

УДК 577.152.2

Разнообразие и функции топоизомераз типа II

Д. А. Сутормин^{1,2*}, А. Х. Галивонджян^{3,4}, А. В. Полховский^{1,2}, С. О. Камалян^{1,2},
К. В. Северинов^{2,5,6}, С. А. Дубилей^{1,2}

¹Институт биологии гена РАН, Москва, 119334 Россия

²Центр наук о жизни, Сколковский институт науки и технологий, Москва, 121205 Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

⁴Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182 Россия

⁵Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, ИБГ РАН, Москва, 119334 Россия

⁶Институт микробиологии Ваксмана, Пискатэвей, Нью-Джерси 08854, США

*E-mail: sutormin94@gmail.com

Поступила в редакцию 01.07.2020

Принята к печати 09.10.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11058

РЕФЕРАТ Двойная спираль ДНК является элегантным способом хранения информации с точки зрения механизма копирования и стабильности молекулы. Однако любые процессы матричного синтеза, такие, как транскрипция и репликация, связаны с разъединением цепей ДНК, а потому вызывают побочный топологический эффект – суперспирализацию молекулы. Как следствие, при репликации дочерние молекулы ДНК могут оказаться топологически сцепленными (образуют так называемые катенаны), а также способными образовывать узлы. Разрешением топологических проблем, а именно, релаксацией супервитков ДНК, разъединением катенанов и узлов занимаются специальные ферменты – топоизомеразы. Мы рассмотрим представителей топоизомераз типа II – механизм катализа, эволюцию, разнообразие и роль этих ферментов у организмов всех доменов жизни, в том числе вирусов и мобильных генетических элементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА топоизомеразы, суперспирализация, декатенация, транскрипция, репликация, сегрегация ДНК, пространственная организация хромосом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ LUSA – последний всеобщий предок; CTD – С-концевой домен; ТАД – топологически ассоциированный домен.

ТОПОЛОГИЯ ДНК

Для описания топологического состояния ДНК и уровня ее суперспирализации используют понятие «порядок зацепления» (от англ. linking number – Lk) [1]. Если представить одну из цепей ковалентно замкнутой кольцевой молекулы ДНК в качестве границы воображаемой поверхности, то порядок зацепления цепей ДНК будет равен числу пересечений этой поверхности второй цепью ДНК с учетом знака этого пересечения (рис. 1А). Lk не зависит от деформаций молекулы и может быть изменен только путем разрыва, переноса и религирирования цепей ДНК (рис. 1А) [2]. Характеристикой релаксированной молекулы ДНК является теоретический порядок зацепления (Lk^0), равный отношению длины молекулы в нуклеотидах (N) к периоду ДНК ($h = 10.5$ нт/виток для канонической В-формы ДНК) (1). Lk молекул ДНК, выделенных из живых организмов, отличается от Lk^0 – он может как превышать Lk^0 ($\Delta Lk > 0$, тогда говорят о положительной суперспирализации молекулы), так и быть меньше Lk^0 ($\Delta Lk < 0$, отрицательно суперспирализованные молекулы) (2).

Lk складывается из двух геометрических характеристик двойной спирали, называемых твист (от англ. twist – Tw) и райзинг (от англ. writhe – Wr) (3). Твист определяется как количество витков, которые совершают цепи ДНК вокруг друг друга вдоль оси двойной спирали, тогда как райзинг является мерой спирализации оси молекулы ДНК [3]. При изменении Lk относительно Lk^0 суперспирализация распределяется между изменениями твиста и райзинга (4), которые могут переходить друг в друга. Например, согласно данным электронной микроскопии плазмид, 75% суперспирализации ДНК приходится на райзинг и 25% – на изменение твиста [3]. В природе суперспирализация ДНК в форме райзинга стабильно существует в двух формах – плектономы (образование двойной спирали более высокого порядка) и соленоиды (одинарной спирали более высокого порядка, характерной, например, для ДНК, обернутой вокруг белка) (рис. 1Б) [3]. Более подробное и всеобъемлющее обсуждение топологии ДНК можно найти, например, в книге “DNA Topology”, Bates & Maxwell, 2005 [3].

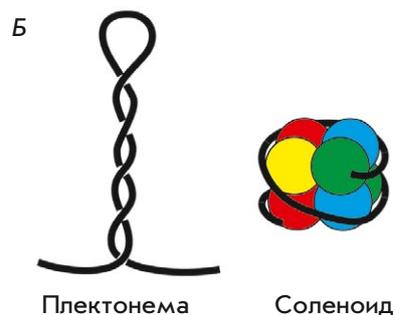
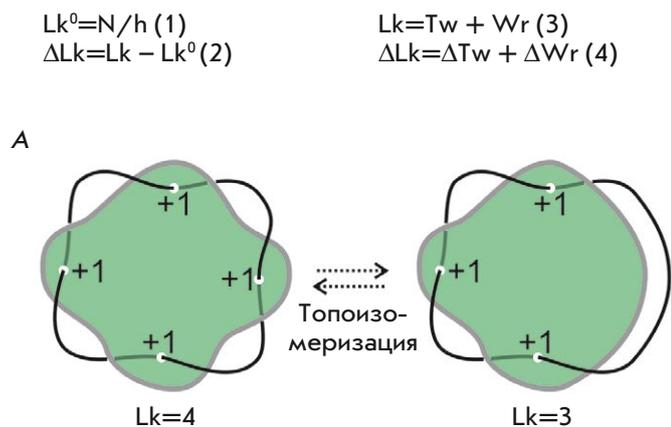


Рис. 1. Топология ДНК. Порядок зацепления кольцевой молекулы ДНК и его изменение в результате расщепления и переноса цепи (А) и пространственные структуры, возникающие в результате суперспирализации ДНК – плектонома и соленоид (Б)

СТРОЕНИЕ, ЭВОЛЮЦИЯ И КАТАЛИТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ТОПОИЗОМЕРАЗ ТИПА II

Регуляцией уровня суперспирализации ДНК и разрешением узлов и катенанов занимаются специальные ферменты – топоизомеразы [4, 5]. На основе строения, гомологии и каталитического механизма топоизомеразы принято делить на два типа – I и II [4]. Топоизомеразы I вносят одноцепочечный разрыв в ДНК (ник) и либо за счет вращения дуплекса ДНК вокруг второй целой цепи (класс IB, меняют Lk молекулы на произвольное целое число за один акт катализа), либо переносом целой цепи сквозь ник (класс IA, меняют Lk на ± 1) манипулируют суперспирализацией молекулы. Топоизомеразы II разрезают обе цепи в фрагменте ДНК, называемом G-сегментом, и переносят через этот разрыв второй дуплекс – T-сегмент ДНК, гидролизуя при этом две молекулы АТФ (рис. 3) [6–8]. Эта операция топологически эквивалентна изменению Lk на ± 2 [9]. Ниже мы проанализируем разнообразие, механизмы и физиологическую роль ферментов, относящихся к типу II.

Топоизомеразы II обнаружены у представителей всех доменов жизни и закодированы в подавляющем большинстве секвенированных геномов клеточных организмов за исключением нескольких экстремально редуцированных [10, 11]. Во всех изученных случаях показана необходимость топоизомеразы II для транскрипции, репликации и сегрегации хромосом при делении клетки.

На основе строения и особенностей каталитического цикла топоизомеразы II подразделяют на два класса – IIA и IIB (рис. 2, 3) [4]. Топоизомеразы могут быть гетеротетрамерами, состоящими из двух В- и двух А-субъединиц, либо гомодимерами, в которых субъединицы В и А объединились в единый полипептид [10]. Субъединицы топоизомераз имеют интерфейсы димеризации, так называемые ворота. Консервативный АТФ-гидролизующий GНKL (от англ. **G**yrase, **H**sp90, **H**istidine Kinase, **M**utL) домен [12] образует **N-ворота**, домены Toprim и WHD

(от англ. **T**opoisomerase/**P**rimase и **W**inged-helix domain) формируют **ДНК-ворота** [13]. В этой области фермента связывается G-сегмент ДНК, который расщепляется тирозинами активного центра WHD-доменов [14]. Третий интерфейс димеризации (**С-ворота**), образованный доменом coiled-coil (CC), есть только у IIA ферментов (рис. 2) [15]. На С-конце А-субъединиц или всего полипептида в случае слитых форм расположен С-концевой домен (CTD, от англ. **C**-terminal domain), который определяет специфичность топоизомераз к структурам ДНК (супервиткам или перекрестам молекул), взаимодействует с другими белками, и у эукариот является мишенью для посттрансляционных модификаций, за счет которых регулируется активность фермента [16–18].

Считается, что на первом этапе каталитического цикла топоизомераза IIA связывает ДНК в области ДНК-ворот (G-сегмент ДНК) [19]. Связывание вызывает изгибание ДНК, что, вероятно, является механизмом топологического сканирования ДНК ферментом – топоизомераза преимущественно свяжется с суперспирализованной областью молекулы, которая уже изогнута или может быть легко изогнута за счет энергии суперспирализации [20–22]. Затем происходит улавливание Т-сегмента ДНК между GНKL-доменами и ДНК-воротами. Связывание двух молекул АТФ с АТФ-азными центрами приводит к димеризации GНKL-доменов, закрыванию N-ворот и надежному захвату Т-сегмента [23]. Гидролиз первой молекулы АТФ до АДФ запускает механизм расщепления G-сегмента ДНК тирозинами нуклеазных центров WHD-доменов и открывает ДНК-ворота, в результате чего Т-сегмент направленно проходит через разрыв и оказывается в полости белка у С-ворот [7, 13, 24, 25]. Для фиксации двухцепочечного разрыва гидроксильные группы тирозинов остаются связанными с 5'-концами ДНК фосфодиэфирными связями. Открытие С-ворот, которое выпускает Т-сегмент из ферментативного комплекса, происходит после закрытия ДНК-ворот

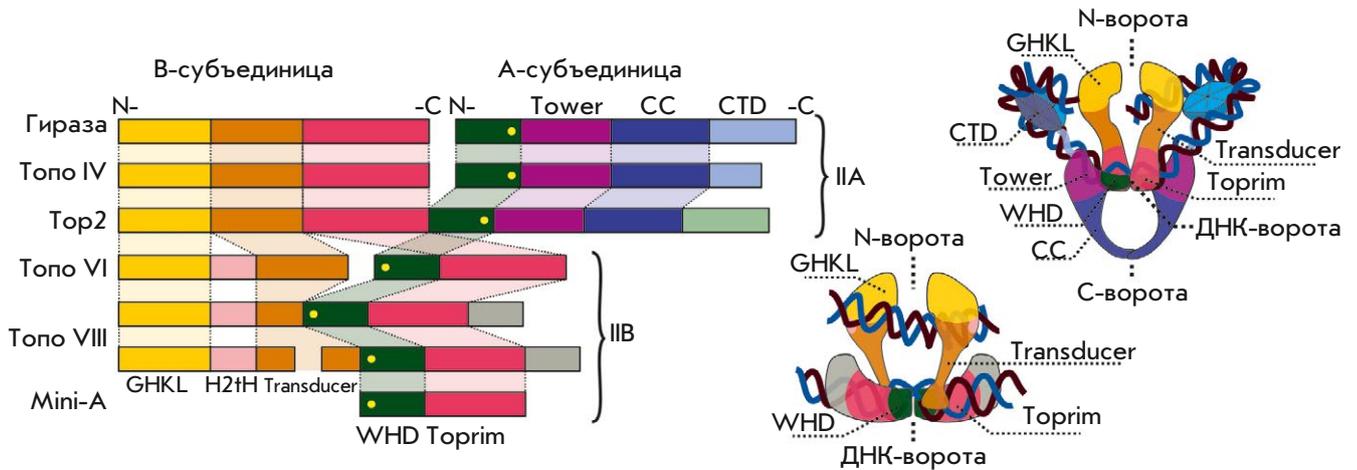


Рис. 2. Строение топоизомераз типа II. Слева – варианты доменной архитектуры ферментов. Гомологичные домены показаны одним цветом. Тирозин каталитического центра WHD-домена, необходимый для расщепления ДНК, отмечен желтым кругом. Справа – положение доменов на схематичной пространственной структуре топоизомераз IIA (на примере ДНК-гиразы) и IIB (на примере Топо VI)

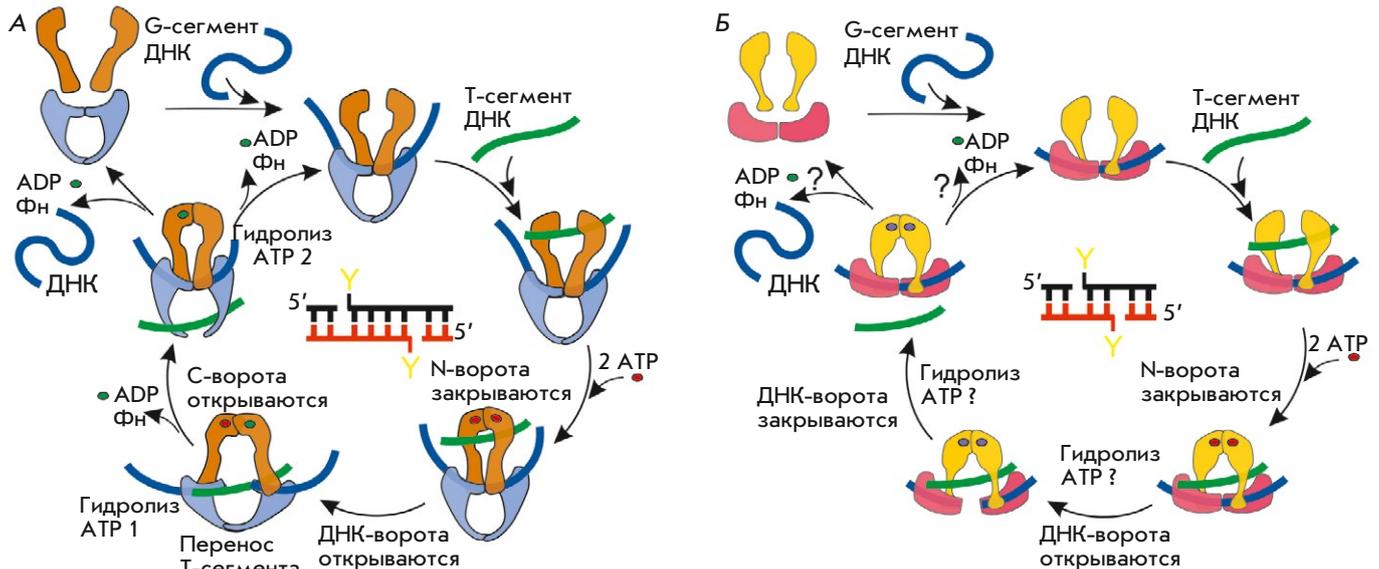


Рис. 3. Каталитические циклы топоизомераз IIA (A) и IIB (B), и влияние топоизомераз на топологию ДНК (B). На схемах показано связывание сегментов ДНК – G-сегмента (синий) и T-сегмента (зеленый); связывание и гидролиз молекул АТФ (АТФ красный, АДФ зеленый, если состояние связанного нуклеотида неизвестно (АТФ/АДФ), то он отмечен фиолетовым кружком); расщепление и лигирование G-сегмента и перенос T-сегмента сквозь ферментативный комплекс. В центре каталитических циклов показаны схемы расщепления G-сегмента ДНК под действием топоизомеразы (Y – каталитические тирозины WHD-доменов). Топоизомеразы II способны изменять суперспирализацию ДНК, а также разделять (декатенировать) или сцеплять (катенировать) молекулы ДНК

и лигирования G-сегмента в результате гидролиза второй молекулы АТФ [26]. Высвобождение молекул АДФ, которые имеют гораздо меньшую аффинность к активным центрам, приводит к открытию N-ворот и возвращению фермента в исходное состояние [23].

Считается, что связывание молекул АТФ необходимо для направленного переноса T-сегмента ДНК, поскольку сегмент не может покинуть фермент через N-ворота до тех пор, пока не гидролизованы обе молекулы АТФ [24]. Следует отметить, что роль

гидролиза АТФ в переносе сегмента окончательно не выяснена. Согласно одной из моделей, последовательный гидролиз двух молекул АТФ способствует перемещению Т-сегмента за счет конформационных перестроек [27, 28]. По другой модели гидролиз необходим только для «перезапуска» фермента и улавливания нового Т-сегмента [29]. Так, например, при добавлении в реакционную смесь негидролизуемого аналога АТФ – ADPNP, топоизомераза способна провести один акт переноса Т-сегмента, после чего фермент остается в неактивном состоянии с закрытыми N-воротами [30]. Согласно недавним исследованиям, проведенным на единичных молекулах ДНК и ДНК-гиразы с использованием магнитных пинцетов, гидролиз АТФ важен как для ускорения переноса Т-сегмента, так и для «перезапуска» фермента [7]. Альтернативное объяснение отводит связыванию АТФ и вызванной этим событием димеризации GНКЛ-доменов роль предохранителя, который необходим для стабилизации двух половин ферментативного комплекса и предотвращения формирования двухцепочечных разрывов в ходе катализа за счет случайной диссоциации двух половин фермента [8].

Каталитический механизм топоизомераз IIB считается принципиально сходным с механизмом топоизомераз IIA (рис. 3Б) [31–33]. Но из-за отсутствия С-ворот Т-сегмент после прохождения ДНК-ворот и разрыва G-сегмента сразу покидает ферментативный комплекс [31]. Кроме того, поскольку остатки тирозина WHD-доменов расположены на других элементах вторичной структуры (по сравнению с гомологичными доменами топоизомераз IIA), топоизомеразы IIB при расщеплении G-сегмента ДНК оставляют дву-, а не четырехнуклеотидные липкие 5'-концы, характерные для топоизомераз IIA [34, 35]. Показано, что расщепление G-сегмента зависит от связывания АТФ, которое считается необходимым для стабилизации комплекса и временного двухцепочечного разрыва [8, 32].

Эволюционные взаимоотношения внутри групп топоизомераз IIA и IIB и между этими группами остаются предметом дискуссии. Достоверно можно проследить лишь несколько событий, такие, как дубликации гена топоизомеразы IIA у предка бактерий (привела к появлению двух ферментов со специализированными функциями – ДНК-гиразы и Топо IV) и предка позвоночных (появились Top2 α и Top2 β), горизонтальный перенос генов гиразы из разных групп бактерий в архей Euryarchaeota и обратный перенос генов Топо VI, появление в представителях Archaeplastida бактериальной гиразы, унаследованной ими от хлоропластов при установлении первичного эндосимбиоза [10]. В случае более древних событий консенсус отсутствует.

ТОПОИЗОМЕРАЗЫ БАКТЕРИЙ

Как правило, свободноживущие быстрорастущие бактерии, такие, как *Escherichia coli*, *Caulobacter crescentus* и *Bacillus subtilis*, обладают широким набором топоизомераз, в который входят топоизомеразы I и III (принадлежащие к типу I), а также ДНК-гираза и топоизомераза IV (тип II, класс IIA) [4, 36–38]. Медленно растущие бактерии (например, *Mycobacterium tuberculosis*) или симбиотические/паразитические бактерии, для которых характерна редукция генома (например, *Helicobacter pylori*), напротив, часто имеют минимально необходимый набор, состоящий из одной топоизомеразы типа I (топоизомераза I) и одной топоизомеразы типа II (ДНК-гираза) [39, 40]. Более того, обнаружены несколько эндосимбиотических бактерий, например, *Hodgkinia cicadicola* и *Tremblaya princeps*, геномы которых вовсе не содержат генов топоизомераз II либо в них присутствует ген только одной субъединицы, как у *Carsonella ruddii* [41–43]. Эти организмы имеют крайне редуцированные геномы (139–160 т.п.н.), что обусловлено экстремальным приспособлением к паразитизму и эндосимбиозу.

ДНК-гираза и топоизомераза IV являются мишенями многих антибиотиков, которые по механизму действия можно разделить на две группы – яды и каталитические ингибиторы. Яды стабилизируют промежуточный ковалентный комплекс топоизомеразы с G-сегментом ДНК. В дальнейшем случайная диссоциация субъединиц фермента (например, в результате столкновения комплекса топоизомеразы с реплисомой или РНК-полимеразой) вызывает двухцепочечные разрывы ДНК и, как следствие, приводит к гибели клетки. Каталитические ингибиторы не вызывают разрывов в ДНК, однако подавляют активность ферментов, например, за счет связывания с АТФ-азным центром GНКЛ-домена и конкуренции с АТФ [44, 45].

Ядами для топоизомераз являются, например, препараты группы хинолонов и фторхинолонов (ципрофлоксацин, левофлоксацин и др.), часто используемые в клинической практике [44, 46]. С помощью структурных исследований показано, что движение ионов двухвалентных металлов (чаще всего магния) в каталитическом центре топоизомераз необходимо для расщепления и лигирования ДНК. Яды гиразы стабилизируют ион металла в положении, которое способствует расщеплению ДНК, но не лигированию разрыва [47, 48]. Последнее наблюдение позволило объяснить эффекты самых часто возникающих мутаций гиразы, приводящих к антибиотикорезистентности. Оказалось, что консервативные остатки серина и глутамин WHD-домена координируют молекулы воды и ион магния, которые необходимы

для связывания фторхинолонов [47]. Замена хотя бы одного из этих остатков на неполярный приводит к устойчивости бактерий [49].

Классическими каталитическими ингибиторами являются вещества класса аминкумаринов (например, новобиоцин и кумермицин А1), которые конкурируют с АТР за взаимодействие с АТР-азным центром [44, 50]. Подавление активности гиразы приводит к ингибированию репликации и транскрипции, остановке деления клеток. Из-за малой растворимости аминкумаринов и токсичности для человека препараты на их основе в настоящее время не используются в клинической практике, однако применяются в ветеринарии [45].

Распространение устойчивости к антибиотикам делает необходимым активный поиск новых антибактериальных препаратов, проводятся также клинические испытания новых классов веществ, среди которых много ингибиторов топоизомераз [45, 51, 52].

ДНК-гираза

ДНК-гиразы бактерий консервативны и обладают схожим набором свойств (рис. 4А). Уникальная особенность ДНК-гиразы – способность вносить отрицательную суперспирализацию с затратой энергии гидролиза АТР, что показано в экспериментах *in vitro* для ферментов *E. coli*, *B. subtilis*, *C. crescentus*, *M. tuberculosis* и многих других бактерий. Кроме того, ДНК-гираза эффективно релаксирует положительные супервитки и способна декатенировать кольцевые молекулы ДНК [39, 53–56].

ДНК-гираза незаменима для жизнедеятельности бактерий, гены *gyrA* и *gyrB*, кодирующие субъединицы фермента, нельзя удалить, а ингибиторы, снижающие его активность, значительно уменьшают жизнеспособность клеток [57–60]. Ингибирование гиразы вызывает у разных бактерий схожий фенотип – удлиненные клетки, не способные к делению [60, 61].

Считается, что роль гиразы в клетках заключается в поддержании отрицательной суперспирализации генома, что облегчает инициацию транскрипции и репликации, а также в релаксации положительных супервитков перед движущимися полимеразми. Ранние ChIP-chip (иммунопреципитация связанной с белком ДНК с ее последующим анализом на чипе для определения сайтов связывания белка) эксперименты с *E. coli* выявили положительную корреляцию между связыванием гиразы и уровнем транскрипции генов [65]. В дальнейшем при помощи метода Tоро-Seq, позволяющего картировать сайты активности топоизомераз с высокой точностью, было прямо показано, что каталитически активная ДНК-гираза *E. coli* расположена в концах активных генов и регионах за сайтом терминации транскрипции [66]. Аналогично,

результаты ChIP-Seq (иммунопреципитация связанной с белком ДНК с ее последующим секвенированием для определения сайтов связывания белка) экспериментов с гиразой *M. tuberculosis* свидетельствуют о преимущественном связывании фермента с транскрипционно активными областями [67]. У *C. crescentus* обнаружен ген *gapR*, подавление экспрессии которого приводит к ингибированию инициации и элонгации репликации и вызывает повышенную чувствительность клеток к ингибиторам гиразы. *In vitro* эксперименты показали, что белок GapR предпочтительно связывается с положительно суперспирализованной ДНК и взаимодействует с гиразой, увеличивая ее способность релаксировать положительные супервитки. Возможно, GapR привлекает гиразу к положительным супервиткам, образующимся перед движущимся репликационным комплексом, способствуя их релаксации и стимулируя репликацию [55]. Эксперименты с единичными молекулами показали, что в отсутствие гиразы транскрипция на топологически закрепленных молекулах быстро замедляется и в конце концов останавливается из-за накопления положительной суперспирализации (рис. 4Б). Присоединение же гиразы к такой молекуле приводит к «транскрипционному всплеску» – быстрому восстановлению нормальной скорости транскрипции [68].

Участие гиразы в процессе транскрипции не ограничивается ее способностью релаксировать положительную суперспирализацию перед РНК-полимеразой в процессе элонгации. Показано, что отрицательная суперспирализация, образованная гиразой, может как активировать, так и подавлять инициацию транскрипции генов [69]. Обнаружено, что до половины генов *E. coli* отвечают изменением уровня транскрипции на релаксацию генома [70, 71]. Онтологический анализ чувствительных к суперспирализации генов *E. coli* выявил, что продукты генов, отвечающих повышением уровня транскрипции на релаксацию отрицательных супервитков, предпочтительно обеспечивают реакции катаболизма (например, ферменты цикла Кребса), а сами гены расположены ближе к терминатору репликации. В то же время гены, для инициации транскрипции которых необходима отрицательная суперспирализация генома, преимущественно относятся к анаболическим процессам (синтез аминокислот, нуклеотидов) и находятся в области ориджина [71, 72]. Согласно модели, во время активного роста культуры *E. coli* за счет работы ДНК-гиразы в геноме формируется градиент отрицательной суперспирализации с максимальным уровнем отрицательной суперспирализации в районе ориджина репликации и минимальным – в районе терминаторов репликации. Это приводит к преимущественной экспрессии

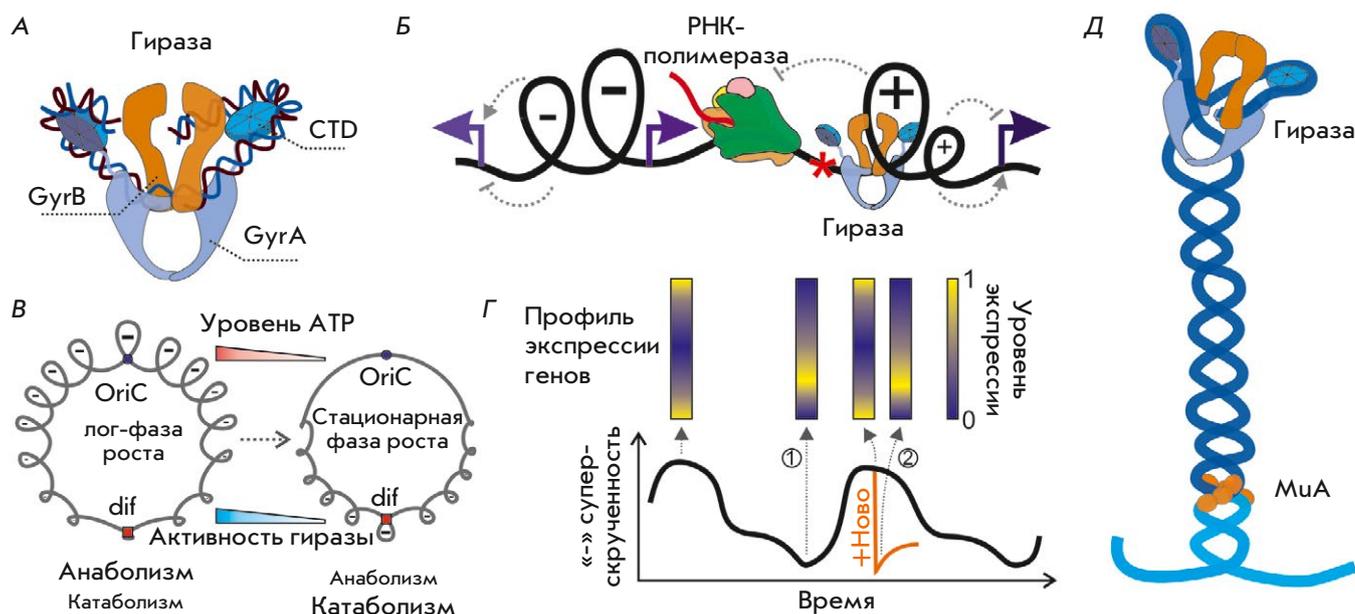


Рис. 4. ДНК-гираза и ее функции. Схема структуры комплекса ДНК-гирасы с ДНК (А). Двухдоменная модель (от англ. twin-domain model), иллюстрирующая формирование положительной суперспирализации перед элонгирующей РНК-полимеразой и отрицательной суперспирализации – позади нее [62]. Положительная и отрицательная суперспирализации, образованные при транскрипции, диффундируют по молекуле ДНК и влияют на инициацию транскрипции с близкорасположенных промоторов (показаны в виде стрелок). В зависимости от промотора эффекты могут быть как активирующими, так и ингибирующими. ДНК-гираза способствует элонгации транскрипции, релаксируя положительные супервитки перед РНК-полимеразой (Б). Предполагается, что изменения суперспирализации генома, происходящие при переходе их экспоненциальной фазы роста культуры *E. coli* в стационарную фазу роста, способствуют переключению физиологического состояния клетки от преимущественно анаболического метаболизма к катаболизму [63]. OriC – ориджин репликации бактериальной хромосомы, dif – сайт, распознающийся рекомбиназами XerC/XerD (В). Циркадные колебания суперспирализации генома цианобактерии *S. elongatus* (внизу) коррелируют с изменениями профиля транскрипции генов (вверху). Резкое падение суперспирализации генома, вызванное ингибитором ДНК-гирасы новобиоцином (показано оранжевой кривой), приводит к быстрому изменению транскрипционного профиля (2), делая его схожим с профилем бактерий, находящихся в фазе релаксации генома (1) [64] (Г). ДНК-гираза необходима для пространственной организации ДНК профага бактериофага Mu и его транспозиции. ДНК профага показана темно-синим, ДНК генома бактерии – голубым (Д)

генов, участвующих в процессе анаболизма, что способствует росту и делению клеток. При истощении питательных веществ в стационарной фазе роста культуры *E. coli* происходит уменьшение концентрации АТФ, что вызывает снижение активности ДНК-гирасы. Это приводит к уменьшению уровня суперспирализации генома и, в совокупности с другими факторами, к инверсии градиента суперспирализации хромосомы бактерии, в результате чего преимущественно экспрессируются гены, участвующие в процессах катаболизма [63]. Таким образом *E. coli* использует суперспирализацию для глобальной модуляции транскрипции генов при истощении питательных веществ в среде [72–74] (рис. 4В).

Наиболее изученными промоторами, чувствительными к уровню суперспирализации, являются промоторы генов *gyrA*, *gyrB* и *topA* *E. coli*, которые кодируют субъединицы гирасы и топоизомеразу I. Эти промоторы содержат сенсоры суперспирализации:

транскрипция *gyrA* и *gyrB* активируется при релаксации генома, тогда как *topA* лучше транскрибируется при усилении отрицательной суперспирализации [75, 76]. Таким образом может осуществляться взаимно регулируемый синтез двух топоизомераз, обладающих противоположными активностями, что служит для гомеостатирования уровня суперспирализации генома [77, 78]. Аналогичные наблюдения сделаны для генов топоизомераз *S. coelicolor* и *C. crescentus* [58, 79].

Считается, что у *Salmonella typhimurium* уровень суперспирализации регулирует переход от анаэробного метаболизма к аэробному дыханию [80]. У *H. pylori* отрицательная суперспирализация является важным регулятором синтеза жгутика [81]. Циркадные колебания суперспирализации ДНК цианобактерии *Synechococcus elongatus* коррелируют с изменениями в транскрипции генов. При этом искусственная релаксация отрицательной супер-

спирализации, вызванная добавлением ингибитора ДНК-гиразы новобиоцина, приводит к быстрому изменению транскрипции генов, схожему с физиологическими изменениями в ходе циркадного цикла (рис. 4Г) [64]. Глобальное влияние суперспирализации на активность генов у разных бактерий, отражающееся в устройстве регуляторных областей, позволяет считать ее глобальным фактором транскрипции [63, 69, 72].

Ряд наблюдений указывает на то, что гираза и вызванная ею отрицательная суперспирализация участвуют в пространственной организации генома бактерий. Так, индуцированное фторхинолонами *in vivo* расщепление гиразой геномной ДНК *E. coli* приводит к образованию фрагментов длиной 50–100 т.п.н., что примерно соответствует длине суперспирализованных доменов хромосомы [82–84]. Показано, что активность ДНК-гиразы на ее высокоаффинном сайте, расположенном в центре профага бактериофага Mu, приводит к локальному усилению отрицательной суперспирализации и компактизации участка хромосомы с профагом в виде ДНК-плектонымы, что вызывает сближение концов профага и способствует их рекомбинации вирусной транспозазой MuA [85, 86] (рис. 4Д). Считается, что избыточная отрицательная суперспирализация, накапливающаяся в клетках *E. coli* мутантных по топоизомеразе I, аналогично приводит к компактизации хромосомы [87]. Ингибирование же гиразы новобиоцином, наоборот, дезорганизует пространственную структуру хромосомы и уменьшает ее компактность, как показали эксперименты Hi-C (метод определения конформации хромосом), проведенные на *S. crescentus* [88]. Следует отметить, что значимых ассоциаций сайтов активности гиразы с границами и расположением топологически ассоциированных доменов генома у *E. coli*, определенных с помощью Hi-C, не обнаружено [66].

Топоизомераза IV

Эксперименты *in vitro* показывают, что топоизомеразы IV (Топо IV) и гиразы, несмотря на структурное сходство, обладают разным спектром активностей. Топо IV способна эффективно релаксировать положительные и (с на порядок меньшей скоростью) отрицательные супервитки, но в отличие от гиразы не может вносить избыточную отрицательную суперспирализацию [55, 56, 89]. Вместе с тем Топо IV – это эффективная декатеназа, разделяющая сцепленные кольцевые молекулы ДНК гораздо лучше, чем гираза [90–94]. Соответственно, Топо IV, но не гираза, способна расплетать узловыи структуры в молекулах ДНК *in vivo* [95]. Предполагается, что описанные отличия обусловлены строением STD-доменов GyrA-субъединицы гиразы и гомологичной ей ParC Топо IV (рис. 5Б). STD-

домен гиразы обеспечивает оборачивание фрагмента ДНК вокруг фермента, так что G-сегмент ДНК непосредственно переходит в T-сегмент, чем и достигается внутримолекулярное внесение супервитков [7, 96]. STD Топо IV не изгибает G-сегмент, однако улавливает T-сегмент таким образом, чтобы он находился перпендикулярно к G-сегменту, что преимущественно происходит с двумя разными молекулами ДНК, например, катенанами [89, 93, 97] (рис. 4А, рис. 5А).

Топо IV, как и гираза, необходима для нормального деления бактерий: мутации в генах *parC* и *parE*, кодирующих субъединицы топоизомеразы, или подавление фермента ингибиторами вызывают у ряда бактерий появление так называемого *par*-фенотипа – удлинённые клетки, не способные к делению и содержащие повышенное количество копий неразделённой ДНК [36, 98–101]. При этом отсутствие активности Топо IV не мешает прохождению и окончанию репликации хромосомы *E. coli* [99, 100]. Биохимические свойства фермента позволяют предположить, что основная функция Топо IV в клетке заключается в разделении прекатенанов во время репликации (пересечений между сестринскими молекулами ДНК, возникающими из-за вращения реплисомы) и катенанов кольцевых молекул после ее завершения [100, 102]. В соответствии с этой гипотезой Топо IV не является жизненно необходимой для *Streptomyces*, имеющих линейные хромосомы, однако важна для поддержания кольцевых плазмид [38]. Интересно, что *E. coli* с искусственно созданными линейными хромосомами тем не менее проявляют *par*-фенотип при инактивации Топо IV. Это, возможно, свидетельствует о важности своевременного удаления прекатенанов и узлов по всей длине хромосомы бактерии [103]. Повышение уровня экспрессии Топо IV приводит к ускоренному разделению ДНК при делении клеток *E. coli* [100].

Предполагается, что у бактерий, лишенных Топо IV, функцию декатенации берут на себя ДНК-гиразы и топоизомеразы типа I. Так, например, гираза *M. tuberculosis* является эффективной декатеназой, и она, как показал ChIP-Seq-эксперимент, значительно обогащена в области терминаторов репликации на хромосоме бактерии (у гиразы *E. coli* такого не наблюдается [66]), что свидетельствует в пользу выполнения ею функций Топо IV [39, 67, 104]. Вовлеченность гиразы *H. pylori* в процесс сегрегации хромосом косвенно подтверждается тем, что бактерии с делецией гена *xerH*, кодирующего рекомбиназу, участвующую в разрешении димеров хромосом и, возможно, декатенации, более чувствительны к ингибитору гиразы ципрофлоксацину [99, 105].

Способность Топо IV релаксировать положительные супервитки [56, 89] позволяет рассматривать ее

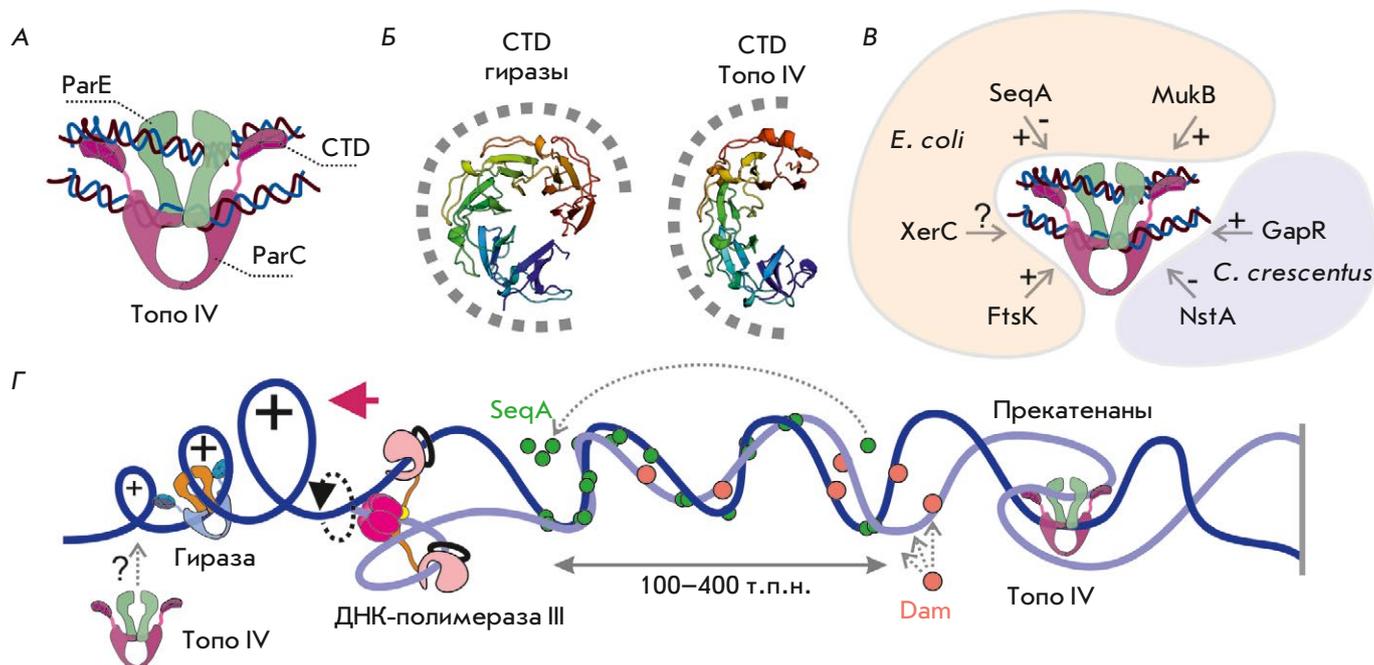


Рис. 5. Топоизомераза IV и ее функции. Схема структуры Топо IV в комплексе с ДНК (А). Сравнение структур С-концевых доменов GyrA гиразы (PDB 1zi0) и ParC Топо IV (PDB 1zvt). Предполагаемое положение ДНК при взаимодействии показано пунктиром (Б). Белки, взаимодействующие с Топо IV. Эффекты, оказываемые белками, показаны символами + (активация), – (ингибирование) и ? (взаимодействие не доказано) (В). Топологические эффекты, возникающие при репликации ДНК (Г). Движущийся репликационный комплекс создает положительные супервитки впереди себя, которые релаксируются ДНК-гиразой и, возможно, Топо IV. Из-за избыточной суперспирализации ДНК репликационный комплекс вращается, создавая прекатенаны. У *E. coli* с полуметилированными сайтами GATC новореплицированной ДНК связывается белок SeqA. Метилаза Dam метилирует GATC-сайты и вытесняет SeqA, таким образом, градиент концентрации SeqA тянется на 100–400 т.п.н. за репликационным комплексом и движется вместе с ним. Топо IV не может взаимодействовать с ДНК, покрытой SeqA, этим объясняется временная когезия регионов дочерних хромосом после репликации у *E. coli*, однако, когда все сайты GATC метилированы и SeqA больше не связан с ДНК, топоизомераза удаляет прекатенаны, разделяя дочерние хромосомы [110]

в качестве помощника ДНК-гиразы при удалении положительной суперспирализации, образованной во время транскрипции и репликации [55, 106] (рис. 5Г). Например, обнаружено, что обработка клеток *E. coli* ингибитором РНК-полимеразы рифампицином снижает активность как гиразы, так и Топо IV, по крайней мере на некоторых участках генома [83, 107]. Интересно, что увеличение копииности генов *parC* и *parE*, кодирующих Топо IV, является частой супрессорной мутацией при удалении генов *topA* топоизомеразы I *E. coli* и *B. subtilis*. Считается, что в данном случае Топо IV компенсирует потерю топоизомеразы I и выполняет ее функцию, удаляя отрицательную суперспирализацию [37, 98, 108].

Топо IV взаимодействует с рядом белков, имеющих совершенно разные функции и структуры и участвующих в организации и разделении реплицированных хромосом: у *E. coli* это белок SeqA, который связывается с полуметилированными сайтами GATC в непосредственной близости от реплисомы [109, 110], когезиновый комплекс MukBEF [111, 112],

ДНК-транслоказа FtsK [113] и, вероятно, рекомбиназа XerC [107, 114] (*puc. 5B*). Топо IV *C. crescentus* взаимодействует с белками GapR и NstA, первый из которых стимулирует активность фермента, а второй ее подавляет [55, 115]. *In vivo* Топо IV и когезиновый комплекс MukBEF *E. coli* образуют в клетке кластеры, состоящие из ~15 молекул топоизомеразы и ~10 молекул когезинов [116, 117]. Данные кластеры колокализуются с ориджинами репликации, определяют их положение в клетке и необходимы для расхождения ориджинных дочерних хромосом при делении [116, 118, 119]. Топо IV *C. crescentus* также необходима для правильного перемещения одного из ориджинных к противоположному полюсу клетки [101].

Топоизомераза NM

У *M. smegmatis* обнаружена уникальная топоизомераза типа II, названная ТопоNM [120]. Она состоит из двух субъединиц (ТопоN и ТопоM), гомологичных субъединицам ParE/GyrB и ParC/GyrA топоизомеразы IV и гиразы соответственно. Согласно фило-

генетическому анализу аминокислотных последовательностей, ТороNM отстоит от всех известных топоизомераз IIА, что свидетельствует о ранней дивергенции генов ферментов [120]. ТороNM обладает пониженной чувствительностью к фторхинолонам и кумаринам. Фермент релаксирует положительные и отрицательные супервитки и декатенирует кольцевые молекулы ДНК, что типично для топоизомераз типа II. ТороNM отличает способность вносить положительные супервитки в релаксированные плазмиды [120]. Кроме ТороNM, подобной активностью обладает только «обратная гириза» – топоизомераза типа I, способная вносить положительные супервитки с затратой энергии гидролиза АТФ [121]. Функции и механизм внесения положительных супервитков топоизомеразой ТороNM неизвестны. Предполагается, что ТороNM необходима для сегрегации хромосом. У *M. smegmatis* обнаружена необычная система защиты от мобильных генетических элементов, состоящая из генов, кодирующих конденсин-подобный комплекс, который препятствует эффективной трансформации бактерий плазмидами [122, 123]. ТороNM может быть частью данной системы защиты, поскольку некоторые когезины бактерий взаимодействуют с топоизомеразой [111, 112, 124]. Отсутствие ТороNM у других, в том числе родственных, бактерий и значительная дивергенция аминокислотных последовательностей от других топоизомераз II, возможно, указывают на вирусное происхождение фермента, гены которого попали в *M. smegmatis* горизонтальным переносом.

ТОПОИЗОМЕРАЗЫ АРХЕЙ

Представители домена Archaea обычно содержат топоизомеразы класса IIВ – Топо VI. Некоторые представители архей из группы Euryarchaeota потеряли гены Топо IV, но содержат гены ДНК-гиризы, независимо полученные от разных групп бактерий в ходе горизонтального переноса генов [11]. У гипертермофильных архей в качестве приспособления к высоким температурам есть «обратная гириза». Считается, что «обратная гириза» нужна для поддержания стабильности дуплекса ДНК при высоких температурах и участвует в процессах репарации [125–127].

Топоизомераза VI

Впервые топоизомеразу VI (Топо VI) обнаружили у гипертермофильной археи *Sulfolobus shibatae* [128], а затем и у большинства архей, кроме ряда представителей группы Thermoplasmatales, у которых она замещена ДНК-гиризой [11]. *In vitro* Топо VI способна релаксировать как положительные, так и отрицательные супервитки, а также проявляет декатеназную активность [32, 129]. На основании био-

химических данных и структурного анализа предполагается, что каталитический механизм Топо VI схож с действием топоизомераз класса IIА, несмотря на значительные отличия на уровне аминокислотных последовательностей между двумя группами белков (например, каталитический остаток тирозина WHD-домена расположен на другом элементе вторичной структуры) [32, 33, 130] (рис. 2, рис. 3Б).

Физиологическая роль Топо VI не выяснена. Совокупность *in vitro* активностей фермента, а также принципиальная возможность заместить эту топоизомеразу ДНК-гиризой указывает на то, что Топо VI, вероятно, необходима для декатенации реплицированных хромосом, а также для релаксации супервитков, образуемых при транскрипции и репликации [129]. Замечено, что уровень Топо VI у *S. islandicus* увеличивается через 7 ч после перемещения культуры клеток на температуру выше оптимальной. Что, как предполагается, компенсирует рост активности «обратной гиризы» в этих условиях [131].

ДНК-гириза

Гены гиризы обнаружены у представителей нескольких групп Euryarchaeota [11]. Как и бактериальная гириза, топоизомераза архей чувствительна к кумаринам и хинолонам [132–134]. В экспериментах *in vitro* показано, что гириза из *Thermoplasma acidophilum* обладает типичным спектром активностей – она способна релаксировать положительные супервитки, вносить отрицательные супервитки и декатенировать кольцевые молекулы ДНК [134]. Подавление активности гиризы добавлением новобиоцина к культуре клеток *Halobacterium halobium* приводит к остановке репликации ДНК, а также к значительному снижению уровня транскрипции и трансляции [132]. Считается, что гириза архей выполняет типичные для этого фермента функции – релаксацию положительных супервитков, возникающих при транскрипции и репликации, а также декатенацию сцепленных молекул ДНК при делении.

ТОПОИЗОМЕРАЗЫ ЭУКАРИОТ

Все известные эукариоты содержат гомодимерную топоизомеразу IIА (Тор2), которая у большинства видов кодируется одним геном (Тор2), однако, у позвоночных обнаружены два гена-паралога – *Тор2α* и *Тор2β* [10]. Представители Archaeplastida, а также связанные с ними вторичным эндосимбиозом пластид группы эукариот (Аpicomplexa и др.) содержат гены ДНК-гиризы. Фермент имеет бактериальное происхождение и кодируется ядерными генами, перенесенными из генома хлоропластов после установления эндосимбиоза [11, 135]. Субъединицы Топо VI Archaea гомологичны белкам эукариот, которые входят в со-

став комплекса, необходимого для внесения разрывов в ДНК при мейотической рекомбинации (Spo11 – гомолог А-субъединицы, Rec102/Rec6/MEI-P22 – гомологи В-субъединицы) [128, 136, 137]. Так как эти белки не относятся к топоизомеразам, мы не будем подробно их рассматривать. Отличительной особенностью Archaeplastida является полноразмерная гетеротетрамерная Топо VI, обладающая типичными для топоизомераз ферментативными активностями [138].

Большинство агентов, используемых в химиотерапии опухолей, наиболее распространенный из которых – этопозид, являются ядами топоизомераз [139–145]. Они вызывают апоптотическую гибель клетки за счет индукции двухцепочечных разрывов ДНК [146–151]. Селективное действие этих препаратов обусловлено характеристиками опухолевых клеток – неопластические клетки активно пролиферируют, и в них повышен уровень экспрессии топоизомераз [152]. Актуальная проблема химиотерапии – тяжелые побочные эффекты, вызванные повреждением ДНК нормальных клеток, особенно активно пролиферирующих [153, 154]. Разрывы ДНК, опосредованные Top2, могут приводить к хромосомным транслокациям [155] и индуцировать вторичную малигнизацию, например, терапия с использованием этопозида часто приводит к развитию лейкозов [156–158]. Необходимо отметить, что онкогенные эффекты часто связаны с ингибированием Top2 β , которая ассоциирована с промоторными областями генов и активно экспрессируется в большинстве тканей [159–163]. Возможным решением этой проблемы может быть поиск и использование селективных ингибиторов, направленных только против Top2 α .

Каталитические ингибиторы Top2 (мербарон, сурамин, производные бисдиоксипиперазина – ICRF-187) не получили широкого применения в клинической практике в качестве противоопухолевых препаратов [164], однако, некоторые из них используются в качестве кардиопротекторов при терапии ядами Top2 [165, 166]. По одной из гипотез протекторные свойства ингибиторов связаны со снижением количества ковалентных комплексов и, соответственно, разрывов ДНК из-за подавления активности Top2 [167, 168].

Top2

Top2 эукариот, типичный представитель класса II, способна релаксировать положительные и отрицательные супервитки, а также декатенировать молекулы ДНК [169–172].

Эффект инактивации Top2 чаще всего проявляется в виде нарушения конденсации хроматина, изменении морфологии хромосом, хромосомных перестройках, нарушении эмбриогенеза и развития нервной системы у позвоночных [170, 173–180].

Top2 эукариот локализована в ядре, однако показана также локализация этого фермента в митохондриях клеток млекопитающих [181]. Повышенный уровень экспрессии гена *Top2* (*Top2 α* позвоночных) характерен для активно пролиферирующих тканей, в которых этот фермент необходим для конденсации и разделения хромосом в процессе митоза [182, 183]. Уровень экспрессии гена *Top2 β* в меньшей степени зависит от типа ткани [184].

СТД Top2 наименее консервативен, он служит мишенью посттрансляционных модификаций, в частности, фосфорилирования, уровень которого меняется в течение клеточного цикла. Различия между СТД Top2 α и Top2 β определяют функциональную разницу паралога и особенности их регуляции [185]. Так, СТД-домен Top2 α (СТД α) необходим для связывания с хромосомами во время митоза, а топоизомеразы с СТД α нужна для пролиферации клеток, что показано при изучении свойств химерных ферментов: Top2 α с СТД от Top2 β и *vice versa* [186]. Показано, что СТД-домен Top2 β снижает аффинность топоизомеразы к ДНК и уменьшает эффективность катализа [187, 188].

Top2 необходима для транскрипции высокоактивных и, особенно, длинных генов, во время которой она, как считается, релаксирует положительные супервитки перед полимеразой (*рис. 6А*) [189–193]. Кроме того, Top2 привлекает РНК-полимеразу II на промоторы генов [194, 195] и важна для инициации транскрипции некоторых индуцибельных генов дрожжей (*рис. 6Б*) [196]. Обнаружено, что индукция экспрессии генов, регулируемых ядерными рецепторами (андрогенов, эстрогенов, глюкокортикоидов), связана со сборкой на промоторах комплекса, в который вовлечены хроматинре моделирующие белки (BRG1), компоненты системы репарации разрывов (PARP1, Ku70), а также Top2 β [197–200]. Считается, что данный комплекс в ответ на гормоны вносит двухцепочечный разрыв в ДНК за счет Top2 β , и этот разрыв необходим для эффективной релаксации супервитков при транскрипции (*рис. 6Г*). Аналогичные данные об активирующем эффекте разрывов, внесенных Top2 β , получены для ряда генов в нейронах, стимулированных NMDA [201].

Исследования пространственной организации хроматина показали, что геном эукариот, за редким исключением, организован в топологически ассоциированные домены (ТАДы) [202–204]. С границами ТАДов ассоциированы архитектурные белки, в частности CTCF и когезин [205, 206]. С помощью методов ChIP-Seq и ChIP-exo (ChIP-Seq, точность которого повышена за счет обработки ДНК-белковых комплексов экзонуклеазой) обнаружена колокализация этих белков и Top2 β на границах ТАДов (*рис. 6В*) [207]. Кроме того, картирование сайтов расщепления

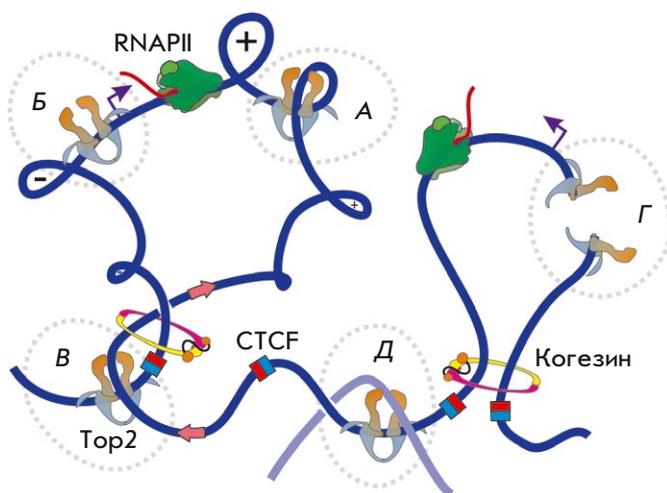


Рис. 6. Функции Top2 эукариот. Релаксация супервитков в ходе транскрипции генов. Промоторы показаны фиолетовыми стрелками (А). Участие в инициации транскрипции (Б). Колокализация Top2, CTCF и когезина у границ топологически ассоциированных доменов. Розовые стрелки на ДНК иллюстрируют процесс экструзии петли под действием CTCF и когезина. Сайты связывания CTCF показаны красно-синими квадратами. Top2 облегчает транслокацию ДНК когезином, релаксируя топологический стресс (В). Индукция транскрипции гена путем внесения разрыва в промоторной области (Г). Декатенация ДНК дочерних хромосом (Д)

ДНК Top2 под действием этопозида (яда топоизомеразы) показало, что они преимущественно находятся рядом с сайтами связывания CTCF [208–211]. Предполагается, что ТАДы образованы петлями, которые, согласно механизму экструзии хроматиновых петель, формируются за счет деятельности когезина и CTCF [212–214]. Предполагается, что Top2 играет важную роль в функционировании хроматиновых петель и необходима для снятия топологического стресса на границах ТАДов (рис. 6В). Существует гипотеза, что компактность ТАДов может поддерживаться за счет отрицательной суперспирализации ДНК, что позволяет рассматривать ее в качестве универсального фактора, организующего ДНК про- и эукариот в пространстве [215].

Обнаружено, что Top2 взаимодействуют также с компонентами АТР-зависимых хроматинремоделирующих комплексов [171, 216–218], которые осуществляют сборку и перемещение нуклеосом по ДНК и замену канонических гистонов на варианты формы, поддерживая тканевую специфичность структуры хроматина [219–221]. Взаимодействие Top2 с ремоделирующими комплексами влияет на каталитические свойства топоизомеразы, а также на способность связываться с ДНК [171, 222], что, вероятно, необходимо для структурных перестроек хроматина. Предполагается, что комплексы, ремоделирующие

хроматин, могут привлекать топоизомеразы и СТСФ к границам ТАДов [223]. На данный момент взаимосвязь изменений структуры хроматина и активности Top2 недостаточно изучена и требует детализированного анализа в дальнейших исследованиях.

ДНК-гираза

Гириза эукариот, как и фермент бактерий, способна вносить отрицательные супервитки *in vitro* и чувствительна к кумаринам и хинолонам [224–226]. Гены гиразы растений способны комплементировать мутации фермента *E. coli* [225, 227, 228].

В ядерном геноме *Arabidopsis thaliana* обнаружен один ген субъединицы GYRA и три гена-паралога, кодирующие GYRB-субъединицы гиразы [225]. Показано, что AtGYRA взаимодействует с AtGYRB1 и AtGYRB2 (и такие комплексы способны вносить отрицательную суперспирализацию), но не взаимодействует с AtGYRB3 [228, 229]. Субъединицы содержат сигнальные пептиды, которые отвечают за локализацию AtGYRA в митохондриях и хлоропластах, AtGYRB1 – в хлоропластах, а AtGYRB2 – в митохондриях, поэтому считается, что в хлоропластах функционирует комплекс AtGYRA:AtGYRB1, а в митохондриях – AtGYRA:AtGYRB2. У субъединицы AtGYRB3 не обнаружен канонический сигнальный пептид, однако предсказано, что белок может иметь ядерную локализацию [225, 228] (рис. 7). У *N. benthamiana* известен один ген GYRA и два гена GYRB, при этом субъединицы GYRA и GYRB1 локализованы в хлоропластах и митохондриях [227]. Схожие результаты получены для GYRA-субъединицы гороха *Pisum sativum* [230].

У растений ингибирование гиразы в первую очередь затрагивает хлоропласты и митохондрии. Так, обработка клеток водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* ингибиторами фермента (налидиксовая кислота, новобиоцин) приводит к изменению транскрипции в хлоропластах [224], а добавление налидиксовой кислоты к культуре клеток высшего растения *Nicotiana tabacum* подавляет синтез ДНК в хлоропластах [231]. Ингибиторы гиразы вызывают уменьшение числа хлоропластов и митохондрий, изменяют структуру хлоропластов и, вероятно, нарушают их деление [229]. Выращивание растений на питательных средах, содержащих ингибиторы гиразы, или обработка этими веществами растений *A. thaliana* замедляет их рост и индуцирует этиоляцию, что приводит в итоге к гибели растений [225, 229]. Аналогичные результаты получены с помощью подавления экспрессии генов гиразы вирус-индуцированным сайленсингом (VIGS) у растений *N. benthamiana* и РНК-интерференцией у *A. thaliana* [227, 229]. На основании этих данных можно заклю-

читать, что в растениях фермент, вероятно, сохранил свои роли, характерные для бактерий, он необходим для сегрегации ДНК двумембранных органелл, их деления и транскрипции их генов.

Неизвестной остается роль субъединицы AtGYRB3. Этот полипептид не обладает некоторыми консервативными для топоизомераз типа II аминокислотными мотивами в АТФ-азном домене, но при этом содержит не встречающийся в других топоизомеразах SANT-домен, который известен своей способностью связываться с гистонами [228, 232]. Анализ экспрессии гена *AtGYRB3* у *A. thaliana* выявил отсутствие корреляции с экспрессией других генов гиразы: наибольший уровень экспрессии *AtGYRB3* обнаружен в тычинках и пыльце, тогда как экспрессия остальных субъединиц активнее всего в семенах и апикальной меристеме побега. Мы предполагаем, что белок AtGYRB3 может принимать участие в мейозе, где assisteрует Топо VI или SPO11.

С помощью BiFC (бимолекулярная комплементация флуоресценции) и коиммунопреципитации выявлено взаимодействие между РНКазой H1 (*AtRNH1C*), разрушающей РНК из гетеродуплексов РНК-ДНК (R-петли), сформированных в процессе транскрипции, и субъединицей ДНК-гиразы AtGYRA в хлоропластах *A. thaliana* [233]. Высказано предположение, что взаимодействие ферментов способствует преодолению репликационной вилкой R-петель, которые часто возникают в активно транскрибируемых регионах генома хлоропластов, например в генах рРНК.

Топоизомераза VI

Среди эукариот полноразмерная гетеротетрамерная Топо VI обнаружена только у представителей Archaeplastida [138]. Как и в случае с гиразой, растения содержат несколько генов-паралогов, кодирующих субъединицы Топо VI, – у *A. thaliana* обнаружен один ген В-субъединицы (*AtTOP6B*) и три гена А-субъединиц *AtSPO11-1, 2, 3*, а у *Oryza sativa* найдено пять генов-паралогов А-субъединиц и один ген В-субъединиц [138, 234, 235]. Субъединицы Топо VI растений локализованы в ядре, что было предсказано биоинформатически и подтверждено микроскопией [234, 236, 237].

С помощью двугибридного анализа и коиммунопреципитации установлено, что не все А-субъединицы образуют комплекс с В-субъединицей: у *A. thaliana* *AtTOP6B* взаимодействует с *AtSPO11-2* и *AtSPO11-3*, но не с *AtSPO11-1*, *OsTOP6B* *O. sativa* взаимодействует с *OsSPO11-2*, *OsSPO11-3* и *OsSPO11-4*, но не с *OsSPO11-1* и *OsSPO11-5* [138, 234, 235]. А-субъединицы, не взаимодействующие с В, вероятно, выполняют функции белков Spo11

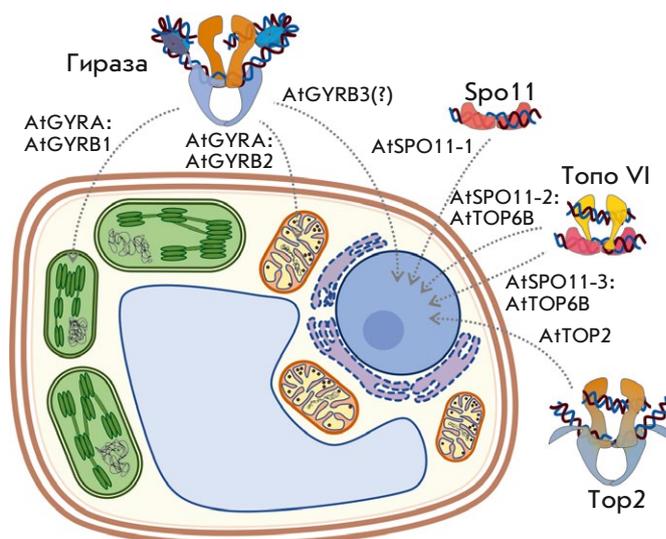


Рис. 7. Клеточная локализация топоизомераз II и гомологичных белков у *A. thaliana*

у других эукариот, так, например, *AtSPO11-1* и *OsSPO11-1* необходимы для мейотической рекомбинации [238, 239]. *OsSPO11-4*, хотя и взаимодействует с *OsTOP6B*, также необходима для мейоза в пыльцевых зернах, поэтому одна из функций Топо VI растений может заключаться в участии в этом процессе [235].

Мутации или подавление экспрессии генов субъединиц Топо VI, которые образуют полноразмерную топоизомеразу и не участвуют в мейотической рекомбинации, вызывают карликовость у растений и уменьшение размера клеток. Такие растения лишены трихом и корневых волосков [237, 240, 241]. Показано, что у мутантов нарушена эндоредупликация – процесс полиплоидизации соматических клеток, который в норме происходит в клетках растений [237, 241]. Обнаружено, что для эффективного выполнения своих функций Топо VI образует комплекс с белками MID, RHL1 и BIN4 (интересно, что RHL1 и BIN4 имеют отдаленное сходство с последовательностью CTD Top2α позвоночных) [237, 242, 243]. Считается, что этот комплекс участвует в регуляции циклов эндоредупликации и, вероятно, принимает участие в декатенировании хромосом при достижении клетками высокой плоидности [236, 237, 242, 243].

Сверхэкспрессия компонентов Топо VI ряда растений в *A. thaliana* увеличивает плоидность клеток и значительно стимулирует устойчивость организмов к стрессовым условиям – повышенному содержанию соли и засухе, а также снижает чувствительность растений к абсцизовой кислоте (гормон стресса растений) [234, 241]. При сверхэкспрессии генов топоизомеразы изменяется уровень большого количества транскриптов, например, активируются каскады ответа на стресс [234]. Обнаружено, что Топо VI

участвует также в ответе растений на окислительный стресс, связываясь с промоторами некоторых генов [244]. Остается неизвестным механизм, за счет которого Топо VI влияет на транскрипцию генов – связано ли это с релаксацией супервитков, внесением разрывов в ДНК, подобно Топ2 β , или вызвано ремоделированием хроматина? Кроме того, не ясно, как связаны процессы, в которых участвует Топо VI, – эндоредупликация и ответ на стресс.

ТОПОИЗОМЕРАЗЫ ВИРУСОВ И МОБИЛЬНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ

Топ2-подобные топоизомеразы

Вирусы с крупным двухцепочечным ДНК-геномом (например, Т4-подобные вирусы и NCLDV – крупные ядерно-цитоплазматические ДНК-содержащие вирусы) имеют собственные Топ2-подобные ферменты [11]. Топоизомеразы NCLDV (вирусы эукариот), возможно, являются сестринской группой Топ2 хозяев. Филогенетическое положение топоизомераз группы бактериофагов Т4 менее определено, по аминокислотным последовательностям они одинаково не похожи на топоизомеразы ПА бактерий и эукариот [11]. Тем не менее, топоизомеразы этих вирусов консервативны по своей структуре и активностям – фермент бактериофага Т4, хотя и кодируется тремя генами, релаксирует супервитки и декатенирует кольцевые ДНК, а также чувствителен к некоторым ингибиторам Топ2 [245, 246]. Считается, что топоизомеразы необходимы для удаления положительной суперспирализации, возникающей при репликации генома вирусов [247, 248].

ДНК-гираза

В геноме гигантского бактериофага AR9 и ряда родственных вирусов из группы Мyoviridae предсказаны гены ДНК-гиразы [249]. Функции и роль данного фермента не известны.

Топоизомераза VIII

В некоторых плаزمидах архей и бактерий, а также в интегрированных в геном мобильных генетических элементах обнаружены гены топоизомераз, в которых предсказаны домены, схожие с доменами Топо VI. Топоизомеразы, кодируемые этими генами, выделены в отдельную группу ПВ топоизомераз и названы Топо VIII [250, 251]. Для ряда Топо VIII показана способность релаксировать суперспирализованные плазмиды и проводить декатенацию кольцевых молекул ДНК [250]. Недавно была описана новая группа белков, гомологичных А-субъединице Топо VIII, названная Mini-A за сравнительно небольшие размеры полипептидов (рис. 2) [251]. Функция этих топоизомераз неизвестна, вероятно, они способствуют поддержанию и распространению плазмид в клетках хозяев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Топоизомеразы разрешают топологические проблемы, возникающие из-за спиральности ДНК. Эти ферменты широко распространены и необходимы для прохождения фундаментальных клеточных процессов. Согласно одной из гипотез, топоизомеразы возникли и прошли ранние этапы своей эволюции в вирусах, где и образовали все известные на сегодня группы еще во времена LUCA. При разделении клеточных организмов на современные домены вирусы распространяли, переносили и перемешивали гены топоизомераз [11, 250]. Вполне вероятно, что известное разнообразие топоизомераз является лишь вершиной айсберга и по мере изучения «темной материи вирусов» будут открыты новые типы и классы ферментов с необычными свойствами. ●

Подготовка обзора поддержана Соглашением с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2019-1661, а также при поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90069.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Crick F.H.C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1976. V. 73. № 8. P. 2639–2643.
2. Mirkin S. Encyclopedia of Life Sciences. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2001.
3. Bates A., Maxwell A. DNA topology. Second Ed. Oxford: Oxford University Press, 2005.
4. Maxwell A., Bush N.G., Evans-Roberts K. // EcoSal Plus. 2015. V. 6. № 2. P. 1–34.
5. Seol Y., Neuman K.C. // Biophys. Rev. 2016. V. 8. P. 101–111.
6. Bizard A.H., Hickson I.D. // J. Biol. Chem. 2020. V. 295. P. 7138–7153.
7. Basu A., Hobson M., Lebel P., Fernandes L.E., Tretter E.M., Berger J.M., Bryant Z. // Nat. Chem. Biol. 2018. V. 14. № 6. P. 565–574.
8. Bates A.D., Berger J.M., Maxwell A. // Nucl. Acids Res. 2011. V. 39. № 15. P. 6327–6339.
9. Brown P.O., Cozzarelli N.R. // Science. 1979. V. 206. № 4422. P. 1081–1083.
10. Forterre P., Simonetta G., Daniele G., Serre M.-C. // Biochimie. 2007. V. 89. P. 427–446.
11. Forterre P., Gabelle D. // Nucl. Acids Res. 2009. V. 37. № 3. P. 679–692.
12. Dutta R., Inouye M. // TIBS. 2000. V. 25. P. 24–28.
13. Broeck A.V., Lotz C., Ortiz J., Lamour V. // Nat. Commun. 2019. V. 10. № 1. P. 4935.
14. Schmidt B.H., Burgin A.B., Deweese J.E., Osheroff N., Berger J.M. // Nature. 2010. V. 465. № 7298. P. 641–644.
15. Berger J.M., Gambling S., Harrison S., Wang J.C. // Nature. 1996. V. 379. № 18. P. 225–232.
16. Clarke D.J., Azuma Y. // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 2438. P. 1–14.
17. Vos S.M., Lee I., Berger J.M. // J. Mol. Biol. 2014. V. 425. № 17. P. 1–26.

18. McClendon A.K., Gentry A.C., Dickey J.S., Brinch M., Bendsen S., Andersen A.H., Osheroff N. // *Biochemistry*. 2009. V. 47. № 50. P. 13169–13178.
19. Morais Cabral J.H., Jackson A.P., Smith C.V., Shikotra N., Maxwell A., Liddington R.C. // *Nature*. 1997. V. 388. № 6645. P. 903–906.
20. Vologodskii A.V., Zhang W., Rybenkov V.V., Podtelezhnikov A.A., Subramanian D., Griffith J.D., Cozzarelli N.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. V. 98. № 6. P. 3045–3049.
21. Dong K.C., Berger J.M. // *Nature*. 2007. V. 450. № 7173. P. 1201–1205.
22. Vologodskii A. // *Nucl. Acids Res.* 2009. V. 37. № 10. P. 3125–3133.
23. Gubaev A., Klostermeier D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 34. P. 14085–14090.
24. Roca J. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 24. P. 25783–25788.
25. Gubaev A., Klostermeier D. // *DNA Repair (Amst.)*. 2014. V. 16. P. 130–141.
26. Rudolph M.G., Klostermeier D. // *J. Mol. Biol.* 2013. V. 425. № 15. P. 2632–2640.
27. Basu A., Parente A.C., Bryant Z. // *J. Mol. Biol.* 2016. V. 428. № 9. P. 1833–1845.
28. Baird C.L., Harkins T.T., Morris S.K., Lindsley J.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. V. 96. № 24. P. 13685–13690.
29. Sugino A., Higgins N.P., Brown P.O., Peebles C.L., Cozzarelli N.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1978. V. 75. № 10. P. 4838–4842.
30. Bates A.D., O’Dea M.H., Gellert M. // *Biochemistry*. 1996. V. 35. № 5. P. 1408–1416.
31. Corbett K.D., Berger J.M. // *EMBO J.* 2003. V. 22. № 1. P. 151–163.
32. Corbett K.D., Benedetti P., Berger J.M. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2007. V. 14. № 7. P. 611–619.
33. Graille M., Cladie L., Durand D., Lecointe F., Gadelle D., Quevillon-Cheruel S., Vachette P., Forterre P., van Tilbeurgh H. // *Structure*. 2008. V. 16. № 3. P. 360–370.
34. Buhler C., Lebbink J.H.G., Bocs C., Ladenstein R., Forterre P. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 40. P. 37215–37222.
35. Morrison A., Cozzarelli N.R. // *Cell*. 1979. V. 17. № 1. P. 175–184.
36. Ward D., Newton A. // *Mol. Microbiol.* 1997. V. 26. № 5. P. 897–910.
37. Reuß D.R., Faßhauer P., Mroch P.J., Ul-Haq I., Koo B.M., Pöhlein A., Gross C.A., Daniel R., Brantl S., Stülke J. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 10. P. 5231–5242.
38. Huang T.W., Hsu C.C., Yang H.Y., Chen C.W. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 22. P. 10403–10413.
39. Aubry A., Mark Fisher L., Jarlier V., Cambau E. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. V. 348. № 1. P. 158–165.
40. Ambur O.H., Davidsen T., Frye S.A., Balasingham S.V., Lagesen K., Rognes T., Tønnum T. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2009. V. 33. № 3. P. 453–470.
41. McCutcheon J.P., McDonald B.R., Moran N.A. // *PLoS Genet.* 2009. V. 5. № 7. P. 1–11.
42. López-Madrigal S., Latorre A., Porcar M., Moya A., Gil R. // *J. Bacteriol.* 2011. V. 193. № 19. P. 5587–5588.
43. Tamames J., Gil R., Latorre A., Peretó J., Silva F.J., Moya A. // *BMC Evol. Biol.* 2007. V. 7. № 181. P. 1–7.
44. Collin F., Karkare S., Maxwell A. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 92. № 3. P. 479–497.
45. Dighe S.N., Collet T.A. // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. V. 199. № 8. P. 1–100.
46. Hooper D.C., Jacoby G.A. // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2016. V. 6. № 9. P. 1–22.
47. Wohlkonig A., Chan P.F., Fosberry A.P., Homes P., Huang J., Kranz M., Leydon V.R., Miles T.J., Pearson N.D., Perera R.L., et al. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010. V. 17. № 9. P. 1152–1153.
48. Bax B.D., Chan P.F., Eggleston D.S., Fosberry A., Gentry D.R., Gorrec F., Giordano I., Hann M.M., Hennessy A., Hibbs M., et al. // *Nature*. 2010. V. 466. № 7309. P. 935–940.
49. Aldred K.J., McPherson S.A., Turnbough C.L., Kerns R.J., Osheroff N. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 8. P. 4628–4639.
50. Alt S., Mitchenall L.A., Maxwell A., Heide L. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2011. V. 66. № 9. P. 2061–2069.
51. Butler M.S., Paterson D.L. // *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2020. V. 2019. № 10. P. 329–364.
52. Lewis K. // *Cell*. 2020. V. 181. № 1. P. 29–45.
53. Weidlich D., Klostermeier D. // *J. Biol. Chem.* 2020. V. 295. № 8. P. 2299–2312.
54. Rovinskiy N.S., Agbleke A.A., Chesnokova O.N., Patrick Higgins N. // *Microorganisms*. 2019. V. 7. № 3. P. 1–22.
55. Guo M.S., Haakonsen D.L., Zeng W., Schumacher M.A., Laub M.T. // *Cell*. 2018. V. 175. № 2. P. 583–597.
56. Ashley R.E., Dittmore A., McPherson S.A., Turnbough C.L., Neuman K.C., Osheroff N. // *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 45. № 16. P. 9611–9624.
57. Grompone G., Ehrlich S.D., Michel B. // *Mol. Microbiol.* 2003. V. 48. № 3. P. 845–854.
58. Rizzo M.F., Shapiro L., Guber J. // *J. Bacteriol.* 1993. V. 175. № 21. P. 6970–6981.
59. Ogasawara N., Seiki M., Yoshikawa H. // *Nature*. 1979. V. 281. № 5733. P. 702–704.
60. Guha S., Udupa S., Ahmed W., Nagaraja V. // *J. Mol. Biol.* 2018. V. 430. № 24. P. 4986–5001.
61. Nakanishi A., Oshida T., Matsushita T., Imajoh-Ohmi S., Ohnuki T. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. № 4. P. 1933–1938.
62. Wu H.Y., Shyy S., Wang J.C., Liu L.F. // *Cell*. 1988. V. 53. № 3. P. 433–440.
63. Travers A., Muskhelishvili G. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. V. 3. № 2. P. 157–169.
64. Vijayan V., Zuzow R., O’Shea E.K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009. V. 106. № 52. P. 22564–22568.
65. Jeong K.S., Ahn J., Khodursky A.B. // *Genome Biol.* 2004. V. 5. № 11. P. 1–10.
66. Sutormin D., Rubanova N., Logacheva M., Ghilarov D., Severinov K. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 3. P. 1–16.
67. Ahmed W., Sala C., Hegde S.R., Jha R.K., Cole S.T., Nagaraja V. // *PLoS Genet.* 2017. V. 13. № 5. P. 1–20.
68. Chong S., Chen C., Ge H., Xie X.S. // *Cell*. 2015. V. 158. № 2. P. 314–326.
69. Dorman C.J. // *BMC Mol. Cell Biol.* 2019. V. 20. № 1. P. 1–9.
70. Peter B.J., Arsuaga J., Breier A.M., Khodursky A.B., Brown P.O., Cozzarelli N.R. // *Genome Biol.* 2004. V. 5. № 11. P. 1–16.
71. Blot N., Mavathur R., Geertz M., Travers A., Muskhelishvili G. // *EMBO Rep.* 2006. V. 7. № 7. P. 710–715.
72. Sobetzko P., Travers A., Muskhelishvili G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. № 2. P. E42–E50.
73. Martis B.S., Forquet R., Reverchon S., Nasser W., Meyer S. // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2019. V. 17. P. 1047–1055.
74. Muskhelishvili G., Forquet R., Reverchon S., Nasser W., Meyer S. // *Microorganisms*. 2019. V. 7. № 12. P. 10–15.
75. Pruss G.J., Drlica K. // *Cell*. 1989. V. 56. № 2. P. 521–523.
76. Ahmed W., Menon S., Karthik P.V.D.N.B., Nagaraja V. // *Nucl. Acids Res.* 2015. V. 44. № 4. P. 1541–1552.
77. Menzel R., Gellert M. // *Cell*. 1983. V. 34. № 8. P. 105–113.
78. Drlica K. // *Mol. Microbiol.* 1992. V. 6. № 4. P. 425–433.
79. Szafran M.J., Gongerowska M., Gutkowski P., Zakrzewska-Czerwin J., Jakimowicz D. // *J. Bacteriol.* 2016. V. 198. № 21. P. 3016–3028.
80. Yamamoto N., Droffner M.L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1985. V. 82. № 7. P. 2077–2081.

81. Ye F., Brauer T., Niehus E., Drlica K., Josenhans C., Suerbaum S. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2007. V. 297. № 2. P. 65–81.
82. Hsu Y.H., Chung M.W., Li T.K. // *Nucl. Acids Res.* 2006. V. 34. № 10. P. 3128–3138.
83. Condemine G., Smith C.L. // *Nucl. Acids Res.* 1990. V. 18. № 24. P. 7389–7396.
84. Postow L., Hardy C.D., Arsuaga J., Cozzarelli N.R. // *Genes Dev.* 2004. V. 18. № 7. P. 1766–1779.
85. Pato M.L., Karlok M., Wall C., Higgins N.P. // *J. Bacteriol.* 1995. V. 177. № 20. P. 5937–5942.
86. Saha R.P., Lou Z., Meng L., Harshey R.M. // *PLoS Genet.* 2013. V. 9. № 11. P. 1–17.
87. Sawitzke J.A., Austin S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 4. P. 1671–1676.
88. Le T.B., Imakaev M.V., Mirny L.A., Laub M.T. // *Science.* 2014. V. 342. № 6159. P. 731–734.
89. Crisona N.J., Strick T.R., Bensimon D., Croquette V., Cozzarelli N.R. // *Genes Dev.* 2000. V. 14. № 22. P. 2881–2892.
90. Peng H., Marians K.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. V. 90. № 18. P. 8571–8575.
91. Ullsperger C., Cozzarelli N.R. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 49. P. 31549–31555.
92. Hiasa H., DiGate R.J., Marians K.J. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. № 3. P. 2093–2099.
93. Seol Y., Hardin A.H., Strub M.P., Charvin G., Neuman K.C. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 8. P. 4640–4649.
94. Blanche F., Cameron B., Bernard F.X., Maton L., Manse B., Ferrero L., Ratet N., Lecoq C., Goniot A., Bisch D., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996. V. 40. № 12. P. 2714–2720.
95. Deibler R., Rahmati S., Zechiedrich E.L. // *Genes Dev.* 2001. V. 15. P. 748–761.
96. Kampranis S.C., Maxwell A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 25. P. 14416–14421.
97. Hsieh T.J., Farh L., Huang W.M., Chan N.L. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 53. P. 55587–55593.
98. Kato J., Nishimura Y., Imamura R., Niki H., Hiraga S., Suzuki H., Grainge I., Bregu M., Vazquez M., Sivanathan V., et al. // *EMBO J.* 1990. V. 26. № 2. P. 4228–4238.
99. Grainge I., Bregu M., Vazquez M., Sivanathan V., Ip S.C.Y., Sherratt D.J. // *EMBO J.* 2007. V. 26. № 19. P. 4228–4238.
100. Wang X., Reyes-Lamothe R., Sherratt D.J. // *Genes Dev.* 2008. V. 22. № 17. P. 2426–2433.
101. Wang S.C., Shapiro L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 25. P. 9251–9256.
102. Zechiedrich E.L., Khodursky A.B., Cozzarelli N.R. // *Genes Dev.* 1997. V. 11. № 19. P. 2580–2592.
103. Cui T., Moro-oka N., Ohsumi K., Kodama K., Ohshima T., Ogasawara N., Mori H., Wanner B., Niki H., Horiuchi T. // *EMBO Rep.* 2007. V. 8. № 2. P. 181–187.
104. Manjunatha U.H., Dalal M., Chatterji M., Radha D.R., Visweswariah S.S., Nagaraja V. // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 10. P. 2144–2153.
105. Debowski A.W., Carnoy C., Verbrugghe P., Nilsson H.O., Gauntlett J.C., Fulurija A., Camilleri T., Berg D.E., Marshall B.J., Benghezal M. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 4. P. 1–15.
106. Khodursky A.B., Peter B.J., Schmid M.B., DeRisi J., Botstein D., Brown P.O., Cozzarelli N.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 17. P. 9419–9424.
107. El Sayyed H., Le Chat L., Lebailly E., Vickridge E., Pages C., Cornet F., Cosentino Lagomarsino M., Espéli O. // *PLoS Genet.* 2016. V. 12. № 5. P. 1–22.
108. Brochu J., Vlachos-Breton E., Sutherland S., Martel M., Drolet M. // *PLoS Genet.* 2018. № 9. P. 1–25.
109. Kang S., Han J.S., Park J.H., Skarstad K., Hwang D.S. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 49. P. 48779–48785.
110. Joshi M.C., Magnan D., Montminy T.P., Lies M., Stepankiw N., Bates D. // *PLoS Genet.* 2013. V. 9. № 8. P. 1–13.
111. Li Y., Stewart N.K., Berger A.J., Vos S., Schoeffler A.J., Berger J.M., Chait B.T., Oakley M.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 44. P. 18832–18837.
112. Hayama R., Marians K.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 44. P. 18826–18831.
113. Espeli O., Lee C., Marians K.J. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 45. P. 44639–44644.
114. Hojgaard A., Szerlong H., Tabor C., Kuempel P. // *Mol. Microbiol.* 1999. V. 33. № 5. P. 1027–1036.
115. Narayanan S., Janakiraman B., Kumar L., Radhakrishnan S.K. // *Genes Dev.* 2015. V. 29. № 11. P. 1175–1187.
116. Zawadzki P., Stracy M., Ginda K., Zawadzka K., Lesterlin C., Kapanidis A.N., Sherratt D.J. // *Cell Rep.* 2015. V. 13. № 11. P. 2587–2596.
117. Badrinarayanan A., Reyes-Lamothe R., Uphoff S., Leake M.C., Sherratt D.J. // *Science.* 2012. V. 338. № 6106. P. 528–531.
118. Badrinarayanan A., Lesterlin C., Reyes-Lamothe R., Sherratt D. // *J. Bacteriol.* 2012. V. 194. № 17. P. 4669–4676.
119. Nicolas E., Upton A.L., Uphoff S., Henry O., Badrinarayanan A., Sherratt D. // *mBio.* 2014. V. 5. № 1. P. 1–10.
120. Jain P., Nagaraja V. // *Mol. Microbiol.* 2005. V. 58. № 5. P. 1392–1405.
121. Rudolph M.G., Del Toro Duany Y., Jungblut S.P., Ganguly A., Klostermeier D. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 2. P. 1058–1070.
122. Panas M.W., Jain P., Yang H., Mitra S., Biswas D., Wattam A.R., Letvin N.L., Jacobs W.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. № 37. P. 13264–13271.
123. Doron S., Melamed S., Ofir G., Leavitt A., Lopatina A., Keren M., Amitai G., Sorek R. // *Science.* 2018. V. 359. № 6379. P. 1–12.
124. Tadesse S., Mascarenhas J., Kösters B., Hasilik A., Graumann P.L. // *Microbiology.* 2005. V. 151. № 11. P. 3729–3737.
125. Lipscomb G.L., Hahn E.M., Crowley A.T., Adams M.W.W. // *Extremophiles.* 2017. V. 21. № 3. P. 603–608.
126. Couturier M., Gabelle D., Forterre P., Nadal M., Garnier F. // *Mol. Microbiol.* 2020. V. 113. № 2. P. 356–368.
127. Han W., Feng X., She Q. // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 7. P. 1–13.
128. Bergerat A., De Massy B., Gabelle D., Varoutas P.C., Nicolas A., Forterre P. // *Nature.* 1997. V. 386. № 6623. P. 414–417.
129. Wendorff T.J., Berger J.M. // *Elife.* 2018. V. 7. P. 1–35.
130. Visone V., Vettone A., Serpe M., Valenti A., Perugini G., Rossi M., Ciaramella M. // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. V. 15. № 9. P. 17162–17187.
131. Lopez-Garcia P., Forterre P. // *Mol. Microbiol.* 1999. V. 33. № 4. P. 766–777.
132. Sioud M., Possot O., Elie C., Sibold L., Forterre P. // *J. Bacteriol.* 1988. V. 170. № 2. P. 946–953.
133. Holmes M.L., Dyll-Smith M.L. // *J. Bacteriol.* 1991. V. 173. № 2. P. 642–648.
134. Yamashiro K., Yamagishi A. // *J. Bacteriol.* 2005. V. 187. № 24. P. 8531–8536.
135. Nagano S., Lin T.Y., Edula J.R., Heddle J.G. // *BMC Bioinformatics.* 2014. V. 15. № 1. P. 1–15.
136. Vrielynck N., Chambon A., Vezon D., Pereira L., Chelysheva L., De Muyst A., Mézard C., Mayer C., Grelon M. // *Science.* 2016. V. 351. № 6276. P. 939–944.
137. Robert T., Nore A., Brun C., Maffre C., Crimi B., Bourbon H.-M., de Massy B. // *Science.* 2016. V. 351. № 6276. P. 943–949.
138. Hartung F., Puchta H. // *Gene.* 2001. V. 271. № 1. P. 81–86.
139. Pommier Y., Leo E., Zhang H., Marchand C. // *Chem. Biol.* 2010. V. 17. № 5. P. 421–433.

140. Pommier Y, Sun Y, Huang S.Y.N., Nitiss J.L. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016. V. 17. № 11. P. 703–721.
141. Pommier Y. // *ACS Chem. Biol.* 2013. V. 8. № 1. P. 82–95.
142. Deweese J.E., Osheroff N. // *Nucl. Acids Res.* 2009. V. 37. № 3. P. 738–748.
143. Atkin N.D., Raimer H.M., Wang Y.H. // *Genes (Basel)*. 2019. V. 10. № 10. P. 791–813.
144. Walker J.V., Nitiss J.L. // *Cancer Invest.* 2002. V. 20. № 4. P. 570–589.
145. Bailly C. // *Chem. Rev.* 2012. V. 112. № 7. P. 3611–3640.
146. Holden J.A. // *Curr. Med. Chem. Anticancer. Agents*. 2001. V. 1. № 1. P. 1–25.
147. Kaufmann S.H. // *Biochim. Biophys. Acta–Gene Struct. Expr.* 1998. V. 1400. № 1–3. P. 195–211.
148. Baguley B.C., Ferguson L.R. // *Biochim. Biophys. Acta–Gene Struct. Expr.* 1998. V. 1400. № 1–3. P. 213–222.
149. Wilstermann A., Osheroff N. // *Curr. Top. Med. Chem.* 2005. V. 3. № 3. P. 321–338.
150. Ketron A.C., Osheroff N. // *Phytochem. Rev.* 2014. V. 13. № 1. P. 19–35.
151. Baldwin E.L., Osheroff N. // *Curr. Med. Chem.–Anti-Cancer Agents*. 2005. V. 5. № 4. P. 363–372.
152. Nitiss J.L. // *Nat. Rev. Cancer*. 2009. V. 9. № 5. P. 338–350.
153. Milyavsky M., Gan O.I., Trotter M., Komosa M., Tabach O., Notta F., Lechman E., Hermans K.G., Eppert K., Konovalova Z., et al. // *Cell Stem Cell*. 2010. V. 7. № 2. P. 186–197.
154. Bracker T.U., Giebel B., Spanholtz J., Sorg U.R., Klein-Hitpass L., Moritz T., Thomale J. // *Stem Cells*. 2006. V. 24. № 3. P. 722–730.
155. Ashour M.E., Atteya R., El-Khamisy S.F. // *Nat. Rev. Cancer*. 2015. V. 15. № 3. P. 137–151.
156. Álvarez-Quilón A., Terrón-Bautista J., Delgado-Sainz I., Serrano-Benítez A., Romero-Granados R., Martínez-García P.M., Jimeno-González S., Bernal-Lozano C., Quintero C., García-Quintanilla L., et al. // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 1–14.
157. Felix C.A. // *Biochim. Biophys. Acta – Gene Struct. Expr.* 1998. V. 1400. № 1–3. P. 233–255.
158. Morton L.M., Dores G.M., Tucker M.A., Kim C.J., Onel K., Gilbert E.S., Fraumeni J.F., Curtis R.E. // *Blood*. 2013. V. 121. № 15. P. 2996–3004.
159. Azarova A.M., Lyu Y.L., Lin C.P., Tsai Y.C., Lau J.Y.N., Wang J.C., Liu L.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104. № 26. P. 11014–11019.
160. Cowell I.G., Sondka Z., Smith K., Lee K.C., Manville C.M., Sidorczuk-Lesthuruge M., Rance H.A., Padget K., Jackson G.H., Adachi N., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. № 23. P. 8989–8994.
161. Zhang S., Liu X., Bawa-Khalife T., Lu L.S., Lyu Y.L., Liu L.F., Yeh E.T.H. // *Nat. Med.* 2012. V. 18. № 11. P. 1639–1642.
162. Willmore E., Frank A.J., Padget K., Tilby M.J., Austin C.A. // *Mol. Pharmacol.* 1998. V. 54. № 1. P. 78–85.
163. Willmore E., Errington F., Tilby M.J., Austin C.A. // *Biochem. Pharmacol.* 2002. V. 63. № 10. P. 1807–1815.
164. Larsen A.K., Escargueil A.E., Skladanowski A. // *Pharmacol. Ther.* 2003. V. 99. № 2. P. 167–181.
165. Henriksen P.A. // *Heart*. 2018. V. 104. № 12. P. 971–977.
166. Marinello J., Delcuratolo M., Capranico G. // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 11. P. 3480–3498.
167. Deng S., Yan T., Jendry C., Nemecek A., Vincetic M., Gödtel-Armbrust U., Wojnowski L. // *BMC Cancer*. 2014. V. 14. № 1. P. 1–11.
168. Vavrova A., Jansova H., Mackova E., Machacek M., Haskova P., Tichotova L., Sterba M., Simunek T. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 10. P. 1–13.
169. McClendon A.K., Rodriguez A.C., Osheroff N. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 47. P. 39337–39345.
170. Uemura T., Ohkura H., Adachi Y., Morino K., Shiozaki K., Yanagida M. // *Cell*. 1987. V. 50. № 6. P. 917–925.
171. Swanston A., Zabrady K., Ferreira H.C. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 12. P. 6172–6183.
172. Kawano S., Kato Y., Okada N., Sano K., Tsutsui K., Tsutsui K.M., Ikeda S. // *J. Biochem.* 2015. V. 159. № 3. P. 363–369.
173. Ladouceur A.M., Ranjan R., Smith L., Fadero T., Heppert J., Goldstein B., Maddox A.S., Maddox P.S. // *J. Cell Biol.* 2017. V. 216. № 9. P. 2645–2655.
174. Mengoli V., Bucciarelli E., Lattao R., Piergentili R., Gatti M., Bonaccorsi S. // *PLoS Genet.* 2014. V. 10. № 10. P. 15–17.
175. Samejima K., Samejima I., Vagnarelli P., Ogawa H., Vargiu G., Kelly D.A., Alves F. de L., Kerr A., Green L.C., Hudson D.F., et al. // *J. Cell Biol.* 2012. V. 199. № 5. P. 755–770.
176. Gonzalez R.E., Lim C.U., Cole K., Bianchini C.H., Schools G.P., Davis B.E., Wada I., Roninson I.B., Broude E.V. // *Cell Cycle*. 2011. V. 10. № 20. P. 3505–3514.
177. Dovey M., Patton E.E., Bowman T., North T., Goessling W., Zhou Y., Zon L.I. // *Mol. Cell Biol.* 2009. V. 29. № 13. P. 3746–3753.
178. Yang X., Li W., Prescott E.D., Burden S.J., Wang J.C. // *Science*. 2000. V. 287. № 5450. P. 131–134.
179. Lyu Y.L., Lin C.-P., Azarova A.M., Cai L., Wang J.C., Liu L.F. // *Mol. Cell Biol.* 2006. V. 26. № 21. P. 7929–7941.
180. Petrova B., Dehler S., Kruitwagen T., Heriche J.-K., Miura K., Haering C.H. // *Mol. Cell Biol.* 2013. V. 33. № 5. P. 984–998.
181. Zhang H., Zhang Y.W., Yasukawa T., Dalla Rosa I., Khiati S., Pommier Y. // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. № 11. P. 7259–7267.
182. Woessner R.D., Mattern M.R., Mirabelli C.K., Johnson R.K., Drake F.H. // *Cell Growth Differ.* 1991. V. 2. № 4. P. 209–214.
183. Singh B.N., Mudgil Y., Sopory S.K., Reddy M.K. // *Plant Mol. Biol.* 2003. V. 52. № 5. P. 1063–1076.
184. Turley H., Comley M., Houlbrook S., Nozaki N., Kikuchi A., Hickson I.D., Gatter K., Harris A.L. // *Br. J. Cancer*. 1997. V. 75. № 9. P. 1340–1346.
185. Austin C.A., Marsh K.L. // *BioEssays*. 1998. V. 20. № 3. P. 215–226.
186. Linka R.M., Porter A.C.G., Volkov A., Mielke C., Boege F., Christensen M.O. // *Nucl. Acids Res.* 2007. V. 35. № 11. P. 3810–3822.
187. Meczes E.L., Gilroy K.L., West K.L., Austin C.A. // *PLoS One*. 2008. V. 3. № 3. P. 1–7.
188. Gilroy K.L., Austin C.A. // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 2. P. 1–7.
189. Kouzine F., Gupta A., Baranello L., Wojtowicz D., Ben-Aissa K., Liu J., Przytycka T.M., Levens D. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013. V. 20. № 3. P. 396–403.
190. Joshi R.S., Piña B., Roca J. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 16. P. 7907–7915.
191. Canela A., Maman Y., Huang S. yin N., Wutz G., Tang W., Zagnoli-Vieira G., Callen E., Wong N., Day A., Peters J.M., et al. // *Mol. Cell*. 2019. V. 75. № 2. P. 252–266.e8.
192. King I.F., Yandava C.N., Mabb A.M., Hsiao J.S., Huang H.S., Pearson B.L., Calabrese J.M., Starmer J., Parker J.S., Magnuson T., et al. // *Nature*. 2013. V. 501. № 7465. P. 58–62.
193. Yu X., Davenport J.W., Urtishak K.A., Carillo M.L., Gosai S.J., Kolaris C.P., Byl J.A.W., Rappaport E.F., Osheroff N., Gregory B.D., et al. // *Genome Res.* 2017. V. 27. № 7. P. 1238–1249.
194. Durand-Dubief M., Persson J., Norman U., Hartsuiker E., Ekwall K. // *EMBO J.* 2010. V. 29. № 13. P. 2126–2134.
195. Sperling A.S., Jeong K.S., Kitada T., Grunstein M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 31. P. 12693–12698.
196. Pedersen J.M., Fredsoe J., Roedgaard M., Andreasen L., Mundbjerg K., Kruhoffer M., Brinch M., Schierup M.H., Bjergbaek L., Andersen A.H. // *PLoS Genet.* 2012. V. 8. № 12. P. 1–15.

197. Ju B.G., Lunyak V.V., Perissi V., Garcia-Bassets I., Rose D.W., Glass C.K., Rosenfeld M.G. // *Science*. 2006. V. 312. № 5781. P. 1798–1802.
198. Williamson L.M., Lees-Miller S.P. // *Carcinogenesis*. 2011. V. 32. № 3. P. 279–285.
199. Haffner M.C., Aryee M.J., Toubaji A., Esopi D.M., Albadine R., Gurel B., Isaacs W.B., Bova G.S., Liu W., Xu J., et al. // *Nat. Genet.* 2010. V. 42. № 8. P. 668–675.
200. Trotter K.W., King H.A., Archer T.K. // *Mol. Cell. Biol.* 2015. V. 35. № 16. P. 2799–2817.
201. Madabhushi R., Gao F., Pfenning A.R., Pan L., Yamakawa S., Seo J., Rueda R., Phan T.X., Yamakawa H., Pao P.C., et al. // *Cell*. 2015. V. 161. № 7. P. 1592–1605.
202. Dixon J.R., Selvaraj S., Yue F., Kim A., Li Y., Shen Y., Liu J.S., Ren B. // *Nature*. 2012. V. 485. № 7398. P. 376–380.
203. Sati S., Cavalli G. // *Chromosoma*. 2017. V. 126. № 1. P. 33–44.
204. Lieberman-Aiden E., van Berkum N.L., Williams L., Imakaev M., Ragozy T., Telling A., Amit I., Lajoie B.R., Sabo P.J., Dorschner M.O., et al. // *Science*. 2009. V. 326. № 5950. P. 289–293.
205. Rao S.S.P., Huntley M.H., Durand N.C., Stamenova E.K., Bochkov I.D., Robinson J.T., Sanborn A.L., Machol I., Omer A.D., Lander E.S., et al. // *Cell*. 2014. V. 159. № 7. P. 1665–1680.
206. Merckenschlager M., Nora E.P. // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2016. V. 17. № 1. P. 17–43.
207. Uusküla-Reimand L., Hou H., Samavarchi-Tehrani P., Rudan M.V., Liang M., Medina-Rivera A., Mohammed H., Schmidt D., Schwalie P., Young E.J., et al. // *Genome Biol.* 2016. V. 17. № 1. P. 1–22.
208. Canela A., Sridharan S., Sciascia N., Tubbs A., Meltzer P., Sleckman B.P., Nussenzweig A. // *Mol. Cell*. 2016. V. 63. № 5. P. 898–911.
209. Gothe H.J., Bouwman B.A.M., Gusmao E.G., Piccinno R., Petrosino G., Sayols S., Drechsel O., Minneker V., Josipovic N., Mizi A., et al. // *Mol. Cell*. 2019. V. 75. № 2. P. 267–283.
210. Canela A., Maman Y., Jung S., Wong N., Callen E., Day A., Kieffer-Kwon K.R., Pekowska A., Zhang H., Rao S.S.P., et al. // *Cell*. 2017. V. 170. № 3. P. 507–521.e18.
211. Gittens W.H., Johnson D.J., Allison R.M., Cooper T.J., Thomas H., Neale M.J. // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 1–16.
212. Sanborn A.L., Rao S.S.P., Huang S.-C., Durand N.C., Huntley M.H., Jewett A.L., Bochkov I.D., Chinnappan D., Cutkosky A., Li J., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. V. 112. № 47. P. E6456–E6465.
213. Racko D., Benedetti F., Goundaroulis D., Stasiak A. // *Polymers (Basel)*. 2018. V. 10. № 10. P. 1–11.
214. Fudenberg G., Imakaev M., Lu C., Goloborodko A., Abdennur N., Mirny L.A. // *Cell Rep*. 2016. V. 15. № 9. P. 2038–2049.
215. Benedetti F., Dorier J., Stasiak A. // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. № 16. P. 10425–10432.
216. Havugimana P.C., Hart G.T., Nepusz T., Yang H., Turinsky A.L., Li Z., Wang P.I., Boutz D.R., Fong V., Phanse S., et al. // *Cell*. 2012. V. 150. № 5. P. 1068–1081.
217. Varga-Weisz P.D., Wilm M., Bonte E., Dumas K., Mann M., Becker P.B. // *Nature*. 1997. V. 388. № 6642. P. 598–602.
218. LeRoy G., Loyola A., Lane W.S., Reinberg D. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 20. P. 14787–14790.
219. Ho L., Crabtree G.R. // *Nature*. 2010. V. 463. № 7280. P. 474–484.
220. Wang W., Xue Y., Zhou S., Kuo A., Cairns B.R., Crabtree G.R. // *Genes Dev.* 1996. V. 10. № 17. P. 2117–2130.
221. Hota S.K., Bruneau B.G. // *Dev.* 2016. V. 143. № 16. P. 2882–2897.
222. Dykhuizen E.C., Hargreaves D.C., Miller E.L., Cui K., Korshunov A., Kool M., Pfister S., Cho Y.J., Zhao K., Crabtree G.R. // *Nature*. 2013. V. 497. № 7451. P. 624–627.
223. Rasim Barutcu A., Lian J.B., Stein J.L., Stein G.S., Imbalzano A.N. // *Nucleus*. 2017. V. 8. № 2. P. 150–155.
224. Thompson R.J., Mosig G. // *Nucl. Acids Res.* 1985. V. 13. № 3. P. 873–891.
225. Wall M.K., Mitchenall L.A., Maxwell A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. № 20. P. 7821–7826.
226. Tang Girdwood S.C., Nenortasa E., Shapiro T.A. // *Physiol. Behav.* 2017. V. 176. № 12. P. 139–148.
227. Cho H.S., Lee S.S., Kim K.D., Hwang I., Lim J.-S., Park Y.-I., Pai H.-S. // *Plant Cell*. 2004. V. 16. № 10. P. 2665–2682.
228. Evans-Roberts K.M., Breuer C., Wall M.K., Sugimoto-Shirasu K., Maxwell A. // *PLoS One*. 2010. V. 5. № 3. P. 1–7.
229. Evans-Roberts K.M., Mitchenall L.A., Wall M.K., Leroux J., Myle J.S., Maxwell A. // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 291. № 7. P. jbc.M115.689554.
230. Reddy M.K., Achary V.M.M., Singh B.N., Manna M., Sheri V., Panditi V., James D., Fartyal D., Ram B., Kaul T. // *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 2019. V. 28. № 3. P. 291–300.
231. Heinhorst S., Cannon G., Weissbach A. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1985. V. 239. № 2. P. 475–479.
232. Boyer L.A., Latek R.R., Peterson C.L. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2004. V. 5. № 2. P. 158–163.
233. Yang Z., Hou Q., Cheng L., Xu W., Hong Y., Li S., Sun Q. // *Plant Cell*. 2017. V. 29. № 10. P. 2478–2497.
234. Jain M., Tyagi A.K., Khurana J.P. // *FEBS J.* 2006. V. 273. № 23. P. 5245–5260.
235. An X.J., Deng Z.Y., Wang T. // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 5. P. 1–14.
236. Sugimoto-Shirasu K., Roberts G.R., Stacey N.J., McCann M.C., Maxwell A., Roberts K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102. № 51. P. 18736–18741.
237. Sugimoto-Shirasu K., Stacey N.J., Corsar J., Roberts K., McCann M.C. // *Curr. Biol.* 2002. V. 12. № 20. P. 1782–1786.
238. Grelon M., Vezon D., Gendrot G., Pelletier G. // *EMBO J.* 2001. V. 20. № 3. P. 589–600.
239. Yu H., Wang M., Tang D., Wang K., Chen F., Gong Z., Gu M., Cheng Z. // *Chromosoma*. 2010. V. 119. № 6. P. 625–636.
240. Mittal A., Balasubramanian R., Cao J., Singh P., Subramanian S., Hicks G., Nothnagel E.A., Abidi N., Janda J., Galbraith D.W., et al. // *J. Exp. Bot.* 2014. V. 65. № 15. P. 4217–4239.
241. Tian Y., Gu H., Fan Z., Shi G., Yuan J., Wei F., Yang Y., Tian B., Cao G., Huang J. // *Planta*. 2019. V. 249. № 4. P. 1119–1132.
242. Kirik V., Schrader A., Uhrig J.F., Hulskamp M. // *Plant Cell*. 2007. V. 19. № 10. P. 3100–3110.
243. Breuer C., Stacey N.J., West C.E., Zhao Y., Chory J., Tsukaya H., Azumi Y., Maxwell A., Roberts K., Sugimoto-Shirasu K. // *Plant Cell*. 2007. V. 19. № 11. P. 3655–3668.
244. Šimková K., Moreau F., Pawlak P., Vriet C., Baruah A., Alexandre C., Hennig L., Apel K., Laloi C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. № 40. P. 16360–16365.
245. Kreuzer K.N., Jongeneel C.V. // *Methods Enzymol.* 1983. V. 100. № 1980. P. 557–580.
246. Kreuzer K.N. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. V. 1400. № 1–3. P. 339–347.
247. Nossal N.G., Dudas K.C., Kreuzer K.N. // *Mol. Cell*. 2001. V. 7. № 1. P. 31–41.
248. Hong G., Kreuzer K.N. // *Mol. Cell. Biol.* 2000. V. 20. № 2. P. 594–603.
249. Lavysh D., Sokolova M., Minakhin L., Yakunina M., Artamonova T., Kozyavkin S., Makarova K.S., Koonin E.V., Severinov K. // *Virology*. 2016. V. 495. P. 185–196.
250. Gabelle D., Krupovic M., Raymann K., Mayer C., Forterre P. // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. № 13. P. 8578–8591.
251. Takahashi T.S., Da Cunha V., Krupovic M., Mayer C., Forterre P., Gabelle D. // *Nucl. Acids Res.* 2020. V. 2. № 1. P. 1–13.