

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202221198

· 论著 ·

范可尼贫血互补群 B 对丝裂霉素 C 诱导的 293T 细胞 DNA 损伤修复的研究

岑璞^{1,2,3}, 陈斌¹, 江晨艳¹, 柴永川¹, 蒋刘^{1,2,3}, 石润杰^{1,2,3}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200011; 2. 上海交通大学医学院耳科学研究所, 上海 200215; 3. 上海市耳鼻疾病转化医学重点实验室, 上海 200215)

摘要: **目的** 研究丝裂霉素 C 诱导的 DNA 损伤的浓度和时间对 293T 细胞中范可尼贫血互补群 B (FANCB), DNA 损伤因子 gammaH2AX, 修复因子 RAD51 表达量的影响, 探索 FANCB 在 DNA 损伤中的作用机理。**方法** 利用人 293T 细胞系作为研究载体, 通过 Western blot 和 qRT-PCR 技术定量分析 FANCB, gammaH2AX, RAD51 在 25 μM 丝裂霉素 C 浓度作用下, 在 1、3、5 h 不同作用时间点评估 FANCB, gammaH2AX, RAD51 蛋白和基因表达水平差异; 分析细胞在 25、35、45、60 μM 丝裂霉素 C 浓度下作用 3 h 后 gammaH2AX 蛋白表达水平; siRNA 敲低 FANCB 表达后 FANCB、gammaH2AX 和 RAD51 蛋白和基因表达检测。**结果** 相比对照组, 在蛋白水平, gammaH2AX 表达在 1、3 h 对比 0 h 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 5 h 对比 0 h 差异无统计学意义 ($P = 0.223$); FANCB 表达在 1、3、5 h 对比 0 h 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$); RAD51 表达在 1、3、5 h 对比 0 h 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。在基因水平, FANCB 在 1、3、5 h 和 RAD51 在 1、3、5 h 相比对照组均具有统计学意义 ($P < 0.05$); gammaH2AX 蛋白表达水平与 MMC 浓度无明显关系。相比对照组, siRNA 敲低组 FANCB 蛋白和基因表达下降, gammaH2AX 蛋白表达上升, RAD51 蛋白和基因表达下降。**结论** 在丝裂霉素 C 造成的 293T DNA 损伤模型中, FANCB 在同源重组 DNA 修复途径中对 DNA 损伤具有潜在的调控功能。

关键词: 小耳畸形; DNA 损伤, 修复; 范可尼贫血互补群 B; GammaH2AX; RAD51; 丝裂霉素 C
中图分类号: R764

Study on the mechanism of Fanconi anemia complementary group B molecule in repair of mitomycin C induced DNA damage in 293T cells

CEN Pu^{1,2,3}, CHEN Bin¹, JIANG Chenyan¹, CHAI Yongchuan¹, JIANG Yi^{1,2,3}, SHI Runjie^{1,2,3}

(1. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. Ear Institute, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200215, China; 3. Shanghai Key Laboratory of Translational Medicine on Ear and Nose Diseases, Shanghai 200215, China)

Abstract: **Objective** To study the mechanism of Fanconi anemia complementary group B (FANCB) in repair of DNA damage via detecting the expressions of Fanconi anemia complementary group B (FANCB), gammaH2AX and RAD51 in 293T cells with mitomycin C (MMC)-induced DNA damage. **Methods** Human 293T cell line was used as the study object. Compared with normal control group (NC), FANCB, gammaH2AX and RAD51 were detected by western blot and qRT-PCR, with 25 μM MMC treated for 1, 3, 5 h. Expressions of gammaH2AX protein in 293T treated with 25 μM, 35 μM, 45 μM and 60 μM MMC for 3 h were analyzed. After knockdown with siRNA, FANCB, gammaH2AX and RAD51 protein and gene expressions were detected. **Results** Compared with NC, the expression of gammaH2AX protein was increased in 1h and 3h (both $P < 0.05$), and was insignificant different in 5 h ($P = 0.223$). The expressions of FANCB and RAD51 at both protein and gene levels got increased in 1, 3, 5 h (all $P < 0.05$). The expression level of

GammaH2AX protein had no significant relationship with the concentration of MMC. Compared with NC, the expressions of FANCB and RAD51 were significantly decreased and those of gammaH2AX got increased at protein and gene levels (all $P < 0.05$) in the siRNA knockdown group. **Conclusion** MMC can cause DNA damage, and FANCB may potentially regulate homologous recombination in 293T cells.

Keywords: Microtia; DNA damage, repair; Fanconi anemia complementary group B; GammaH2AX; RAD51; Mitomycin C

范可尼贫血综合征 (Fanconi anemia, FA) 是一种罕见的遗传和临床表型异质性的隐性遗传疾病,特征为进展性的全血细胞减少症伴骨髓造血障碍、多发性先天畸形以及易发展为血细胞和实体瘤^[1]。一般范可尼综合征患者的首发症状是各种发育异常。最常见的为肢体末端畸形,约有 20% 的患者患有耳畸形,伴或不伴听力损失,畸形可累及外中内耳,外中耳累及率更高,约为 90%^[2]。从病因学上来说,FA 是一类基因异质性遗传病,目前超过 90% 的患者被发现具有 *FANCA*、*FANCC*、*FANCG* 或 *FANCD2* 基因的突变,加上其余分子突变有至少 22 种基因突变均参与 DNA 损伤修复机制过程, DNA 修复失效,也被认为是范可尼贫血症的患者罹患癌症风险的来源^[3]。FA 通路中已知 8 种因子会参与构成范可尼核心复合体,这是调控和启动下游 DNA 修复过程的重要中间体^[4-6]。大多数参与构成范可尼核心复合体的上游基因突变被认为和 FA 相关先天性畸形及典型的 FA 症状有关,而下游基因突变^[7-8]。

范可尼贫血互补群 B (Fanconi anemia complementation group B, FANCB) 定位于 Xp 22.2, 是致病性范可尼贫血基因中唯一一个 X 连锁遗传的基因,约占范可尼贫血患者的 1%^[2]。FANCB 是构成范可尼核心复合体的关键元件之一,目前研究表明它与范可尼核心复合体相关蛋白 100 (Fanconi anemia associated protein 100, FAAP100) 共同使 2 个范可尼贫血互补群 L (FANCL) 分子形成稳定的二聚体,从而促进 FANCL 的泛素化连接酶活性,这对于范可尼互补群 D2 (FANCD2) 和 I (FANCI) 的单泛素化,及下游的 DNA 同源重组修复机制的启动和定位是十分重要的^[6]。*FANCB* 的突变被报道会导致各种严重先天异常,但由于其十分罕见,国内外对其基因功能的研究较为缺乏。

我们在本研究中拟应用 FANCB 表达阳性的 293T 工具细胞来研究在 MMC 诱导下,不同浓度、时间点和 *FANCB* 基因敲低情况下 DNA 损伤因子 gammaH2AX,修复因子 RAD51 的分子表达变化,从而探索 FANCB 在 293T 细胞中参与 DNA 损伤修复

可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人 293T 细胞系购自中国科学院细胞库;DMEM 高糖培养基、胎牛血清 (FBS) 购自美国 Gibco 公司;青霉素、链霉素、脱脂奶粉购自中国索莱宝公司;无血清细胞冻存液购自中国新赛美生物科技有限公司;0.25% 胰蛋白酶、磷酸盐缓冲液 (PBS)、RIPA 裂解液购自上海普平生物有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒购自兰杰柯科技有限公司;PVDF 蛋白转印膜、ECL 增强化学发光液购自美国 Millipore 公司;兔抗人 FANCB 抗体 (ab243941)、兔抗人 gammaH2AX 抗体 (ab81299)、兔抗人 RAD51 抗体 (ab133534)、兔抗人 β -actin 抗体 (ab82226) 购自美国 Abcam 公司;辣根过氧化物酶标记驴抗兔二抗购自中国碧云天公司;TRIzol 试剂、反转录试剂盒、TB-green PCR 试剂盒购自日本 Takara 公司;丝裂霉素 C 购自美国 MCE 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及传代 细胞于 37 °C 恒温水浴锅中迅速摇晃复苏,1 500 r/min 离心 5 min 后弃去上清冻存液用 37 °C 预热 PBS 清洗 1 遍,再次离心后弃去上清,用含 10% FBS,1% 青霉素、链霉素的高糖 DMEM 培养基培养于 5% CO₂、37 °C 培养箱中,2 ~ 3 d 观察换液。观察细胞处于生长对数期,汇合度约为 80% 的时候弃去培养基,用 PBS 清洗 1 遍,加入 0.25% 胰蛋白酶消化 1:2 传代,细胞复苏后传至第 2 代供后续实验使用。

1.2.2 细胞加药处理及 siRNA 转染 传至第 2 代的细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化下来,接种于 6 孔板中,培养过夜至细胞贴壁,弃去培养基,设置空白组、加药 1 h、加药 3 h、加药 5 h 组,每组设 2 个复孔,空白组中添加完全培养基 2 mL,加药组中丝裂霉素 C 浓度参考既往研究^[7-9],按实验条件各添加含不同浓度丝裂霉素 C 的完全培养基 2 mL,放置于 37 °C 培养箱培养,分别在 0、1、3、5 h 收获细胞或 3 h DNA

损伤造模后收获细胞用于后续实验。

细胞转染:细胞预先接种于 6 孔板中,使用 FANCB siRNA-1 (序列: GTTGCACTGTACTGCTA-CA)、siRNA-2 (序列: GTGCCAGCTTCCATTTGGA) 和 Lipo3000 转染试剂 (Invitrogen 公司),按照 Invitrogen 公司说明书步骤转染细胞 48 h 后收获细胞用于后续实验。

1.2.3 Western blot 收获的细胞加入 500 μ L 预冷 RIPA 裂解液在 4 $^{\circ}$ C 充分裂解细胞 30 min,4 $^{\circ}$ C 10 000 rpm,15 min 离心,取上清液使用 BCA 蛋白定量试剂盒测量蛋白浓度并用 PBS 配平各组总蛋白浓度,加入与蛋白等体积的 2 \times loading Buffer 后在 100 $^{\circ}$ C 水浴锅中加热蛋白样品 20 min。置于冰上准备上样或是保存于 -20 $^{\circ}$ C。上样于 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 100 V 恒压分离出目的蛋白条带,并于 100 V,2 h 条件下转印至 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 1 h,一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, PBST 洗膜 4 次,每次 15 min,二抗室温孵育 1 h, PBST 洗膜 4 次,每次 15 min。最后使用 ECL 发光液孵育 5 min 后曝光显影,Image J 软件分析条带灰度值。

1.2.4 qRT-PCR 利用 TRIzol 试剂 (Takara) 提取空白组和加药各时间组细胞总 RNA。细胞弃去培养基,用预冷的 PBS 洗 2 遍后加入 1 mL TRIzol,冰上反复吹打以充分裂解细胞,将混合液吸至 1.5 mL EP 管中;加入 200 μ L 氯仿,振荡混匀成乳白色混合液;12 000 rpm,4 $^{\circ}$ C 离心 15 min;离心后液体分为 3 层,取含 RNA 的上清层置入新 EP 管,切勿触及中间白色蛋白层;向上清液中加入等体积的预冷异丙醇,上下颠倒 EP 管使之混匀,室温静置 10 min;12 000 rpm,4 $^{\circ}$ C 离心 10 min;离心后一般可见管底白色的 RNA 沉淀,小心弃去上清,加入 75% 乙醇 (无 RNA 酶水配制) 1 mL,轻轻晃动清洗管壁;12 000 rpm,4 $^{\circ}$ C 离心 15 min;弃上清,打开管盖,自然室温下风干。之后采用反转录试剂盒按照说明书步骤反转录得到 cDNA。实时荧光定量 PCR 采用预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s,95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 34 s,循环 40 次。溶解曲线为 95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min,95 $^{\circ}$ C 15 s。以 ACTINB 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算检测各组细胞基因相对表达量。基因引物由上海桑尼生物科技有限公司合成,引物序列见表 1。

1.3 统计学方法

本研究实验使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式呈现,实验不同组别差异用

表 1 目的基因及内参 ACTINB 所用引物序列

引物名称	位置	序列
FANCB	上游	5'-ATGAAGGATGGCCTAAGGGTC-3'
FANCB	下游	5'-ACACACTAACAACCTTTGCCAGT-3'
RAD51	上游	5'-CAACCCATTTACGGTTAGAGC-3'
RAD51	下游	5'-TTCTTTGGCGCATAGGCAACA-3'
ACTINB	上游	5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3'
ACTINB	下游	5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'

Student's *t* 检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 丝裂霉素 C 对 293T 细胞 gammaH2AX、FANCB、RAD51 蛋白和基因水平的影响

采用 Western blot 方法研究了丝裂霉素 C 对 293T 细胞 gammaH2AX、FANCB、RAD51 蛋白水平的影响,结果显示(图 1),相对于空白对照组,在 25 μ M 丝裂霉素 C 处理 1 h 后,293T 细胞组 gammaH2AX 表达量显著增加,表明 DNA 损伤的发生,在 25 μ M 丝裂霉素 C 处理 3 h 后 gammaH2AX 表达量增加至峰值,随后在 25 μ M 丝裂霉素 C 处理 5 h 后下降,这可能是细胞启动了自身 DNA 损伤修复机制,为此采用 25 μ M 丝裂霉素 C 处理细胞 3 h 构建 293T 细胞 DNA 损伤模型。见图 1A、B,表 2。

在丝裂霉素 C 处理细胞之前,RAD51 就在细胞内保持一定的表达水平。在丝裂霉素 C 处理细胞后,RAD51 蛋白表达水平开始增加,丝裂霉素 C 处理细胞 1 h 后即表现出统计学差异,随后在处理 3 h 后和处理 5 h 后,RAD51 表达量逐渐升高,结果表明 RAD51 逐步参与 DNA 修复的过程。FANCB 在 25 μ M 丝裂霉素 C 处理 1 h 后蛋白水平显著增加,随着 DNA 损伤时间延长,处理 3 h 及 5 h 后,相对于空白对照组呈现显著高表达水平(P 均 < 0.05)。

在基因水平,我们采用 qPCR 方法研究了丝裂霉素 C 对 293T 细胞 FANCB 和 RAD51 mRNA 水平的影响,结果显示(图 1C)在丝裂霉素 C 处理 1 h 后 FANCB 基因表达水平开始增加,处理 3 h 后达到峰值,处理 5 h 后比处理 3 h 稍有下降。DNA 修复相关蛋白 RAD51 mRNA 水平的变化与蛋白水平变化趋势相同,RAD51 mRNA 表达在 1、3、5 h 逐步上升(P 均 < 0.05)。

结果表明,FANCB 表达量同 DNA 损伤相关蛋白表达量呈正相关,FANCB 可能在 293T 细胞 DNA

损伤修复过程中具有重要作用。

2.2 丝裂霉素 C 诱导的 DNA 损伤与丝裂霉素 C 浓度的关系

在此前实验中我们发现丝裂霉素 C 诱导的 DNA 损伤在 3 h 最大,为了验证 DNA 损伤程度是否与丝裂霉素 C 的浓度相关,我们选择 25、35、45 μM 和 60 μM 药物浓度在 3 h 作用时间点对 $\gamma\text{-H2AX}$ 蛋白表达量进行检测,结果显示(图 2、表 3)4 个浓度下的 $\gamma\text{-H2AX}$ 表达水平并没有明显差异,由此我们推测在我们选择的药物浓度范围内丝裂霉素 C 诱导的 DNA 损伤是时间依赖性而非浓度依赖。为此我们确定以丝裂霉素 C 25 μM , 3 h 的作用下对 FANCB 进行 DNA 损伤修复功能的

研究。

2.3 FANCB 基因敲低后可对 DNA 损伤修复造成影响

在 35 μM siRNA 浓度作用 48 h 后,FANCB 蛋白和基因水平出现了显著下降(图 3、表 4)。同时在 25 μM 丝裂霉素 C 作用 3 h 后,相比于对照组,siRNA 基因敲低组 $\gamma\text{-H2AX}$ 蛋白水平明显提升,显示出更严重的 DNA 损伤程度,而 RAD51 蛋白和基因水平在 FANCB 表达下降后显示出明显的表达下降,表明细胞 DNA 修复功能下降。这些结果表明,FANCB 具有一定调控 RAD51 的功能,在 FANCB 表达不足时,RAD51 表达同样会下调,细胞将会受到更严重的 DNA 损伤。

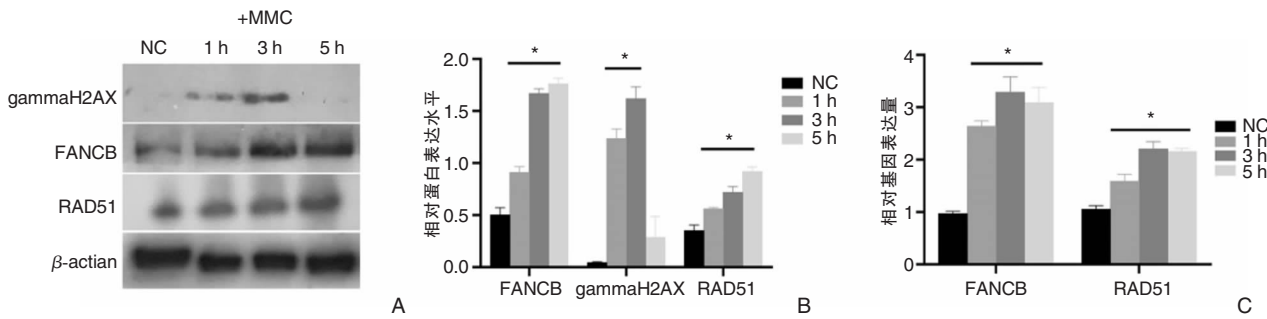


图 1 空白对照组(NC)、添加 25 μM 丝裂霉素 C 1、3、5 h 组 $\gamma\text{-H2AX}$ 、FANCB、RAD51 及内参 $\beta\text{-actin}$ 蛋白和基因表达情况 A: Western blot; B: 相对蛋白表达分析; C: 相对基因表达分析 注: * $P < 0.05$ 。

表 2 不同 DNA 损伤时间对 293T 细胞损伤修复因子的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	蛋白相对表达量			mRNA 相对表达量	
	FANCB	$\gamma\text{-H2AX}$	RAD51	FANCB	RAD51
NC	0.45 \pm 0.10	0.41 \pm 0.09	0.32 \pm 0.07	0.97 \pm 0.05	0.93 \pm 0.03
1 h	0.87 \pm 0.08 *	1.17 \pm 0.13 *	0.55 \pm 0.02	2.71 \pm 0.09 *	1.68 \pm 0.06 *
3 h	1.64 \pm 0.06 *	1.54 \pm 0.16 *	0.69 \pm 0.07 *	3.12 \pm 0.14 *	2.24 \pm 0.04 *
5 h	1.72 \pm 0.08 *	0.15 \pm 0.28	0.89 \pm 0.06 *	3.02 \pm 0.08 *	2.12 \pm 0.03 *

注:与空白对照组(NC)比较,* $P < 0.05$ 。下表同。

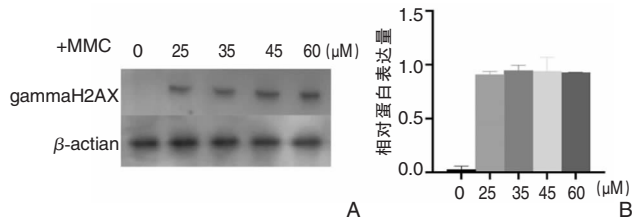


图 2 丝裂霉素 C 不同浓度梯度作用下 DNA 损伤标记 $\gamma\text{-H2AX}$ 的蛋白表达水平 A: Western blot; B: 相对蛋白表达分析

表 3 不同浓度丝裂霉素 C 对 293T 细胞 DNA 损伤的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	$\gamma\text{-H2AX}$
0 μM	0.01 \pm 0.04
25 μM	0.89 \pm 0.04
35 μM	0.91 \pm 0.07
45 μM	0.85 \pm 0.18
60 μM	0.92 \pm 0.01

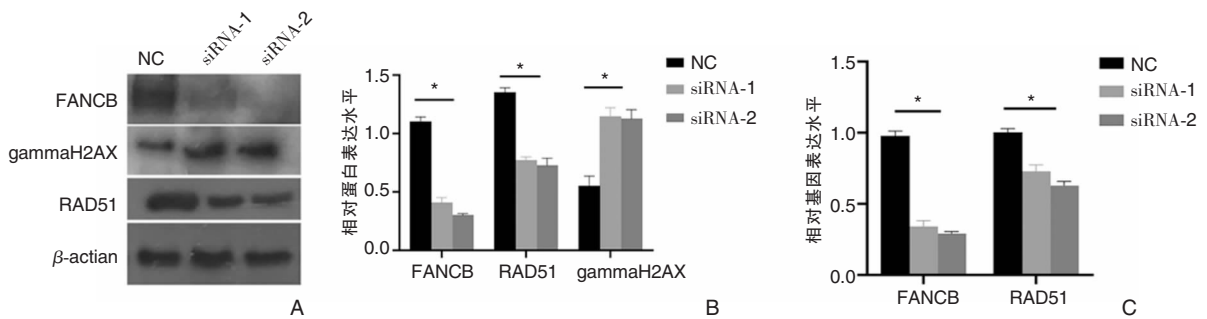


图3 在25 μM 丝裂霉素 C 浓度,3 h 作用条件下 FANCB, gammaH2AX 和 RAD51 的蛋白和基因表达水平变化 A:NC 组与 siRNA 组各蛋白表达水平; B:NC 组与 siRNA 组各蛋白相对表达分析; C:NC 组和 siRNA 组 FANCB 与 RAD51 相对基因表达水平变化 注: * $P < 0.05$ 。

表4 siRNA-FANCB 对 293T 细胞 DNA 损伤修复因子的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	蛋白相对表达量			mRNA 相对表达量	
	FANCB	gammaH2AX	RAD51	FANCB	RAD51
NC	1.08 \pm 0.05	0.49 \pm 0.12	1.32 \pm 0.06	0.95 \pm 0.05	0.98 \pm 0.04
siRNA-1	0.38 \pm 0.06 *	1.10 \pm 0.10 *	0.75 \pm 0.04 *	0.31 \pm 0.06 *	0.69 \pm 0.07 *
siRNA-2	0.29 \pm 0.02 *	1.07 \pm 0.11 *	0.68 \pm 0.09 *	0.28 \pm 0.02 *	0.61 \pm 0.04 *

3 讨论

丝裂霉素 C 是一种链内交联剂,可造成 DNA 双链断裂,也是国外 FA 实验室常用的诊断试剂^[10]。DNA 双链断裂后主要的修复方式主要为同源重组和非同源末端连接,其中同源重组是 DNA 修复最重要的途径^[11-12],参与其途径的各因子突变缺失将损害到正常的修复过程,造成染色体畸变和后续各类生长发育异常或肿瘤发生,而范可尼贫血通路则是同源重组途径上游段重要的信号路径。本研究以丝裂霉素 C 为 DNA 损伤诱导剂,在 293T 细胞中模拟 DNA 损伤后信号分子的表达过程,其中检测指标 gammaH2AX 是目前检测 DNA 损伤最敏感的标志物之一^[13],已应用在各种 DNA 损伤研究中。我们在研究中发现,在 293T 细胞中 1 h 内即可有 gammaH2AX 蛋白表达的增加,说明丝裂霉素 C 可在短时间内对 293T 细胞造成 DNA 损伤,且在 3 h 时 gammaH2AX 表达量达到最大,说明 3 h 是一个 DNA 损伤峰值,这与国内外报道的相似^[14],表明不同细胞应对不同损伤物时类似的 DNA 损伤信号途径。5 h 时 gammaH2AX 蛋白表达量下降至与对照组无明显差异,可能与 DNA 修复功能大于损伤作用有关,可以佐证的是同源重组蛋白 RAD51 蛋白和基因水平随着损伤时间表达增加,并且在 5 h 达到最大值, RAD51 是同源重组家族重要的成员,说明了

RAD51 表达量的增加很有可能的 gammaH2AX 表达下降的原因之一。与 RAD51 相似, FANCB 蛋白水平亦随着 DNA 损伤表达增加,在 5 h 达到最大,与此稍有不同的是 FANCB 基因水平在 5 h 稍有下降,可能由于基因转录和蛋白表达水平时间点不一致导致,在 5 h 修复功能大于损伤作用, gammaH2AX 表达下降,损伤信号降低, FANCB 基因转录水平就会发生下降,而蛋白水平表达稍落后于基因水平,所以表现为相对不一致。同时, FANCB 在 DNA 损伤时的高表达,表示了其作为 DNA 同源重组修复途径中间体的重要作用,而在敲低 FANCB 表达水平后,细胞出现了更严重的 DNA 损伤及更弱的修复能力。在目前的研究中, FANCB 突变会导致 FA 和严重的先天性多发畸形,也表明了 DNA 同源重组修复途径是维持正常胚胎和生长发育的重要方式^[14-17]。生物体内每时每刻都会发生 DNA 损伤,而这些修复通路因子的功能作用就尤其重要,若是这些关键因子发生变异,功能得不到补偿,就会在生长发育中对外界刺激更加易感,在胚胎发育期就表现为各类畸形,而在出生后则表现为肿瘤的高发,在耳鼻咽喉头颈外科 FANCB 的突变就有可能导致小耳畸形和各种头颈肿瘤^[8],同样在肿瘤的治疗过程中,了解肿瘤细胞 DNA 损伤修复机制有利于更有效的杀灭肿瘤细胞^[18]。

由于本研究只应用了 293T 细胞,研究靶点只局限于 FANCB,其他类型的细胞和 DNA 损伤修复靶

点暂未涉及,以及时间点只局限于 5 h 内,不能更清楚的阐述更具体的分子机制和更长时间的表达变化,后续还需进一步深入和扩大实验靶标。

综上所述,本研究着重于探讨 FANCB 和 DNA 损伤修复因子 γ H2AX 和 RAD51 在短时间内应对 MMC 诱导的 DNA 损伤后的表达变化情况,探讨其间可能存在的分子机制。在 293T 细胞中,MMC 诱导的短时间 DNA 损伤可能上调 FANCB 表达从而增加 RAD51 表达,导致了 DNA 修复功能增加,这可能为后续 DNA 损伤修复功能研究提供一定思路。

参考文献:

- [1] Giampietro PF, Adler-Brecher B, Verlander PC, et al. The need for more accurate and timely diagnosis in Fanconi anemia; a report from the International Fanconi Anemia Registry[J]. *Pediatrics*, 1993,91(6):1116-1120.
- [2] Auerbach AD. Fanconi anemia and its diagnosis[J]. *Mutat Res*, 2009,668(1-2):4-10.
- [3] Joenje H, Patel KJ. The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia[J]. *Nat Rev Genet*, 2001,2(6):446-457.
- [4] Gurtan AM, D'Andrea AD. Dedicated to the core: understanding the Fanconi anemia complex[J]. *DNA repair*, 2006,5(9-10):1119-1125.
- [5] Huang Y, Leung JW, Lowery M, et al. Modularized functions of the Fanconi anemia core complex[J]. *Cell Rep*, 2014,7(6):1849-1857.
- [6] Shakeel S, Rajendra E, Alcón P, et al. Structure of the Fanconi anaemia monoubiquitin ligase complex[J]. *Nature*, 2019,575(7781):234-237.
- [7] Weinberg-Shukron A, Rachmiel M, Renbaum P, et al. Essential role of BRCA2 in ovarian development and function[J]. *N Engl J Med*, 2018,379(11):1042-1049.
- [8] Jung M, Ramanagoudr-Bhojappa R, van Twest S, et al. Association of clinical severity with FANCB variant type in Fanconi anemia[J]. *Blood*, 2020,135(18):1588-1602.
- [9] Du W, Amarachintha S, Erden O, et al. Fancb deficiency impairs hematopoietic stem cell function[J]. *Sci Rep*, 2015,5:18127.
- [10] Bakhshi S, Joenje H, Schindler D, et al. A case report of a patient with microcephaly, facial dysmorphism, mitomycin-c-sensitive lymphocytes, and susceptibility to lymphoma[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2006,164(2):168-171.
- [11] Laurini E, Marson D, Fermaglia A, et al. Role of Rad51 and DNA repair in cancer: A molecular perspective[J]. *Pharmacol Ther*, 2020,208:107492.
- [12] Long DT, Räschle M, Joukov V, et al. Mechanism of RAD51-dependent DNA interstrand cross-link repair[J]. *Science*, 2011,333(6038):84-87.
- [13] Kopp B, Khoury L, Audebert M. Validation of the γ H2AX biomarker for genotoxicity assessment; a review[J]. *Arch Toxicol*, 2019,93(8):2103-2114.
- [14] Natale F, Rapp A, Yu W, et al. Identification of the elementary structural units of the DNA damage response[J]. *Nat Commun*, 2017,8:15760.
- [15] Mikat B, Roll C, Schindler D, et al. X-linked recessive VACTERL-H due to a mutation in FANCB in a preterm boy[J]. *Clin Dysmorphol*, 2016,25(2):73-76.
- [16] Watanabe N, Tsutsumi S, Miyano Y, et al. X-linked VACTERL-H caused by deletion of exon 3 in FANCB: A case report[J]. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2018,58(5):171-172.
- [17] Kato Y, Alavattam KG, Sin HS, et al. FANCB is essential in the male germline and regulates H3K9 methylation on the sex chromosomes during meiosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2015,24(18):5234-5249.
- [18] Sharp MF, Bythell-Douglas R, Deans AJ, et al. The Fanconi anemia ubiquitin E3 ligase complex as an anti-cancer target[J]. *Mol Cell*, 2021,81(11):2278-2289.

(收稿日期:2021-06-18)

本文引用格式:岑璞,陈斌,江晨艳,等.范可尼贫血互补群 B 对丝裂霉素 C 诱导的 293T 细胞 DNA 损伤修复的研究[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2022,28(2):50-55. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202221198

Cite this article as: CEN Pu, CHEN Bin, JIANG Chenyan, et al. Study on the mechanism of Fanconi anemia complementary group B molecule in repair of mitomycin C induced DNA damage in 293T cells [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2022,28(2):50-55. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202221198