

真核生物滑动夹装载复合体在DNA损伤应答及修复中的功能研究进展

段佳琪¹ 孙汝浩² 林小迪² 赵洁^{2*} 余路阳^{1*}

(¹浙江大学生命科学学院, 杭州 310058; ²武汉大学生命科学学院, 杂交水稻国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要 DNA损伤应答(DNA damage response, DDR)对生物体维持基因组的准确性和完整性至关重要。真核生物中复制因子C(replication factor C, RFC)及其类似物(RFC-like clamp loaders, RLCs)为滑动夹装载复合体, 在DNA损伤修复过程中发挥重要作用。该文对四种滑动夹装载复合体的结构特征、生物学功能及在DNA损伤修复中的机制等研究进展进行综述, 为进一步探究DNA损伤应答及修复机制提供综合信息和参考资料。

关键词 滑动夹装载复合体; DNA损伤应答; DNA损伤修复; 真核生物

Research Progress of Eukaryotic Clamp Loading Complexes in DNA Damage Response and Repair

DUAN Jiaqi¹, SUN Ruhao², LIN Xiaodi², ZHAO Jie^{2*}, YU Luyang^{1*}

(¹School of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

²College of Life Sciences, State Key Laboratory of Hybrid Rice, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract DDR (DNA damage response) is essential for organisms to maintain genomic accuracy and integrity. RFC (replication factor C) and its analogs RLCs (RFC-like clamp loaders) are sliding clamp loading complexes that play important roles in DNA damage repair in eukaryotes. In this paper, the research progress on the structural characteristics, biological functions and mechanisms of the four sliding clamp loading complexes in DNA damage repair were reviewed to provide comprehensive information and references for further exploring the mechanisms of DNA damage response and repair.

Keywords slide clamp loading complex; DNA damage response; DNA damage repair; eukaryote

1 RFC/RLC复合体

复制因子C(replication factor C, RFC)是一种滑动夹装载复合体, 负责将DNA聚合酶的持续作用因子增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)装载到引物-模板接头上, 从而完成DNA复制的延长事件^[1-2]。大肠杆菌的 β -夹是第一个被发现的包围DNA的蛋白质, 从中鉴定出一类被称为DNA聚合酶

滑动夹的新蛋白质, 该滑动夹需要一个五聚体的滑动夹装载器, 保证DNA聚合酶在复制过程中沿着它滑动以获得极高的持续性^[3-4]。后来, 随着猿猴空泡病毒40(Simian virus 40, SV40)体外复制系统的建立, 从真核生物中获得的两种蛋白因子PCNA和RFC分别被认定为该系统中发挥功能的滑动夹和滑动夹装载器, 它们在SV40体外DNA复制中的作用至关重要^[5-6]。

收稿日期: 2023-03-24

接受日期: 2023-06-05

国家自然科学基金(批准号: 32170337、31870303)和浙江省重点研发计划“领雁”研发攻关计划(批准号: 2022C03097)资助的课题

*通讯作者。Tel: 027-68756010, E-mail: jzhao@whu.edu.cn; Tel: 0571-88208743, E-mail: luyangyu@zju.edu.cn

Received: March 24, 2023

Accepted: June 5, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32170337, 31870303), and the Leading Goose Research and Development Program of Zhejiang Province (Grant No.2022C03097)

*Corresponding authors. Tel: +86-27-68756010, E-mail: jzhao@whu.edu.cn; Tel: +86-571-88208743, E-mail: luyangyu@zju.edu.cn

真核生物用于DNA复制的典型滑动夹装载器是RFC五聚体。RFC复合体由1个大亚基RFC1和4个小亚基RFC2/3/4/5组成, 它们都是AAA+(ATPases associated with a variety of cellular activities) ATP酶家族的成员^[7]。不同物种中4个小亚基的分子质量均在36~41 kDa内, 然而大亚基RFC1的分子质量在不同的物种间有很大的差异, 例如95 kDa(酿酒酵母)、109 kDa(拟南芥)、110.8 kDa(水稻)及128 kDa(人类)。RFC复合体中的5个亚基存在于所有的真核生物中且彼此之间具有很高的同源性^[8]。真核生物的滑动夹装载复合体RFC、细菌中的 γ 复合体、T4噬菌体gp44/gp62蛋白以及古细菌中的RFCL/RFCS复合体在结构和功能上均高度保守^[9]。与细菌和古细菌不同, 真核生物含有另外3种RFC复合体的类似物(RFC-like clamp loaders, RLCs)(表1和图1)^[10]。

RFC复合体的5个亚基均包含一段长约220个氨基酸的高度保守序列, 该序列属于AAA+同源区域, 可以分为7个保守结构域, 即Box II~Box VIII, 主要存在于N-端区域, 尽管各个亚基的序列存在冗余, 但每个亚基都是形成一个稳定且具有功能的复合体所必需的^[11]。Box III包含最保守的基序, 即对RFC的结构和功能至关重要的磷酸结合环(P-环), Box V是第二保守的结构域, 它与RNA解旋酶家族的DEAD-box蛋白类似, Box II、IV和VI是RFC和原核生物滑动夹装载复合体所特有的ATP/GTP结合区域^[12]。RFC亚基的C末端序列是特异的, 主要由 α -螺旋组成, 对人类、

拟南芥和水稻中RFC复合体的研究结果皆表明, C末端区域介导亚基间的互作, 这是复合体形成所必需的^[13-14]。除了这7个结构域之外, RFC1还包含N-端和C-端延伸, RFC1的N-端延伸包含一个额外的由90个氨基酸组成的Box I, 它与原核DNA连接酶具有很高的同源性, 但缺乏连接酶活性, 尽管Box I缺乏已知的DNA结合基序, 但已证明它能与DNA结合^[15]。RFC1的N-端延伸并不是细胞活性所必需的, 也不是滑动夹装载活性所必需的(图2)^[16]。

经典的RFC复合体的5个亚基空间结构呈一个螺旋状的C形, 在中央形成一个可用于DNA结合的“中心室”, 这5个亚基依次被命名为A到E, A亚基位于螺旋的底部, A和E亚基之间存在横向缝隙来保证DNA可以进入, 滑动夹会结合到“中心室”的下方^[17]。如图3所示, 经典的滑动夹装载过程伴随着ATP的参与。首先, 复合体与ATP结合, 从而识别、结合并打开滑动夹, 然后将滑动夹装载到引物-模板接头上; 随后, 滑动夹关闭, PCNA与RFC2到RFC5之间的联系被切断; 伴随着ATP的水解, RFC装载复合体从滑动夹上脱落进行下一轮DNA合成, 至此滑动夹装载反应完成^[18]。尽管其他的RLCs复合体的每个组件中只有A亚基不同, 但它们都具有与传统RFC复合体相似的作用机制。与经典的RFC复合体相比, Ctf18-RFC和Elg1-RFC复合体装载PCNA的效率极低, 因此不可能在常规复制条件下进行装载反应, 而Rad24-RFC复合体与经典RFC复合体的装载机制

表1 真核生物中4种不同的滑动夹装载器

Table 1 The four distinct clamp loaders in eukaryotes

滑动夹装载器 Clamp loader	A亚基 A subunit	共同亚基 Common subunits	滑动夹 PCNA	功能 Function
RFC	Rfc1	Rfc2-5	PCNA	Replication, Pol δ
Ctf18-RFC	Ctf18-Ctf8-Dcc1	Rfc2-5	PCNA	Replication, Pol ϵ
Elg1/ATAD5-RFC	Elg1/ATAD5	Rfc2-5	PCNA	Unloading PCNA from DNA
Rad24/Rad17-RFC	Rad24/Rad17	Rfc2-5	9-1-1	DNA damage checkpoint activator

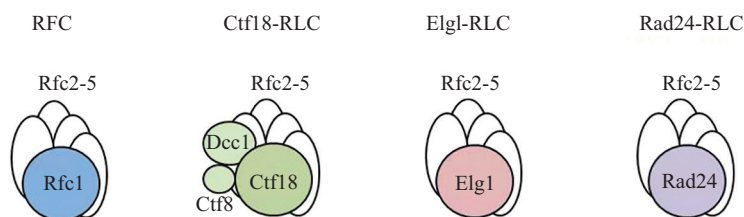


图1 真核生物滑动夹装载器结构示意图(根据参考文献[98]修改)

Fig.1 Schematic diagram of the structure of clamp loaders in eukaryotes (modified from the reference [98])

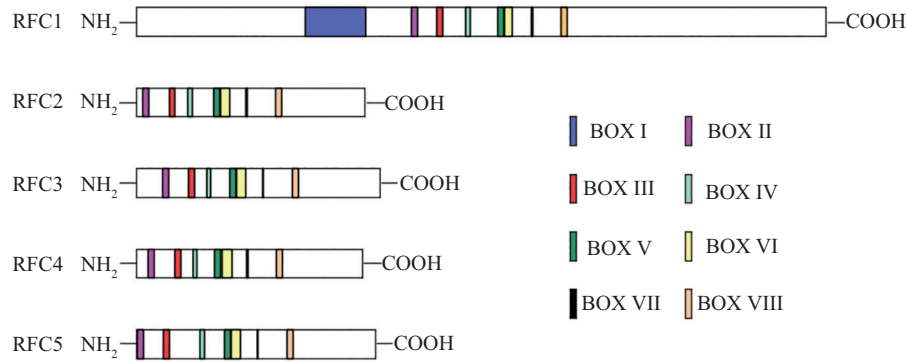
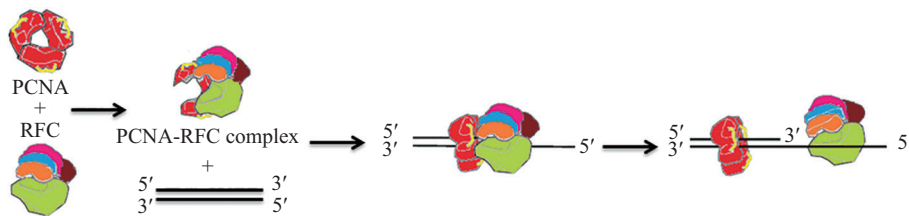


图2 水稻RFC复合体蛋白结构示意图

Fig.2 Schematic diagram of the protein structure of the RFC complex in rice



PCNA与RFC复合体; RFC结合并打开PCNA; RFC将PCNA装载到DNA上; RFC从PCNA上卸载。

PCNA and RFC complexes; RFC combines and opens the PCNA; PCNA is loaded on the DNA by RFC; RFC is unloaded from the PCNA.

图3 RFC复合体参与DNA复制过程作用模式

Fig.3 Mode of the RFC complex involved in the DNA replication process

高度相似^[19-21]。

在接下来的几十年间,越来越多的不同物种中的RFC/RLC被发现,除了参与DNA的复制,RFC/RLC还参与DNA损伤修复、细胞分裂增殖、DNA聚合酶转换以及检验点控制等相关生物学过程^[22]。

2 真核生物DNA损伤应答与修复

生物体的一生始终伴随着内源性或外源性因素导致的DNA损伤,内源损伤是在生物体代谢过程中自发产生的,最常见的细胞内源性基因毒性压力包括活性氧导致的DNA氧化或断裂、DNA复制叉崩溃、减数分裂过程中的染色体互换以及脊椎动物淋巴细胞免疫球蛋白基因的染色体重排;而外部环境的刺激,包括来自太阳光的紫外线、电离辐射等物理损伤和甲磺酸甲酯、顺铂等化学试剂造成的损伤^[23]。如果受损的DNA没有被及时修复,它将难以被正确地复制或转录,从而影响细胞功能,甚至干扰整个生物体的正常发育^[24-25]。为了应对这些威胁,细胞用一种被称为DNA损伤应答(DNA damage response, DDR)的机制来感知并修复损伤,以维持基因组的准确性和完整性^[26]。

细胞中DNA损伤类型大致分为单链断裂和双链断裂(single-strand and double-strand DNA breaks, SSBs和DSBs),为了抵御细胞的DNA损伤,保证生物体的正常发育,细胞进化出复杂的调控机制,能够修复不同类型的DNA损伤。目前已有数百个与DNA损伤修复相关的基因被确定,它们主要参与了5个功能上相互关联的不同途径:碱基切除修复(base excision repair, BER)、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、错配修复(mismatch repair, MMR)、非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)和同源重组(homologous recombination, HR)^[27-32]。在哺乳动物中,DNA断裂的信号传导主要依赖两种磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositide 3-kinases, PIKKs)样蛋白激酶ATM(ATaxia-tELANGIECTASIA MUTATED)和ATR(ATM AND RAD3-related)。一般而言,DSB的感知通过Mre11、Rad50、Nbs1(MRN)复合物激活ATM激酶完成,而大多数情况下ATR由复制蛋白A(replication protein A, RPA)包被的单链DNA(single-stranded DNA, ssDNA)激活^[33-34]。双链断裂时,ATM磷酸化蛋白激酶CHK2(checkpoint kinase 2),进一步磷酸化CDC25A,最终作用于Cyclin

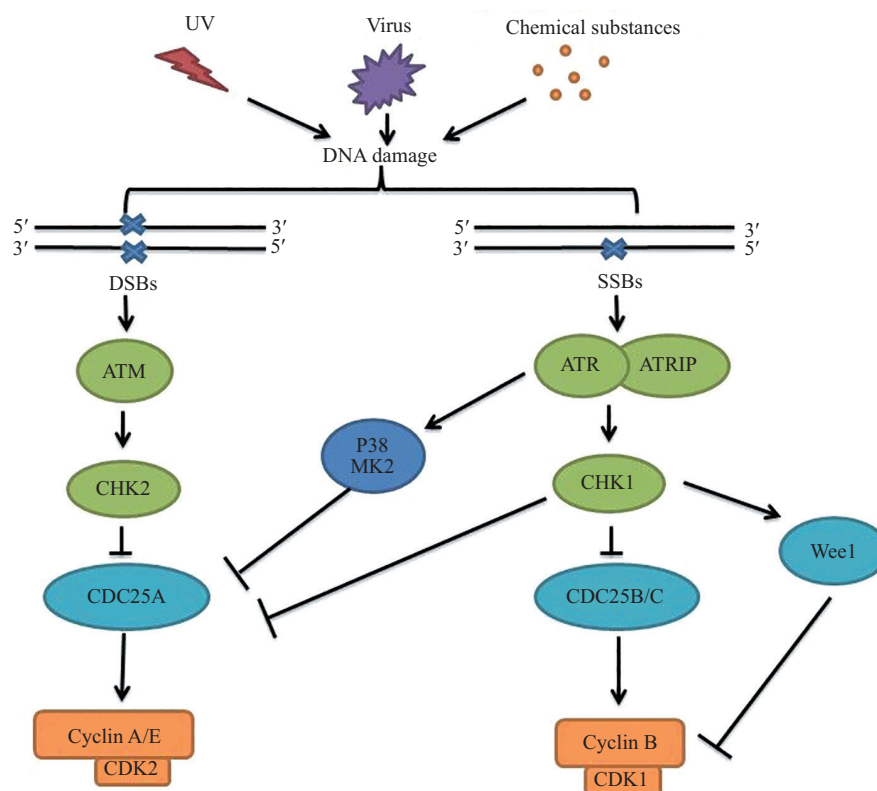


图4 ATR和ATM通路示意图(根据参考文献[43]修改)

Fig.4 Schematic diagram of ATR and ATM pathways (modified from the reference [43])

A/E与CDK2的复合物导致G₁/S期阻滞^[35-36]。而单链断裂发生后,ATR通过ATRIP蛋白被招募到RPA包裹的ssDNA处,磷酸化蛋白激酶CHK1(checkpoint Kinase 1,CHK1),进而磷酸化CDC25B/C或作用于Wee1,最终作用于CyclinB与CDK1的复合物导致G₂/M期阻滞。此外,ATR也可直接通过P38/MK2途径磷酸化CDC25A以促进S期阻滞(图4)^[42]。端粒重复结合因子2(telomeric repeat binding factor 2,TRF2)主要起到保护端粒免受ATM激活的作用,而端粒保护酶1(protection of telomeres 1,POT1)主要参与ATR通路的抑制^[37]。在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中,ATM和ATR的同源物分别是Tel1和Mec1,在DNA损伤信号的传导中发挥主要作用^[38]。ATM和ATR在植物中的作用似乎是保守的,对辐射诱导的DSB反应中,H2AX的磷酸化依赖于ATM和ATR,ATM在其中起着优势作用^[39]。此外,这两种激酶对辐射诱导的DSB的响应依赖于MRN复合物^[40]。

对DNA损伤修复的研究有助于了解细胞维护基因组稳定性的具体机制,对植物DDR机制的研究可以为人们改良现有的或发展更优的育种技术提供理论基础^[41]。此外,DDR也总是与疾病,特别是肿瘤

的发生和发展密切相关,对于DDR的研究也可以为肿瘤的治疗提供新的思路^[42]。本文分别对真核生物中RFC以及各种RLCs在DNA损伤修复过程中的作用进行了系统的总结,并展望了未来可能的研究方向,以期今后的深入研究提供参考。

3 真核生物RFC/RLCs复合体在DNA损伤修复中的作用

3.1 经典的RFC复合体

RFC最早是从人类的宫颈癌HeLa细胞提取物中纯化得到的^[44]。越来越多的证据表明,在哺乳动物中RFC复合体在癌症进展和治疗抵抗中起着重要作用,GONG等^[99]发现,RFC3的过表达导致肺腺癌细胞的侵袭和迁移数目增加。在人体细胞中,RFC4被认为是保护结直肠癌细胞免受辐射诱导的DSB最突出的辐射抵抗因子,在体外和裸鼠结直肠癌异种移植中保护结直肠癌细胞免受辐射诱导的DSB和凋亡。此外,在接受neoCRT治疗的局部进展期直肠癌LARC(locally advanced rectal cancer)患者中,较高水平的RFC4表达与较弱的肿瘤消退和较差的预后相关,其可用作肿瘤治疗标志物^[45]。PENG等^[100]的研

究表明, FOXM1(Forkhead box M1)作用于*RFC5*的启动子, 促进其表达导致胶质瘤细胞中替莫唑胺耐药。*RFC2*的异常表达与多种肿瘤的进展和转移密切相关, 大肠癌CRC(colorectal cancer)组织中的*RFC2*表达升高, 与严重的CRC临床病理症状有关, 其表达量降低会显著抑制CRC细胞的增殖^[46]。*RFC2*的异常过表达促进了肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的侵袭和迁移^[29]。ZHAO等^[101]对于癌症免疫治疗的研究表明, *RFC2*可以作为一个可靠的生物标志物来预测弥漫性低级别胶质瘤的预后和免疫特征。一系列研究表明, *RFC*复合体的5个亚基均在多种肿瘤的进展和转移过程中起重要作用, 推测其通过促进肿瘤细胞中的DNA损伤修复抵抗癌症治疗带来的压力, 并在肿瘤细胞的异常复制中发挥作用, 因此*RFC*可广泛作为多种癌症诊断及治疗进程的标志物。

在植物中, 拟南芥突变体*atrfc1-2*的种子严重败育, 雌、雄配子体发育异常, 进一步研究表明, *AtRFC1*在减数分裂重组和交叉形成以及减数分裂过程中的DNA双链断裂修复中发挥重要作用, 与此同时, *AtRFC1*也在脱落酸介导的同源重组过程中起到关键作用^[47-48]。突变体*atrfc3-1*对水杨酸敏感且对真菌的抗性增强, 表明*AtRFC3*是系统获得抗性的负调控因子, 且在细胞增殖和DNA复制中具有重要作用^[49]。拟南芥单氨基酸替换的*RFC4*突变体表现为植株矮小、早花以及部分不育表型, *AtRFC4*基因的缺失导致细胞不能正常进行DNA复制、胚胎细胞多数停滞于S期、不能进行正常的细胞分裂、对DSB诱导的遗传毒素敏感性增强以及细胞周期延迟并导致核内复制, 可见*AtRFC4*通过调节拟南芥中的DNA损伤修复, 在抵抗遗传毒性和细胞增殖中发挥重要作用^[50-51]。总之, 在植物细胞中, *RFC*的各个亚基也在细胞的复制与DNA损伤修复中起作用, 帮助植物抵抗外界环境压力, 维持正常的生长发育过程。

在酵母中, *Scrfc1(D513N)*突变体在酿酒酵母中表现出细胞周期延迟、端粒延长等表型, *Scrfc1*和*Scrfc4*突变体均表现出对甲磺酸甲酯(methylmethanesulfonate, MMS)、羟基脲(hydroxyurea, HU)等DNA损伤剂和细胞周期抑制剂的敏感性增强^[52-53]。GAUBITZ等^[102]发现, *RFC*与p/t-DNA结合, *RFC*复合体中的一个“分离针”可以融化引物的3'端, 表明其可能参与结合不同的DNA架构。在DNA切除修复和

双链断裂修复中, *RFC1*与PCNA的相互作用被证明是合成修复模板的必要条件^[54]。*RFC1*还通过DNA结合区C-端保守的caspase-3切割位点参与细胞凋亡, 该位点可被caspase-3蛋白酶切开, 从而抑制DNA合成并促进细胞凋亡^[55]。RPA在DNA复制和损伤检查点的激活中发挥重要作用, *RFC4*则通过与RPA相互作用参与这些过程^[53]。与此不同的是, 人体细胞中的*RFC4*可能不影响DNA损伤应答的早期激活, 但可能促进随后的DNA修复^[45]。*RFC*参与的不同DNA架构暗示其功能的多样性, 及其在不同物种间的特异性。

经典的*RFC*复合体的5个亚基在DNA损伤修复通路中的作用均有报道。在拟南芥中, *RFC1*在脱落酸(abscisic acid, ABA)介导的HR中起关键作用^[48]。RPA通过抑制人类细胞中的*RFC2*泛素化在DNA损伤应答中起调节作用^[56]。*RFC3*被认为是DNA损伤检查点传感器的组成部分之一^[60]。在NHEJ修复途径中, 核心复合物由Ku80(XRCC5)、Ku70(XRCC6)和DNA依赖性蛋白激酶组成, Ku70-Ku80异源二聚体的形成以及随后与DNA的DSB末端的结合是NHEJ的启动事件。*RFC4*通过与Ku70/Ku80复合物相互作用促进NHEJ介导的DNA修复, 但不影响同源重组介导的DNA修复^[45]。*RFC5*被报道与检查点效应器RAD53激酶(哺乳动物中的Chk2)、RAD24相互作用参与酿酒酵母DNA损伤检查点的调控^[58-59]。*RFC*复合体的5个亚基在不同的DNA损伤修复途径中均有参与, 在整个DDR过程的不同阶段中发挥不同的作用。

*RFC*复合体在损伤修复通路中作用的报道则更为详尽。*Mus81-Mms4*复合物是一种高度保守的结构特异性核酸内切酶, 它是XPF蛋白家族的一员, 在维持基因组完整性方面发挥着至关重要的作用, 该复合物与重组中间体的分解、链间DNA交联修复以及停滞或阻断的复制叉的恢复有关。在酵母实验中, *RFC*复合体强烈刺激*Mus81*复合物的核酸内切酶活性, *RFC*复合物的ATP酶活性以及DNA底物上的PCNA负载进一步增强了这种刺激。*Elg1-RLC*亦有类似功能, 表明*RFC/RLC*和*Mus81*复合物在修复损伤方面的协作功能。*RFC*将*Mus81*复合物靶向含缺口的DNA底物, 共同帮助复制应激恢复期间复制叉的重启^[60]。OVERMEER等^[103]的研究表明, 在NER过程中损伤被切除后, XPG和RPA招募PCNA和*RFC*,

RFC装载PCNA后分离, 然后结合在核酸缺口的5'端, 通过其BRAT结构域抑制RAD17依赖的信号通路以及促进修复完成后PCNA的卸载。

带有缺口或小单链间隙的DNA是DNA损伤识别与修复通路中的重要结构, 是DNA损伤识别与修复的重要靶点, 在酵母RFC复合体外侧发现的新DNA结合位点有助于其与带缺口或含有小单链间隙的DNA结合, 该位点在RFC的开放构象中发挥作用, 可以部分展开DNA并在RFC的中心腔形成一个单链间隙, 用于ssDNA的结合和随后的ATP酶的激活^[61]。RFC复合体上这个新发现的结合位点与DNA的5'端结合, 该位点处于BRCT结构域的N-端和Rfc1大亚基的AAA+模块之间, 促进了RFC在DNA损伤诱导间隙中对PCNA的装载, 以招募填补间隙的聚合酶, 同时也促进了PCNA在RPA包裹的30个碱基的DNA间隙上的装载, 这表明RFC复合体在滞后链DNA合成中的潜在作用^[62]。RFC复合体通过与损伤通路中的多种蛋白互作, 在损伤识别、检查点激活、复制叉重启和DNA合成中均起到重要作用。

另外, RFC复合体在哺乳动物细胞端粒的维持中也起着重要作用, 受损端粒上RFC复合体快速装载的PCNA是端粒损伤的初始传感器, 将DSB识别与能够执行断裂诱导的端粒合成的特殊复制体的组装联系起来^[63]。

3.2 CTF18-RLC复合体

Ctf18-RLC是一种替代的PCNA装载器, 与其他滑动夹装载器相比, Ctf18-RLC包含两个额外的子单元Ctf8和Dcc1。它们与Ctf18的C-端结合, 形成Ctf18-1-8模块, 该模块结合前导链Polε的最大亚基Pol2的N-端催化结构域, 这种相互作用同时增强了Ctf18-RFC的活性^[64]。

Ctf18首次被鉴定为芽接酵母中染色体错配的抑制因子^[65]; 酵母的Ctf18突变细胞对HU处理引起的复制应激高度敏感^[66]; 在敲除CTF18的酵母细胞中, 针对HU处理导致的复制叉阻滞的检查点激活被延迟^[67]。Ctf18敲除小鼠是可存活的, 但在减数分裂重组中表现出染色体错配, 最终导致染色体数目异常^[68]。ctf18Δ突变体表现出染色体丢失、重组频率升高、对MMS的敏感性增强和端粒定位错误等问题。之后, CTF18在姐妹染色单体凝聚、检查点激活和PCNA调节中的作用在酵母和哺乳动物中也得到了揭示^[69]。而在植物中, AtCTF18的缺失加剧了

姐妹染色单体的内聚力的丧失^[70]。

复制应激反应是一种针对染色体复制缺陷的保护机制, 用于维持真核细胞的基因组完整性。S期检查点信号和跨病变DNA合成是两种复制应激反应, CTF18-RFC是它们的正调节因子, 有助于促进姐妹染色单体的内聚^[71-73]。

酵母和人的CTF18-RLC可以将PCNA加载到DNA上, 但效率远低于经典的RFC复合体^[74-75]。KANEKO等^[104]的研究表明, CTF18-RLC复合体对于PCNA的装载和卸载不是必需的, 但其仍可能在这一过程中发挥调节作用, Dcc1亚基的C末端包含三翼螺旋(three-winged helix, WH)结构域, 可以与ssDNA和dsDNA结合, 这些结构域可能有利于体内染色质的招募并对于检查点激活起作用。

研究发现, 人类细胞的NER期间, 大约50%的修复合成依赖于泛素化的PCNA和XRCC1, 以及经典的RFC-PCNA复合体招募的Polκ和Polδ, PCNA和XRCC1以及RFC-PCNA招募的聚合酶主要负责后随链上的损伤修复, 另一半则由CTF18-RLC-PCNA复合体招募的Polε完成, 修复前导链上的损伤^[76]。在体外纯化的人类蛋白构建的复制系统中, 也证实Polε是DNA前导链合成的关键, 其介导的复合体是由CTF18-RLC-PCNA负责完成的, 而后随链的复制则由Polα、Polδ与由RFC加载的PCNA结合完成^[77]。

据报道, CTF18作为损伤检查点中重要的信号传递者, 在Mrc1和ssDNA之间传递信号, 暂停复制叉并激活Rad53的活性进行后续的损伤修复^[67]。当形成复合体时, 通过额外的Dcc1亚基与Polε相互作用, Ctf18-RFC和Polε形成稳定的前导链聚合酶/滑动夹装载器复合物^[71-72]。无论复制叉复制或停止, 通过与前导链聚合酶Polε结合, Ctf18-RFC可以快速发出复制叉暂停信号以激活S期检查点, 此外, 独立于检查点信号或染色体内聚, Ctf18-RFC与Chl1和Mrc1共同作用, 保护复制叉和细胞活力^[73]。总之, CTF18-RLC主要在损伤检查点的激活、损伤信号传递以及DNA前导链的合成中起重要作用, 从而保护基因组的稳定性, 维持细胞活力。

近年来, CTF18-RLC复合体也被发现与哺乳动物中的RPA互相结合, 这种相互作用在复制应激发生时被触发^[66]。当HU处理或S期紫外线暴露引起复制应激时, CTF18与RPA形成复合物, CTF18和RPA之间的相互作用动力学与Chk1的磷酸化状态呈正

相关,这是DDR中ATM和Rad3相关通路激活的指标。这表明RPA可能是CTF18-RFC的一个支架,用于招募停滞的复制分叉并响应复制压力^[70]。

3.3 RAD17/RAD24-RLC复合体

RAD17是另一种取代RFC1形成RLC复合体的亚基,存在于哺乳动物、植物和裂殖酵母中,而酿酒酵母中的RAD24是它的同源物^[35]。HEITZBERG等^[105]发现,*AtRAD17*的突变导致了植株对DNA损伤剂处理的超敏反应,但突变体植物是完全可育的,这表明RAD17可能在拟南芥减数分裂中不起重要作用。相反,*OsRAD17*对水稻减数分裂过程中的DSB修复至关重要,敲除会导致植株非同源染色体之间的异常关联以及大量染色体的缠结和断裂^[78]。在玉米中,*ZmRAD17*是雄性减数分裂中精确的DSB修复所必需的,*ZmRAD17*突变体营养生长正常,部分花粉败育,在粗线期开始不断观察到减数分裂异常,显示非同源染色体之间的异常染色体关联,推测*ZmRAD17*在玉米雄性减数分裂中通过促进突触复合体组装参与DSB修复过程^[79-80]。结果表明,尽管RAD17在DSB修复中的作用在植物中基本保守,但RAD17的确切作用机制可能在不同的植物物种中有所不同^[79]。然而,在人类中,WANG等^[106]发现,RAD17激活了MRN/ATM信号,促进MRN复合物和ATM向DSB的募集,对于检测DSBs和启动DNA损伤信号至关重要。可见RAD17在不同物种中发挥的作用有一定的特异性,但总体上主要在DNA损伤识别与DSB修复通路中发挥作用。

不同于其他3种滑动夹装载复合体,RAD17/RAD24-RLC复合体的滑动夹是PCNA的类似物,由哺乳动物和人类中的Rad9-Hus1-Rad1或酵母中的Ddc1-Mec3-Rad17组成,被称为9-1-1复合体。当酵母DNA发生损伤时,9-1-和RAD17复合体可招募Y家族的DinB至损伤部位^[81]。不同于将PCNA加载到DNA的引物/模板链3'端的经典RFC复合体,ZHENG等^[107]的研究表明,RAD17/RAD24-RLC复合体将9-1-1复合体加载到DNA的5'凹陷末端,与ATM和ATR共同参与DNA损伤的识别。

在所有真核细胞中,两种主要的核酸酶Exo1和Dna2-Sgs1对DSB末端进行切除并产生ssDNA,由于ssDNA的过度积累对细胞有害,所以需要调节Exo1和Dna2-Sgs1,这既满足DNA损伤修复的需求,又不威胁细胞的存活^[82]。之前的研究认为RAD17具有核

酸酶的活性已被推翻,最近,NGO等^[108]的研究表明9-1-1复合体通过加强Dna2-Sgs1和exo1核酸酶活性来促进对DSB末端的切除,但这种刺激需要在9-1-1复合体装载到DNA上时才能生效,这种装载依赖RAD17-RFC装载复合体。对出芽酵母中的生化实验表明,9-1-1复合体独立于scMec1(ATR)被招募到由同源切换(homothallic switching, HO)核酸内切酶切开的双链断裂处^[35]。而BAO等^[109]则证明ATR对hRad17的磷酸化是DNA损伤检查点信号转导的关键早期事件。总而言之,RAD24-RFC主要通过加载9-1-1复合体在识别损伤并调控断裂末端的修复过程中起着关键作用。

3.4 Elg1/ATAD5-RLC复合体

Elg1(enhanced levels of genomic instability 1)首次被鉴定为芽接酵母染色体重排的抑制因子^[83],AROYA等^[84-87]发现,该基因的突变赋予了显著的基因组不稳定性表型,包括总染色体重排水平升高、重组频率增加、染色体丢失率高、姐妹染色单体结合缺陷、端粒延长以及对DNA损伤剂敏感等。可见Elg1在维持基因组稳定性中的重要作用。

哺乳动物中Elg1的同源基因为ATAD5,敲除ATAD5的小鼠胚胎致死,杂合小鼠癌症易感,ATAD5 siRNA缺失的细胞积累了自发的DNA损伤,并在S期表现出延迟^[88]。全基因组分析表明,ATAD5基因是乳腺癌和卵巢癌的易感基因座,作为一种肿瘤抑制因子,对维持基因组的稳定性至关重要^[31-32]。在人类乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、黑色素瘤等肿瘤组织中也频繁鉴定到ATAD5的突变^[89-91],表明ATAD5在生长发育中的重要作用及其与癌症发生发展的密切关联。

在酵母中,SHKEDY等^[110]发现,Elg1-RLC复合体S112位点的磷酸化依赖于ATR在酵母中的同源物Mec1,可能是该激酶的直接靶点,Elg1的磷酸化对其在端粒中的作用较为重要,无法进行磷酸化的突变体抑制了rad5突变体的DNA损伤敏感性,缺乏正确复制后的旁路途径,表明Elg1复合体的磷酸化在DNA修复调节中的重要作用。

DNA检查点是DNA损伤应答通路上的重要组成部分之一,顶端激酶Mec1/ATR磷酸化Elg1以及衔接蛋白Rad9/53BP1和Dpb11/TopBP1被招募到DNA损伤位点以放大检查点信号;在不存在Elg1的情况下,Rad9和Dpb11被募集,但未能被磷酸化,因此信

号不会被放大, 这表明Elg1似乎在DNA损伤检查点的诱导和DNA修复中发挥作用^[92-93]。

在DNA复制开始时, RFC1装载PCNA, 在错配修复、核苷酸切除修复或长斑块碱基切除修复的间隙填充步骤以及重组过程中也需要PCNA; DNA合成完成后, PCNA再由RFC复合体卸载。然而, 酿酒酵母中获得的实验证据表明, 体内PCNA特别是泛素化或SUMO化修饰后的PCNA的卸载主要由ATAD5-RLC复合体催化, 由于这些修饰通常伴随着复制叉的停滞, 暗示Elg-RLC在DNA损伤修复通路中的重要作用^[88]。

ATAD5-RLC和RFC之间的结构差异影响了它们在PCNA结合后的DNA结合亲和力。与ATAD5-RLC不同, 由RFC介导的PCNA卸载需要ATP水解, RFC介导的PCNA卸载受DNA结构的影响, 而ATAD5-RLC可以卸载PCNA, 与DNA结构无关^[74]。ATAD5-RLC从DNA上卸载PCNA的能力可能依赖于ATAD5的最小PCNA卸载结构域(PCNA-unloading domain, ULD), ULD的C-端是ATAD5结合RFC2-5形成有活性的复合体所必需的, N-端参与了PCNA复合体环的打开, 表明ATAD5的ULD结构域的不同基序参与了PCNA卸载过程的每一步^[94]。相比于经典的RFC复合体, ATAD5-RLC复合体拥有更强的PCNA卸载能力, 且能够卸载多种被修饰的PCNA。

ATAD5耗竭的细胞对DNA修复酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)抑制剂高度敏感, 这与PARP介导的修复对HR缺陷细胞存活的要求一致^[50]。DSB诱导的HR通过在出芽酵母和人类细胞中耗尽ATAD5(Elg1)而降低, 在人类ATAD5耗竭的细胞中, 自发HR增加, 但双链DNA断裂(DSB)诱导的HR减少^[95-96]。ATAD5-RFC及时卸载PCNA对于内源性ROS诱导的直接SSB也非常重要, 当PCNA没有被适时卸载时, DNA的合成距离更长, 这可能会增加发生在氧化DNA损伤处的DNA聚合酶停滞的可能性, 导致更频繁的DNA缺口暴露, 而ATAD5缺失细胞中PCNA单泛素化的增强导致DNA聚合酶停滞事件增加^[97]。总的来说, ATAD5(Elg1)在HR中的积极作用是明显的, 但其分子机制仍有待被阐明。

KIM等^[68]发现, 当细胞中ATAD5(Elg1)耗尽时, 中心体过度重复, PCNA积累并停留在复制叉后面的时间更长, 修饰和未修饰的PCNA在S期后仍保留

在染色质上是DNA复制/修复缺陷和导致基因组不稳定的主要原因。此外, SHEMESH等^[111]证明, Elg1复合物通过从DNA中卸载SUMO化的PCNA来抑制DNA合成; KUBOTA等^[112]的研究则发现, ELG1的突变通过允许跨病变合来抑制rad5突变体对DNA损伤的敏感性。

大量研究表明, Elg1-RLC复合物通过招募损伤修复通路中的重要因子以及适时从染色质上卸载PCNA, 在维持基因组稳定性方面发挥重要作用。

4 总结与展望

真核生物滑动夹装载复合体起初是作为DNA复制机器的重要组成部分被研究, 近年来它们在DNA损伤修复通路中的重要作用被进一步发掘。RFC的结构和功能在真核生物中较为保守, 但RFC1亚基的不同导致了复合体在修复通路中作用机制的差异, 发挥的生物学功能也不尽相同, 这些功能及调控网络仍有待进一步的挖掘和探究。

对DNA损伤修复通路的研究不仅有助于人们了解生物体用于维持基因组稳定和正常生长发育的调控网络, 也有许多应用价值。RFC及RLCs作为损伤通路中的重要组成部分, 对动物的生长发育起着重要的作用。在人类的多种疾病, 特别是癌症的研究中, RFC及其类似物已被作为疾病进程及治疗效果的指示因子, 也为发展更有效的诊疗手段提供了新的思路, 未来更有可能在更多疾病的诊疗中发挥重要作用。在植物中, RFC和RLCs复合体在植物DNA损伤应答通路及其生殖发育中的功能研究仍处于起步阶段。植物相较动物承受更多生长环境导致的DNA损伤, 研究植物的损伤应答机制或许能为基因编辑育种提供新的思路, 此外, 提高植物, 特别是作物的抗逆性对于作物品质和产量的提高也有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] PRELICH G, KOSTURA M, MARSHAK D R, et al. The cell-cycle regulated PCNA is required for SV40 DNA replication *in vitro* [J]. Nature, 1987, 326(6112): 471-5.
- [2] TINKER R L, KASSAVETIS G A, GEIDUSCHEK E P. Detecting the ability of viral, bacterial and eukaryotic replication proteins to track along DNA [J]. EMBO J, 1994, 13(22): 5330-7.
- [3] KONG X P, ONRUST R, O'DONNELL M, et al. Three-dimensional structure of the beta subunit of E. coli DNA polymerase III holoenzyme: a sliding DNA clamp [J]. Cell, 1992, 69(3): 425-37.

- [4] STUKENBERG P T, STUDWELL-VAUGHAN P S, O'DONNELL M. Mechanism of the sliding beta-clamp of DNA polymerase III holoenzyme [J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(17): 11328-34.
- [5] EKI T, MATSUMOTO T, MURAKAMI Y, et al. The replication of DNA containing the simian virus 40 origin by the monopolymerase and dipolymerase systems [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(11): 7284-94.
- [6] WAGA S, STILLMAN B. Anatomy of a DNA replication fork revealed by reconstitution of SV40 DNA replication *in vitro* [J]. *Nature*, 1994, 369(6477): 207-12.
- [7] HEDGLIN M, KUMAR R, BENKOVIC S J. Replication clamps and clamp loaders [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(4): 1027-35.
- [8] FURUKAWA T, ISHIBASHI T, KIMURA S, et al. Characterization of all the subunits of replication factor C from a higher plant, rice (*Oryza sativa* L.), and their relation to development [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 53(1/2): 15-25.
- [9] KELCH B A, MAKINO D L, O'DONNELL M, et al. Clamp loader ATPases and the evolution of DNA replication machinery [J]. *BMC Biol*, 2012, 10: 34.
- [10] KELCH B A. Review: the lord of the rings: structure and mechanism of the sliding clamp loader [J]. *Biopolymers*, 105(8): 532-46.
- [11] CULLMANN G, FIEN K, KOBAYASHI R, et al. Characterization of the five replication factor C genes of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(9): 4661-71.
- [12] SCHMIDT S L, GOMES X V, BURGERS P M. ATP utilization by yeast replication factor C. III. The ATP-binding domains of Rfc2, Rfc3, and Rfc4 are essential for DNA recognition and clamp loading [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(37): 34784-91.
- [13] UHLMANN F, CAI J, GIBBS E, et al. Deletion analysis of the large subunit p140 in human replication factor C reveals regions required for complex formation and replication activities [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(15): 10058-64.
- [14] CHEN Y Y, QIAN J, YOU L, et al. Subunit interaction differences between the replication factor C complexes in *Arabidopsis* and rice [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 779.
- [15] KOBAYASHI M, AB E, BONVIN A, et al. Structure of the DNA-bound BRCA1 C-terminal region from human replication factor C p140 and model of the protein-DNA complex [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(13): 10087-97.
- [16] GOMES X V, GARY S L, BURGERS P M. Overproduction in *Escherichia coli* and characterization of yeast replication factor C lacking the ligase homology domain [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(19): 14541-9.
- [17] JERUZALMI D, O'DONNELL M, KURIYAN J. Crystal structure of the processivity clamp loader gamma (γ) complex of *E. coli* DNA polymerase III [J]. *Cell*, 2001, 106(4): 429-41.
- [18] YAO N Y, O'DONNELL M. The RFC clamp loader: structure and function [J]. *Subcell Biochem*, 2012, 62: 259-79.
- [19] KELCH B A, MAKINO D L, O'DONNELL M, et al. How a DNA polymerase clamp loader opens a sliding clamp [J]. *Science*, 2011, 334(6063): 1675-80.
- [20] MAJKA J, BURGERS P M. Yeast Rad17/Mec3/Ddc1: a sliding clamp for the DNA damage checkpoint [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(5): 2249-54.
- [21] MAJKA J, BURGERS P M. The PCNA-RFC families of DNA clamps and clamp loaders [J]. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2004, 78: 227-60.
- [22] ULRICH H D. New insights into replication clamp unloading [J]. *J Mol Biol*, 2013, 425(23): 4727-32.
- [23] CICCIA A, ELLEDGE S J. The DNA damage response: making it safe to play with knives [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 179-204.
- [24] LEI S, OBERDOERFFER P. Chromatin dynamics in DNA double-strand break repair [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(7): 811-9.
- [25] POLYN S, WILLEMS A, DE VEYLDER L. Cell cycle entry, maintenance, and exit during plant development [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 23: 1-7.
- [26] LU H, YANG M, ZHOU Q. Reprogramming transcription after DNA damage: recognition, response, repair, and restart [J]. *Trends Cell Biol*, 2022, doi: 10.1016/j.tcb.2022.11.010.
- [27] JIRICNY J. The multifaceted mismatch-repair system [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(5): 335-46.
- [28] LINDAHL T, BARNES D E. Repair of endogenous DNA damage [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2000, 65: 127-33.
- [29] HOEIJMAKERS J H J. DNA damage, aging and cancer [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(15): 1475-85.
- [30] WANG M, CHEN S, AO D. Targeting DNA repair pathway in cancer: mechanisms and clinical application [J]. *MedComm*, 2021, 2(4): 654-91.
- [31] WEST S C. Molecular views of recombination proteins and their control [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(6): 435-45.
- [32] CALDECOTT K W. Single-strand break repair and genetic disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(8): 619-31.
- [33] JAZAYERI A, FALCK J, LUKAS C, et al. ATM- and cell cycle-dependent regulation of ATR in response to DNA double-strand breaks [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(1): 37-45.
- [34] CIMPRICH K A, CORTEZ D. ATR: an essential regulator of genome integrity [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(8): 616-27.
- [35] SANCAR A, LINDSEY-BOLTZ L A, LINN S, et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints [J]. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73: 39-85.
- [36] SU T T. Cellular responses to DNA damage: one signal, multiple choices [J]. *Annu Rev Genet*, 2006, 40: 187-208.
- [37] DENCHI E L, LANGE T D. Protection of telomeres through independent control of ATM and ATR by TRF2 and POT1 [J]. *Nature*, 2007, 448(7157): 1068-71.
- [38] HIRANO Y, SUGIMOTO K. Cdc13 telomere capping decreases Mec1 association but does not affect Tel1 association with DNA ends [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(6): 2026-36.
- [39] FRIESNER J D. Ionizing radiation-dependent γ -H2AX focus formation requires ataxia telangiectasia mutated and ataxia telangiectasia mutated and Rad3-related [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(5): 2566-76.
- [40] NAIKI T, SHIMOMURA T, KONDO T, et al. Rfc5, in cooperation with Rad24, controls DNA damage checkpoints throughout the cell cycle in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(16): 5888-96.
- [41] VERMA P, TANDON R, YADAV G, et al. Structural aspects of DNA repair and recombination in crop improvement [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 574549.
- [42] KLOEBER J A, LOU Z. Critical DNA damaging pathways in

- tumorigenesis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 85: 164-84.
- [43] QIU, ZHAOJUN, OLEINICK, et al. ATR/CHK1 inhibitors and cancer therapy [J]. *Radiother Oncol*, 2018, 126(3): 450-64.
- [44] TSURIMOTO T, STILLMAN B. Purification of a cellular replication factor, RF-C, that is required for coordinated synthesis of leading and lagging strands during simian virus 40 DNA replication *in vitro* [J]. *Mol. Cell Biol*, 1989, 9(2): 609-19.
- [45] WANG X, YUE X, ZHANG R, et al. Genome-wide RNAi screening identifies RFC4 as a factor that mediates radioresistance in colorectal cancer by facilitating nonhomologous end joining repair [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(14): 4567-79.
- [46] HU T, SHEN H, LI J, et al. RFC2, a direct target of miR-744, modulates the cell cycle and promotes the proliferation of CRC cells [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 8319-33.
- [47] LIU Y, DENG Y T, LI G, et al. Replication factor C1 (RFC1) is required for double-strand break repair during meiotic homologous recombination in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2013, 73(1): 154-65.
- [48] YAO T, JIN D, LIU Q, et al. Abscisic acid suppresses the highly occurred somatic homologous recombination in *Arabidopsis rfc1* mutant [J]. *J Genet Genomics*, 2013, 40(9): 465-71.
- [49] XIA S, ZHU Z, LIN H, et al. Negative regulation of systemic acquired resistance by replication factor C subunit 3 in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2010, 150(2): 2009-17.
- [50] CUI K, QIN L, TANG X, et al. A single amino acid substitution in RFC4 leads to endoduplication and compromised resistance to DNA damage in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genes*, 2022, 13(6): 1037.
- [51] QIAN J, CHEN Y Y, HU Y, et al. *Arabidopsis* replication factor C4 is critical for DNA replication during the mitotic cell cycle [J]. *Plant J*, 2018, 94(2): 288-303.
- [52] BECKWITH W H, SUN Q, Bosso R, et al. Destabilized PCNA trimers suppress defective Rfc1 proteins *in vivo* and *in vitro* [J]. *Biochemistry*, 1998, 37(11): 3711-22.
- [53] KIM H S, BRILL S J. Rfc4 interacts with Rpa1 and is required for both DNA replication and DNA damage checkpoints in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(11): 3725-37.
- [54] PODUST L M, PODUST V N, CHRISTIAN F, et al. Assembly of DNA polymerase 6 and e holoenzymes depends on the geometry of the DNA template [J]. *Nucleic Acids Res*, 1994(15): 2970-5.
- [55] RHEAUME E, COHEN L, UHLMANN F, et al. The large subunit of replication factor C is a substrate for caspase-3 *in vitro* and is cleaved by a caspase-3-like protease during Fas-mediated apoptosis [J]. *EMBO J*, 1997, 16(21): 6346-54.
- [56] TOMIDA J, MASUDA Y, HIROAKI H, et al. DNA damage-induced ubiquitylation of RFC2 subunit of replication factor C complex [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(14): 9071-9.
- [57] SHIMADA M, OKUZAKI D, TANAKA S, et al. Replication factor C3 of *Schizosaccharomyces pombe*, a small subunit of replication factor C complex, plays a role in both replication and damage checkpoints [J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10: 3991-4003.
- [58] SUGIMOTO K, ANDO S, SHIMOMURA T, et al. Rfc5, a replication factor C component, is required for regulation of Rad53 protein kinase in the yeast checkpoint pathway [J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(10): 5905-14.
- [59] SHIMOMURA T, ANDO S, MATSUMOTO K, et al. Functional and physical interaction between Rad24 and Rfc5 in the yeast checkpoint pathways [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(9): 5485.
- [60] SISAKOVA A, ALTMANNOVA V, SEBESTA M, et al. Role of PCNA and RFC in promoting Mus81-complex activity [J]. *BMC Biol*, 2017, 15: 90.
- [61] LIU X, GAUBITZ C, PAJAK J, et al. A second DNA binding site on RFC facilitates clamp loading at gapped or nicked DNA [J]. *eLife*, 2022, 11: e77483.
- [62] ZHENG F, GEORGESCU R, YAO N Y, et al. Cryo-EM structures reveal that RFC recognizes both the 3'- and 5'-DNA ends to load PCNA onto gaps for DNA repair [J]. *eLife*, 2022, 11: e77469.
- [63] DILLEY R L, VERMA P, CHO N W, et al. Break-induced telomere synthesis underlies alternative telomere maintenance [J]. *Nature*, 2016, 539(7627): 54-8.
- [64] STOKES K, WINCZURA A, SONG B, et al. Ctf18-RFC and DNA Pol ϵ form a stable leading strand polymerase/clamp loader complex required for normal and perturbed DNA replication [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(14): 8128-45.
- [65] SHIOMI Y, NISHITANI H. Control of genome integrity by RFC complexes; conductors of PCNA loading onto and unloading from chromatin during DNA replication [J]. *Genes*, 2017, 8(2): 52.
- [66] NAIKI T, KONDO T, NAKADA D, et al. Chl12 (Ctf18) forms a novel replication factor C-related complex and functions redundantly with Rad24 in the DNA replication checkpoint pathway [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(17): 5838-45.
- [67] CRABBÉ L, THOMAS A, PANTESCO V, et al. Analysis of replication profiles reveals key role of RFC-Ctf18 in yeast replication stress response [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(11): 1391-7.
- [68] BERKOWITZ K M, SOWASH A R, KOENIG L R, et al. Disruption of Chtf18 causes defective meiotic recombination in male mice [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8(11): e1002996.
- [69] LEE K, PARK S H. Eukaryotic clamp loaders and unloaders in the maintenance of genome stability [J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52: 1948-58.
- [70] KIM H, BAEK K, HA G, et al. The hsSsu72 phosphatase is a cohesion-binding protein that regulates the resolution of sister chromatid arm cohesion [J]. *EMBO J*, 2010, 29(20): 3544-57.
- [71] WADE B O, LIU H W, SAMORA C P, et al. Structural studies of RFC-Ctf18 reveal a novel chromatin recruitment role for Dcc1 [J]. *EMBO Rep*, 2017, 18(4): 558-68.
- [72] GRABARCZYK D B, SILKENAT S, KISKER C. Structural basis for the recruitment of Ctf18-RFC to the replisome [J]. *Structure*, 2018, 26(1): 137-144, e3.
- [73] MURAKAMI T, TAKANO R, TAKEO S, et al. Stable interaction between the human proliferating cell nuclear antigen loader complex Ctf18-Replication factor C (RFC) and DNA polymerase ϵ is mediated by the cohesion-specific subunits, Ctf18, Dcc1, and Ctf8 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(45): 34608-15.
- [74] KANG M, RYU E, LEE S, et al. Regulation of PCNA cycling on replicating DNA by RFC and RFC-like complexes [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2420.
- [75] BYLUND G O, BURGERS P M J. Replication protein α -directed unloading of PCNA by the Ctf18 cohesion establishment complex [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13): 5445-55.
- [76] OGI T, LIMSIRICHAIKUL S, OVERMEER R M, et al. Three DNA polymerases, recruited by different mechanisms, carry out NER repair synthesis in human cells [J]. *Mol Cell*, 2010, 37(5): 714-27.
- [77] BARIS Y, TAYLOR M R G, ARIA V, et al. Fast and efficient

- DNA replication with purified human proteins [J]. *Nature*, 2022, 606(7912): 204-10.
- [78] HU Q, ZHANG C, XUE Z, et al. OsRAD17 is required for meiotic double-strand break repair and plays a redundant role with OsZIP4 in synaptonemal complex assembly [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1236.
- [79] ZHANG T, JING J, LIU L, et al. ZmRAD17 is required for accurate double-strand break repair during maize male meiosis [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 626528.
- [80] BUDZOWSKA M, JASPERS I, ESSERS J, et al. Mutation of the mouse Rad17 gene leads to embryonic lethality and reveals a role in DNA damage-dependent recombination [J]. *EMBO J*, 2014, 23(17): 3548-58.
- [81] KAI M, WANG T S F. Checkpoint activation regulates mutagenic translesion synthesis [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(1): 64-76.
- [82] NGO G H P, LATA B, MARION D, et al. The 9-1-1 checkpoint clamp stimulates DNA resection by Dna2-Sgs1 and Exo1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(16): 10516-28.
- [83] GAZY I, LIEFSHITZ B, PARNAS O, et al. Elg1, a central player in genome stability [J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2015, 763: 267-79.
- [84] BELLAOUI M, CHANG M, OU J, et al. Elg1 forms an alternative RFC complex important for DNA replication and genome integrity [J]. *EMBO J*, 2003, 22(16): 4304-13.
- [85] BEN A S, KOREN A, LIEFSHITZ B, et al. ELG1, a yeast gene required for genome stability, forms a complex related to replication factor C [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(17): 9906-11.
- [86] SMITH S, HWANG J Y, BANERJEE S, et al. Mutator genes for suppression of gross chromosomal rearrangements identified by a genome-wide screening in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(24): 9039-44.
- [87] SMOLIKOV S, MAZOR Y, KRAUSKOPF A. ELG1, a regulator of genome stability, has a role in telomere length regulation and in silencing [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(6): 1656-61.
- [88] SARA G, MARIE-CHRISTINE W, HANA H, et al. ATAD5 deficiency alters DNA damage metabolism and sensitizes cells to PARP inhibition [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(9): 4928-39.
- [89] BELL DW, SIKDAR N, LEE K, et al. Predisposition to cancer caused by genetic and functional defects of mammalian ATAD5 [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(8): e1002245.
- [90] MALEVA KOSTOVSKA I, WANG J, BOGDANOVA N, et al. Rare ATAD5 missense variants in breast and ovarian cancer patients [J]. *Cancer Lett*, 2016, 376(1): 173-7.
- [91] KUCHENBAECKER K B, RAMUS S J, TYRER J, et al. Identification of six new susceptibility loci for invasive epithelial ovarian cancer [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(2): 164-71.
- [92] SAU S, LIEFSHITZ B, KUPIEC M. The yeast PCNA unloader Elg1 RFC-like complex plays a role in eliciting the DNA damage checkpoint [J]. *mBio*, 2019, 10(3): e01159-19.
- [93] SAU S, KUPIEC M. A role for the yeast PCNA unloader Elg1 in eliciting the DNA damage checkpoint [J]. *Curr Genet*, 2020, 66(1): 79-84.
- [94] RYU E, HA N Y, JUNG W, et al. Distinct motifs in ATAD5 C-terminal domain modulate PCNA unloading process [J]. *Cells*, 2022, 11(11): 1832.
- [95] SIKDAR N, BANERJEE S, LEE K, et al. DNA damage responses by human ELG1 in S phase are important to maintain genomic integrity [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(19): 3199-207.
- [96] OGIWARA H, UI A, ENOMOTO T, et al. Role of Elg1 protein in double strand break repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(2): 353-62.
- [97] PARK S H, KIM Y, RA J S, et al. Timely termination of repair DNA synthesis by ATAD5 is important in oxidative DNA damage-induced single-strand break repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(20): 11746-64.
- [98] KUBOTA T, MYUNG K, DONALDSON A D. Is PCNA unloading the central function of the Elg1/ATAD5 replication factor C-like complex [J]? *Cell Cycle*, 2013, 12(16): 2570-9.
- [99] GONG S, QU X, YANG S, et al. RFC3 induces epithelial-mesenchymal transition in lung adenocarcinoma cells through the Wnt/ β -catenin pathway and possesses prognostic value in lung adenocarcinoma [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(6): 2276-88.
- [100] PENG W X, HAN X, ZHANG C L, et al. FoxM1-mediated RFC5 expression promotes temozolomide resistance [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2017, 33(6): 527-37.
- [101] ZHAO X, WANG Y, LI J, et al. RFC2: a prognosis biomarker correlated with the immune signature in diffuse lower-grade gliomas [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 3122.
- [102] GAUBITZ C, LIU X, PAJAK J, et al. Cryo-EM structures reveal high-resolution mechanism of a DNA polymerase sliding clamp loader [J]. *eLife*, 2021, 11: e74175.
- [103] OVERMEER R M, GOURDIN A M, GIGLIA-MARI A, et al. Replication factor C recruits DNA polymerase δ to sites of nucleotide excision repair but is not required for PCNA recruitment [J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(20): 4828-39.
- [104] KANEKO Y, DAITOKU H, KOMENO C, et al. CTF18 interacts with replication protein A in response to replication stress [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(1): 367-72.
- [105] HEITZBERG F, CHEN I P, HARTUNG F, et al. Rad17 homologue of *Arabidopsis* is involved in the regulation of DNA damage repair and homologous recombination [J]. *Plant J*, 2004, 38(6): 954-68.
- [106] WANG Q, GOLDSTEIN M, ALEXANDER P, et al. Rad17 recruits the MRE11-RAD50-NBS1 complex to regulate the cellular response to DNA double-strand breaks [J]. *EMBO J*, 2014, 33(8): 862-77.
- [107] ZHENG F, GEORGESCU R E, YAO N Y, et al. DNA is loaded through the 9-1-1 DNA checkpoint clamp in the opposite direction of the PCNA clamp [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2022, 29(4): 376-85.
- [108] NGO G H P, LYDALL D. The 9-1-1 checkpoint clamp coordinates resection at DNA double strand breaks [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(10): 5017-32.
- [109] BAO S, TIBBETTS R S, BRUMBAUGH K M, et al. ATR/ATM-mediated phosphorylation of human Rad17 is required for genotoxic stress responses [J]. *Nature*, 2001, 411(6840): 969-74.
- [110] SHKEDY D, SINGH N, SHEMESH K, et al. Regulation of Elg1 activity by phosphorylation [J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(23): 3689-97.
- [111] SHEMESH K, SEBESTA M, PACESA M, et al. A structure-function analysis of the yeast Elg1 protein reveals the importance of PCNA unloading in genome stability maintenance [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(6): 3189-203.
- [112] KUBOTA T, KATO Y, NAKATO R, et al. Replication-coupled PCNA unloading by the Elg1 complex occurs genome-wide and requires Okazaki fragment ligation [J]. *Cell Rep*, 2015, 12(5): 744-87.