

综述

结构特异性核酸内切酶 FEN1 及其与肿瘤的关系

周 婷, 高婷婷, 孙洪芳, 潘飞燕, 何凌峰, 郭志刚

(南京师范大学生命科学学院, 江苏省分子医学生物技术重点实验室, 江苏 南京 210023)

[摘要] FEN1 是一种结构特异性的多功能核酸酶, 具有 5'->3' flap 核酸内切酶(FEN)、缺口核酸内切酶(GEN)和核酸外切酶(EXO)三大酶切活力。在细胞内, FEN1 在多条 DNA 代谢途径中起着重要作用, 包括冈崎片段成熟、长片段碱基切除修复和端粒维持等。鉴于 FEN1 的复杂功能, 细胞内必定存在着一套精确调控机制, 以确保 FEN1 在合适的时间与地点发挥作用。FEN1 功能失调将导致基因组的稳定性和完整性下降, 最终诱发包括肿瘤在内的多种染色体相关的疾病。本文主要针对 FEN1 的功能调控、功能失调与肿瘤的关系做一个综述。

[关键词] FEN1, DNA 损伤修复, 肿瘤

[中图分类号] Q2; Q243 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2014)02-0007-08

FEN1's Functional Regulation and Its Link to Cancer

Zhou Ting, Gao Tingting, Sun Hongfang, Pan Feiyan, He Linfeng, Guo Zhigang

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Jiangsu Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology, Nanjing 210023, China)

Abstract: Flap endonuclease-1 (FEN1) is a kind of structure-specific multifunctional nuclease which contains 5'->3' flap endonuclease(FEN) activity, gap endonuclease(GEN) activity and exonuclease(EXO) activity. The multiple nuclease activities of FEN1 allow it to participate in numerous DNA metabolic pathways, including Okazaki fragment maturation, long-patch base excision repair and telomere maintenance. As such, FEN1 must be precisely regulated to execute each of its functions with the right timing and in a specific subcellular location. FEN1 dysfunction will lead to genomic stability and integrity descend, and eventually induce a variety of chromosomal diseases including tumor. This review mainly targets FEN1's functional regulation and its link to cancer.

Key words: FEN1, DNA repair, tumor

在 DNA 复制和修复过程中, 会产生一类特殊的 DNA 中间体, 含有 5' 分枝结构, 这个结构被称为 5'-Flap (如图 1)。该 Flap 结构的切除对于 DNA 复制和修复过程的完成, 基因组的完整性和稳定性的维持是必不可少的环节。识别这种特殊结构的酶称为 Flap Endonuclease I (FEN1)。FEN1 是一个结构特异性的金属核酸酶^[1], 与大多数人们所知的识别特定核酸序列的限制性内切酶不同, FEN1 所识别的 DNA 底物与其序列无关, 而只识别特定的 DNA 结构。除 5'->3' flap 核酸内切酶(FEN)活性外, FEN1 还具有缺口核酸内切酶(GEN)活性和核酸外切酶(EXO)活性, 其中 5'->3' flap 核酸内切酶活性是其最重要的活力。这些活性使得 FEN1 在多个 DNA 代谢途径中扮演重要角色, 包括滞后链复制中 RNA 引物的去除、长片段碱基切除修复(Long Patch Base Excision Repair, LP-BER)、维持端粒的稳定性, 以及凋亡 DNA 片段等等^[2-7]。

FEN1 的功能如何在这些不同的代谢途径中进行分配? 或者说 FEN1 参与到不同代谢途径中的调控机制是什么呢? 这些是生物科学家们长期以来想弄清楚的问题。经过深入研究, 我们发现了 FEN1 调控的几种主要方式: (1) 细胞的区室化; (2) 蛋白质相互作用(Protein-Protein Interaction, PPI); (3) 翻译后修饰(Posttranslational Modification, PTM)。例如, 我们发现在正常情况下, FEN1 主要分布在细胞核内, 并高度浓

收稿日期: 2014-02-16。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2013CB911600)、国家自然科学基金(31271449)、江苏省杰出青年基金(BK20130044)、江苏省科技厅面上项目(BK2011783)、江苏省科技厅重点项目(BK20130061)。

通讯联系人: 郭志刚, 教授, 研究方向: 肿瘤发生的分子机制研究。E-mail: 08278@njnu.edu.com

缩在核仁中.但是遭受 UV 照射后,核仁中的 FEN1 就会被磷酸化,并转移到核质^[8]. FEN1 除了定位于细胞核,也存在于线粒体中,它可以与另一种核酸酶 DNA2 一起在线粒体 DNA 复制和修复过程中加工处理 DNA 中间体结构^[9,10]. 在执行 DNA 复制和修复的过程中, FEN1 会与其他蛋白形成不同复合物. 据报道,到目前为止,已经发现 FEN1 至少会与 30 种蛋白质发生相互作用^[11]. 比如, FEN1 通过与 PCNA 结合而被招募到复制位点,去除冈崎片段上的 RNA 引物或者 LB-BER 过程中所产生的 Flap 结构. 与 PCNA 结合后, FEN1 活性大大增加. 阻断 PCNA 与 FEN1 的结合,将导致 DNA 复制和修复缺陷^[12-14]. FEN1 除了在 DNA 复制和修复中发挥作用外,在细胞凋亡进程中, FEN1 还会与 Endo G 核酸酶协同作用,对凋亡细胞的基因组 DNA 进行剪切^[15]. 翻译后修饰是我们发现的另一种重要的 FEN1 调控方式. 例如,当细胞遭受 UV 射线时, FEN1 的 C 末端会被 p300 乙酰化^[16],从而影响其活性以及与 PCNA 的结合能力. 最近,我们发现在细胞周期的 S 期后期, FEN1 还可以通过持续的翻译后修饰来介导它在细胞周期进程中的降解^[17].

由于 FEN1 在 DNA 代谢途径中的重要作用,我们推测, FEN1 功能失调可能是引起哺乳动物基因组不稳定和对肿瘤易感性的一个原因. 为了证实这一推测,美国国家医学中心贝克曼研究所的 Binghui Shen 实验室筛选出了一系列 FEN1 功能失调的突变体,其中 E160D 突变体失去了 EXO 和 GEN 活性. 转基因小鼠研究表明, E160D 突变小鼠其体内 DNA 的突变频率大大高于正常小鼠,同时发生自身免疫、慢性炎症和肿瘤的机率也大大增加^[18].

1 FEN1 的功能

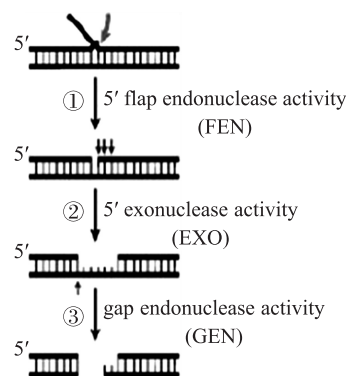
1.1 冈崎片段成熟

在哺乳动物的每个细胞周期中会处理高达 5×10^6 次冈崎片段,冈崎片段成熟对于 DNA 复制和细胞增殖是极为重要的^[19]. 在真核细胞中, DNA 复制在每条染色体上的多个起点启动, DNA 聚合酶、解螺旋酶被招募到复制起点,形成一个 DNA 复制叉. 当复制叉沿着 DNA 移动时,两条新链同时进行复制合成. 以复制叉向前移动方向为基准, 3'->5' 走向的模板链为前导链, 与其互补的新链能以 5'->3' 方向连续合成; 另一条 5'->3' 走向的模板链即为滞后链, 与它互补的新链也是按 5'->3' 方向合成, 但是与复制叉移动方向正好相反, 所以随着复制叉的移动, 会形成许多不连续的冈崎片段, 这些冈崎片段必须经过有效地处理, 成熟之后方由连接酶催化它们连接形成完整的 DNA 双链.

DNA 聚合酶只能催化已有链的延长反应, 每一个冈崎片段的合成其实需要先在 DNA 模板上合成一段 8 nt ~ 10 nt 的 RNA 引物, 然后 DNA 聚合酶从 RNA 引物的 3'-OH 端开始合成新的 DNA 链, 所以实际上未成熟的冈崎片段是一个 RNA 与 DNA 的杂合体. 在冈崎片段连接之前, 需要 FEN1 将 RNA 引物切除, 才能形成成熟的冈崎片段, 然后由 DNA 连接酶连接. 在冈崎片段的成熟过程中, FEN1 对于 RNA 引物的切除起着不可缺少的作用^[20].

1.2 长片段碱基切除修复

DNA 碱基切除修复途径负责修复单个损伤碱基, 根据修复过程中延伸片段长度, 分为短片段碱基切除修复 (Short Patch Base Excision Repair, SP-BER) 和长片段碱基切除修复 (Long Patch Base Excision Repair, LP-BER) (图 2). 在长片段碱基切除修复中, DNA 聚合酶 β (DNA polymerase β , pol β) 以切口处上游 3'-OH 为引物延伸, 将下游的 5'-DNA 链置换, 形成一个 5'-flap 结构, 该 flap 由 FEN1 负责切除. Flap 切除后留下的切口, 由 DNA 连接酶 I (Ligase I) 连接以完成整个修复过程 (图 2)^[21]. 早在 1997 年时, 就有人用体外实验发现, 如果在修复体系中缺少 FEN1, 那么 LP-BER 将不能完成, 从而提示了 FEN1 在 LP-BER 中的重要作用^[22].



箭头所指处为 FEN1 的作用位点. ①为 FEN 活性, ②为 EXO 活性, ③为 GEN 活性

图 1 FEN1 的 3 种不同底物及活性

Fig. 1 Three different substrates and activities of FEN1

1.3 FEN1 的其他功能

FEN 活力是 FEN1 最主要的活力,在上述 2 个功能中,FEN1 主要发挥作用的就是它的 FEN 活力,但是它的另外 2 个活力:EXO 和 GEN 活力对于 DNA 其他代谢途径也很重要,包括溶解 TNR 序列和凋亡 DNA 片段的加工处理等等^[3]. 最近研究发现,在酵母和人类细胞中,FEN1 功能失调可能会通过危害端粒和基因组的稳定性来促进正常细胞转化成肿瘤细胞^[5,23,24].

2 FEN1 的调控机制

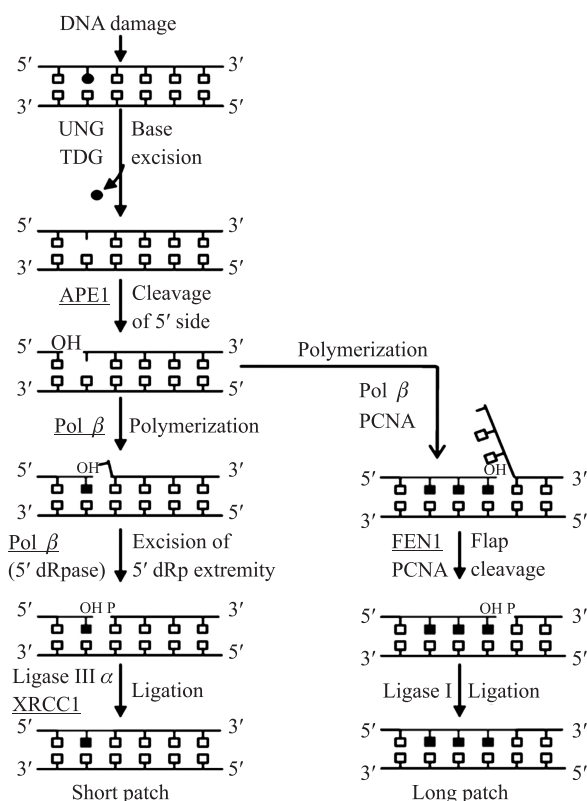
2.1 细胞定位

细胞定位区室化是调控 FEN1 功能的一个重要方式. FEN1 所参与的 DNA 代谢途径通常发生在细胞内的不同亚细胞器或细胞的不同区位,这就要求 FEN1 的细胞定位能根据需要发生变化. 用 FEN1 抗体对细胞进行免疫荧光检测发现,FEN1 主要分布在细胞核内,尤其是大量累积在核仁中. FEN1 的 C 端含有 2 个核定位序列 (Nucleic Localization Sequence, NLS),引导 FEN1 进入细胞核内. 值得注意的是,作为一种核酸酶,在核内大量存在的 FEN1 对基因组 DNA 是潜在的威胁. 为了避免 FEN1 对基因组错误剪切, FEN1 高度浓缩在核仁区域. 当细胞核内 DNA 受到损伤时,FEN1 则由核仁中释放,转移到核质内的 DNA 损伤修复位点. 磷酸化则是驱动 FEN1 由核仁向核质转移的关键因素.

此外,FEN1 也在线粒体中被发现 (图 3)^[9,10]. 活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 主要在线粒体中产生,mtDNA 很容易受到氧化损伤,这种损伤积累与年龄以及某些年龄密切相关疾病正相关. mtDNA 氧化损伤研究显示这里的损伤大部分发生在脱氧核苷酸部分,导致形成脱氧核苷酸骨架产物,被 LP-BER 优先处理. 最近,我们已经证明 FEN1 或 DNA2 核酸酶功能失调,会损害线粒体提取物处理模板底物 (RNA 引物移除中的中间体结构) 的能力,表明 FEN1 在 mtDNA 复制中也起作用,但它进入线粒体的具体分子机制还不清楚.

2.2 蛋白质-蛋白质相互结合

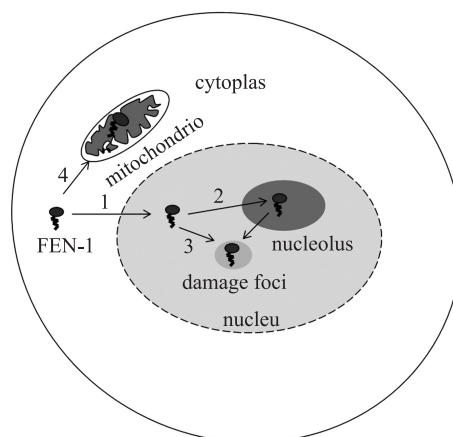
蛋白质间的相互结合对于引导 FEN1 参与到不同的代谢途径是至关重要的. Li Zheng 等对 FEN1 的蛋白质-蛋白质结合 (Protein-Protein Interactions, PPI) 网做了一个广泛的研究,最终鉴定出 34 个与 FEN1 相互结合的蛋白伴侣^[25]. 根据这些伴侣蛋白对 FEN1 功能的调控作用,将其分为 4 个功能组 (图 4)^[24,26-28].



BER 起始于糖苷水解酶识别损伤碱基并切除,产生一个无碱基位点称 AP 位点,然后由 APE1 酶在 AP 位点的 5'端作用下产生 3'-OH 和 5'-dRP. 对于 SP-BER,由 pol β 切除 5'-dRP,并在 3'-OH 端延伸一个核苷酸,最后由 Ligase III α 连接切口,完成 SP-BER 修复过程. 如果是 LP-BER, pol β 会延伸多个核苷酸,产生一个被顶起的长的 flap 结构,这个结构由 FEN1 来识别并切除. 最后由 Ligase I 连接切口,完成 LP-BER 过程

图 2 碱基切除修复过程

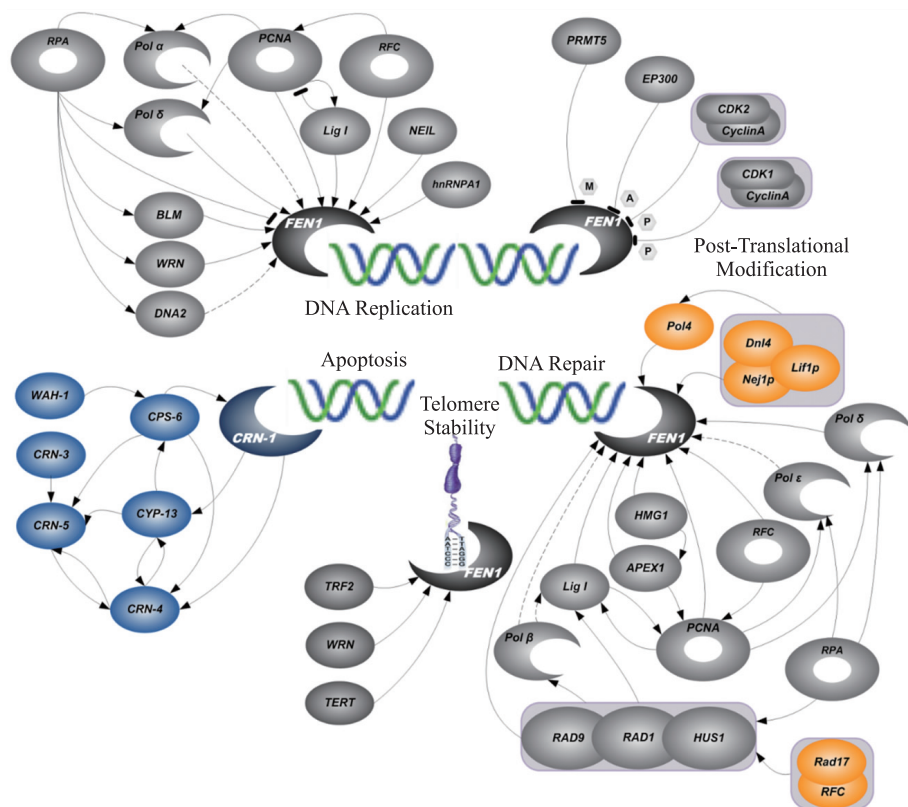
Fig. 2 Base excision repair pathway (BER)



FEN1 在哺乳动物细胞中定位于 4 个不同的亚细胞区室: 细胞质,线粒体,细胞核间质和核仁. 在应对细胞周期转变和 DNA 损伤时,FEN1 通过 4 种不同的途径动态地转移

图 3 FEN1 的动态亚细胞定位

Fig. 3 Dynamic subcellular localization of FEN1



与 FEN1 反应的蛋白质,根据它们的生物化学功能和所参与的代谢途径被分为 5 个功能组:DNA 复制, DNA 修复, 凋亡 DNA 片段, 翻译后修饰以及支持端粒的稳定性. FEN1 的蛋白质-蛋白质反应发生在哺乳动物中的用灰色标记, 发生在酵母中的用黄色标记, 发生在线虫中的用蓝色标记

图 4 蛋白质相互作用调节控制 FEN1 进入不同的 DNA 代谢途径

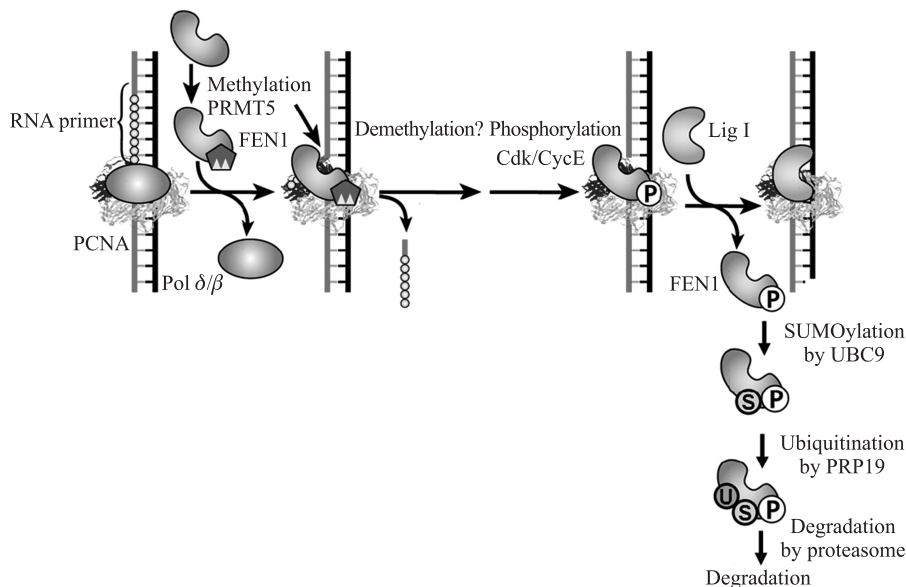
Fig. 4 Protein-protein interactions mediate FEN1's actions in different DNA metabolic pathways

第一类伴侣是支持 FEN1 参与 DNA 复制中移除 RNA 引物的蛋白. 如 PCNA, pol α/ϵ , PRA, hnRNP A1 以及 DNA Ligase I 等等, FEN1 会与它们有序反应, 正确处理冈崎片段; 与 FEN1 反应的第二类伴侣是 DNA 修复类蛋白质, LP-BER 是真核细胞重要的 DNA 损伤修复系统之一, 而 FEN1 在 LP-BER 中的作用会被一些重要的 BER 成分如 APE1, pol β , Lig I 和 PCNA 的生化反应所协调; 与 FEN1 反应的第三类伴侣是凋亡类蛋白质, CRN-1 会联合 CRS-6 (Endo. G) 在凋亡过程中逐步调节 DNA 片段降解; 与 FEN1 反应的第四类伴侣是翻译后修饰 FEN1 的蛋白质如 p300, Cdk1-CyclinA 和 PRMT5. 最新研究表明, FEN1 还会与 TRF2、WRN、TERT 等蛋白发生相互作用, 维持端粒的稳定性.

2.3 翻译后修饰

已有的研究表明, FEN1 的翻译后修饰形式包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、sumo 化等等^[17,29,30], 这些修饰调节着 FEN1 在特定的时间执行特定的功能. 如前所述, FEN1 发挥作用的一个桥梁就是 PCNA. FEN1 通过与 PCNA 的结合到达 DNA 损伤修复或复制位点. 在 FEN1 执行完功能后, FEN1 与 PCNA 解离, 进入下一个修复或复制位点. 这里的一个关键问题是, FEN1 与 PCNA 的结合与解离是如何精确控制的呢? 我们最近的研究揭开了这个答案: FEN1 甲基化和磷酸化协调作用控制 FEN1 与 PCNA 的结合与解离. 以 DNA 复制为例, 在细胞刚进入 S 期的时候, FEN1 被甲基化, 甲基化的 FEN1 通过与 PCNA 结合进入到 DNA 复制叉上. 一旦 FEN1 作用结束, FEN1 被磷酸化, 磷酸化的 FEN1 失去与 PCNA 的结合能力, 从而脱离 DNA 复制叉, 并为连接酶的进入提供空间 (图 5). 这为 FEN1 与 PCNA 的结合与解离的调控提供了一个合理的解释^[17].

当 FEN1 从 DNA 底物上解离下来后, 它的命运又将如何呢? 细胞核中如果存在大量的 FEN1 的话, 对 DNA 无疑就是一个巨大隐患, 因此我们推测这部份 FEN1 可能是被降解. 我们近期的实验证实了这一点, 发现磷酸化修饰的 FEN1 从 DNA 解离下来后, 会刺激它发生另外一种翻译后修饰即 sumo 化, 而这种 sumo



FEN1 首先被甲基化,甲基化的 FEN1 与 PCNA 结合.当执行完功能后,FEN1 被磷酸化,磷酸化的 FEN1 从 PCNA 上脱落,并为 Ligase I 让出空间.磷酸化的 FEN1 随后被 sumo 化和泛素化,最后通过蛋白酶体途径降解

图 5 翻译后修饰对 FEN1 的调控机制

Fig. 5 FEN1 regulation by posttranslational modifications

化修饰又会刺激它的泛素化修饰,并最终通过蛋白酶体途径降解(图 5)^[17]. 另外,FEN1 还可以被乙酰化翻译后修饰. Hasan 等在 HeLa 细胞中观察到 FEN1 的乙酰化修饰形式会被 UV 处理所强化^[16]. Hubscher 等猜测 FEN1 乙酰化作用是为了避免 FEN1 过早地处理冈崎片段.

以上 3 种调控方式通常是相互交叉的,例如,磷酸化(翻译后修饰调控)驱动 FEN1 由核仁向核质转移(细胞定位/区室化调控),同时磷酸化又影响 FEN1 与 PCNA 的结合(蛋白-蛋白相互作用). 另一方面,蛋白-蛋白相互作用(FEN1-PCNA 结合)又控制 FEN1 进入 DNA 损伤修复或复制位点(细胞定位/区室化调控). 当然随着研究的深入,有可能发现新的调控方式,这也是我们目前的一个研究内容.

3 FEN1 功能失调与肿瘤的关系

肿瘤的发生和发展可以看成进化进程中的一个缩影,它的一个显著标志就是许多畸形基因积累,例如基因点突变,结构转移,染色体缺失,微卫星扩张与收缩等等^[31]. 从正常细胞到恶性肿瘤细胞的程序化进程中,这些畸变会不断增加. 在肿瘤的生长过程中,这些畸变还会在杂交肿瘤细胞群体中继续积累,从而导致基因损伤积累和基因组不稳定.

FEN1 通过多种代谢行为参与控制基因组稳定性,提示 FEN1 基因如果发生突变将导致许多重要调控功能失调,因而进一步促进肿瘤的发生. 已有证据显示 FEN1 的功能失调会引起基因组不稳定和肿瘤易发,最近许多研究就是针对 FEN1 在阻止肿瘤形成中的重要性来展开^[32,33]. 在转基因小鼠中,FEN1 的纯合子敲除是胚胎致死的,这与 FEN1 敲除的鼠胚胎被阻止在 S 期的现象是一致的. FEN1 杂合子敲除鼠可以存活,却易发肿瘤等疾病. 这些结果表明 FEN1 是一个肿瘤抑制基因.

在大多数的肿瘤中基因改变是来源于体细胞的突变,例如 BRCA1/2 的遗传突变会导致对乳腺癌、结直肠癌的易感性. 为了研究 FEN1 体细胞突变的病理学意义,Li Zheng 等建立了第一个 FEN1 E160D 突变的鼠系,该突变干扰 FEN1 结合到负责底物结合的镁离子上,因而失去 EXO 和 GEN 活力但保留 FEN 活力,被用作人类肿瘤中鉴定 FEN1 突变的模型^[18,34]. FEN1 E160D 突变鼠系的自发突变频率增高,在凋亡细胞中积累没有完全消化的 DNA 片段^[18,35]. 具体分子机制是在 FEN1 核酸酶活力上的缺陷会降低凋亡细胞中 DNA 片段的凋亡,同时产生 DNA 的自身抗体并导致自身免疫相关的慢性炎症,这可能是通过激活 NF-kB 促进肿瘤的发展进程. 另外 FEN1 E160D 突变鼠模型对烟诱导的肿瘤发生更加敏感,还可以用来研究肺中慢性炎症和设计新的肿瘤治疗方法等等. 以上这些发现进一步支持了这样一个观点:即 FEN1 对于维持基因组稳定性是非常重要的,因此 FEN1 可以被认为是一个肿瘤抑制基因.

然而 Li Zheng 和其他实验室的研究表明, FEN1 可能在支持肿瘤生长进程中也是重要的: 在所有增殖的组织中 FEN1 蛋白都可以被检测到, 但是在休眠细胞中 FEN1 的表达处于低水平, 而培养的肺癌细胞中 FEN1 的表达水平增加, 且表达水平与肿瘤恶性程度相关^[36-39]. 与 FEN1 在肿瘤组织中过表达相一致的是, 发现几个乳腺癌细胞系在 FEN1 的基因表达调控区域的 CpG 岛甲基化水平降低^[40]. 但这种 FEN1 在启动子区域的遗传变化是否具有普遍性而不仅仅是乳腺癌中发生尚有待研究. 因为 FEN1 在 DNA 复制中起着重要作用, 我们认为高水平的 FEN1 对于支持肿瘤细胞的过度增殖是必须的. 抑制肿瘤细胞中的 FEN1 活性, 将可能是一种全新的肿瘤治疗策略. 我们和国际上的一些实验室, 正在开展以 FEN1 为药物靶标的抗肿瘤研究, 并希望研制出新的肿瘤临床药物^[41-44].

4 总结与展望

研究表明, FEN1 作为一个多功能的核酸酶参与多种不同的 DNA 代谢途径, 在维持基因组稳定性等方面具有重要生物学意义. FEN1 和肿瘤的关系具有双重性, 一方面高表达的 FEN1 对维持某些类型肿瘤的高速生长很重要; 另一方面, FEN1 突变(或 FEN1 低水平表达)将导致基因组不稳定, 进而促进肿瘤发生. 因此, 细胞内的 FEN1 表达水平的平衡必须有着严格的调控机制.

尽管 FEN1 研究已经取得了不少重要进展, 但仍然有许多问题有待阐述. 例如 FEN1 如何动态地在不同的亚细胞结构域之间转移, 并选择性执行各种特定功能呢? FEN1 被招募到复制和修复位点切开磷酸二酯键的机制是什么呢? FEN1 是如何去甲基化的? FEN1 是如何避免持续地磷酸化而不能与 PCNA 反应呢? FEN1 突变会消除 FEN1 的翻译后修饰、细胞定位或者某种特定的蛋白质-蛋白质相互作用引起肿瘤或其他疾病吗? 未来的更多研究将填补关于这些知识的空白.

[参考文献]

- [1] Balakrishnan L, Bambara R A. Flap endonuclease 1[J]. Annual Review of Biochemistry, 2013, 82(9): 1-20.
- [2] Lieber M R. The FEN-1 family of structure-specific nucleases in eukaryotic DNA replication, recombination and repair[J]. Bioessays, 1997, 19(3): 233-240.
- [3] Zheng L, Zhou M, Chai Q, et al. Novel function of the flap endonuclease 1 complex in processing stalled DNA replication forks[J]. EMBO Reports, 2004, 6(1): 83-89.
- [4] Saharia A, Teasley D C, Duxin J P, et al. FEN1 ensures telomere stability by facilitating replication fork re-initiation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(35): 27 057-27 066.
- [5] Saharia A, Stewart S. FEN1 contributes to telomere stability in ALT-positive tumor cells[J]. Oncogene, 2009, 28(8): 1 162-1 167.
- [6] Qiu J, Li X, Frank G, et al. Cell cycle-dependent and DNA damage-inducible nuclear localization of FEN-1 nuclease is consistent with its dual functions in DNA replication and repair[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(7): 4 901-4 908.
- [7] Shibata Y, Nakamura T. Defective flap endonuclease 1 activity in mammalian cells is associated with impaired DNA repair and prolonged S phase delay[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(1): 746-754.
- [8] Guo Z, Qian L, Liu R, et al. Nucleolar localization and dynamic roles of flap endonuclease 1 in ribosomal DNA replication and damage repair[J]. Molecular and Cellular Biology, 2008, 28(13): 4 310-4 319.
- [9] Kalifa L, Beutner G, Phadnis N, et al. Evidence for a role of FEN1 in maintaining mitochondrial DNA integrity[J]. DNA Repair, 2009, 8(10): 1 242-1 249.
- [10] Liu P, Qian L, Sung J S, et al. Removal of oxidative DNA damage via FEN1-dependent long-patch base excision repair in human cell mitochondria[J]. Molecular and Cellular Biology, 2008, 28(16): 4 975-4 987.
- [11] Shen B, Singh P, Liu R, et al. Multiple but dissectible functions of FEN-1 nucleases in nucleic acid processing, genome stability and diseases[J]. Bioessays, 2005, 27(7): 717-729.
- [12] Zheng L, Dai H, Qiu J, et al. Disruption of the FEN-1/PCNA interaction results in DNA replication defects, pulmonary hypoplasia, pancytopenia, and newborn lethality in mice[J]. Molecular and Cellular Biology, 2007, 27(8): 3 176-3 186.
- [13] Chen U, Chen S, Saha P, et al. p21Cip1/Waf1 disrupts the recruitment of human FEN1 by proliferating-cell nuclear antigen

- into the DNA replication complex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,1996,93(21):11 597–11 602.
- [14] Li X,Li J,Harrington J,et al. Lagging strand DNA synthesis at the eukaryotic replication fork involves binding and stimulation of FEN-1 by proliferating cell nuclear antigen[J]. *Journal of Biological Chemistry*,1995,270(38):22 109–22 112.
- [15] Parrish J Z, Yang C, Shen B, et al. CRN-1, a *Caenorhabditis elegans* FEN-1 homologue, cooperates with CPS-6/EndoG to promote apoptotic DNA degradation[J]. *Science Signaling*,2003,22(13):3 451.
- [16] Hasan S,Stucki M,Hassa P O,et al. Regulation of human flap endonuclease-1 activity by acetylation through the transcriptional coactivator p300[J]. *Molecular Cell*,2001,7(6):1 221–1 231.
- [17] Guo Z,Kanjanapangka J,Liu N,et al. Sequential posttranslational modifications program FEN1 degradation during cell-cycle progression[J]. *Molecular Cell*,2012,47(3):444–456.
- [18] Zheng L, Dai H, Zhou M, et al. FEN1 mutations result in autoimmunity, chronic inflammation and cancers [J]. *Nature Medicine*,2007,13(7):812–819.
- [19] Zheng L, Shen B. Okazaki fragment maturation: nucleases take centre stage[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*,2011,3(1):23–30.
- [20] Balakrishnan L,Gloor J W, Bambara R A. Reconstitution of eukaryotic lagging strand DNA replication[J]. *Methods*,2010,51(3):347–357.
- [21] Balakrishnan L,Brandt P D,Lindsey-Boltz L A,et al. Long patch base excision repair proceeds via coordinated stimulation of the multienzyme DNA repair complex[J]. *Journal of Biological Chemistry*,2009,284(22):15 158–15 172.
- [22] Klungland A, Lindahl T. Second pathway for completion of human DNA base excision-repair: reconstitution with purified proteins and requirement for DNase IV (FEN1) [J]. *The EMBO Journal*,1997,16(11):3 341–3 348.
- [23] Sampathi S,Bhusari A,Shen B,et al. Human flap endonuclease I is in complex with telomerase and is required for telomerase-mediated telomere maintenance[J]. *Journal of Biological Chemistry*,2009,284(6):3 682–3 690.
- [24] Parenteau J,Wellinger R J. Accumulation of single-stranded DNA and destabilization of telomeric repeats in yeast mutant strains carrying a deletion of RAD27[J]. *Molecular and Cellular Biology*,1999,19(6):4 143–4 152.
- [25] Zheng L,Jia J,Finger L D,et al. Functional regulation of FEN1 nuclease and its link to cancer[J]. *Nucleic Acids Research*,2011,39(3):781–794.
- [26] Dianova I I,Bohr V A,Dianov G L. Interaction of human AP endonuclease 1 with flap endonuclease 1 and proliferating cell nuclear antigen involved in long-patch base excision repair[J]. *Biochemistry*,2001,40(42):12 639–12 644.
- [27] Gary R,Kim K,Cornelius H L,et al. Proliferating cell nuclear antigen facilitates excision in long-patch base excision repair[J]. *Journal of Biological Chemistry*,1999,274(7):4 354–4 363.
- [28] Pascal J M,O'Brien P J,Tomkinson A E,et al. Human DNA ligase I completely encircles and partially unwinds nicked DNA[J]. *Nature*,2004,432(7 016):473–478.
- [29] Guo Z,Zheng L,Xu H,et al. Methylation of FEN1 suppresses nearby phosphorylation and facilitates PCNA binding[J]. *Nature Chemical Biology*,2010,6(10):766–773.
- [30] Friedrich-Heineken E, Henneke G, Ferrari E, et al. The acetylatable lysines of human FEN1 are important for endo-and exonuclease activities[J]. *Journal of Molecular Biology*,2003,328(1):73–84.
- [31] Merlo L M,Pepper J W,Reid B J,et al. Cancer as an evolutionary and ecological process[J]. *Nature Reviews Cancer*,2006,6(12):924–935.
- [32] Henneke G, Friedrich-Heineken E, Hübscher U. Flap endonuclease 1: a novel tumour suppresser protein [J]. *Trends in Biochemical Sciences*,2003,28(7):384–390.
- [33] Kucherlapati M,Yang K,Kuraguchi M,et al. Haploinsufficiency of Flap endonuclease(FEN1)leads to rapid tumor progression[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,2002,99(15):9 924–9 929.
- [34] Shen B,Nolan J P,Sklar L A,et al. Functional analysis of point mutations in human flap endonuclease-1 active site[J]. *Nucleic Acids Research*,1997,25(16):3 332–3 338.
- [35] Larsen E,Kleppa L,Meza T J,et al. Early-onset lymphoma and extensive embryonic apoptosis in two domain-specific FEN1 mice mutants[J]. *Cancer Research*,2008,68(12):4 571–4 579.
- [36] Nikolova T,Christmann M,Kaina B. FEN1 is overexpressed in testis, lung and brain tumors[J]. *Anticancer Research*,2009,29(7):2 453–2 459.
- [37] Kim I S,Lee M Y,Lee I H,et al. Gene expression of flap endonuclease-1 during cell proliferation and differentiation[J]. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Molecular Cell Research*,2000,1 496(2):333–340.

- [38] Sato M, Girard L, Sekine I, et al. Increased expression and no mutation of the Flap endonuclease(FEN1) gene in human lung cancer[J]. *Oncogene*, 2003, 22(46): 7 243–7 246.
- [39] Lam J S, Seligson D B, Yu H, et al. Flap endonuclease 1 is overexpressed in prostate cancer and is associated with a high Gleason score[J]. *BJU International*, 2006, 98(2): 445–451.
- [40] Singh P, Yang M, Dai H, et al. Overexpression and hypomethylation of flap endonuclease 1 gene in breast and other cancers[J]. *Molecular Cancer Research*, 2008, 6(11): 1 710–1 717.
- [41] Tumey L N, Huck B, Gleason E, et al. The identification and optimization of 2,4-diketobutyric acids as flap endonuclease 1 inhibitors[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14(19): 4 915–4 918.
- [42] McManus K J, Barrett I J, Nouhi Y, et al. Specific synthetic lethal killing of RAD54B-deficient human colorectal cancer cells by FEN1 silencing[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(9): 3 276–3 281.
- [43] Panda H, Jaiswal A S, Corsino P E, et al. Amino acid Asp181 of 5'-flap endonuclease 1 is a useful target for chemotherapeutic development[J]. *Biochemistry*, 2009, 48(42): 9 952–9 958.
- [44] Tumey L N, Bom D, Huck B, et al. The identification and optimization of a N-hydroxy urea series of flap endonuclease 1 inhibitors[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2005, 15(2): 277–281.

[责任编辑:黄 敏]