



有丝分裂期DNA合成 (MiDAS) 及其介导的端粒复制*

余雨杨¹⁾ 侯凯龙^{1,2)} 仝津恺¹⁾ 张艳多¹⁾ 贾舒婷^{1)**}⁽¹⁾ 昆明理工大学医学院衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500; ⁽²⁾ 昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要 DNA复制压力 (replication stress, RS) 是一个广泛定义DNA复制障碍的术语, 通常是指那些能够扰乱复制进程, 造成复制叉减慢或停滞的情况。复制压力的过度累积是肿瘤发生和基因组不稳定的主要驱动因素。细胞染色体在复制过程中会不断地遭受来自外源性或内源性复制压力, 而端粒及常见脆性位点 (common fragile sites, CFSs) 是一类对复制压力高度敏感的区域, 在复制压力较高的情况下, 这些区域往往难以被完全复制。近年的研究发现, 有丝分裂期DNA合成 (mitotic DNA repair synthesis, MiDAS) 区别于S期的复制, 可以帮助难以复制的区域在进入有丝分裂期后仍然能够保证复制的进行, 因此, MiDAS也被称为“复制的挽救机制”。由于端粒的维持依赖于端粒酶活性及端粒替代性延长机制 (alternative lengthening of telomeres, ALT), 而具有更多端粒脆性的ALT细胞中端粒-MiDAS表现出高度的活性, 因此本文就MiDAS的发生机制及在不同端粒维持机制下难以复制的端粒如何应对复制压力在有丝分裂期完成DNA的合成进行综述。

关键词 端粒复制, 有丝分裂期DNA合成, 复制压力

中图分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0347

1 有丝分裂期DNA合成 (mitotic DNA repair synthesis, MiDAS) 机制是保证基因组完整性的重要机制

1.1 复制压力诱导MiDAS的发生, 从而维持基因组的完整性

真核细胞基因组的稳定性主要依赖于细胞增殖过程中精确完整的基因组复制以及染色体的正确分离^[1-3]。当细胞发生DNA损伤时, S期进行的DNA复制会受到阻碍, 造成复制叉的减缓或停滞, 部分细胞在进入有丝分裂时仍然存在复制不完全或DNA结构异常的现象, 这些都将威胁正常的细胞周期进程^[3-4]。机体为应对可能威胁基因组稳定性的因素, 进化出了检查点系统来对复制不足或受损的DNA进行监测, 并且可以启动相应的DNA修复机制^[5]。过去人们普遍认为DNA修复机制在有丝分裂期受到抑制^[6-7], 然而近年的研究却发现, 细胞能够通过暂时减慢有丝分裂期进程, 为有丝分裂期的修复机制赢得时间^[8-9]。人类基因组的一些被称为脆性位点 (fragile sites) 的区域具有难以进行

复制的特性, 对于染色体上累积的损伤高度敏感^[10], 通常无法在S期内准确地完成DNA复制, 从而产生复制不完全的DNA (un-replicated DNA, UR-DNA)^[11], 不断累积的UR-DNA会增加细胞的复制压力 (replication stress, RS), 威胁基因组的稳定。因此, 进入有丝分裂期之后UR-DNA的复制对维持基因组的稳定至关重要。

尽管机体早已进化出一系列紧密联系的检查点监测机制, 但是轻度的RS和DNA损伤所产生的UR-DNA往往很难触发检查点进行调控, 不能阻止细胞进入有丝分裂期^[3], 此时的细胞仍然能够继续进行染色体分离, 研究发现, 上文所描述的复制问题频繁地出现在脆性位点处。2015年Minocherhomji等^[12]的研究首次发现, 在脆性位点区域存在一种区别于传统在S期进行的复制, 因为

* 云南省应用基础研究计划 (2019FB109) 和云南省“万人计划”青年拔尖人才专项 (YNWR-QNBJ-2019-240) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 13577116928, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

收稿日期: 2021-11-16, 接受日期: 2022-02-28

是有丝分裂早期进行的复制而被称作有丝分裂期DNA合成 (mitotic DNA repair synthesis, MiDAS)。随着研究的深入, 人们发现MiDAS是在有丝分裂早期进行的基于同源重组 (homologous recombination, HR) 的修复途径, 并且在DNA聚合酶抑制剂Aphidocolin (APH) 人为诱导RS时, 能够帮助端粒等脆性位点挽救复制进程^[13]。HR是修复DNA双链断裂的一种重要机制, 而HR的子通路-断裂诱导性修复 (break-induced replication, BIR) 能够修复停滞的复制叉上的单个末端DNA双链断裂 (double-strand breaks, DSBs)^[14-16]。研究人员发现, 酵母中的MiDAS与BIR具有许多相同的作用因子, 需要单末端DSBs底物和具有同源序列的DNA模板生成, 因此MiDAS也被认为是一种类似于BIR的修复途径^[17-18]。

1.2 MiDAS的发生机制

1.2.1 响应复制压力的MiDAS发生

人类细胞中的MiDAS是一种依赖于RAD52及POLD3的DNA合成形式, 表现出BIR的特征。过去的研究表明, MiDAS的发生常常伴随着DNA损伤反应 (DNA damage response, DDR), 许多参与DNA损伤修复的因子都会参与到MiDAS的发生过程。

ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, 共济失调毛细血管扩张突变基因Rad3相关激酶) 被认为是调控MiDAS和有丝分裂之间的关键协调者。在RS的条件下, 进入有丝分裂期之前, ATR能够介导其下游CHK1和PLK1的磷酸化, 抑制CDK1活性或调控CDK1抑制激酶WEE1的活性, 触发修复机制或细胞程序性死亡来阻止细胞周期的进程 (图1a)^[19]。当受RS影响的细胞在S期积累了过多的DSBs而造成复制叉停滞时, 损伤修复相关的蛋白质被及时招募 (图1b)。复制解旋酶和DNA聚合酶之间的解偶联导致单链DNA (single-strand DNA, ssDNA) 积累, 复制蛋白A (replication protein A, RPA) 被募集到停滞叉上, 泛素连接酶TRAIIP与增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 结合介导RPA对ssDNA的结合, 形成的RPA-ssDNA复合物能够促进ATR激活所需调控因子的招募。除此以外, 拓扑异构酶II结合蛋白1 (topoisomerase II binding protein 1, TopBP1) 能与RPA作用激活ATR来响应DNA损伤^[20]。过去的研究揭示, ATR

和FA核心复合物都能在损伤位点处募集以维持基因组的稳定, 其中FA核心复合物中的FANCD2 (FA complementation group D2) 在停滞的复制叉处稳定ATR和FA核心复合物的停留, 而具体机制仍不清晰。

事实上, 部分损伤的细胞能够越过检查点监测机制进入有丝分裂期 (图1c), 其中DNA解旋酶RECQ5在这一过程发挥重要作用。MiDAS的启动需要被CDK1磷酸化的RECQ5利用其ATP酶活性直接与HR相关的RAD51结合, 去除停滞复制叉处ssDNA上的RAD51 (图1d), 帮助停滞的复制叉离开G2/M检查点。CDK1作为有丝分裂的主要调控因子, 在进入有丝分裂期后能够磷酸化EME1, 促进MUS81 (MMS and UV-sensitive protein 81) 和SLX4 (synthetic lethal of unknown function 4) 复合物的形成^[21-23], 而停滞复制叉处的FANCD2能够招募结构特异性核酸内切酶SLX1-SLX4、XPFERCC1和MUS81-EME1来帮助DNA损伤的修复^[24]。值得注意的是, 进入有丝分裂期后, TRAIIP被CDK1磷酸化, 从而触发UR-DNA的分解, 使得复制叉处亲本DNA链的暴露, 将MiDAS相关因子招募到这些复制不完全的部位进行MiDAS^[25]。研究发现, FANCD2作为MiDAS的关键因子被定位于停滞叉处, 通过与支架蛋白SLX4共同作用对未复制的复杂DNA结构进行处理^[26], 负责将MiDAS相关的多种结构特异性内切酶招募到损伤位点发挥功能。人们普遍认为FANCD2是常见脆性位点 (common fragile sites, CFSs) 的标志物^[27-28], 被定位于中期染色体上缺口和断裂处, 但FANCD2的具体作用机制仍不清楚。SLX4能够通过其SUMO相互作用基序被招募到染色质处或与端粒结合蛋白TRF2 (telomeric repeat-binding factor 2) 相互作用而特异性定位于端粒处^[23, 29], SLX4与FANCD2在这些位点招募MUS81-EME1切割复制中间体以产生DSBs (图1d)^[30-32]。RAD52能够作用于暴露的亲本ssDNA (图1e), 它与ssDNA和RPA相互作用的能力以及它多聚的特性使RAD52能够帮助ssDNA进行同源搜索并退火到模板链的微同源区域^[33], 然而进行微同源搜索前所需的链侵入及移位环 (displacement loop, D-loop) 的形成是否同样由RAD52介导还需进一步的研究证明。复制性DNA聚合酶 δ 的催化亚基和非催化亚基分别是POLD1和POLD3, 两者都与RS后的有丝分裂相关, 但是只有POLD3的缺失会阻碍

MiDAS的发生, 并且导致中期染色体上DNA链的断裂增加^[12], 提示POLD3相关的DNA聚合酶δ复合物能够促进DNA从头合成完成MiDAS(图1f, g)。

1.2.2 损伤修复相关蛋白为MiDAS进程提供保障

除上文所述的在MiDAS发生中起到主要作用的因子外, 还有一些蛋白质能够为MiDAS的准确进行提供保障。位于RAD52上游的DNA解旋酶RTEL1 (regulator of telomere elongation helicase 1) 可以被SLX4招募, 依赖RTEL1的ATP酶/解旋酶活性解决DNA二级结构以避免复制-转录冲突的过度积累, 端粒处的Bloom综合征解旋酶(a complex of Bloom's syndrome helicase, BLM)也能起到相似的作用, 帮助MiDAS的有效进行^[34]。当RS存在的情况下, 位于ssDNA的RAD52能够阻碍复制叉上叉重塑因子SMARCAL1的募集和随后重组相关的MRE11所介导的新生链降解, 保证停滞复制叉的完整性以进行MiDAS修复^[35-36]。最

新的研究发现, 非癌细胞中RAD52的缺失能够促进MiDAS的发生, 提示RAD52依赖的MiDAS主要在癌细胞中进行, 而FANCD2对于正常细胞及癌细胞中MiDAS的发生是不可或缺的, 这意味着细胞可能适应了一种不依赖RAD52的BIR机制^[37]。随着对MiDAS的研究更加深入, 人们了解到RECQ5除了能分解RAD51之外, 还能够在进入有丝分裂期后促进MUS81-EME1对复制中间体的切割^[38]。有研究提出, 细胞遗传学上观察到的缺口或断裂并非传统意义上人们认为的不完全复制DNA结构的存在, 而是由于断裂诱导的复制过程中的切割作用^[19]。相关实验在细胞中敲除BIR相关的MUS81或POLD3后, 观察到染色体上CFSs的表达减少支持了这一结论^[12]。此外, 染色体结构维持蛋白SMC2 (structural maintenance of chromosomes 2) 和端粒处的SMC5/6 (structural maintenance of chromosomes 5/6) 能够帮助染色质纤维折叠成高度紧密的染色体^[39], 与染色体黏合

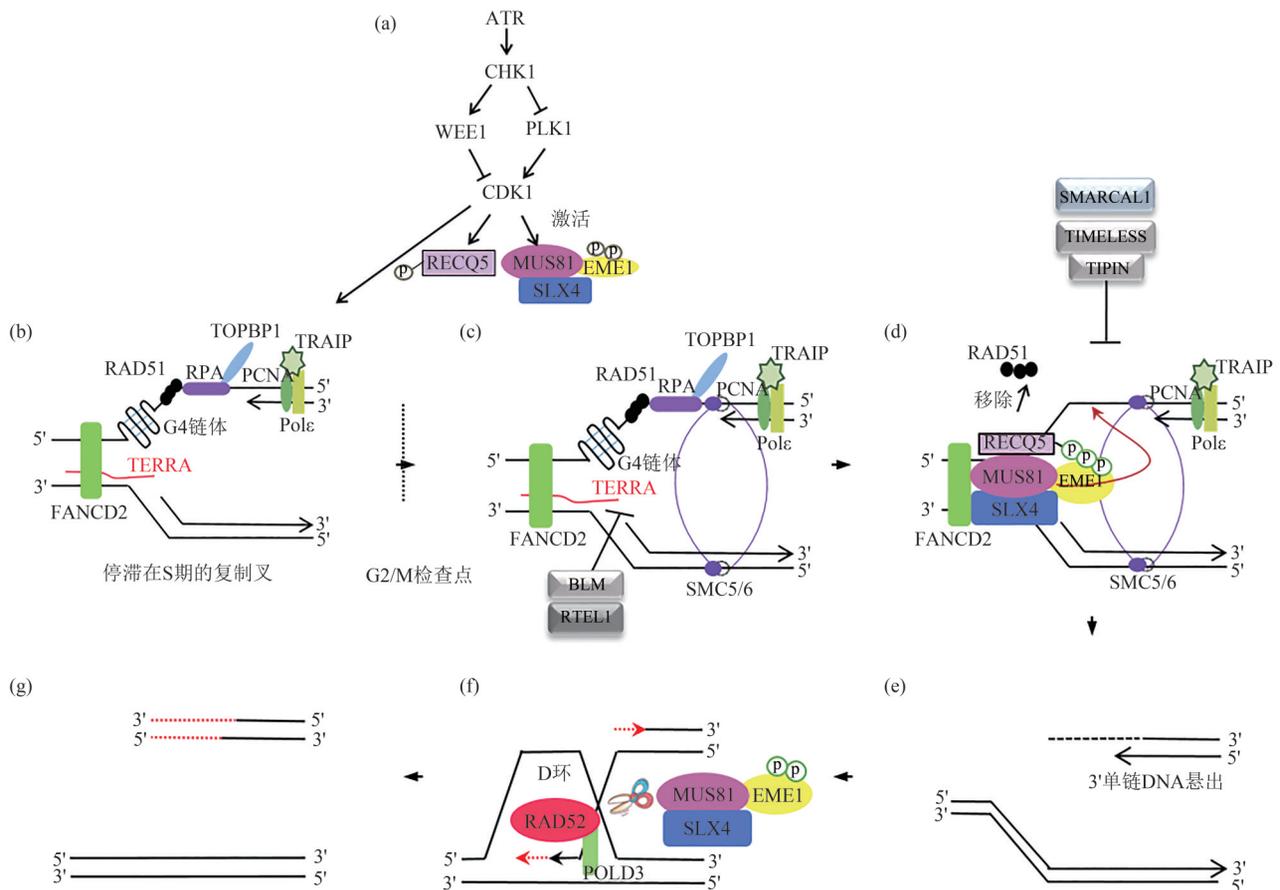


Fig. 1 MiDAS can resist replication stress

图1 抵抗复制压力的MiDAS途径

(a) ATR-CHK1途径阻碍细胞周期进程; (b) 复制压力导致复制叉停滞; (c) 复制不完全的DNA越过G2/M检查点; (d) 移除RAD51, 切割形成DSBs; (e, f) 同源搜索、链侵入; (g) MiDAS完成。

素的释放因子 WAPL (wings apart protein-like, WAPL) 负责维持有丝分裂期染色体特有的X形结构^[40-41], 保证各个细胞周期中准确的染色体结构同时促进有丝分裂期姐妹染色单体的分离^[42], 避免染色体异常事件的发生。实验观察到 SMC2 或 WAPL 的缺失导致有丝分裂前期姐妹染色单体难以分离, MUS81 不能被招募到停滞复制叉的 FANCD2 处, 阻碍 MiDAS 的发生^[12]。有趣的是, 最近的研究发现活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 能够诱导 DNA 损伤的积累, 进而促进 RAD52 和 POLD3 招募, 从而促进 BIR^[43], 这提出了一种可能性, 即 ROS 的积累可能在某些癌症中启动 MiDAS 的关键。

2 异常的MiDAS威胁基因组的稳定

通常意义上, MiDAS 是保证基因组完整性的重要机制, 近年的研究主要集中于 MiDAS。然而最近有人提出 MiDAS 并非始终发挥着稳定基因组的作用。过去的研究发现在检查点激酶 CHK1 敲除的细胞中, UR-DNA、复制中间体和有丝分裂异常

的细胞大量存在, 造成 RS 的异常积累^[13], 而当超过机体所能承受的阈值时, 如 dNTP (deoxyribonucleoside triphosphate pool) 不足以维持 MiDAS 的正常进行。这时的 MUS81-EME1 不再只是切割复制中间体, 而是在 MiDAS 的下游切割有丝分裂期合成的新生 DNA, 造成 DSBs 的积累, 威胁染色体的稳定性^[44]。这意味着 S 期之后过多的 UR-DNA 可能会导致病理性 MiDAS 的发生, 对于维持 RS 条件下基因组的稳定性来说相当不利, 同时为人们研究 MiDAS 提供了新思路。

有丝分裂期的复制叉往往不受保护, 此时的 MiDAS 就更像是一种 DNA 修复过程, 作为细胞周期中对 RS 做出反应的最后机会。先前积累的 UR-DNA 如果不能在有丝分裂期得到复制或解决, 将造成染色体异常, 如后期桥 (anaphase bridge), 滞后的染色质 (lagging chromosome), 染色体断裂/缺口及 (ultra-fine anaphase bridges, UFBs) 的形成 (图 2)^[45]。这些染色体异常事件的发生都将进一步加剧 RS 及染色体不稳定性, 甚至造成基因组重排及非整倍体, 其中未解决的 UFBs 导致染色体

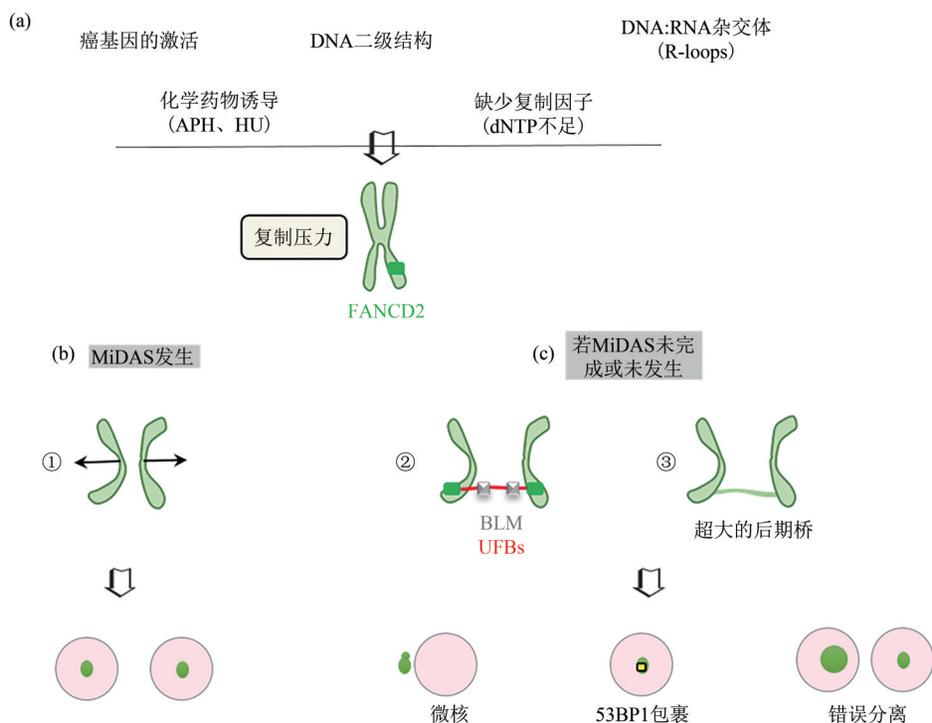


Fig. 2 Replication stress leads to defects in chromosome segregation, thereby increasing the instability of the genome

图2 复制压力导致染色体分离缺陷, 从而增加基因组的不稳定性

(a) 癌基因的激活、R-loops、化学试剂的诱导、DNA二级结构的形成及复制因子的不足都能够诱导复制压力, 造成复制叉的停滞, 形成 UR-DNA 导致姐妹染色单体不能正常分离。(b) MiDAS 的发生能够帮助姐妹染色单体正常分离, 细胞正常分离①。(c) 异常的或未完成的 MiDAS 将导致姐妹染色单体不能正常的分离, 造成 PICH 标记的 UFBs 形成②, FANCD2、BLM 及 RIF1 通常会定位在 UFBs 上帮助其分解; 超大的后期桥的形成③; 会造成微核、53BP1 及染色体错误分离的积累, 从而威胁基因组的稳定。

断裂而产生微核, 增加基因组的损伤, 并可能因此导致肿瘤的发生^[46]。相关研究发现, 除了FANCD2持续存在于UFBs的末端, 还有其他蛋白质如BLM、plk1相互作用检查点解旋酶(PICH)和RIF1可以定位在UFBs^[47-48]。当MiDAS受到阻碍时, RIF1能够被招募到FANCD2标记的超细后期桥UFBs上, 分解UFBs避免微核的形成以维持机体的稳定^[46]。那些在有丝分裂期仍未得到分解的UFBs只能被当作DNA损伤, 在进入下一轮G1期时被包裹在53BP1核体(53BP1 nuclear bodies, 53BP1-NBs)中, 以期在新一轮细胞周期中能够得以修复^[49]。

3 MiDAS是维持端粒复制的重要机制

3.1 端粒的复制依赖于MiDAS的发生

端粒作为难以复制的位点, 位于线性染色体末端以保护染色体不被降解和不受修复机制的影响^[50]。在体细胞分裂的过程中, 端粒会随细胞周期的进行而逐渐缩短, 只有保证端粒末端的不断复制, 才能避免端粒磨损而引发的细胞衰老。

哺乳动物的端粒由TTAGGG序列的串联重复序列形成, 这种富含G的性质导致DNA二级结构如G4链体(G-quadruplexe)的形成^[51]。TERRA是端粒/亚端粒区转录的长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA), 能够与端粒DNA的碱基配对形成DNA:RNA杂交体(R-loop)阻断复制的进行^[52]。此外, 端粒处富含G的悬出末端回折后侵入端粒的双链区, 形成二级结构端粒环(telomere loop, T-loop)和D-loop^[53], 负责复制的复制复合物(replisome)必须先将T-loop解开才能到达染色体的末端合成DNA。T-loop和D-loop这两种环状结构还可以被一种称为Shelterin的多亚基蛋白质复合体结合并稳定, 保护线性染色体的末端不被识别为DSBs^[54], 从而避免非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)和HR的修复。正是由于端粒特有的序列重复性及倾向于形成二级结构的特性, 使得端粒更容易面临复制叉停滞和复制叉崩解的情况, 而不断增殖的癌细胞, 往往能够克服端粒的缩短并维持端粒的长度^[43]。

在过去的研究中, 人们了解到端粒维持机制的激活是稳定基因组和建立细胞永生所必需的。端粒酶是一种可以延长端粒的RNA模板酶, 在大多数人类癌症中端粒酶被激活, 帮助细胞绕过复制衰老。然而, 在10%~15%的人类癌症中使用一种不

依赖端粒酶的延长机制端粒替代性延长机制(alternative lengthening of telomeres, ALT)来维持端粒^[17]。研究人员在ALT细胞系中首次检测到了MiDAS, 发现ALT细胞中存在更多的脆性端粒, 并且能够触发MiDAS来保证端粒处复制的正常进行, 端粒酶阳性的细胞中却没有MiDAS的发生^[55]。随后有研究进行验证, 发现在癌细胞中使用DNA聚合酶抑制剂APH人为的诱导RS后, 端粒酶阳性细胞中也能够检测MiDAS发生, 并且显示出高度的非整倍体^[56], 这意味着细胞的端粒酶的状态并不影响RS诱导的MiDAS在端粒处发生。

3.2 ALT细胞端粒延伸依赖于MiDAS

引人注意的是, 相较于端粒酶阳性的细胞, ALT细胞中往往存在更多的MiDAS信号, 并且那些具有更长端粒的ALT细胞往往具有更高的MiDAS水平^[56], 且MiDAS存在于绝大多数非整倍体癌细胞中^[12], 也因此有人提出, 非整倍体的存在似乎是决定受到RS的细胞是否使用端粒-MiDAS通路的关键因素。ALT端粒处高水平的MiDAS也引发人们思考, 这一现象的产生是否与ALT细胞中高水平的RS、DSBs及端粒脆性有关?

研究发现, ALT细胞在端粒处高水平的MiDAS往往发生在DSBs处^[13]。相较端粒酶阳性细胞, ALT细胞端粒处染色质凝缩更少, 能够提供疏松的结构以保证修复的进行。ALT细胞存在更多的TERRA和R-loop等二级结构, 造成ALT细胞端粒处更高水平的RS, RS也被证明是诱导或维持ALT表型的关键因素^[13]。一项研究发现, 去除特异性降解R-loop的内切酶RNaseH1会导致ALT细胞中的RS增加, 同时伴有ALT活性增加^[57], 提示RS诱导了ALT活性。在ALT癌细胞中重新引入ALT相关ATRX染色质重塑蛋白后抑制了ALT活性, 表现出端粒长度减少、ALT相关PML小体(ALT-associated PML bodies, APBs)形成减少和C环(C-circles)水平降低^[58], 提示了ALT活性与端粒的合成有关, RS诱导的ALT活性有助于端粒的延长。除此以外, 大多数ALT细胞没有完整的G2/M检查点进行监测, 停滞的复制叉或自发的端粒DNA损伤使得有丝分裂期的端粒和端粒聚集处存在持续的DDR, 促进了端粒内和/或端粒间的重组, 增强了ALT细胞中的复制和端粒延伸的活性^[55, 59], 而MiDAS的显著激活为ALT端粒的维持提供了支持, 同时促进了ALT细胞的稳定。因此, ALT细胞中存在较高水平的RS, 使得ALT端粒处

经常面临复制不完全的情况, 需要更高水平的MiDAS进行端粒处的复制“补偿”。

关于MiDAS的研究使人们了解到尽管端粒及CFSs处的MiDAS有许多相同特性, 例如对FANCD2、SLX4和POLD3的需求。与CFSs不同的是, 端粒处MiDAS的发生并不需要MUS81-EME1进行切割^[13, 56], 尽管其中的原因仍不清楚, 但有研究猜想接收到FANCD2的单泛素化信号后, 可能由其他结构性内切酶如XPF-ERCC1和SLX1/SLX4复合物对受损的DNA链进行切割以启动DNA合成, 也可能是具有特殊结构的端粒并不需要进行切割^[21, 27-28]。其中, Shelterin复合物就是端粒所特有的, 由双链DNA相关因子TRF1和TRF2、POT1、TIN2、TPP1和RAP1组成^[60]。当使用低剂量的APH诱导端粒脆性时, TRF1以及两种DNA解旋酶BLM和RTEL1能够被招募到端粒上抑制这种端粒脆性^[57]。除此之外, 端粒上的TRF2能够与BLM特异性相互作用^[61], ALT活性的诱导依赖于BLM与DNA2 (DNA replication helicase/nuclease 2) 相互作用介导ALT端粒的长距离切除^[62], 研究发现这种DNA切除的增加会导致有丝分裂发生停滞, 为有丝分裂期进行MiDAS提供时间基础。染色体结构维持复合物SMC5/6在细胞周期的所有阶段都被定位于端粒, 除了维持染色体的结构, 还能在HR过程中促进重组中间体的分解^[63], 并且它是端粒聚集所必需的^[30]。SMC5/6复合物似乎通过其SUMO连接酶活性将端粒送到PML小体处, 介导端粒聚集事件的发生, 形成ALT相关PML小体 (ALT-associated PML bodies, APBs) 并促进HR及ALT细胞的端粒延伸^[64]。上文提到的SMARCAL1是一种依赖于ATP的DNA解旋酶, 被认为可以通过促进停滞的复制叉逆转来对抗RS。事实上, SMARCAL1可定位于ALT端粒并抑制ALT表型, 在ALT中SMARCAL1缺失会增加端粒聚集事件、端粒损伤和端粒异质性^[36]。类似于SMARCAL1, 由TIMELESS及其伴侣蛋白TIPIN组成的复制叉保护复合物 (the fork protection complex, FPC) 也能对抗RS。最近的遗传学研究表明, 酿酒酵母中TIMELESS/TIPIN的同源基因Tof1/Csm3通过抑制断裂诱导的复制过程, 防止端粒重复序列的不稳定^[65]。FPC的缺失往往优先影响基因组中那些晚复制区域的复制, 相关实验观察到, 在ALT细胞中FPC的下调会导致端粒聚集显著增加, APBs的形成和端粒-MiDAS, 提示

端粒在ALT细胞中的聚集可能源于端粒复制叉保护的缺陷, 而TIMELESS和TIPIN可能是通过保护端粒处的复制叉来抑制端粒MiDAS。

4 展 望

尽管人们越来越多地关注到发生在有丝分裂早期这一狭窄时间窗口的MiDAS, 但关于端粒-MiDAS还有许多需要进一步探明的地方, 例如, 端粒处不需要MUS81进行切割, 那么是否由其他组分替代MUS81的功能? 当癌细胞中MiDAS发生所必需的底物被耗尽时, 造成的病理性MiDAS是否会导致癌细胞的死亡? MiDAS是否如人们猜想的能够被非整倍体驱动?

除此以外, 在非整倍体癌细胞中观察到了高水平的MiDAS, 因此可以针对MiDAS开发一种靶向癌细胞的治疗手段。目前的研究发现依赖于MiDAS的癌细胞对癌基因激活所造成的RS更加耐受^[12], 而ATR激酶抑制剂联合MiDAS抑制剂增强对癌细胞的杀伤能力, ATR抑制剂造成癌细胞中的RS增加到毒性水平, 从而降低细胞活力, 而遭受过度的RS会导致ATR缺陷的癌细胞更加依赖MiDAS来完成DNA复制^[17]。ALT细胞中显著的MiDAS水平使人们对ALT端粒维持机制产生了更多疑问, 例如, 在G2期甚至是有丝分裂细胞的APBs处均能够检测到ALT活性, 这是否与MiDAS有关? 就目前的研究而言, 还有许多未解的难题等待着人们去探索。

参 考 文 献

- [1] Funk L C, Zasadil L M, Weaver B A. Living in CIN: mitotic infidelity and its consequences for tumor promotion and suppression. *Dev Cell*, 2016, **39**(6): 638-652
- [2] Ovejero S, Bueno A, Sacristan M P. Working on genomic stability: from the S-phase to mitosis. *Genes (Basel)*, 2020, **11**(2): 225
- [3] Fragkos M, Naim V. Rescue from replication stress during mitosis. *Cell Cycle*, 2017, **16**(7): 613-633
- [4] Ganai R, Johansson E. DNA replication-a matter of fidelity. *Mol Cell*, 2016, **62**(5): 745-755
- [5] Elledge S J. Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science*, 1996, **274**(5293): 1664-1672
- [6] Orthwein A, Fradet-Turcotte A, Noordermeer S M, *et al.* Mitosis inhibits DNA double-strand break repair to guard against telomere fusions. *Science*, 2014, **344**(6180): 189-193
- [7] Giunta S, Belotserkovskaya R, Jackson S P. DNA damage signaling in response to double-strand breaks during mitosis. *J Cell Biol*, 2010, **190**(2): 197-207

- [8] Mikhailov A, Cole R W, Rieder C L. DNA damage during mitosis in human cells delays the metaphase/anaphase transition *via* the spindle-assembly checkpoint. *Curr Biol*, 2002, **12**(21): 1797-1806
- [9] Thompson R, Gatenby R, Sidi S. How cells handle DNA breaks during mitosis: detection, signaling, repair, and fate choice. *Cells*, 2019, **8**(9): 1049
- [10] Sutherland G R, Baker E, Richards R I. Fragile sites still breaking. *Trends Genet*, 1998, **14**(12): 501-506
- [11] Bertolin A P, Hoffmann J S, Gottifredi V. Under-replicated DNA: the byproduct of large genomes?. *Cancers (Basel)*, 2020, **12**(10): 2764
- [12] Minocherhomji S, Ying S, Bjerregaard V A, *et al.* Replication stress activates DNA repair synthesis in mitosis. *Nature*, 2015, **528**(7581): 286-290
- [13] Özer Ö, Hickson I D. Pathways for maintenance of telomeres and common fragile sites during DNA replication stress. *Open Biol*, 2018, **8**(4): 180018
- [14] Sakofsky C J, Ayyar S, Deem A K, *et al.* Translesion polymerases drive microhomology-mediated break-induced replication leading to complex chromosomal rearrangements. *Mol Cell*, 2015, **60**(6): 860-872
- [15] Smith C E, Llorente B, Symington L S. Template switching during break-induced replication. *Nature*, 2007, **447**(7140): 102-105
- [16] Donnianni R A, Symington L S. Break-induced replication occurs by conservative DNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(33): 13475-13480
- [17] Bhowmick R, Minocherhomji S, Hickson I D. RAD52 facilitates mitotic DNA synthesis following replication stress. *Mol Cell*, 2016, **64**(6): 1117-1126
- [18] Zhang B N, Venegas A B, Hickson I D, *et al.* DNA replication stress and its impact on chromosome segregation and tumorigenesis. *Semin Cancer Biol*, 2019, **55**: 61-69
- [19] Mocanu C, Chan K L. Mind the replication gap. *Roy Soc Open Sci*, 2021, **8**(6): 201932
- [20] Blackford A N, Jackson S P. ATM, ATR, and DNA-PK: the trinity at the heart of the DNA damage response. *Mol Cell*, 2017, **66**(6): 801-817
- [21] Lai X N, Broderick R, Bergoglio V, *et al.* MUS81 nuclease activity is essential for replication stress tolerance and chromosome segregation in BRCA2-deficient cells. *Nat Commun*, 2017, **8**: 15983
- [22] Duda H, Arter M, Gloggnitzer J, *et al.* A mechanism for controlled breakage of under-replicated chromosomes during mitosis. *Dev Cell*, 2016, **39**(6): 740-755
- [23] Dehe P M, Gaillard P H L. Control of structure-specific endonucleases to maintain genome stability. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, **18**(5): 315-330
- [24] Betous R, Ruy T, Pelegri A L, *et al.* DNA replication stress triggers rapid DNA replication fork breakage by Artemis and XPF. *PLoS Genet*, 2018, **14**(7): e1007541
- [25] Sonnevile R, Bhowmick R, Hoffmann S, *et al.* TRAP drives replisome disassembly and mitotic DNA repair synthesis at sites at incomplete DNA replication. *Elife*, 2019, **8**: e48686
- [26] Klein Douwel D, Boonen R, Long D, *et al.* XPF-ERCC1 acts in unhooking DNA interstrand crosslinks in cooperation with FANCD2 and FANCP/SLX4. *Mol Cell*, 2014, **54**(3): 460-471
- [27] Ji F, Liao H, Pan S, *et al.* Genome-wide high-resolution mapping of mitotic DNA synthesis sites and common fragile sites by direct sequencing. *Cell Res*, 2020, **30**(11): 1009-1023
- [28] Garribba L, Wu W, Özer Ö, *et al.* Inducing and detecting mitotic DNA synthesis at difficult-to-replicate loci. *Method Enzymol*, 2018, **601**: 45-58
- [29] Wan B, Yin J, Horvath K, *et al.* SLX4 assembles a telomere maintenance toolkit by bridging multiple endonucleases with telomeres. *Cell Rep*, 2013, **4**(5): 861-869
- [30] Ciccia A, Constantinou A, West S C. Identification and characterization of the human Mus81-Eme1 endonuclease. *J Biol Chem*, 2003, **278**(27): 25172-25178
- [31] Pfander B, Matos J. Control of MUS81 nuclease during the cell cycle. *FEBS Lett*, 2017, **591**(14): 2048-2056
- [32] Dominguez-Kelly R, Martin Y, Koundrioukoff S, *et al.* Wee1 controls genomic stability during replication by regulating the MUS81-EME1 endonuclease. *J Cell Biol*, 2011, **194**(4): 567-579
- [33] Sotiriou S K, Kamileri I, Lugli N, *et al.* Mammalian RAD52 functions in break-induced replication repair of collapsed DNA replication forks. *Mol Cell*, 2016, **64**(6): 1127-1134
- [34] Wu W, Bhowmick R, Vogel I, *et al.* RTEL1 suppresses G-quadruplex-associated R-loops at difficult-to-replicate loci in the human genome. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, **27**(5): 424-437
- [35] Malacaria E, Pugliese G M, Honda M, *et al.* RAD52 prevents excessive replication fork reversal and protects from nascent strand degradation. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 1412
- [36] Poole L A, Zhao R X, Glick G G, *et al.* SMARCAL1 maintains telomere integrity during DNA replication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(48): 14864-14869
- [37] Graber-Feesl C L, Pederson K D, Aney K J, *et al.* Mitotic DNA synthesis is differentially regulated between cancer and noncancerous cells. *Mol Cancer Res*, 2019, **17**(8): 1687-1698
- [38] Di Marco S, Hasanova Z, Kanagaraj R, *et al.* RECQ5 helicase cooperates with MUS81 endonuclease in processing stalled replication forks at common fragile sites during mitosis. *Mol Cell*, 2017, **66**(5): 658-671 e658
- [39] Hirano T. Condensins: organizing and segregating the genome. *Curr Biol*, 2005, **15**(7): R265-R275
- [40] Haarhuis J H I, Elbatsh A M O, Rowland B D. Cohesin and its regulation: on the logic of X-shaped chromosomes. *Dev Cell*, 2014, **31**(1): 7-18
- [41] Wilhelm T, Said M, Naim V. DNA replication stress and chromosomal instability: dangerous liaisons. *Genes (Basel)*, 2020, **11**(6): 64
- [42] Gandhi R, Gillespie P J, Hirano T. Human WAPL is a cohesin-binding protein that promotes sister-chromatid resolution in mitotic prophase. *Curr Biol*, 2006, **16**(24): 2406-2417
- [43] Tan J, Duan M H, Yadav T, *et al.* An R-loop-initiated CSB-RAD52-

- POLD3 pathway suppresses ROS-induced telomeric DNA breaks. *Nucleic Acids Res*, 2020, **48**(3): 1285-1300
- [44] Calzetta N L, Besteiro M A, Gottifredi V. MUS81-EME1-dependent aberrant processing of DNA replication intermediates in mitosis impairs genome integrity. *Sci Adv*, 2020, **6**(50): eabc8257
- [45] Bohly N, Kistner M, Bastians H. Mild replication stress causes aneuploidy by deregulating microtubule dynamics in mitosis. *Cell Cycle*, 2019, **18**(20): 2770-2783
- [46] Hengeveld R C, De Boer H R, Schoonen P M, *et al.* Rif1 is required for resolution of ultrafine DNA bridges in anaphase to ensure genomic stability. *Dev Cell*, 2015, **34**(4): 466-474
- [47] Chan K L, Palmai-Pallag T, Ying S M, *et al.* Replication stress induces sister-chromatid bridging at fragile site loci in mitosis. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(6): 753-760
- [48] Biebricher A, Hirano S, Enzlin J H, *et al.* PICH: a DNA translocase specially adapted for processing anaphase bridge DNA. *Mol Cell*, 2013, **51**(5): 691-701
- [49] Lukas C, Savic V, Bekker-Jensen S, *et al.* 53BP1 nuclear bodies form around DNA lesions generated by mitotic transmission of chromosomes under replication stress. *Nat Cell Biol*, 2011, **13**(3): 243-253
- [50] Fagagna F, Reaper P M, Clay-Farrace L, *et al.* A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*, 2003, **426**(6963): 194-198
- [51] Lu W S, Zhang Y, Liu D, *et al.* Telomeres-structure, function, and regulation. *Exp Cell Res*, 2013, **319**(2): 133-141
- [52] Azzalin C M, Reichenbach P, Khoriauli L, *et al.* Telomeric repeat-containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science*, 2007, **318**(5851): 798-801
- [53] Doksani Y, Wu J Y, De Lange T, *et al.* Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation. *Cell*, 2013, **155**(2): 345-356
- [54] De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Gene Dev*, 2005, **19**(18): 2100-2110
- [55] Min J, Wright W E, Shay J W. Alternative lengthening of telomeres mediated by mitotic DNA synthesis engages break-induced replication processes. *Mol Cell Biol*, 2017, **37**(20): e00226-00317
- [56] Özer Ö, Bhowmick R, Liu Y, *et al.* Human cancer cells utilize mitotic DNA synthesis to resist replication stress at telomeres regardless of their telomere maintenance mechanism. *Oncotarget*, 2018, **9**(22): 15836-15846
- [57] Wu W, Bhowmick R, Vogel I, *et al.* RTEL1 suppresses G-quadruplex-associated R-loops at difficult-to-replicate loci in the human genome. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, **27**(5): 424-437
- [58] Napier C E, Huschtscha L I, Harvey A, *et al.* ATRX represses alternative lengthening of telomeres. *Oncotarget*, 2015, **6**(18): 16543-16558
- [59] Sobinoff A P, Pickett H A. Alternative lengthening of telomeres: DNA repair pathways converge. *Trends Genet*, 2017, **33**(12): 921-932
- [60] Cristofari G, Lingner J. Telomere length homeostasis requires that telomerase levels are limiting. *EMBO J*, 2006, **25**(3): 565-574
- [61] Root H, Larsen A, Komosa M, *et al.* FANCD2 limits BLM-dependent telomere instability in the alternative lengthening of telomeres pathway. *Hum Mol Genet*, 2016, **25**(15): 3255-3268
- [62] Ertl H A, Russo D P, Srivastava N, *et al.* The role of Blm helicase in homologous recombination, gene conversion tract length, and recombination between diverged sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 2017, **207**(3): 923-933
- [63] Venegas A B, Natsume T, Kanemaki M, *et al.* Inducible degradation of the human SMC5/6 complex reveals an essential role only during interphase. *Cell Rep*, 2020, **31**(3): 107533
- [64] Potts P R, Yu H T. The SMC5/6 complex maintains telomere length in ALT cancer cells through sumoylation of telomere-binding proteins. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, **14**(7): 581-590
- [65] Gadaleta M C, Das M M, Tanizawa H, *et al.* Swi1 (TIMELESS) prevents repeat instability at fission yeast telomeres. *PLoS Genet*, 2016, **12**(3): e1005943

Mitotic DNA Repair Synthesis and Its Mediated Telomere Replication*

YU Yu-Yang¹⁾, HOU Kai-Long^{1,2)}, TONG Jin-Kai¹⁾, ZHANG Yan-Duo¹⁾, JIA Shu-Ting^{1)**}

¹⁾Laboratory of Molecular Genetic of Aging & Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

²⁾Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract DNA replication stress (RS) is a term that broadly defines DNA replication disorders, and usually refers to events that cause replication forks to slow down or stall. The excessive accumulation of replication stress is the main driver of tumorigenesis and genome instability. Cell chromosomes constantly expose to exogenous or endogenous replication stress in replication, telomeres and common fragile sites are some chromosome regions that are highly sensitive to replication stress. These regions are usually difficult to completely replicate under high replication stress. Recent studies have found that mitotic DNA repair synthesis (MiDAS) is different from S phase replication, which can help difficult-to-replicate regions to be able to replicate after entering mitosis. Therefore, MiDAS is also called “rescue mechanism of replication”. Since the maintenance of telomeres depends on telomerase activity and alternative lengthening of telomeres (ALT), ALT cells have more fragility of telomeres, and MiDAS shows high levels of activity, so this reviews the mechanism of MiDAS and how difficult-to-replicate telomeres respond to replication stress to complete DNA synthesis during mitosis under different telomere maintenance mechanisms.

Key words telomere replication, MiDAS, replication stress

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0347

* This work was supported by grants from Yunnan Fundamental Research Project (2019FB109) and Yunnan “Ten Thousand Talents Plan” Youth Top Talent Project (YNWR-QNBJ-2019-240).

** Corresponding author.

Tel: 86-13577116928, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

Received: November 16, 2021 Accepted: February 28, 2022