·短篇论著·

硼替佐米干扰 DNA 修复并协同阿霉素 诱导多发性骨髓瘤细胞死亡

唐海龙 徐莉 陈协群 空军军医大学西京医院血液内科,中国人民解放军血液病专病中心,西安 710032 通信作者:陈协群,Email:xiequnchen@fmmu.edu.cn 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(2016SF-071) DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.05.010

Bortezomib interferes with DNA repair and exerts synergistic anti-multiple myeloma activity with doxorubicin

Tang Hailong, Xu Li, Chen Xiequn Department of Hematology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Hematologic Diseases Center of Chinese People's Liberation Army, Xi'an 710032, China Corresponding author: Chen Xiequn, Email: xiequnchen@fmmu.edu.cn

蛋白酶体抑制剂硼替佐米联合阿霉素广泛应用于多发 性骨髓瘤(MM)的一线治疗^[1],但其协同效应机制尚待进一 步探讨。阿霉素作为DNA交联剂可诱发DNA双链断裂及 DNA损伤反应(DDR),进而发挥抗MM效应^[2-3]。然而,靶细 胞固有的DNA损伤修复机制可部分弱化DDR引发的促死 亡信号^[4]。因此,靶向核酸修复机制极可能增强阿霉素的细 胞毒效应。研究表明,多种DDR相关蛋白「如共济失调毛细 血管扩张症突变基因(ATM)蛋白及其下游磷酸化的组蛋白 H2A变体(γ-H2AX)、DNA修复蛋白(RAD51蛋白)等]被募 集至DNA断裂点是核酸修复的始动环节^[25-8]。其中RAD51 主要募集至泛素化的γ-H2AX^[9-10]。硼替佐米可阻断胞质多 泛素化蛋白降解,滞留消耗大量泛素分子,致使核内泛素耗 竭、γ-H2AX泛素化过程受抑、RAD51的募集减少^[10]。基于 硼替佐米这种独特的DNA修复干扰机制,本研究拟通过探 究此药物对DDR蛋白磷酸化表达或亚细胞分布的影响,进 一步理解蛋白酶体系统在DNA修复过程中的作用及硼替佐 米和阿霉素的协同抗MM机制。

材料与方法

1. 试剂与材料:阿霉素和硼替佐米分别购自意大利 Actavis公司和西安杨森制药公司。BCA蛋白定量试剂盒、 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]购自碧云天生物有限公司。抗γ-H2AX、p-ATM、 ATM、RAD51、GAPDH抗体购自英国Abcam公司,辣根过氧 化物酶、罗丹明标记的二抗、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI) 购自北京中杉金桥生物有限公司,RNA提取试剂Trizol购自 北京天根生化科技有限公司,mRNA逆转录试剂盒购自美国 Thermo Scientific公司。

2. 细胞培养:人骨髓瘤细胞系 RPMI8226、H929 来自苏

州大学唐仲英血液研究所毛新良教授,常规培养于含10% 胎牛血清、1%青霉素、1%链霉素的RPMI1640培养基,置于 37℃含有5%CO₂的细胞培养箱中,每2~3d传代,取对数生 长期细胞进行实验。

3. MTT 测定与协同效应分析:调整 MM 细胞浓度为5× 10⁴/ml,接种于96孔板中,加入不同浓度的阿霉素和硼替佐 米,于CO₂细胞培养箱中孵育24 h。DNM-9602型酶标仪测 量490 nm 处各孔吸光度(A)值。存活率(%)=A_{加药型}/A_{对照组}× 100%。绘制细胞存活曲线,计算两种药物的10%抑制浓度 (IC₁₀)、20%抑制浓度(IC₂₀)、40%抑制浓度(IC₄₀)值,两种药 物以不同浓度组合作用于 MM 细胞系。采用 MTT 法计算抑 制率,采用 Calcusyn 软件分析协同效应,CI 值 <1 表示协同, CI 值 =1 表示相加,CI 值 >1 表示拮抗。选取协同效应最佳 的组合进行后续实验。

4. Western blot:细胞以5×10⁵/ml的密度接种于六孔板, 根据相关实验要求加入阿霉素和硼替佐米,于CO₂细胞培养 箱中孵育24h后收集细胞。应用细胞核、细胞质蛋白抽提试 剂盒分别提取胞核及胞质蛋白,具体步骤为:细胞沉淀中加 入细胞质蛋白抽提试剂A后冰浴10min,加入细胞质蛋白抽 提试剂B后冰浴1min,4℃12000×g离心5min,收集上清即 为胞质蛋白。在胞核沉淀中加入细胞核蛋白抽提试剂后冰 浴,每隔2min反复抽吸15s,30min后4℃12000×g离心 10min,收集上清即为胞核蛋白。RIPA裂解液冰上裂解提 取总蛋白,将蛋白与上样缓冲液按照4:1比例混匀,煮沸 5min 使蛋白变性,进行SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳并转至 PVDF膜,在5%的脱脂奶粉中封闭1h,分别加入一抗、二抗孵 育,Bio-Rad自动显影仪检测目标条带,image J软件进行分析。

5. 免疫荧光:细胞以 5×10⁵/ml 的密度接种于六孔板中, 药物处理24 h,将细胞滴加至多聚赖氨酸预包被的盖玻片上 黏附1h,以4%多聚甲醛室温固定20min,以0.5%Triton X-100室温下打孔15min,1%BSA室温封闭1h。加入 抗γ-H2AX抗体4℃下孵育过夜,PBS5min洗涤3遍,加入 罗丹明标记的二抗室温避光孵育1h,PBS洗涤3遍。室温 下0.1μg/mlDAPI染核5min,封固。荧光显微镜下观察细 胞核内的阳性信号,每个样本随机计数50个细胞核内的阳 性点数。

6. 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR):细胞以 5×10⁵/ml 的密 度接种于六孔板中,药物处理 24 h, Trizol 法提取总 RNA,按 照试剂盒(RevertAid Kit)说明书方法合成互补脱氧核糖核 酸(cDNAs)。引物序列:RAD51:上游:5'-CGAGCGTTCAA-CACAGACCA-3',下游:5'-GTGGCACTGTCTACAATA-AGCA-3';GAPDH:上游:5'-AACAGCGACACCCATCCTC-3',下游:5'-CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA-3'^[10]。采 用 UltraSYBR Mixture 试剂盒行 qRT-PCR 得到 CT 值。以 GAPDH 为内参,计算各组 RAD51 mRNA 的相对表达量。

7. 统计学处理:采用Graph Prism 5软件进行统计学分析。实验数据以均数±标准差(x±s)表示。组间比较采用 t检验, P < 0.05表示差异有统计学意义。每组实验至少重 复3次。

结 果

1. 硼替佐米、阿霉素抑制骨髓瘤细胞增殖:不同浓度的 阿霉素(0、0.25、0.5、1、2、4、8、16 μmol/L)及硼替佐米(0、2、 4、8、16、32、64、128 nmol/L)分别作用于 RPMI8226 及 H929 细胞 24 h, MTT 法检测。结果显示, 两药对于 MM 细胞的增 殖抑制作用均呈现明显的剂量依赖性。阿霉素作用于 RPMI 8226 细胞的 IC₁₀、IC₂₀、IC₄₀值分别为 0.4、0.8、 1.8 μmol/L,作用于 H929 细胞的 IC₁₀、IC₂₀、IC₄₀值分别为 0.2、 0.4、1.2 μmol/L。硼替佐米作用于 RPMI8226 细胞的 IC₁₀、 IC₂₀、IC₄₀值分别为 2、6、30 nmol, 作用于 H929 细胞的 IC₁₀、 IC₂₀、IC₄₀值分别为 2、4、24 nmol/L。

2. 硼替佐米与阿霉素协同抗骨髓瘤作用:将阿霉素及硼 替佐米以IC₁₀、IC₂₀、IC₄₀两两组合作用于MM细胞系,根据细 胞抑制率行协同效应分析。结果显示,阿霉素和硼替佐米具 有明显的协同抗MM效应(表1~2)。采用Calcusyn软件分 析协同效应,选取协同效应最佳的浓度(RPMI8226细胞系: 0.8 nmol/L 阿霉素+2 nmol/L 硼替佐米; H929 细胞系: 0.2 nmol/L 阿霉素+2 nmol/L 硼替佐米)。

表1 不同浓度硼替佐米和阿霉素联合作用于RPMI8226细 胞系的抑制率

阿霉素		硼替佐米(nmol/L)				
$(\mu mol/L)$	0	2	6	30		
0	0	0.10	0.20	0.40		
0.4	0.1	0.27	0.20	0.39		
0.8	0.2	0.56	0.39	0.45		
1.8	0.4	0.68	0.64	0.70		

表2 不同浓度硼替佐米和阿霉素联合作用于H929细胞系 的抑制率

阿霉素		硼替佐米(nmol/L)				
(µmol/L)	0	2	4	24		
0	0	0.10	0.20	0.40		
0.2	0.10	0.44	0.33	0.53		
0.4	0.20	0.35	0.51	0.66		
1.2	0.40	0.53	0.66	0.78		

3. 硼替佐米协同阿霉素诱导DDR:γ-H2AX上调是DNA 损伤的主要生物学标志^[11]。Western blot结果显示,阿霉素 可诱导剂量依赖的DDR(图1)。与上述协同效应模型一致, 阿霉素和硼替佐米联合作用于MM细胞系后,p-ATM和 γ-H2AX的表达均明显高于单药组(图2)。



以GAPDH作为内参,1为对照组。A:2~4分别为0.4、0.8、1.8 μmol/L, 5~7分别为2、6、30 nmol/L;B:2~4分别为0.2、0.4、1.2 μmol/L, 5~7分别为2、4、24 nmol/L

图1 Western blot 法检测不同浓度硼替佐米和阿霉素对 RPMI8226 细胞系(A)和H929细胞系(B)γ-H2AX表达的影响



以 GAPDH 作为内参,1~4 分别表示对照组、硼替佐米组、阿霉素 组、硼替佐米联合阿霉素组

图2 Western blot法检测不同药物组合对 RPMI8226 细胞系(A)和 H929 细胞系(B)p-ATM 和γ-H2AX 表达的影响 4. 硼替佐米对 DNA 损伤修复蛋白亚细胞分布的影响: 为进一步研究γ-H2AX 的亚细胞分布,我们进行了免疫荧光 实验。结果显示,两药联合作用后,γ-H2AX 的核内募集较阿 霉素单用组明显增强(图3)。qRT-PCR进一步显示,硼替佐 米联合阿霉素处理 RPMI8226 细胞后,其 RAD51 mRNA 相 对表达量(3.10±0.08)高于阿霉素组(2.00±0.21)和硼替佐米 组(2.06±0.16)(P<0.05)。硼替佐米联合阿霉素处理 H929 细胞后,其 RAD51 mRNA 相对表达量(2.83±0.12)高于阿霉 素组(1.83±0.20)和硼 替佐米组(1.56±0.16)(P<0.05)。 Western blot法显示,两药联合与阿霉素单药相比,RAD51蛋 白表达量无明显上调(图4),但RAD51蛋白却明显由胞核转 移至胞质(图5)。



红色为罗丹明标记的γ-H2AX焦点,蓝色为4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI)衬染的细胞核;Merge:叠加

图3 免疫荧光法检测不同药物组合对 RPMI8226 细胞系(A)和 H929 细胞系(B)γ-H2AX 亚细胞定位的影响

讨 论

硼替佐米联合阿霉素、地塞米松的PAD方案已经成为 MM治疗的一线诱导方案^[12-13]。作为PAD方案中的关键药 物,硼替佐米和阿霉素的协同作用机制目前尚不清楚。我们 的研究结果表明,硼替佐米和阿霉素在多种浓度状态下均呈 现出明显的协同抗MM效应。硼替佐米可干扰RAD51蛋白 的亚细胞定位,从而增强阿霉素诱导的骨髓瘤细胞DDR。 基于以上结果,本研究推断硼替佐米可通过干扰DNA损伤 修复过程协同增强阿霉素抗骨髓瘤效应。

我们既往研究表明,阿霉素可诱导ATM依赖的DDR^[14], DNA双链发生断裂时,ATM首先募集至损伤点,自我磷酸化 后启动下游一系列蛋白(如γ-H2AX和RAD51蛋白等)募集 于损伤点处,产生DNA损伤分泌反应、细胞周期停滞、细胞 凋亡、DNA损伤修复等生物学效应^[14+77]。当DNA损伤和修 复的稳态失衡时,细胞活化促凋亡信号,导致程序性细胞死 亡。因此,放大阿霉素诱导的DDR信号极可能增强阿霉素 的抗 MM效应^[18-21]。我们检测了硼替佐米和阿霉素对 MM 细胞增殖、DDR 相关蛋白表达及核内定位的影响,结果显 示,在协同效应模型中,硼替佐米联合阿霉素组 p-ATM 及 γ-H2AX的表达及γ-H2AX的核内募集较阿霉素单药组增 强,提示硼替佐米通过增强阿霉素诱导的DDR发挥协同抗 MM效应。



以 GAPDH 作为内参,1~4 分别表示对照组、硼替佐米组、阿霉素 组、硼替佐米联合阿霉素组

图4 Western blot法检测不同药物组合对RPMI8226细胞系(A)和 H929细胞系(B)RAD51蛋白表达的影响



以LaminB、β-actin作为内参,1~4分别表示对照组、硼替佐米组、阿 霉素组、硼替佐米联合阿霉素组

图5 Western blot 法检测不同药物组合对 RPMI8226 细胞系(A)和 H929 细胞系(B)RAD51 蛋白亚细胞定位的影响

阿霉素诱导的 DNA 双链断裂伴随的 DNA 修复形式被称为同源重组,后者的关键环节之一是 RAD51 蛋白等在损伤点募集^[22-24],其中包含了多步骤的调控,包括 RAD51 的表达^[25-28]、损伤点的募集^[29-32]、降解^[33-34]等过程,上述任一环节被阻断均可导致 DNA 损伤修复缺陷,促进细胞死亡。为探究硼替佐米是否干扰了阿霉素诱导的 DDR 中的 DNA 修复,我们检测了 RAD51 基因表达情况及蛋白产物亚细胞分布。结

果显示,硼替佐米可诱导RAD51 mRNA而非蛋白水平升高, 提示硼替佐米主要影响RAD51 基因的转录,也可能是细胞 在应对更大的基因组压力时的反应性改变。泛素化过程参 与了RAD51的降解^[9-10,33,34],硼替佐米作为蛋白酶体抑制剂是 否在此模型中影响了RAD51的降解也是我们后续研究的内 容。更重要的是,硼替佐米可将RAD51限制于胞质,减少 DNA损伤点RAD51蛋白募集,这也许是硼替佐米加重DNA 损伤并与阿霉素协同诱导MM细胞死亡的重要原因。我们 的结果也支持Neri等^[10]的研究,即蛋白酶体抑制剂可干扰 RAD51蛋白的γ-H2AX泛素化依赖性核内募集,导致DNA 损伤程度加重,更加深入的机制有待进一步探究。

参考文献

- [1] Mai EK, Bertsch U, Dürig J, et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAd) in newly diagnosed myeloma [J]. Leukemia, 2015, 29 (8):1721-1729. DOI: 10.1038/leu.2015.80.
- Ramachandran J, Santo L, Siu KT, et al. Pim2 is important for regulating DNA damage response in multiple myeloma cells[J].
 Blood Cancer J, 2016, 6(8):e462. DOI: 10.1038/bcj.2016.73.
- [3] Turner JG, Dawson JL, Grant S, et al. Treatment of acquired drug resistance in multiple myeloma by combination therapy with XPO1 and topoisomerase II inhibitors [J]. J Hematol Oncol, 2016, 9(1):73. DOI: 10.1186/s13045-016-0304-z.
- [4] Tessoulin B, Moreau-Aubry A, Descamps G, et al. Whole-exon sequencing of human myeloma cell lines shows mutations related to myeloma patients at relapse with major hits in the DNA regulation and repair pathways [J]. J Hematol Oncol, 2018, 11 (1):137. DOI: 10.1186/s13045-018-0679-0.
- [5] Choudhury A, Cuddihy A, Bristow RG. Radiation and new molecular agents part I: targeting ATM-ATR checkpoints, DNA repair, and the proteasome [J]. Semin Radiat Oncol, 2006, 16 (1):51-58. DOI: 10.1016/j.semradonc.2005.08.007.
- [6] Mouche A, Archambeau J, Ricordel C, et al. ING3 is required for ATM signaling and DNA repair in response to DNA double strand breaks [J]. Cell Death Differ, 2019, 26 (11):2344-2357. DOI: 10.1038/s41418-019-0305-x.
- [7] Tang M, Li Z, Zhang C, et al. SIRT7-mediated ATM deacetylation is essential for its deactivation and DNA damage repair
 [J]. Sci Adv, 2019, 5 (3):eaav1118. DOI: 10.1126/sciadv. aav1118.
- [8] Yan S, Sorrell M, Berman Z. Functional interplay between ATM/ ATR- mediated DNA damage response and DNA repair pathways in oxidative stress [J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71 (20):3951-3967. DOI: 10.1007/s00018-014-1666-4.
- [9] Murakawa Y, Sonoda E, Barber LJ, et al. Inhibitors of the proteasome suppress homologous DNA recombination in mammalian cells [J]. Cancer Res, 2007, 67 (18):8536-8543. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1166.
- [10] Neri P, Ren L, Gratton K, et al. Bortezomib-induced "BRCAn-

ess" sensitizes multiple myeloma cells to PARP inhibitors [J]. Blood, 2011, 118(24):6368-6379. DOI: 10.1182/blood-2011-06-363911.

- [11] Ivashkevich A, Redon CE, Nakamura AJ, et al. Use of the γ-H2AX assay to monitor DNA damage and repair in translational cancer research[J]. Cancer Lett, 2012, 327(1-2):123-133. DOI: 10.1016/j.canlet.2011.12.025.
- [12] Kidder GW, Montgomery CW. Oxygenation of frog gastric mucosa in vitro [J]. Am J Physiol, 1975, 229 (6):1510-1513.
 DOI: 10.1152/ajplegacy.1975.229.6.1510.
- [13] 张永清,梁蓉,白庆咸,等. PAD方案治疗复发或难治性多发性 骨髓瘤[J].中华血液学杂志,2009,30(4):260-263.DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2009.04.013.
- [14] Tang H, Shu M, Dai B, et al. DNA damage response-initiated cytokine secretion in bone marrow stromal cells promotes chemoresistance of myeloma cells [J]. Leuk Lymphoma, 2018, 59(9):2220-2226. DOI: 10.1080/10428194.2017.1413188.
- [15] Luo Q, Guo H, Kuang P, et al. Sodium Fluoride Arrests Renal G2/M Phase Cell-Cycle Progression by Activating ATM-Chk2-P53/Cdc25C Signaling Pathway in Mice [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51(5):2421-2433. DOI: 10.1159/000495899.
- [16] Prendergast ÁM, Cruet-Hennequart S, Shaw G, et al. Activation of DNA damage response pathways in human mesenchymal stem cells exposed to cisplatin or γ-irradiation [J]. Cell Cycle, 2011, 10(21):3768-3777. DOI: 10.4161/cc.10.21.17972.
- [17] Mahemuti L, Chen Q, Coughlan MC, et al. Bisphenol A induces DSB- ATM- p53 signaling leading to cell cycle arrest, senescence, autophagy, stress response, and estrogen release in human fetal lung fibroblasts [J]. Arch Toxicol, 2018, 92(4):1453-1469. DOI: 10.1007/s00204-017-2150-3.
- [18] Cseh AM, Fabian Z, Quintana-Cabrera R, et al. PARP Inhibitor PJ34 Protects Mitochondria and Induces DNA-Damage Mediated Apoptosis in Combination With Cisplatin or Temozolomide in B16F10 Melanoma Cells [J]. Front Physiol, 2019, 10:538. DOI: 10.3389/fphys.2019.00538.
- [19] Qi W, Xu X, Wang M, et al. Inhibition of Wee1 sensitizes AML cells to ATR inhibitor VE- 822- induced DNA damage and apoptosis [J]. Biochem Pharmacol, 2019, 164: 273-282. DOI: 10.1016/j.bcp.2019.04.022.
- [20] Sekhar SC, Venkatesh J, Cheriyan VT, et al. A H2AX-CARP-1 Interaction Regulates Apoptosis Signaling Following DNA Damage[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(2): 221. DOI: 10.3390/ cancers11020221.
- [21] Zhou L, Xu G. Cereblon attenuates DNA damage-induced apoptosis by regulating the transcription-independent function of p53
 [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2):69. DOI: 10.1038/s41419-019-1317-7.
- [22] Gourzones-Dmitriev C, Kassambara A, Sahota S, et al. DNA repair pathways in human multiple myeloma: role in oncogenesis and potential targets for treatment [J]. Cell Cycle, 2013, 12(17):2760-2773. DOI: 10.4161/cc.25951.
- [23] Lyu YL, Kerrigan JE, Lin CP, et al. Topoisomerase IIbeta

mediated DNA double- strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane [J]. Cancer Res, 2007, 67(18):8839-8846. DOI: 10.1158/0008-5472. CAN-07-1649.

- Gildemeister OS, Sage JM, Knight KL. Cellular redistribution of Rad51 in response to DNA damage: novel role for Rad51C[J]. J Biol Chem, 2009, 284 (46):31945-31952. DOI: 10.1074/jbc. M109.024646.
- [25] Li D, Li X, Li G, et al. Alpinumisoflavone causes DNA damage in Colorectal Cancer Cells via blocking DNA repair mediated by RAD51 [J]. Life Sci, 2019, 216: 259-270. DOI: 10.1016/j.lfs. 2018.11.032.
- [26] McKenzie LD, LeClair JW, Miller KN, et al. CHD4 regulates the DNA damage response and RAD51 expression in glioblastoma [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1):4444. DOI: 10.1038/s41598-019-40327-w.
- [27] Zhao Q, Guan J, Qin Y, et al. Curcumin sensitizes lymphoma cells to DNA damage agents through regulating Rad51- dependent homologous recombination [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97:115-119. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.078.
- [28] Wu M, Wang X, McGregor N, et al. Dynamic regulation of Rad51 by E2F1 and p53 in prostate cancer cells upon druginduced DNA damage under hypoxia[J]. Mol Pharmacol, 2014, 85(6):866-876. DOI: 10.1124/mol.113.090688.
- [29] Shima H, Suzuki H, Sun J, et al. Activation of the SUMO modification system is required for the accumulation of RAD51 at

sites of DNA damage [J]. J Cell Sci, 2013, 126 (Pt 22):5284-5292. DOI: 10.1242/jcs.133744.

- [30] Langsfeld ES, Bodily JM, Laimins LA. The Deacetylase Sirtuin 1 Regulates Human Papillomavirus Replication by Modulating Histone Acetylation and Recruitment of DNA Damage Factors NBS1 and Rad51 to Viral Genomes[J]. PLoS Pathog, 2015, 11 (9):e1005181. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005181.
- [31] Park J, Long DT, Lee KY, et al. The MCM8-MCM9 complex promotes RAD51 recruitment at DNA damage sites to facilitate homologous recombination [J]. Mol Cell Biol, 2013, 33 (8): 1632-1644. DOI: 10.1128/MCB.01503-12.
- [32] Haas KT, Lee M, Esposito A, et al. Single-molecule localization microscopy reveals molecular transactions during RAD51 filament assembly at cellular DNA damage sites [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(5):2398-2416. DOI: 10.1093/nar/gkx1303.
- [33] Zhao L, Si CS, Yu Y, et al. Depletion of DNA damage binding protein 2 sensitizes triple-negative breast cancer cells to poly ADP-ribose polymerase inhibition by destabilizing Rad51 [J]. Cancer Sci, 2019, 110(11):3543-3552. DOI: 10.1111/cas.14201.
- [34] Inano S, Sato K, Katsuki Y, et al. RFWD3-Mediated Ubiquitination Promotes Timely Removal of Both RPA and RAD51 from DNA Damage Sites to Facilitate Homologous Recombination
 [J]. Mol Cell, 2017, 66 (5):622-634.e8. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.04.022.

(收稿日期:2019-11-04) (本文编辑:律琦)