

综述

拓扑异构酶II的结构、功能及作用机制研究进展

秦尚尧, 袁一旻, 胡昕, 孙秀, 苏志达*

第二军医大学神经科学研究所, 分子神经生物学教育部重点实验室, 上海 200433

摘要: 拓扑异构酶是存在于细胞核内的一类酶, 它们能够催化DNA链的断裂和结合, 从而调控DNA的拓扑状态, 在基因复制、转录、重组、修复和染色体重塑过程中参与了DNA超螺旋结构模板的调节。拓扑异构酶通过催化切断DNA链的磷酸二酯键, 产生DNA缺口而发挥作用, 这种缺口可以改变DNA分子的拓扑结构, 从而解决DNA缠结状态这一问题。在哺乳动物中, 主要存在I型和II型两种拓扑异构酶。拓扑异构酶I (type I topoisomerase, Top1)催化产生DNA分子上的单链缺口, 而拓扑异构酶II (type II topoisomerase, Top2)则催化产生DNA分子上的双链缺口。Top2在哺乳动物中又分为 α 亚型和 β 亚型。其中, Top2 α 的功能主要与细胞的增殖和多潜能性相关, 而Top2 β 在神经发育中具有重要作用。本文就Top2的结构、功能和作用机制的相关研究进展作一综述。

关键词: 拓扑异构酶II; 分子结构; 功能; 作用机制**中图分类号:** R329

Structural, mechanistic and functional insights into topoisomerase II

QIN Shang-Yao, YUAN Yi-Min, HU Xin, SUN Xiu, SU Zhi-Da*

Institute of Neuroscience and Key Laboratory of Molecular Neurobiology of Ministry of Education, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Topoisomerases are nuclear enzymes that regulate the overwinding or underwinding of DNA helix during replication, transcription, recombination, repair, and chromatin remodeling. These enzymes perform topological transformations by providing a transient DNA break, through which the unique problems of DNA entanglement that occur owing to unwinding and rewinding of the DNA helix can be resolved. In mammals, topoisomerases are classified into two types, type I topoisomerase (Top1) and type II topoisomerase (Top2), depending on the number of strands cut in one round of action. Top1 induces single-strand breaks in DNA, and Top2 induces double-strand breaks. In cells from vertebrate species, there are two forms of Top2, designated alpha and beta. Top2 α is involved in the cellular proliferation and pluripotency, while Top2 β plays key roles in neurodevelopment. In this review, we cover recent advances in structural, mechanistic and functional insights into Top2.

Key words: type II topoisomerase; molecular structure; function; mechanism

在基因复制和翻译等过程中, 由于DNA的双链特性, 使其在解链的同时分子其它部位出现张力过大而发生缠结^[1]。拓扑异构酶是一类高度保守的蛋白质, 其主要功能就是缓解DNA分子出现的拓扑学张力^[2, 3]。哺乳动物中存在拓扑异构酶I (type I

topoisomerase, Top1) 和拓扑异构酶II (type II topoisomerase, Top2) 两种类型, 它们分别催化产生DNA分子上的单链缺口和双链缺口^[3, 4]。通过改变DNA的拓扑学状态, Top1产生的单链缺口能使对应的互补单链通过, 而Top2产生的双链缺口则允许DNA双

Received 2015-09-19 Accepted 2015-10-22

This review was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31171124, 81271352), the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (No. 15JC1400202) and Shanghai Pujiang Program, China (No. 15PJ1410500).

*Corresponding author. Tel: +86-21-81871042-506; Fax: +86-21-65492132; E-mail: suzhida@smmu.edu.cn

链通过^[2,5]。Top2 α 和Top2 β 是Top2的两种亚型，它们的分子结构差异主要存在于C-末端区域^[5,7]。Top2 α 的表达具有细胞周期依赖性，对于分裂细胞的存活是不可或缺的，而许多不分裂的细胞并不表达Top2 α ^[8,9]。研究表明，Top2 α 是许多抗肿瘤药物的靶点，同时也是二价染色体分离所必需的^[10,11]。Top2 β 的表达在神经发育过程中起重要作用，对于小鼠的存活是必需的^[12,13]。胚胎阶段缺乏Top2 β 的表达将使支配膈肌的神经发育不良，动物最终死于出生之前或出生之时^[14]。本文主要总结近年来有关Top2的分子结构、功能以及作用机制的研究进展。

1 Top2的分类

拓扑异构酶是细胞核内数量仅次于组蛋白的一类酶。广义上讲II型拓扑异构酶存在两种类型，即IIA型和IIB型拓扑异构酶^[2,6]。前者包括原核生物DNA回旋酶，原核生物拓扑异构酶IV以及真核生物的拓扑异构酶2 (Top2)；后者包括植物中的拓扑异构酶VI以及蛋白Spo11 (在减数分裂期同源染色体重组发挥作用)^[15]。在低等真核生物，如单细胞生物酵母菌、昆虫以及属于脊椎动物的爪蟾属类，它们仅有Top2而没有Top1^[2,6]。在哺乳类动物中，Top2还分为Top2 α 和Top2 β 两种亚型^[16]。

2 Top2的分子结构特点

在生物化学层面，研究Top2分子结构能更好地深入了解其作用机制。目前，有关拓扑异构酶的分子结构模型大都来源于酵母菌^[2]。由于真核生物的拓扑异构酶结构相当保守，所以来源于酵母菌的拓扑异构酶分子结构相关研究成果也适用于人类。拓扑异构酶的N-末端具有ATP结合区域，而不同的拓扑异构酶或亚型之间的差异主要在C-末端^[2,7]。此外，C-末端区域很可能在Top2 α 和Top2 β 的核内定位及活性调控方面具有重要作用^[17]。就人类两种Top2亚型而言，Top2 β 的C-末端在结构上比Top2 α 略长，含有的氨基酸残基数目分别为443个和360个^[2]。Top2的中间部分含有一个Toprim结构域^[18]，后面与之相邻的是断裂重连区，上面附有活化的酪氨酸激活位点^[19]。现有的研究表明，Top2的完整分子结构仍存在不确定性，主要表现在分子量和蛋白质可塑性上^[20]。因此，关于此酶分子结构的大部分信息是从其可编码的蛋白质部分获取的。例如，酵母菌Top2的结构包括位于N-末端的蛋白

质部分，以及三个不连续的断裂重连区域^[21]。在Top2中，ATP结合区域的N-末端由GHKL折叠组成，这种折叠方式在多种不同ATP酶中均存在^[22]。ATP结合区域的重要特征是两个亚基都对总体结构有作用。在ATP结合的同时，两个亚基的协同作用促使二聚体的形成。同样，伴随着ATP的水解与释放ADP和Pi，N-末端的二聚体解聚。ATP结合区域的C-末端(被称作信号转导区)可以把ATP结合的信息传递给断裂重连区^[22]。ATP结合后引发的构像改变使其在断裂重连区的位置发生改变，从而传递此信号。重要的是，信号转导区有助于氨基酸参与到ATP的水解和结合过程中。断裂重连区由含有空腔的巨大心形结构组成，该区域上的酪氨酸激活位点是一种翼状螺旋结构的一部分，这一结构类似于分解物激活蛋白(CAP-样结构域)^[18]。靠近CAP-样结构域的是一种长条状的卷曲螺旋，一直延伸到二聚体在C-末端的交界面区域。断裂重连区的这种结构可以解释大多数拓扑异构酶的功能特征，比如基于此结构的“双门模型”就可以很好地解释拓扑异构酶的催化循环作用^[6,19]。但是，目前的研究也存在某些疑问，比如两个酪氨酸残基之间的距离过大，使其很难对处于两者之间的双链DNA产生相互作用。针对该问题，有一种合理的解释是，这种结构代表的是一种开放状态，即拓扑异构酶已经完成对DNA的切断，有利于另一条DNA从断裂的缺口处穿过^[6,23]。相对于这种开放状态，拓扑异构酶的另一结构中活化酪氨酸位点的距离很窄，可以认为是切断DNA后的状态到开放状态之间的过渡^[24]。相关生物化学数据表明，在这两种拓扑异构酶结构中，Toprim结构域距活化酪氨酸位点较远，使其较难参与催化反应。由此，有人提出第三种结构，该结构中带缺口的DNA分子与断裂重连区结合，使Toprim结构域被牵拉到靠近活化酪氨酸位点的位置，由此协同酶的催化作用^[2,6]。近年来对Top2结构研究有了新的进展，比如Schmidt等提出了关于酵母菌Top2断裂重连中心以及“Top2-DNA-AMPPNP复合体”的结构模型，并阐明了ATP结合区域与其它结构部分的连接方式，从而进一步揭示了Top2发挥功能的分子机制^[25,26]。

3 Top2表达的时间和空间特点

哺乳动物细胞编码两种Top2，即Top2 α 和Top2 β 。这两种酶在N-末端ATP酶区域和中央核

心区部分具有高度同源性。Top2 α 的表达具有细胞周期依赖性,一般在 G2/M 期达到顶峰,所以在胚胎干细胞等快速分裂的细胞中表达较高,而不分裂的细胞则很少表达^[27]。对比胚胎期和成年期小鼠的脑片染色,可以发现 Top2 α 仅在胚胎期有表达,而到成年后则不表达。相反,Top2 β 不具有细胞周期依赖性,在细胞的所有时期均有表达,但在细胞完成分裂后表达上调,即在终末分化的细胞中表达较高^[13]。在胚胎发育完成之后,有些细胞可以完全检测不到 Top2 β 的表达。Watanabe 等检测了 Top2 在大鼠脑内不同发育阶段的表达情况,发现 Top2 α 在胚胎时期 (E13~E15) 表达于脑内的脑室区,而出生后 7~14 天 (P7~P14) 主要表达于小脑外颗粒层,紧接着其在各脑区的表达迅速下降,最终消失^[28]。相反,Top2 β 在胚胎 13 天 (E13) 直至出生后 21 天 (P21),脑内除脑室区外均有表达,其表达量在发育早期比较高,而在成熟阶段的脑内则比较低^[28]。此外,胚胎干细胞向神经细胞分化的过程中,Top2 表达存在 α 亚型向 β 亚型转换的现象。比如,在皮层的神经发生过程中,Top2 α 表达逐步下调,而 Top2 β 表达逐步上调^[29],该现象体现了两种 Top2 异构体在功能上的协同作用。

4 Top2 的功能和对靶基因的调控作用

起初,对 Top2 的研究是因为它可以参与众多复杂的催化反应,所以当时对该酶的生物化学和结构方面格外关注。染色体复制和分离过程需要精确而复杂的调控,目前的研究表明,Top2 在这个过程中发挥着不可替代的作用,其中包括 Top2 对该过程在时空方面的调控作用^[30]。

与 Top2 两种亚型的表达特点相一致,Top2 α 主要对细胞增殖以及生长发育起调控作用,而 Top2 β 则主要参与细胞分化以及神经发生。中枢神经损伤时,损伤处周围的星形胶质细胞和小胶质细胞会被激活而大量增殖^[31–34],Top2 α 可能参与该过程。Akimitsu 等的研究表明,敲除 Top2 α 基因会使胚胎发育发生障碍,最终停滞在四细胞或者八细胞状态^[35,36]。虽然敲除 Top2 β 基因不具有胚胎致死性,但会影响神经细胞的存活和神经突起的生长^[37]。Li 等的研究表明,敲除 Top2 β 基因的小鼠会引起大脑分层结构的形成出现异常,并使运动神经元的轴突不能与相应肌群形成突触连接,最终导致小鼠在出生时或出生后死于呼吸障碍^[14]。Tiware 等的研究显

示,Top2 β 是某些神经细胞所必需的,并在神经发育过程中起重要作用^[29]。胚胎发育阶段缺乏 Top2 β 的表达将使支配膈肌的神经发育不良,最终死于出生之前或出生之时。同时,Top2 β 也可以调控某些特定基因的转录,这对探索 Top2 新的生物学作用具有重要启示作用^[29]。此外,Top2 α 还可以调控胚胎干细胞中发育基因的转录,从而对干细胞的分化发挥调控作用^[38]。

如上所述,Top2 α 和 Top2 β 两种不同亚型的作用存在差异。有一种比较合理的解释是,两者启动和调控不同基因的表达。相关研究证实了上述假设,并且阐明了这两种不同的 Top2 亚型在基因表达调控方面的特点^[38]。Top2 α 和 Top2 β 在基因表达调控方面具有一定的相似性,比如都倾向于和各自相应基因的启动子区域结合,调控的基因大都处于染色质开放状态并且可以转录。在此方面的研究中,常采用 Top2 催化活性抑制剂以阻断其生物学功能,比如抗肿瘤药物依托泊苷以及其中间代谢物 ICRF-193^[39,40],结果显示,抑制 Top2 α 的表达可以使一些重要的细胞多能性相关基因表达下调,并且使体外培养的神经球成球能力下降。同时,Top2 α 对基因及表观遗传学的稳定性也具有重要作用^[38]。对 Top2 β 而言,研究发现敲除 Top2 β 基因的胚胎干细胞在神经分化方面存在缺陷;并且在这种 Top2 β 基因敲除的细胞中,下调的基因大部分跟神经发生相关,而上调的基因则多与生长发育相关^[38,41]。在这些 Top2 的靶基因中,P75 的表达明显上调,直接导致了幼稚神经元的过早死亡,但是 P75 引起神经元死亡的具体机制还有待进一步深入研究。

此外,Top2 跟癌症也高度相关。近年来的研究表明,Top2 是众多抗肿瘤药物的作用靶点。大多数 Top2 相关的抗肿瘤药物是通过 Top2 产生的 DNA 损伤杀死癌细胞,而并非抑制酶的活性。我们通常把这些以 Top2 为作用靶点的抗肿瘤药物称为 Top2 毒剂,因为它们可以改变 Top2,使其具有潜在的细胞毒性作用,引起细胞基因复制或转录中断,从而导致肿瘤细胞死亡^[42]。Hua 等的研究表明,microRNA-139 能够通过作用于 Top2 α 而抑制 Luminal 型胸腺癌肿瘤细胞的增殖^[43]。YCH337 是一种新的 α - 咔巴林生物碱 (α -Carboline) 衍生物,它能够靶向作用于微管蛋白和 Top2 而抑制肿瘤增殖和生长^[44]。此外,Top2 (尤其是 Top2 α) 在增殖细胞及其转录方面的重要作用,让我们认识到这类酶

的催化活性抑制剂也应该具有抗肿瘤效果, 因此对 Top2 完整生物学功能的认识也变得极其重要。近年来已发现的 Top2 催化活性抑制剂有许多 (表 1), 其中以 ICRF187 和 ICRF193 最具代表性, 它们特异地作用于 Top2 的酶催化域, 阻止 DNA 双链缺口的形成, 从而导致 DNA 缠结^[45]。同时, Top2 参与端粒酶的重组过程, Hsieh 等研究表明, Top2 催化活性抑制剂 ICRF193 能够抑制端粒酶阴性肿瘤细胞的增殖^[46]。Vosaroxin 属于第一代喹诺酮类抗癌药物, 能够抑制 Top2 而导致细胞周期停滞和细胞凋亡。Hotinski 等的研究显示, Vosaroxin 可以有效地抑制难治的和复发的急性髓性白血病癌细胞生长, 提高患者的存活时间^[54]。

两种 Top2 亚型在调控基因表达上有一定的协同作用。首先, 两者都可以作用于长链非编码基因, 但是在胚胎干细胞状态下, Top2 α 先与之结合使长链非编码基因处于一种激活的状态, 为 Top2 β 的结合创造条件。随后, 在特定的条件下, Top2 β 与之结合使干细胞开始分化。另外, 在胚胎干细胞向神经元方向分化的过程中, Top2 α 的转录调控作用会逐步被 Top2 β 所取代^[13]。在胚胎干细胞状态下, Top2 α 结合并调控着管家基因、增殖以及细胞因子相关通路方面基因的转录。在胚胎干细胞向神经元方向分化时, 这些基因变为由 Top2 β 来结合, 除了管家基因继续表达外, 增殖以及细胞因子相关通路相关基因的转录被阻断, 干细胞特性逐渐丧失^[38]。除此之外, 在胚胎干细胞状态下, Top2 α 结合并启

动特定的发育相关基因, 并随着细胞分化逐渐变为与 Top2 β 结合, 从而开始表达。所以, 两种 Top2 亚型在调节基因表达方面具有协同作用, 使相关的基因表达与特定的细胞分化状态协调一致。

5 Top2的作用机制

DNA 的拓扑学改变需要 DNA 链的断裂来解决 DNA 链的缠结问题, 而拓扑异构酶的存在为这些改变提供安全有效的机制。由于 DNA 链的断端与相应蛋白催化结合, 使其免于重排或重组, 也不产生 DNA 损伤反应^[47, 48]。通过一种简单的拓扑学改变, 比如解开连锁的环链结构或解开 DNA 分子的超螺旋, 是拓扑异构酶作用的基本方式, 也是我们认识其发挥复杂且精细结构作用的基础^[47, 49]。

真核生物的 Top2 由同源二聚体组成, 其大致的催化过程为: 切断 DNA 双链形成不稳定的缺口 (一个亚基切断一条 DNA 单链), 然后在此酶的作用下使未断裂的 DNA 链穿过这一不稳定的缺口, 最后修复缺口。在这一过程中需要相关蛋白质的协助, 以保证此生理功能正确、高效地完成 (表 2)。这些蛋白质有不同的作用机制, 比如酪蛋白激酶 II (Casein kinase II, CKII) 作用于 Top2 的 C-末端区域并使其磷酸化, 从而大幅提高其催化效率^[59]; SP1 和 SP3 结合于相应的启动子区域, 对 Top2 的转录起调控作用^[63]。在 Top2 的催化过程中, 我们通常把 Top2 拟切断的双链 DNA 称为 G 片段 (G segment), 将通过 G 片段缺口处的完整 DNA 称为 T

表1. Top2抑制剂及其作用机制
Table 1. The effect and mechanism of Top2 inhibitors

Top2 inhibitors	Mechanism	Reference
Etoposide ICRF193 ICRF187	Inhibit the hydrolysis of ATPase and block the recombination after Top2 breaks the double-strand DNA	[39, 40, 45, 50, 51]
Aclarubicin Suramin Vosaroxin	Insert into the DNA and inhibit its binding to Top2	[52-54]
NSC35866 Salvicine	Inhibit the function of ATPase by interacting with ATPase binding site	[55, 56]
YCH337	Blocks the process of mitosis and inhibits the recombination after Top2 breaks the double-strand DNA by repressing the polymerization of microtubules	[44]
nk-314	Induces the decomposition of DNA-PKcs and inhibits the recombination of DNA double-breaks	[57]
Sodium salicylate	Prevents Top2 from breaking double-strand DNA and inhibits the hydrolysis of ATPase	[58]
PluriSIn#2	Inhibits the catalytic activity of Top2 α and selectively blocks the transcription of Top2 α	[8]
MicroRNA-139	Inhibits the expression of Top2 by binding to the mRNA 3'UTR of Top2	[43]

片段 (T segment)。真核生物 Top2 可以将连锁的环链或超螺旋的 DNA 分子解链或分离，其大致过程

为^[6](图 1)：Top2 与双链 DNA 分子相互作用，先切断 G 片段形成双链缺口，然后 Top2 的两个亚基

表2. 与Top2相互作用的蛋白分子及其功能
Table 2. The functions of molecules interacting with Top2

Protein interacting with Top2	Binding site	Function	Reference
CKII	Ser/Thr residue located at about 350 amino acids from C-terminus	Enhances the catalytic activity of Top2 by inducing phosphorylation of its C-terminus	[59]
CREB	Unknown	Improves the efficiency of Top2-mediated recombination and introduces Top2 to the next DNA breaking site	[60]
c-Myb	Top2 α promoter	<i>Trans</i> -activates Top2 α	[61]
ICBP90	ICB2 element of Top2 α promoter	Up-regulates endogenous Top2 α	[62]
SP1	Proximal and distal GC element of Top2 α promoter	Enhances the transcription of Top2 α	[63]
SP3	Distal GC element of Top2 α promoter	Inhibits the transcription of Top2 α	[63]
NF-M	Top2 α promoter	The most powerful <i>trans</i> -activator of Top2 α , less-influenced by endogenous regulation	[64]
Sgs1p	Unknown	Essential for Top2-induced chromosomes departure and maintaining the normal growth state	[65]
BLM	Unknown	A homologous analogue of Sgs1p	[66]
β -Catenin	951–1301 amino acids of Top2 α	Accelerates the catalytic circle of Top2	[67]
Plk1	Ser ¹³³⁷ and Ser ¹⁵²⁴ of Top2 α	Induces phosphorylation of Ser ¹³³⁷ and Ser ¹⁵²⁴ and regulates the cell cycle	[68]

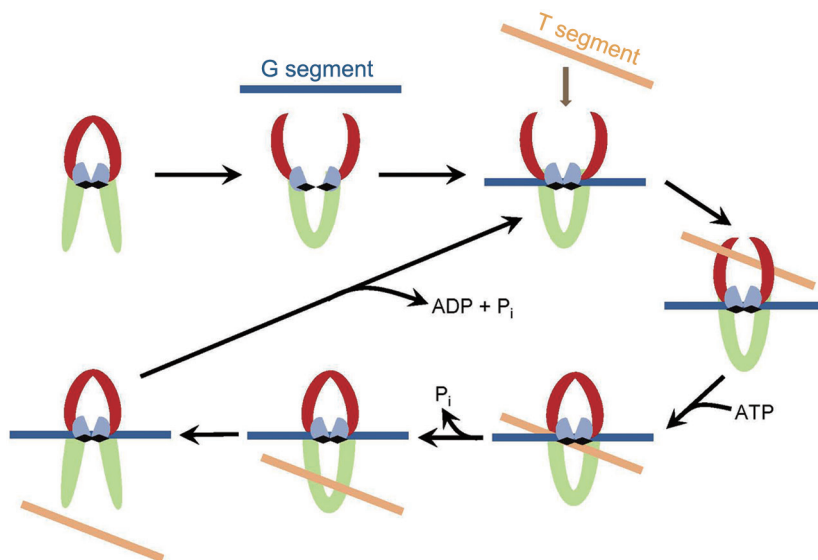


图 1. Top2催化机制示意图

Fig. 1. Mechanism of Top2-mediated catalysis. Top2 affects strand passage by interacting with two DNA strands. A double-strand break is induced by Top2 in one DNA strand (termed the G segment), which will pass a second strand (termed the T segment) through the break. There is a phosphotyrosine linkage between each single strand and a tyrosine in each subunit formed after DNA is cleaved by Top2. ATP binding in the enzyme forming a closed clamp. After passing through the break in the G segment, the T segment exits Top2 through the carboxy terminus.

在 Mg^{2+} 的作用下通过酪氨酸攻击 DNA 磷酸二酯键形成磷酸酪氨酸连接。ATP 的结合会引起酶构像的改变，使其形成闭合的钳夹状结构，此种结构可以捕获 T 片段使其穿过 G 片段上的双链缺口。通过 G 片段上的缺口后，T 片段便会从酶的 N-末端游离出来。ATP 的水解过程可以分为两步：第一步水解可以协助 T 片段通过缺口；第二步水解伴随着 ADP 和 Pi 的释放，可以让闭合的钳夹状结构重新打开，使 G 片段可以与 Top2 分离。对于 Top2 而言，切断 DNA 双链需要酪氨酸位点的激活和 Toprim 结构域的协同作用^[18]。Toprim 结构域由包含三个残基组成的三聚体组成，并且这些残基能跟二价阳离子形成络合物，此种结构在拓扑异构酶和引发酶中很常见。在断裂反应中，由于磷酸二酯键的能量保存在磷酸和酪氨酸之间的连接中，使该反应可以逆转而不需要其它外界能量。这种机制可以对 DNA 的末端起到保护作用，并且可以快速高效地修补 DNA 断端。目前，已从这一反应中开发出多种 Top2 的靶点药物，如依托泊苷和 ICRF193，它们可以与 Top2 形成共价复合物而阻断断端重连过程^[11, 39]。这种共价复合物在大多数情况下可以逆转，使 Top2 重新恢复功能^[49]。

6 结语

哺乳动物体内包含两类 Top2，即 α 型和 β 型。结构上，这两种亚型具有高度的相似性，在 N-末端和中央核心区域高度同源，而分子结构差异主要存在于 C-末端区域。Top2 改变 DNA 拓扑性的主要方式为形成断裂复合体，在酶的作用下 DNA 双链穿过缺口，再可逆性地修复缺口，该过程需要 ATP 的参与。Top2 α 具有细胞周期依赖性，对于细胞正常分裂增殖是必需的；Top2 β 参与神经系统的正常分化，对于神经细胞的功能是必需的。与两者的功能相一致，两种酶在不同细胞中的表达也各有差异。除了各自的不同功能，两种亚型在胚胎向神经系统的分化过程中存在功能上协同作用。虽然近年来对于 Top2 的研究取得了很大进展，但仍有很多问题没有解决。例如，由于 C-末端区域存在变异，对于 Top2 的完整结构还需要进一步深入研究；C-末端含有磷酸化和核内定位位点，是决定 Top2 生物学活性的关键结构域，但对于 C-末端结合与发挥作用的机制仍然不甚清楚。对 C-末端结构和功能的阐释将有助于更好地了解 Top2 的催化机制，

理清各部分结构之间的相互关系，可能发现 Top2 新的生物学功能。

参考文献

- 1 Poljak L, Kas E. Resolving the role of topoisomerase II in chromatin structure and function. *Trends Cell Biol* 1995; 5(9): 348–354.
- 2 Champoux JJ. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu Rev Biochem* 2001; 70: 369–413.
- 3 Anderson HJ, Roberge M. DNA topoisomerase II: a review of its involvement in chromosome structure, DNA replication, transcription and mitosis. *Cell Biol Int Rep* 1992; 16(8): 717–724.
- 4 Kunze N, Yang GC, Dolberg M, Sundarp R, Knippers R, Richter A. Structure of the human type I DNA topoisomerase gene. *J Biol Chem* 1991; 266(15): 9610–9616.
- 5 Berger JM, Gamblin SJ, Harrison SC, Wang JC. Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature* 1996; 379(6562): 225–232.
- 6 Nitiss JL. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(5): 327–337.
- 7 Nettikadan SR, Furbee CS, Muller MT, Takeyasu K. Molecular structure of human topoisomerase II alpha revealed by atomic force microscopy. *J Electron Microscop* (Tokyo) 1998; 47(6): 671–674.
- 8 Ben-David U, Cowell IG, Austin CA, Benvenisty N. Brief reports: Controlling the survival of human pluripotent stem cells by small molecule-based targeting of topoisomerase II alpha. *Stem Cells* 2015; 33(3): 1013–1019.
- 9 Ben-David U, Gan QF, Golan-Lev T, Arora P, Yanuka O, Oren YS, Leikin-Frenkel A, Graf M, Garippa R, Boehringer M, Gromo G, Benvenisty N. Selective elimination of human pluripotent stem cells by an oleate synthesis inhibitor discovered in a high-throughput screen. *Cell Stem Cell* 2013; 12(2): 167–179.
- 10 Higgins NP. A human TOP2A core DNA binding X-ray structure reveals topoisomerase subunit dynamics and a potential mechanism for SUMO modulation of decatenation. *J Mol Biol* 2012; 424(3–4): 105–108.
- 11 Baldwin EL, Osheroff N. Etoposide, topoisomerase II and cancer. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2005; 5(4): 363–372.
- 12 Heng X, Le WD. The function of DNA topoisomerase IIbeta in neuronal development. *Neurosci Bull* 2010; 26(5): 411–416.
- 13 Isik S, Zaim M, Yildiz MT, Negis Y, Kunduraci T, Karakas N, Arıkan G, Cetin G. DNA topoisomerase IIbeta as a molecu-

- lar switch in neural differentiation of mesenchymal stem cells. *Ann Hematol* 2015; 94(2): 307–318.
- 14 Li Y, Hao H, Tzatzalos E, Lin RK, Doh S, Liu LF, Lyu YL, Cai L. Topoisomerase IIbeta is required for proper retinal development and survival of postmitotic cells. *Biol Open* 2014; 3(2): 172–184.
 - 15 Corbett KD, Berger JM. Emerging roles for plant topoisomerase VI. *Chem Biol* 2003; 10(2): 107–111.
 - 16 Austin CA, Marsh KL. Eukaryotic DNA topoisomerase II beta. *Bioessays* 1998; 20(3): 215–226.
 - 17 Linka RM, Porter AC, Volkov A, Mielke C, Boege F, Christensen MO. C-terminal regions of topoisomerase IIalpha and IIbeta determine isoform-specific functioning of the enzymes *in vivo*. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(11): 3810–3822.
 - 18 Aravind L, Leipe DD, Koonin EV. Toprim—a conserved catalytic domain in type IA and II topoisomerases, DnaG-type primases, OLD family nucleases and RecR proteins. *Nucleic Acids Res* 1998; 26(18): 4205–4213.
 - 19 Dong KC, Berger JM. Structural basis for gate-DNA recognition and bending by type IIA topoisomerases. *Nature* 2007; 450(7173): 1201–1205.
 - 20 Corbett KD, Berger JM. Structure, molecular mechanisms, and evolutionary relationships in DNA topoisomerases. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2004; 33: 95–118.
 - 21 Schoeffler AJ, Berger JM. DNA topoisomerases: harnessing and constraining energy to govern chromosome topology. *Q Rev Biophys* 2008; 41(1): 41–101.
 - 22 Classen S, Olland S, Berger JM. Structure of the topoisomerase II ATPase region and its mechanism of inhibition by the chemotherapeutic agent ICRF-187. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(19): 10629–10634.
 - 23 Laponogov I, Veselkov DA, Crevel IM, Pan XS, Fisher LM, Sanderson MR. Structure of an ‘open’ clamp type II topoisomerase-DNA complex provides a mechanism for DNA capture and transport. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(21): 9911–9923.
 - 24 Fass D, Bogden CE, Berger JM. Quaternary changes in topoisomerase II may direct orthogonal movement of two DNA strands. *Nat Struct Biol* 1999; 6(4): 322–326.
 - 25 Schmidt BH, Osheroff N, Berger JM. Structure of a topoisomerase II-DNA-nucleotide complex reveals a new control mechanism for ATPase activity. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(11): 1147–1154.
 - 26 Schmidt BH, Burgin AB, Deweese JE, Osheroff N, Berger JM. A novel and unified two-metal mechanism for DNA cleavage by type II and IA topoisomerases. *Nature* 2010; 465(7298): 641–644.
 - 27 Cobb J, Reddy RK, Park C, Handel MA. Analysis of expression and function of topoisomerase I and II during meiosis in male mice. *Mol Reprod Dev* 1997; 46(4): 489–498.
 - 28 Watanabe M, Tsutsui K, Inoue Y. Differential expressions of the topoisomerase II alpha and II beta mRNAs in developing rat brain. *Neurosci Res* 1994; 19(1): 51–57.
 - 29 Tiwari VK, Burger L, Nikolettou V, Deogracias R, Thakurela S, Wirbelauer C, Kaut J, Terranova R, Hoerner L, Mielke C, Boege F, Murr R, Peters AH, Barde YA, Schubeler D. Target genes of Topoisomerase IIbeta regulate neuronal survival and are defined by their chromatin state. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(16): E934–E943.
 - 30 Chang CC, Wang YR, Chen SF, Wu CC, Chan NL. New insights into DNA-binding by type IIA topoisomerases. *Curr Opin Struct Biol* 2013; 23(1): 125–133.
 - 31 Yuan Y, Zhu F, Pu Y, Wang D, Huang A, Hu X, Qin S, Sun X, Su Z, He C. Neuroprotective effects of nitidine against traumatic CNS injury via inhibiting microglia activation. *Brain Behav Immun* 2015; 48: 287–300.
 - 32 Su Z, Yuan Y, Chen J, Zhu Y, Qiu Y, Zhu F, Huang A, He C. Reactive astrocytes inhibit the survival and differentiation of oligodendrocyte precursor cells by secreted TNF-alpha. *J Neurotrauma* 2011; 28(6): 1089–1100.
 - 33 Su Z, Yuan Y, Cao L, Zhu Y, Gao L, Qiu Y, He C. Triptolide promotes spinal cord repair by inhibiting astrogliosis and inflammation. *Glia* 2010; 58(8): 901–915.
 - 34 Yuan YM, He C. The glial scar in spinal cord injury and repair. *Neurosci Bull* 2013; 29(4): 421–435.
 - 35 Akimitsu N, Adachi N, Hirai H, Hossain MS, Hiroshi, Hamamoto, Kobayashi M, Aratani Y, Koyama H, Sekimizu K. Enforced cytokinesis without complete nuclear division in embryonic cells depleting the activity of DNA topoisomerase IIalpha. *Genes Cells* 2003; 8: 393–402.
 - 36 Sapetto-Rebow B, McLoughlin SC, O’Shea LC, O’Leary O, Willer JR, Alvarez Y, Collery R, O’Sullivan J, Van Eeden F, Hensey C, Kennedy BN. Maternal topoisomerase II alpha, not topoisomerase II beta, enables embryonic development of zebrafish *top2a*^{-/-} mutants. *BMC Dev Biol* 2011; 11: 71.
 - 37 Nur-E-Kamal A, Meiners S, Ahmed I, Azarova A, Lin CP, Lyu YL, Liu LF. Role of DNA topoisomerase IIbeta in neurite outgrowth. *Brain Res* 2007; 1154: 50–60.
 - 38 Thakurela S, Garding A, Jung J, Schubeler D, Burger L, Tiwari VK. Gene regulation and priming by topoisomerase IIalpha in embryonic stem cells. *Nat Commun* 2013; 4: 2478.
 - 39 Montecucco A, Biamonti G. Cellular response to etoposide treatment. *Cancer Lett* 2007; 252(1): 9–18.
 - 40 Roca J, Ishida R, Berger JM, Andoh T, Wang JC. Antitumor bisdioxopiperazines inhibit yeast DNA topoisomerase II by

- trapping the enzyme in the form of a closed protein clamp. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(5): 1781–1785.
- 41 Lyu YL, Lin CP, Azarova AM, Cai L, Wang JC, Liu LF. Role of topoisomerase IIbeta in the expression of developmentally regulated genes. *Mol Cell Biol* 2006; 26(21): 7929–7941.
- 42 Li TK, Liu LF. Tumor cell death induced by topoisomerase-targeting drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 53–77.
- 43 Hua W, Sa KD, Zhang X, Jia LT, Zhao J, Yang AG, Zhang R, Fan J, Bian K. MicroRNA-139 suppresses proliferation in luminal type breast cancer cells by targeting Topoisomerase II alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 463(4): 1077–1083.
- 44 Yi JM, Zhang XF, Huan XJ, Song SS, Wang W, Tian QT, Sun YM, Chen Y, Ding J, Wang YQ, Yang CH, Miao ZH. Dual targeting of microtubule and topoisomerase II by alpha-carboline derivative YCH337 for tumor proliferation and growth inhibition. *Oncotarget* 2015; 6(11): 8960–8973.
- 45 Morris SK, Baird CL, Lindsley JE. Steady-state and rapid kinetic analysis of topoisomerase II trapped as the closed-clamp intermediate by ICRF-193. *J Biol Chem* 2000; 275(4): 2613–2618.
- 46 Hsieh MH, Tsai CH, Lin CC, Li TK, Hung TW, Chang LT, Hsin LW, Teng SC. Topoisomerase II inhibition suppresses the proliferation of telomerase-negative cancers. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72(9): 1825–1837.
- 47 Osheroff N, Zechiedrich EL, Gale KC. Catalytic function of DNA topoisomerase II. *Bioessays* 1991; 13(6): 269–273.
- 48 Davies SM. Function of topoisomerase II and the consequences of inhibition. *Med Pediatr Oncol Suppl* 1996; 1: 12–19.
- 49 Govoni M, Farabegoli F, Pession A, Novello F. Inhibition of topoisomerase II activity and its effect on nucleolar structure and function. *Exp Cell Res* 1994; 211(1): 36–41.
- 50 Tanabe K, Ikegami Y, Ishida R, Andoh T. Inhibition of topoisomerase II by antitumor agents bis(2,6-dioxopiperazine) derivatives. *Cancer Res* 1991; 51(18): 4903–4908.
- 51 Renodon-Corniere A, Jensen LH, Nitiss JL, Jensen PB, Sehested M. Analysis of bisdioxopiperazine dexrazoxane binding to human DNA topoisomerase II alpha: decreased binding as a mechanism of drug resistance. *Biochemistry* 2003; 42(32): 9749–9754.
- 52 Sorensen BS, Sinding J, Andersen AH, Alsner J, Jensen PB, Westergaard O. Mode of action of topoisomerase II-targeting agents at a specific DNA sequence. Uncoupling the DNA binding, cleavage and religation events. *J Mol Biol* 1992; 228(3): 778–786.
- 53 Bojanowski K, Lelievre S, Markovits J, Couprie J, Jacquemin-Sablon A, Larsen AK. Suramin is an inhibitor of DNA topoisomerase II *in vitro* and in Chinese hamster fibrosarcoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(7): 3025–3029.
- 54 Hotinski AK, Lewis ID, Ross DM. Vosaroxin is a novel topoisomerase-II inhibitor with efficacy in relapsed and refractory acute myeloid leukaemia. *Expert Opin Pharmacother* 2015; 16(9): 1395–1402.
- 55 Jensen LH, Thougard AV, Grauslund M, Sokilde B, Carstensen EV, Dvinge HK, Scudiero DA, Jensen PB, Shoemaker RH, Sehested M. Substituted purine analogues define a novel structural class of catalytic topoisomerase II inhibitors. *Cancer Res* 2005; 65(16): 7470–7477.
- 56 Hu CX, Zuo ZL, Xiong B, Ma JG, Geng MY, Lin LP, Jiang HL, Ding J. Salvicine functions as novel topoisomerase II poison by binding to ATP pocket. *Mol Pharmacol* 2006; 70(5): 1593–1601.
- 57 Hisatomi T, Sueoka-Aragane N, Sato A, Tomimasu R, Ide M, Kurimasa A, Okamoto K, Kimura S, Sueoka E. NK314 potentiates antitumor activity with adult T-cell leukemia-lymphoma cells by inhibition of dual targets on topoisomerase II{alpha} and DNA-dependent protein kinase. *Blood* 2011; 117(13): 3575–3584.
- 58 Bau JT, Kurz EU. Structural determinants of the catalytic inhibition of human topoisomerase IIalpha by salicylate analogs and salicylate-based drugs. *Biochem Pharmacol* 2014; 89(4): 464–476.
- 59 Cardenas ME, Walter R, Hanna D, Gasser SM. Casein kinase II copurifies with yeast DNA topoisomerase II and re-activates the dephosphorylated enzyme. *J Cell Sci* 1993; 104(Pt 2): 533–543.
- 60 Kroll DJ, Sullivan DM, Gutierrez-Hartmann A, Hoeffler JP. Modification of DNA topoisomerase II activity via direct interactions with the cyclic adenosine-3',5'-monophosphate response element-binding protein and related transcription factors. *Mol Endocrinol* 1993; 7(3): 305–318.
- 61 Brandt TL, Fraser DJ, Leal S, Halandras PM, Kroll AR, Kroll DJ. c-Myb trans-activates the human DNA topoisomerase IIalpha gene promoter. *J Biol Chem* 1997; 272(10): 6278–6284.
- 62 Hopfner R, Mousli M, Jeltsch JM, Voulgaris A, Lutz Y, Marin C, Bellocq JP, Oudet P, Bronner C. ICBP90, a novel human CCAAT binding protein, involved in the regulation of topoisomerase IIalpha expression. *Cancer Res* 2000; 60(1): 121–128.
- 63 Williams AO, Isaacs RJ, Stowell KM. Down-regulation of human topoisomerase IIalpha expression correlates with relative amounts of specificity factors Sp1 and Sp3 bound at proximal and distal promoter regions. *BMC Mol Biol* 2007;

- 8: 36.
- 64 Brandt TL, Kroll DJ. NF-M trans-activates the human DNA topoisomerase II alpha promoter independently of c-Myb in HL-60 cells. *Leuk Res* 1997; 21(8): 711–720.
- 65 Watt PM, Louis EJ, Borts RH, Hickson ID. Sgs1: a eukaryotic homolog of *E. coli* RecQ that interacts with topoisomerase II *in vivo* and is required for faithful chromosome segregation. *Cell* 1995; 81(2): 253–260.
- 66 Ellis NA, Groden J, Ye TZ, Straughen J, Lennon DJ, Ciocci S, Proytcheva M, German J. The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell* 1995; 83(4): 655–666.
- 67 Huang L, Shitashige M, Satow R, Honda K, Ono M, Yun J, Tomida A, Tsuruo T, Hirohashi S, Yamada T. Functional interaction of DNA topoisomerase IIalpha with the beta-catenin and T-cell factor-4 complex. *Gastroenterology* 2007; 133(5): 1569–1578.
- 68 Li H, Wang Y, Liu X. Plk1-dependent phosphorylation regulates functions of DNA topoisomerase IIalpha in cell cycle progression. *J Biol Chem* 2008; 283(10): 6209–6221.