



RNA 聚合酶监视的 DNA 修复机制*

王菲尔** 杨绎焯** 莫日根***

(内蒙古大学生命科学学院, 省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室, 呼和浩特 010070)

摘要 生物体在正常生命过程中面临内/外因来源的 DNA 损伤, DNA 损伤不仅影响基因正确复制, 也阻碍其正常转录. 为避免 DNA 损伤带来的灾难性后果, 生物体进化出一整套修复机制, 以保证复制和转录的正确性、基因组的完整性和遗传的稳定性. 本文重点综述了 RNA 聚合酶监视 (RNA polymerase-surveilled, RNAP-S) 的 DNA 修复机制. 首先从 RNA 聚合酶 (RNA polymerase, RNAP) 的结构出发介绍了 RNAP 对 DNA 损伤的感知机制; 其次讨论了滞留 RNAP 的回溯、与其模板 DNA 的解离以及后续修复机制的启动, 真核细胞科凯恩综合征 B 蛋白 (Cockayne syndrome protein B, CSB) 及其泛素化和 8-氧代鸟嘌呤 DNA 糖基化酶 1 (8-oxoguanine DNA glycosylase 1, OGG1) 介导的 RNAP-S 修复; 最后探讨了 RNAP-S 损伤修复的生物学意义并展望其前景.

关键词 RNA 聚合酶, DNA 损伤, RNAP 感知损伤, RNAP-S 修复机制

中图分类号 Q52, Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0044

DNA 是生物体遗传物质, 其完整性对生命活动的正常运行具有关键的作用^[1]. 然而, 生物体基本无法避免来自外界和生物体自身内部的 DNA 损伤, 若不及时修复这些损伤, 将会对生物体产生灾难性的后果^[2]: DNA 复制 (replication) 和转录 (transcription) 过程将不能正常进行, 严重影响基因组的完整性和稳定性^[3], 会导致细胞的功能阻碍^[1]、细胞癌变^[4-6]、死亡^[7], 也会引发生物体的各种疾病^[4].

染色体复制过程中的碱基错配、水解和脱氨基作用是自发性损伤的主要来源^[2]. DNA 损伤的外因来源较多. 诱变剂能够引发烷化、氧化等作用造成突变^[8]; 紫外线诱变形成嘧啶二聚体从而不能配对^[9]; γ 射线、X 射线会引起 DNA 双链的断裂^[8]; 嵌入剂能引起碱基的插入或缺失^[8]. 面对无法避免的 DNA 损伤, 生物体进化出相应的 DNA 损伤修复系统来应对这些挑战. 常见的 DNA 损伤修复方式有: 光激活修复、错配修复、剪切修复、重组修复、跨损修复和非同源末端修复等^[2, 9]. 光激活修复系统 (photoreactivation repair, PHR) 修复紫外线诱变形成的嘧啶二聚体, 被光激活的 DNA

光解酶断裂嘧啶二聚体之间的共价键而实现直接修复此类 DNA 损伤^[8]. 错配修复 (mismatch repair, MMR) 用来修复 DNA 复制过程中的碱基错配^[10]. 原核细胞 MutS、MutL 和 MutH 蛋白通过新复制 DNA 半甲基化特性识别错配位点并在其附近切开新链、后由 UvrD 解旋消化产生缺口, 再以正确 (旧链) 链为模板, 由 DNA 聚合酶和 DNA 连接酶生成新正确链, 完成错配修复^[2, 10]. 真核细胞同源蛋白 MSH、MLH、PMS 通过类似方式完成错配修复^[10]. 剪切修复 (excision repair, ER) 包括核苷酸切除 (nucleotide excision repair, NER) 和碱基切除修复 (base excision repair, BER) 两种. 大肠杆菌 UvrA、UvrB、UvrC 和 UvrD 能够识别双螺旋上的扭曲, 并切除含有损伤的一小段单链片段, 后由 DNA 聚合酶和连接酶修补至正确序列而实施核

* 国家自然科学基金 (32060016) 和内蒙古大学本科一流课程建设项目 (21400-12105/014) 资助.

** 并列第一作者.

*** 通讯联系人.

Tel/Fax: 0471-4992435, E-mail: morigenm@hotmail.com

收稿日期: 2021-02-24, 接受日期: 2021-04-12

昔酸切除修复^[11]. 人细胞 XPC、XPA、XPD、RPA、XPG 和 XPF 等同源蛋白执行相同的功能^[9]. 在碱基切除修复中, NTHL1、NEIL1 或 OGG1 糖基化酶先切除错误碱基, 随后脱嘌呤嘧啶的 (apurinic-aprimidinic, AP) 位点内切酶或外切核酸酶切除形成的无碱基戊糖, 所形成的缺口由 DNA 聚合酶和连接酶修复^[2]. 同源重组修复 (homologous recombination, HR) 过程可修复双链断裂 (double-strand break, DSB) 损伤, 也修复 DNA 复制中的错误^[12]. 原核细胞 DSB 修复途径被称为 RecBCD 途径, 参与的重要蛋白质有 RecA、RecBCD、RecFOR、RuvAB 和 RuvC^[12]. 真核细胞 Rad51、Dcml、Spo11、MRX、Rad52、Rad59、Rad51c-XRCC3、WRN 和 BLM 完成同源重组修复^[9]. 非同源末端修复 (nonhomologous end joining, NHEJ) 是姐妹染色单体形成前的一种修复方式^[9]. 在哺乳动物中, 已发现该途径的相关蛋白质有 Ku70、Ku80、DNA-PKcs、Artemis 和 XRCC4 等^[3, 9]. 跨损 DNA 合成 (translesion synthesis, TLS) 指细胞未能修复损伤时, 复制机器绕过受损部位而无模板直接合成 DNA 链的修复机制, 可避免染色体的不完全复制^[13]. 原核细胞 DNA Pol IV (DinB) 或 DNA Pol V^[8], 真核细胞 REV1、Pol ζ 、Pol η 、Pol κ 和 Pol ι 负责跨损合成^[2].

基因转录过程本身也是独特的 DNA 损伤修复机制^[14]. 本文重点综述了转录过程中 RNA 聚合酶 (RNA polymerase, RNAP) 监视下的修复机制, 该机制对 DNA 损伤的修复有重要的作用, 也有利于解决复制和转录的冲突, 确保正确转录物的形成, 对生物体的正常活动有着不容忽视的作用^[3, 14-16].

1 RNAP识别DNA损伤并滞留

当转录中的 DNA 双链产生诱变损伤时, 转录模板链 (template strand) 的修复程度要高于编码链 (coding strand)^[17-18], 模板链的修复比编码链的修复更快, 而编码链的修复与基因组 DNA 的修复节奏基本一致, 可见转录中优先修复模板链的 DNA 损伤^[19-21]. RNAP 沿模板 DNA 转录过程中, 会感知 DNA 损伤, 并招募修复蛋白, 继而修复损伤 DNA^[22], 称之为 RNAP 监视 (RNAP-surveilled, RNAP-S) 的 DNA 修复 (RNAP-S repair). RNAP-

S 的 DNA 修复不仅存在于活跃转录过程, 也可见于低水平转录过程^[20], 而且在进化上是保守的细胞过程^[1].

1.1 RNAP被DNA损伤物理阻止

转录模板链上的 DNA 损伤, 如单链断裂^[23]、双链断裂^[24] 等会阻碍 RNAP 在模板链上的正常前行. 此外, 非正规的 DNA 结构如 DNA 发夹、RNA : DNA 杂合体^[25]、茎环结构^[26] 也会物理障碍性造成 RNAP 的滞留; 同样, DNA 结合蛋白如抑制子^[27]、转录终止因子 Rho 蛋白结合在模板 DNA 上会阻滞 RNAP; 真核细胞核小体结构也会阻碍转录中 RNAP 的前行^[27]. 数学模型和定量实验发现, 减少 LacI 路障的占用能明显增加 RNAP 的变位 (dislodgement)^[27]; 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 实验结果说明 RNAP 也能被 1,N⁶ 乙烯基腺嘌呤修饰 (1,N⁶-etheno adenine, ϵ A) 强烈阻碍^[28]; 利用扫描力显微镜 (scanning force microscopy, SFM) 和磁镊 (magnetic tweezers, MT) 监测 RNAP 在含有拓扑环结构的 DNA 链上的行进过程, 发现 DNA 环形拓扑结构能有效地阻碍 RNAP 而干扰转录^[29].

1.2 RNAP识别DNA损伤修饰

1.2.1 三种RNAP的结构功能

多亚基蛋白复合体 RNAP 保守存在于细菌、古细菌、真核生物中, 转录合成各类 RNA, 其核心酶 (core enzyme) 发挥主要合成作用. 最简单的细菌 RNAP 核心酶由 β 、 β' 、 α 二聚体、 ω 亚基构成^[30]. 古细菌核心酶与真核生物 RNAPII 有显著的结构保守性^[31]. 真核生物的三种 RNAP 核心酶结构具有同源性, 其中有两个亚基较为保守, 160 ku 左右的 Rpa1、Rpb1、Rpc1, 大约 150 ku 的 Rpa2、Rpb2、Rpc2 分别是 RNAPI、RNAPII、RNAPIII 的 2 个亚基^[30]. 此外, 三种 RNAP 还都具有 Rpb5、Rpb6、Rpb8、Rpb10、Rpb12 亚基^[32]. 但它们的功能存在差别: RNAPI 负责合成核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA)^[30]; RNAPII 与信使 RNA (messenger RNA, mRNA)、多数小核内 RNA (small nuclear RNA, snRNA)、微小 RNA (microRNA) 的合成有关^[30]; 转运 RNA (transfer RNA, tRNA)、5S rRNA 和一些其他小 RNA (small RNA) 由 RNAPIII 合成^[30, 33] (表 1).

Table 1 RNAP structures and functions [30, 32-34]

表1 RNAP的结构功能 [30, 32-34]

	细菌	古细菌	RNAPI	RNAPII	RNAPIII
核心酶亚基	β	Rpo1	Rpa1	Rpb1	Rpc1
	β'	Rpo2	Rpa2	Rpb2	Rpc2
	α^I	Rpo3	Rpc5	Rpb3	Rpc5
	α^{II}	Rpo11	Rpc9	Rpb11	Rpc9
	ω	Rpo6	Rpb6	Rpb6	Rpb6
其他亚基		(+6)	Rpb5	Rpb5	Rpb5
			Rpb8	Rpb8	Rpb8
			Rpb10	Rpb10	Rpb10
			Rpb12	Rpb12	Rpb12
			(+5)	(+3)	(+7)
合成功能	RNA	RNA	rRNA	mRNA、大多数snRNA、微小RNA	tRNA、5S rRNA和一些其他小RNA

(+数字)表示未列出的亚基个数.

1.2.2 RNAPII结构

真核生物的多亚基蛋白RNAPII负责转录所有编码蛋白的基因和许多非编码RNA,也在RNAP-S修复中感知损伤^[35].RNAPII包含几个重要的结构域:a.RNAPII的突出结构特征——裂口(cleft),这是一个深的、带有正电的凹槽,包含活性位点(active site)、壁(wall)、突出物壁(protrusion)等^[36].DNA双链在解链前位于裂口的上方,当DNA双链解链后模板链进入裂口到达活性位点,核糖核苷酸(ribonucleotide triphosphates, NTPs)从漏斗(funnel)位点处进入;形成的RNA:DNA杂合链在靠近活性位点的壁处分离,起始于壁附近的RNA出口通道引导RNA离开;位于裂口DNA出口处的突出物——壁,可能负责模板DNA链从RNAPII离开的过程^[36].b.RNAPII的触发环(trigger loop, TL)和桥螺旋(bridge helix, BH)是两个重要的与DNA碱基识别、保真性相关的结构域^[36-37].Rpb1亚基上的TL负责磷酸二酯键的形成,影响转录中NTPs的添加效率^[37],并保持底物特异性^[35];在活性位点处添加NTPs时,其构象从开放转变为关闭从而激活活性^[37];BH负责连接RNAPII的两个部分,将RNAPII催化位点与下游的主、次要通道分开,模板装载中越过BH的步骤可作为RNAP变位的检验点^[37].c.其他结构域如夹钳(clamp)、茎秆(stalk)同样是RNAPII的重要结构,负责调控裂口的开放、闭合构象^[36];舵(rudder)和盖(lid)是Rpb1结构域的残基,靠近活性位点,有利于将RNA引导至其出口通道,将

DNA引导到壁突起处^[36];Rpb1的C端结构域(C-terminal domain, CTD)是调控RNAPII转录的中心^[38].

1.2.3 RNAPII识别DNA损伤修饰并滞留

RNAPII能识别UV诱导下产生的链内交联损伤^[39]、具有轻度螺旋扭曲特性的环丁烷丙胺二丁二聚酯(cyclobutene pyrimidine dimers, CPD)、具有强螺旋扭曲特性的(6,4)光产物(pyrimidine-pyrimidone photoproduct, PP)^[40-41]、脱氧尿苷、8-氧腺嘌呤(8-oxyadenine, 8oA)、8-氧鸟嘌呤(8-oxoguanine, 8oG)^[23]、胸苷二醇(thymidine glycol, TG)^[31]、烷基化损伤^[42-43]、无碱基损伤^[44]、烟草相关诱变剂产生的鸟嘌呤加合物^[4]的损伤、双链断裂^[5, 24-25, 45]以及DNA发夹、RNA:DNA杂合体等非正规的DNA结构^[25].

RNAPII在感知DNA损伤时,不与受损的碱基直接发生作用,而是感知其转录发生障碍后引起的空间位阻(steric hindrance)^[46].装载DNA模板时,DNA下游模板需要越过BH,才能到达活性位点添加NTPs以进行正常转录,此跨越步骤(crossing-over step)需要模板发生显著的构象变化^[37, 46].但存在大规模DNA损伤的DNA链往往由于受损的碱基与RNAPII的桥螺旋结构上方相结合而不能发生正常的构象变化^[35, 37, 47],RNAPII无法正常装载DNA模板链,变位步骤受到阻碍因此发生滞留现象^[46].CPD、AP部位和5-胍海因(5-guanidinohydantoin, Gh)这几种损伤引起的DNA损伤构象也都能较为稳定地结合于桥螺旋的上方部

位, 这是RNAPII的Rpb1亚基中Arg337与损伤的DNA链磷酸基团相互作用的结果, 而在正常转录过程中, 该状态是短暂存在的^[46]. DNA碱基胞嘧啶甲基化修饰的中间物5-羧基胞嘧啶

(5-carboxylcytosine, 5caC)也与RNAPII的桥螺旋结构上方结合, Rpb2亚基通过Q513残基, 特异性识别5caC, 并最终诱导转录的停止^[35, 37](图1).

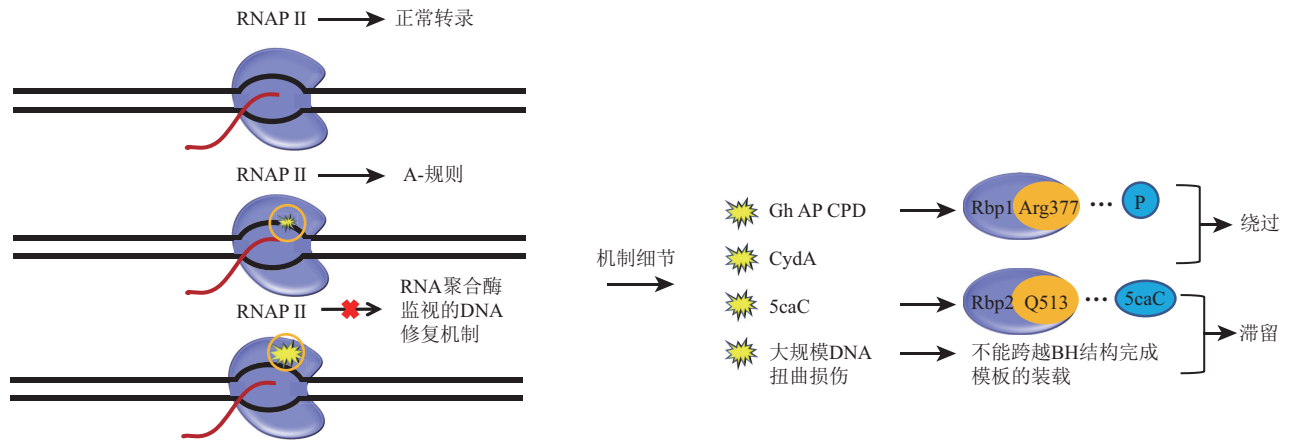


Fig. 1 RNAP II sensing mechanisms for the lesions/modifications^[35, 37, 46-47]

图1 RNAP II 识别损伤修饰机制^[35, 37, 46-47]

箭头表示反应方向, 蛋白质结构名称和化学基团如图所示, 带红色叉黑箭头指滞留反应、黑色实线代表DNA单链、暗红色曲线代表RNA、黑色虚线代表氢键、黄色星号表示损伤和其部位.

当遇到较小的损伤如CPD、AP、Gh时, RNAPII虽然受到阻碍, 但不足以被滞留^[37, 46-47]. 在这种状态下, RNAPII缓慢的经过损伤位点, 并不依赖于模板的AMP优先的碱基错误掺入, 导致转录产物mRNA中相对损伤的位点突变, 这种易错的修复方式(error-prone transcriptional bypass)被称作A规则(A-rule)^[37](图1). 形成的含有错误碱基的RNA:DNA杂合链在穿过杂合链通道(hybrid binding channel)时也会受到严重阻碍, 不过在8oA损伤研究中发现这种延伸受阻现象仅出现于损伤后的3 nt内, 当移动足够远时, 杂合链的任何变形都可以被容忍, 以便RNAPII发挥更快的催化作用^[31]. 这种以掺入错误碱基选择绕过损伤的方式也与触发环结构域闭合状态相关^[46]. 在原核生物中, 也存在易错修复方式^[48-49]. 此外, 不同生物的RNAP应对不同的损伤^[31]. 与噬菌体、细菌、真核生物的RNAP相比, 古细菌的RNAP具有更高的敏感度, 能识别并滞留在多种损伤处^[31](表2).

Table 2 RNAP arrest at DNA lesions^[31]

表2 DNA损伤处RNAP的滞留情况^[31]

	噬菌体	细菌	古细菌	真核生物RNAPII
AP	-/+	-	+	-/+
8oG	-/+	-	+	-/+
8oA	+	n.d.	+	+
TG	+	n.d.	+	-/+
dU	-	-	-/+	-

-表示不滞留, +表示滞留, n.d.表示未确定.

2 RNAP监视的DNA损伤修复机制

在RNAP监视的DNA损伤修复过程中, 滞留的RNAP信号会被转录偶联修复因子识别, RNAP可以从模板链解离(dissociated)^[50]、回溯变位(backtracked)^[51]、降解(degraded)^[52], 并引发后续修复蛋白的组装和修复.

2.1 滞留RNAP解离和修复启动

细菌中*mfd*基因的缺失会导致基因突变率下降^[53-54], 其编码的转录偶联修复因子Mfd(mutation frequency decline)介导RNAP-S-NER过程^[55]. Mfd识别并结合转录模板链上滞留的RNAP, 利用其转位酶活性, 使RNAP从DNA模

板链上解离下来，并招募NER修复因子、DNA Pol I、DNA连接酶完成DNA的损伤修复^[56]（图2）。Mfd具有D1~D7等多个结构域，N端的D1a、D2、D1b组成UvrB的同源组件（UvrB homology module, BHM），可与UvrA相互作用；D4能与RNAP的β亚基相互作用；D5、D6是马达结构域，驱动Mfd在DNA上的变位^[55]；D7与N端相互作用

用，使蛋白质处于无活性构象，只有与RNAP相互作用，Mfd才能稳定结合于DNA链，发挥移位酶的活性^[56-57]。

“Mfd释放追赶”模型（release and catch-up model）说明Mfd可以独自在裸露的DNA链上移位以搜索滞留的转录延伸复合物^[58]，有体内实验证明Mfd可单独结合于双链DNA^[57]。Mfd在DNA链上通过转位酶结构域的TD1、TD2交替步向前移位，但运动速度慢、持续时间短，如果遇到滞留的RNAP，Mfd会与RNAP发生相互作用，并更稳定地与DNA结合^[58]。单分子实验验证了Mfd与RNAP的结合，并表明细胞中通常处于“关闭状态”——无活性构象的Mfd，遇到滞留在模板链上的RNAP便通过其D4结构域与RNAP的β亚基相互作用，引起D2-D7抑制型构象发生变化，并激活其转位酶活性^[57]。借助ATP水解提供的能量，Mfd取代RNAP使其从DNA模板解离，从而暴露出模板链上的损伤部位^[55]，同时Mfd也露出BHM结构域，并招募结合UvrA^[11]。细胞内单分子研究验证UvrA远端的ATP酶位点催化ATP水解，使UvrA二聚体与Mfd结合，并导致移位停止，同时招募UvrB，形成Mfd-2UvrA-UvrB复合物，随后UvrA近端ATP酶催化ATP水解，使UvrB通过β发夹与DNA结合，并最终导致2UvrA与Mfd同时解离^[11, 56]。后续招募的UvrD和UvrC分别发挥移除损伤单核苷酸链和切除DNA的作用，其形成的缺口由DNA聚合酶和DNA连接酶修复完全^[55]。值得一提的是，Mfd可以解离模板链上较强损伤处的RNAP，也能促进较弱损伤处RNAP的变位而跨越损伤^[58]。事实上，Mfd可与非NER因子共同作用，以一种易错的方式修复DNA损伤^[48-49]。当DNA复制叉与转录中的RNAP发生碰撞时，Mfd可通过促进RNAP的变位，促使碰撞后的复制叉直接重启^[16]，但在低核苷酸浓度下，RNAP大多选择滞留，此时Mfd会增强转录终止^[58]。

DksA，以Mfd类似方式，也会解离滞留在DNA损伤处的RNAP，进而修复DNA模板上的损伤^[59]。DksA是由151个氨基酸组成的转录因子，具有5条α螺旋，分成3个结构域^[60]。分别是球形结构域（G domain）、卷曲螺旋结构域（CC domain）、C端结构域^[61]。DksA通过CC结构域进入RNAP的次级通道与RNAP相互作用，但并不与活跃的转录复合物结合^[62]。DksA单独与RNAP的相互作用使得RNAP的DNA结合主通道βlobe/i4结

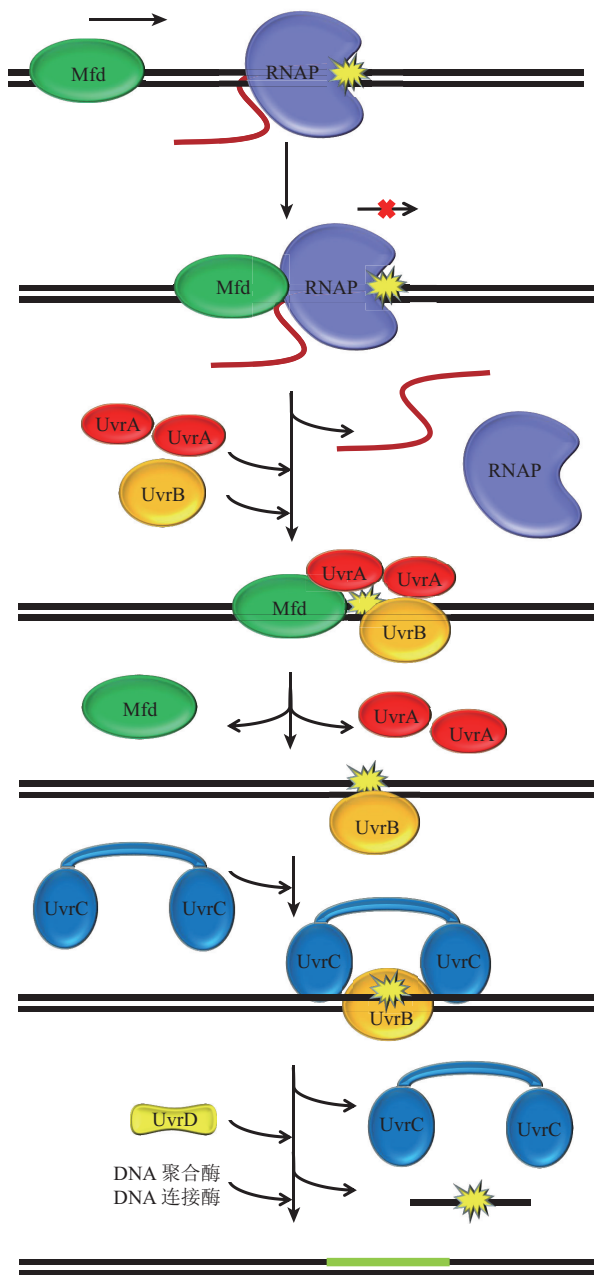


Fig. 2 The Mfd-mediated mechanism of RNAP-S repair^[11, 55-56]

图2 Mfd介导的RNAP-S修复机制^[11, 55-56]

箭头表示反应方向，蛋白质名称如图所示，带红色叉黑箭头指滞留反应、黑色线代表DNA单链、绿色线代表修复DNA链、暗红色曲线代表RNA、黄色星号表示损伤部位。

构域发生变化, 从而破坏RNAP的稳定性^[59]. 不过, 体外研究表明, DksA并不影响RNAP稳定性^[59]. DksA单独与RNAP的结合会降低RNAP-DNA稳定性, 有助于移除RNAP而暴露损伤的DNA片段, 但此过程并不破坏RNA:DNA杂合体, RNA还可为DNA合成作引物^[59, 63].

不同诱导剂引发的DNA双链断裂损伤中, DksA的应答存在差异^[59, 62]. 对腐草霉素(phleomycin)诱导所产生DNA的DSB损伤, DksA以一种被动作用的方式参与RNAP-S修复^[62]. DksA和GreA同为RNAP次级通道的结合因子. 与ppGpp协同^[19], DksA可通过与反回溯因子GreA竞争性结合RNAP次级通道而增强UvrD的回溯作用^[62]. 对萘啶酸(nalidixic acid, Nal)诱导产生的带有拓扑异构酶复合物的DSB损伤来说, DksA是必须的^[59]. 此时DksA不依赖于ppGpp, 而是直接促进RNAP的移除但并不发生RNA的解离^[59].

2.2 UvrD回溯滞留RNAP并招募修复蛋白

UvrD属于解旋酶超家族I, 在革兰氏阳性菌中也被称为解旋酶II^[64]. UvrD在DNA损伤修复中是必要的, 其缺失引起菌株突变率的明显上升^[53]. 作为NER系统的修复因子之一, 它具有依赖于ATP的解旋酶活性和从DNA链3'到5'端运动的解旋酶活性, 将UvrC切割产生的DNA损伤单链移出双螺旋^[55], 其活性受到单体和二聚体形式转换的调控^[65]. UvrD作为一种转录偶联修复因子, 直接与滞留的RNAP相互作用, 使其发生回溯, 暴露损伤部位, 继而组装修复蛋白并修复损伤^[53].

UvrD包含1A、2A、1B、2B以及C端类似Tudor的结构域^[64, 66]. 1A、2A具有ATP结合位点, 1B与DNA结合有关, 2B与UvrD在DNA上的驱动有关^[64]; 其C端包含由5条高度弯曲的反平行 β 折叠形成的桶形Tudor结构, 能够与RNAP相互作用, 但并不是主要的与RNAP相互作用结构^[66].

UvrD结合于转录泡上游分支的部位, UvrD与NusA和RNAP相互作用形成回溯复合物(backtracking complex), NusA的结合增强了整个复合物的滞留^[67]. 在ATP水解作用下, UvrD以二聚体形式, 将RNAP延伸复合物沿DNA链从3'到5'方向, 向后拉动而回溯^[65]. UvrD与DksA和ppGpp的协同作用, 有助于打开RNAP钳部分, 从而促进UvrD介导的回溯作用, 并暴露出DNA损伤位点^[19, 65]. 随后损伤部位被NER修复因子、DNA

Pol I和连接酶所修复^[67].

2.3 真核细胞CSB及其泛素化介导的RNAP-S修复

Mfd的真核生物同源蛋白为科凯恩综合征B蛋白(Cockayne syndrome protein B, CSB), 同样实施RNAP-S修复^[68-69]. 这个经典途径进化上非常保守, 从植物到哺乳动物都有, 但果蝇却没有这个途径^[68-69]. CSB与因模板DNA损伤而滞留的RNAPII相互作用, 促进RNAPII变位, 暴露出损伤部位从而实施RNAP-S修复过程^[70]. CSB是一种SWI2/SNF2蛋白, 中央区域包含DNA依赖性ATPase功能域, 具有解旋酶基序^[40, 70]; C端区域包含泛素结合域(ubiquitin binding domains, UBD), 有研究表明UBD与泛素的结合在RNAP-S修复途径中起着重要的作用^[71].

首先, CSB与滞留在模板上的RNAPII结合, 并通过其CSA作用基序(CSA-interaction motif, CIM)招募CSA, 而CSA与UVSSA的N端结构域相互作用, 从而将UVSSA招募至滞留的RNAPII^[70]. 随后, UVSSA与转录因子TFIIH直接相互作用并将其招募至损伤处, 后者开始引导核苷酸切除修复过程^[70](图3). 在此过程中, CSB、CSA和UVSSA以一种协同作用的方式将TFIIH招募至RNAPII滞留处, 并稳定彼此的相互作用. 例如: CSB稳定CSA与UVSSA之间的相互作用, CSA稳定UVSSA与TFIIH的结合, 以促进TFIIH的招募^[70](图3). 然而, 滞留的RNAPII是否与模板DNA发生解离或是降解而暴露损伤部位尚不清楚; UVSSA是通过与RNAPII组成性结合还是通过与CSA或CSB结合来参与RNAP-S-NER过程, 还有待深入研究^[70].

CSB也能介导易错(error-prone transcriptional bypass)DNA损伤修复. 如酵母有Rad26依赖性和Rad26非依赖性易错修复方式, Rad26是CSB的同源蛋白^[72-73]. 当遇到较小模板损伤时, 正在进行转录的RNAPII不足以被滞留^[37, 47], Rad26利用其保守的Swi2/Snf2家族核心ATP酶结构域促进RNAPII前行^[47, 74], RNAPII以A规则方式跨过损伤, 发生不依赖于模板的AMP优先的错误碱基掺入(图1), 产生突变mRNA^[46]. 真核生物不同细胞的RNAP-S-NER活性存在差别^[75], RNAP-S修复过程也受到更多因素的调控. 在人类细胞CSB介导的修复中, 去泛素化酶USP7特异性水解分离CSB与其他蛋白质的结合, 从而发挥微调

RNAP-S-NER的作用^[76]；USP7也能防止UVSSA被泛素化降解^[77]；RNAPII亚基K1268位点的泛素化会相继促进UVSSA和TFIIH对RNAPII的结合(图3)，此位点未泛素化将造成一系列异常现象^[78]。RNAP II的滞留是CSB SUMO (small ubiquitin-related modifier protein, SUMO) 化的前提，CSA调节CSB的SUMO化，使其对DNA损伤产生不稳定，二者与泛素化的RNAPII相互作用，共同促进有效的RNAP-S-NER^[40]。此外，还有其他因素参与调控RNAP-S修复过程，如AKT1、抗肿瘤药物埃克泰纳西丁743 (Et743)、miR-521^[79]、

SIRT2蛋白^[80]、酪氨酸激酶c-Ab1^[81]。MPK-1/EPK途径可提高RNAP-S-NER途径的活性^[39]，选择性剪接可增强DNA损伤信号^[51]。

2.4 真核细胞OGG1修复过程

当真核细胞遭受氧化损伤时，鸟嘌呤氧化突变为8-氧-7,8-二氢鸟嘌呤(7,8-dihydro-8-oxoguanine, 8-oxoG)^[82]。8-oxoG是一种常见的DNA氧化损伤，在复制过程中容易与A发生错配从而产生突变^[82]。这种DNA氧化损伤主要由OGG1起始的BER途径来修复^[83-84]。OGG1是一种羰基化酶，能够攻击N-糖基键从而切掉氧化的碱基，并引发RNAP-S-BER修复^[85]。OGG1在DNA上去除氧化碱基，引发RNAPII滞留在BER中间结构上，随后CSB结合募集BER机器^[23]。CSB与BER蛋白^[86]相互作用或启动滞留的RNAPII复合物重塑，并启动BER系统^[23]。之后，AP核酸内切酶1 (apurinic-apyrimidinic endonuclease 1, APE1) 切割无碱基戊糖两侧磷酸二酯键产生单核苷酸缺口，并由DNA聚合酶 β 和XRCC1-连接酶3进行填补^[87](图4)。有趣的是，大部分的氧化损伤并非引起RNAPII强烈滞留，而是被RNAPII绕过，并采用A规则修复模式^[23, 88]。

2.5 RNAPIII介导的重组修复

最近研究发现RNAP III是同源重组(homologous recombination, HR)介导DNA双链断裂(double-strand break, DSB)修复的重要因子，主要负责在DSB处合成RNA链^[34]。在真核细胞中，RNAPIII负责RNA合成并形成关键的HR修复中间体(RNA: DNA杂合体)来保护3'端链。首先，RNAPIII由MRN (MRE11、RAD50和NBS1)复合物招募至DSB处；CtIP与MRN的核酸酶活性启动DSB处RNAPIII介导的RNA合成，新合成的RNA链与ssDNA 3'突出端瞬时形成RNA-DNA杂合体，以实现对3'突出端的保护，保证在HR末端切除步骤中从5'端链去除核苷酸而3'端链可免于降解。对ssDNA 3'突出端的保护可以确保后续HR的进行，便于姐妹染色单体或邻近互补DNA分子的入侵。MRN和CtIP最初发挥核酸酶活性切除5'端链核苷酸，并在其互补链3'端暴露几十至数百个核苷酸的ssDNA区域，RNAPIII利用该ssDNA区域作为模板合成RNA^[34]。

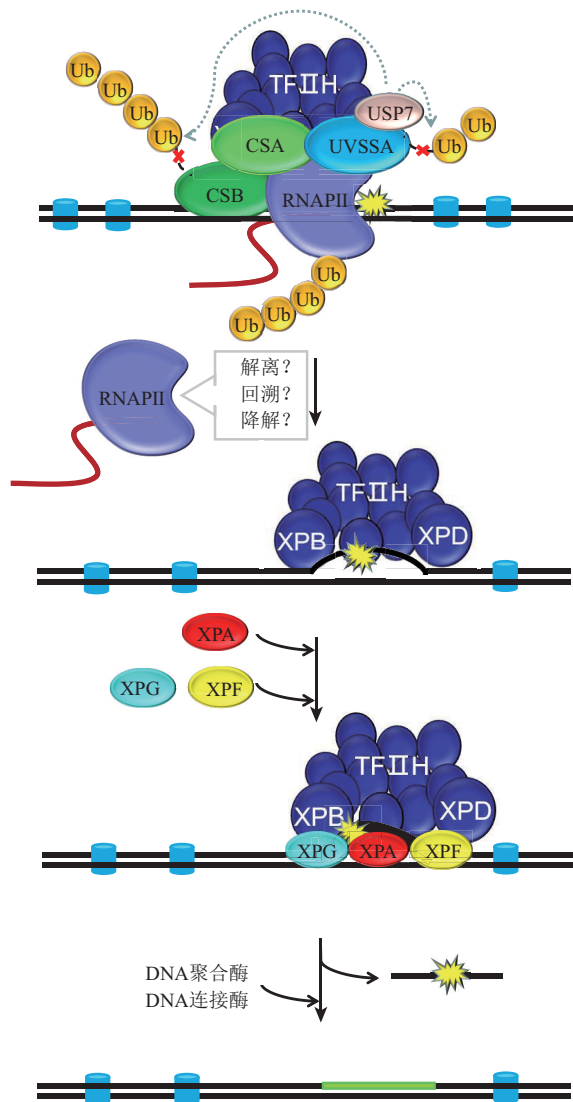


Fig. 3 CSB mediated RNAP-S repair model^[40, 76-77, 79]

图3 CSB介导的RNAP-S修复模型^[40, 76-77, 79]

箭头表示反应方向、蛋白质名称如图所示，蓝色虚线箭头表示泛素化、黑色线代表DNA单链、绿色线代表修复DNA链、暗红色曲线代表RNA、黄色星号表示损伤部位、蓝色圆柱代表核小体。

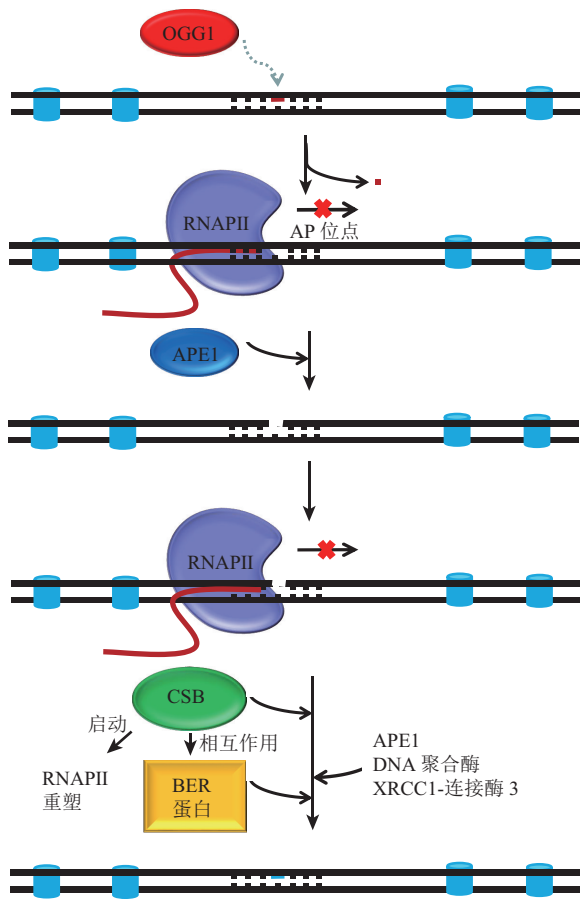


Fig. 4 OGG1 mediated RNAP-S repair model [24, 86-88]

图4 OGG1介导的RNAP-S修复模型 [24, 86-88]

箭头表示反应方向, 蛋白质名称如图所示, 带红色叉黑箭头指滞留反应; 黑色线代表DNA单链; 暗红色曲线代表RNA; 黄色星号表示损伤部位; 暗红色碱基代表错误碱基; 蓝色碱基代表修复后的正确碱基; 蓝色圆柱代表核小体。

3 RNAP-S偶联DNA修复的生物学意义

3.1 确保基因组的稳定

RNAP-S修复是多种DNA损伤修复中的一种机制, 也是基因编码成蛋白质之前, 最后关键的修复机制。如果RNAP-S修复出现问题, 会引起: mRNA转录失败^[54]、所编码蛋白质的突变^[49]和基因组的不稳定^[53], 最终可能引起细胞的死亡^[53]。的确, RNAP在模板DNA损伤处长期滞留导致错误碱基掺入, 从而引起RNAP-S修复的失败^[1], 进而可能引起基因组的不稳定, 威胁细胞的存活^[53-54]。土壤细菌恋臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) UvrD对细胞的存活是必要的, 其缺失突变导致处于指数期和稳定期细胞的突变率升高和基因组的不稳定^[53]。删除枯草芽孢杆菌 (*Bacillus*

subtilis) *disA*和*mfd*基因, 会延迟孢子核仁的第一次分裂与孢子的萌发而引发细胞生长障碍^[54]。Mfd和UvrD蛋白的缺失导致RNAP长期滞留在模板DNA损伤处, 阻碍了转录和DNA复制^[54]。研究表明, 枯草芽孢杆菌Mfd能与MMR因子MutY共同作用而介导DNA的易错修复, 尤其在AP位点容易发生易错修复^[49]。在此过程中, Mfd可能解离滞留的RNAP, 而MutY在AP位点掺入错误碱基, 因而产生突变^[49]。枯草芽孢杆菌在营养胁迫下, Mfd与GreA协同以易错的方式应对自发的非大规模DNA损伤进行修复^[48]。具体过程是, 滞留的RNAP与GreA形成复合物, 招募Mfd使RNAP脱离模板DNA, 并允许BER系统以易错的方式修复损伤从而引入突变^[48]。这种胁迫环境下产生的突变对细菌的生存具有重要意义, 提高了遗传多样性, 有利于细胞逃离限制生长的条件, 增强了细胞对环境的适应能力^[48-49]。

3.2 RNAP-S修复防御疾病

RNAP-S修复对基因组的稳定性、维持有重要作用, 影响细胞的存活率和生物体对癌症的防御^[1]。在哺乳动物中, RNAP-S修复相关因子异常会造成RNAPII的持续滞留^[51], 从而引起转录的异常^[52, 89], 后者引起细胞周期滞留和凋亡^[1]。最典型的例子如: 与RNAP-S修复缺陷有关的柯凯恩综合征 (Cockayne syndrome, CS) 和紫外线敏感综合征 (UV-sensitive syndrome, UVSS)。其中, 柯凯恩综合征是一种严重的常染色体隐性疾病^[40], 由CSA/ERCC8或CSB/ERCC6基因突变导致RNAP-S-NER缺陷而引起^[40, 90-92]。柯凯恩综合征的诊断特征是紫外线照射后患者成纤维细胞中RNA合成的恢复不良^[93], 其主要神经病理学特征是智力低下和严重脑萎缩的结合, 患者表现为发育异常、过早衰老和渐进性神经退化^[91]。这些临床特征可能是由相关基因的转录错误调节或者细胞毒性相关的RNAPII长期滞留引起的^[90]。的确, 经过紫外线处理的*csa-1*和*csb-1*基因突变线虫出现发育和生长滞留状态^[39]。紫外线敏感综合征是由ERCC8、ERCC6和UVSSA基因突变引起的RNAP-S-NER机制缺陷所致^[94]。患者对光敏感, 日晒过度色素沉着, 出现雀斑和干燥^[94]。RNAP-S修复途径受损也与视网膜退行性疾病^[95]、范科尼贫血^[96]、肺癌^[97]、亨廷顿氏病^[7]等疾病有关。而且, 缺乏RNAP必要的泛素化修饰, 会导致小鼠出现寿命短、早衰、神经退行性变化等病症^[90]。还有研究

发现, 致癌增强子中的RNAP-S-NER影响癌基因表达水平^[5], 是造成人反转录转座子L1基因组偏向插入的主要原因^[98].

4 展 望

DNA损伤修复是确保基因组稳定的重要生命过程, 也是确保生命遗传稳定的重要环节, DNA修复缺陷会引起包括肿瘤等多种疾病^[40, 90-92]. 半个多世纪以来, DNA损伤修复研究一直是分子生物学热点领域, Lindahl、Modrich和Sancar三位科学家因为DNA连接酶、错配修复、光修复以及核苷酸切割修复系统的发现, 2015年分享了诺贝尔化学奖. 目前, 人们已经较深入地了解了DNA损伤修复, 并揭示了多种DNA损伤修复途径, 其中包括本文讨论的RNAP-S修复. RNAP-S修复是确保遗传信息正确转录和翻译的最后关卡, 如果模板DNA不能够被修复则产生突变mRNA和其突变蛋白, 后者将不能发挥正常生物功能, 导致细胞生长受阻或死亡^[1], 对个体而言将引起不同疾病^[40, 90-92]. 然而, RNAP-S修复与其他细胞过程是否有联系? 在原核细胞研究中, 我们发现复制起始蛋白DnaA不仅调控DNA复制起始, 还调节SOS基因表达, 从而协同DNA复制与修复^[99]; 最近研究揭示*dnaA dam*突变体存活依赖于错配修复(MutSLH)蛋白, 说明DnaA与错配修复之间的联系^[100]; 而且DnaA与RNAP有相互作用^[101]. 显然, 多功能DnaA蛋白可能是联系DNA复制与RNAP-S修复的中间因子, 然而其作用方式尚不清楚. RNAP与Mfd、DksA和CSB等蛋白质的相互作用在结构上, 对修复信号传递中的“开关”作用机制还有待于进一步研究, 特别是真核细胞RNAP-S途径的很多细节尚不明确. 随着分子生物学技术手段的革新, 如单分子生物学的发展和结构生物学的常规化, 有望通过共结晶蛋白与DNA或RNA复合物来回答这些问题.

近25年来, 科学家们揭示越来越多的非编码RNA (non-coding RNA) 结构功能, 特别是在肿瘤发生发展、细胞增殖中起着重要作用^[102]. 很多研究揭示真核细胞TERRA RNA (telomeric repeat-containing RNA) 在端粒的复制、维持和基因组稳定中发挥重要作用^[103]; 而且TERRA RNA在端粒介导形成R-loop, 后者激活同源重组而参与维持端粒稳定性^[103]. 因此, 非编码RNA在RNAP-S修复中有可能发挥作用. 用新近发展起来的RIC-seq

(RNA *in situ* conformation sequencing) 技术^[104], 通过揭示RNA-蛋白质和RNA-RNA相互作用, 有望开辟探究非编码RNA在RNAP-S修复中作用的研究领域.

值得强调的是, 科学家们发现用药物抑制MTH1会选择性地阻止肿瘤细胞的生长^[105], MTH1蛋白可以清除氧化损伤而净化dNTP库. 这个发现为通过调控DNA损伤途径来治疗肿瘤等疾病提供了新思路. 或许不久的将来, 人们可以靶向抑制或加强RNAP-S修复系统来治疗人类不同疾病.

参 考 文 献

- [1] Pani B, Nudler E. Mechanistic insights into transcription coupled DNA repair. *DNA Repair (Amst)*, 2017, **56**: 42-50
- [2] Chatterjee N, Walker G C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*, 2017, **58**(5): 235-263
- [3] Anand S K, Sharma A, Singh N, *et al.* Entrenching role of cell cycle checkpoints and autophagy for maintenance of genomic integrity. *DNA Repair (Amst)*, 2020, **86**: 102748
- [4] Kucab J E, Zou X, Morganello S, *et al.* A compendium of mutational signatures of environmental agents. *Cell*, 2019, **177**(4): 821-836
- [5] Hazan I, Monin J, Bouwman B A M, *et al.* Activation of oncogenic super-enhancers is coupled with DNA repair by RAD51. *Cell Reports*, 2019, **29**(3): 560-572
- [6] Slyskova J, Sabatella M, Ribeiro-Silva C, *et al.* Base and nucleotide excision repair facilitate resolution of platinum drug-induced transcription blockage. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46**(18): 9537-9549
- [7] Gao R, Chakraborty A, Geater C, *et al.* Mutant huntingtin impairs PNKP and ATXN3, disrupting DNA repair and transcription. *Elife*, 2019, **8**: e42988
- [8] Watson J D, Baker T A, Bell S P, *et al.* *Molecular Biology of the Gene*. 7th Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 2014: 320-338
- [9] Strzalka W, Zgłobicki P, Kowalska E, *et al.* The dark side of UV-induced DNA lesion repair. *Genes*, 2020, **11**(12): 1450
- [10] Li Z, Pearlman A H, Hsieh P. DNA mismatch repair and the DNA damage response. *DNA Repair (Amst)*, 2016, **38**: 94-101
- [11] Ghodke H, Ho H N, Van Oijen A M. Single-molecule live-cell imaging visualizes parallel pathways of prokaryotic nucleotide excision repair. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1477
- [12] Courcelle J, Wendel B M, Livingstone D D, *et al.* RecBCD is required to complete chromosomal replication: implications for double-strand break frequencies and repair mechanisms. *DNA Repair (Amst)*, 2015, **32**: 86-95
- [13] Zhao L, Washington M T. Translesion synthesis: insights into the selection and switching of DNA polymerases. *Genes*, 2017, **8**(1): 24
- [14] Portman J R, Strick T R. Transcription-coupled repair and complex

- biology. *J Mol Biol*, 2018, **430**(22): 4496-4512
- [15] Krisko A, Radman M. Biology of extreme radiation resistance: the way of *Deinococcus radiodurans*. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, **5**(7): a012765
- [16] Pomerantz R T, O'donnell M. Direct restart of a replication fork stalled by a head-on RNA polymerase. *Science*, 2010, **327**(5965): 590-592
- [17] Lesch B J. Sperm go to (transcription) extremes. *Cell*, 2020, **180**(2): 212-213
- [18] Georgakopoulos-Soares I, Koh G, Momen S E, *et al*. Transcription-coupled repair and mismatch repair contribute towards preserving genome integrity at mononucleotide repeat tracts. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1980
- [19] Kamarthapu V, Epshtein V, Benjamin B, *et al*. PpGpp couples transcription to DNA repair in *E. coli*. *Science*, 2016, **352**(6288): 993-996
- [20] Oztas O, Selby C P, Sancar A, *et al*. Genome-wide excision repair in *Arabidopsis* is coupled to transcription and reflects circadian gene expression patterns. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1503
- [21] Lommel L, Gregory S M, Becker K I, *et al*. Transcription-coupled DNA repair in yeast transcription factor IIE (TFIIE) mutants. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**(3): 835-842
- [22] Gregersen L H, Svejstrup J Q. The cellular response to transcription-blocking DNA damage. *Trends Biochem Sci*, 2018, **43**(5): 327-341
- [23] Lans H, Hoeijmakers J H J, Vermeulen W, *et al*. The DNA damage response to transcription stress. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, **20**(12): 766-784
- [24] Evangelista F M, Maglott-Roth A, Stierle M, *et al*. Transcription and mRNA export machineries SAGA and TREX-2 maintain monoubiquitinated H2B balance required for DNA repair. *J Cell Biol*, 2018, **217**(10): 3382-3397
- [25] Puget N, Miller K M, Legube G. Non-canonical DNA/RNA structures during transcription-coupled double-strand break repair: roadblocks or bona fide repair intermediates?. *DNA Repair (Amst)*, 2019, **81**: 102661
- [26] Burns J A, Chowdhury M A, Cartularo L, *et al*. Genetic instability associated with loop or stem-loop structures within transcription units can be independent of nucleotide excision repair. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46**(7): 3498-3516
- [27] Hao N, Krishna S, Ahlgren-Berg A, *et al*. Road rules for traffic on DNA-systematic analysis of transcriptional roadblocking *in vivo*. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(14): 8861-8872
- [28] Pupov D, Ignatov A, Agapov A, *et al*. Distinct effects of DNA lesions on RNA synthesis by *Escherichia coli* RNA polymerase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, **510**(1): 122-127
- [29] Vörös Z, Yan Y, Kovari D T, *et al*. Proteins mediating DNA loops effectively block transcription. *Protein Sci*, 2017, **26**(7): 1427-1438
- [30] Abril A G, Rama J L R, Sánchez-Pérez A, *et al*. Prokaryotic sigma factors and their transcriptional counterparts in Archaea and Eukarya. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, **104**(10): 4289-4302
- [31] Gehring A M, Santangelo T J. Archaeal RNA polymerase arrests transcription at DNA lesions. *Transcription*, 2017, **8**(5): 288-296
- [32] Sentenac A. Eukaryotic RNA polymerases. *CRC Crit Rev Biochem*, 1985, **18**(1): 31-90
- [33] Weinmann R, Roeder R G. Role of DNA-dependent RNA polymerase 3 in the transcription of the tRNA and 5S RNA genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, **71**(5): 1790-1794
- [34] Liu S, Hua Y, Wang J, *et al*. RNA polymerase III is required for the repair of DNA double-strand breaks by homologous recombination. *Cell*, 2021, **184**(5): 1314-1329
- [35] Shin J H, Xu L, Wang D. RNA polymerase II acts as a selective sensor for DNA lesions and endogenous DNA modifications. *Transcription*, 2016, **7**(3): 57-62
- [36] Hahn S. Structure and mechanism of the RNA polymerase II transcription machinery. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, **11**(5): 394-403
- [37] Shin J H, Xu L, Wang D. Mechanism of transcription-coupled DNA modification recognition. *Cell Biosci*, 2017, **7**: 9
- [38] Harlen K M, Churchman L S. The code and beyond: transcription regulation by the RNA polymerase II carboxy-terminal domain. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, **18**(4): 263-273
- [39] Bianco J N, Schumacher B. MPK-1/ERK pathway regulates DNA damage response during development through DAF-16/FOXO. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46**(12): 6129-6139
- [40] Liebelt F, Schimmel J, Verlaan-De Vries M, *et al*. Transcription-coupled nucleotide excision repair is coordinated by ubiquitin and SUMO in response to ultraviolet irradiation. *Nucleic Acids Res*, 2020, **48**(1): 231-248
- [41] Marteiijn J A, Lans H, Vermeulen W, *et al*. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, **15**(7): 465-481
- [42] Brickner J R, Townley B A, Mosammamaparast N. Intersections between transcription-coupled repair and alkylation damage reversal. *DNA Repair (Amst)*, 2019, **81**: 102663
- [43] Pimpley M R, Foley M L, Latimer J J. New perspectives on unscheduled DNA synthesis: functional assay for global genomic DNA nucleotide excision repair. *Methods Mol Biol*, 2020, **2102**: 483-507
- [44] Kitsera N, Rodriguez-Alvarez M, Emmert S, *et al*. Nucleotide excision repair of abasic DNA lesions. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(16): 8537-8547
- [45] Ji J H, Min S, Chae S, *et al*. *De novo* phosphorylation of H2AX by WSTF regulates transcription-coupled homologous recombination repair. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(12): 6299-6314
- [46] Oh J, Xu J, Chong J, *et al*. Molecular basis of transcriptional pausing, stalling, and transcription-coupled repair initiation. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2021, **1864**(1): 194659
- [47] Wang W, Xu J, Chong J, *et al*. Structural basis of DNA lesion recognition for eukaryotic transcription-coupled nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst)*, 2018, **71**: 43-55
- [48] Leyva-Sánchez H C, Villegas-Negrete N, Abundiz-Yañez K, *et al*. Role of Mfd and GreA in *Bacillus subtilis* base excision repair-dependent stationary-phase mutagenesis. *J Bacteriol*, 2020,

- 202(9): e00807-e00819
- [49] Martin H A, Porter K E, Vallin C, *et al.* Mfd protects against oxidative stress in *Bacillus subtilis* independently of its canonical function in DNA repair. *BMC Microbiol*, 2019, **19**(1): 26
- [50] Chiou Y Y, Hu J, Sancar A, *et al.* RNA polymerase II is released from the DNA template during transcription-coupled repair in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2018, **293**(7): 2476-2486
- [51] Geijer M E, Martejn J A. What happens at the lesion does not stay at the lesion: transcription-coupled nucleotide excision repair and the effects of DNA damage on transcription in cis and trans. *DNA Repair (Amst)*, 2018, **71**: 56-68
- [52] Tufegdžić Vidaković A, Mitter R, Kelly G P, *et al.* Regulation of the RNAPII pool is integral to the DNA damage response. *Cell*, 2020, **180**(6): 1245-1261
- [53] Ukkivi K, Kivisaar M. Involvement of transcription-coupled repair factor Mfd and DNA helicase UvrD in mutational processes in *Pseudomonas putida*. *DNA Repair (Amst)*, 2018, **72**: 18-27
- [54] Valenzuela-García L I, Ayala-García V M, Regalado-García A G, *et al.* Transcriptional coupling (Mfd) and DNA damage scanning (DisA) coordinate excision repair events for efficient *Bacillus subtilis* spore outgrowth. *Microbiologyopen*, 2018, **7**(5): e00593
- [55] Strick T R, Portman J R. Transcription-coupled repair: from cells to single molecules and back again. *J Mol Biol*, 2019, **431**(20): 4093-4102
- [56] Ho H N, Van Oijen A M, Ghodke H. Single-molecule imaging reveals molecular coupling between transcription and DNA repair machinery in live cells. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1478
- [57] Ho H N, Van Oijen A M, Ghodke H. The transcription-repair coupling factor Mfd associates with RNA polymerase in the absence of exogenous damage. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1570
- [58] Le T T, Yang Y, Tan C, *et al.* Mfd dynamically regulates transcription *via* a release and catch-up mechanism. *Cell*, 2018, **173**(7): 1823
- [59] Myka K K, Küsters K, Washburn R, *et al.* DksA-RNA polymerase interactions support new origin formation and DNA repair in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2019, **111**(5): 1382-1397
- [60] Ross W, Sanchez-Vazquez P, Chen A Y, *et al.* PpGpp binding to a site at the RNAP-DksA interface accounts for its dramatic effects on transcription initiation during the stringent response. *Mol Cell*, 2016, **62**(6): 811-823
- [61] Molodtsov V, Sineva E, Zhang L, *et al.* Allosteric effector ppGpp potentiates the inhibition of transcript initiation by DksA. *Mol Cell*, 2018, **69**(5): 828-839
- [62] Sivaramakrishnan P, Sepúlveda L A, Halliday J A, *et al.* The transcription fidelity factor GreA impedes DNA break repair. *Nature*, 2017, **550**(7675): 214-218
- [63] Myka K K, Gottesman M E. DksA and DNA double-strand break repair. *Curr Genet*, 2019, **65**(6): 1297-1300
- [64] Sanders K, Lin C L, Smith A J, *et al.* The structure and function of an RNA polymerase interaction domain in the PcrA/UvrD helicase. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(7): 3875-3887
- [65] Rasouly A, Pani B, Nudler E. A magic spot in genome maintenance. *Trends Genet*, 2017, **33**(1): 58-67
- [66] Kawale A A, Burmann B M. UvrD helicase-RNA polymerase interactions are governed by UvrD's carboxy-terminal Tudor domain. *Commun Biol*, 2020, **3**(1): 607
- [67] Epshtein V, Kamarthapu V, Mcgary K, *et al.* UvrD facilitates DNA repair by pulling RNA polymerase backwards. *Nature*, 2014, **505**(7483): 372-377
- [68] Khateeb W M A, Sher A A, Marcus J M, *et al.* UVSSA, UBP12, and RDO2/TFIIS contribute to *Arabidopsis* UV tolerance. *Front Plant Sci*, 2019, **10**: 516
- [69] Deger N, Yang Y, Lindsey-Boltz L A, *et al.* *Drosophila*, which lacks canonical transcription-coupled repair proteins, performs transcription-coupled repair. *J Biol Chem*, 2019, **294**(48): 18092-18098
- [70] Van Der Weegen Y, Golan-Berman H, Mevissen T E T, *et al.* The cooperative action of CSB, CSA, and UVSSA target TFIIF to DNA damage-stalled RNA polymerase II. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 2104
- [71] Takahashi T S, Sato Y, Yamagata A, *et al.* Structural basis of ubiquitin recognition by the winged-helix domain of Cockayne syndrome group B protein. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(7): 3784-3794
- [72] Selvam K, Ding B, Sharma R, *et al.* Evidence that moderate eviction of Spt5 and promotion of error-free transcriptional bypass by Rad26 facilitates transcription coupled nucleotide excision repair. *J Mol Biol*, 2019, **431**(7): 1322-1338
- [73] Selvam K, Rahman S A, Li S. Histone H4 H75E mutation attenuates global genomic and Rad26-independent transcription-coupled nucleotide excision repair. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(14): 7392-7401
- [74] Xu J, Lahiri I, Wang W, *et al.* Structural basis for the initiation of eukaryotic transcription-coupled DNA repair. *Nature*, 2017, **551**(7682): 653-657
- [75] Cambindo Botto A E, Muñoz J C, Muñoz M J. Coupling between nucleotide excision repair and gene expression. *RNA Biol*, 2018, **15**(7): 845-848
- [76] Zhu Q, Ding N, Wei S, *et al.* USP7-mediated deubiquitination differentially regulates CSB but not UVSSA upon UV radiation-induced DNA damage. *Cell Cycle*, 2020, **19**(1): 124-141
- [77] Higa M, Tanaka K, Saijo M. Inhibition of UVSSA ubiquitination suppresses transcription-coupled nucleotide excision repair deficiency caused by dissociation from USP7. *FEBS J*, 2018, **285**(5): 965-976
- [78] Son K, Schärer O D. Repair, removal, and shutdown: it all hinges on RNA polymerase II ubiquitylation. *Cell*, 2020, **180**(6): 1039-1041
- [79] Kobaisi F, Fayyad N, Rezvani H R, *et al.* Signaling pathways, chemical and biological modulators of nucleotide excision repair: the faithful shield against UV genotoxicity. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, **2019**: 4654206
- [80] Zhang M, Du W, Acklin S, *et al.* SIRT2 protects peripheral neurons from cisplatin-induced injury by enhancing nucleotide excision

- repair. *J Clin Invest*, 2020, **130**(6): 2953-2965
- [81] Burger K, Schlackow M, Gullerova M. Tyrosine kinase c-Abl couples RNA polymerase II transcription to DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(7): 3467-3484
- [82] Boiteux S, Coste F, Castaing B. Repair of 8-oxo-7, 8-dihydroguanine in prokaryotic and eukaryotic cells: properties and biological roles of the Fpg and OGG1 DNA N-glycosylases. *Free Radic Biol Med*, 2017, **107**: 179-201
- [83] Hao W, Wang J, Zhang Y, *et al.* Enzymatically inactive OGG1 binds to DNA and steers base excision repair toward gene transcription. *FASEB J*, 2020, **34**(6): 7427-7441
- [84] Radicella J P, Dherin C, Desmaze C, *et al.* Cloning and characterization of hOGG1, a human homolog of the OGG1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(15): 8010-8015
- [85] Banerjee D, Mandal S M, Das A, *et al.* Preferential repair of oxidized base damage in the transcribed genes of mammalian cells. *J Biol Chem*, 2011, **286**(8): 6006-6016
- [86] Aamann M D, Muftuoglu M, Bohr V A, *et al.* Multiple interaction partners for Cockayne syndrome proteins: implications for genome and transcriptome maintenance. *Mech Ageing Dev*, 2013, **134**(5-6): 212-224
- [87] Wallace S S. Base excision repair: a critical player in many games. *DNA Repair (Amst)*, 2014, **19**: 14-26
- [88] Tornaletti S, Maeda L S, Hanawalt P C. Transcription arrest at an abasic site in the transcribed strand of template DNA. *Chem Res Toxicol*, 2006, **19**(9): 1215-1220
- [89] Milanese C, Bombardieri C R, Sepe S, *et al.* DNA damage and transcription stress cause ATP-mediated redesign of metabolism and potentiation of anti-oxidant buffering. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 4887
- [90] Nakazawa Y, Hara Y, Oka Y, *et al.* Ubiquitination of DNA damage-stalled RNAPII promotes transcription-coupled repair. *Cell*, 2020, **180**(6): 1228-1244
- [91] Xu Y, Wu Z, Liu L, *et al.* Rat model of cockayne syndrome neurological disease. *Cell Rep*, 2019, **29**(4): 800-809
- [92] Laugel V, Dalloz C, Durand M, *et al.* Mutation update for the CSB/ERCC6 and CSA/ERCC8 genes involved in Cockayne syndrome. *Hum Mutat*, 2010, **31**(2): 113-126
- [93] Nakazawa Y, Yamashita S, Lehmann A R, *et al.* A semi-automated non-radioactive system for measuring recovery of RNA synthesis and unscheduled DNA synthesis using ethynyluracil derivatives. *DNA Repair (Amst)*, 2010, **9**(5): 506-516
- [94] Ijaz A, Wolf S, Mandukhail S R, *et al.* UV-sensitive syndrome: whole exome sequencing identified a nonsense mutation in the gene UVSSA in two consanguineous pedigrees from Pakistan. *J Dermatol Sci*, 2019, **95**(3): 113-118
- [95] Collin G B, Gogna N, Chang B, *et al.* Mouse models of inherited retinal degeneration with photoreceptor cell loss. *Cells*, 2020, **9**(4): 931
- [96] Nowrouzi A, Sertorio M G, Akbarpour M, *et al.* Personalized assessment of normal tissue radiosensitivity *via* transcriptome response to photon, proton and carbon irradiation in patient-derived human intestinal organoids. *Cancers*, 2020, **12**(2): 469
- [97] Yang Z, Liu C, Wu H, *et al.* CSB affected on the sensitivity of lung cancer cells to platinum-based drugs through the global decrease of let-7 and miR-29. *BMC Cancer*, 2019, **19**(1): 948
- [98] Servant G, Strevva V A, Deininger P L. Transcription coupled repair and biased insertion of human retrotransposon L1 in transcribed genes. *Mob DNA*, 2017, **8**: 18
- [99] Wurihan, Gezi, Brambilla E, *et al.* DnaA and LexA proteins regulate transcription of the *uvrB* Gene in *Escherichia coli*: the role of DnaA in the control of the SOS regulon. *Front Microbiol*, 2018, **9**: 1212
- [100] Raghunathan N, Goswami S, Leela J K, *et al.* A new role for *Escherichia coli* Dam DNA methylase in prevention of aberrant chromosomal replication. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(11): 5698-5711
- [101] Flåtten I, Morigen, Skarstad K. DnaA protein interacts with RNA polymerase and partially protects it from the effect of rifampicin. *Mol Microbiol*, 2009, **71**(4): 1018-1030
- [102] Zhang L, Xu X, Su X. Noncoding RNAs in cancer immunity: functions, regulatory mechanisms, and clinical application. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 48
- [103] 马晴, 莫日根. TERRA介导的端粒维持. *生物化学与生物物理进展*, 2021, **48**(5): 529-540
Ma Q, Morigen. *Prog Biochem Biophys*, 2021, **48**(5): 529-540
- [104] Cai Z, Cao C, Ji L, *et al.* RIC-seq for global in situ profiling of RNA-RNA spatial interactions. *Nature*, 2020, **582**(7812): 432-437
- [105] Gad H, Koolmeister T, Jemth A S, *et al.* MTH1 inhibition eradicates cancer by preventing sanitation of the dNTP pool. *Nature*, 2014, **508**(7495): 215-221

RNA Polymerase–surveilled Mechanisms for DNA Repair*

WANG Fei-Er**, YANG Yi-Xuan**, Morigen***

(State Key Laboratory of Reproductive Regulation & Breeding of Grassland Livestock, School of Life Sciences,
Inner Mongolia University, Hohhot 010070, China)

Abstract Living organisms are in threats of endogenous/exogenous DNA damages. DNA damage impedes both replication and transcription accuracy. To ensure correct replication and transcriptions, and subsequent genome integrity and genetic stability, living organisms have evolved different mechanisms for DNA repair. This review focused on RNA polymerase surveilled (RNAP-S) mechanisms for DNA repairs, and discussed biological significance of the RNAP-S repairs and perspectives. RNA polymerase (RNAP) structure is a complex, being composed of many subunits with different roles in RNAP function. RNAPII has a trigger loop (TL) and a bridge helix (BH), these domains sense DNA lesions during transcription. RNAP stalls at the DNA damage sites to avoid transcribing mutated mRNA, allowing the repair system to be recruited. Interestingly, Mfd and DksA dissociate the stalled RNAP while UvrD pulls back the stalled RNAP on the template DNA to expose the lesions for subsequent performance of lesion repairs. Similarly, the CSB protein, its ubiquitination and OGG1 mediate RNAP-S repairs in eukaryotic cells. Most recently, it has been shown that RNAPIII is involved in homologous recombination repair.

Key words RNA polymerase, DNA damages, RNAP sensing lesions, RNAP-S repair

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0044

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32060016) and the Undergraduate First-class Course Construction Project of Inner Mongolia University (21400-12105/014).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel/Fax: 86-471-4992435, E-mail: morigenm@hotmail.com

Received: February 24, 2021 Accepted: April 12, 2021