

## NAPRAWA DNA PRZEZ WYCINANIE NUKLEOTYDÓW W KOMÓRKACH SSAKÓW\*

NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR IN MAMMALIAN CELLS

Tomasz ŚLIWIŃSKI, Janusz BŁASIAK

Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki

*Streszczenie:* Naprawa DNA przez wycinanie nukleotydów (NER) jest jedną z najważniejszych odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA, wnoszącą istotny wkład w utrzymanie stabilności genomowej. W NER usuwane są obszerne addukty oraz uszkodzenia zniekształcające strukturę DNA, takie jak wywołane przez promieniowanie UV cyklobutanowe dimery pirymidyny czy 6–4 fotoprodukty. NER cechuje heterogenność naprawy genomu, związana z organizacją chromatyny w transkrypcyjnie aktywnych i nieaktywnych domenach genomu oraz znaczeniem sekwencji w obrębie genów. Uszkodzenia DNA wywołane przez promieniowanie UV usuwane są przez dwa szlaki: globalną naprawę DNA oraz naprawę sprzężoną z transkrypcją. Naprawa w pierwszym szlaku zachodzi wolniej niż w szlaku drugim i ma charakter losowy, natomiast naprawa w szlaku sprzężonym z transkrypcją prowadzoną przez polimerazę RNA II jest wysoce specyficzna. Zrozumienie mechanizmów naprawy przez wycinanie nukleotydów u ssaków może mieć ważne znaczenie w profilaktyce i terapii poważnych chorób, w tym nowotworów złośliwych.

*Słowa kluczowe:* naprawa przez wycinanie nukleotydów, uszkodzenia DNA, syndrom Cockayne'a, *xeroderma pigmentosum*.

*Summary:* Nucleotide excision repair (NER) is one of the main cellular reaction to DNA damage, contributing to genomic stability. NER is a major cellular pathway that removes bulky DNA adducts and helix-distorting lesions, such as the UV-induced photoproducts cyclobutane pyrimidine dimers and 6–4 pyrimidine photoproducts. The heterogeneity of NER seems to be governed by the functional compartmentalization of chromatin into transcriptionally active and inactive domains as well as by functional role of sequences within genes. UV-induced DNA damages are removed by global genome repair and transcription coupled repair. Global genome repair is a random process that occurs slowly, while the transcription coupled repair, which is tightly linked to RNA polymerase II transcription, is highly specific and efficient. Understanding of these pathways may be important in the prevention and therapy of serious diseases, including cancer.

*Key words:* nucleotide excision repair, DNA damage, Cockayne syndrome, *xeroderma pigmentosum*.

\*Praca wykonana w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Informatyzacji nr 3 P04A 032-25.

## WPROWADZENIE

Czynniki środowiskowe i endogenne produkty metabolizmu mogą oddziaływać z komórkowym DNA wywołując jego modyfikacje, które mogą prowadzić do mutacji, niestabilności genomowej, transformacji nowotworowej czy też wreszcie śmierci komórki. Dlatego naprawa DNA odgrywa ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórki. W naprawie DNA przez wycinanie nukleotydów (NER) usuwane jest szerokie spektrum uszkodzeń DNA. Substratami dla NER są uszkodzenia powodujące zniekształcenie drugorzędowej struktury DNA lub blokujące procesy replikacji i transkrypcji. Przykładem takich uszkodzeń są cyklobutanowe dimery pirymidyny (CPDs) oraz 6–4 fotoprodukty (6–4 PPs), wywoływane przez promieniowanie UV [90].

Większość badań systemu NER u ssaków wykonywana jest z użyciem komórek mających mutacje białek uczestniczących w różnych etapach naprawy, w tym komórek człowieka charakterystycznych dla chorób określanych jako genetyczne: *xeroderma pigmentosum* (XP), syndrom Cockayne'a (CS), czy trichotiodystrofia (TTD). Choć objawy kliniczne tych schorzeń są różne, od wysokiej podatności na nowotwory do wczesnego starzenia się, mogą one być związane z określoną wrażliwością na światło słoneczne. Komórki te są zróżnicowane pod względem genetycznym, z wieloma grupami komplementacyjnymi, reprezentowanymi przez różne geny naprawy. Kodowane przez te geny białka nazwane zostały zgodnie z ich przynależnością do określonych grup komplementacyjnych [6, 24]. Dla syndromu XP zostało zidentyfikowanych siedem grup (XPA-XPG) oraz dwie dla CS (CSA, CSB).

NER jest procesem stosunkowo złożonym przebiegającym przy udziale wielu białek, a powiązanie jej mechanizmów z objawami klinicznymi jest przedmiotem badań. Etapy podstawowych szlaków tego szlaku naprawy są zasadniczo niezmiennie ewolucyjnie w komórkach zarówno pro-, jak i eukariotycznych [65].

## PODSTAWOWE ETAPY NER

Naprawa sprzężona z transkrypcją (TCR) jest związana z uszkodzeniami występującymi w genach transkrybowanych, natomiast naprawa związana z pozostałą częścią genomu nazywana jest globalną naprawą DNA przez wycinanie nukleotydów (GGR) [30]. Prawdopodobnie TCR może być realizowana zarówno przez wycinanie zasad (BER), jak i nukleotydów; to który z tych szlaków naprawy DNA będzie „egzekutorem” TCR, zależy od rodzaju uszkodzenia. Pierwszym etapem w NER jest rozpoznanie uszkodzenia. Etap ten jest różny w zależności od tego, czy zachodzi TCR, czy też GGR (ryc. 1).

### Rozpoznanie uszkodzeń w DNA. Globalna naprawa DNA

W GGR kompleks białkowy XPC-hHR23B jako pierwszy rozpoznaje uszkodzenie w DNA [89]. Jest on bardzo ważny dla przyłączenia do miejsca uszkodzenia kolejnych czynników NER [89]. Kompleks ten lokalizuje uszkodzenie na podstawie wywołwanego przez nie zaburzenia w drugorzędowej strukturze DNA [16]. Im silniejsze zniekształcenie

podwójnej helisy DNA, tym szybciej kompleks XPC-hHR23B umiejscawia uszkodzenie i umożliwia jego usunięcie. Z tego względu (6–4) fotoprodukty usuwane są z cząsteczki DNA z większą wydajnością niż cyklobutyłowe dimery pirymidynowe, gdyż wywoływane przez CPDs zniekształcenia w strukturze DNA są na tyle niewielkie, że nie są rozpoznawane z wysoką wydajnością przez kompleks XPC-hHR23B [18]. Czynnikiem, który ułatwia wykrywanie uszkodzenia przez XPC-hHR23B, jest czynnik wiążący uszkodzony DNA (DDB) – heterodimer białek p127 i p48, który łączy się z DNA w miejscu uszkodzenia [23, 45]. Oprócz wprowadzania przez białko DDB zagięcia DNA o kąt  $55^\circ$  w pobliżu CPD, będącego sygnałem do przyłączenia kompleksu XPC-hHR23B, czynnik ten pośredniczy w acetytacji bądź ubikwitynacji białek, w tym histonów, znajdujących się w pobliżu uszkodzenia [22]. Aktywności te pozwalają na rozluźnienie struktury nukleosomowej i zwiększają dostępność substratu dla białek naprawy systemu NER [18].

Białko hHR23 zawiera dwie domeny ubikwitynowe oraz wiąże i stymuluje białko XPC *in vitro* [41]. Domena białka XPC oddziałująca z DNA znajduje się w regionie C-końcowym, częściowo pokrywając regiony oddziałujące z innymi czynnikami systemu NER, np. hHR23, oraz czynnikiem transkrypcyjnym TFIIF [82].

Uszkodzenia wywołujące wiązania krzyżowe w DNA blokują jego funkcje, co może prowadzić do transformacji nowotworowej bądź śmierci komórki. Kluczowym kompleksem białkowym rozpoznającym tego typu uszkodzenia jest XPA-RPA [23]. Z ostatnich badań wynika, że również kompleks XPC-hHR23B rozpoznaje uszkodzenia wywołujące wiązania krzyżowe w DNA zarówno samodzielnie, jak i współdziałając z kompleksem XPA-RPA [23, 76].

### Naprawa sprzężona z transkrypcją

W transkrypcyjnie aktywnych obszarach genomu, naprawa sprzężona z transkrypcją wydajnie usuwa różne typy uszkodzeń i przebiega szybciej niż w pozostałej części genomu [58, 84]. Wiele uszkodzeń DNA blokuje proces elongacji transkrypcji, powodując zatrzymanie polimerazy RNA, podczas gdy w niciach nietranskrybowanych uszkodzenia te są omijane [57]. Prawdopodobnie w TCR przy rozpoznaniu uszkodzenia w DNA funkcję kompleksu XPC/hHR32B przejmuje kompleks polimerazy RNA II, której zatrzymanie jest sygnałem dla białek CSA i CSB [18, 84]. CSA zawierające motyw, który może oddziaływać z CSB i XAB2 pełniąc rolę platformy umożliwiającej utworzenie kompleksu białek systemu NER [18]. CSA stabilizuje ponadto przejściowe połączenie pomiędzy białkiem CSB a unieruchomioną polimerazą RNA II, nie oddziałując przy tym z kompleksem elongacyjnym. CSB powoduje rozluźnienie połączenia kompleks elongacyjny - DNA dzięki aktywności ATPazy zależnej od DNA. Ponadto czynnik ten oddziałuje z białkami biorącymi udział w kolejnych etapach naprawy, z TFIIF i XPA, zwiększając tempo tworzenia kompleksu naprawczego [71]. Stosunkowo niedawno odkryto nowe białko, które może brać udział w TCR, jest to białko XAB2, zbudowane z 855 aa składających się głównie z 15 powtórzeń 34-peptydowych (TPR). XAB2 oddziałuje z CSA, CSB, XPA, jak również z polimerazą RNA II. Przeciwciała dla XAB2 hamują zarówno TCR, jak i transkrypcję *in vivo*, nie wpływają zaś na GGR [62].

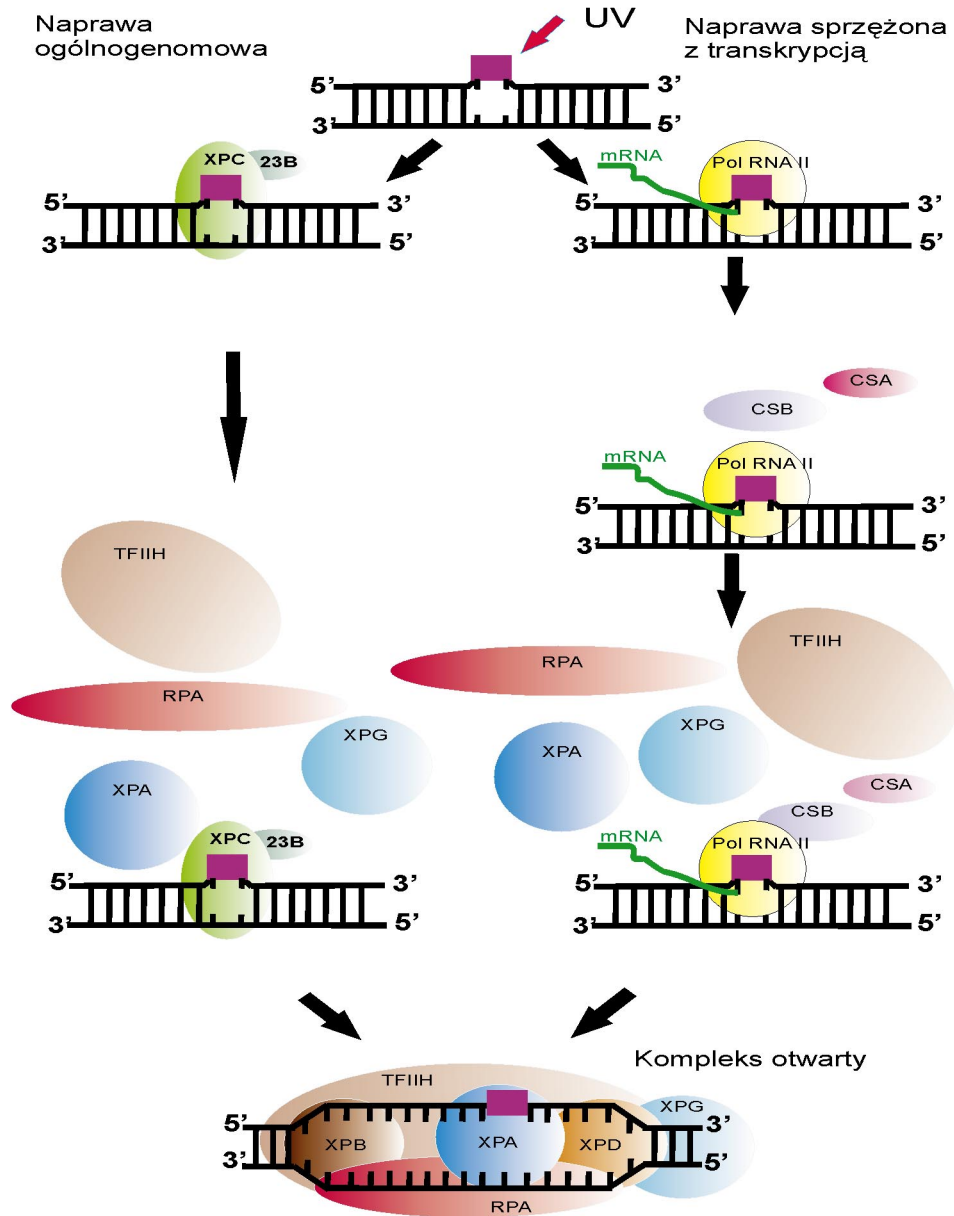
Na podstawie dotychczasowej wiedzy o funkcji białek uczestniczących w TCR można rozważać schemat rozpoznania uszkodzenia i zapoczątkowania naprawy w tym szlaku w komórkach ssaków (ryc.1). Polimeraza RNA II zatrzymuje się w miejscu uszkodzenia, dzięki czemu zostaje rozpoznana przez kompleks CSA-CSB, który odsuwa ją od tego miejsca. CSA-CSB wiąże również białko XPA i TFIIH i przyspiesza tym samym tworzenie kompleksu inicjującego NER. W komórkach ssaków na TCR może wpływać położenie kompleksu transkrypcyjnego w miejscu uszkodzenia, jak również bezpośrednie oddziaływanie pomiędzy białkami NER i czynnikami transkrypcyjnymi. Białka CSA, CSB, TFIIH i XAB2 mogą odgrywać ważną rolę w przebudowie kompleksu transkrypcyjnego, podnosząc efektywność TCR. W zależności od rodzaju uszkodzenia w takim DNA zachodzi określony typ naprawy związany z transkrypcją. Oprócz NER związek z transkrypcją może mieć BER, jeśli zaburzenia w nici transkrybowanej DNA mają charakter modyfikacji zasad, które są substratem dla BER [46]. Glikozylazy DNA, enzymy uczestniczące w naprawie przez wycinanie zasad, powodują zablokowanie działania polimerazy RNA, podobnie jak uszkodzenia rozpoznawane przez NER, co staje się sygnałem dla białek uczestniczących w naprawie DNA związanej z transkrypcją. Wyniki ostatnich badań wskazują, że jedno z uszkodzeń oksydacyjnych będących substratem dla BER, 8-oksoguanina, nie blokuje elongacji polimerazy RNA u *E. coli*, w przeciwieństwie do produktu pośredniego naprawy tego uszkodzenia, spowodowanego przez Endo III [88]. Wyniki te sugerują sprzężenie BER z TCR poprzez produkty pośrednie naprawy przez wycinanie zasad, które mogą blokować działanie polimerazy RNA [11]. To może wyjaśniać brak aktywności TCR podczas naprawy uszkodzeń alkilacyjnych, ponieważ miejsca apurynowe/apirymidynowe, powstałe w wyniku aktywności glikozylaz jednofunkcyjnych na uszkodzenia alkilacyjne DNA, nie powodują zatrzymania działania kompleksu polimerazy RNA [73]. To czy taki związek występuje w komórkach ssaków, jest sprawą otwartą i wymaga dalszych badań.

### Tworzenie otwartego kompleksu naprawczego

Po rozpoznaniu uszkodzenia następuje wytworzenie naprawczego kompleksu otwartego, umiejscowionego w jego pobliżu. Wymagane jest do tego celu współdziałanie kompleksu XPC-hHR23B oraz innych czynników systemu NER: TFIIH, XPA, RPA oraz XPG [20, 77].

TFIIH jest kompleksem zawierającym co najmniej sześć białek, w skład którego wchodzi między innymi XPB oraz XPD wykazujące aktywność helikazy DNA, jak również ATPazy zależnej od DNA [72]. Białko XPB denaturuje nici DNA w kierunku 3' → 5', podczas gdy XPD w przeciwnym, wykorzystując energię z hydrolizy ATP [36].

XPA wiąże się z DNA i wykazuje powinowactwo do uszkodzeń wywoływanych przez promieniowanie UV [60]. Stopień tego powinowactwa jest związany ze stopniem zniekształcenia struktury DNA. Istotną rolę XPA jest udział w odpowiednim rozmieszczeniu białek kompleksu naprawczego względem siebie [16]. Co więcej, XPA bierze udział w weryfikacji uszkodzenia, wskazując tym samym, że rozpoznaje charakter modyfikacji struktury DNA oraz „zaznacza” nią DNA, w obrębie której występuje uszkodzenie [50]. Ponadto XPA, w połączeniu z RPA, uwalnia białka XPC-hHR23B z



RYCINA 1. Rozpoznanie uszkodzenia przez czynniki uczestniczące w NER oraz wytworzenie naprawczego kompleksu otwartego. W globalnej naprawie przez wycinanie nukleotydów uszkodzenie (różowy kwadrat) zostaje rozpoznane przez kompleks XPC-hHR23B (zielony i ciemnozielony), następnie zostają przyłączone XPA, RPA, TFIID i XPG (odpowiednio: ciemnoniebieski, czerwony, brązowy i jasnoniebieski) i zostaje utworzony kompleks otwarty. W naprawie sprzężonej z transkrypcją polimeraza RNA II (żółty) zatrzymuje się przed uszkodzeniem i jest to sygnałem dla przyłączenia białek CSA i CSB (odpowiednio różowy i fioletowy). Następnie przyłączane są białka takie jak w globalnej naprawie i zostaje utworzony kompleks otwarty (oryginalne)

kompleksu naprawczego, umożliwiając ponowne ich wykorzystanie w rozpoczęciu kolejnej naprawy [18].

Podjednostka RPA, składająca się z 3 domen DBD wiążących DNA, podczas naprawy pokrywa około 30 nukleotydów na nici nieuszkodzonej, chroniąc ją tym samym przed działaniem endonukleaz. Wyniki badań prowadzonych *in vitro* sugerują, że do zabezpieczenia jednoniciowego DNA na odcinku o długości około 30 nukleotydów, niezbędny jest udział tylko jednej cząsteczki heterotrimerycznego RPA [16, 18].

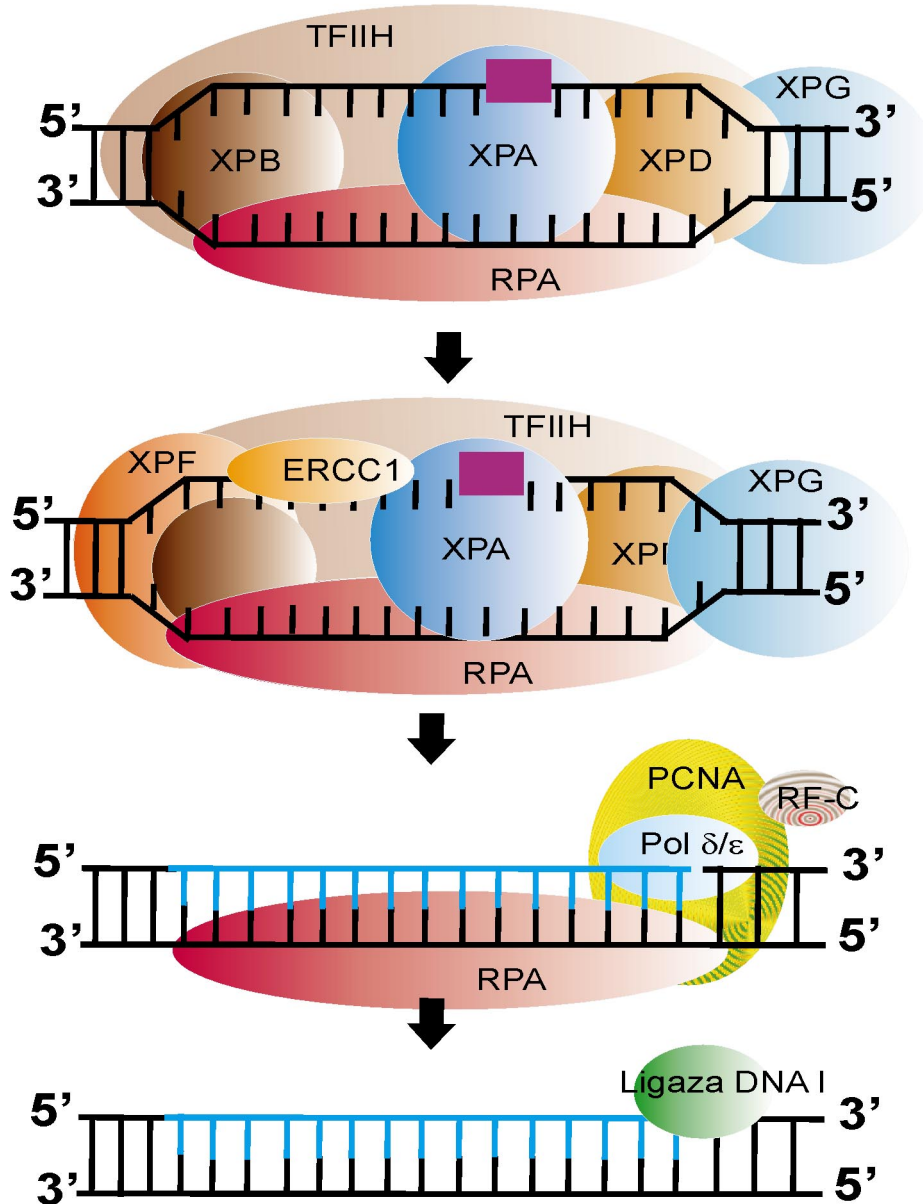
### Nacięcie nici DNA

Kolejnym etapem NER jest wprowadzenie dwóch nacięć w uszkodzonej nici DNA, po jednym z każdej strony uszkodzenia (ryc. 2). Usuwany fragment DNA zawierający uszkodzenie liczy 25–32 nukleotydów [18]. Białko RPA oprócz ochrony nici nieuszkodzonej nadaje specyficzną endonukleazom występującym w etapie nacinania dzięki bezpośredniemu oddziaływaniu z nimi [18]. Zorientowany w kierunku 3' od uszkodzenia jeden koniec RPA wiąże się z nukleazą ERCC1-XPF, a przeciwny oddziałuje z endonukleazą XPG. Oddziaływanie to powoduje hydrolizę wiązania fosfodiesterowego w nici uszkodzonej [95]. Białko XPG dokonuje pierwszego cięcia po stronie 3' w odległości 3–9 nukleotydów od uszkodzenia, co wprowadza zmiany konformacyjne w DNA będące sygnałem dla przyłączenia endonukleazy ERCC1-XPF, która hydrolizuje wiązanie fosfodiesterowe w odległości 16–25 nukleotydów od uszkodzenia, po jego stronie 5' [95]. Właściwe umiejscowienie obu endonukleaz jest kluczowym etapem dla precyzyjnego nacięcia uszkodzonego fragmentu DNA. RPA związane z nieuszkodzoną nicią wpływa na odpowiednie przyłączenie kompleksu ERCC1-XPF do miejsca uszkodzenia, a oddziaływanie z XPA może ułatwiać i stabilizować umiejscowienie kompleksu na uszkodzonej nici DNA [80]. Wycięty uszkodzony fragment DNA oddysocjowuje, a w DNA pozostaje jednoniciowa luka.

### Synteza naprawcza DNA

Luka powstała po usunięciu uszkodzonego oligonukleotydu z grupą 3'-OH zostaje wypełniona przez polimerazę DNA [89]. Prawdopodobnie na tym etapie większość białek uczestniczących w NER opuszcza uszkodzony obszar i ich miejsce zajmuje kompleks syntezy naprawczej. Białko RPA jest wymagane przy wypełnianiu powstałej luki w DNA dla zabezpieczenia matrycy DNA przed nukleazami.

Dwie polimerazy DNA syntetyzują nowy fragment DNA. Wyniki ostatnich badań *in vitro* sugerują, że zarówno polimeraza  $\delta$ , jak i  $\epsilon$  przeprowadzają syntezę DNA w NER [35]. Do efektywnej syntezy naprawczej dla obu polimeraz wymagane są również inne czynniki pomocnicze, czyli kofaktory, takie jak jądrowy antygen komórek proliferujących (PCNA) oraz czynnik replikacyjny C (RF-C). Kofaktory te działają jako kompleks, który ułatwia związanie obu polimeraz. Kompleks ten jest wytwarzany po związaniu czynnika RF-C z końcem 3' starterów DNA, ułatwiając tym samym przyłączenie białka PCNA [16]. W badaniach *in vitro* potwierdzono opisany model uzyskując syntezę naprawczą w obecności pięciu składników: PCNA, RF-C, RPA oraz Pol  $\delta$  bądź Pol  $\epsilon$  [16, 18]. Ostatnim krokiem kończącym syntezę naprawczą NER



RYCINA 2. Nacinanie i synteza naprawcza w NER. Po utworzeniu kompleksu otwartego i rozpleceniu duplesu DNA przez podjednostki TFIIH, helikazy XPB, XPD (odpowiednio: ciemno- i jasnobrązowy) następuje nacięcie uszkodzonej nici DNA przez endonukleazy XPG oraz ERCC1-XPF (pomarańczowy) odpowiednio po stronach 3' i 5' uszkodzenia. Następnie zachodzi synteza naprawcza, w której uczestniczą czynnik RC-F (naprzemiennie czerwony-szary), PCNA (naprzemiennie żółty-zielony) oraz polimeraza δ/ε (błękitny). Naprawę kończy ligaza DNA I (ciemnozielony) (oryginalne)

jest ligacja końca 5' nowo zsyntetyzowanej nici z oryginalną sekwencją. Proces ten jest przeprowadzany przez ligazę DNA I [16].

## BIAŁKA NER

W naprawie DNA przez wycinanie nukleotydów u ssaków bierze udział około 30 białek. Podzielić je można na białka uczestniczące w rozpoznaniu uszkodzenia, wytwarzaniu kompleksu otwartego, syntezie naprawczej oraz koordynacji składowych etapów naprawy.

**XPC** tworzy kompleks z czynnikiem hHR23B podczas rozpoznania uszkodzenia w GGR. hHR23B stymuluje aktywność XPC *in vitro*, prawdopodobnie w sposób bardziej strukturalny niż katalityczny, jako że domena hHR23B o długości 54 aa wiążąca XPC jest wystarczająca do tego, aby je aktywować [41]. hHR23B występuje w komórkach ssaków liczniej niż białko XPC oraz hHR23A, homolog hHR23B występujący w komórce głównie w formie niezwiązanej [41, 66]. hHR23A może zastępować hHR23B w wiązaniu i stymulowaniu białka XPC *in vitro* [37]. Czynniki hHR23B oraz hHR23A zawierają fragment ubikwitynowy w częściach *N*-terminalnych łańcucha aminokwasowego [41, 66]. Kompleks XPC-hHR23B oraz samo białko XPC wykazują podobny stopień powinowactwa do uszkodzonego promieniowaniem UV, DNA jedno- i dwuniciowego [75]. XPC-hHR23B jest pierwszym czynnikiem, który działa w GGR, nawet przed XPA oraz RPA i włącza kolejne białka do kompleksu naprawczego [75].

**Kompleks TFIIH** bierze udział w transkrypcji polimerazy RNA II, w obu szlakach NER oraz regulacji cyklu komórkowego [71]. Jego składowe XPB i XPD wykazują aktywność ATP-azy zależnej od DNA oraz helikazy [14]. Dzięki właściwości helikazy zależnej od ATP TFIIH bierze udział w tworzeniu kompleksu otwartego, rozciągającego się na długość od 20 do 30 par zasad [16]. Kompleks kinazowy zależny od cykliny (CAK) fosforyluje domenę C-końcową dużej podjednostki polimerazy RNA II, dzięki czemu może ona brać udział w regulacji cyklu komórkowego oraz w inicjacji transkrypcji [71]. Podjednostki p34 i p44 zawierają motyw palca cynkowego oraz mają zdolność wiązania DNA [4]. Kompleks rdzeniowy składa się z podjednostek: p34, p44, p52, p62, i XPB. XPD jest związany zarówno z rdzeniem TFIIH, jak i z kompleksem CAK [70].

**XPA** odgrywa kluczową rolę w początkowych etapach zarówno szlaku GGR, jak i TCR [44]. Jest białkiem wiążącym DNA, wykazującym preferencje przyłączania do uszkodzonego DNA [44, 50]. XPA ma strukturę palca cynkowego, która zwiększa powinowactwo do wiązania DNA [44]. XPA wykazuje szczególnie silne powinowactwo do uszkodzonego DNA o wysokim stopniu zniekształcenia struktury helisy [12]. Białko to łączy inne czynniki kompleksu naprawczego, ERCC1, XPF, podjednostki p32, p70 białka RPA oraz czynnik TFIIH [70, 85]. XPA występuje w komórce w formie wolnej jako homodimer, natomiast w kompleksie z RPA – jako RPA-XPA2 [98]. Sugeruje to ważną rolę dimeryzacji XPA w etapie rozpoznania uszkodzenia NER. Wysoki poziom tego białka nie jest niezbędny dla prawidłowego działania NER w komórce, ponieważ dopiero obniżenie poziomu tego białka poniżej 10% powoduje zaburzenia w funkcjonowaniu NER [44].



**RPA** jest białkiem wiążącym jednoniciowy DNA i składa się z 3 podjednostek. Podjednostka p70 jest głównie odpowiedzialna za wiązanie DNA, chociaż pozostałe podjednostki również wykazują taką zdolność [8]. W NER całkowite otwarcie kompleksu naprawczego wokół uszkodzonego DNA wymaga białka RPA, które stabilizuje ten kompleks przez związanie z nieuszkodzoną nicią DNA [8, 16, 18].

Mutacje w genach kodujących białka NER mogą prowadzić do powstawania szeregu schorzeń. Z brakiem NER bądź z zaburzeniami w jego funkcjonowaniu związane są choroby genetyczne, głównie neurologiczne oraz nowotwory wynikające z nadwrażliwości skóry na światło słoneczne. Korelacja genotyp-fenotyp w schorzeniach XP i pochodnych może zostać podzielona ze względu na mutacje genów z określonych grup komplementacyjnych oraz obecność nowotworu skóry i/lub zaburzeń neurologicznych (tabela 1).

TABELA 1. Korelacja genotyp-fenotyp w schorzeniach *xeroderma pigmentosum* i pochodnych (oryginalne)

Grupa komplementacyjna	Mutacja w genie	Nowotwór skóry	Fenotyp
A	XPA	+	XP
B	ERCC3	+	XP/CS
B	ERCC3	–	TTD
C	XPC	+	XP
D	ERCC2	+	XP
D	ERCC2	+	XP/CS
D	ERCC2	+	XP/TTD
D	ERCC2	–	TTD
D	ERCC2	–	COFS
E	XPE	+	XP
F	ERCC4	+	XP
G	ERCC5	+	XP oraz XP z objawami zaburzeń neurologicznych
G	ERCC5	+	XP/CS

## ROLA NER W REGULACJI CYKLU KOMÓRKOWEGO I APOPTOZIE

Uszkodzenia usuwane przez NER związane są bezpośrednio z blokowaniem transkrypcji i replikacji, co w dalszej kolejności może wpływać na regulację cyklu komórkowego oraz na indukcję apoptozy [79]. Białko Rad3, związane z recesywną autosomalną chorobą dziedziczną, *ataxia telangiectasia* (ATR), jest jednym z głównych białek indukowanych uszkodzeniami DNA spowodowanymi przez promieniowanie UV. W przeciwieństwie do zmutowanego białka występującego w *ataxia telangiectasia* (ATM), które jest związane z odpowiedzią na uszkodzenia wywołane przez promieniowanie jonizujące, białko ATR odpowiada na zatrzymanie widełek replikacyjnych [28]. ATR wiąże się bezpośrednio z 6–4 fotoproduktami, co powoduje aktywację jego właściwości kinazowych [83]. Po aktywacji, ATR reguluje cykl komórkowy, co może prowadzić do jego zatrzymania w fazie G1 i G2 oraz opóźnieniu fazy S [33]. ATR może fosforylować serie różnych substratów, w tym p53 oraz kinazę Chk1. Etapy te kończą się zatrzymaniem cyklu komórkowego poprzez zahamowanie transkrypcji genów odpowiedzialnych za jego postęp, co daje systemowi NER dodatkowy czas na usunięcie fotoproduktów UV, które mogą zatrzymywać replikację DNA [83].

Polimeraza poliADP-rybozy 1 (PARP-1) może odgrywać ważną rolę w TCR [99]. Po przyłączeniu do miejsca uszkodzenia PARP-1 zaczyna ADP-rybozylację wielu białek jądrowych, włączając histony oraz samorybozylację [49]. Proces ten bezpośrednio wpływa na zdolności naprawcze komórki. PARP-1 zmniejsza szybkość elongacji transkrypcji prowadzonej przez polimerazę RNA II, która odsuwa się od miejsca uszkodzenia, gdy PARP-1 ulegnie automodyfikacji [87]. Aktywność PARP-1 hamuje czynniki transkrypcyjne, zapobiegając ich wiązaniu z DNA, co wskazuje, że poliADP-rybozylacja negatywnie reguluje transkrypcję polimerazy RNA II, która przyłącza się do sekwencji promotorowej w formie hipofosforylowanej (IIa) [99]. Czynniki TFIIH wykazują aktywność kinazy odpowiedzialnej za fosforylację domeny C-końcowej większej podjednostki polimerazy RNA II, która zaraz po tym opuszcza miejsce promotorowe i zaczyna etap elongacji już jako forma hiperfosforylowana (IIo) [99]. Komórki mające defekt we wznowianiu procesu syntezy RNA po powstaniu uszkodzeń DNA spowodowanych przez promieniowanie UV, tj. komórki ze zmutowanym białkiem CSB, wykazują akumulację formy IIo podczas ekspozycji na promieniowanie UV, czego nie obserwuje się u komórek z funkcjonalnym białkiem CSB [52, 68]. CSB bierze udział w degradacji zatrzymanych kompleksów transkrypcyjnych, co pozwala na usuwanie uszkodzeń oraz na powtórne rozpoczęcie elongacji transkrypcji [68].

Niskie dawki promieniowania UV prowadzą do indukcji mechanizmów ochronnych w komórkach, włączając w to zatrzymanie cyklu komórkowego oraz naprawę uszkodzeń DNA, zaś wysokie dawki promieniowania przyspieszają proces apoptozy [48]. Obniżenie poziomu transkrypcji przez działanie czynników uszkadzających DNA jest jednym z pierwszych sygnałów dla jej indukcji [15]. W komórkach defektywnych w systemy usuwające uszkodzenia DNA w nici transkrybowanej aktywnych genów, w stosunku do komórek ze sprawnym TCR, tempo apoptozy wzrasta, nawet jeśli zostały

one poddane działaniu niskich dawek promieniowania UV. Sugeruje to, że zdolność do usuwania uszkodzeń z aktywnych genów jest niezbędna dla wydajnej syntezy RNA oraz przeżycia komórki [51]. Oprócz usuwania uszkodzeń DNA kompleks naprawczy może inicjować apoptozę, gdy liczba nagromadzonych uszkodzeń jest bardzo duża i zagraża życiu komórki [13]. NER jest regulowany we wczesnych etapach apoptozy przez białko p53 w komórkach z uszkodzonym DNA [23]. Ta wczesna regulacja występuje jako wynik pozytywnie kontrolowanej transkrypcji genów *XPC* oraz *p48* przez białko p53 [1]. Odkąd stwierdzono, że komórki z niedoborem białka p53 (syndrom Li-Fraumeni) są dużo mniej wydajne w wiązaniu czynników *XPC* oraz *TFIIH* do miejsc uszkodzeń CPDs, białko p53 wydaje się być niezbędne dla efektywnego działania kompleksu naprawczego NER [2]. Wyniki badań nad zmniejszeniem zdolności naprawczej komórek ze zmutowanym białkiem p53 wykazały, jak ważną rolę odgrywa ten czynnik w ułatwianiu dostępu białek systemu NER do miejsca uszkodzenia [69]. Oprócz regulacji transkrypcji genów uczestniczących w szlaku GGR, p53 odgrywa też rolę w szlaku TCR, o czym świadczy oddziaływanie tego białka z czynnikami *XPB*, *XPD* czy *CSB* [2, 91].

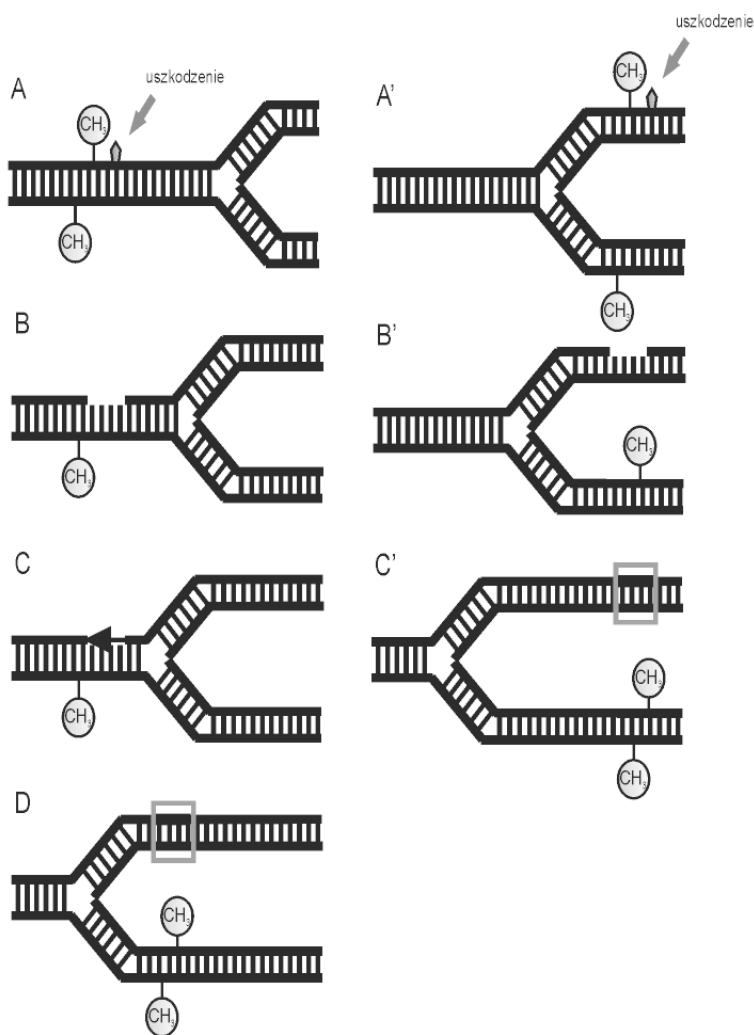
## INNE ASPEKTY NER

NER wpływa również na postreplikacyjną metylację DNA oraz jest silnie zależny od nukleosomalnej struktury chromatyny.

### NER a metylacja

Uszkodzenia DNA oraz ich naprawa mogą prowadzić do zmian we wzorze metylacji DNA, a to z kolei może powodować zmiany w ekspresji genów. Wzory metylacji rodzicielskiego DNA są zachowywane podczas replikacji, przez co metylacja nici potomnych zachodzi w miejscach metylacji nici rodzicielskich [17, 81]. Ten mechanizm pozwala na przekazanie wzoru metylacji DNA do komórek potomnych. U ssaków bezpośrednio po replikacji 5'-metylocytozyna jest obecna tylko w jednej nici. Nowo powstałe nici zostają zmetylowane przez metylazy. Enzymy te rozpoznają hemimetylowane DNA i dodają grupę metylową do nici niemetylowanej zaraz po zakończeniu syntezy DNA. Ważnym aspektem jest to, czy wprowadzana do DNA, przez syntezę naprawczą związaną z NER, nowa cytozyna może zostać właściwie zmetylowana. W ludzkich fibroblastach poddanych działaniu promieniowania UV, czy też N-metylo-N-nitrozomocznika metylacja deoksycytydyny wprowadzonej podczas syntezy naprawczej zachodzi powoli i niekompletnie [40]. W komórkach w logarytmicznej fazie wzrostu wytwarzanie 5'-metylocytozyny, związane z syntezą naprawczą NER, jest szybsze i bardziej obszerne, aczkolwiek nie jest na tym samym poziomie w porównaniu z komórkami replikującymi nieuszkodzone DNA. Jeśli uszkodzona zasada znajduje się przed widełkami replikacyjnymi w pobliżu miejsca metylacji, usuwana jest przez system NER, w wyniku czego jedna z dwóch potomnych cząsteczek DNA nie zostanie zmetylowana i nastąpi zaburzenie wzoru metylacji. Podobny efekt występuje, gdy uszkodzona zostaje

nić rodzicielska zaraz po zakończeniu procesu replikacji (ryc. 3). Metylacja cytozyny w komórkach ssaków jest bezpośrednio związana z obecnością różnego typu uszkodzeń w DNA. Przykładowo zróżnicowany poziom kancerogenów chemicznych hamuje transfer grup metylowych z S-adenozylometioniny do hemimetylowanego DNA w reakcji



RYCINA 3. Zmiany wzoru metylacji w NER. Po lewej stronie schematu pokazana jest naprawa uszkodzenia bezpośrednio przed widelkami replikacyjnymi: A – naprawa jest zapoczątkowana w pobliżu sekwencji metylowanej; B – metylowana zasada zostaje usunięta; C – usunięta zasada zostaje zastąpiona zasadą niemetylowaną; D – replikacja tego regionu przed dokonaniem metylacji może powodować powstawanie niemetylowanego dupletu DNA. Druga część hemimetylowanego dupletu DNA podlega metylacji. Po prawej stronie schematu pokazana jest naprawa uszkodzonego DNA w pobliżu sekwencji zmetylowanej, bezpośrednio po replikacji. A', B' – wycięcie uszkodzenia przed zmetylowaniem nici potomnej; C' – brak zmetylowania w nici znajdującej się w części dupletu DNA, w której nastąpiła naprawa, która nie jest substratem dla metylazy (modyfikacje wg [25])

katalizowanej *in vitro* za pomocą metylotransferazy pochodzącej ze śledziona mysiej [94]. Niektóre kancerogeny bezpośrednio modyfikują i inaktywują metylotransferazę, wskutek czego DNA zawierające miejsca z utraconymi zasadami ma zmniejszoną zdolność do przyłączania grup metylowych. Wynika stąd, że czynniki uszkadzające mogą zmieniać wzór metylacji 5'-metylocytozyny za pomocą różnych mechanizmów.

U ssaków obszary genomu zawierające geny są bogate w dinukleotydy CpG, których cytozyna może być zmetylowana, w zależności od stanu aktywności transkrypcyjnej tego obszaru [43, 67]. Podobnie jak w przypadku replikacji, wzór metylacji, a więc wzór determinujący ekspresję genów, może zostać zmieniony podczas NER.

### NER a chromatyna

Informacja genetyczna ma w komórkach eukariotycznych postać chromatyny, czyli kompleksu DNA, histonów i innych białek. Podstawową jednostką strukturalną chromatyny jest nukleosom, zbudowany z oktameru histonowego (centralny tetramer [H3/H4]<sub>2</sub> i dwa peryferyjne dimery [H2A/H2B]), wokół którego owinięte jest DNA o długości 146 par nukleotydów. Pomiedzy kolejnymi nukleosomami znajduje się, wrażliwy na działanie nukleaz, DNA łącznikowy o zmiennej długości (10–90 par zasad), który może oddziaływać z histonem H1 lub innymi niehistonowymi białkami chromatyny [32, 97]. Aby DNA stał się dostępny dla działania kompleksów enzymatycznych uczestniczących w replikacji, rekombinacji czy naprawie DNA, ta naturalna bariera komórkowa musi zostać przez te kompleksy pokonana.

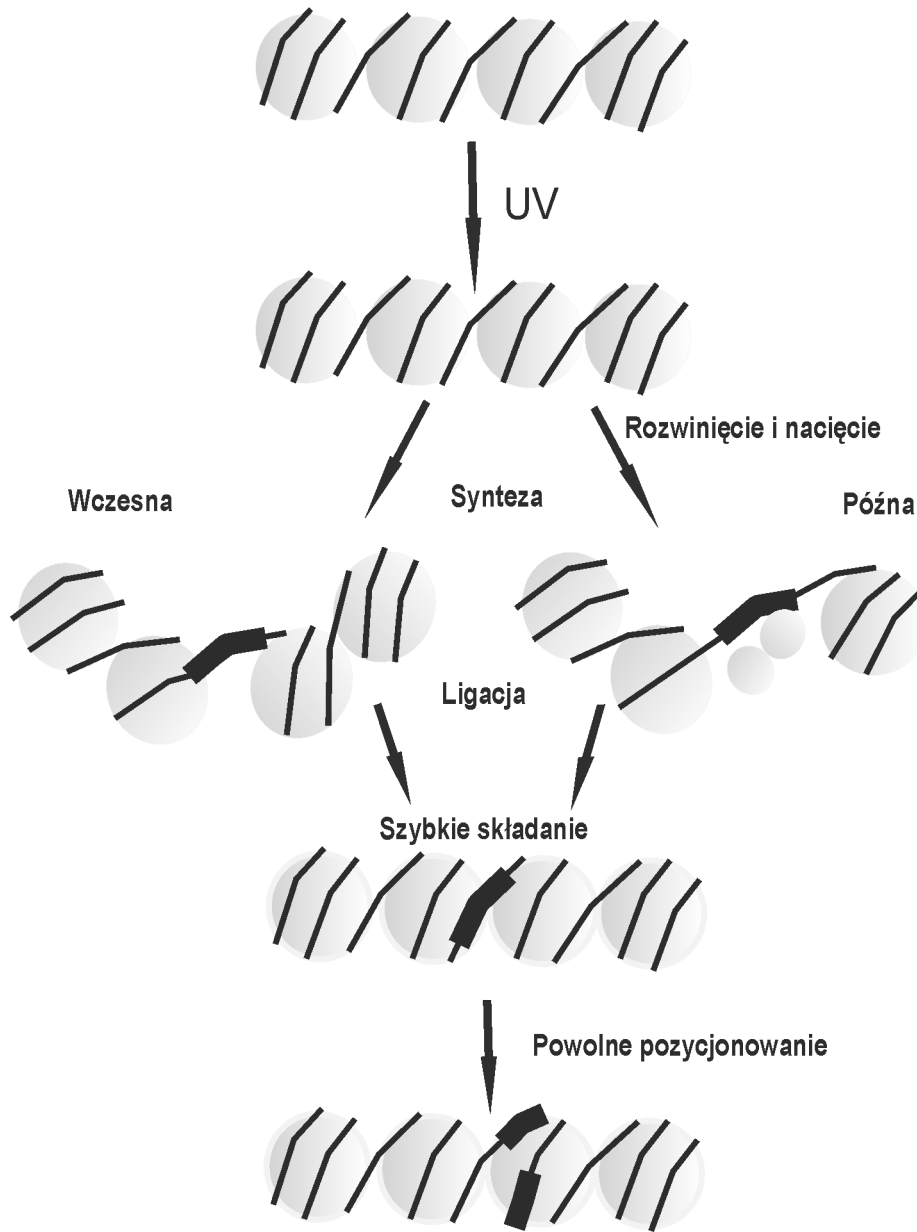
W komórkach eukariotycznych wyróżnia się dwie główne rodziny enzymów modyfikujących chromatynę, czyniących ją bardziej dostępną dla kompleksów biorących udział we wszystkich procesach związanych z DNA [21]. Białka przynależne do pierwszej rodziny wprowadzają zmiany kowalencyjne histonów, gdzie fosforylacja, acetylacja, metylacja, ubikwitynacja, biotynylacja i mono-ADPrybozylacja histonów wpływa na ich oddziaływania z innymi czynnikami czy DNA [21]. Druga rodzina składa się z kompleksów zależnych od ATP modelujących chromatynę, charakteryzujących się zdolnością do wiązania zmodyfikowanych histonów/nukleosomów oraz rozerwaniu wiązania histon-DNA w rdzeniu nukleosomowym, w środowisku zależnym od ATP [53]. Wynika stąd, że modyfikacje kowalencyjne histonów odgrywają kluczową, dynamiczną rolę w odnajdywaniu i zatrzymywaniu modelujących kompleksów zależnych od ATP i następnie ułatwianiu dostępu do miejsc uszkodzeń czynnikom uczestniczącym w naprawie DNA. Wskazuje to na kluczową rolę modyfikacji histonu/chromatyny w procesach naprawy DNA.

Podatność DNA na uszkodzenia związana jest ze stopniem upakowania chromatyny, w szczególności zaś z jej strukturą nukleosomalną. Poziom adduktów indukowanych przez czynniki chemiczne oraz promieniowanie UV jest wyższy w DNA łącznikowym niż w DNA rdzeniowym. Podczas naprawy uszkodzeń spowodowanych przez promieniowanie UV następuje zmiana pozycji nukleosomów. Synteza naprawcza DNA zachodzi zarówno w DNA łącznikowym, jak i rdzeniowym, aczkolwiek początkowo zachodzi szybciej w DNA łącznikowym. DNA podlegające naprawie znajduje się w różnych stanach, związanych z tymczasowymi zmianami w strukturze nukleosomów

[93]. Wyniki szeregu badań sugerują, że synteza naprawcza nie zachodzi losowo, lecz w określonych miejscach rdzenia nukleosomu [96]. Podczas wczesnej, zachodzącej szybko fazy naprawa DNA przez wycinanie nukleotydów w chromatynie przebiega preferencyjnie w pobliżu końca 5' rdzenia nukleosomu, natomiast w pobliżu końca 3' naprawa zachodzi w mniejszym stopniu, pozostawiając nienaruszony środkowy region rdzenia [59]. Po pewnym czasie synteza naprawcza zachodzi już losowo, co sugeruje powolne przemieszczanie się histonów rdzenia wzdłuż DNA na odległość około 50 par zasad zaraz po zakończeniu naprawy [59, 93, 96].

Model zmian w konformacji nukleosomów oraz w organizacji struktury podczas naprawy przez wycinanie nukleotydów został przedstawiony na rycinie 4. Brak innych aspektów metabolizmu DNA, takich jak transkrypcja czy replikacja, którym towarzyszy rozwinięcie struktury chromatyny sugeruje, że specyficzne rozpoznanie uszkodzenia przez białka NER prowadzą do rozluźnienia włókien chromatyny [59, 93]. Dostęp kompleksu naprawczego do miejsc uszkodzeń ułatwiony jest przez specyficzne rozmieszczenie uszkodzeń w DNA ułożonego w nukleosomach. Takie zmiany struktury nukleosomów podlegają różnym mechanizmom podczas wczesnych i szybkich oraz późniejszych i wolniejszych etapów naprawy. Po ligacji DNA jest szybko układane wewnątrz struktury nukleosomu, aczkolwiek układanie histonów rdzenia zachodzi powolnie z powodu formowania włókien chromatynowych w struktury wyższego rzędu [59, 93].

Do tej pory poznana została tylko rola acetylacji histonów w NER. Odkąd stwierdzono, że te same reszty lizyny H3 i H4 są acetylowane podczas transkrypcji i NER, sugeruje się, że modyfikacje histonów mogą być decydujące przy wyborze szlaku NER przez komórkę, pomiędzy TCR i GGR. Działanie kwasu masłowego, inhibitora deacetylaz histonów (HDACs) stymuluje działanie początkowych etapów NER *in vivo*, korelowane ze zwiększeniem poziomu acetylacji histonu H4 [74]. Wyniki tych samych autorów pokazują, że synteza naprawcza w komórkach ssaków następująca po działaniu promieniowania UV jest znacząco wzmocniona w hiperacetylowanych pojedynczych nukleosomach, zaś nie jest wynikiem zwiększenia uszkodzeń wywołanych tym promieniowaniem w hiperacetylowanej chromatynie. Jedną z acetylotransferaz histonów jest białko GCN5, wchodzące między innymi w skład kompleksu transkrypcyjnego TFTC. Innym składnikiem tego kompleksu jest białko SAP130, wykazujące silną homologię z podjednostką p127 białka UV-DDB. Stwierdzono, że czynnik TFTC preferencyjnie wiąże się z chromatyną uszkodzoną przez promieniowanie UV i katalizuje acetylację histonów w miejscu uszkodzenia [10]. Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach pokazują, że promieniowanie UV prowadzi do zwiększenia poziomu acetylacji lizyny 9 i 14 histonu H3 *in vivo* [3]. Odkąd wiadome jest, że TFTC jest koaktywatorem transkrypcji i może on być głównie związany z TCR, interesująca jest odpowiedź na pytanie, czy acetylacja H3 jest częściowo związana z TCR, a acetylacja histonu H4 z GGR? Dodatkowo jeśli te same reszty lizyny histonów H3 i H4 są acetylowane podczas transkrypcji, to czy w komórce potrzebna jest dodatkowa modyfikacja histonów dla dokonania wyboru pomiędzy transkrypcją a szlakami NER, w szczególności GGR?



RYCINA 4. Zmiany w strukturze chromatyny podczas naprawy przez wycinanie nukleotydów (modyfikacje wg [25])

### Heterogenność NER

Preferencyjna naprawa nici transkrybowanej sprawia, że mutacje znacznie częściej wywoływane są przez uszkodzenia nici sensownej niż nici antysensownej, mimo że obie nici uszkodzane są z podobną częstością. Różne obszary genomu kontrolowanego przez GGR naprawiane są z różną wydajnością. Uszkodzenia usuwane są kilka razy wolniej z DNA znajdującego się w skondensowanej heterochromatynie, w stosunku do DNA zawierającego geny znajdujące się w rozluźnionej euchromatynie [9, 19]. Genomy ssaków zawierają regiony bogate w powtórzone sekwencje DNA. Uszkodzenia spowodowane promieniowaniem UV są wydajnie naprawiane w obszarach DNA zawierających takie powtórzenia [5]. Wyniki tych badań pozwalają wyjaśnić wpływ promieniowania UV na zwiększenie wydajności NER w tego typu DNA przez zmianę konformacji DNA bądź poprzez stymulowanie czynników, które zwiększają aktywność działania białek NER [5].

Również odmienne preferencje naprawy przez wycinanie nukleotydów występują w różnych regionach pojedynczego genu. W genie reduktazy dihydrofolianowej komórek jajowych chomika chińskiego (CHO) preferencyjnie naprawiane są regiony DNA w końcu 5' oraz flankujących go sekwencji. Wydajność w tym fragmencie DNA jest dużo wyższa niż w regionach w górę genu oraz w regionach położonych przy końcu 3'. Wyniki tych badań sugerują polarność NER, ze zmniejszającą się efektywnością tego systemu naprawczego w niektórych regionach genu w kierunku 5' → 3', porównywalną z taką, jaka występuje w regionach niekodujących [29].

### Synteza DNA na uszkodzonej matrycy

Synteza DNA na uszkodzonej matrycy (TLS) jest mechanizmem pozwalającym komórce na powielanie materiału genetycznego zawierającego uszkodzenia. W procesie tym uczestniczą specjalistyczne polimerazy DNA, których większość należy do rodziny polimeraz Y działających wolniej i z mniejszą dokładnością w porównaniu z polimerazami uczestniczącymi w replikacji [64]. Wyróżnia się dwie rodziny polimeraz Y u *Escherichia coli* (polimerazy IV i V), dwie u *Saccharomyces cerevisiae* (polimerazy  $\eta$  i Rev1) i cztery w komórkach ssaków (polimerazy  $\eta$ ,  $\iota$ ,  $\kappa$  i Rev1). Dodatkowo, należąca do rodziny B, polimeraza  $\zeta$  również odgrywa ważną rolę w TLS w komórkach eukariotycznych [47].

Konserwatywna struktura centrum aktywnego dwóch trzecich polimeraz z rodziny Y znajduje się w N-końcu sekwencji aminokwasowej tych białek. Polimerazy z tej rodziny umiejscowione są w jądrze i podczas trwania fazy S pol $\eta$ ,  $\eta$ ,  $\iota$  i Rev1 przemieszczają się w okolicę kompleksu replikacyjnego [38]. Podczas replikacji białka te w postaci wolnej obecne są w środowisku, w którym zachodzi proces powielania DNA. Ten stan może sugerować, że komórka może być narażona na włączenie do procesu replikacji polimerazy o niskiej dokładności działania, jednak w normalnych warunkach nie jest prawdopodobne, aby polimerazy replikujące o wysokiej dokładności mogły zostać zastąpione przez inne polimerazy [42].



Najbardziej znaną polimerazą TLS jest pol $\eta$  występująca w komórkach ssaków, której niedobór wywołuje odmianę *xeroderma pigmentosum* (XP-V) o zwiększonej podatności na nowotwory skóry [55]. Większość pacjentów z XP jest upośledzonych w usuwaniu uszkodzeń spowodowanych promieniowaniem UV za pomocą NER, zaś około 20% z nich, niemających tego defektu, wykazuje zmniejszoną zdolność replikacji DNA po działaniu UV. *In vitro* DNA zawierający dimery pirymidynowe pol $\eta$  replikuje równie wydajnie i dokładnie jak nieuszkodzony DNA [56]. Ze względu na niską procesywność pol $\eta$  jest prawdopodobne, że odłącza się ona zaraz po ominięciu uszkodzenia. Komórki XP-V mają podwyższoną częstość mutacji wywołanych UV, co wskazuje na rolę pol $\eta$  w ustanawianiu niskiego poziomu mutacji w normalnych komórkach poddanych działaniu UV [54]. Jest wielce prawdopodobne, że w przypadku braku pol $\eta$  podczas TLS wykorzystywane są inne polimerazy bądź kombinacja polimeraz tego szlaku. Ze względu, że są one mniej efektywne niż pol $\eta$ , może to prowadzić do nagromadzenia mutacji w komórkach XP-V [78].

Fotoprodukty pirymidynowe nie mogą zostać ominięte przez pol $\eta$  ze względu na to, że wywołują poważniejsze zniekształcenia DNA niż dimery pirymidynowe. Wyniki badań na komórkach ludzkich sugerują, że polimerazami prowadzącymi syntezę pomimo uszkodzeń tego typu są pol $\zeta$  i Rev1, aczkolwiek szczegółowy mechanizm nie został jeszcze poznany [61]. Pol $\zeta$  jest heterodimerem zawierającym podjednostkę katalityczną Rev3 oraz podjednostkę regulatorową Rev7 [63]. Rev1, Rev3 i Rev7 zostały pierwotnie zidentyfikowane w *S. cerevisiae*, a następnie u człowieka. Uczestniczą one w TLS uszkodzeń wywołanych przez wiele czynników uszkadzających DNA [26, 27].

Ważne staje się pytanie, jak polimerazy uczestniczące w TLS są przyłączane do widełek replikacyjnych, podczas gdy zostaje zablokowany kompleks powielający DNA? Ta zamiana polimeraz replikacyjnych na polimerazy TLS jest nazywana przełączaniem polimeraz. Kluczową rolę w tej zamianie odgrywa czynnik PCNA [34]. U *S. cerevisiae*, podczas zatrzymania widełek replikacyjnych spowodowanych uszkodzeniami wywołanymi przez siarczan metylometanu (MMS), ulega ubikwitynacji lizyna 164 w PCNA. Ta ubikwitynacja jest wywołana produktami genów, które do tej pory uważano za związane z replikacją uszkodzonego DNA, aczkolwiek ich rola dotychczas nie jest do końca poznana. Mono-ubikwitynacja PCNA prowadzona jest przez białka E2 Rad6 i E3 Rad18, które następnie przyłączane są do lizyny 63 przez heterodimery E2 Mms2-Ubc13 i E3 Rad5. Mono-ubikwitynacja uważana jest za związaną z procesem TLS, natomiast poli-ubikwitynacja za związaną ze szlakiem usuwania uszkodzeń za pomocą naprawy DNA, niewprowadzającym błędów [34]. Polimerazy  $\eta$ ,  $\iota$  i  $\kappa$  mają klasyczny motyw wiążący PCNA (PIP), aczkolwiek oddziaływania te są bardzo słabe [31, 86]. Mono-ubikwitynacja PCNA zwiększa jego powinowactwo do pol $\eta$  [39, 92]. Wykazano również, że polimerazy  $\iota$ ,  $\kappa$  i Rev1 mają domeny wiążące ubikwitynę (UBDs) i tak jak w przypadku pol $\eta$  i pol $\iota$ , prawdopodobnie także polimerazy  $\kappa$  i Rev1 wiążą ubikwitynę [7]. Kombinowane możliwości związania przez polimerazy ubikwitynowanego PCNA za pomocą PIP czy UBDs rozszerza możliwości oddziaływania pomiędzy polimerazami a PCNA, ułatwiając zarówno ich przyłączanie do zatrzymanych widełek replikacyjnych, jak i ich przełączanie.

Podczas ewolucji komórki ssaków wykształciły szeroką gamę specjalnych polimeraz uczestniczących w TLS pojedynczo czy współdziałających ze sobą do omijania różnych

typów uszkodzeń DNA. Ich brak bądź osłabione działanie pociąga za sobą szeroko idące konsekwencje prowadzące do ciężkich schorzeń, związanych również z nieprawidłowym funkcjonowaniem NER.

## UWAGI KOŃCOWE

Poznanie szlaków naprawy DNA przez wycinanie nukleotydów pozwoli w przyszłości pomagać w diagnozowaniu oraz przy wykorzystaniu terapii genowej leczyć choroby wywołane mutacjami w genach kodujących białka uczestniczące w tym typie naprawy. Aktualna wiedza jest jeszcze daleka od tego, żeby zrozumieć złożoność procesów zachodzących w komórce z uszkodzonym DNA. Identyfikowane są geny, które podlegają ekspresji w sytuacji związanej ze stresem spowodowanym uszkodzeniami DNA. Służy to do poznania odpowiedzi komórki, uzależnionych od rodzaju uszkodzenia DNA, w szczególności odnoszących się do indukcji naprawy oraz genów związanych z apoptozą wywołaną uszkodzeniami spowodowanymi przez promieniowanie UV. Szlaki naprawy DNA przez wycinanie nukleotydów w określonych warunkach charakteryzuje zdolność niezależnego działania od innych reakcji komórkowych. Indywidualne czynniki odpowiedzi komórkowej pełnią nie tylko rolę opóźniającą cykl komórkowy, ale również bezpośrednio bądź pośrednio oddziałują z naprawą. To jak te czynniki rozpoznają uszkodzenia w DNA po to, by wybrać drogę naprawy DNA czy też apoptozy, pozostaje do zbadania. Do zbadania pozostaje również, gdzie umiejscawia się uszkodzenie wewnątrz kompleksu polimerazy RNA oraz jak wpływa ono na zatrzymanie, czy też na omijanie uszkodzenia przez enzym. Oprócz odpowiedzi na te pytania należy również odpowiedzieć, jakie zmiany konformacyjne zachodzą w polimerazie RNA w zależności od typu uszkodzenia, jak również czy polimeraza RNA powraca do miejsca zatrzymania po zakończeniu naprawy i czy ten powrót wymaga oddziaływania dodatkowych białek. Poznanie tych zagadnień jest niezbędne dla całkowitego poznania związku naprawy DNA z transkrypcją i roli tego sprzężenia dla właściwego funkcjonowania komórki.

Te aspekty odpowiedzi na uszkodzenia DNA muszą zostać w przyszłości wyjaśnione dla lepszego zrozumienia odpowiedzi komórkowej na czynniki genotoksyczne. Wiedza ta może pozwolić na rozwinięcie strategii mających na celu ochronę przeciwnowotworową oraz chemioterapię. Wyniki pochodzące z sekwencjonowania genomu człowieka są także ogromnym źródłem informacji, które mogą pomóc w zrozumieniu, jak ewoluowały systemy obrony organizmów w odpowiedzi na oddziaływanie na DNA czynników środowiskowych i komórkowych.

## LITERATURA

- [1] ADIMOOLAM S, FORD JM. p53 and DNA damage-inducible expression of the *xeroderma pigmentosum* group C gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 12985–12990.
- [2] ADIMOOLAM S, FORD JM. p53 and regulation of DNA damage recognition during nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst)* 2003; **2**: 947–954.

- [3] ALLISON SJ, MILNER J. Loss of p53 has site-specific effects on histone H3 modification, including serine 10 phosphorylation important for maintenance of ploidy. *Cancer Res* 2003; **63**: 6674–6679.
- [4] ARAUJO SJ, TIRODE F, COIN F, POSPIECH H, SYVAOJA JE, STUCKI M, HUBSCHER U, EGLY JM, WOOD RD. Nucleotide excision repair of DNA with recombinant human proteins: definition of the minimal set of factors, active forms of TFIIH, and modulation by CAK. *Genes Dev* 2000; **14**: 349–359.
- [5] BALAJEE AS, BOHR VA. Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene* 2000; **250**: 15–30.
- [6] BERNEBURG M, LEHMANN AR. *Xeroderma pigmentosum* and related disorders: defects in DNA repair and transcription. *Adv Genet* 2001; **43**: 71–102.
- [7] BIENKO M, GREEN CM, CROSETTO N, RUDOLF F, ZAPART G, COULL B, KANNOUCHE P, WIDER G, PETER M, LEHMANN AR, HOFMANN K, DIKIC I. Ubiquitin-binding domains in translesion synthesis polymerases. *Science* 2005; **310**: 1821–1824.
- [8] BINZ SK, SHEEHAN AM, WOLD MS. Replication protein A phosphorylation and the cellular response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 2004; **3**: 1015–1024.
- [9] BOHR VA. Gene specific DNA repair. *Carcinogenesis* 1991; **12**: 1983–1992.
- [10] BRAND M, MOGGS JG, OULAD-ABDELGHANI M, LEJEUNE F, DILWORTH FJ, STEVENIN J, ALMOUZI G, TORA L. UV-damaged DNA-binding protein in the TFIIH complex links DNA damage recognition to nucleosome acetylation. *EMBO J* 2001; **20**: 3187–3196.
- [11] BREGEON D, DODDRIDGE ZA, YOU HJ, WEISS B, DOETSCH PW. Transcriptional mutagenesis induced by uracil and 8-oxoguanine in *Escherichia coli*. *Mol Cell* 2003; **12**: 959–970.
- [12] CAMENISCH U, DIP R, SCHUMACHER SB, SCHULER B, NAEGELI H. Recognition of helical kinks by *xeroderma pigmentosum* group A protein triggers DNA excision repair. *Nat Struct Mol Biol* 2006; **13**: 278–284.
- [13] CHAO C, SAITO S, KANG J, ANDERSON CW, APPELLA E, XU Y. p53 transcriptional activity is essential for p53-dependent apoptosis following DNA damage. *EMBO J* 2000; **19**: 4967–4975.
- [14] CHEN J, LAROCHELLE S, LI X, SUTER B. Xpd/Ercc2 regulates CAK activity and mitotic progression. *Nature* 2003; **424**: 228–232.
- [15] CHIGANCAS V, BATISTA LF, BRUMATTI G, AMARANTE-MENDES GP, YASUI A, MENCK CF. Photorepair of RNA polymerase arrest and apoptosis after ultraviolet irradiation in normal and XPB deficient rodent cells. *Cell Death Differ* 2002; **9**: 1099–1107.
- [16] COSTA RMA, CHIGANÇAS V, Da SILVA GALHARDO R, CARVALHO H, MENCK CFM. The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. *Biochimie* 2003; **85**: 1083–1099.
- [17] COUILLARD J, DEMERS M, LAVOIE G, St-PIERRE Y. The role of DNA hypomethylation in the control of stromelysin gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **342**: 1233–1239.
- [18] DIP R, CAMENISCH U, NAEGELI H. Mechanisms of DNA damage recognition and strand discrimination in human nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst)* 2004; **3**: 1409–1423.
- [19] DRURY MD, SKOGEN MJ, KMIIEC EB. A tolerance of DNA heterology in the mammalian targeted gene repair reaction. *Oligonucleotides* 2005; **15**: 155–171.
- [20] EVANS E, MOGGS JG, HWANG JR, EGLY JM, WOOD RD. Mechanism of open complex and dual incision formation by human nucleotide excision repair factors. *EMBO J* 1997; **16**: 6559–6573.
- [21] FISCHLE W, WANG Y, ALLIS CD. Histone and chromatin cross-talk. *Curr Opin Cell Biol* 2003; **15**: 172–183.
- [22] FITCH ME, NAKAJIMA S, YASUI A, FORD JM. *In vivo* recruitment of XPC to UV-induced cyclobutane pyrimidine dimers by the DDB2 gene product. *J Biol Chem* 2003; **278**: 46906–46910.
- [23] FORD JM. Regulation of DNA damage recognition and nucleotide excision repair: Another role for p53. *Mutat Res* 2005; **577**: 195–202.
- [24] FRIEDBERG EC. How nucleotide excision repair protects against cancer. *Nat Rev Cancer* 2001; **1**: 22–33.
- [25] FRIEDBERG EC, WALKER GC, SIEDE W, WOOD RD, SCHULTZ RA, ELLENBERGER T. Heterogeneity of nucleotide excision repair in eukaryotic genomes. *DNA Repair and Mutagenesis* Washington, ASM Press 2006: 351–378.
- [26] GIBBS PEM, WANG XD, LI Z, McMANUS T, MCGREGOR G, LAWRENCE CW, MAHER VM. The function of the human homolog of *Saccharomyces cerevisiae* REV1 is required for mutagenesis induced by ultraviolet light. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 4186–4191.
- [27] GIBBS PEM, MCGREGOR WG, MAHER VM, NISSON P, LAWRENCE CW. A human homolog of the *Saccharomyces cerevisiae* REV3 gene, which encodes the catalytic subunit of DNA polymerase  $\zeta$ . *Proc. Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 6876–6880.

- [28] GOODARZI AA, BLOCK WD, LEES-MILLER SP. The role of ATM and ATR in DNA damage-induced cell cycle control. *Prog Cell Cycle Res* 2003; **5**: 393–411.
- [29] HANAWALT PC. Heterogeneity of DNA repair at the gene level. *Mutat Res* 1991; **247**: 203–211.
- [30] HANAWALT PC. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene* 2002; **21**: 8949–8956.
- [31] HARACSKA L, JOHNSON RE, UNK I, PHILLIPS B, HURWITZ J, PRAKASH L, PRAKASH S. Physical and functional interactions of human DNA polymerase  $\zeta$  with PCNA. *Mol Cell Biol* 2001; **21**: 7199–7206.
- [32] HASSA PO, HOTTIGER MO. An epigenetic code for DNA damage repair pathways? *Biochem Cell Biol* 2005; **83**: 270–285.
- [33] HELT CE, CLIBY WA, KENG PC, BAMBARA RA, O'REILLY MA. Ataxia telangiectasia mutated (ATM) and Rad3-related protein exhibit selective target specificities in response to different forms of DNA damage. *J Biol Chem* 2005; **280**: 1186–1192.
- [34] HOEGE C, PFANDER B, MOLDOVAN GL, PYROLOWAKIS G, JENTSCH S. RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO. *Nature* 2002; **419**: 135–141.
- [35] HUNTING DJ, GOWANS BJ, DRESLER SL. DNA polymerase delta mediates excision repair in growing cells damaged with ultraviolet radiation. *Biochem Cell Biol* 1991; **69**: 303–308.
- [36] JAWHARI A, LAINE JP, DUBAELE S, LAMOUR V, POTERSZMAN A, COIN F, MORAS D, EGLY JM. p52 Mediates XPB function within the transcription/repair factor TFIIH. *J Biol Chem* 2002; **277**: 31761–31767.
- [37] KAMIONKA M, FEIGON J. Structure of the XPC binding domain of hHR23A reveals hydrophobic patches for protein interaction. *Protein Sci* 2004; **13**: 2370–2377.
- [38] KANNOUCHE P, FERNANDEZ de HENESTROSA AR, COULL B, VIDAL AE, GRAY C, ZICHA D, WOODGATE R, LEHMANN AR. Localization of DNA polymerases  $\eta$  and  $\iota$  to the replication machinery is tightly co-ordinated in human cells. *EMBO J* 2003; **22**: 1223–1233.
- [39] KANNOUCHE PL, WING J, LEHMANN AR. Interaction of human DNA polymerase  $\eta$  with monoubiquitinated PCNA; a possible mechanism for the polymerase switch in response to DNA damage. *Mol Cell* 2004; **14**: 491–500.
- [40] KASTAN MB, GOWANS BJ, LIEBERMAN MW. Methylation of deoxycytidine incorporated by excision-repair synthesis of DNA. *Cell* 1982; **30**: 509–516.
- [41] KIM B, RYU KS, KIM HJ, CHO SJ, CHOI BS. Solution structure and backbone dynamics of the XPC-binding domain of the human DNA repair protein hHR23B. *FEBS J* 2005; **272**: 2467–2476.
- [42] KING NM, NIKOLAISHVILI-FEINBERG N, BRYANT MF, LUCHE DD, HEFFERNAN TP, SIMPSON DA, HANAOKA F, KAUFMANN WK, CORDEIRO-STONE M. Overproduction of DNA polymerase  $\epsilon$  does not raise the spontaneous mutation rate in diploid human fibroblasts. *DNA Rep (Amst)* 2005; **4**: 714–724.
- [43] KLOSE RJ, BIRD AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci* 2006; **31**: 89–97.
- [44] KOBERLE B, ROGINSKAYA V, WOOD RD. XPA protein as a limiting factor for nucleotide excision repair and UV sensitivity in human cells. *DNA Repair (Amst)* 2006; **5**: 641–648.
- [45] KULAKSIZ G, REARDON JT, SANCAR A. Xeroderma pigmentosum complementation group E protein (XPE/DDB2): purification of various complexes of XPE and analyses of their damaged DNA binding and putative DNA repair properties. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 9784–9792.
- [46] Le PAGE F, KWONG EE, AVRUTSKAYA A, GENTIL A, LEADON SA, SARASIN A, COOPER PK. Transcription-coupled repair of 8-oxoguanine: requirement for XPG, TFIIH, and CSB and implications for Cockayne syndrome. *Cell* 2000; **101**: 159–171.
- [47] LEHMANN AR. Translesion synthesis in mammalian cells. *Exp Cell Res* 2006; **312**: 2673–2676.
- [48] LI G, HO VC. p53-dependent DNA repair and apoptosis respond differently to high- and low-dose ultraviolet radiation. *Br J Dermatol* 1998; **139**: 3–10.
- [49] LINDAHL T, SATOH MS, POIRIER GG, KLUNGLAND A. Post-translational modification of poly(ADP-ribose) polymerase induced by DNA strand breaks. *Trends Biochem Sci* 1995; **20**: 405–411.
- [50] LIU Y, LIU Y, YANG Z, UTZAT C, WANG G, BASU AK, ZOU Y. Cooperative interaction of human XPA stabilizes and enhances specific binding of XPA to DNA damage. *Biochemistry* 2005; **44**: 7361–7368.
- [51] LJUNGMAN M. Recovery of RNA synthesis from the DHFR gene following UV-irradiation precedes the removal of photolesions from the transcribed strand. *Carcinogenesis* 1999; **20**: 395–399.

- [52] LUO Z, ZHENG J, LU Y, BREGMAN DB. Ultraviolet radiation alters the phosphorylation of RNA polymerase II large subunit and accelerates its proteasome-dependent degradation. *Mutat Res* 2001; **486**: 259–274.
- [53] LUSSEY A, KADONAGA JT. Chromatin remodeling by ATP-dependent molecular machines. *Bioessays* 2003; **25**: 1192–1200.
- [54] MAHER VM, OUELLETTE LM, CURREN RD. Frequency of ultraviolet light-induced mutations is higher in *Xeroderma pigmentosum* variant cells than in normal human cells. *Nature* 1976; **261**: 593–595.
- [55] MASUTANI C, KUSUMOTO R, YAMADA A, DOHMAE N, YOKOI M, YUASA M, ARAKI M, IWAI S, TAKIO K, HANAOKA F. The XPV (*xeroderma pigmentosum* variant) gene encodes human DNA polymerase eta. *Nature* 1999; **399**: 700–704.
- [56] MASUTANI C, KUSUMOTO R, IWAI S, HANAOKA F. Accurate translesion synthesis by human DNA polymerase η. *EMBO J* 2000; **19**: 3100–3109.
- [57] MEI KWEI JS, KURAOKA I, HORIBATA K, UBUKATA M, KOBATAKE E, IWAI S, HANDA H, TANAKA K. Blockage of RNA polymerase II at a cyclobutane pyrimidine dimer and 6–4 photoproduct. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **320**: 1133–1138.
- [58] MELLON I. Transcription-coupled repair: A complex affair. *Mutat Res* 2005; **577**: 155–161.
- [59] MORALES V, GIAMARCHI C, CHAILLEUX C, MORO F, MARSAUD V, Le RICOUSSE S, RICHARD-FOY H. Chromatin structure and dynamics: functional implications. *Biochimie* 2001; **83**: 1029–1039.
- [60] MOSER J, VOLKER M, KOOL H, ALEKSEEV S, VRIELING H, YASUI A, van ZEELAND AA, MULLENDERS LH. The UV-damaged DNA binding protein mediates efficient targeting of the nucleotide excision repair complex to UV-induced photo lesions. *DNA Repair (Amst)* 2005; **4**: 571–582.
- [61] NAKAJIMA S, LAN L, KANNO S, TAKAO M, YAMAMOTO K, EKER AP, YASUI A. UV light-induced DNA damage and tolerance for the survival of nucleotide excision repair-deficient human cells. *J Biol Chem* 2004; **279**: 46674–46677.
- [62] NAKATSU Y, ASAHINA H, CITTERIO E, RADEMAKERS S, VERMEULEN W, KAMIUCHI S, YEO JP, KHAW MC, SAIJO M, KODO N, MATSUDA T, HOEIJMAKERS JH, TANAKA K. XAB2, a novel tetratricopeptide repeat protein involved in transcription-coupled DNA repair and transcription. *J Biol Chem* 2000; **275**: 34931–34937.
- [63] NELSON JR, LAWRENCE CW, HINKLE DC. Thymine–thymine dimer bypass by yeast DNA polymerase ζ. *Science* 1996; **272**: 1646–1649.
- [64] OHMORI H, FRIEDBERG EC, FUCHS RPP, GOODMAN MF, HANAOKA F, HINKLE D, KUNKEL TA, LAWRENCE CW, LIVNEH Z, NOHMI T, PRAKASH L, PRAKASH S, TODO T, WALKER GC, WANG Z, WOODGATE R. The Y-family of DNA polymerases. *Mol Cell* 2001; **8**: 7–8.
- [65] PIETRZYKOWSKA I, KRZAWICZ J. Mechanizmy naprawy DNA u bakterii i człowieka. *Kosmos* 1999; **245**: 315–328.
- [66] RAASI S, ORLOV I, FLEMING KG, PICKART CM. Binding of polyubiquitin chains to ubiquitin-associated (UBA) domains of HHR23A. *J Mol Biol* 2004; **341**: 1367–1379.
- [67] ROBERTSON KD, JONES PA. DNA methylation: past, present and future directions. *Carcinogenesis* 2000; **21**: 461–467.
- [68] ROCKX DA, MASON R, van HOFFEN A, BARTON MC, CITTERIO E, BREGMAN DB, van ZEELAND AA, VRIELING H, MULLENDERS LH. UV-induced inhibition of transcription involves repression of transcription initiation and phosphorylation of RNA polymerase II. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 10503–10508.
- [69] RUBBI CP, MILNER J. p53 is a chromatin accessibility factor for nucleotide excision repair of DNA damage. *EMBO J* 2003; **22**: 975–986.
- [70] SAIJO M, MATSUDA T, KURAOKA I, TANAKA K. Inhibition of nucleotide excision repair by anti-XPA monoclonal antibodies which interfere with binding to RPA, ERCC1, and TFIIH. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **321**: 815–822.
- [71] SARKER AH, TSUTAKAWA SE, KOSTEK S, NG C, SHIN DS, PERIS M, CAMPEAU E, TAINER JA, NOGALES E, COOPER PK. Recognition of RNA polymerase II and transcription bubbles by XPG, CSB, and TFIIH: insights for transcription-coupled repair and Cockayne Syndrome. *Mol Cell* 2005; **20**: 187–198.
- [72] SCHULTZ P, FRIBOURG S, POTERSZMAN A, MALLOWH V, MORAS D, EGLY JM. Molecular structure of human TFIIH. *Cell* 2000; **102**: 599–607.
- [73] SEEBERG E, EIDE L, BJORAS M. The base excision repair pathway. *Trends Biochem Sci* 1995; **20**: 391–397.

- [74] SMERDON MJ, LAN SY, CALZA RE, REEVES R. Sodium butyrate stimulates DNA repair in UV-irradiated normal and *xeroderma pigmentosum* human fibroblasts. *J Biol Chem* 1982; **257**: 13441–13447.
- [75] THOMA BS, VASQUEZ KM. Critical DNA damage recognition functions of XPC-hHR23B and XPA-RPA in nucleotide excision repair. *Mol Carcinog* 2003; **38**: 1–13.
- [76] THOMA BS, WAKASUGI M, CHRISTENSEN J, REDDY MC, VASQUEZ KM. Human XPC-hHR23B interacts with XPA-RPA in the recognition of triplex-directed psoralen DNA interstrand crosslinks. *Nucleic Acids Res* 2005; **33**: 2993–3001.
- [77] THOREL F, CONSTANTINO A, DUNAND-SAUTHIER I, NOUSPIKEL T, LALLE P, RAAMS A, JASPERS NG, VERMEULEN W, SHIVJI MK, WOOD RD, CLARKSON SG. Definition of a short region of XPG necessary for TFIIH interaction and stable recruitment to sites of UV damage. *Mol Cell Biol* 2004; **24**: 10670–10680.
- [78] TISSIER A, McDONALD JP, FRANK EG, WOODGATE R. Poliota, a remarkably error-prone human DNA polymerase. *Genes Dev* 2000; **14**: 1642–1650.
- [79] TORNALETTI S. Transcription arrest at DNA damage sites. *Mutat Res* 2005; **577**: 131–145.
- [80] TRIPSANES K, FOLKERS G, AB E, DAS D, ODIJK H, JASPERS NG, HOEIJMAKERS JH, KAPTEIN R, BOELEN R. The structure of the human ERCC1/XPF interaction domains reveals a complementary role for the two proteins in nucleotide excision repair. *Structure* 2005; **13**: 1849–1858.
- [81] TUREK-PLEWA J, JAGODZINSKI PP. The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression. *Cell Mol Biol Lett* 2005; **10**: 631–647.
- [82] UCHIDA A, SUGASAWA K, MASUTANI C, DOHMAE N, ARAKI M, YOKOI M, OHKUMA Y, HANAOKA F. The carboxy-terminal domain of the XPC protein plays a crucial role in nucleotide excision repair through interactions with transcription factor IIIH. *DNA Repair* 2002; **1**: 449–461.
- [83] UNSAL-KACMAZ K, MAKHOV AM, GRIFFITH JD, SANCAR A. Preferential binding of ATR protein to UV-damaged DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 6673–6678.
- [84] van HOFFEN A, BALAJEE AS, van ZEELAND AA, MULLENDERS LH. Nucleotide excision repair and its interplay with transcription. *Toxicology* 2003; **193**: 79–90.
- [85] VASQUEZ KM, CHRISTENSEN J, LI L, FINCH RA, GLAZER PM. Human XPA and RPA DNA repair proteins participate in specific recognition of triplex-induced helical distortions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 5848–5853.
- [86] VIDAL AE, KANNOUCHE P, PODUST VN, YANG W, LEHMANN AR, WOODGATE R. PCNA-dependent coordination of the biological functions of human DNA polymerase  $\epsilon$ . *J Biol Chem* 2004; **279**: 48360–48368.
- [87] VISPE S, YUNG TM, RITCHOT J, SERIZAWA H, SATOH MS. A cellular defense pathway regulating transcription through poly(ADP-ribosyl)ation in response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 9886–9891.
- [88] VISWANATHAN A, DOETSCH PW. Effects of nonbulky DNA base damages on *Escherichia coli* RNA polymerase-mediated elongation and promoter clearance. *J Biol Chem* 1998; **273**: 21276–21281.
- [89] VOLKER M, MONE MJ, KARMAKAR P, van HOFFEN A, SCHUL W, VERMEULEN W, HOEIJMAKERS JH, VAN DRIEL R, van ZEELAND AA, MULLENDERS LH. Sequential assembly of the nucleotide excision repair factors *in vivo*. *Mol Cell* 2001; **8**: 213–224.
- [90] WALICKA M. DNA repair in the human genome. *Post Biochem* 1994; **40**: 77–85.
- [91] WANG QE, ZHU Q, WANI MA, WANI G, CHEN J, WANI AA. Tumor suppressor p53 dependent recruitment of nucleotide excision repair factors XPC and TFIIH to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 2003; **2**: 483–499.
- [92] WATANABE K, TATEISHI S, KAWASUJI M, TSURIMOTO T, INOUE H, YAMAIZUMI M. Rad18 guides poleta to replication stalling sites through physical interaction and PCNA monoubiquitination. *EMBO J* 2004; **28**: 3886–3896.
- [93] WIDLAK P, PIETROWSKA M, LANUSZEWSKA J. The role of chromatin proteins in DNA damage recognition and repair Mini-review. *Histochem Cell Biol* 2006; **125**: 119–126.
- [94] WILSON VL, JONES PA. Inhibition of DNA methylation by chemical carcinogens *in vitro*. *Cell* 1983; **32**: 239–246.
- [95] WINKLER GS, SUGASAWA K, EKER AP, de LAAT WL, HOEIJMAKERS JH. Novel functional interactions between nucleotide excision DNA repair proteins influencing the enzymatic activities of TFIIH, XPG, and ERCC1-XPF. *Biochemistry* 2001; **40**: 160–165.

- [96] WOOD A, SCHNEIDER J, SHILATIFARD A. Cross-talking histones: implications for the regulation of gene expression and DNA repair. *Biochem Cell Biol* 2005; **83**: 460–467.
- [97] WOODCOCK CL, GRIGORYEV SA, HOROWITZ RA, WHITAKER N. A chromatin folding model that incorporates linker variability generates fibers resembling the native structures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90**: 9021–9025.
- [98] YANG ZG, LIU Y, MAO LY, ZHANG JT, ZOU Y. Dimerization of human XPA and formation of XPA2-RPA protein complex. *Biochemistry* 2002; **41**: 13012–13020.
- [99] ZIEGLER M, OEI SL. A cellular survival switch: poly(ADP-ribosyl)ation stimulates DNA repair and silences transcription. *Bioessays* 2001; **23**: 543–548.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 22.05. 2006 r.*  
*Przyjęto: 02.10. 2006 r.*  
*Banacha 12/16, 90-237 Łódź*  
*e-mail: tomliw@biol.uni.lodz.pl,*  
*januszb@biol.uni.lodz.pl*