

DOI: 10.13376/j.cblls/2016057

文章编号: 1004-0374(2016)04-0452-12

# ATP依赖型染色质重塑复合物 在DNA双链断裂修复中的作用

周建杰, 陈学峰\*

(武汉大学生命科学院, 武汉 430072)

**摘要:** DNA 双链断裂修复缺陷易导致细胞基因组稳定性失衡、细胞发生癌变或死亡。真核生物主要通过同源重组和非同源末端连接两条途径来修复双链断裂。近年来发现多种 ATP 依赖型的染色质重塑蛋白复合物, 包括 RSC、INO80、Fun30、SWI/SNF 和 SWR1, 直接参与了 DNA 双链断裂修复过程。它们主要通过调控 DNA 损伤检查点激活、断裂末端剪切及组蛋白 H2AZ-H2B/H2A-H2B 置换等重要步骤发挥功能。现以酿酒酵母中的研究为重点, 综述主要 ATP 依赖型染色质重塑复合物在 DNA 双链断裂修复中的功能及作用机制。

**关键词:** DNA 双链断裂; 染色质重塑复合物; 检查点; 同源重组; 非同源末端连接

**中图分类号:** Q754 **文献标志码:** A

## The roles of ATP-dependent chromatin remodeling complexes in DNA double-strand break repair

ZHOU Jian-Jie, CHEN Xue-Feng\*

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Defects in repair of DNA double-strand breaks (DSBs) can lead to genome instability, tumorigenesis or cell death. Eukaryotic cells employ two major pathways, homologous recombination (HR) and non-homologous end joining (NHEJ), to repair DSBs. Recent studies have revealed that several ATP-dependent chromatin remodeling complexes, including RSC, INO80, Fun30, SWI/SNF and SWR1, play direct roles in DSB repair. These remodeling factors exert critical functions at multiple key steps in DSB repair, such as DNA damage checkpoint activation, end processing or H2AZ-H2B/H2A-H2B exchange. In this review, we summarized recent progresses on this topic with an emphasis on the roles and mechanisms of these chromatin remodeling factors in *Saccharomyces cerevisiae*.

**Key words:** DNA double-strand breaks; chromatin remodeling complex; checkpoint; homologous recombination; non-homologous end-joining

在细胞生命活动过程中, 基因组 DNA 常会受到内源和外源因子的攻击而发生不同类型的损伤。其中, 对细胞最具伤害性的损伤是 DNA 双链断裂 (double-strand break, DSB)。DSB 的修复对于维持基因组稳定性和完整性至关重要。如果不能修复或修复不当都可能导致基因发生突变、异位、缺失及基因组稳定性失控等严重后果, 从而影响细胞的正常功能。大量研究表明, DSB 修复与人类健康密切关

联。DSB 修复缺陷会导致发育障碍、神经退行性疾病、早衰、免疫系统缺陷、辐射敏感及对癌症的易感性<sup>[1-3]</sup>。DSB 修复基因突变与多种人类癌症发生

收稿日期: 2015-10-16; 修回日期: 2015-11-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31471217)

\*通信作者: E-mail: xfchen@whu.edu.cn; Tel: 027-68756827

发展密切相关;同时,临床上多种治疗癌症的药物都是以DNA修复途径为靶标的<sup>[3-7]</sup>。因此,研究DSB修复机制及其调控具有重大理论与实践意义。

在真核细胞中,DNA与组蛋白组装形成核小体,核小体进一步链接折叠形成高度有序而致密的染色质。DNA复制、转录及修复等基本核酸代谢过程都必须在松散的染色质状态下进行,因此,参与上述过程的相关蛋白质必须克服染色质天然形成的障碍,才能够有效行使功能。研究表明,细胞主要通过两种方式来实现,第一种是依赖于多种修饰酶对组蛋白进行翻译后修饰,包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化和SUMO化等,以改变染色质构象;第二种是通过染色质重塑复合物水解ATP来驱动核小体的滑动或者改变其结构<sup>[8]</sup>。ATP依赖型染色质重塑因子是一类多蛋白复合物,含有ATP酶催化亚基。它们对于基因表达调控、DNA复制及DNA损伤修复都起着至关重要的作用。酿酒酵母作为模式真核生物,在人们研究DSB修复和染色质重塑中发挥了不可替代的作用。本文将酵母研究为主,同时兼顾人类相关研究,综述RSC、INO80、Fun30、SWI/SNF及SWR1等几种主要的ATP依赖型染色质重塑复合物在DSB修复过程中的作用。

## 1 DNA双链断裂修复

### 1.1 DNA损伤检查点

DNA发生双链断裂后,细胞会激活DNA损伤检查点(checkpoint),主要是由Mec1/ATR和Tel1/ATM等上游激酶起始和主导的一系列蛋白质磷酸化级联反应。近年来,研究发现其他类型的蛋白质翻译后修饰,如SUMO化和乙酰化修饰也参与该信号转导过程并发挥重要作用。DNA损伤检查点信号转导过程具有高度保守性,可分为3个阶段,分别为损伤感应、信号转导及产生信号效应。在酿酒酵母中,MRX(Mre11-Rad50-Xrs2)复合物是DSB诱导检查点激活主要感受器<sup>[9]</sup>。DSB形成之后,MRX结合到断裂的末端,Tel1激酶通过与Xrs2互作被招募至DSB,并磷酸化组蛋白H2A的第129位丝氨酸( $\gamma$ -H2A)<sup>[10]</sup>。类似地,在脊椎动物中,Tel1的同源物ATM能够识别DSB<sup>[11]</sup>,通过与MRN(MRE11-RAD50-NBS1)复合物中的NBS1亚基互作被招募至DSB处,并被MRN复合物激活<sup>[12-13]</sup>。MRX/MRN结合到断裂末端后,会起始5'末端剪切产生单链DNA(ssDNA)。随后,ssDNA会被单链

DNA结合蛋白(RPA)结合包裹,该步骤也是同源重组所必需的<sup>[13-14]</sup>。ssDNA-RPA会进一步招募Ddc2与激酶Mec1,从而促进检查点信号从由Tel1/ATR介导转向由Mec1/ATR介导<sup>[13,15]</sup>。随后,Rad9主要通过 $\gamma$ -H2A及甲基化的H3K79(H3K79me)结合到染色质上,或者通过与Dpb11(TopBP1)的相互作用而被招募。在Mec1作用下,Rad9发生磷酸化,后者促进Mec1直接磷酸化激酶Chk1和Chk2(Rad53)。激活的Rad53和Chk1磷酸化下游效应蛋白,激活DNA损伤反应,包括阻断细胞周期、诱导损伤修复基因表达、启动DNA修复和延缓DNA复制等过程<sup>[16]</sup>。一旦修复完成,检查点反应信号就会关闭,细胞重新进入细胞周期;如果损伤严重,将可能直接导致细胞凋亡<sup>[17]</sup>。在酵母中,如果双链断裂长时间得不到修复,细胞将采取“适应”机制(adaptation),携带损伤进入细胞周期。

### 1.2 DSB修复途径及选择

真核生物中,DSB主要由同源重组(homologous recombination, HR)和非同源末端交联(non-homologous end joining, NHEJ)两条进化保守的途径进行修复。HR由DNA末端切割加工形成ssDNA而起始,以未受损伤的同源染色体或者姐妹染色单体作为模板进行修复,修复具有高度保真性;而NHEJ仅仅需要少量或者不需要末端切割加工,直接将DSB末端重新连接,但易发生错误。DSB特异性地由Ku(yKu70/yKu80)和MRX(MRN)各自独立地识别,两者竞争性地结合在未加工的DSB末端<sup>[18]</sup>。在NHEJ中,DSB末端由Ku和MRX复合物共同稳定,然后招募Dnl4-Lif1-Nej1连接酶复合物,进而断裂的DNA末端重新连接,损伤被修复<sup>[16]</sup>。在脊椎动物中,Ku招募DNA依赖的蛋白激酶DNA-PKcs,形成的DNA-PK全酶与MRN复合物一起发挥DNA末端连接作用<sup>[19-20]</sup>。在HR中,首先MRX复合物与Sae2(CtIP)蛋白一起起始5'至3'方向的末端切割,对断裂末端进行有限剪切。MRX进一步招募核酸外切酶Exo1以及DNA解旋酶Sgs1(BLM)和核酶Dna2,促进分别由Exo1和Sgs1/Dna2介导的长距离的切割,从而产生大量单链DNA,以被RPA结合。进一步,重组蛋白Rad51取代RPA结合到单链DNA上,形成核纤丝。随后,Rad51核纤丝在基因组中搜索同源序列,发生链入侵,形成D-环及启动DNA合成。形成的中间产物Holliday junction分离后产生交换或未交换的DNA分子,最后新合成的DNA链重新融合和连接,完成修复<sup>[16]</sup>。

DSB的5'末端剪切是修复途径选择的关键决定步骤。一旦切割起始, Ku蛋白将不能够稳定结合在DSB末端, 细胞将会选择HR修复途径; 而剪切过程主要受细胞周期调控, 以确保HR和DNA的复制相互协调。在G<sub>1</sub>期, 细胞周期蛋白激酶CDK的活性处于低水平状态, DSB主要通过NHEJ来修复; 在S/G<sub>2</sub>期, 细胞中CDK处于高活性状态, 而且有合适的模板(通常为姐妹染色单体)可供HR修复, DSB主要通过HR介导修复<sup>[21]</sup>。

## 2 参与DSB修复的ATP依赖型染色质重塑蛋白复合物

### 2.1 ATP依赖型的染色质重塑复合物

近年来, DSB修复所需要的染色质环境受到了越来越多的重视。多项研究发现染色质重塑复合物基因的突变与癌症相关联, 因此, 研究染色质重塑复合物在DSB修复及基因组稳定性维持中的作用具有重要意义。ATP依赖的染色质重塑蛋白复合物, 运用ATP水解释放的能量完成组蛋白核小体的滑动、H2A-H2B二聚体的移动或交换、组蛋白-DNA相互作用的改变或核小体的置换, 这些过程能增加DNA元件对修复相关蛋白的易接近性<sup>[8,22]</sup>。根据染色质重塑复合物核心ATP酶序列结构的差别可以将它们归为不同的亚家族。目前了解较清楚的四类亚

家族分别是SWI2、ISWI、CHD和INO80。SWI2亚家族的ATP酶含有一个溴结构域; ISWI类的ATP酶包含SANT(SWI3、ADA2、N-Cor、TFIIB)和SLIDE结构域; CHD亚家族的ATP酶含有一个溴结构域和一个PHD指状结构域; INO80亚家族具有一个断裂的ATP酶结构域<sup>[8,22]</sup>。下面主要介绍参与DSB损伤修复的染色质重塑复合物, 包括RSC、INO80、Fun30、SWI/SNF和SWR1复合物(表1)。

### 2.2 RSC

#### 2.2.1 RSC复合物的组成

RSC复合物属于ATP依赖型染色质重塑复合物SWI2亚家族, 其核心是ATP催化亚基Sth1<sup>[23]</sup>。RSC的人类同源物是PBAF, 对应的ATP催化亚基是BRG1。从生化角度来看, RSC复合物是DNA和核小体依赖型的ATP酶, 在体外既能直接结合DNA, 也能结合核小体<sup>[24]</sup>。RSC和SWI/SNF(见下文)的催化亚基除了包含ATP酶结构域外, 还包含一个HSA(解旋酶-SANT)结构域和一个C端溴结构域。RSC复合物是酵母细胞存活所必需<sup>[24]</sup>。

#### 2.2.2 RSC复合物在DSB修复中的作用

##### 2.2.2.1 RSC与DNA损伤检查点

RSC复合物参与了多个重要细胞过程, 如基因表达调控、姐妹染色体黏连及DSB损伤修复等<sup>[24-28]</sup>。RSC能够促进Tel1/Mec1在DSB位点的募集, 有

表1 参与DSB损伤修复的染色质重塑复合及其亚基

亚家族	组成	酵母		人类		
SWI2	复合物	<b>RSC</b>	<b>SWI/SNF</b>	<b>PBAF</b>	<b>BAF</b>	
	催化亚基	Sth1	Swi2/Snf2	BRG1	BRG1或hBRM	
	其他亚基	Rsc (1-10,30)、 Arp (7,9)、Sfh1、 Htl1、Lbd7、Rtt102	Swi (1,3)、Arp (7,9)、 Taf14、Swp (73,82)、 Snf (5,6,11)	BAF (53a,57,60a,155,170, 180,200,)、hSNF5、β-actin	BAF (45a/d,53a,57,60a, 155,170,180,200, 250a/b)、 hSNF5、β-actin	
	参与通路	NHEJ、HR	HR	NHEJ	NHEJ	
INO80	复合物	<b>INO80</b>	<b>SWR1</b>	<b>INO80</b>	<b>SRCAP</b>	<b>TRRAP/TIP60</b>
	催化亚基	Ino80	Swr1	hINO80	SRCAP	p400
	其他亚基	Rvb (1,2)、Actin1、 Ies1-6、Nhp10、 Arp (4,5,8)、Taf14	Rvb (1,2)、Arp (4,6)、 H2AZ、H2B、Swc2-7、 Bdf1、Actin1、Yaf9	A	B	C
	参与通路	NHEJ、HR	NHEJ、HR	HR	HR	NHEJ、HR
Etl1	复合物	<b>FUN30</b>		<b>SMARCAD1</b>		
	催化亚基	Fun30		SMARCAD1		
	其他亚基	未知		未知		
	参与通路	HR		HR		

A: TIP49 (A,B)、MCRS1、YY1、ARP (5,8)、hIES (2,6)、Amida、NFRKB、BAF53a、UCH37、INO80D、INO80E

B: TIP49 (A,B)、BAF53a、Arp6、GAS41、DMAP1、Znf-HIT1、YL-1、H2AZ、H2B

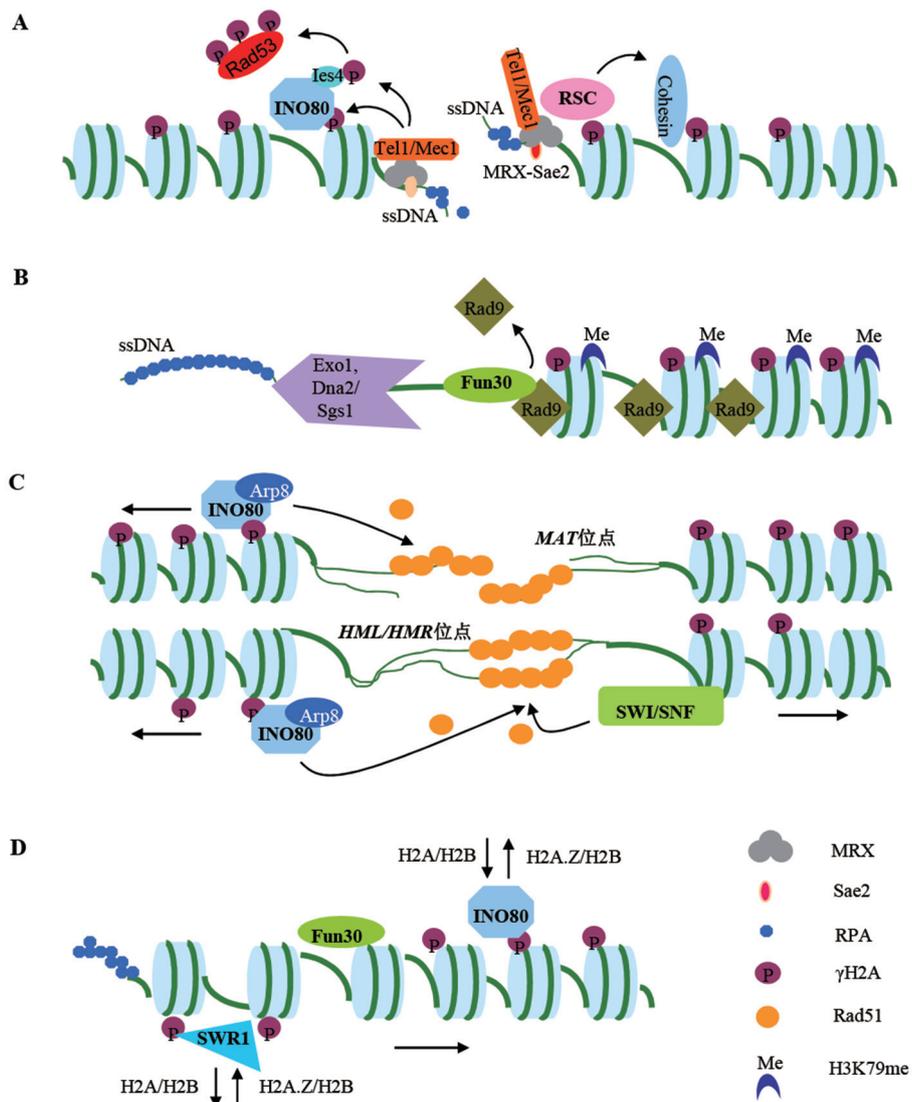
C: Tip60、TRRAP、TIP49 (A,B)、BAF53a、Actin、YL-1、GAS41、DMAP1、MRG (15, BP)、EPC1、EPC-like、BRD8、ING3、hEAF6

利于断裂位点附近 H2A 的磷酸化 (图 1A), 在 DNA 损伤检查点的激活中发挥作用<sup>[29]</sup>。相应地, *rsc2Δ* 突变体在 HO 诱导 DSB 时, 细胞 H2A 磷酸化有缺陷, ssDNA 形成和 RPA 的结合受损, 在 G<sub>1</sub> 期还表现出 Rad9 招募水平降低, 从而导致 DNA 损伤检查点活性降低。该突变体在 MMS 处理后, Rad53 磷酸化水平也有较大程度下降<sup>[29]</sup>。因此, RSC 对于充分激活 DNA 损伤检查点十分重要。

2.2.2.2 RSC参与HR修复途径

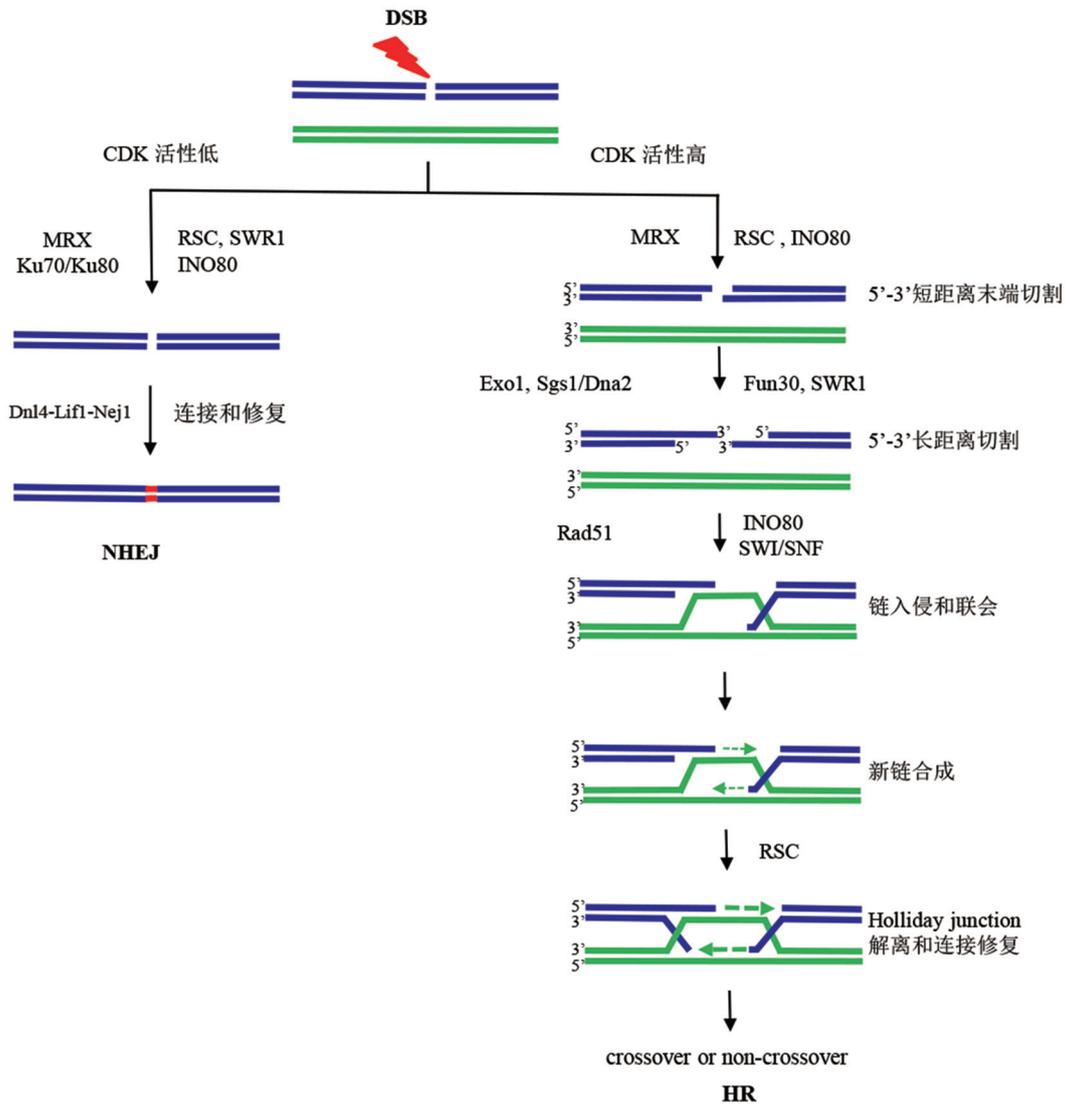
RSC 复合物对同源重组的多个步骤都起重要作用

(图 2)。RSC 依赖的染色质结构的改变有利于 Mre11 与 DSB 位点的结合 (图 1A), 因此, 抑制其亚单位 Sth1 的表达将损害 Mre11 招募, 导致 MRX 依赖的切割效率降低<sup>[30]</sup>。在多种 *rsc* 突变体中, 断裂末端的剪切过程存在显著缺陷<sup>[31]</sup>。相应地, 在 *rsc2Δ* 菌株和 Sth1 活性受抑制的菌株中, RPA 在断裂位点富集减少, Rad51 招募发生延迟<sup>[29-30]</sup>。除了影响剪切之外, RSC 还调控 HR 修复中联会之后的步骤。黏连蛋白 (cohesin) 在同源重组过程中发挥重要作用, 它将 DSB 处姐妹染色单体黏连在一起,



(A) RSC 与 INO80 参与了 DSB 末端切割及检查点激活, INO80 的 Ies4 亚基受 Tel1/Mec1 的磷酸化而直接参与检查点的激活通路。(B) Fun30 在 DSB 末端的长距离切割中帮助核酸酶克服 Rad9 的抑制作用, 从而促进 Exo1 和 Sgs1/Dna2 介导的两条切割途径。(C) SWI/SNF 对于链侵入蛋白 Rad51 在 HML/HMR 位点的招募至关重要, INO80 也有利于 Rad51 在 MAT 及 HML/HMR 位点的富集。(D) SWR1 复合物促进 DSB 位点 H2AZ-H2B 置换 H2A-H2B, 从而有利于 HR 修复, 而 INO80 具有剔除 H2AZ 的功能; 另外 Fun30 对于 H2AZ 在基因组的分布也具有调控作用。

图1 染色质重塑复合物在DSB损伤反应中的作用模型



DSB主要经由HR和NHEJ两条途径进行修复。当细胞处于G<sub>1</sub>期, CDK活性处于较低水平, 细胞采取NHEJ途径, 断裂末端在Ku70/Ku80、MRX复合物和Dnl4-Lif1-Nej1等蛋白因子的调控下, 进行易错性的修复。当细胞处于S或G<sub>2</sub>/M期, CDK活性处于高水平状态, 细胞采取HR途径, 经切割而产生3'端单链, 然后结合RPA和Rad51等蛋白因子, 依次发生链入侵、DNA合成, 分支迁移等过程, 形成Holliday junction中间体。最后Holliday junction中间体解离, 断裂末端重新连接。ATP依赖型染色质重塑复合物参与了上述修复通路中的不同步骤: RSC既在HR途径的切割和联会后的步骤中发挥作用, 也参与了NHEJ途径; INO80在HR修复中调控起始切割和Rad51的招募, 也参与了NHEJ途径; Fun30在HR途径的长距离切割过程中起作用; SWI/SNF在HR途径的同源搜索和联会中发挥功能; SWR1既在NHEJ中发挥作用, 也通过促进Exo1介导的切割而参与HR途径。

图2 ATP依赖型染色质重塑复合物在DSB修复中作用

以利于链入侵和 Holliday junction 的形成<sup>[27-29]</sup>。免疫共沉淀实验发现黏连蛋白与 RSC 相互作用, RSC 对于黏连蛋白的招募是必要的<sup>[27-29]</sup>(图 1A)。在 *rsc2Δ* 菌株中, 断裂位点附近约 20 kb 的区域, 黏连蛋白复合物的 Mcd1 亚基富集减少<sup>[29]</sup>。黏连丧失将导致重组频率降低或者发生不适当的重组, 而在 *rsc2Δ* 菌株中同源重组也受到影 响, 推测 RSC 在同源重组后期的功能与它对黏连蛋白复合物的影响有关<sup>[23]</sup>。

### 2.2.2.3 RSC参与NHEJ修复途径

除了参与 HR 之外, RSC 在 NHEJ 修复途径中也起重要作用(图 2)。Rad52 是同源重组过程中的关键蛋白。*rad52 rsc* 双突变体比对应的单突变体对 DSB 诱导试剂的敏感性更高, 暗示了 RSC 对 NHEJ 过程也起促进作用<sup>[25-26]</sup>。在缺少供体模板的酵母菌株遗传筛选实验中(此细胞因为缺少同源模板而无法完成 HR 修复), 筛选出了 *rsc8* 和 *rsc30* 两个突

变体表现出 NHEJ 缺陷<sup>[25]</sup>。另外, 当细胞缺乏 *Sth1* 时, DSB 位点 Ku 蛋白的招募会减少<sup>[32]</sup>。RSC 影响 NHEJ 的分子机制目前还不十分清楚, 它可能通过改变 DSB 处染色质的结构, 增加了 DNA 对 NHEJ 修复因子的易接近性, 或影响 MRX 复合物在损伤部位的结合; 它也可能通过帮助黏连蛋白加载到断裂末端来促进断裂末端连接<sup>[27-28]</sup>。

#### 2.2.2.4 RSC人类同源物PBAF参与DSB损伤修复

人类中 BRG1 的 ATP 酶结构域缺陷或者同时敲除 *BRG1* 和 *hBRM* 基因 (编码 BAF 的催化亚基, 表 1) 将导致 IR 处理之后 H2AX 磷酸化缺陷<sup>[33]</sup>。另外, *hSNF5* 或 *BRG1* 敲除的细胞在面临 UV 辐射时, 也表现出 ATM 依赖性的 H2AX 磷酸化缺陷<sup>[34]</sup>, 表明 RSC 在促进 H2A(X) 磷酸化方面具有功能保守性。当细胞表达一个无 ATP 酶活性的 BRG1 蛋白时, 会表现出 DNA 损伤敏感性, DNA 损伤诱导的细胞凋亡增加, 同时 DSB 修复延迟<sup>[31,35]</sup>。与此相似, *BRG1* 和 *hBRM* 表达下调或者 *hSnf5* 失活都会延缓 DSB 修复的进程、降低损伤后的细胞存活率<sup>[31,36]</sup>。以上结果表明, RSC 在 DSB 修复中具有高度的功能保守性。

### 2.3 INO80

#### 2.3.1 INO80复合物的组成

INO80 复合物是 INO80 染色质重塑复合物亚家族成员, 核心组分是催化亚基 Ino80。INO80 复合物在人类和酵母中具有 8 个保守性亚基, 包括 Ino80 ATP 酶本身。除此之外, 人类细胞中还含有 7 个多细胞动物特有的亚基。INO80 复合物既能直接结合 DNA 也能结合核小体, 并且在体外能够移动单个核小体。Ino80 和下文所述 Swr1 除了包含 ATP 酶结构域外, 还包含一个 HSA (解旋酶 -SANT) 结构域。它们最显著的特点是在其 ATP 酶结构域中间包含一段很长的间隔, 而其他三类亚家族的 ATP 酶结构域中间仅仅含有一段较短的插入。INO80 既参与了转录调控, 也参与了 DSB 损伤修复<sup>[37-41]</sup>。

#### 2.3.2 INO80复合物在DSB修复中的作用

##### 2.3.2.1 INO80与DNA损伤检查点

在 DNA 损伤药物诱导的检查点激活方面, 早期研究没有发现 INO80 突变体存在明显缺陷, 如在 HU 处理 (复制压力) 时, *ino80Δ* 和 *arp5Δ* 菌株在阻滞细胞周期、诱导核苷酸还原酶 (RNR) 表达和 Rad53 磷酸化等方面都表现正常<sup>[42-43]</sup>。当这些突变菌株在遭受 MMS (可诱导多种类型损伤) 处理时, Rad53 磷酸化也能正常发生<sup>[40]</sup>, 似乎说明 INO80

在应对上述药物的检查点激活过程中并不重要。但是, 最新研究发现, INO80 复合物中的 *Ies4* 亚基在 *Mec1/Tel1* 介导的检查点信号通路中发挥着直接作用 (图 1A)。一方面, *Mec1/Tel1* 直接磷酸化的 *Ies4* 亚基在复制压力检查点激活中发挥作用, 并与复制检查点调节子 *Tof1* 有功能冗余<sup>[44]</sup>; 另一方面, 由 *Mec1/Tel1* 磷酸化的 *Ies4* 亚基在 DNA 损伤反应中可以结合 Rad53 的 N 端 FHA 结构域, 从而与 Rad9 发挥协同作用以直接激活 Rad53<sup>[45]</sup>。这表明, INO80 复合物中的不同亚基在 DNA 损伤反应中可能发挥不同的作用。需要指出的是, 多数 INO80 亚基的突变体在 DSB 诱导产生的检查点激活方面都表现出显著缺陷。此外, 这些突变菌株还表现出一定的单链 DNA 剪切缺陷, 说明 INO80 促进 DSB 末端的有效切割<sup>[40,44,46]</sup> (图 2)。相应地, 在 *arp8Δ* 菌株中, *Mre11* 和 *Mec1* 在 DSB 断裂位点的募集减少, Rad53 磷酸化显著受损, Rad51 在损伤位点富集减少<sup>[46]</sup>。另外, INO80 复合物对细胞适应持续存在的 DSB 损伤也具有积极作用<sup>[47-48]</sup>。综上所述, INO80 复合物在多种不同类型的损伤诱导的检查点激活过程中均发挥作用, 不同实验所出现的差异可能与所检测的突变亚基不同有关。

##### 2.3.2.2 INO80参与HR修复途径

INO80 会被招募至染色质断裂位点 (图 1A), 其招募依赖于  $\gamma$ H2A 和 *Nhp10* 及 *Arp4* 亚基, 这两个亚基都与染色质直接相互作用<sup>[39-41]</sup>。根据 INO80 促进 DSB 末端切割这一事实, 可得知它参与了 HR 修复通路 (图 1A、1C; 图 2)。对缺乏供体模板的 *arp8Δ* 菌株的分析发现, RPA 在损伤部位富集没有明显变化, 但是 Rad51 的加载延迟<sup>[49]</sup>。当 *arp8Δ* 菌株中存在供体模板时, Rad51 在断裂位点的富集量就不会减少, 但它在 *HML/HMR* 位点的结合量会减少<sup>[50]</sup>。*arp8Δ* 菌株以及缺少 *INO80* 开放阅读框起始 900 bp 序列的菌株都出现 *HML/HMR* 位点链侵入延迟<sup>[47,50]</sup>, 这归因于这些菌株中 *HML/HMR* 位置核小体重定位减少。*ino80* 各突变体尽管与野生型有上述不同, 但在酵母配型转换方面没有显著缺陷, 表明 HR 修复的效率没有受到严重影响<sup>[47,50-51]</sup>。酿酒酵母配型转换是一个非常特化的 HR 过程, 涉及到基因置换 (gene conversion) 但不发生交换。另外, INO80 已经被证实其他类型的重组中有功能。在单倍体 *arp8Δ* 细胞中, 姐妹染色单体间自发的重组频率与野生型相同, 但在 MMS 处理后, 野生型菌株中的姐妹染色单体间重组率会上升, 而 *arp8Δ* 菌

株的重组率却没有变化,说明 Arp8 对于促进广泛的姐妹染色单体间的重组具有作用<sup>[52]</sup>。相似地, Arp8 对于促进 MMS 诱导的不同染色体上等位基因间的重组也起积极作用<sup>[52]</sup>。因此, INO80 复合物在多种不同类型的 DNA 修复和重组过程中均具有功能。

### 2.3.2.3 INO80参与NHEJ修复途径

HR 修复因子的突变与 INO80 复合物中多个亚单位的突变表现出合成缺陷或增加敏感性<sup>[43,49]</sup>,表明 INO80 在 NHEJ 修复通路中发挥作用(图 2)。在保真性 NHEJ 修复测试中, INO80 开放阅读框起始 900 bp 序列被删除的菌株、*arp8Δ* 以及 *nhp10Δ* 突变体都没有表现出缺陷<sup>[46-47,49]</sup>。线型质粒在细胞内的修复是另一种测试保真性 NHEJ 修复的方法,在此测试中 *arp8Δ* 菌株与野生型表现也相似<sup>[49]</sup>。而在持续诱导 HO 表达时,细胞的存活要依赖于易错性 NHEJ 途径修复损伤,防止 HO 位点的再次切割。在这项试验中,上述突变体都表现出一定程度的修复缺陷<sup>[40,46-47]</sup>,说明该复合物在易错性的 NHEJ 修复途径中发挥了作用。

### 2.3.2.4 INO80人类同源物参与DSB损伤修复

人类细胞缺乏 hINO80 活性或删除其 YY1 亚基编码基因都表现出 HR 修复活性受损, hINO80 通过 YY1 亚基靶向重组中间体,从而促进 HR 修复<sup>[53]</sup>。免疫荧光实验观察到 hINO80 会被招募到 DNA 损伤位点, ARP8 亚基被敲除之后 hINO80 的招募受损,但是在酵母中 ARP8 敲除对 Ino80 招募并没有影响<sup>[40,43]</sup>,表明 INO80 招募至 DSB 的机制不是保守的。最近发现, INO80 招募至 DNA 断裂位点对于 53BP1 在此处的富集也很重要<sup>[54]</sup>。hINO80 丰度下降的细胞对 IR 高度敏感,而且表现出修复延迟<sup>[55]</sup>,其中既包括对参与修复基因转录的影响而间接损害修复,也有对修复直接的影响<sup>[53]</sup>。因此,有理由相信 hINO80 在促进哺乳动物细胞的 DSB 修复中既有直接也有间接作用,其相对贡献则随细胞类型和生长条件变化。

## 2.4 Fun30

### 2.4.1 Fun30在DSB修复中的作用

Fun30 是核小体重塑因子 Etl1 亚家族成员,它是一个同型二聚体 ATP 依赖型的核小体重塑酶,在酵母细胞异染色质构建和维护中起着重要作用,它参与了 HML/HMR 异染色质形成、端粒及 rDNA 区域的基因沉默过程<sup>[56-57]</sup>。Fun30 还能通过维持着丝粒染色质的完整性而保护着丝粒<sup>[58]</sup>。另外,它也参与了组蛋白的变体 H2AZ 在基因组上的分布调控<sup>[58]</sup>

(图 1D)。Fun30 人类同源蛋白 SMARCAD1 在异染色质形成和维护中同样发挥着重要作用,表明该蛋白具有功能保守性<sup>[59]</sup>。然而,最近多项研究证明了 Fun30 通过结合并重塑核小体而在 DSB 损伤修复中发挥重要作用<sup>[48,59-60]</sup>。

### 2.4.1.1 Fun30与DNA损伤检查点

如前文所述, INO80 和 RSC 都在 DSB 损伤检查点的激活过程中起重要作用。当同时敲除细胞中的 ARP8 (INO80) 和 STH1 (RSC) 基因时, Rad53 的磷酸化程度会大大降低,但还能部分发生磷酸化,而当 INO80、RSC 和 Fun30 这三种重塑因子的活性都被抑制时, Rad53 几乎没有发生磷酸化<sup>[60]</sup>,这表明 Fun30 在 DSB 损伤检查点的激活中具有一定作用。当酵母细胞面临不可修复的 DSB 时, Fun30 对于损伤检查点采取适应机制也是必要的。有 90% 的 *fun30Δ* 细胞在 DSB 诱导发生 24 h 后,仍然处于 G<sub>2</sub>/M 期阻断状态,这与 Rad53 介导的检查点阻断不能关闭相关,而延长的检查点阻断依赖于 Chk1 激酶<sup>[48]</sup>。

### 2.4.1.2 Fun30参与HR修复途径

当细胞诱导产生 DSB 时, Fun30 会向损伤位点大量募集,并沿 DSB 向两侧扩展<sup>[48,60]</sup>。Fun30 与参与单链剪切的核酶 Exo1 和 Dna2 以及单链 DNA 结合蛋白 RPA 之间有相互作用。FUN30 基因的敲除对 DSB 末端的起始切割影响较弱,但是严重延迟了距离断裂位点 5、10 和 27~28 kb 区域的长距离切割。与此相一致的是, *fun30Δ* 细胞中 RPA 和 Rad51 重组酶在距断裂位点 5 kb 位置的募集大量减少<sup>[60]</sup>。*fun30Δ* 细胞在依赖于单链剪切的单链融合修复 (single strand annealing, SSA) 过程中也有严重缺陷<sup>[48]</sup>。这些证据都表明了 Fun30 在 DSB 末端长距离切割中发挥着不可替代的作用。实验证明 Fun30 在 Exo1 和 Sgs1/Dna2 所介导的两条长距离切割途径中都起了促进作用<sup>[60]</sup>。接头蛋白 Rad9 通过与 γH2A 和 H3K79me (由 Dot1 介导) 修饰的组蛋白结合而在 DSB 附近富集,从而促进 DNA 损伤检查点的激活,但对 DSB 末端切割有阻碍作用<sup>[61]</sup>。在 γ-H2A 或 Dot1 缺失的情况下, Fun30 蛋白对于切割变得不那么重要,说明 Fun30 主要是帮助 Exo1 和 Sgs1/Dna2 克服 Rad9 在染色质上形成的切割抑制效应<sup>[48,60]</sup>(图 1B)。相应地,如果细胞缺乏 Fun30, Rad9 会在染色质上积累<sup>[60]</sup>。另外, Fun30 也在端粒维护中起作用,这个功能可能是因为 Fun30 影响了端粒末端的切割过程<sup>[59]</sup>。

### 2.4.1.3 Fun30人类同源物SMARCAD1参与DSB损伤修复

人类细胞中相关研究表明, SMARCAD1也具有促进DSB末端切割和HR修复的功能。当细胞由*I-SceI*诱导产生DSB时, SMARCAD1会被招募至DSB位点, SMARCAD1的缺乏会损害末端切割以及DSB的HR修复, 从而导致细胞对DNA损伤试剂高度敏感<sup>[59]</sup>。这些数据表明, Fun30和SMARCAD1染色质重塑因子在染色质背景下控制末端切割、同源重组和基因组的稳定性方面具有功能保守性。

## 2.5 SWI/SNF

### 2.5.1 SWI/SNF复合物的组成

与RSC一样, SWI/SNF复合物也属于SWI2亚家族, 共含有11个亚基, 其ATP酶亚基是Snf2。SWI/SNF的人类同源物是BAF, 这个复合物含有BRG1或hBRM催化亚基(表1)。SWI/SNF复合物中含有Arp7、Arp9和Snf5等亚基, 它们是SWI/SNF在细胞内发挥正常功能所必需的<sup>[62]</sup>, Snf5还参与了DSB修复。

### 2.5.2 SWI/SNF复合物在DSB修复中的作用

#### 2.5.2.1 SWI/SNF参与HR修复途径

酵母中SWI/SNF复合物在基因转录调控等方面具有重要功能<sup>[63]</sup>, 近来证据表明, 它在DSB修复中也具有作用<sup>[26,64]</sup>。在药物敏感性筛选实验中, 多种*swi/snf*突变体对DNA损伤试剂高度敏感。有证据表明, SWI/SNF特异性地在DSB的HR修复途径中发挥作用<sup>[26]</sup>(图2)。首先, 当细胞产生位于*MAT*座位的DSB时, SWI/SNF会与*MAT*受体位点及供体位点*HML/HMR*结合, 且招募至*HML/HMR*的时间与HR链融合过程相一致。第二, 细胞缺乏SWI/SNF染色质重塑活性时, Rad52和Rad51蛋白能以正常的动力学被招募至*MAT*位点, 但不能结合到*HML/HMR*位点, HR过程中侵入*MAT*座位的单链DNA和*HML/HMR*供体DNA之间的联会被阻断。此外, 该复合物有助于联会纤维丝的形成<sup>[26]</sup>。SWI/SNF在延伸产物出现之前招募至同源供体位点, 它的重塑作用可能是特异性地将*HML/HMR*供体位点DNA暴露出来(图1C), 以结合同源搜索复合物, 从而促进同源搜索和联会的发生<sup>[26]</sup>。SWI/SNF的染色质重塑机制的详情还有待进一步研究, 体外实验已经证实它能改变DNA与组蛋白之间的接触, 从而介导核小体滑动、核小体重塑和组蛋白二聚体交换等<sup>[22]</sup>。目前, 还没有证据表明酵母SWI/SNF在NHEJ修复途径中有功能。

### 2.5.2.2 SWI/SNF在哺乳动物中的同源物参与DSB损伤修复

哺乳动物中的SWI/SNF在 $\gamma$ H2AX形成及DSB修复中起作用。SWI/SNF失活将导致 $\gamma$ H2AX的形成严重缺陷和DSB修复效率降低, 且这种影响不是由DSB修复基因表达受损或DNA损伤检查点失调导致的<sup>[33]</sup>。另外,  $\gamma$ H2AX促进由Gcn5乙酰转移酶介导的组蛋白H3的乙酰化, 这对于SWI/SNF的招募是必要的<sup>[65-66]</sup>。由此可以推断出SWI/SNF、 $\gamma$ H2AX和H3乙酰化在一条反馈激活环路上共同起作用从而促进DSB损伤反应。人类细胞中的hBRM在介导DSB修复中有特殊作用。在缺失hBRM的细胞中, DNA损伤位点KU蛋白的募集会减少, 导致NHEJ活性受损<sup>[67]</sup>。BRIT1是BRG1和hBRM招募至染色体上所必需的蛋白, 缺乏BRIT1的细胞也会表现出HR修复活性水平下降及DSB修复的缺陷<sup>[68]</sup>。这些研究表明, 从酵母到更高级的生物中, SWI/SNF重塑因子广泛地参与了DSB修复。

## 2.6 SWR1

### 2.6.1 SWR1复合物的组成

SWR1复合物属于INO80亚家族, 含有10个以上亚基, 其核心组分是Swr1催化亚基。SWR1还包括Actin、Arp4、Arp6、Bdf1、Swc3-7、Yaf9等亚基(表1)。SWR1中的Actin、Arp4、Swc4和Yaf9亚基也存在于NuA4乙酰转移酶(HAT)复合物中, 这个复合物能够乙酰化核小体组蛋白H2A和H4<sup>[69]</sup>。有意思的是, SWR1在人类细胞中的同源物Tip60表现为酵母细胞中SWR1和NuA4的融合形式<sup>[70]</sup>。人类细胞中的SRCAP复合物是SWR1的另一个同源物, 其ATP酶SRCAP的氨基酸序列与酿酒酵母中SWR1的ATP酶高度同源<sup>[71]</sup>。

### 2.6.2 SWR1复合物在DSB修复中的作用

#### 2.6.2.1 SWR1在损伤适应过程中的作用

SWR1通过在端粒、着丝粒和启动子区核小体上将组蛋白H2A-H2B二聚体替换成H2AZ-H2B从而调控基因沉默、异染色质形成和转录等过程<sup>[38-39,41]</sup>。相反的是, INO80具有剔除染色质中H2AZ的功能, 一项研究将INO80和SWR1在DNA损伤适应中联系起来。INO80对于逃离过长的细胞周期阻断是必要的, 如果细胞缺乏有功能的INO80将导致损伤诱导的 $\gamma$ H2A水平下降, 同时DSB位点附近的H2AZ含量增加。而*INO80*和*SWR1*双突变导致H2AZ被清除, DSB附近H2A恢复磷酸化状态, 从而解除

由 *INO80* 突变而导致的检查点适应的缺陷。以上结果揭示了 *INO80* 和 *SWR1* 拮抗性地影响 DSB 位点附近的 H2AZ 和  $\gamma$ H2A 的动态平衡 (图 1D), 从而调控细胞对持续存在的 DNA 损伤的适应<sup>[47]</sup>。

### 2.6.2.2 SWR1参与HR和NHEJ修复途径

多项证据表明, *SWR1* 也参与了 DSB 修复。首先, 多种 *swr1* 突变体对 DNA 损伤试剂具有较强敏感性<sup>[39,41]</sup>。其次, *SWR1* 通过结合  $\gamma$ H2A 而被招募至损伤位点<sup>[43]</sup>, 从而改变该位点的染色质结构以促进 DNA 修复和检查点相关蛋白的结合。最近发现, *SWR1* 通过在 DSB 位点附近加入 H2AZ 从而特异性地促进 HR 修复通路中 Exo1 介导的长距离切割<sup>[72]</sup>。包含组蛋白 H2A-H2B 二聚体的核小体会阻碍 Exo1 的切割, *SWR1* 将 H2A 置换成 H2AZ 能够解除这种阻碍; 相应地, 敲除 H2AZ 编码基因 *HTZ1* 也会降低 DSB 末端切割效率<sup>[73]</sup>。H2AZ 或 *SWR1* 的失活都将导致 Exo1 切割受阻, 而对 Sgs1/Dna2 介导的切割的影响不明显<sup>[72]</sup>。

在另一项实验中, 研究者检测了位于 *MAT* 座位的 DSB 的 NHEJ 修复效率, 发现 *arp8Δ* 和 *nhp10Δ* 突变体中的修复效率与野生型细胞相似, 而 *SWR1* 的敲除却导致修复效率大大降低。进一步的实验揭示, *SWR1* 通过在 DSB 位点的富集以促进 yKu80 的结合, 从而特异性地促进了细胞保真性 NHEJ 修复<sup>[46]</sup> (图 2)。

### 2.6.2.3 SWR1人类同源物参与DSB损伤修复

*SWR1* 的人类同源物 Tip60 在 DSB 修复中同样发挥促进作用。当细胞发生 DSB 损伤时, Tip60 乙酰转移酶亚基会快速地招募至断裂位点, 负责多种 DNA 损伤响应蛋白 (包括 ATM 激酶) 的乙酰化修饰, 从而促进 ATM 等激酶的激活, 在 DNA 损伤检查点的激活和 DSB 修复中起作用<sup>[74]</sup>。另外, Tip60 复合物中的 p400 亚基是 *INO80* 家族的染色质重塑 ATP 酶, 它能够在 DSB 位点将 H2A 置换成 H2AZ, 而 H2AZ 的置换既是 Tip60 亚基乙酰化组蛋白 H4 所需要的, 也是创造 DSB 位点开放的染色质环境所需要的<sup>[75]</sup>。*SWR1* 另一个人类同源物 SRCAP 通过催化 H2AZ-H2B 整合进核小体从而重塑染色质<sup>[71]</sup>。最近一项研究证明了它通过两种方式特异性地参与 DSB 的 HR 修复途径中起始切割过程<sup>[76]</sup>: 一方面在其 ATP 酶的催化下与核酸酶 CtIP 形成复合物, 促进 CtIP 在 DSB 位点的募集; 另一方面通过其重塑染色质的活性松弛 DSB 位点附近的染色质。细胞 SRCAP 活性的丧失将抑制 DNA

的末端切割, 进而抑制 HR 修复途径。

## 3 结语与展望

综上所述, ATP 依赖型的染色质重塑复合物在 DSB 损伤修复中发挥着不可替代的作用。这些重塑因子通过在 HR 或 NHEJ 修复途径中起作用而促进 DSB 修复, 参与维护基因组完整性和稳定性。近年来该领域的研究取得了重大进展, 但仍然有许多关键问题有待研究, 如 RSC 与 *INO80* 都影响断裂末端切割起始和检查点激活, 它们是如何协调发挥作用的; Fun30 特异性地在长距离切割中起作用, 细胞如何实现从 RSC、*INO80* 到 Fun30 的功能转换; 调控机制是什么; Fun30 是如何克服 Rad9 的切割抑制作用的; 细胞如何协调 *SWR1* 与 *INO80* 在维持染色质上 H2AZ 水平中的作用; 染色质重塑蛋白是否参与同源重组下游 Holliday junction 的解离及交换等过程。近年来, 遗传操作、染色质体外重建系统、超分辨率显微镜和结构生物学等方面技术和手段的成熟与完善, 为解决上述问题提供了可能。鉴于染色质重塑复合物及重塑机制的保守性 (表 1), 酵母中的相关研究无疑将为开展人类相关研究提供重要理论借鉴, 以加深我们对整个染色质调控机制的理解, 为探究人类相关疾病的发病机理、开发相关疗法提供理论指导。

### [参 考 文 献]

- [1] Woodbine L, Gennery AR, Jeggo PA. The clinical impact of deficiency in DNA non-homologous end-joining. *DNA Repair: Amst*, 2014, 16: 84-96
- [2] Bohgaki T, Bohgaki M, Hakem R. DNA double-strand break signaling and human disorders. *Genome Integr*, 2010, 1: 15
- [3] Curtin NJ. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 801-17
- [4] Srivastava M, Raghavan SC. DNA double-strand break repair inhibitors as cancer therapeutics. *Chem Biol*, 2015, 22: 17-29
- [5] Tomicic MT, Kaina B. Topoisomerase degradation, DSB repair, p53 and IAPs in cancer cell resistance to camptothecin-like topoisomerase I inhibitors. *Biochem Biophys Acta*, 2013, 1835: 11-27
- [6] Hühn D, Bolck HA, Sartori AA. Targeting DNA double-strand break signalling and repair: recent advances in cancer therapy. *Swiss Med Wkly*, 2013, 143: w13837
- [7] Curtin NJ. Inhibiting the DNA damage response as a therapeutic manoeuvre in cancer. *Br J Pharmacol*, 2013, 169: 1745-65
- [8] Eberharder A, Becker PB. ATP-dependent nucleosome remodelling: factors and functions. *J Cell Sci*, 2004, 117:

- 3707-11
- [9] Rupnik A, Lowndes NF, Grenon M. MRN and the race to the break. *Chromosoma*, 2010, 119: 115-35
- [10] Nakada D, Matsumoto K, Sugimoto K. ATM-related Tel1 associates with double-strand breaks through an Xrs2-dependent mechanism. *Genes Dev*, 2003, 17: 1957-62
- [11] Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*, 2003, 421: 499-506
- [12] Jazayeri A, Balestrini A, Garner E, et al. Mre11-Rad50-Nbs1-dependent processing of DNA breaks generates oligonucleotides that stimulate ATM activity. *EMBO J*, 2008, 27: 1953-62
- [13] Shiotani B, Zou L. Single-stranded DNA orchestrates an ATM-to-ATR switch at DNA breaks. *Mol Cell*, 2009, 33: 547-58
- [14] Mantiero D, Clerici M, Lucchini G, et al. Dual role for *Saccharomyces cerevisiae* Tel1 in the checkpoint response to double-strand breaks. *EMBO Rep*, 2007, 8: 380-7
- [15] Gobbin E, Cesena D, Galbiati A, et al. Interplays between ATM/Tel1 and ATR/Mec1 in sensing and signaling DNA double-strand breaks. *DNA Repair: Amst*, 2013, 12: 791-9
- [16] Finn K, Lowndes NF, Grenon M. Eukaryotic DNA damage checkpoint activation in response to double-strand breaks. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69: 1447-73
- [17] Harper JW, Elledge SJ. The DNA damage response: ten years after. *Mol Cell*, 2007, 28: 739-45
- [18] Shim EY, Chung WH, Nicolette ML, et al. *Saccharomyces cerevisiae* Mre11/Rad50/Xrs2 and Ku proteins regulate association of Exo1 and Dna2 with DNA breaks. *EMBO J*, 2010, 29: 3370-80
- [19] Spagnolo L, Rivera-Calzada A, Pearl LH, et al. Three-dimensional structure of the human DNA-PKcs/Ku70/Ku80 complex assembled on DNA and its implications for DNA DSB repair. *Mol Cell*, 2006, 22: 511-9
- [20] Hiom K. Coping with DNA double strand breaks. *DNA Repair: (Amst)*, 2010, 9: 1256-63
- [21] Huertas P, Cortes-Ledesma F, Sartori AA, et al. CDK targets Sae2 to control DNA-end resection and homologous recombination. *Nature*, 2008, 455: 689-92
- [22] Mohrmann L, Verrijzer CP. Composition and functional specificity of SWI2/SNF2 class chromatin remodeling complexes. *Biochem Biophys Acta*, 2005, 1681: 59-73
- [23] Cairns BR, Schlichter A, Erdjument-Bromage H, et al. Two functionally distinct forms of the RSC nucleosome-remodeling complex, containing essential AT hook, BAH, and bromodomains. *Mol Cell*, 1999, 4: 715-23
- [24] Cairns BR, Lorch Y, Li Y, et al. RSC, an essential, abundant chromatin remodeling complex. *Cell*, 1996, 87: 1249-60
- [25] Shim EY, Ma JL, Oum JH, et al. The yeast chromatin remodeler RSC complex facilitates end joining repair of DNA double-strand breaks. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 3934-44
- [26] Chai B, Huang J, Cairns BR, et al. Distinct roles for the RSC and Swi/Snf ATP-dependent chromatin remodelers in DNA double-strand break repair. *Genes Dev*, 2005, 19: 1656-61
- [27] Huang J, Hsu J, Laurent BC. The RSC nucleosome-remodeling complex is required for cohesin's association with chromosome arms. *Mol Cell*, 2004, 13: 739-50
- [28] Baetz KK, Krogan NJ, Emili A, et al. The ctf13-30/CTF13 genomic haploinsufficiency modifier screen identifies the yeast chromatin remodeling complex RSC, which is required for the establishment of sister chromatid cohesion. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 1232-44
- [29] Liang B, Qiu J, Ratnakumar K, et al. RSC functions as an early double-strand-break sensor in the cell's response to DNA damage. *Curr Biol*, 2007, 17: 1432-7
- [30] Shim EY, Hong SJ, Oum JH, et al. RSC mobilizes nucleosomes to improve accessibility of repair machinery to the damaged chromatin. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 1602-13
- [31] Kent NA, Chambers AL, Downs JA. Dual chromatin remodeling roles for RSC during DNA double strand break induction and repair at the yeast MAT locus. *J Biol Chem*, 2007, 282: 27693-701
- [32] Jeggo PA, Downs JA. Roles of chromatin remodellers in DNA double strand break repair. *Exp Cell Res*, 2014, 329: 69-77
- [33] Park JH, Park EJ, Lee HS, et al. Mammalian SWI/SNF complexes facilitate DNA double-strand break repair by promoting gamma-H2AX induction. *EMBO J*, 2006, 25: 3986-97
- [34] Ray A, Mir SN, Wani G, et al. Human SNF5/INI1, a component of the human SWI/SNF chromatin remodeling complex, promotes nucleotide excision repair by influencing ATM recruitment and downstream H2AX phosphorylation. *Mol Cell Biol*, 2009, 29: 6206-19
- [35] Park JH, Park EJ, Hur SK, et al. Mammalian SWI/SNF chromatin remodeling complexes are required to prevent apoptosis after DNA damage. *DNA Repair: Amst*, 2009, 8: 29-39
- [36] Klochendler-Yeivin A, Picarsky E, Yaniv M. Increased DNA damage sensitivity and apoptosis in cells lacking the Snf5/Ini1 subunit of the SWI/SNF chromatin remodeling complex. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 2661-74
- [37] Shen X, Mizuguchi G, Hamiche A, et al. A chromatin remodelling complex involved in transcription and DNA processing. *Nature*, 2000, 406: 541-4
- [38] Krogan NJ, Keogh MC, Datta N, et al. A Snf2 family ATPase complex required for recruitment of the histone H2A variant Htz1. *Mol Cell*, 2003, 12: 1565-76
- [39] Kobor MS, Venkatasubrahmanyam S, Meneghini MD, et al. A protein complex containing the conserved Swi2/Snf2-related ATPase Swr1p deposits histone variant H2A. Z into euchromatin. *PLoS Biol*, 2004, 2: E131
- [40] Van Attikum H, Fritsch O, Hohn B, et al. Recruitment of the INO80 complex by H2A phosphorylation links ATP-dependent chromatin remodeling with DNA double-strand break repair. *Cell*, 2004, 119: 777-88
- [41] Mizuguchi G, Shen X, Landry J, et al. ATP driven exchange of histone H2AZ variant catalyzed by SWR1 chromatin remodeling complex. *Science*, 2004, 303: 343-8

- [42] Shimada K, Oma Y, Schleker T, et al. Ino80 chromatin remodeling complex promotes recovery of stalled replication forks. *Curr Biol*, 2008, 18: 566-75
- [43] Morrison AJ, Highland J, Krogan NJ, et al. INO80 and  $\gamma$ -H2AX interaction links ATP-dependent chromatin remodeling to DNA damage repair. *Cell*, 2004, 119: 767-75
- [44] Morrison AJ, Kim JA, Person MD, et al. Mec1/Tel1 phosphorylation of the INO80 chromatin remodeling complex influences DNA damage checkpoint responses. *Cell*, 2007, 130: 499-511
- [45] Kapoor P, Bao Y, Xiao J, et al. Phosphorylation-dependent enhancement of Rad53 kinase activity through the INO80 chromatin remodeling complex. *Mol Cell*, 2015, 58: 863-9
- [46] Van Attikum H, Fritsch O, Gasser SM. Distinct roles for SWR1 and INO80 chromatin remodeling complexes at chromosomal double-strand breaks. *EMBO J*, 2007, 26: 4113-25
- [47] Papamichos-Chronakis M, Krebs JE, Peterson CL. Interplay between Ino80 and Swr1 chromatin remodeling enzymes regulates cell cycle checkpoint adaptation in response to DNA damage. *Genes Dev*, 2006, 20: 2437-49
- [48] Eapen VV, Sugawara N, Tsabar M, et al. The *Saccharomyces cerevisiae* chromatin remodeler Fun30 regulates DNA end-resection and checkpoint deactivation. *Mol Cell Biol*, 2012, 32: 4727-40
- [49] Tsukuda T, Fleming AB, Nickoloff JA, et al. Chromatin remodelling at a DNA double strand break site in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, 2005, 438: 379-83
- [50] Tsukuda T, Lo YC, Krishna S, et al. INO80-dependent chromatin remodeling regulates early and late stages of mitotic homologous recombination. *DNA Repair: (Amst)*, 2009, 8: 360-9
- [51] Harrison JC, Haber JE. Surviving the breakup: The DNA damage checkpoint. *Annu Rev Genet*, 2006, 40: 209-35
- [52] Kawashima S, Ogiwara H, Tada S, et al. The INO80 complex is required for damage-induced recombination. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 355: 835-41
- [53] Wu S, Shi Y, Mulligan P, et al. A YY1-INO80 complex regulates genomic stability through homologous recombination-based repair. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14: 1165-72
- [54] Gospodinov A, Vaissiere T, Krastev DB, et al. Mammalian Ino80 mediates double-strand break repair through its role in DNA end strand resection. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 4735-45
- [55] Park EJ, Hur SK, Kwon J. Human INO80 chromatin-remodelling complex contributes to DNA double-strand break repair via the expression of Rad54B and XRCC3 genes. *Biochem J*, 2010, 431: 179-87
- [56] Yu Q, Zhang X, Bi X. Roles of chromatin remodeling factors in the formation and maintenance of heterochromatin structure. *J Biol Chem*, 2011, 286: 14659-69
- [57] Neves-Costa A, Will WR, Vetter AT, et al. The SNF2-family member Fun30 promotes gene silencing in heterochromatic loci. *PLoS One*, 2009, 4: e8111
- [58] Durand-Dubief M, Will WR, Petrini E, et al. SWI/SNF-like chromatin remodeling factor Fun30 supports point centromere function in *S. cerevisiae*. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002974
- [59] Costelloe T, Louge R, Tomimatsu N, et al. The yeast Fun30 and human SMARCAD1 chromatin remodellers promote DNA end resection. *Nature*, 2012, 489: 581-4
- [60] Chen X, Cui D, Papusha A, et al. The Fun30 nucleosome remodeller promotes resection of DNA double-strand break ends. *Nature*, 2012, 489: 576-80
- [61] Lazzaro F, Sapountzi V, Granata M, et al. Histone methyltransferase Dot1 and Rad9 inhibit single-stranded DNA accumulation at DSBs and uncapped telomeres. *EMBO J*, 2008, 27: 1502-12
- [62] Szerlong H, Saha A, Cairns BR. The nuclear actin-related proteins Arp7 and Arp9: a dimeric module that cooperates with architectural proteins for chromatin remodeling. *EMBO J*, 2003, 22: 3175-87
- [63] Narlikar GJ, Fan HY, Kingston RE. Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. *Cell*, 2002, 108: 475-87
- [64] Martens JA, Winston F. Recent advances in understanding chromatin remodeling by Swi/Snf complexes. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13: 136-42
- [65] Lee HS, Park JH, Kim SJ, et al. A cooperative activation loop among SWI/SNF,  $\gamma$ -H2AX and H3 acetylation for DNA double-strand break repair. *EMBO J*, 2010, 29: 1434-45
- [66] Seeber A, Hauer M, Gasser SM. Nucleosome remodelers in double-strand break repair. *Curr Opin Genet Dev*, 2013, 23: 174-84
- [67] Ogiwara H, Ui A, Otsuka A, et al. Histone acetylation by CBP and p300 at double-strand break sites facilitates SWI/SNF chromatin remodeling and the recruitment of non-homologous end joining factors. *Oncogene*, 2011, 30: 2135-46
- [68] Peng G, Yim EK, Dai H, et al. BRIT1/MCPH1 links chromatin remodelling to DNA damage response. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 865-72
- [69] Bao Y, Shen X. Chromatin remodeling in DNA double-strand break repair. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17: 126-31
- [70] Doyon Y, Cote J. The highly conserved and multifunctional NuA4 HAT complex. *Curr Opin Genet Dev*, 2004, 14: 147-54
- [71] Wong MM, Cox LK, Chrivia JC. The chromatin remodeling protein, SRCAP, is critical for deposition of the histone variant H2A.Z at promoters. *J Biol Chem*, 2007, 282: 26132-9
- [72] Adkins NL, Niu H, Sung P, et al. Nucleosome dynamics regulates DNA processing. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 836-42
- [73] Kalocsay M, Hiller NJ, Jentsch S. Chromosome-wide Rad51 spreading and SUMO-H2A.Z -dependent chromosome fixation in response to a persistent DNA double-strand break. *Mol Cell*, 2009, 33: 335-43
- [74] Sun Y, Jiang X, Chen S, et al. A role for the Tip60 histone

- acetyltransferase in the acetylation and activation of ATM. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 13182-7
- [75] Xu Y, Sun Y, Jiang X, et al. The p400 ATPase regulates nucleosome stability and chromatin ubiquitination during DNA repair. J Cell Biol, 2010, 191: 31-43
- [76] Dong S, Han J, Chen H, et al. The human SRCAP chromatin remodeling complex promotes DNA-end resection. Curr Biol, 2014, 24: 2097-110