
- [57] Ling AK, So CC, Le MX, Chen AY, Hung L, Martin A. Double-stranded DNA break polarity skews repair pathway choice during intrachromosomal and interchromosomal recombination. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(11): 2800–2805. [DOI]
- [58] Jette N, Lees-Miller SP. The DNA-dependent protein kinase: A multifunctional protein kinase with roles in DNA double strand break repair and mitosis. *Prog Biophys Mol Biol*, 2015, 117(2–3): 194–205. [DOI]
- [59] Chang HHY, Pannunzio NR, Adachi N, Lieber MR. Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(8): 495–506. [DOI]
- [60] Hammel M, Yu Y, Radhakrishnan SK, Chokshi C, Tsai MS, Matsumoto Y, Kuzdovich M, Remesh SG, Fang S, Tomkinson AE, Lees-Miller SP, Tainer JA. An intrinsically disordered APLF links Ku, DNA-PKcs, and XRCC4-DNA ligase IV in an extended flexible non-homologous end joining complex. *J Biol Chem*, 2016, 291(53): 26987–27006. [DOI]
- [61] Hinde E, Kong X, Yokomori K, Gratton E. Chromatin dynamics during DNA repair revealed by pair correlation analysis of molecular flow in the nucleus. *Biophys J*, 2014, 107(1): 55–65. [DOI]
- [62] Sibanda BL, Chirgadze DY, Ascher DB, Blundell TL. DNA-PKcs structure suggests an allosteric mechanism modulating DNA double-strand break repair. *Science*, 2017, 355(6324): 520–524. [DOI]
- [63] Ma Y, Pannicke U, Lu H, Niewolik D, Schwarz K, Lieber MR. The DNA-dependent protein kinase catalytic subunit phosphorylation sites in human Artemis. *J Biol Chem*, 2005, 280(40): 33839–33846. [DOI]
- [64] Zhou Y, Caron P, Legube G, Paull TT. Quantitation of DNA double-strand break resection intermediates in human cells. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(3): e19. [DOI]
- [65] Yin X, Liu M, Tian Y, Wang J, Xu Y. Cryo-EM structure of human DNA-PK holoenzyme. *Cell Res*, 2017, 27(11): 1341–1350. [DOI]
- [66] Hiom K. Coping with DNA double strand breaks. *DNA Repair*, 2010, 9(12): 1256–1263. [DOI]
- [67] Shibata A, Moiani D, Arvai AS, Perry J, Harding SM, Genois MM, Maity R, van Rossum-Fikkert S, Kertokallio A, Romoli F, Ismail A, Ismailaj E, Petricci E, Neale MJ, Bristow RG, Masson JY, Wyman C, Jeggo PA, Tainer JA. DNA double-strand break repair pathway choice is directed by distinct MRE11 nuclease activities. *Mol Cell*, 2014, 53(1): 7–18. [DOI]
- [68] Casari E, Rinaldi C, Marsella A, Gnugnoli M, Colombo CV, Bonetti D, Longhese MP. Processing of DNA double-strand breaks by the MRX complex in a chromatin context. *Front Mol Biosci*, 2019, 6: 43. [DOI]
- [69] Korsholm LM, Gál Z, Lin L, Quevedo O, Ahmad DA, Dulina E, Luo YL, Bartek J, Larsen DH. Double-strand breaks in ribosomal RNA genes activate a distinct signaling and chromatin response to facilitate nucleolar restructuring and repair. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(15): 8019–8035. [DOI]
- [70] Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL, Olivi A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA Jr, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie SK, Shinjo SM, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*, 2008, 321(5897): 1807–1812. [DOI]
- [71] Kolinjivadi AM, Sannino V, De Antoni A, Zadorozhny K, Kilkenny M, Técher H, Baldi G, Shen R, Ciccio A, Pellegrini L, Krejci L, Costanzo V. Smarcal1-mediated fork reversal triggers Mre11-dependent degradation of nascent DNA in the absence of Brca2 and stable Rad51 nucleofilaments. *Mol Cell*, 2017, 67(5): 867–881. [DOI]
- [72] Levens DL. Reconstructing myc. *Genes Dev*, 2003, 17(9): 1071–1077. [DOI]
- [73] Barna M, Pusic A, Zollo O, Costa M, Kondrashov N, Rego E, Rao PH, Ruggero D. Suppression of Myc oncogenic activity by ribosomal protein haploinsufficiency. *Nature*, 2008, 456(7224): 971–975. [DOI]
- [74] Sutherland C, Cui YX, Mao HB, Hurley LH. A mechanosensor mechanism controls the G-quadruplex/i-motif molecular switch in the MYC promoter NHE III₁. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(42): 14138–14151. [DOI]
- [75] Baradaran-Heravi A, Cho KS, Tolhuis B, Sanyal M, Morozova O, Morimoto M, Elizondo LI, Bridgewater D, Lubieniecka J, Beirnes K, Myung C, Leung D, Fam HK, Choi K, Huang Y, Dionis KY, Zonana J, Keller K, Stenzel P, Mayfield C, Lücke T, Bokenkamp A, Marra

- MA, van Lohuizen M, Lewis DB, Shaw C, Boerkoel CF. Penetrance of biallelic SMARCAL1 mutations is associated with environmental and genetic disturbances of gene expression. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(11): 2572–2587. [DOI]
- [76] Sharma T, Bansal R, Haokip DT, Goel I, Muthuswami R. SMARCAL1 negatively regulates c-Myc transcription by altering the conformation of the promoter region. *Sci Rep*, 2015, 5: 17910. [DOI]
- [77] Pan XF. Mechanism of trinucleotide repeats instabilities: the necessities of repeat non-B secondary structure formation and the roles of cellular trans-acting factors. *Yi Chuan Xue Bao*, 2006, 33(1): 1–11. [DOI]
- [78] Pan XF, Jiang N, Chen XF, Zhou XH, Ding L, Duan F. R-loop structure: the formation and the effects on genomic stability. *Hereditas(Beijing)*, 2014, 36(12): 1185–1194.
潘学峰, 姜楠, 陈细芳, 周晓宏, 丁良, 段斐. R 环的形成及对基因组稳定性的影响. *遗传*, 2014, 36(12): 1185–1194. [DOI]
- [79] Wang XH, Pan XF, Li HQ. Advances in the studies of the expansion of (CAG) n·(CTG) n trinucleotide repeats and mechanisms underlying its related diseases. *Int J Genet*, 2016, 39(15): 274–281.
王希恒, 潘学峰, 李红权. (CAG)n·(CTG)n 三核苷酸重复序列扩增及相关疾病机制研究进展. *国际遗传学杂志*, 2016, 39(15): 274–281. [DOI]
- [80] Kononenko AV, Ebersole T, Vasquez KM, Mirkin SM. Mechanisms of genetic instability caused by (CGG)n repeats in an experimental mammalian system. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(8): 669–676. [DOI]
- [81] 王晓慧, 方方, 丁昌红, 黄昱, 王旭, 李楠. Schimke 免疫-骨发育不良一例. *中华儿科杂志*, 2015, 53(8): 631–632. [DOI]
- [82] Lücke T, Franke D, Clewing JM, Boerkoel CF, Ehrich JH, Das AM, Zivicnjak M. Schimke versus non-Schimke chronic kidney disease: an anthropometric approach. *Pediatrics*, 2006, 118(2): e400–407. [DOI]
- [83] Gupta M, Mazumder M, Dhatchinamoorthy K, Nongkhlaw M, Haokip DT, Gourinath S, Komath SS, Muthuswami R. Ligand-induced conformation changes drive ATP hydrolysis and function in SMARCAL1. *FEBS J*, 2015, 282(19): 3841–3859. [DOI]
- [84] Saraiva JM, Dinis A, Resende C, Faria E, Gomes C, Correia AJ, Gil J, da Fonseca N. Schimke immuno-osseous dysplasia: case report and review of 25 patients. *J Med Genet*, 1999, 36(10): 786–789. [DOI]
- [85] Boerkoel CF, O'Neill S, André JL, Benke PJ, Bogdanović R, Bulla M, Burguet A, Cockfield S, Cordeiro I, Ehrich JH, Fründ S, Geary DF, Ieshima A, Illies F, Joseph MW, Kaitila I, Lama G, Leheup B, Ludman MD, McLeod DR, Medeira A, Milford DV, Ormälä T, Renner-Primec Z, Santava A, Santos HG, Schmidt B, Smith GC, Spranger J, Zupancic N, Weksberg R. Manifestations and treatment of Schimke immuno-osseous dysplasia: 14 new cases and a review of the literature. *Eur J Pediatr*, 2000, 159(1–2): 1–7. [DOI]
- [86] Wang W, Song H, Wei M, Qiu Z, Wang C, Zhang Y, Li M, Yuan YH, Tang XY. SMARCAL1 gene analysis of 2 Chinese Schimke immuno-osseous dysplasia children. *Chin J Pediatr*, 2015, 53(1): 45–50.
王薇, 宋红梅, 魏珉, 邱正庆, 王晨, 张玉, 李明, 袁裕衡, 唐晓艳. Schimke 免疫-骨发育不良儿童基因分析. *中华儿科杂志*, 2015, 53(1): 45–50. [DOI]
- [87] Liu ZQ, Song FY, Liu Y, Qiu MF, Qian Y, Chen XB. Schimke immuno-osseous dysplasia (SIOD): A case report and review of literatures. *Chin J Endocrinol Metabolism*, 2017, 33(2): 111–115.
刘子勤, 宋福英, 刘颖, 邱明芳, 钱晔, 陈晓波. Schimke 免疫-骨发育不良一例并文献复习. *中华内分泌代谢杂志*, 2017, 33(2): 111–115. [DOI]
- [88] Liu SM, Zhang MC, Ni MX, Zhu PR, Xia XY. A novel compound heterozygous mutation of the SMARCAL1 gene leading to mild Schimke immune-osseous dysplasia: a case report. *BMC Pediatr*, 2017, 17(1): 217. [DOI]
- [89] Barraza-García J, Rivera-Pedroza CI, Belinchón A, Fernández-Cambor C, Valenciano-Fuente B, Lapunzina P, Heath KE. A novel SMARCAL1 missense mutation that affects splicing in a severely affected Schimke immunoosseous dysplasia patient. *Eur J Med Genet*, 2016, 59(8): 363–366. [DOI]
- [90] Santangelo L, Gigante M, Netti GS, Diella S, Puteo F, Carbone V, Gesualdo L. A novel SMARCAL1 mutation associated with a mild phenotype of Schimke immuno-osseous dysplasia (SIOD). *BMC Nephrol*, 2014, 15(1): 41. [DOI]
- [91] Carroll C, Badu-Nkansah A, Hunley T, Baradaran-Heravi A, Cortez D, Frangoul H. Schimke Immunoosseous Dysplasia associated with undifferentiated carcinoma and a novel SMARCAL1 mutation in a child. *Pediatr Blood Cancer*, 2013, 60(9): E88–90. [DOI]
- [92] Yue Z, Xiong S, Sun L, Huang W, Mo Y, Huang L, Jiang X, Chen S, Hu B, Wang Y. Novel compound mutations of SMARCAL1 associated with severe Schimke immuno-

- osseous dysplasia in a Chinese patient. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(5):1697–1702. [DOI]
- [93] Bökenkamp A, deJong M, van Wijk JA, Block D, van Hagen JM, Ludwig M. R561C missense mutation in the SMARCAL1 gene associated with mild Schimke immuno-osseous dysplasia. *Pediatr Nephrol*, 2005, 20(12): 1724–1728. [DOI]
- [94] Zivicnjak M, Franke D, Zenker M, Hoyer J, Lücke T, Pape L, Ehrich JH. SMARCAL1 mutations: a cause of prepubertal idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Res*, 2009, 65(5): 564–568. [DOI]
- [95] Kilic SS, Donmez O, Sloan EA, Elizondo LI, Huang C, André JL, Bogdanovic R, Cockfield S, Cordeiro I, Deschenes G, Fründ S, Kaitila I, Lama G, Lamfers P, Lücke T, Milford DV, Najera L, Rodrigo F, Saraiva JM, Schmidt B, Smith GC, Stajic N, Stein A, Taha D, Wand D, Armstrong D, Boerkoel CF. Association of migraine-like headaches with Schimke immuno-osseous dysplasia. *Am J Med Genet A*, 2005, 135(2): 206–210. [DOI]
- [96] Simon AJ, Lev A, Jeison M, Borochowitz ZU, Korn D, Lerenthal Y, Somech R. Novel SMARCAL1 bi-allelic mutations associated with a chromosomal breakage phenotype in a severe SIOD patient. *J Clin Immunol*, 2014, 34(1): 76–83. [DOI]
- [97] Boerkoel CF, Takashima H, John J, Yan J, Stankiewicz P, Rosenbarker L, André JL, Bogdanovic R, Burguet A, Cockfield S, Cordeiro I, Fründ S, Illies F, Joseph M, Kaitila I, Lama G, Loirat C, McLeod DR, Milford DV, Petty EM, Rodrigo F, Saraiva JM, Schmidt B, Smith GC, Spranger J, Stein A, Thiele H, Tizard J, Weksberg R, Lupski JR, Stockton DW. Mutant chromatin remodeling protein SMARCAL1 causes Schimke immuno-osseous dysplasia. *Nat Genet*, 2002, 30(2): 215–220. [DOI]
- [98] Meek K, Gupta S, Ramsden DA, Lees-Miller SP. The DNA-dependent protein kinase: the director at the end. *Immunol Rev*, 2004, 200: 132–141. [DOI]
- [99] Buck D, Moshous D, de Chasseval R, Ma Y, le Deist F, Cavazzana-Calvo M, Fischer A, Casanova JL, Lieber MR, de Villartay JP. Severe combined immunodeficiency and microcephaly in siblings with hypomorphic mutations in DNA ligase IV. *Eur J Immunol*, 2006, 36(1): 224–235. [DOI]
- [100] Lev A, Amariglio N, Levy Y, Spirer Z, Anikster Y, Rechavi G, Dekel B, Somech R. Molecular assessment of thymic capacities in patients with Schimke immuno-osseous dysplasia. *Clin Immunol*, 2009, 133(3): 375–381. [DOI]
- [101] Dutta P, Tanti GK, Sharma S, Goswami SK, Komath SS, Mayo MW, Hockensmith JW, Muthuswami R. Global epigenetic changes induced by SWI2/SNF2 inhibitors characterize neomycin-resistant mammalian cells. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49822. [DOI]

(责任编辑: 卢大儒)