

WRAP53 β 调控 DNA 损伤修复进展*

姚羽菲^{1,2)} 崔博淼¹⁾ 肖丽英¹⁾ 李燕^{1)**}

¹⁾ 口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床研究中心, 四川大学华西口腔医院, 成都 610041;

²⁾ 四川大学华西临床医学院, 成都 610041)

摘要 WRAP53 β 是一种具有 WD40 结构域的蛋白质, 在维护卡哈尔体稳定、RNA 剪接、端粒延伸等方面起着至关重要的作用. WRAP53 β 功能紊乱与先天性角化不良、肿瘤、进行性脊髓性肌萎缩、过早老化等疾病有关. 近两年研究发现 WRAP53 β 是 DNA 双链断裂修复(DSBs)的一个重要支架蛋白, 它以一种依赖于 ATM、H2AX、MDC1 的方式被募集至损伤位点并磷酸化, 其 WD40 结构域可募集泛素 E3 连接酶 RNF8, 将 DSBs 位点附近的组蛋白 H2AX 泛素化, 促进下游修复因子的聚集, 引起 DNA 损伤后的修复作用. 为此, 我们重点综述了现阶段 WRAP53 β 在 DNA 损伤修复方面的具体作用及机制.

关键词 WRAP53 β , DNA 损伤修复, 卡哈尔体, 端粒酶
学科分类号 R4, R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0415

WD40 编码的 *P53* RNA 反义转录子 β (WD40-encoding RNA antisense to P53 β , WRAP53 β), 又叫端粒酶卡哈尔体蛋白 1(telomerase Cajal body protein 1, TCAB1)和 WDR79(基因 ID55135), 是 2009 年被 Venteicher 等^[1]发现的, 并首次阐明了在端粒酶复合体中的地位和作用. WRAP53 β 能连接所有端粒酶核心组分, 包括人端粒酶 RNA(human telomerase RNA, hTR)、人端粒酶反转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)及 dyskerin 等, 但不能连接端粒酶组装因子(如 NAF1、pontin 和 reptin), 表明该蛋白质是活性端粒酶的重要成员^[1]. WRAP53 β 是将端粒酶运输到细胞核中的细胞器 - 卡哈尔体(Cajal bodies, CB)的必需组分, 帮助端粒酶复合体在 CB 的定位和端粒合成. WRAP53 β 在 S 期招募端粒酶进入 CB 并定位至染色体末端的端粒, 这样就可利用 hTR 作为模板, 在 hTERT 的催化下将 TTAGGG 重复序列添加到端粒末端维持端粒的长度. 一旦复制完成, WRAP53 β 随后将端粒酶运送到新复制染色体有待复制的末端重复上面的过程^[2].

早期发现, WRAP53 β 在多种肿瘤细胞中如鼻

咽癌、口腔鳞癌^[3]、食管鳞状细胞癌^[4]和肺腺癌^[5]均存在过表达现象并促进肿瘤细胞转移^[3,6], 影响化疗效果^[7], 并与临床预后相关^[3,8]. WRAP53 β 不仅是端粒酶的出租车, 起着重要的运输作用, 它的突变能直接导致先天性角化不良(dyskeratosis congenita, DC)这种由于端粒维持缺陷所致的多系统损害疾病. 而且 2015 年起发现 WRAP53 β 在 DNA 损伤修复中扮演着关键作用^[8-10], 敲除 WRAP53 β 可使肿瘤细胞 DNA 损伤加剧、DNA 修复缺陷^[8]. 过表达 WRAP53 β 展现细胞更快速的清除磷酸化组蛋白 H2AX(γ H2AX), 和更高效的同源重组和非同源末端连接, 导致更快速的 DNA 损伤修复, 以及提高细胞存活率^[9]. 本文就这一新发现综述了 WRAP53 β 在 DNA 损伤修复中的支架蛋白作用及具体作用机制.

* 国家自然科学基金面上项目(81172579).

** 通讯联系人.

Tel: 028-85501232, E-mail: feifeiliyan@163.com

收稿日期: 2018-02-02, 接受日期: 2018-04-09

1 WRAP53 β 结构及生物学功能

1.1 WRAP53 β 蛋白质结构

WRAP53 β 既存在于细胞质中，又高度富集在细胞核的细胞器，即卡哈尔体中^[11]。图 1a 显示 WRAP53 β 有 548 个氨基酸，分子质量为 75 ku。它的结构由富含脯氨酸的 N 端、一个中央 WD40 结构域(预测包含 5~7 重复序列)和一个富含甘氨酸的 C 端构成。其中 WD40 结构域高度保守，在脊椎动物、无脊椎动物、植物和酵母中都具有同源性。一个 WD40 重复序列含有大约 40 个氨基酸，并且在 C 端含有色氨酸(W)与天冬氨酸(D)的二肽结构。通常多个 WD40 重复结构域的存在，使得与多个因子可以同时产生相互作用^[12-13]。WD40 结构域的作用似乎是 WRAP53 β 功能的关键，为各种分子之间的多重相互作用提供支架。

1.2 WRAP53 β 的功能

如图 1b 所示，WRAP53 β 是一个支架蛋白，它可维护卡哈尔体稳定，可引导多种细胞因子定位于卡哈尔体、端粒和 DNA 双链断裂处，促进必要的相互作用引起适当的生物应答。其功能障碍与先天性角化不良(DC)、肿瘤、脊髓性肌萎缩(spinal

muscular atrophy, SMA)等有关。卡哈尔体是球形的亚细胞器(0.2~2 μmol/L)。每个细胞核中具有 1~10 个，并且在高速转录、拼接的细胞中含量较高^[11]。WRAP53 β 作为卡哈尔体的一个必要组分，在维护卡哈尔体的稳定至关重要。的确，没有 WRAP53 β，卡哈尔体会崩溃并且不能重新形成。即使引入外源的 WRAP53 β，它也仅在卡哈尔体内积累，但是并不能促进卡哈尔体的重新形成。并且在外源性 WRAP53 β 蛋白水平较高的时候，表现出与内源的 WRAP53 β 相反的效应即引起 CB 崩溃，就其原因可能是外源性和内源性 WRAP53 相互竞争的结果。事实上，内源性和外源性 WRAP53 可以共沉淀，显示 WRAP53 可以自身交联^[12]。

除了保持 CB 结构的完整性，WRAP53 β 的作用是运输运动神经元生存蛋白(survival motor neuron, SMN)、环指蛋白 8 (ring finger protein 8, RNF8)、小卡哈尔体相关 RNA (small Cajal body-associated RNA, scaRNA)和端粒酶等几种因子到达卡哈尔体。这或许表明了 WRAP53 β 可以促进细胞因子从核仁到卡哈尔体的迁移，防止它们在核仁内累积^[13]。缺少 WRAP53 β 的运输将会导致这些因子在核仁的错误定位^[11]，但并不能调节这些因子

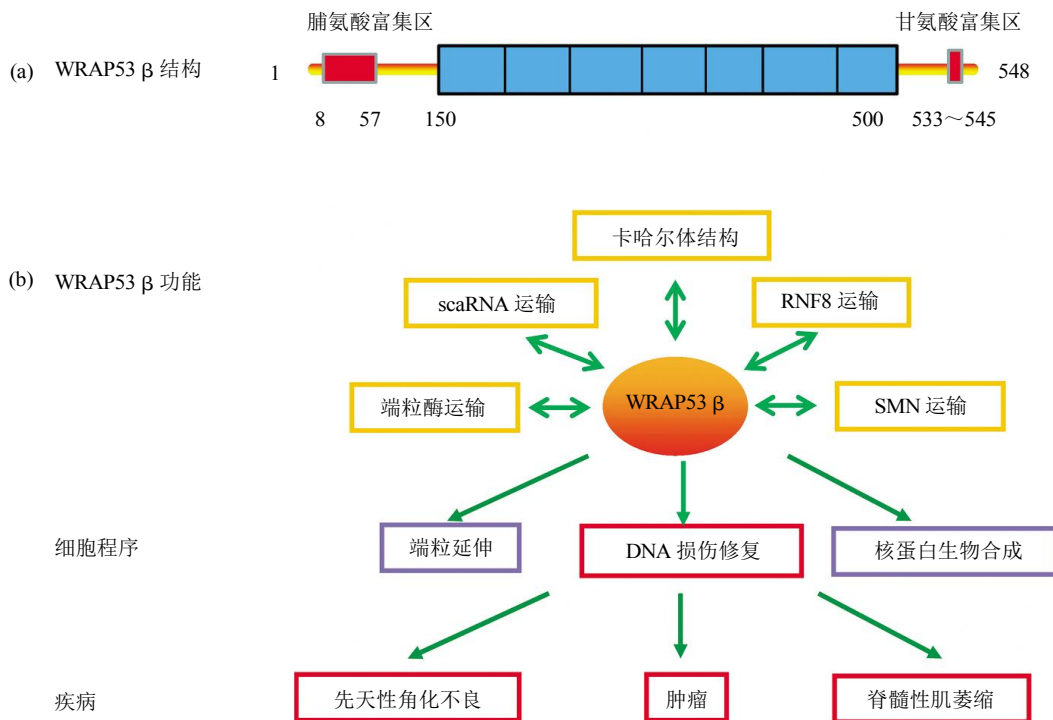


Fig. 1 The structure and functions of WRAP53β

图 1 WRAP53β的结构和功能

(a) WRAP53β 结构，数字显示氨基酸残基。(b) WRAP53β 功能及与细胞程序、疾病的关联。

定位到其他有核细胞器, 如 gems、PML 小体等^[12].

WRAP53 β 与 SMN 在细胞质内结合之后, SMN 与核输入受体 importin β 的结合可使 SMN 进入细胞核, 而与螺线蛋白 coilin 的相互作用则可将 SMN 引导到 CB. WRAP53 β 对于 SMN-coilin 和 SMN-importin β 复合体的形成必不可少. 所以敲除 WRAP53 β 会导致 SMN 在细胞质内积累, 核 SMN 错误定位到核仁^[11]. SMA 病人往往伴有 WRAP53 β 和 SMN 结合障碍, 或 WRAP53 β 缺陷^[14], 导致卡哈尔体中 SMN 水平减少.

WRAP53 β 也可与 scaRNAs 结合并将其定位于 CB, hTR 就是 scaRNA 家族中的一员. scaRNAs 通过卡哈尔体定位信号或 CAB 盒被介导入卡哈尔体. 所以, CAB 盒的突变会影响与 WRAP53 β 的结合, 或者 WRAP53 β 水平降低会导致 scaRNAs 错误定位于核仁^[15]. 有趣的是, 在 SMA 病人体内可以观察到有缺陷的 WRAP53 β 调节 SMN 的运

输^[14]. 这种受损的相互作用(二者结合减少了 83%)并不能通过 SMN 蛋白量少来解释; DC 严重程度的影响因素也还不明了. 随着 WRAP53 β 被确认为是 DNA 双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)的重要调节器, SMA、DC 的发生和严重性也可能与 DNA 损伤修复有关.

2 WRAP53 β 调控 DNA 双链断裂修复

WRAP53 β 在 DNA 双链断裂修复中扮演着支架蛋白作用. 细胞一旦遭到辐射、病毒等损害, WRAP53 β 以一种依赖于 ATM、H2AX、MDC1 的方式被募集至损伤位点并磷酸化. 随后磷酸化 MDC1 和泛素 E3 连接酶 RNF8 与 pWRAP53 β 迅速结合, RNF8 催化组蛋白 H2AX 泛素化. DSB 处的泛素化反应能够进一步征募和组装下游修复因子 53BP1、BRCA1、RAD51 的聚集, 引起 DNA 损伤修复(图 2).

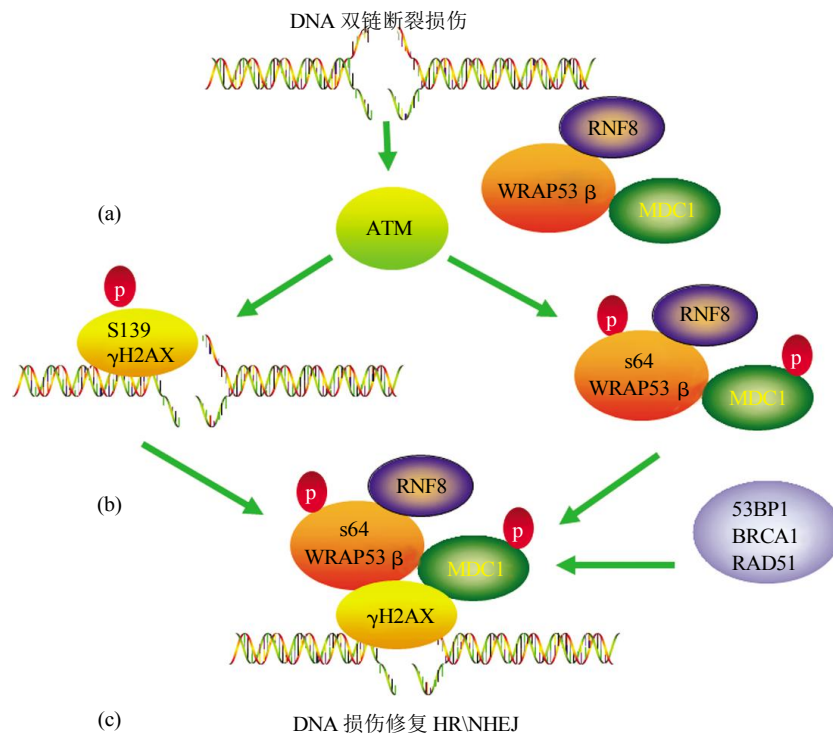


Fig. 2 How phosphorylation of WRAP53 β promotes the DNA double-strand breaks repair

图 2 WRAP53 β 磷酸化促进 DNA 双链断裂的修复原理

(a) 在 DNA 损伤反应中, ATM 磷酸化 WRAP53 β 、H2AX 和 MDC1. (b) pWRAP53 β 促进与 γ H2AX 的作用, 将 WRAP53 β -MDC1-RNF8 复合体招募到 DNA 损伤处. (c) pWRAP53 β 招募 53BP1、BRCA1、RAD51 等下游蛋白质到 DNA 损伤部位, 进行 HR 和 NHEJ 方式的修复.

2.1 DNA 损伤应答概述

在细胞生命活动过程中, 多种内外因素(如氧自由基、紫外辐射以及病毒感染等等)都会破坏

DNA 的化学结构并影响细胞基因组的完整性和稳定性. 主要的基因组损伤可归结为双链断裂损伤(double strand breaks, DSBs)和单链断裂损伤

(single strand breaks, SSBs) 两种形式. 为了保证细胞损伤后基因组的完整性, 细胞通常会启动检验点机制以阻止细胞周期的进展. 这种应答依赖于肌醇类蛋白激酶, 即 ATM(ataxia telangectasia-mutated)、ATR(ATM-related)和 DNA-PK(DNA-protein kinase)^[16]. 主要涉及到了两个 DNA 损伤检测通路: ATM-Chk2 和 ATR-Chk1. 其中 ATM 和 ATR 这两种激酶可调控 H2AX 在 Ser139 的磷酸化, 这是 DNA 损伤通路活化的最早事件. ATM-Chk2 通路作用于 G1、S 和 G2 期, 对 DSBs 反应极其迅速和敏感, 数分钟即可使 ATM-S1981 自身磷酸化, 30 min 内即可征召 H2AX、MDC1、BRCA1、RNF8 和 53BP1 等染色质结合蛋白到双链断裂点, 30~60 min 内其激活可达顶点^[17]. ATR-Chk1 通路则特异作用于 S/G2期, 主要介导 DNA 复制应激, 其生化过程较为复杂和缓慢. DSBs 是最严重的 DNA 损伤之一, 可通过同源重组 (homologous recombination, HR) 或非同源性末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 来修复, 且需要在损伤部位逐步积累修复蛋白因子. WRAP53 β 突变所致疾病与 DSBs 类似, 因此它作为关键蛋白质参与 DSBs 修复调控成为了研究热点并受到极大关注.

2.2 WRAP53 β 以一种依赖 ATM、H2AX 和 MDC1 的方式在 DNA 损伤位点募集

一项对人骨肉瘤细胞 U2OS 进行激光微辐射处理发现, DNA 损伤的几分钟内, WRAP53 β 聚集点即出现在损伤位点处, 这种现象也出现在其他类型细胞中, 包括人成纤维细胞、H1299 肺癌细胞等, 又在随后的 24 h 逐渐消失, 这个反应时间与 γ H2AX 相似. 而当 WRAP53 β 被 siRNA 沉默之后, 这些聚集点也随之消失. 并且当 ATM、H2AX 和 MDC1 的表达下调会阻碍 WRAP53 β 在损伤位点的聚集, 而 DNA-PK 和 ATR 则不会明显影响. 因此, 如图 2a 所示, 他们认为 DNA 双链断裂后最早发生的事件是在断裂位点附近, H2AX 在 ATM 催化下于 Ser139 发生磷酸化, 形成 γ H2AX^[18]. 接头蛋白 MDC1 与 γ H2AX 结合并被 ATM 磷酸化. 同样, WRAP53 β 被 ATM 磷酸化 64 位丝氨酸残基形成 pWRAP53 β ^{S64}, 有趣的是, 这段时间恰好是 DNA 损伤的积聚时间, pWRAP53 β ^{S64} 募集到 DNA 损伤位点促进它同 γ H2AX 相互作用. 而磷酸化的 WRAP53 β 对卡哈尔体定位可有可无. 这项研究不仅揭示了 ATM 是

WRAP53 β 上游的调节子, 也显示了 pWRAP53 β ^{S64} 控制 DNA 损伤反应, 也限制了它的多种生物学功能^[19]. 由上可见, WRAP53 β 可以通过一种依赖于 DNA 损伤应答蛋白激酶 ATM、组蛋白 H2AX 和 MDC1 的方式被迅速招募至 DNA 断裂处.

2.3 WRAP53 β 通过 RNF8 介导的泛素化来招募 DNA 修复蛋白至损伤位点

如图 2b 显示, ATM 磷酸化 WRAP53 β 、H2AX 和 MDC1 后, 磷酸化 MDC1 和泛素 E3 连接酶 RNF8 与 WRAP53 β 迅速结合. RNF8 的叉头相关结构域 (forkhead-associated domain, FHA) 包含 1 个 N 端磷酸肽结合区域和 1 个 α 螺旋结构 (氨基酸 130~140), N 端区域 (氨基酸 1~38) 与 WRAP53 β 的结合, 而氨基酸 39~140 则与 MDC1 结合. 并且 WRAP53 β 也能够与 MDC1 的 FHA (氨基酸 55~124) 结合, 三者形成复合体, 这个区域一旦遭到破坏, WRAP53 β 则不能与它们相互作用^[20]. 在 WRAP53 β 缺失的细胞中, 电离辐射并不能诱使 RNF8 聚集, RNF8 与 MDC1 之间的相互作用被破坏, 但是依然可以检测到高水平的磷酸化 MDC1 在 DSBs 处聚集. 这提示 WRAP53 β 并不参与调控 MDC1 磷酸化, 而对 RNF8 在 DNA 损伤处聚集起着重要作用.

WRAP53 β 为 MDC1-RNF8 复合物的形成提供了一个支架作用, 因此它也促进了 RNF8 催化组蛋白 H2AX 泛素化. DSB 处的泛素化反应能够进一步征募和组装下游修复因子 53BP1、BRCA1、RAD51 的聚集, 引起 DNA 损伤修复^[8-12]. 通过去除细胞内源性而引入外源 WRAP53 β 可以重新恢复 DNA 损伤修复. 事实上, WRAP53 β 的敲除阻碍了 RNF8 和 RNF168 的汇集, 这两种酶在 DNA 修复过程中紧密配合.

2.4 WRAP53 β 促进了同源重组和非同源末端接合的修复反应

图 2c 显示 WRAP53 β 促进 HR 和 NHEJ 修复通路对 DSBs 进行修复. HR 修复通路是以姐妹染色单体、同源染色体、相同或不同染色体上的重复性序列作为修复模板, 由 MRN (Mre11-Rad50-Nbs1) 复合物首先感受损伤并启动末端剪切, 剪切产生的 3' 端突出单链 DNA 马上被复制蛋白 A (replication protein A, RPA) 包被, 然后在 Rad52 介导下, 核心组分 Rad51 将 RPA 从 ssDNA 上取代, 并进行同源染色体搜寻、配对、复制等, 完成 DNA 修复; 而 NHEJ 通路不受同源序列的限制,

几乎可以连接任何类型的 DSBs 末端, 首先由 Ku 识别 DSB 末端, 接着由核酸酶、聚合酶在 Ku 与 DNA-PKcs 协助下加工, 并由连接酶 IV-XRCC4-XLF 进行断端连接。

WRAP53 β 对 DSBs 修复的影响通过检测电离辐射(ionizing radiation, IR)造成的 γ H2AX 聚集点的清除来进行评估。对照组人骨肉瘤细胞 U2OS 暴露于 IR 24 h 后, γ H2AX 聚集点完全消失, 说明细胞产生了有效的 DSBs 修复。而敲低 WRAP53 β 的细胞仍残留大量的 γ H2AX 聚集点, 提示 DSBs 修复缺陷。利用 DR-GFP(HR)和 EJ5-GFP(NHEJ)报告系统, 并分别以 siRAD51 和 siArtemis 作为阳性对照, 进一步探讨了 WRAP53 β 影响 DNA 双链断裂修复的机制^[10]。HR 实验以携带 DR-GFP 的 U2OS 为研究对象, 其表达的内源性的 I-SceI 会诱导单一的 DNA 双链断裂, 只有 HR 完成后细胞可编码出完整的 GFP 从而发出绿色荧光, 流式细胞仪可以精确检测 GFP 的表达水平指示 HR 的修复效率。实验结果显示 WRAP53 β 下调之后 HR 效率显著降低了 74%。这与干扰 HR 核心组分 RAD51 导致 HR 下降 92%相一致。而 RNF8 沉默导致同源重组率下降 40%。NHEJ 实验与 HR 实验同理, 但是用的是 EJ5-GFP 报告系统, 它有 2 个 I-SceI 位点和 1 个嘌呤霉素基因。一旦表达的内源性 I-SceI 酶诱导 DSBs, 嘌呤霉素基因也会被切除, 修复这种 DSBs 主要通过 NHEJ 方式, 即将 1 个启动子安置于 GFP 基因的临近处, 并允许 GFP 基因的表达, 通过流式细胞仪检测 EJ5-GFP 报告系统的 GFP 阳性细胞的比例确定 NHEJ 修复效率。基因沉默 WRAP53 β 和 RNF8 后, 细胞的 NHEJ 效率分别减弱了 41%和 17%。与沉默 NHEJ 关键组分 Artemis 导致的修复效率降低 40%相一致。很明显, 相较于 RNF8, WRAP53 β 的敲低对 HR 和 NHRJ 的影响更大。相较于单独下调 WRAP53 β , 同时敲低 WRAP53 β 和 RNF8 并不会进一步减弱 HR 和 NHEJ 修复。这表明 RNF8 的作用与 WRAP53 β 在同一个通路, 但 WRAP53 β 可能在 DNA 损伤修复中还有其他功能。

Henriksson 等^[10]进一步研究了 IR 作用下 WRAP53 β 缺失的细胞周期进程, 显示虽然细胞 G2/M 检查点正常激活, 但存在持续延长的 G2/M 阻滞期, 提示细胞周期延迟, 以便有更多的时间进行 DNA 损伤后的修复。因此, WRAP53 β 在 DSBs 的 HR 和 NHEJ 修复通路中起着重要的作用,

敲低 WRAP53 β , 细胞招募损伤修复因子到 DNA 双链断裂处的能力被减弱, HR 及 NHEJ 通路也出现缺陷。

2.5 WRAP53 β 保护细胞免受自发性 DNA 损伤

在非激光辐射处理的 U2OS 细胞中, siRNA 介导的 WRAP53 β 下调会加剧 24 h 内 γ H2AX 聚集点的数目, 提示了自发性 DNA 损伤的积累。延长 WRAP53 β 的沉默效应至 48~72 h 将增加自发损伤和细胞凋亡。而在 H1299 和 HeLa 细胞中, WRAP53 β 下调引发的 γ H2AX 的自发性激活并没有引起 p53 的激活, 表明 WRAP53 β 在保护细胞免受自发性 DNA 损伤的作用不依赖于 p53 的调节。并且 RNF8 的沉默以相同的方式导致自发性 DNA 损伤。因此, WRAP53 β 功能的丧失将阻碍 DNA 的损伤修复, 并导致自发性 DNA 双链断裂的累积, 这些作用被视为导致基因组不稳定性的重要因素。

3 WRAP53 β 介导卡哈尔体、端粒、DNA 损伤之间的交互作用

卡哈尔体的某些组分与 DNA 损伤应答有关, 如 CB 的标志蛋白质 Coilin 可与 DNA-PK 的亚单位 Ku70/Ku80 相互作用进而抑制 NHEJ, 这可能是由于通过阻止 Ku 蛋白结合到 DNA 末端所致^[21]。CB 中定位的 SMN 和 Gemin2 可使 RAD51 在 DNA 双链断裂处聚集, 并促进 HR 修复^[22]。SMN 具有 Tudor 结构域, 其可以将 53BP1 靶向定位于 DNA 双链断裂位点。与 DNA 损伤应答有关的一些因子定位于卡哈尔体, 例如 E3 连接酶 PIAS4, 它在 DNA 双链断裂处聚集, 并于 RNF8 介导的在 DNA 损伤位点泛素化中发挥重要作用^[23]。

WRAP53 β 将端粒与 DNA 损伤应答联系在一起。DNA 修复蛋白同时存在于功能性和功能紊乱的端粒中。在功能性端粒中, 这些细胞因子可以阻止端粒末端融合并维持内稳态。比如, DNA-PKcs 可促进端粒加帽, 从而减少了端粒的融合^[24]。并且, Ku70/Ku80 与 hTR 的直接作用有助于端粒长度的维持^[25]。而功能障碍、无帽的端粒, 会被 DNA 损伤应答识别为 DNA 双链断裂, 修复因子将聚集于端粒功能紊乱位点处。在上述位点发生的 HR 及 NHEJ 将引发染色体的融合, 加剧了基因组的不稳定性。这表明 DNA 修复位点出错, 则会导致基因组不稳定。例如, RNF8 通过泛素化作用将修复蛋白聚集到端粒处, 进而促进了功能紊乱的端

粒染色体融合. 此外, 53BP1 增加了功能紊乱端粒的移动性, 使染色体末端相互靠近, 发生 NHEJ. 有研究显示, WRAP53 β 可能通过同样的机制将 RNF8/53BP1 和端粒酶分别转运到 DNA 双链断裂和端粒处^[26].

细胞 DNA 损伤系统对端粒酶复制稳定端粒有重要的调控作用. ATM 和 ATR 都与端粒发生生理性结合, 抑制 ATM 和 ATR 的功能都导致端粒长度的急剧缩短和染色体末端融合. 在酵母细胞中, ATM 和 ATR 的激酶活性是募集端粒酶到达端粒所必需的. 在细胞 DNA 损伤反应中也涉及对端粒酶的直接调控. 一个显著的例子是在细胞 DNA 损伤反应中 hTERT 发生明显的核仁聚集现象^[27], 这说明了调控端粒酶是细胞 DNA 损伤分子反应中的一个普遍事件. 相反, 由端粒 DNA 缩短造成的端粒功能丧失也能造成 ATM 信号途径活化. 高表达或抑制细胞端粒酶活性, 也会对细胞 DNA 损伤的反应性产生显著影响. 如沉默 WRAP53 β , 可抑制 p53 诱导的 DNA 损伤^[28].

4 ALT 细胞涉及的 DNA 损伤

端粒酶缺乏的端粒延长替代机制 (alternative lengthening of telomere, ALT), 细胞的特征是由 HR 维持非常长且不均匀的端粒. 类似于端粒酶依赖的端粒延伸方式中卡哈尔体的角色, 一个特定的端粒相关 PML 小体被认为能促进 ALT 细胞重组. PML 小体也包含许多涉及 DNA 损伤的反应蛋白^[29], 如 NBS1 对其装配就是必不可少的. 缺少这种蛋白质将导致 ALT 相关的 PML 体数量减少和 ALT 细胞端粒缩短, 但对端粒酶阳性细胞无此作用^[30]. 因此, 不管端粒酶依赖或非依赖的细胞, 核小体、端粒延伸和 DNA 损伤反应蛋白之间均存在着微妙关系.

总之, WRAP53 β 既促进了 RNA 与蛋白质之间的相互作用, 也提高了胞内的物质转运. WRAP53 β 可促进 DNA 损伤修复, 减少自发性 DNA 损伤. 然而, 除了 WRAP53 β 之外, 卡哈尔体的其他组分是否也参与了 DNA 损伤修复仍需进一步研究. 另外, WRAP53 β 涉及 DNA 损伤修复的生理功能以及其在不同疾病发生发展中的作用仍需通过转基因动物模型进一步探究.

参 考 文 献

[1] Venteicher A S, Abreu E B, Meng Z, *et al.* A human telomerase

holoenzyme protein required for Cajal body localization and telomere synthesis. *Science*, 2009, **323**(5914): 644–648

[2] Lee J H, Lee Y S, Jeong S A, *et al.* Catalytically active telomerase holoenzyme is assembled in the dense fibrillar component of the nucleolus during S phase. *Histochem Cell Biol*, 2014, **141** (2): 137–152

[3] Sun C K, Luo X B, Gou Y P, *et al.* TCAB1: a potential target for diagnosis and therapy of head and neck carcinomas. *Mol Cancer*. 2014, **13**(1): 180–191

[4] Rao X, Huang D, Sui X, *et al.* Overexpression of WRAP53 is associated with development and progression of esophageal squamous cell carcinoma. *Plos One*, 2014, **9**(3): e91670

[5] Yuan X S, Cao L X, Hu Y J, *et al.* Clinical, cellular, and bioinformatic analyses reveal involvement of WRAP53 overexpression in carcinogenesis of lung adenocarcinoma. *Tumour Biol*, 2017, **39**(3): 1010428317694309

[6] Mahmoudi S, Henriksson S, Farnebo L, *et al.* WRAP53 promotes cancer cell survival and is a potential target for cancer therapy. *Cell Death Dis*, 2011, **2**: e114

[7] Garvin S, Tiefenbock K, Farnebo L, *et al.* Nuclear expression of WRAP53 β is associated with a positive response to radiotherapy and improved overall survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, 2015, **51**(1): 24–30

[8] Hedström E, Pederiva C, Farnebo J, *et al.* Downregulation of the cancer susceptibility protein WRAP53 β in epithelial ovarian cancer leads to defective DNA repair and poor clinical outcome. *Cell Death Dis*, 2015, **6**: e1892

[9] Rassoolzadeh H, Böhm S, Hedström E, *et al.* Overexpression of the scaffold WD40 protein WRAP53 β enhances the repair of and cell survival from DNA double-strand breaks. *Cell Death Dis*, 2016, **7**: e2267

[10] Henriksson S, Rassoolzadeh H, Hedström E, *et al.* The scaffold protein WRAP53 β orchestrates the ubiquitin response critical for DNA double-strand break repair. *Genes Dev*, 2014, **28**(24): 2726–2738

[11] Mahmoudi S, Henriksson S, Weibrecht I, *et al.* WRAP53 is essential for Cajal body formation and for targeting the survival of motor neuron complex to Cajal bodies. *Plos Biol*, 2010, **8** (11): e1000521

[12] Henriksson S, Farnebo M. On the road with WRAP53 β : guardian of Cajal bodies and genome integrity. *Front Genet*, 2015, **6**: 91–100

[13] 陆文昕, 葛奕辰, 肖丽英, 等. WD40 编码的 P53 RNA 反义转录子基因和蛋白及其功能. *国际口腔医学杂志*, 2016, **43**(2): 244–248

Lu W X, Ge Y C, Xiao L Y, *et al.* *Int J Stomatology*, 2016, **43**(2): 244–248

[14] Tapia O, Bengoechea R, Palanca A, *et al.* Reorganization of Cajal bodies and nucleolar targeting of coilin in motor neurons of type I spinal muscular atrophy. *Histochem Cell Biol*, 2012, **137**(5): 657–667

[15] Tycowski K T, Shu M D, Kukoyi A, *et al.* A conserved WD40 protein binds the Cajal body localization signal of scaRNP

- particles. *Mol Cell*, 2009, **34**(1): 47–57
- [16] Rouse J, Jackson S P. Interfaces between the detection, signaling, and repair of DNA damage. *Science*, 2002, **297**(5581): 547–551
- [17] Huen M S, Grant R, Manke I, *et al.* RNF8 transduces the DNA-damage signal *via* histone ubiquitylation and checkpoint protein assembly. *Cell*, 2007, **131**(5): 901–914
- [18] Durocher D, Jackson S P. DNA-PK, ATM and ATR as sensors of DNA damage: variations on a theme? *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13**(2): 225–231
- [19] Coucoravas C, Dhanjal S, Henriksson S, *et al.* Phosphorylation of the Cajal body protein WRAP53 β by ATM promotes its involvement in the DNA damage response. *RNA Biol*, 2017, **14**(6): 804–813
- [20] Stucki M, Clapperton J A, Mohammad D, *et al.* MDC1 directly binds phosphorylated histone H2AX to regulate cellular responses to DNA double-strand breaks. *Cell*, 2005, **123**(7): 1213–1226
- [21] Velma V, Carrero Z I, Cosman A M, *et al.* Coilin inter-acts with Ku proteins and inhibits invitro non-homologous DNA end joining. *FEBS Lett*, 2010, **584**(23): 4735–4739
- [22] Takaku M, Tsujita T, Horikoshi N, *et al.* Purification of the human SMN-GEMIN2 complex and assessment of its stimulation of RAD51-mediated DNA recombination reactions. *Biochemistry*, 2011, **50**(32): 6797–6805
- [23] Galanty Y, Belotserkovskaya R, Coates J, *et al.* Mammalian SUMOE3-ligases PIAS1 and PIAS4 promote responses to DNA double-strand breaks. *Nature*, 2009, **462**(7275): 935–939
- [24] d'Adda di Fagagna F, Teo S H, Jackson S P. Functional links between telomeres and proteins of the DNA-damage response. *Genes Dev*, 2004, **18**(15): 1781–1799
- [25] Peuscher M H, Jacobs J J. DNA-damage response and repairactivities at uncapped telomeres depend on RNF8. *Nat Cell Biol*, 2011, **13**(9): 1139–1145
- [26] Dimitrova N, Chen Y C, Spector D L, *et al.* 53BP1 promotes non-homologous end joining of telomeres by increasing chromatin mobility. *Nature*, 2008, **456**(7221): 524–528
- [27] Wong J M, Kusdra L, Collins K. Subnuclear shuttling of human telomerase induced by transformation and DNA damage. *Nat Cell Biol*, 2002, **4**(9): 731–736
- [28] Marianne Farnebo. Wrap53, a novel regulator of p53. *Cell Cycle*, 2009, **8**(15): 2343–2346
- [29] Brault M E, Autexier C. Telomeric recombination induced by dysfunctional telomeres. *Mol Biol Cell*, 2011, **22**(2): 179–188
- [30] Zhong Z H, Jiang W Q, Cesare A J, *et al.* Disruption of telomere maintenance by depletion of the MRE11/RAD50/NBS1 complex in cells that use alternative lengthening of telomeres. *J Biol Chem*, 2007, **282**(40): 29314–29322

Progress of WRAP53 β Regulating DNA Damage Repair*

YAO Yu-Fei^{1,2)}, CUI Bo-Miao¹⁾, XIAO Li-Ying¹⁾, LI Yan¹⁾

¹⁾ State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China;

²⁾ West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract WRAP53 beta, a protein with a WD40 domain, plays an essential role in the maintenance of Cajal body stability, RNA splicing, and telomere elongation. WRAP53 β dysfunction is related to dyskeratosis congenita, tumor, progressive spinal muscular atrophy, premature aging and other diseases. Recent studies have found that WRAP53 β is an important scaffold protein essential for DNA double strand break repair (DSBs). It can be recruited to DNA damage sites in a H2AX, ATM and MDC1-dependent manner and phosphorylated by ATM. Then the phosphorylated WRAP53 β recruits ubiquitin E3 ligase RNF8 through its WD40 domain leading to histone H2AX ubiquitination, and further aggregation of downstream repair factors for DNA damage repair. In this review, we summarize the recent advances in the specific role and underlying mechanisms of WRAP53 β in the repair of DNA damages.

Key words WRAP53 β , DNA damage repair, Cajal body, telomerase

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0415

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81172579).

**Corresponding author.

Tel: 86-28-85501232, E-mail: feifeiliyan@163.com

Received: February 2, 2018 Accepted: April 9, 2018