

综述

Mcm10在真核细胞复制起始中的作用

付凌玲 赵啸宇 徐进*
(宁波大学医学院预防医学系, 宁波 315211)

摘要 真核生物DNA复制需要精确的调控, 复制起始顺利开启至关重要, 其中复制解旋酶的组装是复制起始的核心。作为解旋酶的核心组件, 微小染色体维持蛋白(minichromosome maintenance proteins, Mcms)在真核细胞DNA复制的起始阶段扮演着重要的角色。目前, 对Mcm2-7复合物的功能研究已开展较多, 其在复制起始中的作用已有较为全面的解释。近些年研究发现, Mcm10也在DNA复制的起始调控中起重要作用。该文对近些年Mcm10在真核细胞复制起始中的功能研究进行综述, 以期对相关领域的研究者有所帮助。

关键词 DNA复制; CMG解旋酶; Mcm2-7; Mcm10; 复制起始

The Role of Mcm10 in Eukaryote Replication Origin

Fu Lingling, Zhao Xiaoyu, Xu Jin*

(Department of Preventive Medicine, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract DNA replication of the eukaryotic requires precise and rigorous regulation, and it is really important for the initial success of replication initiation, and the assembly of the helicase is the core of the replication initiation. Minichromosome maintenance proteins (Mcms) that act as core components of the helicase and play a major role in the initiation of DNA replication. So far, there have been many studies on Mcm2-7 complex, and there is a comprehensive explanation for its function in the replication initiation. Subsequently, some studies have discovered that Mcm10 is also involved in control of DNA replication origin, but its precise function is not clear. This article gives a brief review about the function of Mcm10 in replication initiation in recent years.

Keywords DNA replication; CMG helicase; Mcm2-7; Mcm10; replication initiation

DNA复制是生物遗传的基础, 是所有生物体最基本的生命过程。原核生物与真核生物都需要进行遗传信息的复制, 与原核生物不同的是, 真核生物具有多个复制起始点, DNA复制的机制更复杂。染色体DNA复制只有经过严密而精确的调控, 才可将遗传信息准确地从亲代遗传给子代^[1]。真核生物DNA

复制过程的每一阶段均分工明确、联系紧密。在整个复制过程中, 起始阶段尤为重要^[2-3]。复制起始过程中形成的一种关键复合物被形象地称为“复制叉”, 而在复制叉的形成过程中, 微小染色体维持蛋白(minichromosome maintenance protein, Mcm)扮演着至关重要的角色, 参与DNA复制的关键步骤^[4-5]。

收稿日期: 2017-12-05 接受日期: 2018-01-30

浙江省公益技术应用研究项目(批准号: 2017C33151)、宁波市自然科学基金(批准号: 2015A610275)和浙江省大学生科技创新活动计划(批准号: 2017R405068)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn

Received: December 5, 2017 Accepted: January 30, 2018

This work was supported by the Applied Research Project on Nonprofit Technology of Zhejiang Province (Grant No.2017C33151), the Natural Science Foundation of Ningbo (Grant No.2015A610275) and College Students' Science and Technology Innovation Activities in Zhejiang Province (Grant No.2016R405077)

*Corresponding author. Tel: +86-574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2018-05-21 17:10:46

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180521.1710.016.html>

1 真核生物DNA复制

DNA是遗传信息的载体,遗传信息的准确传递依赖于DNA复制过程的完整性和精确性。真核生物染色体的双链结构可保护核苷酸碱基免受化学修饰和降解的影响,以此来维持基因组的完整性。DNA复制过程包括引发、延伸和终止三个阶段,复制引发开始时双链结构在复制起始点(replication origin)处被DNA解旋酶解开,从而启动复制过程。复制起始阶段是DNA复制的关键步骤,决定着整个复制过程能否顺利开始^[6]。

DNA复制通常起始于细胞染色质上的特定位置,称为复制起始点。真核生物DNA上具有多个复制起始点,在细胞周期S期所使用的起始点只是所有复制起始点中的一部分,未被触发或“休眠”的复制起始点可在复制压力存在的情况下作为启动的备份位点,确保DNA复制过程顺利完成^[7]。

所有真核生物DNA复制起始都是从装载复制解旋酶的催化核心开始, Mcm2-7是其主要组成部分。复制解旋酶的装载与激活主要经历两个不同的阶段,首先在细胞周期G₁期, Mcm2-7复合物起初沿着染色体标记潜在的复制起始点,以无活性的头对头的双六聚体构象被招募组装到双链DNA复制起点上,从而完成复制起始“许可”^[8-9]。这种双六聚体构象巧妙地抑制了Mcm2-7的解旋酶活性,从而确保DNA复制只能在细胞进入S期后才正式启动。随后需要复制起始识别复合体(origin recognition complex, ORC)、细胞分裂周期蛋白6(cell division cycle 6 protein, Cdc6)和Cdc10依赖性转录因子1(Cdc10-dependent transcript 1, Cdt1)协同作用,在有丝分裂后期及G₁期完成复制前复合物(pre-replicative complex, pre-RC)的组装,此时形成的Mcm2-7六聚体复合物是无活性解旋酶^[10-11]。在一个细胞周期中,细胞限制pre-RC仅形成一次从而确保DNA复制仅进行一次。当复制源数量满足“许可”条件时即可促使复制开始和DNA合成,这便是DNA复制的第二阶段。在G₁至S过渡期,解旋酶活化因子细胞分裂周期蛋白45(Cdc45)和GINS(go-ichi-ni-san)在Dbf4依赖性激酶(Db4-dependent kinase Cdc7, DDK)和S期周期蛋白依赖性激酶(S-phase cyclin-dependent kinase, S-CDK)的协同作用下被招募到染色质上,与Mcm2-7单六聚体结合^[12],最终在染色体的同一复制起始点上形成以头对头方式结合的Cdc45-Mcm2-7-GINS复合物

(CMG)称为CMG二聚体,即功能性的复制解旋酶。随后,CMG二聚体被激活, Mcm2-7双六聚体构象被逐渐解开,双CMG分离,以单六聚体环形式打开双链DNA,分别重新排列环绕两条前导链,启动DNA双向复制^[13-14]。

2 Mcm复合物(Mcm2-7)在复制起始中的作用

Mcm蛋白家族是一类高度保守、具有相同中心结构域的蛋白质。据目前文献报道,其包含Mcm2、Mcm3、Mcm4(Cdc21)、Mcm5(Cdc46)、Mcm6(Mis5)、Mcm7(Cdc47)、Mcm8、Mcm9在内的八个蛋白^[15]。Mcm2/3/4/5/6/7存在于所有真核生物体内,通过形成稳定的Mcm2-7复合物发挥重要功能。Mcm8和Mcm9仅存在于高等生物体内。Mcm1与Mcm10不属于此类蛋白家族,但功能上与Mcm蛋白家族接近,它们在真核生物DNA复制过程中也扮演着重要的角色。真核生物基因组的精确复制主要通过通过对DNA复制解旋酶的严密调控来完成。真核生物复制解旋酶的核心即异六聚体Mcm2-7复合物,是一种多功能DNA解旋酶(ATP酶),在DNA复制过程中有着至关重要的作用^[16-17]。Mcm2-7复合物通过“标记”或“许可”染色体上潜在的复制起始点执行程序,DNA的复制起始随之展开。在对芽殖酵母的研究中发现,包括DDK、Cdc45、Dpb11(DNA polymerase B-associated protein)、Sld3·Sld7、Sld2(synthetic lethal with dpb11-1)^[18]、GINS、DNA聚合酶ε(DNA polymerase epsilon, Polε)和Mcm10等关键因子均参与了复制起始调控,并且这些因子均依赖Mcm2-7发挥作用^[19-20]。研究发现,细胞周期对全基因组的复制需要精确的时间控制程序,也与Mcm2-7密切相关^[21]。

2.1 Mcm2-7的结构

Mcm2-7复合物是由Mcm2/3/4/5/6/7六个蛋白通过两两相互作用所形成稳定的异六聚体结构,其中包括五个稳定的二聚体即Mcm5-3、Mcm3-7、Mcm7-4、Mcm4-6、Mcm6-2,而Mcm2与Mcm5之间能否形成稳定的二聚体结构目前还无法确定。真核生物Mcm蛋白家族具有三个相同的核心结构域,即N-末端结构域(N-terminal domain, NTD)、AAA+ATP酶结构域和羧基端的翼螺旋域(winged-helix domain, WHD)^[22]。除此之外,真核生物Mcm还具

有位于N-端及C-端的特异性亚基延伸尾部,称为N-tail和C-tail。每个亚基都高度保守。尾部结构参与Mcm2-7复合物的调节功能以及Mcm2-7六聚体与pre-RC、复制体组成或染色质间的相互作用^[23-24]。

NTD又可分为 α 螺旋束、锌绑定域以及寡核苷酸/寡糖结合折痕区域(oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold, OB-fold)等三个亚结构域,NTD的显著特征是它能在无其他Mcm核心结构域的情况下自发地组装成六聚体环状复合物,OB-fold和锌绑定域决定NTD环的中央通道,该通道表面带有强烈的正静电位,且宽度足够容纳单链或双链DNA^[25];AAA+结构域也可细分为WA(walker A motif)、WB(walker B motif)和R(arginine finger)三个亚结构域^[26-27],其与Mcm蛋白利用ATP的能力密切相关;WHD是AAA+结构域和C-tail之间的连接结构,具体功能尚不清楚^[28]。真核生物Mcm2-7六聚体中的每个蛋白结构不全相同,Mcm2、4和6具有特异性N-端尾部,Mcm3、6具有特异性C-端尾部,在芽殖酵母Mcm2-7活性调节作用中起着重要的作用。真核生物Mcm蛋白复合体常按特定顺序排列形成六聚体环状复合物,环中央管中在NTD与AAA+结构域之间存在多个 β 环状夹,这些环状夹可与模板DNA结合,促进Mcm复合物的DNA解旋酶活性^[29]。

2.2 Mcm2-7的作用方式

在DNA复制过程中,除非细胞核膜在分裂间期出现渗透性改变或退化,否则DNA合成不会再次启动。多项研究中均提到了关于复制准许因子(replication licensing factor, RLF)的假设,即RLF必须与染色质结合才能起始DNA复制,当DNA复制开始时,RLF随之失活或从染色质上移除。如果RLF无法穿过核膜,重新与染色质结合,DNA复制将不会再次启动。研究发现,RLF由RLF-M和RLE-B两部分组成,在后来的研究中发现,这两部分分别与Mcm2-7及Cdt1相对应^[30]。

Mcm2-7的装载过程即复制起始“许可”和pre-RC形成的过程。体外实验证实,ORC、Cdc6、Cdt1和Mcm2-7是Mcm2-7蛋白复合物装载过程的必需组件。研究发现,Mcm2-7双六聚体与DNA的结合过程需要借助DNA周围的ORC、Cdc6和Cdt1等加载因子的作用,由此推测,Mcm2-7双六聚体与DNA分离后将无法自发地重新结合DNA。在整个装载过程中,ORC始终与复制起始点相结合,与ORC不同

的是,Cdc6与Cdt1经ORC间接与Mcm2-7双六聚体结合,结合过程具有瞬时性,在复制过程启动后脱落。ORC不同于时刻环绕DNA的Mcm2-7双六聚体,它与DNA的结合并不紧密,经高盐溶液洗脱后ORC即可从DNA上脱落。由此可见,ORC、Cdc6和Cdt1是除Mcm2-7装载过程外,DNA复制过程的非必需组件^[31]。由此可见,Mcm2-7双六聚体与DNA的结合过程是DNA复制“许可”的根本,复制起始部位将取决于Mcm2-7在DNA上最终的停留位置。

DNA链上的Mcm2-7双六聚体具有移动性,这种移动性可能是在其与DNA链上其他蛋白质复合体碰撞时维持其完整性的一种保护机制。Mcm2-7双六聚体在高盐缓冲溶液条件下可在DNA上进行移动,但在低浓度盐溶液条件下这种移动性就会受到限制,可能是由于在低盐条件下Mcm2-7内部中央通道和带负电荷的DNA骨架之间有广泛的静电相互作用^[20]。

3 Mcm10在复制起始中的作用

Mcm10在DNA复制起始过程中主要通过促进DNA双螺旋结构解旋以及触发起始程序发挥作用,但具体的分子机制尚不清楚。Mcm10是重要的复制因子,参与Cdc45-Mcm2-7-GINS复合物(CMG)解旋酶的激活,此过程可能与Mcm10结合单链DNA或双链DNA的能力有关。Mcm10本身不具有酶活性,部分研究数据表明,Mcm10可与复制叉上的Pol- α 及增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)等蛋白因子相互作用发挥支持骨架作用,参与DNA解旋、合成,从而促进DNA延伸^[32]。

3.1 Mcm10的发现

Mcm10是在S期进展缺陷芽殖酵母中发现的一种关键复制因子,最初将其编号为DNA43^[33]。在20世纪90年代末,在复制起始突变体研究中发现了独立的Mcm10,从此,针对这种支架蛋白的研究逐渐增多。Mcm10参与DNA复制的机制是真核生物特有的,在裂殖酵母、黑腹果蝇、非洲爪蟾、老鼠以及人类基因组中均有所发现,细菌和古细菌都无法表达出具有同源结构域的蛋白质^[34]。

对Mcm10同系物进行比较,发现它们在结构与功能上具有一定的保守性,具有三个共同的结构,包括NTD、保守的内部结构域(internal domain, ID)和C末端结构域(C-terminal domain, CTD)^[35]。NTD携

带一个与蛋白低聚反应相关的保守卷曲螺旋(coiled-coil, CC)结构,且在不同物种间CC具有高度序列相似性;ID包含多个能够介导DNA结合以及蛋白质-蛋白质相互作用的模体^[36];CTD作为DNA与蛋白质结合的额外平台仅存在于后生动物中,并且从单细胞到多细胞生物体各不相同^[37]。Mcm10中尚未发现具有催化活性的结构域,目前的文献资料仅支持Mcm10在DNA复制过程中的非酶促支架作用^[7]。

3.2 Mcm10与DNA的结合及蛋白质相互作用

Mcm10的NTD结构域主要参与蛋白低聚反应,在对裂殖酵母与非洲爪蟾Mcm10的研究中均能得到证实^[36]。ID与CTD区域存在多个可促进DNA结合的表位,ID结构域包含OB-fold和ZnF1两个部分,CTD包含ZnF2和ZnR两个部分。OB-fold在Pol- α (polymerase α)、Mcm2-7复合物和PCNA等蛋白质参与下形成典型的DNA结合域^[38]。在非洲爪蟾Mcm10定点诱变实验中发现,DNA结合区横跨疏水裂隙和邻近ZnF1区域上的正电荷残基。体外实验中发现,非洲爪蟾Mcm10上的ZnF1区被破坏,会影响整个蛋白质的稳定性以及与双链DNA结合的能力^[37]。在高等动物的CTD区发现了其他的与DNA和蛋白质的结合位点,并且与其他结构域相比,CTD与DNA和蛋白质的结合具有高度亲和性,CTD含有两个Zn结构区,两区相互作用形成一个球状结构域,ZnF2区的主要功能是单链DNA结合,而ZnR区功能仍不清楚^[34]。

3.3 Mcm10参与DNA复制的起始及其机制

Mcm10在G₁期经复制起始“许可”后装载到DNA上,在S期开始时促进解旋酶激活以及DNA聚合酶加载^[39]。在Mcm10进行装载之前,功能性复制解旋酶(CMG二聚体)处于失活状态,之后Mcm10与CMG结合所形成的复合物产生的刺激作用可诱导解旋酶的激活^[40-41]。Mcm10参与复制起始过程之前需要首先完成pre-RC的组装,其与DNA的结合过程落后于ORC、Cdc6、Cdt1与Mcm2-7的装载过程^[4]。

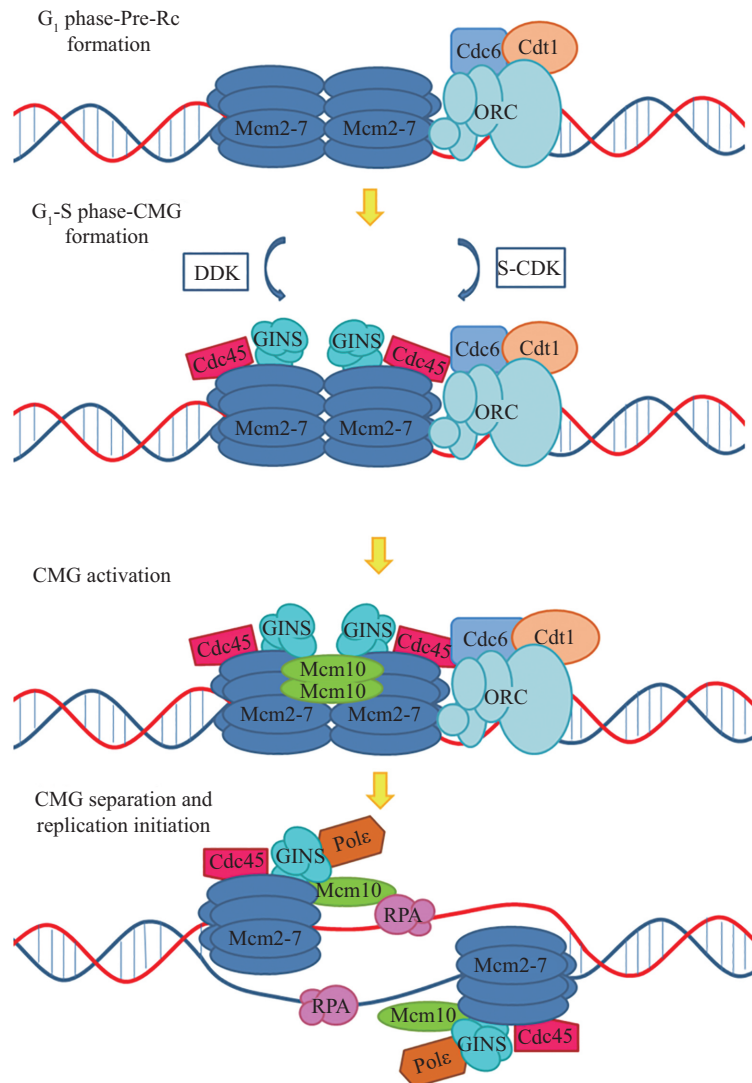
Mcm10在人体细胞中的表达与细胞周期有关。研究发现,Mcm10突变体无法维持染色体的完整性,且表现出S期发展缺陷^[34]。Mcm10需与GINS亚基、Mcm2-7核心解旋酶、Cdc45、ORC、RecQ14(the Sld2 ortholog RecQ like helicase 4)以及单链DNA结合蛋白A(RPA)等多个蛋白因子相互作用,共同参与复制起始过程。如果Mcm10在S期开始前被降解,细

胞将无法完成G₁期向S期的过渡,并且不能顺利启动DNA复制程序。以上发现均提示,Mcm10参与S期的细胞活动^[39]。Mcm10装载到染色质上的时机会对CMG解旋酶的形成与激活产生重要影响。总而言之,Mcm10是复制起始的必要条件,参与pre-RC组装后的起始过程^[42]。

人类细胞DNA复制过程中,Mcm10可协助Cdc45招募到复制起点上,Mcm10参与CMG解旋酶复合物的形成;但也有研究发现,Mcm10对于维持Cdc45与染色质之间的稳定联系是非必需的^[12]。体外实验也检测到,在缺乏Mcm10的情况下,CMG解旋酶仍可进行适当的组装,由此猜测:在活细胞中可能仅需要很少量的Mcm10就可协助Cdc45进行装载。尽管有许多发现仍需进一步验证,但很显然Mcm10在S期能够协助CMG解旋酶促使双链DNA解旋^[43]。在利用非洲爪蟾卵提取物研究Mcm10触发起始的研究中发现,随着Mcm10不断消耗,其促使DNA解旋的能力也在随之消失;同样地,有关Mcm10表达降低,出现RPA随之减少的研究也有报道^[44]。这些研究结果均有力地证实了Mcm10能够促进解旋酶激活^[44-45]。关于Mcm10促进解旋酶激活的方式,当前文献中所报道的大致可分为两种:一是Mcm10可能通过诱导CMG解旋酶构象改变,从而在重塑CMG解旋酶的过程中发挥积极作用,但相关证据有限;二是Mcm10在DNA解旋过程中发挥间接作用,通过加强DDK对Mcm亚基的磷酸化作用来促进对Cdc45和GINS的招募活动,以此稳定分离的模板链^[16]。

3.4 Mcm10与基因组稳定

细胞Mcm10缺失会导致复制压力,从而影响DNA链上复制蛋白的稳定性^[46]。小鼠的Mcm10破坏可明显降低DNA合成,增加DNA损伤;在人类细胞中,敲除Mcm10可诱导DNA损伤、G期阻滞及细胞凋亡^[47]。对全基因组的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)筛选发现,敲除Mcm10可导致DNA双链断裂(double-strand breaks, DSBs)的早期标志物 γ -H2AX水平升高。H2AX是组蛋白H2A家族成员之一,H2AX被毛细血管共济失调突变基因(ataxia telangiectasia mutated, ATM)磷酸化后成为 γ -H2AX^[48]。DSBs被认为是DNA最严重的损伤,细胞发生DSBs后发生一系列应激反应,ATM起始信号级联反应是其中一个主要的反应,可导致细胞周期停滞。在一个独立的siRNA筛选实验中发现,为应



DNA双链解旋需要一系列包括Mcm2-7、Mcm10、Cdc45、GINS、Pole等酶与蛋白质的参与,整个装载过程具有严格的时间顺序。Mcm2-7双六聚体是装载过程的主体,Mcm10参与复制解旋酶的激活,启动DNA复制。

The unwinding of dsDNA requires a series of enzymes and proteins, including Mcm2-7, Mcm10, Cdc45, GINS and Pole. The entire loading process is under a strict chronological order. Mcm2-7 double hexamer forms the basis for the process. Mcm10 participates in activation of the replication helicases and triggers the DNA replication.

图1 Mcm2-7与Mcm10参与DNA双链解旋过程(根据参考文献[8]修改)

Fig.1 Mcm2-7 and Mcm10 involve the unwinding of dsDNA (modified from reference [8])

对Mcm10敲除引起的DNA损伤,细胞内DSBs修复标志物(p53-binding protein 1, 53BP1)水平升高^[49]。以上研究数据表明,Mcm10对于防止复制压力和DSBs积聚至关重要。

酵母的遗传分析已经证明Mcm10突变体依赖于检查点信号因子Mecl1(mitosis entry checkpoint 1)和辐射敏感因子Rad53(radiation sensitive 53)发挥作用。在高复制压力的情况下, Rad53超活化,阻碍S期进程^[34]。Mcm10突变体在与检查点信号基因、人毛细血管共济失调同系物相关基因等基因突变结

合后表现出适应性丧失; Mcm10损伤后,其与修复停滞复制叉问题的相关基因之间的相互作用减弱;在芽殖酵母中适度的Mcm10缺失主要导致复制叉的进展缺陷^[50]。由此得出, Mcm10可通过多种方式维持基因组稳定^[51]。在人类细胞培养实验中发现, Mcm10缺失导致常见的脆性位点破裂增多,从而减慢复制叉进展^[52]。由此提示, Mcm10维持基因组稳定性可能与DNA修复过程中的某些基因有关,进一步深入研究DNA修复可能更有助于发现Mcm10的潜在功能。

4 展望

迄今为止,对DNA复制起始机制的研究已取得很大进展,其中有关Mcm2-7蛋白复合体的功能研究已有较为全面的解释。针对Mcm10在复制起始中的作用研究已大量开展。研究发现,其在DNA复制过程中有促进CMG解旋酶激活、参与DNA聚合酶加载、复制叉的形成、蛋白质合成以及维持基因组稳定性的功能^[53],但其潜在的分子机制尚不明确;并且现在大多数的实验都是在芽殖酵母中进行的,其在哺乳动物细胞中的机制研究将会是未来研究的重点。此外,其他Mcm蛋白如Mcm1、Mcm8和Mcm9,可能在DNA复制过程中同样发挥着重要作用。因此,各类Mcm蛋白的结构、功能以及调控机制仍需进一步的探索。

参考文献 (References)

- Bruck I, Perez-Arnaiz P, Colbert MK, Kaplan DL. Insights into the initiation of eukaryotic DNA replication. *Nucleus (Calcutta)* 2015; 6(6): 449-54.
- Fragkos M, Ganier O, Coulombe P, Mechali M. DNA replication origin activation in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; 16(6): 360-74.
- Wu L, Liu Y, Kong D. Mechanism of chromosomal DNA replication initiation and replication fork stabilization in eukaryotes. *Sci China Life Sci* 2014; 57(5): 482-7.
- Izumi M, Mizuno T, Yanagi KI, Sugimura K, Okumura K, Imamoto N, *et al.* The Mcm2-7-interacting domain of human mini-chromosome maintenance 10 (Mcm10) protein is important for stable chromatin association and origin firing. *J Biol Chem* 2017; 292(31): 13008-21.
- Duderstadt KE, Reyes-Lamothe R, van Oijen AM, Sherratt DJ. Replication-Fork Dynamics. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014; 6(1): 231-47.
- Kolesnikova TD. Regulation of DNA replication timing. *Mol Biol (Mosk)* 2013; 47(1): 12-37.
- Baxley RM, Bielinsky AK. Mcm10: A dynamic scaffold at eukaryotic replication forks. *Genes (Basel)* 2017; 8(2): 73-94.
- Zhai Y, Cheng E, Wu H, Li N, Yung PY, Gao N, *et al.* Open-ringed structure of the Cdt1-Mcm2-7 complex as a precursor of the MCM double hexamer. *Nat Struct Mol Biol* 2017; 24(3): 300-8.
- Meagher M, Enemark EJ. Structure of a double hexamer of the *Pyrococcus furiosus* minichromosome maintenance protein N-terminal domain. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun* 2016; 72(7): 545-51.
- Das SP, Rhind N. How and why multiple MCMs are loaded at origins of DNA replication. *Bioessays* 2016; 38(7): 613-7.
- Powell SK, MacAlpine HK, Prinz JA, Li Y, Belsky JA, MacAlpine DM. Dynamic loading and redistribution of the Mcm2-7 helicase complex through the cell cycle. *EMBO J* 2015; 34(4): 531-43.
- Simon AC, Sannino V, Costanzo V, Pellegrini L. Structure of human Cdc45 and implications for CMG helicase function. *Nat Commun* 2016; 7: 11638-52.
- Bruck I, Kaplan DL. The Dbf4-Cdc7 kinase promotes Mcm2-7 ring opening to allow for single-stranded DNA extrusion and helicase assembly. *J Biol Chem* 2015; 290(2): 1210-21.
- Tognetti S, Riera A, Speck C. Switch on the engine: how the eukaryotic replicative helicase MCM2-7 becomes activated. *Chromosoma* 2015; 124(1): 13-26.
- Forsburg SL. Eukaryotic MCM Proteins: Beyond Replication Initiation. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004; 68(1): 109-31.
- Yeeles JT, Deegan TD, Janska A, Early A, Diffley JF. Regulated eukaryotic DNA replication origin firing with purified proteins. *Nature* 2015; 519(7544): 431-5.
- Riera A, Barbon M, Noguchi Y, Reuter LM, Schneider S, Speck C. From structure to mechanism-understanding initiation of DNA replication. *Genes Dev* 2017; 31(11): 1073-88.
- Bruck I, Kaplan DL. The replication initiation protein Sld2 regulates helicase assembly. *J Biol Chem* 2014; 289(4): 1948-59.
- Larasati, Duncker BP. Mechanisms governing DDK regulation of the initiation of DNA replication. *Genes (Basel)* 2016; 8(1): 3-14.
- Gros J, Devbhandari S, Remus D. Origin plasticity during budding yeast DNA replication *in vitro*. *EMBO J* 2014; 33(6): 621-36.
- Donley N, Thayer MJ. DNA replication timing, genome stability and cancer: late and/or delayed DNA replication timing is associated with increased genomic instability. *Semin Cancer Biol* 2013; 23(2): 80-9.
- Wiedemann C, Szambowska A, Hafner S, Ohlenschlager O, Guhrs KH, Grolach M. Structure and regulatory role of the C-terminal winged helix domain of the archaeal minichromosome maintenance complex. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(5): 2958-67.
- Deegan TD, Diffley JF. MCM: one ring to rule them all. *Curr Opin Struct Biol* 2016; 37: 145-51.
- Sheu YJ, Kinney JB, Lengronne A, Pasero P, Stillman B. Domain within the helicase subunit Mcm4 integrates multiple kinase signals to control DNA replication initiation and fork progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(18): 1899-908.
- Liu W, Pucci B, Rossi M, Pisani FM, Ladenstein R. Structural analysis of the *Sulfolobus solfataricus* MCM protein N-terminal domain. *Nucleic Acids Res* 2008; 36(10): 3235-43.
- Samson RY, Abeyrathne PD, Bell SD. Mechanism of archaeal MCM helicase recruitment to DNA replication origins. *Mol Cell* 2016; 61(2): 287-96.
- Kanemaki MT. Structure and function of the MCM family proteins. *Seikagaku* 2014; 86(2): 249-54.
- Jenkinson ER, Chong JPJ. Minichromosome maintenance helicase activity is controlled by N- and C-terminal motifs and requires the ATPase domain helix-2 insert. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(20): 7613-8.
- Froelich CA, Kang S, Epling LB, Bell SP, Enemark EJ. A conserved MCM single-stranded DNA binding element is essential for replication initiation. *Elife* 2014; 3: 1993-2013.
- Shetty A, Loddo M, Fanshawe T, Prevost AT, Sainsbury R, Williams GH, *et al.* DNA replication licensing and cell cycle kinetics of normal and neoplastic breast. *Br J Cancer* 2005; 93(11): 1295-300.
- Noguchi Y, Yuan Z, Bai L, Schneider S, Zhao G, Stillman B, *et al.* Cryo-EM structure of Mcm2-7 double hexamer on DNA

- suggests a lagging-strand DNA extrusion model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(45): 9529-38.
- 32 Perez-Arnaiz P, Bruck I, Kaplan DL. Mcm10 coordinates the timely assembly and activation of the replication fork helicase. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(1): 315-29.
- 33 Araki Y, Kawasaki Y, Sasanuma H, Tye BK, Sugino A. Budding yeast *mcm10/dna43* mutant requires a novel repair pathway for viability. *Genes Cells* 2003; 8(5): 465-80.
- 34 Thu YM, Bielinsky A-K. MCM10: One tool for all—Integrity, maintenance and damage control. *Semin Cell Dev Biol* 2014; 30: 121-30.
- 35 Perez-Arnaiz P, Bruck I, Colbert MK, Kaplan DL. An intact Mcm10 coiled-coil interaction surface is important for origin melting, helicase assembly and the recruitment of Pol-alpha to Mcm2-7. *Nucleic Acids Res* 2017; 45(12): 7261-75.
- 36 Du W, Josephrajan A, Adhikary S, Bowles T, Bielinsky AK, Eichman BF. Mcm10 self-association is mediated by an N-terminal coiled-coil domain. *PLoS One* 2013; 8(7): 70518-28.
- 37 Di Perna R, Aria V, De Falco M, Sannino V, Okorokov AL, Pisani FM, *et al.* The physical interaction of Mcm10 with Cdc45 modulates their DNA-binding properties. *Biochem J* 2013; 454(2): 333-43.
- 38 Lewis JS, Spenkelink LM, Schauer GD, Hill FR, Georgescu RE, O'Donnell ME, *et al.* Single-molecule visualization of *Saccharomyces cerevisiae* leading-strand synthesis reveals dynamic interaction between MTC and the replisome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(40): 10630-5.
- 39 Douglas ME, Diffley JF. Recruitment of Mcm10 to sites of replication initiation requires direct binding to the minichromosome maintenance (MCM) complex. *J Biol Chem* 2016; 291(11): 5879-88.
- 40 Langston LD, Mayle R, Schauer GD, Yurieva O, Zhang D, Yao NY, *et al.* Mcm10 promotes rapid isomerization of CMG-DNA for replisome bypass of lagging strand DNA blocks. *Elife* 2017; 6: 29118-38.
- 41 Looke M, Maloney MF, Bell SP. Mcm10 regulates DNA replication elongation by stimulating the CMG replicative helicase. *Genes Dev* 2017; 31(3): 291-305.
- 42 Langston LD, Zhang D, Yurieva O, Georgescu RE, Finkelstein J, Yao NY, *et al.* CMG helicase and DNA polymerase epsilon form a functional 15-subunit holoenzyme for eukaryotic leading-strand DNA replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(43): 15390-5.
- 43 On KF, Beuron F, Frith D, Snijders AP, Morris EP, Diffley JF. Prereplicative complexes assembled *in vitro* support origin-dependent and independent DNA replication. *EMBO J* 2014; 33(6): 605-20.
- 44 Watase G, Takisawa H, Kanemaki MT. Mcm10 plays a role in functioning of the eukaryotic replicative DNA helicase, Cdc45-Mcm-GINS. *Curr Biol* 2012; 22(4): 343-9.
- 45 Kanke M, Kodama Y, Takahashi TS, Nakagawa T, Masukata H. Mcm10 plays an essential role in origin DNA unwinding after loading of the CMG components. *EMBO J* 2012; 31(9): 2182-94.
- 46 Chadha GS, Gambus A, Gillespie PJ, Blow JJ. *Xenopus* Mcm10 is a CDK-substrate required for replication fork stability. *Cell Cycle* 2016; 15(16): 2183-95.
- 47 Lim HJ, Jeon Y, Jeon CH, Kim JH, Lee H. Targeted disruption of Mcm10 causes defective embryonic cell proliferation and early embryo lethality. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813(10): 1777-83.
- 48 Bourton EC, Plowman PN, Smith D, Arlett CF, Parris CN. Prolonged expression of the gamma-H2AX DNA repair biomarker correlates with excess acute and chronic toxicity from radiotherapy treatment. *Int J Cancer* 2011; 129(12): 2928-34.
- 49 Gagou ME, Zuazua-Villar P, Meuth M. Enhanced H2AX phosphorylation, DNA replication fork arrest, and cell death in the absence of Chk1. *Mol Biol Cell* 2010; 21(5): 739-52.
- 50 Becker JR, Nguyen HD, Wang X, Bielinsky AK. Mcm10 deficiency causes defective-replisome-induced mutagenesis and a dependency on error-free postreplicative repair. *Cell Cycle* 2014; 13(11): 1737-48.
- 51 Lee C, Liachko I, Bouten R, Kelman Z, Tye BK. Alternative mechanisms for coordinating polymerase alpha and MCM helicase. *Mol Cell Biol* 2010; 30(2): 423-35.
- 52 Franchitto A, Pichierri P. Replication fork recovery and regulation of common fragile sites stability. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(23): 4507-17.
- 53 Miyazawa-Onami M, Araki H, Tanaka S. Pre-initiation complex assembly functions as a molecular switch that splits the Mcm2-7 double hexamer. *EMBO Rep* 2017; 18(10): 1752-61.