

**АРСЕНИЙН ТРИОКСИД (АТО)-ИЙН НӨЛӨӨГӨӨР PML БӨӨМИЙН БИЕТ (NB)
ШИНГЭН ТӨСТ ХЭЛБЭРЭЭС ГЕЛЬ ТӨСТ БҮТЭЦ РҮҮ ШИЛЖДЭГ БОЛОХ НЬ**

Аюуш Сайнжаргал¹, Эрдэнэчимэг Сэлэнгэ¹, Болд Жавхлан², Хуа Наранмандура³, Шарав
Болд^{1*}

¹Эрдмийн сургууль, Эм Зүйн Шинжлэх Ухааны Их Сургууль, Улаанбаатар хот, Монгол Улс

²Японы Гунмагийн их сургуулийн төгсөлтийн дараах сургууль, Гунма, Япон

³Institute of Pharmacology & Toxicology and Biochemical Pharmaceuticals,
College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, China

*цахим хаяг: boldshrv@gmail.com

PML NBS SWITCH FROM LIQUID-LIKE TO GEL-LIKE STRUCTURES UPON ATO

Sainjargal Ayush¹, Selenge Erdenechimeg¹, Javkhlan Bold², Hua Naranmandura³, Bold Sharav^{1*}

¹Graduate School, Mongolian University of Pharmaceutical Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

²Graduate School of Gunma University, Gunma, Japan

³Institute of Pharmacology & Toxicology and Biochemical Pharmaceuticals,
College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, China

*email: boldshrv@gmail.com

Abstract:

Introduction: This research work was carried out as a joint project between the People's Republic of China and Mongolia. Mongolian contract number is CHN-2022/278, Chinese contract number is YS2021YFE010725. The title of the project is "The underlying mechanism of the synergistic effect of Arsenic Trioxide and Interferon Alpha on the treatment of Arsenic Resistant Acute Promyelocytic Leukemia". The main executing organisation of Mongolia is the Mongolian Academy of Medical Sciences, and the project implementing organisation of the Chinese is Zhejiang University School of Medicine, and the People's Hospital of Hangzhou Medical College, China.

PML nuclear bodies (NB) are disrupted in PML-RAR α -driven acute promyelocytic leukemia (APL). Arsenic trioxide (ATO) cures 70% of patients with APL, driving PML-RAR α degradation and NB reformation. In non-APL cells, arsenic binding to PML also amplifies NB formation. Yet, the actual molecular mechanism(s) involved remain elusive.

Methods: PML and PML-RAR α condensate dynamics were examined using live-cell time-lapse imaging, confocal and STED super-resolution microscopy, and FRAP analysis in GFP-tagged PmlKO MEFs before and after arsenic trioxide (ATO) treatment.

Here, we establish that PML NBs display some features of liquid-liquid phase separation and that ATO induces a gel-like transition. PML fusion to RAR α altered its distribution in the nucleus, as GFP-PML-RAR α localised into many tiny dots with diam diameter below 100 nm in PmlKO MEFs. The basal dynamics of GFP-PML-RAR α at these microdots were increased compared with PML at NBs, with a t1/2 of 1.37 minutes and, importantly, no immobile fraction. Here again, ATO treatment drastically decreased PML RAR α exchange rates, closer to the dynamics of PML. Thus, ATO therapy drives the gel-like transition of both PML- or PML-RAR α -driven condensates.

Conclusion: These findings show that arsenic trioxide (ATO) converts both PML and PML-RAR α condensates from a liquid-like, highly dynamic state into a gel-like, immobilized structure, revealing a key biophysical mechanism underlying ATO's therapeutic action in APL.

Keywords: joint project, PML, ATO, therapy

Үндэслэл

Энэхүү судалгааны ажил нь БНХАУ-ын болон Монголын Улсын хамтарсан төслөөр

хийгдсэн. Монголын талын гэрээний дугаар CHN-2022/278, БНХАУ-ын талын гэрээний дугаар YS2021YFE010725. Төслийн нэр:

The underlying mechanism of the synergistic effect of Arsenic Trioxide and Interferon Alpha on the treatment of Arsenic Resistant Acute Promyelocytic Leukemia. Монголын талын үндсэн гүйцэтгэгч байгууллага Монголын анагаах ухааны академи, төсөл хэрэгжүүлэгч БНХАУ-ын байгууллага Zhejiang University School of Medicine, People's Hospital of Hangzhou Medical College, China.

Энэ судалгааны ажлын хүрээнд промиелоцит лейкеми (PML) уураг нь эсийн бөөмөнд байрлах уураг бөгөөд эсэд гадны стрессийн өдөөлтөд мэдрэг хариу үзүүлдэг ба өөрөө угсрагдан бөөмийн биет буюу (nuclear body NB) гэх тусгай бүтцийг үүсгэдэг уураг ба эдгээр PML NB нь бүрхүүлгүй органелл (membraneless organelle, MLO)-ийн нэг төрөл бөгөөд фазын ялгаралд (phase separation) суурилсан молекул зохион байгуулалтаар эсийн амин чухал үйл ажиллагаа — апоптоз, насжилтын үйл ажиллагаа, эсийн хуваагдал зэрэг эсийн үндсэн ажиллагаануудад оролцдог хянаж бас зохицуулж байдаг.^{1,2} Мөн түүнчлэн PML уургаар үүсгэгдэх бөөмийн биетүүд нь эсийн бөөм дотор бөмбөлөг хэлбэртэй фазын ялгарал бүхий бүрхүүл үүсгэж гол үйл ажиллагаагаа явуулдаг байна. Ингэхдээ уг уураг дан ганцаар биш RAR α зэрэг уургуудтай холбогдохоос гадна сумойляци зэрэг трансляцын дараах хувирлуудын оролцоотой зохицуулагддаг. Мөн PML уургийн илрэл NB үүсэлт нь олон төрлийн хавдрын үед буурдаг болох нь олон судалгаагаар тогтоогджээ.^{3,4,5} Үүнээс гадна арсенийн триоксид (ATO) болон ретинолын хүчил (RA)-ын хослол нь PML-RAR α -ийн задралтыг дэмжиж, PML NB-ийн дахин үүсэх явцыг хурдасгадаг бөгөөд энэ нь APL эсүүдэд хөгшрөлт төст хариу урвал үзүүлдэг нь тогтоогдсон.⁶ Клиникийн хэрэглээнд ATO нь APL өвчтөнүүдийн 70%-д дангаараа эмчилгээний үр дүн үзүүлдэг^{7,8} бөгөөд энэ нь шууд PML-RAR α болон PML уургуудтай

шууд холбогддог болохыг өмнөх судалгаанууд харуулсан.^{8,9} Гэсэн хэдий ч ATO-ийн нөлөөгөөр PML NB-үүд хэрхэн дахин угсрагдаж, фазын өөрчлөлтөд ордог нарийн молекул механизм бүрэн тайлбарлагдаагүй хэвээр байна. Гэсэн хэдий ч ATO-ийн нөлөөгөөр PML NB-үүд хэрхэн фазын өөрчлөлтөд орж, шингэн төст (liquid-like) төлвөөс гель төст (gel-like) бүтэц рүү шилждэг нарийн молекул механизм нь бүрэн тайлбарлагдаагүй хэвээр байна.¹⁰ Иймд энэхүү судалгаагаар бид ATO нь PML болон PML-RAR α уургийн бөөм доторх конденсатыг хэрхэн өөрчилж, тэдгээрийн динамик, фазын төлөв, нягтшил, хөдөлгөөнт чанарт үзүүлэх нөлөөг тогтоохыг зорьсон.

Судалгааны зорилго

Энэхүү судалгааны зорилго нь ATO-ийн нөлөөгөөр PML ба PML-RAR α уургуудын бөөм доторх конденсатын фазын төлөв хэрхэн өөрчлөгдөж, шингэн төст (liquid-like) бүтэцтэй PML NB нь гель төст (gel-like) төлөвт шилжих молекул-биофизикийн механизмыг тодорхойлох явдал юм.

Судалгааны арга зүй

Эс өсгөвөрлөх болон эсийн эмчилгээ

T-антигенээр трансформчилсон PmlKO MEF эсүүд (манай лабораторид бэлтгэсэн; лавлагаа 46), HEK293T (Platinum-E) болон HeLa эсийн шугамуудыг DMEM тэжээлт орчин (Thermo Fisher Scientific, Cat. 41966029)-д 10% ургалтын ийлдэс (FCS), 50 U/mL пенициллин/стрептомицин, 2 ммоль/л L-глутамин агуулсан нөхцөлд, 37 °C температурт, 5% CO₂ орчинд өсгөвөрлөн үржүүлэв.

PmlWT хулганы үр хөврөлийн үүдэл эсүүд (mESC)-ийг P. Navarro (Пастерын хүрээлэн, Парис)-аас авсан бөгөөд ижил үндсэн орчинд өсгөсөн ч нэмэлтээр 1% амин хүчлийн уусмал, 1% GlutaMAX, 1,000 U/mL LIF, 0.1% β -меркаптоэтанол агуулсан орчинд,

гельтинээр бүрсэн таваг дээр өсгөвөрлөв.

Вестерн блот шинжилгээ

Western blot шинжилгээний зориулалтаар эсийн нийт уургийг Laemmli buffer-д уусган бэлтгэв. Уургийн хандыг Laemmli buffer (200 mmol/L Tris-HCl, pH 6.8, 8% SDS, 40% глицерин, 0.2% бромфенол хөх) болон 20 mmol/L N-ethylmaleimide (NEM) (Sigma-Aldrich, E3876) нэмсэн нөхцөлд, эсвэл үйлдвэрлэгчийн стандарт Laemmli buffer (Sigma-Aldrich, S3401)-оор тус тус боловсруулсан. Уургийн ялгалтыг 4–12% NuPAGE Bis-Tris SDS-PAGE (Thermo Fisher Scientific, NP0336) гель дээр хийж, дараа нь нитроцеллюлоз мембран (BioTrace Pall Laboratory, 732-3031) дээр шилжүүлэн иммуноблот гүйцэтгэв. Дараах анхдагч эсрэг биетүүдийг ашиглав: anti-GFP (1:1000, Roche), anti-HA (1:1000, Covance), anti-Actin (1:1000, Sigma-Aldrich), лабораторийн бэлтгэсэн anti-human PML. Хоёрдогч эсрэг биетүүдийг HRP-конъюгаттай anti-mouse болон anti-rabbit (1:5000, Jackson Immuno-Research) ашиглан илрүүлэв. Сигналыг SuperSignal West Dura эсвэл West Femto (Thermo Fisher Scientific, 34076 / 34096) субстратаар илрүүлж, Vilber Fusion-Fx системээр дүрсжүүлсэн. Өвөрмөц бус дохио гарахаас сэргийлж, мембраныг дахин хуулах (re-probing) аргыг хэрэглээгүй.

Иммуно будалт ба микроскопийн шинжилгээ

Иммунобудагдалтын шинжилгээнд эсийг PBS + 0.5% Triton X-100 уусмалаар нэвчүүлэн, 10% формалинаар бэхжүүлж, дараа нь GFP, HA, FLAG, PML, SUMO2/3, үН2АХ зэрэг анхдагч эсрэгбиетэй инкубац хийж, Alexa Fluor болон Rhodamine Red-X гэсэн флуоресцент тэмдэглэгээ бүхий хоёрдогч эсрэгбиемүүдээр будсан бөгөөд бөөмийг DAPI-гаар тодруулсан. Дүрслэлийг өндөр нягтралтай Zeiss LSM 980 Airyscan конфокаль микроскоп ба STEDYCON системтэй Axio Observer 7 супер нарийвчлалын STED микроскоп ашиглан, тосон объектив

бүхий 60× болон 100× өсгөлттэйгээр хийж гүйцэтгэсэн.

Судалгааны ажлын үр дүн

АТО-ийн нөлөөгөөр бөөмийн PML биет (NB) шингэн төст хэлбэрээс гель төст бүтэц рүү шилждэг болохыг тогтоосон нь

Бид энэхүү судалгааны өгүүллийг Хуа Наранмандура профессорын зөвшөөрлөөр “Structural Basis of PML-RARα Oncoprotein Targeting by Arsenic Unravels a Cysteine Rheostat Controlling PML Body Assembly and Function” өгүүлэлд тулгуурлан бичлээ.¹⁰

PML уургийн бөөмийн биетүүд нь мембрангүй, бөмбөлөг хэлбэрийн органеллууд бөгөөд төв (core), гадаад (shell) давхаргат бүтэцтэй байдаг (Зур. 1А). PML цөмийн биетүүдийн (NB) үүсэлт шингэн фазын тусгаарлалтаар (LLPS) холбоотой эсэхийг тогтоохын тулд бид GFP-PML III-ийг генүүдийг Pml-KO буюу PML уургийн генийг унтраасан хулганын үр хөврөлийн фибробласт (MEF) эсэд шилжүүлэн оруулах замаар генетик инженерчлэл хийсний дараагаар PML уургийн бөөмийн биетүүд нь мембрангүй, бөмбөлөг бүтэц үүсэлтийг микроскофоор хянаж тухайн үзэгдлийн үүсэх хугацааны динамикуыг цагаас хамааруулан судаллаа.

Амьд эсийн дүрслэлээр PML-ийн концентраци тодорхой босго хэмжээнээс хэтрэх үед нуклеоплазмаас ялгарч, тусгаарлагдсан конденсат хэлбэрийн PML NB-үүд үүсэхийг баталгаажуулсан. Эхний шатанд PML уураг нуклеоплазмд жигд тархсан байсан бол GFP-PML-ийн илэрхийлэл нэмэгдэхэд анхны PML NB-үүд үүсэж эхэлж байгааг бид ажиглав (Зур. 1В). NB-үүдийн тоо өсөн нэмэгдсэн ч тэдгээрийн тархалтын загвар өөрчлөгдөөгүй, эс дотор тогтвортой оршин хэвээр байв. Өмнөх судалгаануудын дагуу IFNα эмчилгээ нь PML транскрипцийг идэвхжүүлж, үүний үр дүнд PML NB-үүдийн

тоо олширдог нь батлагдсан байдаг (20, 21). Эдгээр үр дүн нь PML-ийн концентраци тодорхой түвшинг давах үед нуклеоплазмын тархмал төлвөөс тусгаарлагдсан NB хэлбэрт фазын шилжилт явагддагийг нотолж байна. PML NB-үүд хоорондоо нэгдэн шинэ конденсат үүсгэж буй нь тэд шингэн фазын динамик шинж ("liquid-like") илэрхийлдэгийг баталсан (Зур. 1C). NB-ийн нийлэгжилтийн кинетикуудыг хэмжихэд PML-ийн диффузийн коэффициент болон гадаргуугийн зурамтгай чанар нь 10^{-3} $\text{Pa}\cdot\text{s}$ орчим байсан бөгөөд энэ нь нуклеол болон цөмийн спекл зэрэг бусад мембрангүй органеллуудтай төстэй үзүүлэлт байв. Мөн GFP-PML-ийн нуклеоплазмд тархсан төлвөөс NB үүсэх явц болон NB-үүдийн нийлэгжилт, нэгдэл, салалтын давтамжийг тоон хэмжилтээр тодорхойлсон (Зур. 1D). Нэг эсэд дунджаар ~40 NB үүсдэг бөгөөд NB-үүдийн нийлэгжилт ба нэгдлийн давтамж ойролцоо байсан ч салалтын үзэгдэл маш ховор ажиглагдсан. NB доторх PML-ийн хөдөлгөөнт чанарыг FRAP шинжилгээгээр үнэлэхэд, PML нь нуклеоплазм болон NB хооронд идэвхтэй солилцоо хийдэг бөгөөд флуоресценцийн хагас сэргэлтийн хугацаа ($t_{1/2}$) 3.2 минут байгааг тогтоов (Зур. 1E).

Дээрх бүх хэмжилтийн дүн нь PML NB-үүд тодорхой хэмжээнд шингэн фазын конденсат (LLPS)-ын шинж чанар бүхий бүтэц болохыг баталж байна. Гэхдээ PML NB доторх PML уургийн тогтворжилтын хугацаа нь Ca^{2+} биет, цөмийн спекл, нуклеол зэрэг бусад мембрангүй органеллуудтай харьцуулахад хамаагүй урт байгаагийн улмаас NB доторх уургийн харилцан үйлчлэл илүү хүчтэй, тогтвортой байдаг нь тогтоогдсон. FRAP шинжилгээнд NB доторх флуоресценцийн 30 % нь сэргээгдэхгүй үлдсэн нь PML NB-д хөдөлгөөнт болон хөдөлгөөнгүй гэсэн хоёр өөр PML фракц оршин байдгийг илтгэж байна.

Өөрөөр хэлбэл, нэг фракц нь нуклеоплазмтай идэвхтэй солилцоо хийдэг бол нөгөө нь NB дотор тогтвортой, хөдөлгөөнгүй төлөвт хадгалагддаг. PML уургийн үндсэн (core) болон бүрхүүл (shell) бүтэц нь зөвхөн LLPS буюу шингэн фазын ялгаралт (Phase Separation) дээр үндэслэсэн энгийн үзэгдлээр NB цөмийн биет үүсэлтийг тайлбарлахад эргэлзээ үүсгэж байна. АТО эмчилгээний дараагаар PML-ийн нуклеоплазм дахь тархмал хэлбэр огцом буурч, NB-д хуримтлагдах хувь нэмэгдэн, NB доторх PML уургийн хөдөлгөөнт байдал эрс багасч бараг бүрэн хөдөлгөөнгүй төлөвт шилжсэн нь тогтоогдсон (Зураг 1E).

Амьд эсийн дүрслэл болон супер нарийвчлалтай микроскопийн аргуудаар PML NB-үүд АТО-ын нөлөөнд бүрэн нэгдэлгүйгээр утаслаг, суналдсан бүтэцтэй болох нь тогтоогдсон бөгөөд энэ нь тэдний зурамтгай ба гель төст шинж чанар нэмэгдэж байгааг илтгэнэ (Зураг 1F, G). Эдгээр ажиглалтаас үзэхэд АТО нь PML NB-ийн шингэн фазын төлвийг гелэн бүтэц рүү шилжүүлэх фазын өөрчлөлтийг өдөөдөг гол хүчин зүйл болох нь нотлогдов. PML-ийн RAR α -тай нэгдсэн хэлбэр буюу PML-RAR α онкоуураг нь цөм доторх байрлалаа өөрчилж, PmlKO MEF эсүүдэд 100 нм-ээс бага диаметртэй олон тооны микроконденсат байдлаар хуримтлагдан байрлаж байгааг бид ажиглав (Зураг 1F). Микроконденсат дахь GFP-PML-RAR α -ийн хөдөлгөөнт динамик нь PML-тэй харьцуулахад илүү хурдан бөгөөд флуоресценцийн хагас сэргэлтийн хугацаа ($t_{1/2}$) 1.37 минут байсан ба хөдөлгөөнгүй фракц бараг илрээгүй нь тогтоогдсон (Зураг 1H).

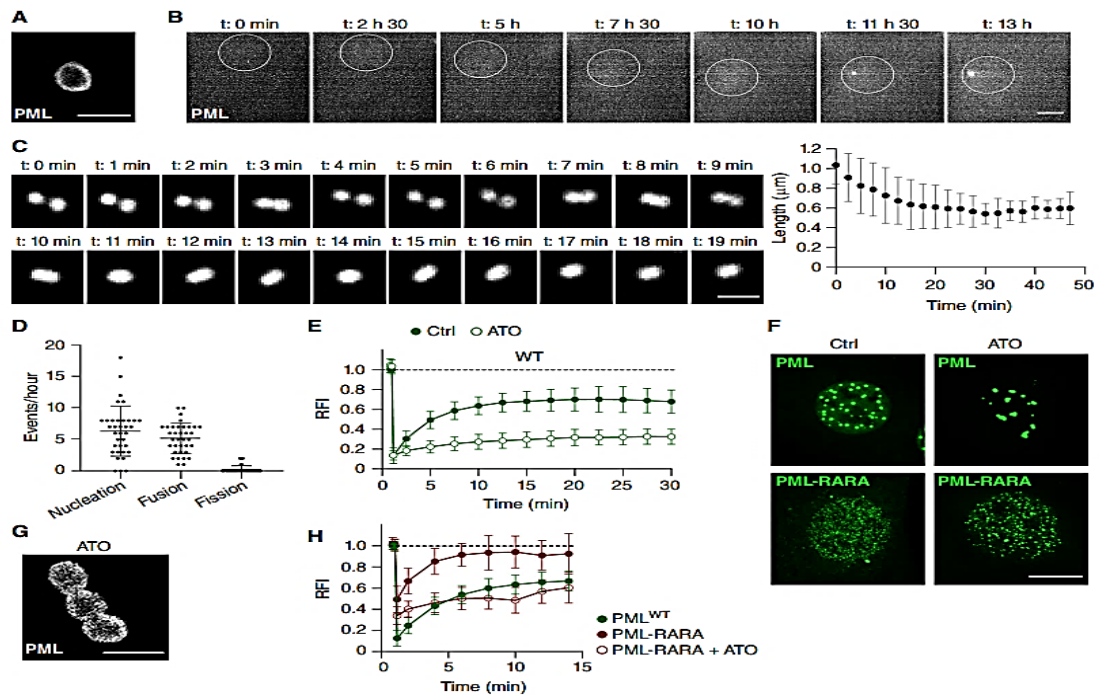


Figure 1. PML NBs display hallmarks of LLPS and switch to gel-like features upon ATO exposure

- A: STED analysis uncovers the typical spherical core-shell PML NB. Scale bar, 1 μ m
- B: Time-lapse analysis of PML NB apposition upon GFP-PMLWT expression in PmlKO MEFs. The white circle indicates the nucleus. Representative data from three independent experiments. Scale bar, 5 μ m
- C: PML NBs undergo fusion with spherical relaxation, similar to liquid-like droplets. Representative time-lapse of PML NB fusion (left) and quantification of effective viscosity (right). Mean values $\pm$ SD of $n = 21$ fusion events in independent cells from three independent experiments. Scale bar, 1 μ m
- D: Quantification of PML NB nucleation, fusion, and fission events over 1 hour. Mean value $\pm$ SD of $n = 37$ cells from five independent experiments
- E: FRAP analyses of GFP-PMLWT dynamics at NBs in control (Ctrl) or ATO-treated MEFs (1 μ mol/L, 30 minutes). Mean value $\pm$ SD. Number of NBs assessed Ctrl ($n = 36$), ATO ($n = 28$), from at least five independent experiments. WT, wild-type.
- F: Confocal analysis of PML NBs in GFP-PMLWT or GFP-PML-RARA MEFs treated with 1 μ mol/L of ATO for 1 hour. Scale bar, 5 μ m
- G: STED analysis demonstrating incomplete PML NB fusion upon ATO in PMLKO MEFs s. Scale bar, 1 μ m
- H: Comparison between GFP-PMLWT and GFP-PML-RARA dynamics at NBs by FRAP. ATO treatment (1 μ mol/L, 30 minutes) induces a liquid- to gel-like transition of GFP-PML-RARA. Mean value $\pm$ SD. Number of dots assessed PML ($n = 36$), PML-RARA ($n = 20$), PML-RARA+ATO ($n = 37$), from at least five independent experiments. RFI, Relative fluorescence intensity.

Хэлцэмж

Энэхүү судалгаагаар бид PML бөөмийн биетүүд (PML NBs) нь шингэн фазын

тусгаарлалтын (LLPS) зарчмаар үүсдэг бөгөөд тодорхой нөхцөлд шингэн-төст төлвөөс гель-төст конденсат руу шилжих чадвартай болохыг тогтоов. PML NB-ийн угсралт нь зөвхөн SUMO-лолт болон SUMO/SIM-д суурилсан харилцан үйлчлэлээр тайлбарлагдах боломжгүй бөгөөд PML уургийн дотоод харилцан холбоо нь шингэн-гель фазын шилжилтийг тодорхойлдог болохыг FRAP болон өндөр нарийвчлалтай дүрслэлийн аргуудаар батлав.

АТО эмчилгээ нь PML болон PML-RAR α -ийн бөөм доторх конденсатын солилцооны хурдыг огцом бууруулж, динамик “liquid-like” төлвөөс бараг хөдөлгөөнгүй “gel-like” төлөв рүү шилжүүлдэг нь бидний судалгааны гол ололт байв. Энэ нь АТО-ийн эмийн үйлдэл зөвхөн PML-RAR α -ийн задралд бус, конденсатыг физик-фазын түвшинд өөрчилдөг механизмаар явагддаг болохыг илтгэнэ.

Мөн PML-RAR α онкоуураг нь PML-тэй харьцуулахад илүү өндөр солилцооны хурдтай, жижиг микроконденсат хэлбэрээр байрладаг боловч АТО-ийн нөлөөгөөр түүний динамик мөн адил гель төст байдалд орж, PML-ийн зан үйлийг дууриаж байгааг тогтоосон нь APL-ийн эмчилгээний молекулын үндэслэлд шинэ тайлбар нэмэж байна.

Иймээс энэхүү ажил нь PML NB-ийн биофизикийн төлөв, түүний фазын шилжилт, АТО-ийн эмчилгээний молекулын түвшний үндэслэлийг шинээр тодорхойлсон бөгөөд PML-тэй холбоотой өвчний механизм, ялангуяа APL-ийн эмчилгээний стратегийг дахин нарийвчлан судлах суурь болж өгнө.

Дүгнэлт

АТО эмчилгээ нь PML болон PML-RAR α конденсатуудад явагдах молекулын солилцоог мэдэгдэхүйц бууруулж, тэдгээрийн флуоресценцийн сэргэлтийн хурдыг огцом сааруулж байгааг тогтоов. Энэхүү динамик

өөрчлөлт нь NB-үүдийн шингэн төст төлвөөс гель төст бүтэц рүү шилжих явцыг шууд өдөөдөг бөгөөд АТО нь зөвхөн PML-RAR α -г задлах биш, PML конденсатыг фазын хувирлыг дагуу гелжүүлдэг анхны молекулын түвшний нотолгоо болж байна.

Иймд АТО-гийн эмчилгээний үйлдэл нь зөвхөн онкопротеиныг задалдаг механизмаар хязгаарлагдахгүй бөгөөд NB-ийн биофизик төлөвийг өөрчилж, PML-төвтэй конденсацийн гелжилтийг хурдасгах нь APL эмчилгээний молекулын үндсэн механизмын нэг гэж дүгнэв.

Ном зүй

1. Lallemand-Breitenbach V, de Thé H. PML nuclear bodies: from architecture to function. *Curr Opin Cell Biol* 2018;52:154–61.
2. Hsu KS, Kao HY. PML: regulation and multifaceted function beyond tumour suppression. *Cell Biosci* 2018;8:5.
3. H, Pandolfi PP, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: a paradigm for oncoprotein-targeted cure. *Cancer Cell* 2017;32:552–60.
4. Gurrieri C, Nafa K, Merghoub T, Bernardi R, Capodieci P, Biondi A, et al. Mutations of the PML tumour suppressor gene in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2004;103:2358–62.
5. Koken MHM, Linares-Cruz G, Quignon F, Viron A, Chelbi-Alix MK, Sobczak-Thйpot J, et al. The PML growth-suppressor has an altered expression in human oncogenesis. *Oncogene* 1995;10:1315–24.
6. Pandolfi PP, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: a paradigm for oncoprotein-targeted cure. *Cancer Cell* 2017;32:552–60.
7. Mathews V, George B, Chendamarai E, Lakshmi KM, Desire S, Balasubramanian P, et al. Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: long-term follow-up

- data. J Clin Oncol 2010;28:3866–71.
8. Mathews V, George B, Lakshmi KM, Viswabandya A, Bajel A, Balasubramanian P, et al. Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: durable remissions with minimal toxicity. Blood 2006;107:2627–32.
9. Jeanne M, Lallemand-Breitenbach V, Ferhi O, Koken M, Le Bras M, Duffort S, et al. PML/RARA oxidation and arsenic binding initiate the antileukemia response of As₂O₃. Cancer Cell 2010;18:88–98.
10. Zhang XW, Yan XJ, Zhou ZR, Yang FF, Wu ZY, Sun HB, et al. Arsenic trioxide controls the fate of the PML-RAR α oncoprotein by directly binding PML. Science 2010;328:240–3.
11. Pierre Bercier, Qian Qian Wang, Ning Zang, Jie Zhang, Chang Yang, Yasen Maimaitiyiming, Majdouline Abou-Ghali, Caroline Berthier, Chengchen Wu, Michiko Niwa-Kawakita, Thassadite Dirami, Marie-Claude Geoffroy, Omar Ferhi, Samuel Quentin, Shirine Benhenda, Yasumitsu Ogra, Zohar Gueroui, Chun Zhou, Hua Naranmandura, Hugues de Thй, and Valйrie Lallemand-Breitenbach. Structural Basis of PML-RARA Oncoprotein Targeting by Arsenic Unravels a Cysteine Rheostat Controlling PML Body Assembly and Function. Cancer Discov. 2023 Dec 12;13(12):2548-2565.