УДК 577.2

КРАТКИЙ ОБЗОР БЕЛКОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ДНК У ЧЕЛОВЕКА

Гуцол Л.О., Минакина Л.Н., Егорова И.Э., Непомнящих С.Ф., Ясько М.В.
ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации», Иркутск, e-mail: gutzol@list.ru

Молекула ДНК обеспечивает хранение и передачу следующему поколению генетической информации. При этом, молекула ДНК постоянно повреждается спонтанно или под влиянием разнообразных внутренних и внешних факторов. Поэтому в процессе эволюции у всех живых организмов сформировалась сложная система репарации. Эта система включает в себя несколько различных взаимодополняющих и взаимозаменяющих механизмов и обеспечивается большим количеством различных белков. Одним из наиболее сложных механизмов репарации, обеспечиваемой несколькими десятками белков является эксцизионная репарация.

Ключевые слова: репарация ДНК, эксцизионная репарация, эксцизионная репарация оснований, BER, эксцизионная репарация неспаренных оснований, MMR, эксцизионная репарация нуклеотидов, NER

CONCISE REVIEW OF EXCISION DNA REPAIR PROTEINS IN HUMANS

Gutsol L.O., Minakina L.N, Egorova I.E., Nepomniashikh S.F., Yasko M.V.
Irkutsk State Medical University, Irkutsk), e-mail: gutzol@list.ru

DNA molecule provides the storage and transmission of genetic information to the next generation. In which process DNA molecule spontaneously or under the influence of various external and internal factors are constantly damaged. Therefore, in the process of evolution all living organisms have formed a complex system of reparations. This system includes several different mutually interchangeable mechanisms and is ensured with large number of different proteins. One of the most complex repair mechanisms which implicate several dozen proteins is excision repair.

Keywords: repair DNA, excision repair, base excision repair, BER, mismatch repair, MMR, nucleotide excision repair, NER

Молекула ДНК является носителем генетической информации в клетке каждого живого существа, ее целостность и стабильность имеют важное значение для жизни. При этом ДНК постоянно атакуется эндогенными метаболитами, лекарственными препаратами, электромагнитными излучениями и множеством других мутагенов окружающей среды, которые влияют на целостность этой молекулы. Например, ультрафиолетовые лучи вызывают образование пиримидиновых димеров, 4,6-фотопродуктов, аддуктов, разрывов ДНК [6]. Под действием химических агентов происходят разного рода модификации нуклеотидов, возникают межнитевые сшивки, конформационные дефекты. К тому же известно, что структура молекулы ДНК может изменяться в процессе репликации: ДНК-полимераза, синтезируя новую цепь, делает ошибки, вставляя некомплементарные нуклеотиды. Скорость, с которой ДНК-полимераза добавляет неправильные нуклеотиды в процессе репликации ДНК, является важным фактором, определяющим частоту возникновения спонтанных мутаций в организме. Вставка ошибочного нуклеотида обычно распознается сразу, в процессе репликации, и исправляется самими полимеразами, но некоторые мутации все-таки «ускользают» от правки и сохраняются на дочерней нити. Кроме того, обычным повреждением является спонтанное отщепление оснований, достигающее 10 тыс. событий на геном человека в сутки [79].

Поскольку молекулы ДНК являются для клетки уникальными и невосполнимыми, в процессе эволюции сформировалась сложная система восстановления структуры ДНК, включающая несколько механизмов репарации и сотни белков, обеспечивающих процесс восстановления нормальной структуры ДНК. В реализации некоторых механизмов репарации достаточно участия только одного фермента, но большинство механизмов обеспечиваются несколькими ферментами, и это определяет сложность, многоэтапность процесса восстановления нативной структуры ДНК. К таким сложным многоэтапным процессам относится эксцизионная репарация ДНК (от excision (англ.) – удаление, вырезание). Выделяют три типа эксцизионной репарации, свои названия они получили от типа исправляемого повреждения.

1. Эксцизионная репарация оснований (base excision repair, BER).

2. Эксцизионная репарация неспаренных оснований (mismatch repair, MMR).

3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER).

Все эти виды эксцизионной репарации имеют общие этапы: распознавание повреждения; надрезание нити ДНК (сахарофосфатного остова); эксцизия (удаление) участка, содержащего повреждение; репаративный синтез на неповрежденной матрице и лигирование. При этом, несмотря на лежащий в их основе общий процесс вырезания участка ДНК с повреждением, они принципиально различаются между собой.

Эксцизионная репарация оснований

Основные повреждения ДНК, удаляемые при BER – неправильно спаренные, окисленные, алкилированные и т.п. основания [11]. Такие повреждения не приводят к нарушению репликации, но являются источником мутаций.

Инициирующими BER белками являются гликозилазы, которые распознают и удаляют поврежденные или неправильные основания, гидролизуя N-гликозидную связь между сахарофосфатным остовом и поврежденным основанием [60, 96]. На сегодняшний день в клетках млекопитающих идентифицировано не менее 11 различных гликозилаз, которые отличаются по субстратной специфичности и репарируемым повреждениям [108]. Обычно определенные гликозилазы репарируют определенные повреждения [11, 43]. Среди гликозилаз млекопитающих можно выделить четыре структурно различных группы: урацил-ДНК-гликозилазы, спираль-шпилька-спираль-гликозилазы, 3-метилпурингликозилазы и эндонуклеаза-VIII-подобные гликозилазы. Несмотря на их структурное разнообразие, все ДНК-гликозилазы используют механизм «отгибания оснований» (base-flipping), при котором основание-мишень перед отщеплением отгибается в сторону от спирали ДНК. Выделяют гликозилазы I и II типа [24]. I тип гликозилаз только удаляет модифицированные основания и оставляет в молекуле ДНК апуриновый/апиримидиновый сайт (АП-сайт). II тип гликозилаз сперва удаляет измененное основание, а затем расщепляет нить как 3'-эндонуклеаза и формирует однонитиевый разрыв. После гликозилазы I типа разрез фосфодиэфирной связи совершает АП-эндонуклеаза. Это специальная АП-эндонуклеаза APE1 (син.: APEX, Ref-1, HAP-1) [23, 56, 82, 115]. APE1 (AP endonuclease-1) активируется при взаимодействии с белком XRCC1 (X-ray-induced damage repair cross comlementating) и действует с ним в комплексе [113].

Независимо от механизма разрыва фосфодиэфирной связи, в качестве промежуточной стадии образуется разрыв нити ДНК в котором 3' и 5'-концы модифицированы и блокируют последующую работу репарационных ферментов. Чтобы процесс репарации мог завершиться, эти блокирующие концы должны быть преобразованы в обычные 3'-OH и 5'-фосфатные концы. Это необходимо для реакции с ДНК-полимеразой и далее с ДНК-лигазой. Удаление этих изменённых концов производится разными ферментами, в зависимости от того, произошёл ли разрез с 3' или 5'-стороны от АП-сайта. Например, APE1 помимо своей основной АП-эндонуклеазной активности обладает также 3'-фосфодиэстеразной активностью, позволяющей ей восстанавливать 3'-OH конец из 3'-фосфо-α, β-ненасыщенного альдегида. 3'-фосфатный конец, образующийся в результате действия некоторых двухфункциональных ДНК-гликозилаз, преобразуется в 3'-OH конец посредством 3'-фосфатазной активности PNKP (3'-фосфатазной полинуклеотидкиназы) [1]. АП-сайты и однонитевые разрывы ДНК должны быть обработаны как можно скорее, поскольку они высокотоксичны и мутагенны [79].

На следующем этапе BER происходит заполнение разрыва посредством синтеза ДНК. Синтез происходит по двум путям, короткозаплаточному (short-patch) и длиннозаплаточному (long-patch), в зависимости от того, вставляется в ДНК один нуклеотид или несколько. Короткозаплаточная BER составляет 80-90 % всей BER.

При short-patch BER ДНК-полимераза β (Pol β) вытесняет 5'-дезоксирибоза-5-фосфат и в цепи образуется брешь, напротив которой в противоположной нити ДНК расположен неповрежденный нуклеотид. Затем, эта же Pol β вставляет комплементарный нуклеотид, присоединяя его к свободному 3’ OH-концу [17, 70, 100].

Также Pol β участвует в long-patch BER, но вставляет только первый нуклеотид в поврежденный АП-сайт, начиная от 3’-OH конца [18,91]. Затем Pol β диссоциирует с поврежденной цепи ДНК и дальнейший синтез осуществляется PCNA-зависимыми полимеразами Pol δ или Pol ε путем репарации длинными фрагментами [26, 71]. PCNA (proliferating cell nuclear antigen) способствует фиксации этих полимераз на цепи ДНК и удерживает их, пока идет синтез фрагмента длиной 2-12 нуклеотида [62]. Одновременно с присоединением нового нуклеотида эти полимеразы вытесняют нуклеотид с поврежденным 5'-концом и последующие нуклеотиды, которые образуют отделенный от матричной цепи «болтающийся» олигонуклеотид – flap structure.

В результате, разрыв в репарируемой цепи ДНК смещается в сторону от первоначального участка повреждения, а небольшой «лишний» отрезок цепи нуклеотидов удаляется с помощью эндонуклеазы FEN1 (Flap endonuclease-1, флэп-эндонуклеаза-1), также зависящей от PCNA [50,69]. FEN1 присоединяется к 5'-концу свисающего участка, перемещается к месту разветвления на этой цепи ДНК и гидролизует связь [62]. Помимо репарации этот фермент принимает активное участие в репликации ДНК: при удалении праймера фрагментов Оказаки также образуются свисающие (flap) концы [114].

Помимо вышеперечисленных факторов, существуют также второстепенные белки, исполняющие в BER вспомогательные функции. Наиболее известные среди них – XRCC1 и PARP1 (poly(ADP-ribose) polymerase-1). XRCC1, по-видимому, не обладает ферментативной активностью, но выполняет структурную роль. XRCC1 напрямую прикрепляется к поврежденной ДНК в районе своего N-концевого домена и служит основой для сборки ряда ферментативных компонентов, участвующих в BER, таких, как многие ДНК-гликозилазы, Pol β , APE1, лигаза III, PNKP [8,68]. Кроме того, к XRCC1 прикрепляется белок PARP1, который в большом количестве присутствует в ядре и играет роль молекулярного датчика, чувствительного к разрывам в ДНК-цепи. Обнаружив повреждение, PARP1 прикрепляется к ДНК-мишени и инициирует синтез поли-АДФ-рибозы (ПАР) в самом себе, а также ещё в нескольких белках. Эта модификация вызывает прикрепление к PARP1 репарационных белков, таких, как XRCC1. В то же время отрицательный заряд ПАР приводит к отщеплению PARP1 от ДНК, давая таким образом доступ белкам репарации к повреждённому участку [67].

Лигирование фосфодиэфирной связи осуществляется ДНК-лигазами I и III. Лигаза I взаимодействует PCNA и Pol β, но участвует в основном в длиннозаплаточной BER [92,101]. ДНК-лигаза III взаимодействует с XRCC1, Pol β и PARP-1 и включается только в короткозаплаточной BER [52,109]. Также важную роль в регуляции BER играет белок p53. In vitro этот белок стимулирует BER, непосредственно взаимодействуя с APE and Pol β, стабилизируя Pol β и связывая ее с АП-сайтом [16].

Репарация неспаренных оснований

Этот вид репарации исправляет ошибки, возникшие в процессе удвоения ДНК. В ходе репликации с частотой от 1:10000 до 1:100000 полимеразы вставляют некомплементарные нуклеотиды. Такие, ошибочно вставленные, основания называются мисмэтчи (mismatches). После неверно вставленного нуклеотида полимеразы в большинстве случаев не способны продолжить работу из-за того, что в этом месте в двойной спирали образуется пузырь или впячивание, наличие которых не позволят полимеразе добавить следующий нуклеотид к растущему 3’-OH-концу. Остановка в работе полимеразы дает возможность экзонуклеазам, сопровождающим все репликативные полимеразы, удалить неспаренный нуклеотид с 3’-конца вновь синтезируемой цепи. Этот процесс очень эффективен и увеличивает точность репликации на два порядка. Таким образом, белкам MMR приходится иметь дело только с теми ошибками репликации, которым удалось избежать этого корректирующего механизма [46]. Чаще ошибочно вставляются те нуклеотиды, которые производят минимум искажений спиральной структуры [3].

Мисмэтчи представляют собой уникальный тип повреждений, так как целиком состоят из неповреждённых оснований и являются исключительно дефектами структуры. Также мишенью MMR являются петли на одной из нитей ДНК, образовавшиеся вследствие делеции или вставки нуклеотидов (петли делеции/вставки, ПДВ). Специфика таких повреждений состоит в том, что после следующего процесса репликации и разделения нитей ДНК ПДВ расправляются и по ним синтезируется новая дочерняя нить, которая будет длиннее или короче нативной. Если до следующей репликации эти изменения не будут исправлены, у половины потомства клетки окажется ДНК с мутациями [44, 46].

Механизмы различения дочерней цепи, содержащей ошибки, и материнской – эталонной цепи, находятся в процессе исследования. Было выяснено, что для активации экзонуклеаз необходимо наличие на репарируемой нити уже имеющегося разрыва. Предполагают, что у эукариот маркерами, отличающими материнскую нить от дочерней, являются нелигированные разрывы фрагментов Оказаки. Работы T. Kunkel показали, что при пострепликативной MMR эксцизия инициируется у 3’-конца дочерней ДНК и, возможно, у 5’-концов фрагментов Оказаки [53].

Основным белком-инициатором MMR является MSH2, который обнаруживает ошибку в структуре нити ДНК и, в зависимости от типа повреждения образует гетеродимер либо с MSH6 либо с MSH3: для коррекции мисмэтча требуется MSH6, а для исправления ПДВ необходимо участие и MSH6 и MSH3 [35].

После ассоциации MSH2 со вторым белком образуются комплексы-MutSα или MutSβ, которые формируются на нити ДНК в месте локализации ошибки. Ферменты семейства Mut получили это название, потому что ещё до выясненя их функций было замечено, что мутации в кодирующих их генах приводят к резкому повышению частоты возникновения новых мутаций.

MutSα состоит из белков MSH2 и MSH6 [22, 54]. MutSα содержит 80-90% всего клеточного MSH2 и преимущественно опознает несоответствие оснований и ПДВ, в которых петля содержит 1 или 2 непарных нуклеотида. Также ограниченно способен распознавать ПДВ большей протяженности [19, 28, 86].

MutSβ включает в себя белки MSH2 и MSH3 [2, 86]. MutSβ распознает ПДВ протяженностью от 2-х до 10 нуклеотидов, слабо распознает однонуклеотидные ПДВ, и практически инертен к ошибочно спаренным основаниям [28, 85].

Белки MSH2 и MHS6 содержат АТФ/АДФ-связывающие сайты [33].

Возможность использовать несколько различных белков группы MSH в разных комбинациях придаёт системе MMR у эукариот значительную гибкость, так как эти белки несколько различаются по свойствам. Субъединица MSH6 содержит высококонсервативный аминоконцевой мотив Gly-Phe-Glu, который можно найти уже в белках MMR прокариот. Этот участок вводится в двойную спираль ДНК и взаимодействует с одним из неправильно спаренных оснований, что приводит к изгибу ДНК на 60°. Взаимодействие стабилизируется образованием водородных связей между глутаматом и атомами N3 и N7 неспаренного основания [77]. ПДВ размером в 1-2 основания распознаются с помощью содержащегося в той же субъединице фенилаланина. В комплексе MutSβ непосредственно связывается с повреждениями субъединица MSH3. Она использует для связи с ПДВ разного размера остатки лизина и тирозина и изгибает ДНК на 90°. Эта субъединица также способна связывать небольшие мисмэтчи и участвует в исправлении аддуктов, двунитевых разрывов и повторяющихся триплетов [38, 106]. Интересно, что субъединица MSH2, которая не участвует в связывании мисмэтчей, когда она находится в составе MutSα, в составе MutSβ способна связывать крупные ПДВ.

Аминокислоты, опознающие повреждения ДНК, находятся на N-концах соответствующих белков MSH, тогда как их карбоксильные концы образуют АТФ-связывающие домены [93]. Ещё ранние эксперименты показали, что MSH, будучи связанным с мисмэтчем, претерпевает под воздействием АТФ изменение конформации.

После связывания с мисмэтчем MutSα ассоциируется с другим гетеродимерным комплексом MutLα, состоящим из белков MLH1 и PMS2 [57,78].

Комплекс MutLα объединяет и координирует взаимодействие между белками, распознающими несоответствия, и другими белками MMR.

В ходе исследований выяснилось, что субъединица PMS2 комплекса MutLα обладает скрытой эндонуклеазной активностью, которая, будучи активированной, приводит к образованию дополнительных разрывов в нити ДНК, уже содержащей хотя бы один инициирующий разрыв [47].

После связывания гетеромера MutSα с мисмэтчем происходит обмен АДФ на АТФ и MutSα превращается в «скользящий зажим», а после присоединения к нему гетеромера MutLα весь комплекс начинает скользить (перемещаться) вдоль оси ДНК пока не встречает еще один комплекс белков – PCNA (proliferating cell nuclear antigen). PCNA является кольцеобразным гомотримером, имеющим две чётко различимых поверхности. На ДНК он загружается с помощью специального загрузчика RFC (replication factor C) с 3'-стороны от ближайшего разрыва и всегда одной и той же поверхностью к 3'-концу. На 3'-субстрате это приводит к активации скрытой эндонуклеазной активности MutLα и образованию дополнительных разрывов по обе стороны от мисмэтча [89].

Для активации эндонуклеазной активности MutLα необходимо присоединение PCNA. Будучи загруженным, кольцо может свободно вращаться вокруг продольной оси ДНК, но неспособно развернуться. Из этого вытекает, что когда PCNA связывает своих партнеров с ДНК, вновь образовавшиеся комплексы имеют фиксированную ориентацию, которая сохраняется даже после перемещения комплекса на значительное расстояние от места первоначальной сборки. После связывания с PCNA ориентация MutLα фиксирована. Поскольку MutLα имеет всего один сайт с эндонуклеазной активностью, он будет разрезать только одну нить ДНК, причём направление разрезания будет зависеть от того, на какой из сторон PCNA он окажется расположен. Остается невыясненным, почему новые разрывы производятся преимущественно в окрестностях дефекта. Вероятным объяснением является то, что производящая разрезы эндонуклеаза является частью не просто комплекса MutLα с PCNA, но комплексом PCNA с уже

объединёнными MutLα и MutSα, а так как их объединение активируется дефектом, то и количество комплексов вблизи дефекта будет максимальным [90].

На этапе удаления мисмэтча или ПДВ подключается экзонуклеаза I (Exo1), которая является 5'→ 3'-экзонуклеазой [29, 32]. Exo1 загружается на разрывы активированным комплексом MutSα/MutLα и создаёт пробел в нити ДНК, начинающийся с разрыва и заканчивающийся примерно в 150 нуклеотидах после дефекта [74].

Восстановление ПДВ длиннее двух-трёх нуклеотидов, как предполагалось, имеет механику, идентичную описанной, но с использованием MutSβ вместо MutSα.. Впрочем, недавние исследования ставят это под сомнение. В исследовании R.R. Iyer с сотрудниками показано, что MLH1 и PCNA, по-видимому, связываются с MSH3 в одном и том же участке (или на частично перекрывающихся участках) [40]. Таким образом MutSβ не может взаимодействовать с MutLα и PCNA одновременно. Кроме того, кольцо PCNA не могло бы мигрировать на 5'-сторону от крупной петли и обеспечить там работу Exo1.

Незначительное участие в репарцях, определяемых MutSα, может принимать и комплекс MutLγ (MLH1 и MLH3) [10].

Восстановление структуры дочерней нити ДНК выполняет ДНК-полимераза δ (pol δ). Для надежной фиксации Pol δ на цепи также необходимы комплексы PCNA и RFC [65]. Завершается процесс MMR соединением концов сахарофосфатного остова репарированной дочерней нити и образованием фосфодиэфирной связи. Этот процесс осуществляет ДНК-лигаза I [45, 58, 74].

Эксцизионная репарация нуклеотидов

Эксцизионная репарация нуклеотидов является универсальным механизмом репарации ДНК. NER одним и тем же набором ферментов может распознавать самые разнообразные повреждения, искажающие спираль ДНК. При этом повреждения не обладают сходной химической структурой, но их объединяет то, что все они дестабилизируют двойную спираль ДНК и являются массивными [39].

Белки, реализующие NER, вначале распознают повреждение, затем раскручивают молекулу ДНК, удаляют олигонуклеотид, содержащий поврежденный нуклеотид, восстанавливают последовательность нуклеотидов на поврежденной нити и сшивают молекулу. Низкая специфичность этого вида репарации определяется тем, что удаляется не только модифицированный нуклеотид, но цепочка нуклеотидов, в ряду которых находится и поврежденный [12, 111].

На этапе распознавания повреждения различают два варианта эсцизионной репарации нуклеотидов: NER, реализуемая по всему геному, и NER, связанная с транскрипцией [30,36].

NER по всему геному – GG-NER (global genome nucleotide excision repair). При этом виде NER поиск и удаление объемных повреждений осуществляется во всем геноме, включая нетранскрибируемые участки и молчащий хроматин. GG-NER инициируется комплексом XPC/HR23B/CEN2 (XP complementation group C, Rad23 homolog B, Centrin-2, – белок XP с комплементационной группой C; гомолог B белка Rad 23; центрин-2).

В этом комплексе HR23B и CEN2 являются вспомогательными белками, которые увеличивают сродство и прочность связывания XPC с поврежденной спиралью ДНК. Оба этих белка присутствуют в клетке в парциальном изобилии и их истощение делает клетку чувствительной к УФ [80]. Помимо этих белков, ДНК-связывающая способность XPC в целом коррелирует со степенью искажения спирали ДНК [97]. Белок HR23B, кроме структурной, имеет также и более специфическую функцию, стимулируя процесс опознания повреждений. После опознания повреждения HR23B диссоциирует от XPC [6,73].

Комплекс XPC/HR23B постоянно движется вдоль молекулы ДНК, распознает повреждения и служит матрицей, на которой осуществляется сборка ключевых факторов, реализующих удаление повреждения и репарацию этого участка. При этом элемент XPC распознаёт термодинамически неустойчивый участок молекулы [105].

XPC имеет два основных функциональных домена [72]. ДНК-связывающий домен, неспецифичный как к последовательности связываемой ДНК, так и к типу повреждения, состоит, в свою очередь, из трансглутамаза-гомологичного домена и β-шпилька-домена (BHD1), заякоривающего белок на ДНК. Двойной β-шпилька-домен (BHD2/3) связывает неповреждённую нить ДНК, не вступая с повреждением в прямой контакт и вместо этого охватывая два нуклеотида, расположенные напротив повреждения. Этот «карман связывания» специфичен для неповреждённой ДНК и не мог бы вместить массивные аддукты. Таким образом, XPC прикрепляется только к неповреждённой нити ДНК. Такой характер связывания делает возможным для XPC связывать большое разнообразие структурно различных массивных повреждений [63].

NER, связанная с транскрипцией – TC-NER (transcription-coupled nucleotide excision repair). В этом случае поиск и удаление объемных повреждений осуществляется в транскрибируемых участках. Инициируется TC-NER остановкой РНК-полимеразы II перед повреждённым участком ДНК [25]. Затем белки CSA и CSB вытесняют РНК-полимеразу, освобождая место повреждения для белков NER [36]. Комплекс белков TFIIH способствует переключению с РНК-полимеразного комплекса (с РНК-полимеразой II) на комплекс NER. При этом транскрипционный аппарат не разрушается. После завершения репарации к цепи ДНК вновь присоединяются CSA и CSB и транскрипция РНК-полимеразным комплексом продолжается [110]. TC-NER активируют не только объемные повреждения, но и повреждения, которые обычно репарируются в процессе BER [16].

Независимо от способа распознавания повреждения и инициации репарации, процесс восстановления нативной структуры ДНК реализуется по одному механизму [30, 36]. К месту повреждения подходят 10 белков и объединяются в мультифункциональный транскрипционный фактор TFIIH (multi-functional transcription factor). TFIIH состоит из 10 субъединиц. В образовавшемся комплексе можно выделить центральную часть (состоящую из XPB, p52, p8, p62, p34, p44) и циклинактивируемый комплекс (CAK, состоит из CDK7, циклина H и MAT1), а также соединяющий их белок XPD [15.] CAK от TFIIH диссоциирует и непосредственно в NER не участвует [4, 14].

Затем, две ассоциированные с TFIIH АТФ-зависимые геликазы XPB и XPD раскручивают спираль ДНК и образуют «пузырь» длиной примерно в 30 нуклеотидов по обеим сторонам от повреждения [25, 36, 107].

В исследованиях на археях, имеющих свой аналог XPB, было установлено, что этот белок обеспечивает прикрепление комплекса TFIIH к ДНК, а также обладает важной для процесса NER АТФазной активностью. В процессе прикрепления к ДНК белок претерпевает значительные структурные изменения [21]. Как XPB, так и XPD являются каталитическими ферментами, служащими движущей силой всего TFIIH в NER.

Роль остальных субъединиц также постепенно начинает проясняться. Показано, что p52 стимулирует активность XPB, а p44 тесно взаимодействует с XPD и также стимулирует его деятельность [13]. Неожиданно важной оказалась роль p8, самой маленькой из субъединиц. В её отсутствие нарушается разделение двойной спирали ДНК и присоединение XPA [14].

Присоединением XPD завершается сборка первичного комплекса NER. Далее к участку повреждения независимо друг от друга присоединяются XPA, RPA и XPG, а XPC-HR23B на этом этапе от комплекса отделяется. Центральным элементом комплекса теперь служит XPA [31]. Этот белок взаимодействует практически со всеми остальными и его вероятная роль заключается в том, чтобы все части комплекса NER находились на своих местах к тому моменту, как будет произведён надрез.

Особенно тесно XPA сотрудничает с белком RPA, связывающим однонитевую ДНК и состоящим из трех субъединиц (RPA70, RPA32 и RPA14). Считается, что XPA и RPA совместно связываются с ДНК [94]. Оптимальный участок связывания ДНК для RPA состоит примерно из 30 нуклеотидов, то есть как раз такой, какой подвергается вырезанию при NER. Полагают, что RPA прикрепляется к неповреждённой нити ДНК, и тем самым помогает двум эндонуклеазам ERCC1-XPF и XPG разместиться на их субстрате – повреждённой нити ДНК. RPA играет важную роль в координации событий эксцизии и репаративного синтеза [84].

XPG играет в NER структурную и ферментативную функцию. Структурно-специфичная эндонуклеаза XPG присоединяется к TFIIH и, по-видимому, остаётся с ним связанной, по крайней мере, при исполнении некоторых из своих функций [40]. После завершения сборки комплекса XPG производит разрез ДНК с 3’-конца, после чего разрезает 5’-конец. С другой стороны, недавнее исследование предполагает, что первой разрез совершает как раз ERCC1-XPF, для чего ему требуется присутствие, но не активность XPG [20]. Это подтверждается сведениями о том, что репарационный синтез может начаться и пройти до половины длины заполняемого разрыва ещё до инцизии ДНК ферментом XPG [102].

Инцизия рестриктазой XPF оставляет свободную 3’-гидроксильную группу, от которой репликационный механизм может сразу начать репарационный синтез. Напротив, разрезание XPG оставляет после себя 5’-фосфат, который не может служить началом для синтеза и необходим только на этапе лигирования [34].

Комплекс из TFIIH, XPA, RPA и XPG относительно устойчив и эксцизия запускается только после присоединения ERCC1-XPF, которая рекрутируется белком XPA [83].

После вырезания повреждённого олигонулеотида, он остаётся связанным с TFIIH. Затем TFIIH присоединяет АТФ, а от олигонуклеотида освобождается. Освободивший-

ся олигонуклеотид связывается с RPA и впоследствии подвергается разложению [49].

На основании исследований in vitro считалось, что заполнение разрыва происходит с участием обычных факторов репликации: ДНК-полимераз δ и ε, скользящего «зажима» PCNA, пентамера RFC, который устанавливает «зажим» и RPA [4, 98]. Недавние исследования показали, что этот процесс на самом деле более сложен. Первой неожиданностью оказалось участие подверженной частым ошибкам ДНК-полимеразы κ. Предполагается, что она работает совместно с ДНК-полимеразой δ. Совместно эти две полимеразы осуществляют приблизительно 50% NER. Остальные 50%, вероятно, производит ДНК-полимераза ε. Для того, чтобы принимать участие в NER, каждая из трёх ДНК-полимераз требует своих факторов-партнеров. Для активации полимеразы δ необходимы RFC и PCNA. Для полимеразы κ – PCNA и XRCC1 (белок, участвующий в BER). Для полимеразы ε – модифицированная форма RFC, содержащая Ctf18. Отличаются ли чем-либо функционально пути репарации с использованием различных ДНК-полимераз, пока неизвестно [81].

Механизм последней стадии процесса NER – лигирования разрыва, оставшегося после репарационного синтеза – зависит от пролиферационного статуса клетки. Первоначально считалось, что оно осуществляется только с помощью ДНК-лигазы I, но, как выяснилось, активное участие принимают также ДНК-лигаза IIIα и XRCC1. В клетках, находящихся в состоянии покоя, ДНК-лигаза IIIα и ДНК-полимераза δ для NER абсолютно необходимы, а в реплицирующих клетках они также используются, тогда как ДНК-полимераза ε и ДНК-лигаза I используются исключительно в реплицирующих клетках [75].

Как и при всех операциях, совершаемых над ДНК, при NER необходима поддержка белков, модифицирующих хроматин, для получения доступа к нужным участкам ДНК. В общем случае при этом требуется участие двух компонентов: модификатора хвостовых частей гистонов, чтобы уменьшить сродство гистонов к ДНК, и АТФ-зависимых ферментов, переформирующих хромосомы, чтобы иметь возможность перемещать гистоны вдоль ДНК [99]. Исследования показали, что, как и следовало ожидать, NER замедляется при полностью сформированных нуклеосомах, и может неспецифически усиливаться в присутствии перестраивающих хроматин ферментов класса SNF2/SFI2 [37].

В общих чертах механизм NER был известен уже к началу нашего века, однако исследования последнего десятилетия смогли значительно детализировать понимание разных стадий процесса, в особенности, касающихся сборки репаративного комплекса, опознания повреждений и роли NER в функционировании клетки в целом.

Лауреаты Нобелевской премии по химии 2015 года

Шведская Королевская Академия Наук присудила Нобелевскую премию 2015 г. по химии Томасу Линдалю (Tomas Lindahl) из Лаборатории Клэр-Холл Института Френсиса Крика в Хертфордшире (Великобритания), Полу Модричу (Paul Modrich) из Медицинского Института Ховарда Хьюса и Медицинской Школы при Университете Дьюка (США), а также Азиз Санкар (Aziz Sancar) из Университета Северной Каролины в Чапел-Хилл (США) «за исследование механизма восстановления ДНК» [76].

Томас Линдаль. Вехой, отмечающей открытие BER, является выделение урацил-ДНК-гликозилазы Escherichia coli в 1974 г. Томасом Линдалем. Было ясно, что случайно попадающий в ДНК урацил (или образующийся в результате дезаминирования цитозина) должен как-то из неё элиминироваться. Линдаль искал ответственный за это фермент. Неожиданно для исследователей, это оказалась не эндонуклеаза, а фермент, расчленяющий связь между урацилом и рибозой – урацил-ДНК-гликозилаза. Линдаль предположил, что образующийся в результате участок, лишенный пуринового либо пиримидинового основания (АР-сайт) в дальнейшем должен проходить последовательную обработку АР-эндонуклеазой, экзонуклеазой, ДНК-полимеразой и лигазой. Таким образом, уже в самой первой статье были обрисованы основные этапы BER [59]. Первоначально Линдаль изучал нестабильность человеческой ДНК. Ему удалось охарактеризовать и количественно оценить эндогенные повреждения ДНК в работах 1970-80 гг. Исследуя открытый им процесс BER, он выделил несколько ключевых для этого процесса ферментов и описал короткозаплаточный и длиннозаплаточный механизмы BER [61, 76].

Пол Модрич. П. Модрич обнаружил в клетках механизм репарации, который исправляет неправильно спаренные основания. Сейчас этот механизм известен как репарация неспаренных оснований. Он первым установил репарацию мисмэтчей у бактерий: бактерии исправляли неправильно встроенные основания, введенные в ДНК вирусами, поражавшими бактерии. Впоследствии Модрич воссоздал и изучил процесс MMR in vitro и предположил,

что этот вид репарации может исправлять 99,9 % таких ошибок, возникающих в ДНК человека во время репликации.

Его открытие стало важной вехой в исследованиях ДНК, связанной с заболеваниями человека. Например, известно, что врожденные дефекты белков MMR могут привести к наследственным вариантам рака толстой кишки. В течение нескольких лет исследования Модрича были сосредоточены на понимании того, как клетки репарируют мисмэтчи в ДНК. В серии исследований он показал, что репаративные ферменты бактерий различают неметилированные участки ДНК для различения материнской и дочерней нити. В 1989 году он описал систему репарации, состоящую из ДНК-полимеразы III, экзонуклеазы I и ДНК-лигазы, которые могли восстановить мисмэтчи ДНК in vitro.

Азиз Санкар. Санкар открыл процесс, при котором клетки восстанавливают поврежденную УФ ДНК, удаляя весь нуклеотид, а не только поврежденное основание [95]. Он показал, что экзонуклеазы вырезают поврежденную часть ДНК размером около 12 нуклеотидов. Завершается этот процесс активацией ДНК-полимеразы, которая заполняет образовавшуюся брешь, а ДНК-лигазы сшивают отрезки цепи ДНК. У бактерий ремонт таких повреждений осуществляют фотолиазы, которые активируются видимым светом. Как обнаружил Сакнар, в клетках млекопитающих сформированные под влиянием УФ димеры в ДНК исправляются в темноте [76].

В целом, результаты работы трех ученых, Томаса Линдаля, Пола Модрича и Азиза Санкара, полностью изменили представление о стабильности, повреждениях и репарации ДНК. Эта информация стала базой для последующих исследований о роли дефектов белков репарации в возникновении ряда заболеваний.

Некоторые заболевания, вызванные дефектами белков эксцизионной репарации

Дефицит или дефекты белков системы эксцизионной репарации приводят к возникновению у человека ряда наследственных, врожденных и приобретенных заболеваний.

Активные формы кислорода (АФК) являются побочным продуктом клеточного дыхания, повреждают ДНК. Механизм BER участвует в удалении окисленных оснований ДНК в ядрах и митохондриях. Таким образом, дефицит белков BER приводит к повышению уровня повреждения ДНК активными формами кислорода и участвует в развитии многих заболеваний человека, в том числе преждевременного старения, нейродегенерации, рака и др. [5, 9, 48, 55, 64].

Неэффективность работы MMR может привести к возникновению наследственной формы неполипозного рака толстой кишки (ННПРТК), или синдрома Линча. ННПРТК составляет около 20 % всех случаев спорадического колоректального рака. Этот вид рака является следствием накопления большого количества небольших вставок или делеций по всему геному. До двух третей случаев возникновения ННПРТК является следствием мутации генов, кодирующих MSH2 и MLH1. На сегодняшний день обнаружено более 70 различных мутаций генов репарации ДНК приводящих к развитию ННПРТК [6, 42, 87, 88].

Система эксцизионной репарации нуклеотидов была подробно изучена благодаря обнаружению у человека связанных с ней трех фенотипически разрозненных генетических заболеваний. Обширная симптоматика этих заболеваний отражает многочисленные биохимические дефекты, вызванные мутациями. Мутации белков, участвующих в NER, приводят к развитию пигментной ксеродермы, синдрому Коккейна и трихотиодистрофии. Эти заболевания дали названия некоторым группам ферментов, реализующим эксцизионную репарацию нуклеотидов: XP – xeroderma pigmentosum, TTD – trichothiodystrophy, CS – Cockayne syndrome [12, 27].

*Пигментная ксеродерма***.** Больные XP имеют крайне выраженную чувствительность кожи к ультрафиолетовому излучению и 1000-кратное увеличение риска развития рака кожи. Кроме того, у таких больных наблюдается от 10 до 20-кратное увеличение риска развития нескольких видов рака внутренних органов в возрасте до 20 лет, средний возраст появления первой опухоли у больных XP – 8 лет. Нередки неврологические аномалии. Может быть вызвана мутациями в генах, кодирующих любой белок группы XP, от XPA до XPG [7, 51].

Трихотиодистрофия. Аутосомно-рецессивное заболевание, основным симптомом которого является специфическая ломкость волос, проявляющаяся в чередовании светлых и темных полос на волосе при микроскопическом исследовании, а также повышенная чувствительность кожи. Нередко сопровождается психической и умственной отсталостью. Вызывается мутациями в генах XPB и XPD [103].

Синдром Коккейна. Болезнь представляет собой задержку роста и развития, приводящую к карликовости, диспропорции конечностей, глухоте, психической и умственной отсталости и ускоренному старе-

нию, но не связанную с повышением числа опухолей. Пациенты обычно не переживают возраста 12 лет. Может вызываться мутациями в генах XPB, XPD и XPG, а также CSA и CSB [66, 112].

Весь комплекс систем репарации ДНК связан в единую сеть с ферментативными механизмами репликации ДНК, транскрипции, управления клеточным циклом, апоптозом. Отказ любой из этих систем способен приводить к мутациям и раковым заболеваниям. Судя по всему, существующий на сегодня список генов, участвующих в процессах репарации, далёк от полноты. Дальнейшая идентификация таких генов и уточнение репаративных механизмов не только будут важны для понимания жизнедеятельности клетки, но и сыграют роль в совершенствовании путей предотвращения рака и борьбе с другими заболеваниями.

Список литературы

1. Abbotts R. Human AP endonuclease 1 (APE1): from mechanistic insights to druggable target in cancer / R. Abbotts // Cancer Treat. Rev. – 2010. Vol. 36, № 5. – P. 425-435.

2. Acharya S. hMSH2 forms specific mispair-binding complexes with hMSH3 and hMSH6 / S. Acharya, T. Wilson, S. Gradia // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1996. Vol. 93. – P. 13629-13634.

3. Arana M.E. Mutator phenotypes due to DNA replication infidelity / M.E. Arana, T.A. Kunkel // Semin Cancer Biol. – 2010. Vol. 20. – P. 304-311.

4. Araujo S.J. Nucleotide excision repair of DNA with recombinant human proteins: Definition of the minimal set of factors, active forms of TFIIH, and modulation by CAK / S.J. Araujo, F. Tirode, F. Coin // Genes Dev. – 2000. Vol. 14. – P. 349-359.

5. Bartkova J. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis / J. Bartkova, Z. Horejsi, K. Koed // Nature. – 2005. Vol. 434. – P. 864-870.

6. Bergink S. Recognition of DNA damage by XPC coincides with disruption of the XPC-RAD23 complex / S. Bergink, W. Toussaint, M.S. Luijsterburg // J. Cell Biol. – 2012. Vol. 196. – P. 681-688.

7. Bootsma D. Nucleotide excision repair syndromes: xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy / D. Bootsma, K.H. Kraemer, J.E. Cleaver // In Vogelstein B. and Kinzler K.W. (eds) The Genetic Basis of Human Cancer. – 1998, McGraw-Hill, New York. – P. 245-274.

8. Caldecott K.W. XRCC1 and DNA strand break repair / K.W. Caldecott // DNA Repair (Amst). – 2003. Vol. 2, № 9. – P. 955-969.

9. Caldecott K.W. Single-strand break repair and genetic disease / K.W. Caldecott // Nat. Rev. Genet. – 2008. Vol. 9. – P. 619-631.

10. Cannavo E. Expression of the MutL Homologue hMLH3 in Human Cells and its Role in DNA Mismatch Repair / E. Cannavo, G. Marra, J. Sabates-Bellver // Cancer Res. – 2005. Vol. 65. – P. 10759-10766.

11. Christmann M. Mechanisms of human DNA repair: an update / M. Christmann, M.T. Tomicic, W.P. Roos // Toxicology. – 2003. Vol. 193. – P. 3-34.

12. Cleaver J.E. Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity / J.E. Cleaver, E.T. Lam, I. Revet // Nat. Rev. Genet. – 2009. Vol. 10, № 11. – P. 756-768.

13. Coin F. Distinct roles for the XPB/p52 and XPD/p44 subcomplexes of TFIIH in damaged DNA opening during nucleotide excision repair / F. Coin, V. Oksenych, J.M. Egly // Mol. Cell. – 2007. Vol. 26. – P. 245-256.

14. Coin F. Nucleotide excision repair driven by the dissociation of CAK from TFIIH / F. Coin, V. Oksenych, V. Mocquet // Mol. Cell. – 2008. Vol. 31. – P. 9-20.

15. Compe E. TFIIH: When transcription met DNA repair / E. Compe, J.M. Egly // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2012. Vol. 13. – P. 343-354.

16. Cooper P. Defective transcription-coupled repair of oxidative base damage in Cockayne syndrome patients from XP group G / P. Cooper, T. Nouspikel, S. Clarkson // Science. – 1997. Vol. 275. – P. 990-993.

17. Dianov G. Generation of single-nucleotide repair patches following excision of uracil residues from DNA / G. Dianov, A. Price, T. Lindahl // Mol. Cell. Biol. – 1992. Vol. 12. – P. 1605-1612.

18. Dianov G.L. Role of DNA polymerase beta in the excision step of long patch mammalian base excision repair / G.L. Dianov, R. Prasad, S.H. Wilson // J. Biol. Chem. – 1999. Vol. 274. – P. 13741-13743.

19. Drummond J.T. Isolation of an hMSH2-p160 heterodimer that restores DNA mismatch repair to tumor cells / J.T. Drummond, G.-M. Li, M.J. Longley // Modrich P. Science. – 1995. Vol. 268. – P. 1909-1912.

20. Fagbemi A.F. Regulation of endonuclease activity in human nucleotide excision repair / A.F. Fagbemi, B. Orelli, O.D. Scharer // DNA Repair (Amst). – 2011. Vol. 10. – P. 722-729.

21. Fan L. Conserved XPB core structure and motifs for DNA unwinding: Implications for pathway selection of transcription or excision repair / L. Fan, A.S. Arvai, P.K. Cooper // Mol. Cell. – 2006. Vol. 22. – P. 27-37.

22. Fishel R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer / R. Fishel, M.K. Lescoe, M.R. Rao // Cell. – 1993. Vol. 75. – P. 1027-1038.

23. Flaherty D.M. AP Endonucleases and the Many Functions of Ref-1 / D.M. Flaherty, M.M. Martha, G.W. Hunninghake // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. – 2001. Vol. 25, № 6. – P. 664-667.

24. Fortini P. The Type of DNA Glycosylase Determines the Base Excision Repair Pathway in Mammalian Cells / P. Fortini, E. Parlanti, O.M. Sidorkina // J. Biol. Chem. – 1999. Vol. 274, № 21. – P. 15230-15236.

25. Fousteri M. Transcription-coupled nucleotide excision repair in mammalian cells: molecular mechanisms and biological effects / M. Fousteri, L.H. Mullenders // Cell Res. – 2008. Vol. 18, № 1. – P. 73-84.

26. Frosina G. Two pathways for base excision repair in mammalian cells / G. Frosina, P. Fortini, O. Rossi // J. Biol. Chem. – 1996. Vol. 271. – P. 9573-9578.

27. Garfinkel D. J. M. Nucleotide Excision Repair, Genome Stability, and Human Disease: New Insight from Model Systems / D. J. Garfinkel, A. M. Bailis // J. Biomed. Biotechnol. – 2002. Vol. 2, № 2. – P. 55–60.

28. Genschel J. Isolation of MutSβ from Human Cells and Comparison of the Mismatch Repair Specificities of MutSβ and MutSα / J. Genschel, S.J. Littman, J.T. Drummond // J. Biol. Chem. – 1998. Vol. 273. – P. 19895-19901.

29. Genschel J. Human exonuclease I is required for 5' and 3' mismatch repair / J. Genschel, L.R. Bazemore, P. Modrich // J. Biol. Chem. – 2002. Vol. 277. – P. 13302-13311.

30. Gillet L.C. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair / L.C. Gillet, O.D. Scharer // Chem. Rev. – 2006. Vol. 106. – P. 253-276.

31. Gilljam K.M. Nucleotide excision repair is associated with the replisome and its efficiency depends on a direct interaction between XPA and PCNA / K.M. Gilljam, R. Muller, N.B. Liabakk // PloS ONE. – 2012. Vol. 7. – P. 49-199.

32. Goellner E.M. Exonuclease 1-dependent and independent mismatch repair / E.M. Goellner, C.D. Putnam, R.D. Kolodner // DNA Repair. – 2015. Vol. 32. – P. 24-32.

33. Gradia S. hMSH2–hMSH6 forms a hydrolysis-independent sliding clamp on mismatched DNA / S. Gradia, D. Subramanian, T. Wilson // Mol. Cell. – 1999. Vol. 3. – P. 255-261.

34. Grasby J.A. Unpairing and gating: Sequence-independent substrate recognition by FEN superfamily nucleases / J.A. Grasby, L.D. Finger, S.E. Tsutakawa // Trends Biochem. Sci. – 2012. Vol. 37. – P. 74-84.

35. Gu Y. Human MutY homolog, a DNA glycosylase involved in base excision repair, physically and functionally interacts with mismatch repair proteins humanMutS homolog 2/ humanMutS homolog 6 / Y. Gu, A. Parker, T.M. Wilson // J. Biol. Chem. – 2002. Vol. 277. – P. 11135-11142.

36. Hanawalt P.C. Transcription-coupled DNA repair: two decades of progress and surprises / P.C. Hanawalt, G. Spivak // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2008. Vol. 9, № 12. – P. 958-970.

37. Hara R. The SWI/SNF chromatin-remodeling factor stimulates repair by human excision nuclease in the mononucleosome core particle / R. Hara, A. Sancar // Mol. Cell. Biol. – 2002. Vol. 22. – P. 6779-6787.

38. Harrington J.M. Saccharomyces cerevisiae Msh2-Msh3 acts in repair of base-base mispair / J.M. Harrington, R.D. Kolodner // Mol. Cell. Biol. – 2007. Vol. 27. – P. 6546-6554.

39. Hess M.T. Bipartite substrate discrimination by human nucleotide excision repair / M.T. Hess, U. Schwitter, M. Petretta // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1997. Vol. 94. – P. 6664-6669.

40. Ito S. XPG stabilizes TFIIH, allowing transactivation of nuclear receptors: Implications for Cockayne syndrome in XP-G/CS patients / S. Ito, I. Kuraoka, P. Chymkowitch, E. Compe, A. Takedachi, C. Ishigami, F. Coin, J.M. Egly, K. Tanaka // Mol. Cell. – 2007. Vol. 26. – P. 231–243.

41. Iyer R.R. MutLα and proliferating cell nuclear antigen share binding sites on MutSβ / R.R. Iyer, A. Pluciennik, J. Genschel // J. Biol. Chem. – 2010. Vol. 285. – P. 11730-11739.

42. Jacob S. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis / S. Jacob, F. Praz // Biochimie. – 2002. Vol. 84, № 1. – P. 27-47.

43. Jacobs A.L. DNA glycosylases: in DNA repair and beyond / A.L. Jacobs, P. Schar // Chromosoma. – 2012. Vol. 121, № 1. – P.1-20.

44. Jiricny J. Replication errors: cha(lle)nging the genome / J. Jiricny // EMBO J. – 1998. Vol. 17. – P. 6427-6436.

45. Jiricny, J. The multifaceted mismatch-repair system / J. Jiricny // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2006. Vol. 7. – P. 335-346.

46. Jiricny J. Postreplicative Mismatch Repair / J. Jiricny // Cold Spring Harb. Perspect Biol. – 2013. – 5(4). URL: http://cshperspectives.cshlp.org/content/5/4/a012633.

47. Kadyrov F.A. Endonucleolytic function ofMutLa in human mismatch repair / F.A. Kadyrov, L. Dzantiev, N. Constantin // Cell. – 2006. Vol. 126. – P. 297-308.

48. Karanjawala Z.E. DNA damage and aging / Z.E. Karanjawala, M.R. Lieber // Mech. Ageing Dev. – 2004. Vol. 125. – P. 405-416.

49. Kemp M.G. Mechanism of release and fate of excised oligonucleotides during nucleotide excision repair / M.G. Kemp, J.T. Reardon, L.A. Lindsey-Boltz // J. Biol. Chem. – 2012. Vol. 287. – P. 22889-22899.

50. Klungland A. Second pathway for completion of human DNA base excision-repair: reconstitution with purified proteins and requirement for DNase IV (FEN1) / A. Klungland, T. Lindahl // EMBO J. – 1997. Vol. 16. – P. 3341-3348.

51. Kraemer K.H. Sunlight and skin cancer: another link revealed / K.H. Kraemer // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. Vol. 94. – P. 11-14.

52. Kubota Y. Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein / Y. Kubota, R.A. Nash, A. Klungland // EMBO J. – 1996. Vol. 15. – 6662-6670.

53. Kunkel T.A. DNA mismatch repair / T.A. Kunkel, D.A. Erie // Annu. Rev. Biochem. – 2005. Vol. 74. – P. 681-710.

54. Leach F.S. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer / F.S. Leach, N.C. Nicolaides, N. Papadopoulos // Cell. – 1993. Vol. 75. – P. 1215-1225.

55. Leandroab G.S. The impact of base excision DNA repair in age-related neurodegenerative diseases / G.S. Leandroab, P. Sykoraa, V.A. Bohr // Mutation Res./Fund. Mol. Mech. Mutagenesis. – 2015. Vol. 776 – P. 31-39.

56. Li M. Human apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 / M. Li, D.M. Wilson 3rd // Antioxid Redox Signal. – 2014. Vol. 20, № 4. – P.678-707.

57. Li G.M. Restoration of mismatch repair to nuclear extracts of H6 colorectal tumor cells by a heterodimer of human MutL homologs / G.M. Li, P. Modrich // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1995. Vol. 92. – P. 1950-1954.

58. Li G.M. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair / G.M. Li // Cell. Res. – 2008. Vol. 18. – P. 85-98.

59. Lindahl T. An N-glycosidase from Escherichia coli that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues / T. Lindahl // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1974. Vol. 71. – P. 3649-3653.

60. Lindahl T. DNA glycosylases, endonucleases for apurinic/apyrimidinic sites and base excision repair. / T. Lindahl // Prog. Nucleic Acids Res Mol. Biol. – 1979. Vol. 22. – P. 135-192.

61. Lindahl T. Repair of endogenous DNA damage / T. Lindahl, D.E. Barnes // Cold Spring Harb Symp Quant Biol. – 2000. Vol. 65. – P.127-133.

62. Liu Y. Flap endonuclease 1: a central component of DNA metabolism / Y. Liu, H. I. Kao, R.A. Bambara // Annu Rev Biochem. – 2004. Vol. 73. – P. 589-615.

63. Liu Y. Probing for DNA damage with beta-hairpins: Similarities in incision efficiencies of bulkyDNA adducts by prokaryotic and human nucleotide excision repair systems in vitro / Y. Liu, D. Reeves, K. Kropachev // DNA Repair (Amst). – 2011. Vol. 10. – P. 684-696.

64. Lombard D.B. DNA repair, genome stability, and aging / D.B. Lombard, K.F. Chua, R. Mostoslavsky // Cell. – 2005. Vol. 120. – P. 497-512.

65. Longley M.J. DNA polymerase delta is required for human mismatch repair in vitro / M.J. Longley, A.J. Pierce, P. Modrich // J. Biol. Chem. – 1997. Vol. 272. – P. 10917-10921.

66. Machado C.R. Human DNA repair diseases: From genome instability to cancer / C.R., Machado, C.F.M. Menck // Braz. J. Genet. – 1997. Vol. 20, № 4.

67. Malanga M. The role of poly(ADP-ribose) in the DNA damage signaling network / M. Malanga, F.R. Althaus // Biochem. Cell. Biol. – 2005. Vol. 83, № 3. – P. 354-364.

68. Marintchev A. Solution structure of the single-strand break repair protein XRCC1 N-terminal domain / A. Marintchev, M.A. Mullen, M.W. Maciejewski // Nat. Struct. Biol. – 1999. Vol. 6, № 9. – P. 884-893.

69. Mathews L.A. DNA Repair of Cancer Stem Cells / L.A. Mathews, S.M. Cabarcas, E.M. Hurt // Springer, 2013. – 178 p.

70. Matsumoto Y. Excision of deoxyribose phosphate residues by DNA polymerase beta during DNA repair / Y. Matsumoto, K. Kim // Science. – 1995. Vol. 269. – P. 699-702.

71. Matsumoto Y. Reconstitution of proliferating cell nuclear antigen-dependent repair of apurinic/apyrimidinic sites with purified human proteins / Y. Matsumoto, K. Kim, J. Hurwitz // J. Biol. Chem. – 1999. Vol. 274. – P. 33703-33708.

72. Min J.H. Recognition of DNA damage by the Rad4 nucleotide excision repair protein / J.H. Min, N.P. Pavletich // Nature. – 2007. Vol. 449. – P. 570-575.

73. Mocquet V. The human DNA repair factor XPC-HR23B distinguishes stereoisomeric benzo[a]pyrenyl-DNA lesions / V. Mocquet, K. Kropachev, M. Kolbanovskiy // EMBO J. – 2007. Vol. 26. – P. 2923-2932.

74. Modrich P. Mechanisms in eukaryotic mismatch repair / P. Modrich // J. Biol. Chem. – 2006. Vol. 281. – P. 30305-30309.

75. Moser J. Sealing of chromosomal DNA nicks during nucleotide excision repair requires XRCC1 and DNA ligase III α in a cell-cycle-specific manner / J. Moser, H. Kool, I. Giakzidis // Mol. Cell. – 2007. Vol. 27. – P. 311-323.

76. Mugesh G. Nobel Prize in Chemistry for DNA repair / G. Mugesh // Current science. – 2015. Vol. 109, № 9, 10 November. – P. 1533-1536.

77. Natrajan G. Structures of Escherichia coli DNA mismatch repair enzyme MutS in complex with different mismatches: A common recognition mode for diverse substrates / G. Natrajan, M.H. Lamers, J.H. Enzlin // Nucleic Acids Res. – 2003. Vol. 31. – P. 4814- 4821.

78. Nicolaides N.C. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer / N.C. Nicolaides, N. Papadopoulos, B. Liu // Nature. – 1994. Vol. 371. – P. 75-80.

79. Nilsen H. Base excision repair in a network of defence and tolerance / H. Nilsen, H.E. Krokan // Carcinogenesis. – 2001. Vol. 22, № 7. – P. 987-998.

80. Ng J.M. A novel regulation mechanism of DNA repair by damage-induced and RAD23-dependent stabilization of xeroderma pigmentosum group C protein / J.M. Ng, W. Vermeulen, G.T. van der Horst // Genes Dev. – 2003. Vol. 17. – P. 1630-1645.

81. Ogi T. Three DNA polymerases, recruited by different mechanisms, carry out NER repair synthesis in human cells / T. Ogi, S. Limsirichaikul, R.M. Overmeer // Mol. Cell. – 2010. Vol. 37. – P. 714-727.

82. Olsen A-K. Highly efficient base excision repair (BER) in human and rat male germ cells / A-K. Olsen, H. Bjortuft, R. Wiger // Nucleic Acids Research. – 2001. Vol. 29, № 8. – P. 1781-1790.

83. Orelli B. The XPA-binding domain of ERCC1 is required for nucleotide excision repair but not other DNA repair pathways / B. Orelli, T.B. McClendon, O.V. Tsodikov // J. Biol. Chem. – 2010. Vol. 285. – P. 3705-3712.

84. Overmeer R.M. Replication protein A safeguards genome integrity by controlling NER incision events / R.M. Overmeer, J. Moser, M. Volker // J. Cell Biol. – 2011. Vol. 192. – P. 401-415.

85. Palombo F. GTBP, a 160-kilodalton protein essential for mismatch-binding activity in human cells / F. Palombo, P. Gallinari, I. Iaccarino // Science. – 1995. Vol. 268. – P. 1912–1914.

86. Palombo F. hMutSbeta, a heterodimer of hMSH2 and hMSH3, binds to insertion/deletion loops in DNA / F. Palombo, I. Iaccarino, E. Nakajima // Curr. Biol. – 1996. Vol. 6. – P. 1181-1184.

87. Peltomäki P. Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer / P. Peltomäki, A. de la Chapelle // Adv. Cancer Res. – 1997. Vol. 71. – P. 93-119.

88. Pena-Diaz J. Mammalian mismatch repair: Error-free or error-prone? / J. Pena-Diaz, J. Jiricny // Trends Biochem. Sci. – 2012. Vol. 37. – P. 206-214.

89. Pluciennik A. Protein roadblocks and helix discontinuities are barriers to the initiation of mismatch repair / A. Pluciennik, P. Modrich // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2007. Vol. 104. – P. 12709-12713.

90. Pluciennik A. PCNA function in the activation and strand direction of MutLalpha endonuclease in mismatch repair / A. Pluciennik, L. Dzantiev, R.R. Lyer // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2010. Vol. 107. – P. 16066-16071.

91. Podlutsky A.J. DNA synthesis and dRPase activities of polymerase beta are both essential for single-nucleotide patch base excision repair in mammalian cell extract / A.J. Podlutsky, I.I. Dianova, S.H. Wilson // Biochemistry. – 2001. Vol. 40. – P. 809-813.

92. Prasad R. Specific interaction of DNA polymerase beta and DNA ligase I in a multiprotein base excision repair complex from bovine testis / R. Prasad, R.K. Singhal, D.K. Srivastava // J. Biol. Chem. – 1996. Vol. 271. – P. 16000-16007.

93. Sachadyn P. Conservation and diversity of MutS proteins / P. Sachadyn // Mutat. Res. – 2010. Vol. 694. – P. 20-30.

94. Saijo M. Nucleotide excision repair by mutant xeroderma pigmentosum group A (XPA) proteins with deficiency in interaction with RPA / M. Saijo, A. Takedachi, K. Tanaka // J. Biol. Chem. – 2011. Vol. 286. – P. 5476-5483.

95. Sancar A. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints / A. Sancar, L.A. Lindsey-Boltz, K. Unsal-Kacmaz, S. Linn // Annu. Rev. Biochem. – 2004. Vol. 73. – P. 39–85.

96. Scharer O.D. Recent progress in the biology, chemistry and structural biology of DNA glycosylases / O.D. Scharer, J. Jiricny // Bioessays. – 2001. Vol. 23. – P. 270-281.

97. Scharer O.D. Nucleotide Excision Repair in Eukaryotes / O.D. Scharer // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. – 2013. Vol. 5, № 10. – P. 1-20.

98. Shivji M.K. Nucleotide excision repair DNA synthesis by DNA polymerase epsilon in the presence of PCNA, RFC, and RPA / M.K. Shivji, V.N. Podust, U. Hubscher // Biochemistry. – 1995. Vol. 34. – P. 5011-5017.

99. Smerdon M.J., Nucleosome rearrangement in human chromatin during UV-induced DNA-reapir [sic] synthesis / M.J. Smerdon, M.W. Lieberman // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1978. Vol. 75. – P. 4238-4241.

100. Sobol R.W. Requirement of mammalian DNA polymerase-beta in base-excision repair / R.W. Sobol, J.K. Horton, R. Kuhn // Nature. – 1996. Vol. 379. – P. 183-186.

101. Srivastava D.K. Mammalian abasic site base excision repair. Identification of the reaction sequence and rate-determining steps / D.K. Srivastava, B.J. Berg, R. Prasad // S.H J. Biol. Chem. – 1998. Vol. 273. – P. 21203-21209.

102. Staresincic L. Coordination of dual incision and repair synthesis in human nucleotide excision repair / L. Staresincic, A.F. Fagbemi, J.H. Enzlin // EMBO J. – 2009. Vol. 28. – P. 1111-1120.

103. Stefanini, M. A new nucleotide-excision-repair gene associated with the disorder trichothiodystrophy / M. Stefanini, W. Vermeulen, G. Weeda // Am. J. Hum. Genet. – 1993. Vol. 53. – P. 817-821.

104. Stucki M. Mammalian base excision repair by DNA polymerases delta and epsilon / M. Stucki, B. Pascucci, E. Parlanti // Oncogene. – 1998. Vol. 17. – P. 835-843.

105. Sugasawa K. A multistep damage recognition mechanism for global genomic nucleotide excision repair / K. Sugasawa, T. Okamoto, Y. Shimizu // Genes Dev. – 2001. Vol. 15. – P. 507-521.

106. Surtees J.A. Mismatch repair factor MSH2-MSH3 binds and alters the conformation of branched DNA structures predicted to form during genetic recombination / J.A. Surtees, E. Alani // J. Molec. Biol. – 2006. Vol. 360. – P. 523-536.

107. Tapias A. Ordered conformational changes in damaged DNA induced by nucleotide excision repair factors / A. Tapias, J. Auriol, D. Forget // J. Biol. Chem. – 2004. Vol. 279. – P. 19074-19083.

108. Taricani L. Phenotypic enhancement of thymidylate synthetase pathway inhibitors following ablation of Neil1 DNA glycosylase/lyase / L. Taricani, F. Shanahan, R.H. Pierce // Cell Cycle. – 2010. Vol. 9, № 24. – P. 4876-4883.

109. Tomkinson A.E. Completion of base excision repair by mammalian DNA ligases. / A.E. Tomkinson, L. Chen, Z. Dong // Prog. Nucleic Acid Res Mol. Biol. – 2001. Vol. 68. – P. 151-164.

110. Van Oosterwijk M F. The sensitivity of Cockayne's syndrome cells to DNA-damaging agents is not due to defective transcription-coupled repair of active genes / M F. Van Oosterwijk, A. Versteeg, R. Filon // Mol. Cell Biol. – 1996. Vol. 16. – P. 4436-4444.

111. Vermeulen W. Mammalian nucleotide excision repair and syndromes / W. Vermeulen, J. de Boer, E. Citterio // Biochem. Soc. Trans. – 1997. Vol. 25, № 1. – P. 309-315.

112. Vermeulen W. Xeroderma pigmentosum complementation group G associated with Cockayne syndrome / W. Vermeulen, J. Jaeken, D. Bootsma // Am. J. Hum. Genet. – 1993. Vol. 53. – P. 185-192.

113. Vidal A.E. XRCC1 coordinates the initial and late stages of DNA abasic site repair through protein–protein interactions / A.E. Vidal, S. Boiteux, I.D. Hickson // EMBO J. – 2001. Vol. 20. – P. 6530-6539.

114. Wang W. The human Rad9-Rad1-Hus1 checkpoint complex stimulates flap endonuclease 1 / W. Wang, P. Brandt, M.L. Rossi // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2004. Vol. 101, № 48. – P. 16762-16767.

115. Wilson 3rd D.M. The major human abasic endonuclease: formation, consequences and repair of abasic lesions in DNA / D.M. Wilson 3rd, D. Barsky // Mutat. Res. – 2001. Vol. 485. – P. 283-307.

116. Zhou J. A role for p53 in base excision repair / J. Zhou, J. Ahn, S.H. Wilson // EMBO J. – 2001. Vol. 20. – P. 914-923.