

RECQL5基因的结构及其生物学功能的研究进展

万亮琴¹ 李卫红^{1*} 刘亚明² 李芳赫¹ 臧妍妍¹ 张 赛¹ 姜昭妍¹ 马家宝¹ 胡艳红¹
(¹北京中医药大学, 北京 100029; ²北京航空航天大学, 北京 100191)

摘要 RECQL5(RecQ protein-like 5)是RecQ DNA解旋酶家族的一个成员,同属于DEXH-box DNA/RNA解旋酶家族。RecQ家族中的三成员(*WRN*、*BLM*、*RECQL4*)基因突变与人类一些遗传疾病相关,而*RECQL5*基因至今未发现与人类疾病相关。近年来研究发现,RECQL5对维持DNA的稳定以及在DNA的复制、修复、重组和转录等过程中发挥着非常重要的作用。该文主要对*RECQL5*基因的结构及其在DNA复制、修复和转录等方面的作用进行综述。

关键词 *RECQL5*基因; DNA复制; DNA修复; DNA转录

Advance in Structure and Protein Function of *RECQL5* Gene

Wan Liangqin¹, Li Weihong^{1*}, Liu Yaming², Li Fanghe¹, Zang Yanyan¹, Zhang Sai¹,
Jiang Zhaoyan¹, Ma Jiabao¹, Hu Yanhong¹
(¹Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
²Beijing University of Aeronautics & Astronautics, Beijing 100191, China)

Abstract RECQL5 (RecQ protein-like 5) is one of members of the RecQ family of DNA helicases, and belongs to the DEXH-box DNA/RNA helicase family. The mutation of *WRN*, *BLM* and *RECQL4* genes in RecQ family could lead to some genetic diseases. However, it has not yet be found that *RECQL5* gene is associated with any human disease. The recent research has shown that RECQL5 plays a very important role in keeping the stability of DNA, regulating the replication, repair, recombination and transcription of DNA. Herein, the structure and biochemical characteristics of *RECQL5* gene were reviewed.

Keywords *RECQL5* gene; DNA replication; DNA repair; DNA transcription

DNA解旋酶是一种广泛存在的酶,其功能是解旋DNA的双螺旋结构,参与DNA的复制、修复、重组和转录等过程,几乎在所有细胞的新陈代谢过程中发挥重要作用。RecQ解旋酶(RecQ helicase)属于DNA解旋酶,对于维持DNA的稳定具有重要意义,被人们称为“基因的守护者”^[1]。迄今发现的人类RecQ解旋酶家族有5个成员,包括RECQL1、WRN、BLM、RECQL4和RECQL5,通过对其结构及功能等的分析,发现该家族成员具有很多类似的结构,但不同的解旋酶生理功能有很大的区别^[2]。研究发现,

WRN、*BLM*和*RECQL4*基因突变分别与3种常染色体隐性遗传病[Bloom综合征(Bloomsyndrome, BS)、Werner综合征(Werner syndrome, WS)和Rothmund-Thomson综合征(Rothmund-Thomson syndrome, RTS)]有关^[3],而*RECQL5*基因突变至今未发现与人类疾病相关,但其在DNA的复制、修复和转录等过程中发挥了一定的作用,其深入的生理功能尚待进一步明确,这也成为临床及科研人员研究的焦点。本文主要对*RECQL5*的结构及其在DNA复制、修复和转录等方面的作用机制作一综述。

收稿日期: 2014-10-29 接受日期: 2015-01-06

国家自然科学基金(批准号: 81273885)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-64286982, E-mail: liweihong.403@163.com

Received: October 29, 2014 Accepted: January 6, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81273885)

*Corresponding author. Tel: +86-10-64286982, E-mail: liweihong.403@163.com

网络出版时间: 2015-03-04 10:29

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150304.1029.003.html>

1 *RECQL5*基因的结构

RecQ解旋酶在不同的组织及细胞的不同周期中均有表达, *RECQL5*基因最早由Kitao等^[4]发现并加以鉴定, 与其他RecQ解旋酶不同的是, BLM、WRN、*RECQL4*蛋白只在特定的组织中表达, 而*RECQL5*蛋白在任何组织中均有表达^[5]。人类*RECQL5*基因位于17q25.2~25.3染色体, 至少含有19个外显子, 在转录过程中因选择性剪切产生3个不同的mRNA异构体, 即*RECQL5 α* 、*RECQL5 β* 和*RECQL5 γ* 。其中, *RECQL5 α* 含有3 715个碱基, 能编码一个含有410个氨基酸的蛋白; *RECQL5 β* 含3 703个碱基, 编码一个含有991个氨基酸的蛋白; *RECQL5 γ* 含1 794个碱基, 能编码一个大小为435个氨基酸的蛋白^[6]。三种蛋白在细胞中的定位是不同的, *RECQL5 α* 和*RECQL5 γ* 亚型存在于细胞质中, 而*RECQL5 β* 亚型存在于细胞核中。*RECQL5 α* 、 β 和 γ 各含有一个保守的解旋结构域, 但*RECQL5 β* 还含有一个长的C-末端, 且C-末端中含有一个核定位序列(nuclear localization signal, NLS), 该C-末端与其他所有的RecQ解旋酶均无序列的相似性, 提示*RECQL5*的功能可能与*RECQL5 β* 具有独特的C-末端结构有关^[7]。

Ren等^[8]通过凝胶阻滞实验检测了*RECQL5 α* 和*RECQL5 β* 对DNA的解旋活性, 发现*RECQL5 β* 具有较强解旋DNA链的作用, 并显示出明显的剂量依赖性, 而*RECQL5 α* 几乎没有解旋功能, 提示*RECQL5 β* 亚型可能是*RECQL5*发挥解旋作用的主要执行者。同时该研究还发现, *RECQL5 α* 与*RECQL5 β* 具有相似的退火活性。丁秀艳等^[9]通过结合快速反应停流技术(stopped-flow method)和荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)的方法, 系统研究了*RECQL5 β* 的DNA退火特性和解旋动力学, 发现在不同磷酸核苷因子(ADP、ATP γ S和AMPPNP)存在的状态下, *RECQL5 β* 均具有介导两条互补单链DNA分子退火的活性。同时, 比较分析C-末端缺失的*RECQL5 β* 解旋酶, 在随解旋酶浓度变化的退火动力学过程、稳态DNA结合动力学过程和解离动力学过程中, 发现缺失C-末端的*RECQL5 β* 解旋酶退火速率明显降低。该研究提示, *RECQL5 β* 的退火活性并不仅仅取决于与单链DNA底物的结合能力, 其内在特定结构也起着至关重要的作用, 即*RECQL5 β* 特有的C-末端区域是其催化高效退火反应所必不可少的。目前对于*RECQL5 γ* 亚型功能特性的研究报道尚

少, 有人推测其可能具有与*RECQL5 α* 相似的功能。

2 *RECQL5*在DNA复制中的作用

研究发现, *RECQL5*在DNA复制中具有重要的作用。*RECQL5*可通过调节复制过程中一些内切酶或解旋酶的功能而参与DNA复制。皮瓣核酸内切酶1(flap endonuclease 1, FEN1)是一种非常重要的酶, 参与DNA复制、重组及修复等过程。Speina等^[10]发现, *RECQL5*能与FEN1相互作用, 促进FEN1在DNA的复制中生物功能的发挥。同时也发现, WRN、BLM和*RECQL4*也有类似的作用。在细胞周期S期(即DNA复制过程), *RECQL5*能直接与拓扑异构酶II(Topo-II)相互作用加速Topo-II对DNA的解螺旋作用。此外, 研究显示在细胞周期的S期, 在体和离体细胞中的增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)均能与*RECQL5*相互作用, 协助完成DNA的复制过程。此外, *RECQL5*能够促进DNA链的交换, 从而克服DNA复制过程中的复制叉阻滞, 使DNA的复制过程能较顺利地进行^[11]。当细胞中*RECQL5*减少时, 细胞复制明显变缓, 且G₂~M期细胞停滞, S晚期细胞复制也出现障碍, 提示*RECQL5*在DNA复制过程及维持基因的稳定方面起了关键作用^[12]。对于*RECQL5*在DNA复制过程中的作用, 大量的研究者已通过不同的手段研究证实。将喜树碱作用于*RECQL5*基因敲除小鼠成纤维细胞后, 通过检测溴脱氧尿苷的含量来反映复制过程中DNA的变化。结果显示, *RECQL5*基因敲除组成纤维细胞较对照组细胞溴脱氧尿苷的含量显著减少, 而阿斐迪霉素(DNA复制抑制剂)^[13]可显著减轻喜树碱对两组细胞的毒性。上述结果提示, *RECQL5*基因敲除细胞对喜树碱更敏感(表现出更明显的细胞毒性), 可能是由细胞内DNA复制过程的缺陷所致, 即*RECQL5*基因敲除后, 细胞复制出现了明显的异常导致细胞对喜树碱更加敏感。 γ -H₂AX是DNA损伤的标记物, Hu等^[14]发现, 与野生型小鼠细胞相比, *RECQL5*基因敲除小鼠成纤维细胞中 γ -H₂AX的阳性标记明显增多, 提示这些DNA损伤的碎片可能是在DNA复制障碍过程中产生的。同样, Nakayama等^[15]发现, 人类*RECQL5*基因敲除的细胞和*RECQL5*基因突变的黑腹菌属的幼虫细胞中均含有大量DNA链的断裂, 提示*RECQL5*在DNA复制过程中对保持DNA完整性具有重要作用。

3 RECQL5在DNA修复中的作用

在细胞在生长过程中, DNA既可以在外源或内源因素的作用下产生DNA损伤, 也可以自发地产生DNA损伤。DNA损伤有多种类型, 如碱基氧化损伤、烷基化损伤和聚化加合物形成等, 这些损伤可导致DNA的不稳定, 甚至发生DNA链断裂。DNA链断裂包括DNA单链断裂和DNA双链断裂。这些损伤如果不能及时修复, 将引起基因的突变甚至细胞的死亡。然而, 细胞在长期的进化过程中已经建立起功能完善的多种DNA损伤检测、识别以及修复系统, 从而使受损的DNA得以及时地修复, 维持细胞的正常功能。

3.1 RECQL5在DNA双链断裂中的修复作用

Popuri等^[16]发现, 当用 γ -射线照射细胞时, *RECQL5*基因缺失的细胞中自发的DNA双链断裂明显增多, 并且其修复功能也明显减弱。Zheng等^[17]也发现, *RECQL5*解旋酶对于DNA双链断裂具有明显的修复作用, *RECQL5*与基因修复复合体(MRE11-RAD50-NBS1, MRN)具有内在的功能联系。MRN复合体包括MRE11、Nbs1、Rad50三种蛋白质, 在DNA双链损伤修复、同源重组、非同源重组以及维持基因组的稳定性等方面均发挥重要作用。MRN复合体可募集*RECQL5*迁移至DNA损伤位点, 而*RECQL5*通过与MRE11和NBS1相互作用, 主要是抑制MRE11 3'→5'外切酶的活性来调节DNA的修复作用, 特别是在射线诱导或其他方式诱导的DNA复制过程异常而导致的DNA双链断裂的修复过程中, *RECQL5*与MRE11相互协调发挥着重要的促修复作用。

Popuri等^[16]利用激光共聚焦显微镜观察活体细胞, 从动力学上对比了*RECQL5*同其他RecQ解旋酶如BLM、WRN和*RECQL4*对DNA双链断裂的修复作用, 发现它们的修复过程几乎一致, 在修复时间方面, *RECQL5*较BLM和WRN短, 较*RECQL4*所用的时间长, 提示在修复DNA双链断裂方面*RECQL5*与其他RecQ家族成员具有相似的作用。Jeong等^[18]发现, 当敲除*RECQL5*基因, 秀丽隐杆线虫的生殖细胞对电离辐射非常敏感。Chen等^[19]发现, *RECQL5*基因功能的缺失会造成基因的不稳定, 同时会导致基因中杂合性丢失。在胚胎细胞时期, *RECQL5*基因的缺失同样会引起双链断裂的DNA增多^[15]。上述研究提示, *RECQL5*在DNA双链断裂修复中具有重要作用。

3.2 RECQL5在DNA单链断裂中的修复作用

碱基切除修复机制是主要参与DNA单链断裂的修复机制, 内源性损伤及外源性的有害物质均能导致DNA的单链断裂。而剪切修复过程需要FEN1、PCNA和多聚(ADP-核糖)聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]三种蛋白的参与。*RECQL5*能与这些蛋白, 特别是FEN1和PCNA相互作用, 在DNA的复制、碱基切除修复及单链断裂的修复过程中发挥重要作用^[20]。

Tadokoro等^[21]发现, 敲除*RECQL5*后的细胞对氧化应激更敏感, 细胞中积累了大量损伤的DNA, 同时*PARP*和射线修复交叉互补基因(X-ray repair cross complementing group 1, *XRCC1*)表达显著减少, 其他几种参与碱基切除修复的基因如*NEIL1*、*NTH1*、*OGG1*、*APE1*、*POL β* 、*FEN1*、*LIG1*和*LIG3*的表达也有不同程度的降低, *RECQL5*敲除细胞的DNA修复效率明显下降。以上结果提示, *RECQL5*直接参与了DNA单链断裂的修复。研究表明, 大量未被修复的单链DNA的积累会最终影响DNA的稳定, 导致DNA双链的断裂而引起细胞的死亡^[22]。因此, *RECQL5*对DNA单链的修复作用对维持细胞染色体稳定和正常代谢具有重要意义。

4 RECQL5在DNA转录中的作用

目前研究认为, *RECQL5*参与了DNA的转录, 但对其在转录过程中的具体作用尚无定论。Izumikawa等^[23]发现, 缺乏*RECQL5*基因的细胞中转录过程明显增多, 提示*RECQL5*对DNA的转录有抑制作用。进一步的研究发现, *RECQL5*能与RNA聚合酶II(RNA polymerase II, RNAPII)中最大的亚基RPB1蛋白直接结合, 形成*RECQL5*-RNA-II复合物^[24], 提示*RECQL5*可能通过抑制RNAPII的活性来限制DNA的转录过程。也有研究提示, *RECQL5*能同时结合非磷酸化的RNAPIIa和磷酸化的RNAPIIo, 从而催化转录的起始和延伸^[25]。刘易飞等^[26]用ENCODE芯片检测了*RECQL5*和*RNAPIIa*在基因组上的定位, 发现二者在绝大多数的基因启动子区能够共定位(co-localize)。也有人推测, *RECQL5*可能通过调节RNA聚合酶II在转录中的作用, 从而防止自发的DNA断裂^[27], 对DNA的稳定性具有重要意义。自发DNA损伤的数量与RNA聚合酶II参与的转录位点多少有关, 当细胞中*RECQL5*基因功能缺乏时, 自发损伤DNA的数

量明显增多。有趣的是, Balajee等^[28]发现WRN也有可能是转录激活因子, 因为当他们培养具有Werner综合症的细胞(即WRN功能异常或突变)时发现, RNA聚合酶II所调节的转录过程明显减少。以上研究提示, RecQ家族在DNA转录过程中发挥着重要的作用, 且家族内不同的基因发挥着不同的功能。

5 展望

综上所述, *RECQL5*在DNA的复制、修复、转录过程中均具有重要的作用。此外, *RECQL5*对DNA重组也有一定的调节作用。当缺乏*RECQL5*基因时, 人体染色体会过度重组, 肿瘤更易发生。实验也发现, *RECQL5*基因敲除的老鼠具有明显的易患肿瘤倾向, 特别是结肠癌发病率明显增高^[29], 提示*RECQL5*基因可能是抑制结肠癌发病的主要基因之一, 因此有人提出, *RECQL5*基因可能是癌症发生潜在的重要生物标志物。虽然目前尚未发现*RECQL5*基因与人类的疾病有关, 但有人推测, *RECQL5*基因的突变也可能与人类疾病有关, 有可能是一种人类罕见的疾病, 就如RecQ其他解旋酶突变引发的一些罕见的综合征一样, 只是至今尚未发现。因此, 对该基因的深入研究并进一步明确其生物学机制, 将会为人类疾病的治疗及用药提供新的策略。

参考文献 (References)

- 1 Chu WK, Hickson ID. RecQ helicases: Multifunctional genome caretakers. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(9): 644-54.
- 2 Sultanas P, Wigley DB. Unwinding the 'Gordian knot' of helicase action. *Trends Biochem Sci* 2001; 26(1): 47-54.
- 3 Bachrati CZ, Hickson ID. RecQ helicases: Suppressors of tumorigenesis and premature aging. *Biochem J* 2003; 374(3): 577-606.
- 4 Kitao S, Ohsugi I, Ichikawa K, Goto M, Furuichi Y, Shimamoto A. Cloning of two new human, helicase genes of the RecQ family: Biological significance of multiple species in higher eukaryotes. *Genomics* 1998; 54(3): 443-52.
- 5 Kawabe T, Tsuyama N, Kitao S, Nishikawa K, Shimamoto A, Shiratori M, *et al.* Differential regulation of human RecQ family helicases in cell transformation and cell cycle. *Oncogene* 2000; 19(41): 4764-72.
- 6 Shimamoto A, Nishikawa K, Kitao S, Furuichi Y. Human RecQ5beta, a large isomer of RecQ5 DNA helicase, localizes in the nucleoplasm and interacts with topoisomerases 3alpha and 3beta. *Nucleic Acids Res* 2000; 28(7): 1647-55.
- 7 Garcia PL, Liu Y, Jiricny J, West SC, Janscak P. Human RECQ5β, a protein with DNA helicase and strand-annealing activities in a single polypeptide. *EMBO J* 2004; 23(14): 2882-91.
- 8 Ren H, Dou SX, Zhang XD, Wang PY, Kanagaraj R, Liu JL, *et al.* The zinc-binding motif of human RECQ5β suppresses the intrinsic strand-annealing activity of its DExH helicase domain and is essential for the helicase activity of the enzyme. *Biochem J* 2008; 412(3): 425-33.
- 9 丁秀艳, 徐雅楠, 李伟, 王鹏业, 奚绪光, 窦硕星. RECQ5β解旋酶DNA退火特性的动力学研究. *科学通报(Ding Xiuyan, Xu Yanan, Li Wei, Wang Pengye, Xi Xuguang, Dou Shuoxing. Kinetic study on DNA annealing characteristics of RECQ5β helicase. Science Bulletin)* 2012; 57(8): 618-25.
- 10 Speina E, Dawut L, Hedayati M, Wang Z, May A, Schwendener S, *et al.* Human RECQL5beta stimulates flap endonuclease 1. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(9): 2904-16.
- 11 Kanagaraj R, Saydam N, Garcia PL, Zheng L, Janscak P. Human RECQ5beta helicase promotes strand exchange on synthetic DNA structures resembling a stalled replication fork. *Nucleic Acids Res* 2006; 34(18): 5217-31.
- 12 Ramamoorthy M, Tadokoro T, Rybanska I, Ghosh AK, Wersto R, May A, *et al.* RECQL5 cooperates with Topoisomerase II alpha in DNA decatenation and cell cycle progression. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(4): 1621-35.
- 13 Ishii Y, Bender MA. Effects of inhibitors of DNA synthesis on spontaneous and ultraviolet light-induced sister-chromatid exchanges in Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1980; 79(1): 19-32.
- 14 Hu Y, Raynard S, Sehorn MG. RECQL5/RECQL5 helicase regulates homologous recombination and suppresses tumor formation via disruption of Rad51 presynaptic filaments. *Genes Dev* 2007; 21(23): 3073-84.
- 15 Nakayama M, Yamaguchi S, Sagisu Y, Sakurai H, Ito F, Kawasaki K. Loss of RecQ5 leads to spontaneous mitotic defects and chromosomal aberrations in *Drosophila melanogaster*. *DNA Repair* 2009; 8(2): 232-41.
- 16 Popuri V, Ramamoorthy M, Tadokoro T, Singh DK, Karmakar P, Croteau DL, *et al.* Recruitment and retention dynamics of RECQL5 at DNA double strand break sites. *DNA Repair* 2012; 11(7): 624-35.
- 17 Zheng L, Kanagaraj R, Mihaljevic B, Schwendener S, Sartori AA, Gerrits B, *et al.* MRE11 complex links RECQ5 helicase to sites of DNA damage. *Nucleic Acids Res* 2009; 37(8): 2645-57.
- 18 Jeong YS, Kang Y, Lim KH, Lee MH, Lee J, Koo HS. Deficiency of *Caenorhabditis elegans* RecQ5 homologue reduces life span and increases sensitivity to ionizing radiation. *DNA Repair* 2003; 2(12): 1309-19.
- 19 Chen Y, Dui W, Yu Z, Li C, Ma J, Jiao R. *Drosophila* RecQ5 is required for efficient SSA repair and suppression of LOH *in vivo*. *Protein Cell* 2010; 1(5): 478-90.
- 20 Kanagaraj R, Huehn D, MacKellar A, Menigatti M, Zheng L, Urban V, *et al.* RECQ5 helicase associates with the C-terminal repeat domain of RNA polymerase II during productive elongation phase of transcription. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(22): 8131-40.
- 21 Tadokoro T, Ramamoorthy M, Popuri M, May A, Tian JY, Sykora P, *et al.* Human RECQL5 participates in the removal of endogenous DNA damage. *Mol Biol Cell* 2012; 23(21): 4273-85.
- 22 Caldecott KW. Single-strand break repair and genetic disease. *Nat Rev Genet* 2008; 9(8): 619-31.
- 23 Izumikawa K, Yanagida M, Hayano T, Tachikawa H, Komatsu W, Shimamoto A, *et al.* Association of human DNA helicase RecQ5beta with RNA polymerase II and its possible role in tran-

- scription. *Biochem J* 2008; 413(3): 505-16.
- 24 Islam MN, Fox III D, Guo R, Enomoto T, Wang W. RECQL5 promotes genome stabilization through two parallel mechanisms—interacting with RNA polymerase II and acting as a helicase. *Mol Cell Biol* 2010; 30(10): 2460-72.
- 25 Aygün O, Xu X, Liu Y, Takahashi H, Kong SE, Conaway RC, *et al.* Direct inhibition of RNA polymerase II transcription by RECQL5. *J Biol Chem* 2009; 284(35): 23197-203.
- 26 刘易飞. 减数分裂相关基因在人卵巢中的表达和RECQL5调节RNA聚合酶II的转录的研究(博士论文). 中山大学(Liu Yifei). The expression of meiosis relative genes in human ovarian and the transcription of RNA polymerase II regulated by RECQL5. Sun YAT-SEN University) 2009.
- 27 Li M, Xu X, Liu Y. The SET2-RPB1 interaction domain of human RECQ5 is important for transcription-associated genome stability. *Mol Cell Biol* 2011; 31(10): 2090-9.
- 28 Balajee AS, Machwe A, May A, Gray MD, Oshima J, Martin GM, *et al.* The Werner syndrome protein is involved in RNA polymerase II transcription. *Mol Biol Cell* 1999; 10(8): 2655-68.
- 29 Hu Y, Lu X, Luo G. Effect of RECQL5 deficiency on the intestinal tumor susceptibility of Apc(min) mice. *World J Gastroenterol* 2010; 16(12): 1482-6.

中国细胞生物学