

DOI: 10.13376/j.cblls/2014165

文章编号: 1004-0374(2014)10-1166-06



楼慧强 教授

楼慧强, 博士, 中国农业大学特聘教授, 中国农业大学染色体复制实验室负责人, 微生物与免疫学系主任, 农业部土壤微生物重点实验室主任, 教育部“新世纪优秀人才”支持计划入选者。长期专注于酵母染色体复制调控研究, 在国际上率先报道了酵母先导链复制叉上的 DNA 复制检验点蛋白 (Mrc1) 与 DNA 聚合酶 Pole 的相互作用, 为真核生物 DNA 复制叉上的聚合酶/解旋酶“偶联假说”提供了有力的证据, 并将 DNA 复制与 S 期检验点调控衔接在一起, 得到国际同行高水平论文和综述的高度认可和评述。在 *Mol Cell*、*J Biol Chem*、*Oncogene*、*EMBO Rep*、*DNA Repair* 等 SCI 期刊发表论文。研究室主要方向包括: (1) DNA 复制机器的启动和控制; (2) S 期复制检验点及代谢通路对复制的调控; (3) 与 DNA 复制偶联重要事件如姐妹染色单体黏连机制等。

DNA 聚合酶在维持基因组稳定性中的 多重功能及其相关疾病

邹友龙, 李丽莉, 楼慧强*

(中国农业大学生物学院, 农业生物技术国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 遗传物质的稳定传递是生命繁衍的根本。基因组 DNA 的精确复制和分配是遗传物质传递的基础, 也是细胞周期两大最核心的生物学事件。DNA 聚合酶作为催化合成 DNA 双链的酶, 是复制过程中最重要的因子之一。尽管对这类酶的研究已有将近 60 年的历史, 但依然是生命科学基础研究的前沿之一。真核生物中已知的 DNA 聚合酶有十几种, 它们不仅参与正常基因组 DNA 合成过程, 也参与 DNA 损伤情况下多种修复过程。如此众多的具有不同特性的 DNA 聚合酶在细胞内是如何分工与合作的, 在正常细胞传代与环境胁迫等情况下维护基因组稳定性中的关键作用及其分子机制又是什么。更有意思的是, 最近的肿瘤细胞比较基因组数据表明, 多种 DNA 聚合酶基因突变与某些肿瘤和遗传疾病相关, 从而为这些疾病致病机理研究与诊治提供了新的思路和方法。对上述 DNA 聚合酶相关核心问题的最新研究进展进行了综述。

关键词: DNA 复制; DNA 聚合酶; 复制检验点; 基因组稳定性相关疾病

中图分类号: Q523; Q754 **文献标志码:** A

The critical roles of DNA polymerases in genome stability and related human diseases

ZOU You-Long, LI Li-Li, LOU Hui-Qiang*

(State Key Laboratory of Agro-Biotechnology, College of Biological Sciences,
China Agricultural University, Beijing 100193, China)

收稿日期: 2014-09-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271331, 31071095); 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20120008110017)

*通信作者: E-mail: lou@cau.edu.cn

Abstract: Genome replication and segregation are two key processes during the cell cycle, which ensure the fidelity of transmission of genetic materials during cell proliferation. As the only enzyme responsible for synthesis of double helical DNA strand, DNA-dependent DNA polymerase is among the most important factors in DNA replication. In each eukaryotic cell, there are dozens of DNA polymerases with different characteristics, required for DNA replication and/or DNA repair. How do so many DNA pols divide their labor of DNA synthesis and coordinate each other? What's the underlying mechanism of different DNA pols in maintenance of genome stability under normal or stressed environment? Furthermore, many somatic mutations in DNA pols have been identified to be associated with some particular tumors and genetic disorders. What's the exact molecular etiology of these DNA polymerase-related diseases? These key issues of DNA polymerase are summarized in this review.

Key words: DNA replication; DNA polymerase; DNA replication checkpoint; genome instability-related diseases

在生命繁衍过程中, 遗传物质的复制和传递是最基本也是最重要的一步。自从发现 DNA 是生物遗传信息的主要物质基础后, 对于 DNA 复制过程的研究就从未停止过。如何确保人类基因组长达 30 亿碱基对的遗传信息在复制过程中尽可能减少错误是细胞稳定传递遗传信息的前提。哺乳动物细胞 DNA 复制过程中的错误率一般是 $10^{-9} \sim 10^{-10}$, 这是通过 DNA 聚合酶以及一系列错配修复过程共同决定的。其中贡献最大的是 DNA 聚合酶本身的保真性, 即酶对底物 dNTPs 的甄别可以使错误率达到 10^{-5} , 而聚合酶本身的校对功能 (proofreading) 使错误率进一步降低 2 个数量级左右, 加上复制后的错配修复等机制能够使整个 DNA 复制过程错误率控制在 $10^{-9} \sim 10^{-10}$ [1]。

DNA 复制过程是一个受到严格时空调控的生物学过程, 可分为起始 (initiation)、行进 (progression) 和终止 (termination) 三个阶段。目前研究相对较为清楚的是复制起始阶段, 因为复制起始的控制是细胞保证在正确时间完成全部基因组 DNA 精确复制且只复制一次的最重要环节。在真核生物中, DNA 的复制发生在细胞周期的特定时期, 即 S 期 (synthesis phase)。在染色体上特定的位置起始复制, 这些位置被称为复制起点 (origin)。真核生物染色体有多个复制起点。复制起始涉及一系列复制蛋白按照一定的时空顺序组装成复杂庞大的复制机器。在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 等模式生物中的研究揭示了真核生物 DNA 复制机器组装的基本过程。为保证所有 DNA 都复制且只能复制一次, 起始过程又可分为 3 个步骤, 每一步都受到严格的控制。第一步, 颁发执照 (licensing), 即在起点位置招募组装由起点识别复合体 (origin recognition complex, ORC)、Cdc6、Cdt1、DNA 解旋酶 MCMs (minichromosome maintenance) 组成的前复制复合体

(pre-replication complex, pre-RC)。这一步在 M 期末开始, 在 G1 期完成, 在起点位置装配了的 pre-RC 复合体赋予该位置进一步组装复制机器起始复制的潜力 [2]。第二步, 在 G1/S 细胞时相转换过程中, S 期细胞周期蛋白依赖的激酶 (S phase cyclin dependent kinase, s-CDK) 及 DDK (Dbf4-dependent kinase) 蛋白激酶活性增强, 通过磷酸化等手段在 pre-RC 基础上进一步招募 Cdc45/GINS/Mcm10 以及 Dpb11/Sld2/Sld3/DNA 聚合酶等因子组装形成起始前复制复合体 (pre-initiation complex, pre-IC)。此时复制机器已经基本完成装配, 整装待发。第三步, 当细胞正式进入 S 期, 随着 s-CDK 等激酶活性进一步增强, DNA 解旋酶复合体正式被激活, 双链 DNA 被解开成单链, 标志着 DNA 复制起始阶段的完成。在 S 期, 随着复制叉的行进, 解旋酶不断解开模板链, 并由 DNA 聚合酶催化合成新生链, 是 DNA 复制的行进阶段。当两个相向而行的复制叉相遇, DNA 复制进入终止阶段, 所有 DNA 复制叉的行进都在 S 期的晚期终止。

1 DNA复制机器中的重要因子

1.1 ORC

ORC 复合体是由 Orc1-6 六个亚基组成的复合体, 能够识别并结合复制起点, 最早在酿酒酵母中发现。后来的研究证明, ORC 复合体在真核生物中的功能非常保守而且必需。ORC 结合 DNA 的序列特异性则在不同物种有较大差异。酿酒酵母中 ORC 结合的序列称为自主复制序列 (autonomously replicating sequence, ARS), 而在粟酒裂殖酵母和果蝇中, ORC 倾向于结合富含 AT 的 DNA 序列, 通常位于染色质上无核小体区域 (nucleosome free region, NFR)。人细胞中的 ORC 结合 DNA 似乎没有明显的序列特异性, 这可能是由于在人细胞中尚

未大规模确定复制起点。ORC 结合 DNA 也与 DNA 的空间结构有关系, 在裂殖酵母和果蝇中的研究发现, ORC 倾向于结合具有超螺旋结构的 DNA, 而人细胞中 DNA 复制起点附近也发现有拓扑异构酶的结合^[3]。

1.2 Cdc6和Cdt1

Cdc6 属于 AAA⁺ATPase 家族。研究发现, Cdc6 在 DNA 复制过程中 pre-RC 的组装过程中发挥重要作用, Cdc6 活性的调节对于调控 pre-RC 在细胞周期特定时期的组装有重要作用。Cdc6 被招募到染色质依赖 ORC 复合体, 而 Cdc6 的招募又是 Mcm2-7 结合到染色质所必需的。而 Cdc6 蛋白中 ATP 结合位点突变的研究表明, ATP 的结合与水解对于 Cdc6 的功能是非常重要的。

Cdt1 在很多真核生物中都是保守的, 是 pre-RC 组装过程中另一个必需因子。Cdt1 与 Mcm2-7 解旋酶形成复合体, 能够与 Cdc6 蛋白相互作用, 从而将 Mcm2-7 招募到染色质上。

1.3 Cdc45-Mcm2-7-GINS(CMG)复合体

真核生物双链 DNA 解开是由非常保守的 MCM 复合体负责的。Mcm2-7 六个亚基组成环状异六聚体。最新的研究表明, Mcm2-7 以没有活性的双六聚体形式在 G1 期被组装到前复制起始复合体。随后, Cdc45 和 GINS 在 Dpb11/Sld2/Sld3 等蛋白的帮助下被招募并与 Mcm2-7 形成 CMG 复合物。只有在细胞进入 S 期时, 双六聚体形式的 CMG 复合物才会被解开并激活启动双链 DNA 解旋, 但具体激活机制仍然有很多未解之谜。

1.4 DNA聚合酶

近 60 年前, 自 Arthur Kornberg 首次发现 DNA 聚合酶 I 以来, DNA 聚合酶一直是 DNA 研究的焦点。可以说, DNA 聚合酶是所有 DNA 复制蛋白中人们相对了解最多、最为深入的因子, 并由于在 PCR 等技术中的卓越应用已远远超越了具体某个领域。

2009 年, Burgers^[4] 研究发现, 高等哺乳动物的基因组编码 15 个不同的 DNA 聚合酶 (表 1), 分别参与不同的生物学过程, 包括复制及各种不同的修复途径等。按照序列的保守性, 它们分别属于 A、B、X、Y 4 个不同的家族, 其中 B 家族中 DNA 聚合酶 α (Pol α)、DNA 聚合酶 ϵ (Pol ϵ) 以及 DNA 聚合酶 δ (Pol δ) 主要参与基因组 DNA 的复制。

Pol α 是 DNA 复制过程中的引发酶, 为前导链和后随链 DNA 聚合酶提供 DNA 合成所需的引物, 在酿酒酵母中它由 Pol1、Pol12、Pri1 和 Pri2 等 4

表1 高等哺乳动物中的DNA聚合酶

家族	聚合酶
A	Pol γ 、Pol θ 、Pol ν
B	Polα、Polδ、Polϵ、Polζ
X	Pol β 、Pol λ 、Pol μ 、TDT
Y	REV1、Pol η 、Pol ι 、Pol κ

注: 黑体: 必需基因

个亚基组成, Pri1 能够合成一段短的 RNA 引物, 而 Pol1 则进一步在 RNA 引物之后合成一段大约 20 个核苷酸的 DNA 引物, 进而由前导链和后随链 DNA 聚合酶合成子代 DNA 链^[5]。

尽管早就发现 Pol ϵ 和 Pol δ 参与 DNA 复制过程^[6], 但直到 2007 年, Kunkel 课题组才通过巧妙的遗传实验证明 Pol ϵ 和 Pol δ 分别负责前导链和后随链的复制^[7]。Pol ϵ 由 Pol2、Dpb2、Dpb3 和 Dpb4 等 4 个亚基组成, 催化亚基 Pol2 也具有 5'→3'DNA 聚合活性以及 3'→5' 核酸外切酶活性。Pol2 是一个必需基因, 但是它的 N 端包含整个核酸酶以及聚合酶结构域的 175~1136 位氨基酸, 敲除 Pol2 的细胞能够存活, 而聚合酶活性位点突变则是致死的, 暗示着 Pol2 的必需功能域存在于它的 C 端, 它参与的催化碱基掺入的功能能够被其他聚合酶替代^[8-9]。Dpb2 对细胞生存也是必需的, 在细胞周期能够被周期蛋白依赖激酶 CDK 周期性磷酸化^[10]。最近研究表明, Dpb2 能够帮助 Pol2 招募到复制起点形成复制复合体^[11]。Pol ϵ 的两个小亚基 Dpb3 和 Dpb4 则是非必需基因, 但是在敲除这两个基因的酵母细胞中突变率增加, 说明它们对于 Pol ϵ 复制的保真性有一定的作用^[12]。

Pol δ 负责后随链的复制, 由 Pol3、Pol31、Pol32 等 3 个亚基组成。Pol3 是催化亚基, 具有 5'→3'DNA 聚合活性以及 3'→5' 核酸外切酶活性, 能够切除错误配对的碱基, 保证 DNA 复制的保真性。和其他 B 家族的 DNA 聚合酶一样, Pol δ 的大亚基 Pol31 是一个必需基因, 但其具体功能并不清楚。Pol32 能够与 Pol31 和 PCNA 相互作用, 对于 Pol δ 的复制延续性起着很重要的作用。

这些 DNA 聚合酶不仅负责 DNA 复制, 还参与很多其他的生理过程。Pol ϵ 和 Pol δ 参与了包括核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER)^[13]、碱基切除修复 (base excision repair, BER)^[14-15] 等 DNA 修复过程。包括 DNA 聚合酶在内的一些 DNA 复制因子也是 BIR (break-induced replication) 修复途

径必需的^[16-17]。

真核生物中还存在其他十几种 DNA 聚合酶, 包括 Pol η 、Pol ι 、Pol κ 、Pol λ 、Pol μ 、Pol ζ 等^[18], 目前认为它们并不参与正常 DNA 复制过程, 但是参与了 DNA 复制后的很多损伤修复过程, 包括碱基切除修复 (BER)、核苷酸切除修复 (NER) 和跨损伤修复 (translesion synthesis, TLS) 等。目前研究较多的是 Y 家族的 REV1、Pol η 、Pol ι 、Pol κ 等聚合酶参与的 TLS。当基因组上存在 DNA 损伤并阻止了正常复制的进行时, 会由具有易错复制功能的 Y 家族聚合酶进行跨损伤修复, 从而保证基因组复制的完成。

2 DNA复制缺陷与疾病

2.1 复制过程的调控

真核生物基因组 DNA 的复制在一个细胞周期过程中只能发生一次, 而为了防止复制起点重复起始, 细胞内存在两个主要的途径来调控。第一个途径是前复制复合体 (pre-RC) 在复制起点的装配, 即 ORC 复合体识别复制起点, 然后通过 Cdc6、Cdt1 等因子, 招募复制解旋酶 Mcm2-7 复合体。而这个过程只能在细胞周期的 G1 期, 当 CDK 活性很低而 APC (anaphase promoting complex) 活性较高时发生^[19-20]。第二个途径是前起始复合体 (pre-IC) 的组装和复制起始, 即在 Sld2、Sld3、Dpb11 等因子的作用下将 DNA 聚合酶招募到复制起点形成 pre-IC, 然后在一系列因子, 包括 Mcm10、Cdc7/Dbf4 等相关蛋白的作用下, 激活复制解旋酶 CMG 复合体。由于起始过程中一些蛋白质包括 Sld2/Sld3 等发挥功能依赖于 CDK 的磷酸化, 因此, 这个过程只能在细胞周期的 S 期, 当 CDK 活性高而 APC 复合体没有活性时发生^[19-20]。APC 作为调控细胞周期行进的重要因子, Wang 等^[21]研究表明, APC 复合体亚基 APC6/APC8 的一些突变可能导致人类结肠癌的发生。

2.2 复制胁迫及其相应通路

在整个细胞周期过程中, 基因组要经受来自内源和外源的各种压力, 可能造成各种 DNA 损伤, 主要有电离辐射造成的双链断裂 (double strand break, DSB)、UV 照射造成的嘧啶二聚体以及烷基化试剂造成的 DNA 碱基修饰等。这些损伤如果不能及时被修复, 就可能会造成基因组的不稳定, 甚至细胞的死亡。为了保证遗传信息精确地复制和传递, 细胞内存在一系列能够感应并识别 DNA 损伤的信号通路, 称为检验点 (checkpoint), 包括复制检

验点 (DNA replication checkpoint, DRC)、DNA 损伤检验点 (DNA damage checkpoint, DDC) 等。DNA 复制和损伤检验点是真核生物中高度保守的信号通路网络, 监控着基因组 DNA。一旦存在 DNA 复制压力或 DNA 损伤时会被激活, 启动一系列信号通路, 停滞细胞周期, 修复 DNA 损伤。在 DNA 损伤修复完成以后, 检验点关闭, 细胞周期继续行进, 进入下一个时相, 以保证基因组 DNA 在细胞分裂前的稳定性^[22]。

真核生物 DNA 复制过程中复制叉的行进是被严格调控的, 即解旋酶的解旋以及聚合酶的聚合必须同步偶联^[23-24]。存在复制压力时, 比如复制到一些难复制区域, 如 rDNA 区或者 dNTP 胞内含量的减少等, 可能导致解旋酶和聚合酶的解偶联, 从而产生单链 DNA (ssDNA)。积累的 ssDNA 被单链 DNA 结合蛋白 RPA 结合后招募并激活感应激酶 ATR/Mec1, 然后通过 Claspin/Mrc1 的介导磷酸化下游的效应激酶 Chk2/Rad53。激活的 Chk2/Rad53 随后通过磷酸化一系列底物, 完成细胞对复制胁迫或 DNA 损伤的应激反应。这些反应包括稳定停滞的复制叉、上调 dNTPs 水平、抑制晚期复制起点的起始、延长 S 期、启动相应修复途径等^[25]。

当 DNA 发生损伤时会激活 DNA 损伤检验点, 其信号通路与复制检验点类似, 不同的是激活的 Mec1 是通过 Rad9 将信号传递给 Rad53, 进而调控下游的修复途径, 包括招募和调控一些参与修复的聚合酶^[26]。在细胞周期的各个不同时期, DDC 通路的激活机制有所不同。当前研究表明, 在 DRC 与 DDC 中, 很多因子是共用的。在细胞中, 这两条通路可能同时被激活, 但是它们的主要功能还是有区别的, DRC 主要作用是在 S 期维持复制叉的稳定, 保证 DNA 复制准确的完成, 而 DDC 则负责在所有细胞时相识别并修复 DNA 损伤。

DNA 聚合酶作为复制过程中最重要的因子也被认为参与了检验点通路, 很多参与修复途径的聚合酶或者能感应识别 DNA 损伤, 或者能被检验点通路调控参与修复。其中研究较多的是 DNA Pol ϵ 。最早研究发现, 在酵母中 Pol ϵ 的催化亚基 Pol2 参与了检验点通路, Pol2 的 C 端的一些突变体存在检验点通路缺陷^[27-28]。后来进一步的研究发现 Pol2 通过其 C 端保守的锌指结构域参与检验点功能^[29], 但是具体机制并不清楚。

2.3 DNA复制相关因子的突变及相应的人类疾病

DNA 复制过程中的很多因子对于细胞的正常

生存都是必需或者非常重要的, 如果发生突变都会导致相应的疾病。MCM 复合体是 DNA 复制解旋酶。研究表明, 当其中一个亚基 MCM2 突变时, 会导致很多组织干细胞能力的缺陷或癌症的发生^[30]; 当小鼠细胞内 Mcm4 亚基发生突变时, 会导致基因组的不稳定及腺癌的发生^[31]。

DNA 聚合酶作为复制过程中最重要的因子之一, 当发生突变时, 会导致癌症的发生。对子宫癌和结肠癌患者癌细胞的大量基因组测序分析表明, 其聚合酶 Pol ϵ 和 Pol δ 都存在突变, 而且大都存在于保守的核酸酶结构域内, 影响了聚合酶的保真性^[32-33]。而对 Pol δ 的研究发现, 当聚合酶结构域内发生突变时会使聚合酶的保真性降低, 从而导致癌症的发生^[34]; 小鼠中 Pol δ 的核酸酶活性区域内第 400 位天冬氨酸的突变会影响其核酸酶活, 使得小鼠细胞更容易癌变^[35]。Pol δ 的核酸酶活性对于胚胎早期发育, 防止癌症的发生也非常重要^[36]。当前研究结果表明, 无论是 DNA 聚合酶的聚合酶活性还是核酸酶活性, 对于保证复制的保真性以及维持基因组稳定都非常重要。

尽管越来越多的基因组数据表明, DNA 复制因子, 包括多个 DNA 聚合酶的突变与众多严重威胁人类健康的遗传性疾病与肿瘤关系密切。然而, 这些突变是否是导致这些疾病的主要原因及其具体致病机理, 还有待今后更深入的研究。相信包括模式生物和动物模型在内的研究将有助于人们对 DNA 复制缺陷导致的细胞病变机理的深入了解, 为基因组不稳定性相关的疾病的诊治提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Lange SS, Takata K, Wood RD. DNA polymerases and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(2): 96-110
- [2] Bell SP, Dutta A. DNA replication in eukaryotic cells. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 333-74
- [3] Masai H, Matsumoto S, You Z, et al. Eukaryotic chromosome DNA replication: where, when, and how? *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 89-130
- [4] Burgers PM. Polymerase dynamics at the eukaryotic DNA replication fork. *J Biol Chem*, 2009, 284(7): 4041-5
- [5] Foiani M, Marini F, Gamba D, et al. The B subunit of the DNA polymerase α -primase complex in *Saccharomyces cerevisiae* executes an essential function at the initial stage of DNA replication. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(2): 923-33
- [6] Budd ME, Campbell JL. DNA polymerases δ and ϵ are required for chromosomal replication in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 1993, 13(1): 496-505
- [7] Pursell ZF, Isoz I, Lundström EB, et al. Yeast DNA polymerase ϵ participates in leading-strand DNA replication. *Science*, 2007, 317(5834): 127-30
- [8] Kesti T, Flick K, Syvaaja JE. DNA polymerase ϵ catalytic domains are dispensable for DNA replication, DNA repair, and cell viability. *Mol Cell*, 1999, 3(5): 679-85
- [9] Dua R, Levy DL, Campbell JL. Analysis of the essential functions of the C-terminal protein/protein interaction domain of *Saccharomyces cerevisiae* pol ϵ and its unexpected ability to support growth in the absence of the DNA polymerase domain. *J Biol Chem*, 1999, 274(32): 22283-8
- [10] Kesti T, McDonald WH, Yates JR 3rd, et al. Cell cycle-dependent phosphorylation of the DNA polymerase ϵ subunit, Dpb2, by the Cdc28 cyclin-dependent protein kinase. *J Biol Chem*, 2004, 279(14): 14245-55
- [11] Sengupta S, van Deursen F, de Piccoli G, et al. Dpb2 integrates the leading-strand DNA polymerase into the eukaryotic replisome. *Curr Biol*, 2013, 23(7): 543-52
- [12] Aksenova A, Volkov K, Maceluch J, et al. Mismatch repair-independent increase in spontaneous mutagenesis in yeast lacking non-essential subunits of DNA polymerase ϵ . *PLoS Genet*, 2010, 6(11): e1001209
- [13] Aboussekhra A, Biggerstaff M, Shivji MKK, et al. Mammalian DNA nucleotide excision repair reconstituted with purified protein components. *Cell*, 1995, 80(6): 859-68
- [14] Wang Z, Wu X, Friedberg EC. DNA repair synthesis during base excision repair *in vitro* is catalyzed by DNA polymerase ϵ and is influenced by DNA polymerases α and δ in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 1993, 13(2): 1051-8
- [15] Stucki M, Pascucci B, Parlanti E, et al. Mammalian base excision repair by DNA polymerases δ and ϵ . *Oncogene*, 1998, 17(7): 835-43
- [16] Holmes AM, Haber JE. Double-strand break repair in yeast requires both leading and lagging strand DNA polymerases. *Cell*, 1999, 96(3): 415-24
- [17] Lydeard JR, Lipkin-Moore Z, Sheu YJ, et al. Break-induced replication requires all essential DNA replication factors except those specific for pre-RC assembly. *Genes Dev*, 2010, 24(11): 1133-44
- [18] Loeb LA, Monnat RJ Jr. DNA polymerases and human disease. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(8): 594-604
- [19] van Leuken R, Clijsters L, Wolthuis R. To cell cycle, swing the APC/C. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1786(1): 49-59
- [20] Diffley JF. The many faces of redundancy in DNA replication control. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2010, 75: 135-42
- [21] Wang Q, Moyret-Lalle C, Couzon F, et al. Alterations of anaphase-promoting complex genes in human colon cancer cells. *Oncogene*, 2003, 22(10): 1486-90
- [22] Putnam CD, Jaehnig EJ, Kolodner RD. Perspectives on the DNA damage and replication checkpoint responses in *Saccharomyces cerevisiae*. *DNA Repair: Amst*, 2009, 8(9): 974-82
- [23] Katou Y, Kanoh Y, Bando M, et al. S-phase checkpoint

- proteins Tof1 and Mrc1 form a stable replication-pausing complex. *Nature*, 2003, 424(6952): 1078-83
- [24] Lou H, Komata M, Katou Y, et al. Mrc1 and DNA polymerase ϵ function together in linking DNA replication and the S phase checkpoint. *Mol Cell*, 2008, 32(1): 106-17
- [25] Zegerman P, Diffley JF. DNA replication as a target of the DNA damage checkpoint. *DNA Repair: Amst*, 2009, 8(9): 1077-88
- [26] Crabbe L, Thomas A, Pantescio V, et al. Analysis of replication profiles reveals key role of RFC-Ctf18 in yeast replication stress response. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(11): 1391-7
- [27] Navas TA, Zhou Z, Elledge SJ. DNA polymerase ϵ links the DNA replication machinery to the S phase checkpoint. *Cell*, 1995, 80(1): 29-39
- [28] Navas TA, Sanchez Y, Elledge SJ. RAD9 and DNA polymerase ϵ form parallel sensory branches for transducing the DNA damage checkpoint signal in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev*, 1996, 10(20): 2632-43
- [29] Dua R. Role of the putative zinc finger domain of *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerase ϵ in DNA replication and the S/M checkpoint pathway. *J Biol Chem*, 1998, 273(45): 30046-55
- [30] Pruitt SC, Bailey KJ, Freeland A. Reduced Mcm2 expression results in severe stem/progenitor cell deficiency and cancer. *Stem Cells*, 2007, 25(12): 3121-32
- [31] Shima N, Alcaraz A, Liachko I, et al. A viable allele of Mcm4 causes chromosome instability and mammary adenocarcinomas in mice. *Nat Genet*, 2007, 39(1): 93-8
- [32] Palles C, Cazier JB, Howarth KM, et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet*, 2013, 45(2): 136-44
- [33] Church DN, Briggs SEW, Palles C, et al. DNA polymerase ϵ and δ exonuclease domain mutations in endometrial cancer. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(14): 2820-8
- [34] Daele DL, Mertz TM, Shcherbakova PV. A cancer-associated DNA polymerase δ variant modeled in yeast causes a catastrophic increase in genomic instability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(1): 157-62
- [35] Goldsby RE, Hays LE, Chen X, et al. High incidence of epithelial cancers in mice deficient for DNA polymerase δ proofreading. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(24): 15560-5
- [36] Uchimura A, Hidaka Y, Hirabayashi T, et al. DNA polymerase δ is required for early mammalian embryogenesis. *PLoS One*, 2009, 4(1): e4184