

УДК 577.1

Объемные аддукты в составе кластерных повреждений ДНК: причины устойчивости к удалению системой NER

Н. В. Науменко^а, И. О. Петрусева^а, О. И. Лаврик*

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, 630090 Россия

^а Авторам принадлежит равный вклад в написание статьи

*E-mail: lavrik@niboch.nsc.ru

Поступила в редакцию 31.05.2022

Принята к печати 18.10.2022

DOI: 10.32607/actanaturae.11741

РЕФЕРАТ Система эксцизионной репарации нуклеотидов (NER) удаляет из ДНК различные объемные повреждения, которые вызывают существенные искажения регулярной структуры двойной спирали. Такие повреждения, в основном ковалентные аддукты, сформированные по азотистым основаниям ДНК, могут появляться под действием ультрафиолетового и ионизирующего излучения, а также в результате взаимодействия ДНК с химически активными веществами эндогенного и экзогенного происхождения. В условиях роста количества повреждений ДНК, например, при проведении интенсивной химио- и комплексной терапии, а также при нарушении процессов репарации ДНК, объемные аддукты могут оказываться в составе кластерных повреждений. Кластерные повреждения представляют собой два или более повреждений, расположенных в пределах одного или двух витков спирали ДНК. Несмотря на то что репарация одиночных повреждений ДНК системой NER в эукариотической клетке изучена достаточно полно, в механизме репарации объемных повреждений, расположенных в составе кластеров, многое остается неясным. Выявление структурных особенностей участков ДНК, содержащих нерепарируемые кластерные повреждения, представляет значительный интерес, в том числе ввиду взаимосвязи между эффективностью действия некоторых противоопухолевых препаратов и активностью клеточных систем репарации. В обзоре проанализированы данные о формировании кластерных повреждений, содержащих объемные аддукты, потенциальной биологической значимости таких повреждений, а также о методах оценки их количества, рассмотрены причины подавления катализируемой системой NER эксцизии объемных повреждений из состава кластеров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА эксцизионная репарация нуклеотидов, объемные повреждения ДНК, кластерные повреждения ДНК.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ B[a]P-dG – аддукт производного бенз[а]пирена с гуанином; BER – эксцизионная репарация оснований; BHD – β -шпилечный домен белка ХРС; CPD – циклобутан-пиримидиновый димер; ICL – межцепочечная сшивка ДНК; nAnt – ненуклеотидная вставка в ДНК с объемным антраценилкарбамоильным заместителем; NER – эксцизионная репарация нуклеотидов; nFlu – ненуклеотидная вставка в ДНК с объемным флуоресцеинкарбамоильным заместителем; AP-сайт – апуриновый/апиридининовый сайт; ИИ – ионизирующее излучение.

ВВЕДЕНИЕ

Система эксцизионной репарации нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER) удаляет из ДНК разнообразные повреждения, подавляющая часть которых представляет собой объемные аддукты, вносящие существенные искажения в регулярную двухцепочечную структуру ДНК. Инициация процесса NER может проходить по двум путям:

общегеномному (global genome, GG-NER) и сопряженному с транскрипцией (transcription-coupled, TC-NER). В сопряженном с транскрипцией пути узнаются повреждения, расположенные в транскрибируемых цепях активных генов [1, 2]. Процесс TC-NER запускается остановкой комплекса РНК-полимеразы II, которая происходит при встрече фермента с объемным повреждением в транс-

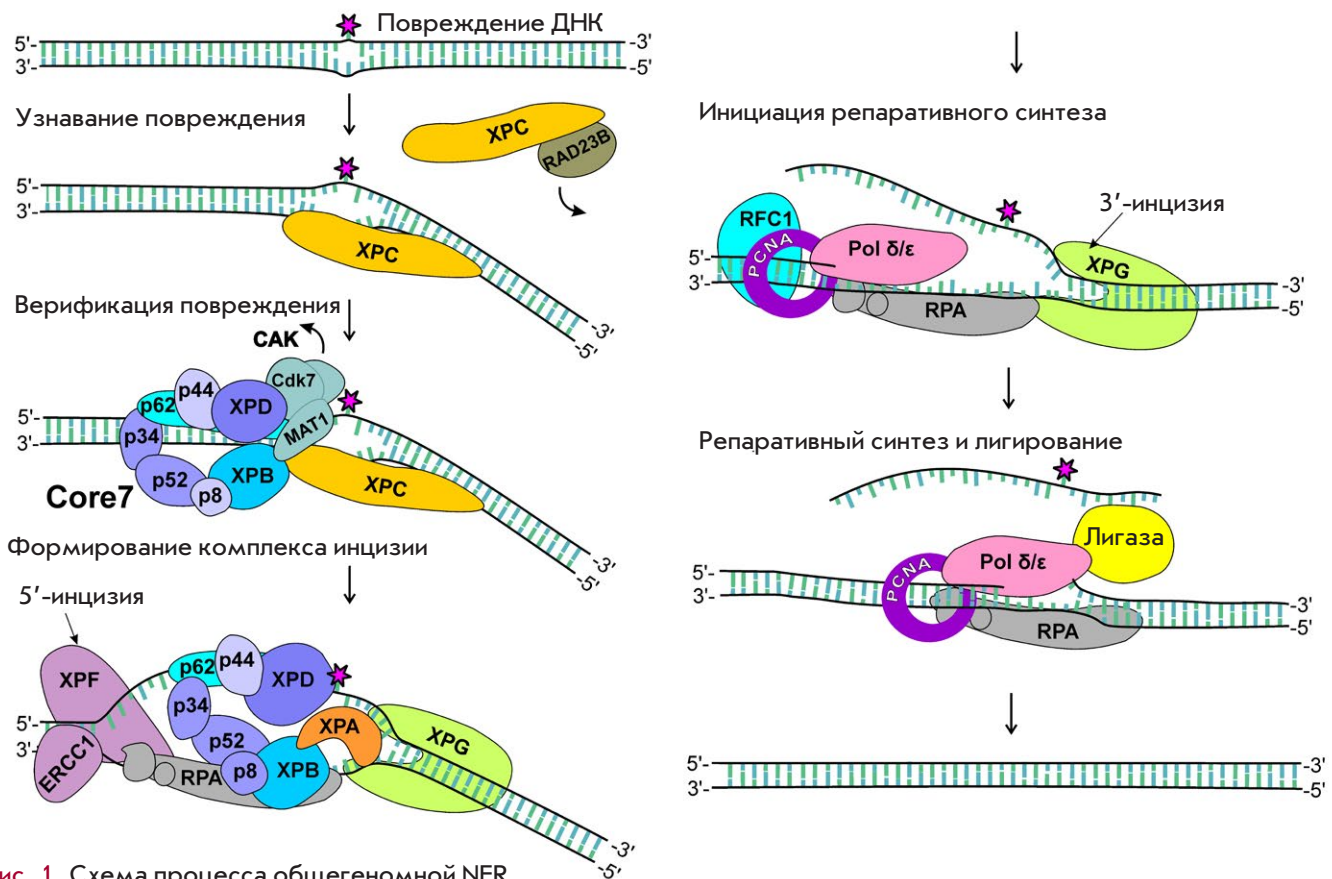


Рис. 1. Схема процесса общегеномной NER

крибируемой цепи ДНК. По пути GG-NER удаляются повреждения, расположенные во всем геноме, включая его нетранскрибируемые участки и молчащий хроматин. Роль сенсора повреждений в GG-NER выполняют комплексы фактора XPC. Начиная со второго этапа репарации – верификации повреждения, процессы GG-NER и TC-NER осуществляются одним набором белковых факторов и ферментов. Повреждения удаляются из ДНК вместе с окружающим их участком цепи длиной 24–32 нуклеотидных звена. Образовавшаяся брешь заполняется с помощью репаративного синтеза (рис. 1) [3, 4]. В общей сложности в процессе NER участвует более 30 ферментов и белковых факторов, последовательно формирующих на ДНК в районе повреждения комплексы переменного состава, вовлекая во взаимодействие обе цепи ДНК на участке, размер которого соответствует двум-трем виткам спирали.

Несколько повреждений, находящихся в пределах одного или двух витков спирали ДНК, называют кластерным повреждением (кластером) [5]. В состав кластеров могут входить различные повреждения: окисленные азотистые основания, AP-сайты и другие «необъемные» повреждения, разрывы цепей ДНК, а также звенья цепи ДНК, содержащие

объемные аддукты [5–7]. В последние годы достигнут большой прогресс в понимании процесса репарации одиночных повреждений системой NER [8]. Механизм удаления объемных повреждений, расположенных в составе кластеров, изучен не так хорошо. В ряде исследований показано, что при появлении дополнительного повреждения ДНК вблизи объемного аддукта часто снижается эффективность его удаления системой NER [9–11]. Кроме того, одновременная эксцизия повреждений, находящихся в противоположных цепях ДНК-дуплекса, может приводить к образованию двухцепочечных разрывов, потенциально летальных для клетки [12]. С другой стороны, высокая активность систем репарации в отношении индуцированных повреждений ДНК опухолевой клетки снижает эффективность действия противоопухолевых препаратов [13, 14]. Исследование механизмов взаимодействия белков репарации с повреждениями, находящимися в составе кластеров, выяснение взаимосвязи между структурой участка ДНК, содержащего повреждения, возникающие в ДНК клетки в процессе терапии, и их устойчивостью к репарации, имеет, таким образом, и практическое значение.

В представленном обзоре проанализированы данные о репарации объемных повреждений ДНК,

входящих в состав кластеров, а также рассмотрена потенциальная биологическая значимость таких повреждений. Приведены примеры подавления эксцизии объемных повреждений в результате непродуктивного для NER связывания сенсорного фактора ХРС с поврежденной ДНК. Проанализированы особенности структуры участков ДНК, содержащих кластерные повреждения, устойчивые к удалению системой NER.

ВИДЫ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК, УДАЛЯЕМЫХ СИСТЕМОЙ NER, И ПРИЧИНЫ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ

Объемные повреждения ДНК – в основном ковалентные аддукты азотистых оснований (рис. 2), образуются в результате воздействия ультрафиолетового излучения (пиримидин-(6,4)-пиримидиновые фотопродукты и цикlobутан-пиримидиновые димеры, структуры повреждений приведены на рис. 2А) и ионизирующего излучения (ИИ) высокой мощности (например, окисленные основания 8,5'-цикло-2'-дезоксипурины, рис. 2Б, слева, и аддукты окисленных метаболитов эстрогенов, рис. 2Б, справа) [15–17]. Объемные повреждения ДНК образуются также при попадании в организм химически активных либо активированных клеточным метаболизмом веществ: продуктов неполного сгорания топлив, например, производных бенз[а]пирена (рис. 2В, слева), компонентов табачного дыма – специфических для табака нитрозаминов (рис. 2В, справа) [18–20], веществ, способствующих формированию сшивок ДНК–белок [21], некоторых природных веществ (например, аристолоховых кислот) [22]. Многие из этих повреждений трудно репарируемы и имеют тенденцию к накоплению в организме [10, 23, 24].

Цитостатическое действие многих химиотерапевтических препаратов основано на их способности формировать объемные аддукты при взаимодействии с ДНК. К таким препаратам относятся Pt-содержащие препараты (карбоксиплатин, оксалиплатин, цисплатин; структура цисплатиновой сшивки двух цепей ДНК представлена на рис. 2Г, сверху) [14, 25], алкилирующие варианты азотистых ипритов (мехлорэтамин, циклофосфамид, ацилфульвен) [25, 26], малобороздочные лиганды, митомицины [27], а также лекарства антрациклинового ряда, способные формировать с ДНК ковалентные аддукты в присутствии эндогенного формальдегида (рис. 2Г, снизу) [28].

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КОЛИЧЕСТВА ОБЪЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Определение количества повреждений ДНК является сложной задачей, поскольку содержание поврежденных нуклеотидных звеньев в общем массиве

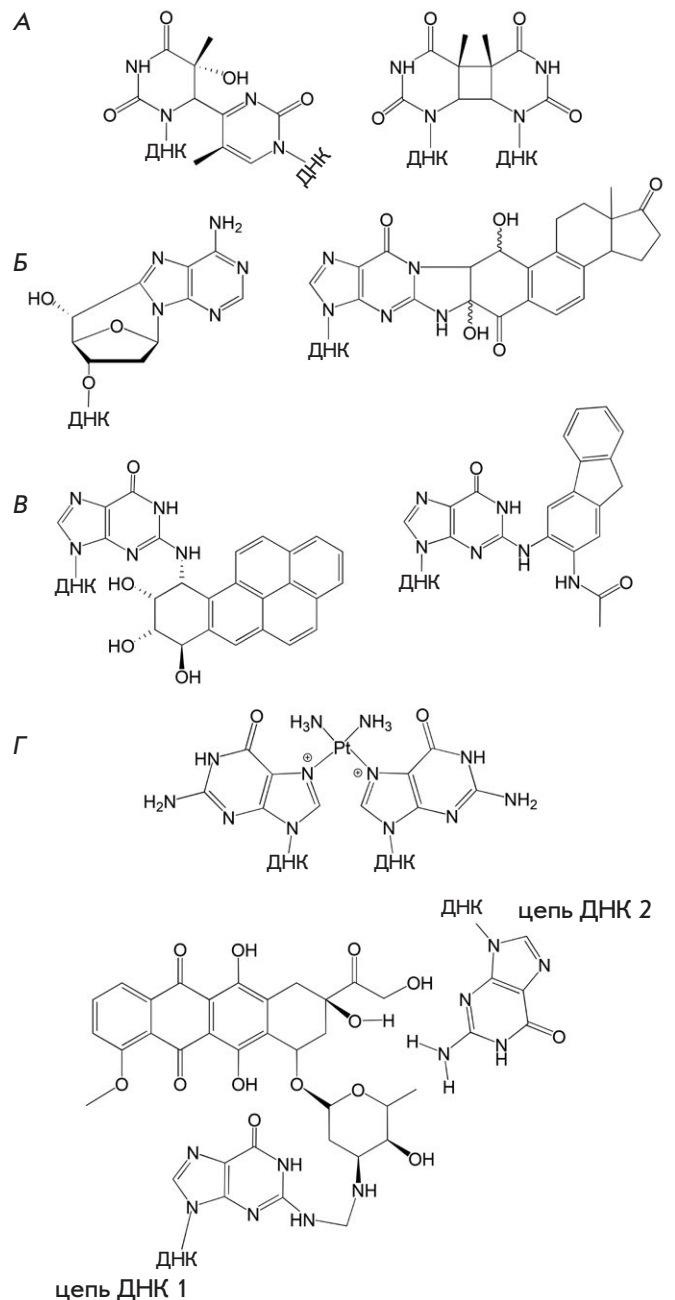


Рис. 2. Примеры повреждений ДНК, удаляемых системой NER. А – УФ-индуцированные повреждения: пиримидин-(6,4)-пиримидиновый фотопродукт (слева) и цикlobутан-пиримидиновый димер (справа). Б – ИИ-индуцированные повреждения: 8,5'-цикло-2'-дезоксиаденозин (слева) и аддукт 4-гидроксиэквиленина с гуанином (справа). В – модификации, возникшие в результате действия на ДНК химически активных метаболитов веществ, попадающих в организм из окружающей среды: аддукт бензо[а]пирендиол-эпоксида с гуанином (слева) и пиридилособутильный аддукт гуанина (справа). Г – повреждения, возникающие при проведении химиотерапии: аддукт цисплатина с ДНК (сверху) и аддукт доксорубицина с ДНК (снизу)

ДНК относительно мало, а их структура и свойства разнообразны. Для обнаружения и определения количества объемных аддуктов, возникающих в ДНК, используется широкий набор методов. Помимо широко известного варианта электрофореза на уровне одной клетки в щелочных условиях («щелочной метод ДНК-комет») [29], применяются методики, основанные на использовании радиоактивного меченя с ограниченной специфичностью, но высокой чувствительностью, детектирующие один аддукт на 10^9 - 10^{10} нуклеотидов [30–32]. Кроме того, применяются более селективные методики, основанные на использовании специфических к повреждению антител (уровень детекции – один аддукт на 10^8 нуклеотидов) [18, 33, 34] и новых вариантов полимеразной цепной реакции [35]. Для определения количества повреждений методом атомной абсорбционной спектроскопии необходим образец объемом 10–50 мкл с предполагаемой концентрацией определяемого элемента от 10^{-3} до 10^{-6} М [36].

Наиболее высокую точность оценки количества и специфичность в отношении типа повреждений обеспечивает применение масс-спектрометрических подходов. Единственное ограничение масс-спектрометрического подхода состоит в том, что для получения количественных данных необходимо использовать изотопно-меченый внутренний стандарт, чтобы можно было учесть образование и потерю повреждений при обработке образца [37–41].

В некоторых случаях результаты количественных оценок расходятся, что может быть связано как с несовершенством использованных методик, так и с особенностями структуры исследуемых повреждений [42]. Подобные расхождения особенно характерны для образцов тканей пациента, опухолевых тканей, перевиваемых опухолей, культивируемых клеток пациента и «жидких биопсий», взятых у пациентов, – особенно в тех случаях, когда используется комплексная (комбинированная) терапия [25]. Дальнейшее совершенствование методов оценки количества повреждений ДНК имеет важное значение как для выявления нежелательных токсических воздействий на ДНК живого организма, так и для получения объективных данных о терапевтическом воздействии, выраженных в количестве индуцированных повреждений, сохранившихся в ДНК.

МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ КЛАСТЕРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ОБЪЕМНЫЕ АДДУКТЫ

По грубым оценкам, в ДНК человеческой клетки ежедневно образуются 10^4 - 10^6 повреждений [12]. В результате поврежденным оказывается

лишь ~0.0002-0.02% человеческого генома. Однако повреждения ДНК распределяются по геному неравномерно, часто концентрируясь в определенных позициях, называемых «горячие точки мутагенеза». Расположение горячих точек отражает как свойства мутационного процесса – преобладающий тип мутагена, воздействующего на организм, эффективность работы репаративной и репликативной машин, так и структурные и функциональные особенности контекста ДНК [43].

Концентрация повреждений в определенных участках генома обусловлена множеством факторов: структурой и количеством химически активных молекул, действующих на организм, механизмом взаимодействия этих молекул с ДНК, нуклеотидной последовательностью и локальной структурой ДНК, а также степенью компактизации хроматина [43]. Способы взаимодействия малых молекул с ДНК включают интеркаляцию, внедрение в малую и большую бороздки ДНК, связывание с одноцепочечными участками ДНК и сочетание различных типов взаимодействия, а также последующее формирование ковалентных аддуктов с азотистыми основаниями нуклеотидных звеньев [44].

Значительную часть веществ, образующих удаляемые системой NER аддукты, составляют электрофильные соединения, которые взаимодействуют с нуклеофильными атомами в составе ДНК. Наиболее реакционноспособными являются N7, N2, C8 и O6 позиции гуанина, N1, N3 и N7 позиции аденина, O2 и O4 позиции тимина, O2 и N4 позиции цитозина [45]. Так бенз[а]пирен-7,8-диол-9,10-эпоксид предпочтительно реагирует с экзоциклической N2 аминогруппой гуанина, расположенной в малой бороздке ДНК. Предполагается, что расположенные таким образом трудно репарируемые бенз[а]пиреновые аддукты наиболее часто встречаются в ДНК клеток млекопитающих [46]. Афлатоксин В1 экзо-8,9-эпоксид, активированный метаболит афлатоксина В1, предпочтительно взаимодействует с dG:dC-богатыми регионами ДНК и формирует аддукт с N7 гуанина [47, 48]. Широко известный канцерогенный ароматический амин, N-2-ацетиламинофлуорен, образует аддукты по позиции C8 гуанина [49, 50]. Химиотерапевтические препараты на основе платины после метаболической активации предпочтительно взаимодействуют с dG-богатыми участками ДНК [51].

Вероятность возникновения кластерных повреждений в ДНК существенно возрастает при интенсивных воздействиях на клетку, например, при проведении интенсивной химиотерапии и комплексной терапии, включающей воздействие радиоактивного излучения или дополнительных химиопрепаратов

[5, 52, 53]. Наиболее часто протоколы комбинированной терапии используются в случаях, когда базовыми препаратами являются производные платины, применение которых часто осложняется врожденной или приобретенной устойчивостью к их действию. Комбинированная терапия в этих случаях может включать антимиотики, терминирующие аналоги нуклеозидов, ингибиторы топоизомеразы, а в последнее время такие препараты, как паклитаксел, гемцитабин, а также доксорубин, который преимущественно интеркалирует в сайты, обогащенные dG:dC-парами, формируя водородную связь с dG в одной цепи, а в присутствии формальдегида образует ковалентные аддукты с dG в противоположной цепи (рис. 2Г, снизу) [28].

Повышенный уровень накопления окислительных повреждений характерен для опухолевых [54, 55] и воспаленных тканей [56]. Ионизирующее излучение индуцирует повреждение ДНК как посредством прямой ионизации (30-40% ИИ-индуцированных повреждений), так и путем воздействия свободных радикалов, образующихся при радиолизе воды [57]. Установлено, что действие γ - и рентгеновского излучения может приводить к образованию двух или более AP-сайтов, а также окисленных производных азотистых оснований и разрывов цепей ДНК в пределах двух-трех витков спирали ДНК [58, 59]. При воздействии ИИ кластерные повреждения, состоящие из AP-сайтов и окисленных оснований, образуются примерно в 4 раза чаще, чем двухцепочечные разрывы [60, 61].

AP-сайты, одни из самых многочисленных окислительных повреждений ДНК, возникающих при самых разных типах воздействий [62, 63], могут существовать в виде двух находящихся в равновесии форм: альдегида с открытым кольцом и замкнутого полуацетала. Альдегидная форма обладает высокой реакционной способностью, которая способствует образованию вблизи AP-сайтов дополнительных повреждений. В результате реакции альдегидной формы AP-сайта с экзоциклической аминогруппой остатка аденина или гуанина, находящихся в противоположной цепи, могут возникать опасные повреждения ДНК – межцепочечные сшивки (ICL) [64]. Присутствие 20-40 ICL на клетку смертельно для клеток млекопитающих с дефицитом репарации [65]. Эти повреждения блокируют разделение двух цепей ДНК, что необходимо для протекания процессов транскрипции и репликации. Следовательно, ICL действуют как абсолютный блокатор основных клеточных процессов и особенно вредны для быстро делящихся клеток. Это привело к широкому использованию сшивающих агентов в качестве противоопухолевых средств. Пути репа-

рации ICL до сих пор окончательно не определены; считается, что в покоящихся клетках в репарации ICL участвуют белки системы NER [65]. Кроме того, в результате реакций альдегидной формы AP-сайта образуются такие объемные аддукты, как внутрицепочечные сшивки, моноаддукты и ДНК-белковые сшивки [64, 65].

Препараты-радиомиметики, используемые в химиотерапии онкологических заболеваний, оказывают на ДНК действие, аналогичное радиоактивному излучению. Они также могут способствовать появлению множественных повреждений ДНК, состоящих из одно- и двухцепочечных разрывов и AP-сайтов [66, 67]. В качестве примера таких препаратов можно привести блеомицин – гликопептид с выраженными цитотоксическими и мутагенными свойствами, вырабатываемый бактериями *Streptomyces verticillus*. Одна часть молекулы блеомицина связывается в малой бороздке ДНК и модифицирует ее азотистые основания, в то время как другая способна вступать в реакции с ионами металлов (например, Fe(II)), а также с кислородом. Действие образующихся активных форм кислорода может приводить к возникновению в смежных участках ДНК окислительных повреждений [66, 68].

На процесс возникновения кластерных повреждений влияет также доступность конкретных участков ДНК для воздействия повреждающего агента. Белки хроматина защищают ДНК от повреждающего воздействия ИИ, свободных радикалов и генотоксических химических соединений [69–71].

Присутствие объемных повреждений, напротив, индуцирует значительное локальное ослабление Уотсон–Криковских взаимодействий и, как следствие, облегчает доступность ДНК для окислительных и других повреждающих агентов, повышает вероятность спонтанного гидролиза гликозидных связей и образование AP-сайтов. Таким образом, наличие спонтанно образовавшихся или индуцированных объемных аддуктов повышает вероятность возникновения кластерных повреждений в окружающем их участке ДНК [62, 72]. Показано, например, что воздействие даже низких доз радиоактивного облучения на ДНК, содержащую платиновые аддукты, повышает вероятность возникновения кластерных повреждений в 1.5-2.5 раза [73, 74]. Учитывая, что кластерные повреждения часто трудно репарируемы, такие воздействия при проведении комплексной терапии могут способствовать накоплению платиновых аддуктов в ДНК раковых клеток, несмотря на то, что для раковых клеток в некоторых случаях характерна повышенная активность систем репарации ДНК [75, 76].

УЗНАВАНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК СИСТЕМОЙ ОБЩЕГЕНОМНОЙ NER

В процессе общегеномной NER первичное узнавание участка ДНК, содержащего объемное повреждение, происходит без непосредственного контакта белка-сенсора XPC с самим повреждением [3, 77, 78]. Как уже отмечено, объемные повреждения вызывают изменения регулярной структуры дцДНК, которые часто сопровождаются дестабилизацией молекулы и формированием флуктуирующих одноцепочечных участков, к которым XPC проявляет повышенное сродство. При поиске повреждения XPC перемещается вдоль молекулы ДНК в режиме повторяющихся ассоциаций-диссоциаций, формируя с ДНК множество короткоживущих комплексов, что позволяет ему «обходить препятствия» – белки, связанные с ДНК [79].

Более детальное представление о том, как происходит первая стадия процесса NER, получено в результате данных, полученных при проведении биохимических экспериментов, таких, как фотоаффинная модификация и равновесное флуоресцентное титрование, с рекомбинантным белком XPC человека и его дрожжевым ортологом Rad4, а также данных рентгеноструктурного анализа комплекса белка Rad4 с ДНК, содержащей циклобутан-пиримидиновый димер [77, 80]. В структуре XPC присутствуют три домена, содержащих β -шпильки: BHD1, BHD2 и BHD3 (рис. 3) [77]. На первой стадии узнавания повреждения домены BHD1 и BHD2 фактора XPC выявляют участки ДНК с ослабленными водородными связями. Распознавание участков с ослабленной регулярной двухцепочечной структурой ДНК происходит путем последовательного взаимодействия «ароматического сенсора» – расположенных в домене BHD2 аминокислотных остатков Trp690 и Phe733 – с ароматическими гетероциклами азотистых оснований нуклеотидных звеньев [81, 82]. Субдомен, в котором находится ароматический сенсор белка XPC, имеет сходство с олигонуклеотид/олигосахаридсвязывающим мотивом, типичным для белков, предпочтительно взаимодействующих с одноцепочечной ДНК, например RPA [81–83]. Домены BHD1 и трансглутаминовый домен белка XPC связываются с сегментом неповрежденной ДНК протяженностью 11 п.н. с 3'-стороны от повреждения, закрепляя белок на ДНК [82].

Затем происходит формирование более специфического комплекса XPC с ДНК в непосредственной близости от повреждения. В этом комплексе с последовательностью из 4 нуклеотидов неповрежденной цепи, расположенных напротив повреждения, взаимодействуют два β -шпильчных домена, BHD2 и BHD3 (рис. 3) [77, 84]. Структурные исследова-

ния комплекса дрожжевого белка-ортолога Rad4 с поврежденной ДНК [77] позволили заключить, что в результате связывания BHD2/3 не только поврежденное звено, но и два неповрежденных азотистых основания, расположенных в комплементарной цепи, вытесняются из дуплекса ДНК, который принимает вывернутую открытую конформацию. Длинная β -шпилька, выступающая из BHD3, встраивается в ДНК, тем самым стабилизируя структуру, возникшую при выворачивании нуклеотидов. При этом остов ДНК изгибается примерно на 40° . Образуется комплекс XPC–ДНК специфической структуры, в формирование которого вовлечен достаточно протяженный участок ДНК вблизи повреждения (рис. 3).

Селективность поиска повреждений определяется соотношением времени формирования комплексов XPC с ДНК и времени их существования. Как правило, продуктивные для NER комплексы характеризуются более коротким временем формирования и оптимальным по продолжительности временем

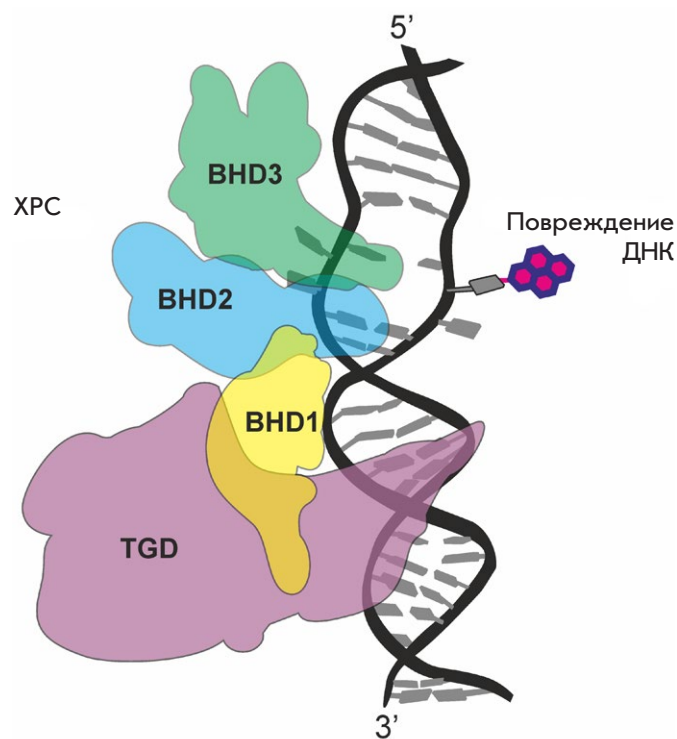


Рис. 3. Схематическое изображение узнавания поврежденного участка ДНК белком XPC. Повреждение ДНК обозначено розовым цветом, трансглутаминовый домен фактора XPC выделен фиолетовым цветом, домен BHD1 – желтым; домен BHD2 – голубым; домен BHD3 – зеленым

жизни [85, 86]. Расчеты, проведенные с использованием модели стохастического обратимого формирования нуклеопротеиновых комплексов в процессе NER, показали, что первичное узнавание участка ДНК, содержащего повреждение, – самый медленный этап процесса NER, определяющий скорость удаления повреждения [87]. Эффективность протекания первой стадии NER – узнавания поврежденных звеньев среди огромного массива неповрежденной ДНК, определяет скорость протекания всего процесса репарации [85, 88, 89].

В клетке XPC присутствует в виде комплексов XPC–RAD23B и XPC–RAD23B–Cen2. Субъединица RAD23B стабилизирует белок XPC и делает более эффективным его взаимодействие с ДНК. При связывании XPC с поврежденным участком ДНК субъединица RAD23B диссоциирует из комплекса. Функция субъединицы Cen2 в этих комплексах не до конца понятна, процесс NER *in vitro* может протекать и без ее участия [90]. Известно, однако, что Cen2, хотя и не контактирует с ДНК, стимулирует процесс NER в целом и необходим для эффективного вовлечения в процесс репарации фактора TFIIH [91, 92].

За начальным этапом узнавания повреждения и формированием комплекса XPC–ДНК следует проверка наличия объемного повреждения ДНК фактором TFIIH. Комплекс TFIIH состоит из семисубъединичного ядра Core7, в состав которого входят АТР-зависимые геликазы XPB и XPD и не обладающие ферментативной активностью субъединицы p62, p52, p44, p34 и p8, и так называемого комплекса CDK-активирующей киназы (CAK), включающего субъединицы MAT1, циклин H и Cdk7 [93, 94]. В присутствии CAK субъединицы XPB и XPD соединены через длинную α -спираль белка MAT1, при этом TFIIH находится в жесткой кольцеобразной конформации, которая ограничивает их ферментативную активность. При вовлечении TFIIH в процесс NER гетеротример CAK высвобождается из комплекса и Core7 формирует более подвижную подковообразную структуру, в которой XPB и XPD расположены на концах «подковы» (рис. 1) [8, 95].

Присоединение Core7 к репаративному комплексу происходит за счет взаимодействия его субъединиц XPB и p62 с фактором XPC, связанным с поврежденным участком ДНК [96, 97]. Взаимодействие субъединицы XPB с С-концом XPC стимулирует ее АТР-азную активность и приводит к изменению конформации Core7 и его закреплению на ДНК-субстрате [98, 99]. В результате этой конформационной перестройки XPD получает возможность связаться с поврежденной цепью ДНК с 5'-стороны от повреждения.

XPD служит молекулярным сенсором, подтверждающим наличие в цепи ДНК объемного повреждения. За счет 5'-3'-геликазной активности, стимулируемой субъединицей p44, XPD перемещается в направлении повреждения ДНК, формируя при этом асимметричный «пузырь». В процессе работы XPD поврежденная цепь проходит через пору, сформированную доменами FeS, Arch и HD1, а каждое ее звено контактирует с «сенсорным карманом» на поверхности белка. При контакте с поврежденным звеном геликазная активность XPD подавляется, что приводит к иммобилизации этого белка на ДНК и маркировке повреждения для последующего его удаления белками инцизионного комплекса (рис. 1) [100, 101].

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ДНК НА РЕПАРАЦИЮ ОБЪЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В СОСТАВЕ КЛАСТЕРОВ

Заметное продвижение в понимании закономерностей узнавания и удаления кластерных повреждений системой NER достигнуто благодаря исследованиям *in vitro* с использованием такого инструмента, как синтетические олигодезоксирибонуклеотиды, содержащие повреждения в заданных позициях цепей ДНК [10, 11, 102]. На рис. 4 схематически представлены ДНК с кластерными повреждениями различной структуры, в состав которых входят природные и синтетические объемные повреждения, использованные в этих исследованиях.

Выявлена прямая корреляция между эффективностью репарации некоторых объемных повреждений, например, одиночно расположенных аддуктов аминифлуорена в ДНК с одинаковой последовательностью, системой NER и сродством фактора XPC к этим ДНК [88]. Однако повышенное сродство XPC–RAD23B к ДНК, содержащим объемные повреждения, не всегда ассоциировано с высокой эффективностью их эксцизии как в случае изолированных объемных повреждений, так и повреждений, находящихся в составе кластеров [10, 11, 63, 86, 103]. Например, аддукт производного бенз[а]пирена, R-цис-B[a]P-dG, удаляется белками NER в 5 раз более эффективно, чем изомер S-транс-B[a]P-dG, несмотря на то, что сродство XPC–RAD23B к соответствующим ДНК-дуплексам одинаково [103]. Показано также, что при минимальных различиях величин сродства XPC–RAD23B к ДНК с одиночными синтетическими аналогами повреждений nAnt (ненуклеотидная вставка с объемным антраценилкарбамоильным заместителем) и Far-dC (цитозин с введенной по экзоциклическому азоту фтор-хлоразидопиридилльной группировкой) первое повреждение репарируется белками системы NER,

в то время как второе является нерепарируемым [104].

ДНК, содержащие кластерные повреждения, в состав которых входят объемные аддукты, характеризуются, как правило, повышенным сродством к ним фактора ХРС. Однако репарация таких повреждений системой NER во многих случаях частично или полностью подавлена [10, 11, 63]. Например, в работе [86] с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени (*real time monitoring surface plasmon resonance technique*) изучено взаимодействие ХРС–RAD23В с ДНК, содержащими одиночные и составляющие кластерные повреждения аддукты, образованные активными метаболитами фторированного производного ацетиламинофлуорена и С8 гуанина. Эти аддукты, образующие кластерное повреждение, были расположены в одной цепи ДНК и их разделяло два или менее нуклеотидных звеньев (*рис. 4А*). Показано, что фактор ХРС образовывал значительно более стабильные комплексы с ДНК, содержащими кластерные повреждения, по сравнению с ДНК, содержащими одиночные ацетиламинофлуореновые аддукты. При этом эксцизионная активность NER в отношении ДНК, несущих кластерные повреждения, была ниже, чем для ДНК с одиночными повреждениями (для некоторых ниже детектируемой). Предполагается, что подавление специфической эксцизии в данном случае вызвано нарушениями в сборке белковых комплексов, отвечающих за верификацию повреждения ДНК, происходящими при экстремально прочном связывании ХРС с поврежденным участком [86]. При значениях $K_D = 10^{-11}$ – 10^{-12} М фактор ХРС может конкурировать за связывание даже с «сенсором одноцепочечных ДНК» – белком RPA, который вместе с ХРА входит в состав прединцизионного и инцизионного комплексов NER [3, 105–107].

Препятствия для работы системы NER создают также расположенные в двух цепях ДНК синтетические аналоги повреждений, в которых объемные фрагменты соединены с остовом ДНК протяженными гибкими линкерами (*рис. 4Б*) [102]. Такие линкеры позволяют объемным ароматическим группировкам аддуктов контактировать с прилегающими к повреждению участками ДНК, что может индуцировать появление в структуре ДНК дополнительных участков дестабилизации, которые стимулируют связывание ХРС. Предполагается, что появление участка с ослабленными Уотсон–Криковскими взаимодействиями вблизи места введения повреждения в ДНК может как подавлять, так и повышать эффективность процесса NER, в зависимости от его расположения. Наличие такого участка дестабили-

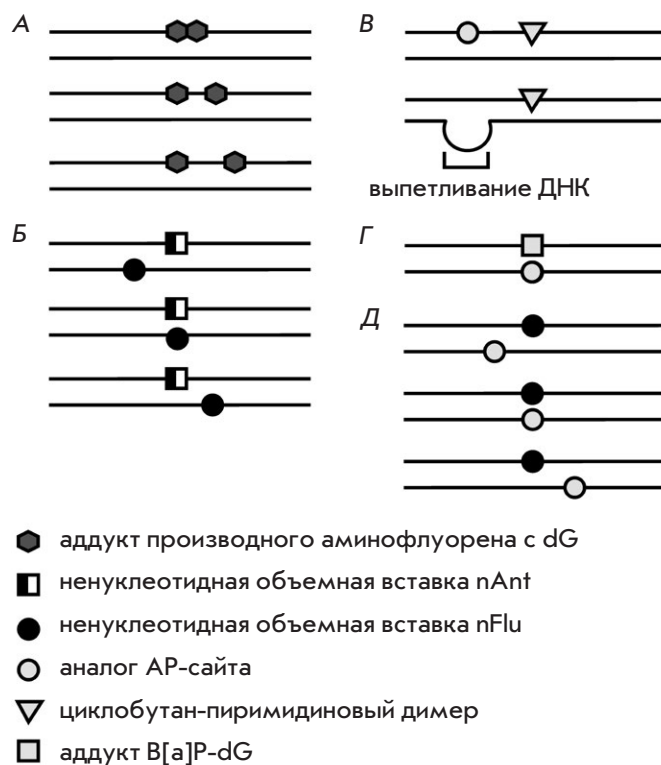


Рис. 4. Схематическое изображение модельных ДНК, содержащих кластерные повреждения. А – участки кольцевых плазмидных ДНК, содержащих моно- или диаддукты фторированного производного аминафлуорена, разделенные одним или двумя нуклеотидными звеньями. Б – ДНК, содержащие синтетические объемные повреждения в обеих цепях: ненуклеотидные вставки с объемным антраценилкарбамоильным (nAnt) или флуоресцеинкарбамоильным (nFlu) заместителем; длина модельного ДНК-дуплекса – 137 п.н., расстояние между повреждениями до 20 п.н. В – ДНК-дуплексы (~200 п.н.), содержащие CPD и аналог AP-сайта в одной цепи или CPD и выпетливание в комплементарной цепи. Г – ДНК-дуплекс длиной 135 п.н., содержащий аддукт бензо[а]пирендиоэпоксида с гуанином и аналог AP-сайта напротив него. Д – ДНК, содержащие объемное повреждение nFlu и аналог AP-сайта в противоположной цепи; длина модельного ДНК-дуплекса – 137 п.н., расстояние между повреждениями – до 6 п.н.

зации с 3'-стороны от повреждения может приводить к формированию комплекса ХРС с ДНК, непродуктивного для протекания следующих этапов NER: в этом случае встреча TFIIH с повреждением исключена [104, 108–110]. Участок дестабилизации ДНК, расположенный с 5'-стороны от повреждения, напротив, может стимулировать процесс NER. Например, показано, что введение аналога AP-сайта, сдвинутого относительно положения CPD

в направлении 5'-конца поврежденной цепи ДНК, стимулирует эксцизию CPD-содержащего фрагмента системой NER [111]. Наличие в структуре ДНК-дуплекса выпетливания с 5'-стороны от CPD также многократно повышает эффективность его эксцизии (модельные ДНК схематически изображены на *рис. 4В*). Наблюдаемые эффекты связаны также с особенностями механизма распознавания повреждения фактором TFIIH, а именно 5'-3'-направленностью его продвижения по ДНК от места первичного связывания и направления раскручивания цепей.

Особенный интерес представляет исследование механизма репарации кластерных повреждений, состоящих из объемных ДНК-аддуктов и окислительных повреждений азотистых оснований ДНК [10, 11]. Как упоминалось выше, дестабилизированный присутствием объемного повреждения участок ДНК более подвержен воздействию активных форм кислорода, что повышает вероятность образования кластерных повреждений. К кластерным повреждениям такого состава могут привлекаться белки систем эксцизионной репарации нуклеотидов и эксцизионной репарации оснований (BER).

Репарация кластерного повреждения, состоящего из объемного B[a]P-аддукта и аналога AP-сайта, расположенных в комплементарных цепях ДНК-дуплекса, проанализирована в исследовании (схема модельной ДНК приведена на *рис. 4Г*) [10]. Оценка эксцизионной активности системы NER по отношению к B[a]P-dG и способности AP-эндонуклеазы 1 к гидролизу AP-сайта показала, что процесс NER в таких кластерах подавлен, в то время как AP-сайты могут быть репарированы системой BER. Следовательно, система NER чувствительна к присутствию в непосредственной близости от B[a]P-dG окислительного повреждения типа AP-сайта [8, 10]. Дальнейшее детальное исследование взаимодействия этой модельной структуры с белками репарации показало, что присутствие ХРС стимулирует эндонуклеазную и подавляет 3'-5'-эксонуклеазную активность AP-эндонуклеазы 1, повышая тем самым эффективность процесса BER [63].

С применением ЯМР-спектроскопии, измерения термической стабильности ДНК-дуплексов и компьютерного моделирования [10] показано, что для ДНК, содержащей AP-сайт напротив аддукта B[a]P-dG, характерны сильные стэкинг-взаимодействия между ароматическими кольцами B[a]P и соседними азотистыми основаниями комплементарной цепи, что может мешать формированию комплекса ХРС с ДНК. В этом случае затруднено выворачивание соседних нуклеотидных звеньев, а также инсерция β -спильки домена VHD3 и выталкивание

повреждения из спирали ДНК. При этом исследуемая кластерная ДНК характеризовалась повышенным сродством к ней фактора ХРС [63].

Аддукт производного бенз[а]пирена также стал новился нерепарируемым системой NER при делеции комплементарного ему нуклеотидного звена dC. С применением ЯМР-спектроскопии и методов компьютерного моделирования [9, 112] показано, что в случае делеции звена dC происходило значительное усиление стэкинг-взаимодействий между ароматическим кольцом B[a]P и окружающими азотистыми основаниями, в результате чего продуктивный «открытый» комплекс фактора ХРС с ДНК не образовывался [112].

В работе [11] изучено влияние аналога AP-сайта на удаление ненуклеотидной вставки с объемным флуоресцеинкарбамоильным заместителем (nFlu) системой NER при его расположении в различных положениях комплементарной цепи ДНК (*рис. 4Д*). Фактор ХРС образовывал непродуктивные комплексы с ДНК, в которых объемное повреждение nFlu и аналог AP-сайта были разделены менее чем 6 п.н. Выявлена также обратная корреляция между относительной эффективностью эксцизии nFlu-содержащих фрагментов из этих модельных ДНК и сродством ХРС к модельным ДНК. Расположение AP-сайта и nFlu в противоположных позициях ДНК-дуплекса, как и аналогичная локализация других повреждений (B[a]P-dG/AP-сайт, nAnt/nFlu), полностью подавляло эксцизию объемного повреждения белками NER (*рис. 4Б, Г*) [10, 102].

Характер изменений в структуре ДНК, с которыми связана подавленная эксцизия nFlu при наличии в комплементарной цепи аналога AP-сайта (*рис. 4Д*), был выявлен с применением метода молекулярной динамики. Согласно результатам моделирования молекулярно-динамических траекторий, в ДНК с nFlu и аналогом AP-сайта, находящимися друг напротив друга в комплементарных цепях, двойная спираль в месте повреждения находится в «сжатом» состоянии, прилегающие к повреждению основания основную часть времени находятся в эффективном стэкинг-взаимодействии между собой, а оба поврежденных звена вытолкнуты из цепей. При этом остаток флуоресцеина (Flu) располагается в малой бороздке с ориентацией в сторону 5'-конца поврежденной цепи, что может стерически препятствовать связыванию ХРС с дестабилизированным участком ДНК, расположенным с 5'-стороны от повреждения. В этом случае более доступным является участок непродуктивного связывания ХРС, расположенный с 3'-стороны от nFlu [11], что может приводить к образованию непродуктивного для NER комплекса ХРС-ДНК. Небольшую часть времени Flu может

быть ориентирован в сторону 3'-конца поврежденной цепи, взаимодействуя при этом с аналогом AP-сайта, расположенным с противоположной стороны спирали ДНК.

Таким образом, при появлении в комплементарной цепи напротив объемного ДНК-аддукта дополнительного необъемного повреждения азотистого основания (например, AP-сайта) или делеции может возникнуть «эффект отсутствующего основания» [9–11, 112] – локальная стабилизация поврежденного участка, которая препятствует связыванию фактора ХРС, исключая тем самым возможность протекания последующих этапов NER.

Стадия верификации также может влиять на эффективность удаления повреждения системой NER. Как недавно показано, сродство XPD к модельным ДНК, содержащим одиночные объемные повреждения с близким сродством к ХРС ($K_D = 1.5-3$ нМ), зависит от структуры объемных повреждений и может существенно различаться, коррелируя при этом с эффективностью удаления повреждений *in vitro* [104, 113]. Количество работ, посвященных верификации повреждений ДНК, расположенных в составе кластеров, пока невелико. Так показано [106], что введение AP-сайта в ДНК-субстрат либо в сканируемую геликазой XPD цепь, либо в комплементарную («невидимую» для XPD) не оказывает заметного влияния на геликазную и АТР-азную активность рекомбинантного Core7. Таким образом, маловероятно, что в случае ДНК, содержащих кластерные повреждения такого состава, стадия верификации будет способствовать значительным различиям в эффективности процесса NER.

Следует отметить, что препятствиями для успешной репарации объемного аддукта, находящегося в составе кластерного повреждения, могут быть и стерические затруднения при эксцизии поврежденного фрагмента ДНК эндонуклеазами XPF и XPG, а также отсутствие неповрежденной ДНК-матрицы комплементарной цепи. Однако это тема недостаточно освещена и требует дальнейшего исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате различий в химических свойствах азотистых оснований, нуклеотидной последовательности ДНК, а также типа и интенсивности воздействия генотоксических факторов повреждения распределяются по ДНК клетки неравномерно, концентрируясь в определенных участках генома. Кластерные повреждения часто оказываются трудно репарируемыми, что приводит к их накоплению в ДНК, особенно в случае сниженного репаративного статуса клетки. С другой стороны, затрудненная репарация индуцированных повреждений должна способствовать их цитотоксическому действию на раковые клетки. С использованием модельных ДНК показано, что в процессе общегеномной NER удаление объемного повреждения может быть подавлено на этапе его первичного узнавания из-за структурных особенностей участка ДНК, содержащего кластер. Для кластерных повреждений ДНК, образованных объемным аддуктом и расположенным напротив него AP-сайтом, показано, что AP-сайт процессируется ферментами системы BER достаточно эффективно, в то время как эксцизия объемного повреждения системой NER из таких структур затруднена. Предполагается, что поочередное удаление повреждений из кластеров может иметь адаптивное значение, поскольку позволяет избежать одновременной инициации процессов NER и BER. Понимание механизмов удаления кластерных повреждений ДНК, содержащих объемные аддукты, должно помочь созданию рациональных и эффективных подходов к сохранению индуцированных терапией повреждений ДНК раковых клеток, которые часто отличаются повышенной активностью систем репарации ДНК. ●

Работа поддержана РФФ (грант № 19-74-10056) и в рамках государственного задания ИХВФМ СО РАН № 121031300041-4 (глава «ВИДЫ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК, УДАЛЯЕМЫХ СИСТЕМОЙ NER, И ПРИЧИНЫ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Foustieri M., Mullenders L.H.F. // Cell Res. 2008. V. 18. № 1. P. 73–84.
2. Vermeulen W., Foustieri M. // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2013. V. 5. № 8. P. 1–16.
3. Schärer O.D. // Cold Spring Harb. Perspectives Biol. 2013. V. 5. № 10. P. 1–19.
4. Petrusseva I.O., Evdokimov A.N., Lavrik O.I. // Acta Naturae. 2014. V. 6. № 20. P. 23–34.
5. Sage E., Harrison L. // Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen. 2011. V. 711. № 1–2. P. 123–133.
6. Eccles L.J., O'Neill P., Lomax M.E. // Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen. 2011. V. 711. № 1–2. P. 134–141.
7. Sage E., Shikazono N. // Free Radic. Biol. Med. 2017. V. 107. P. 125–135.
8. Mu H., Geacintov N.E., Broyde S., Yeo J.E., Schärer O.D. // DNA Repair (Amst.). 2018. V. 71. P. 33–42.
9. Hess M.T., Gunz D., Luneva N., Geacintov N.E., Naegeli H. // Mol. Cell. Biol. 1997. V. 17. № 12. P. 7069–7076.
10. Liu Z., Ding S., Kropachev K., Lei J., Amin S., Broyde S. // PLoS One. 2015. V. 10. № 9. e0137124.
11. Naumenko N., Petrusseva I., Lomzov A., Lavrik O. // DNA

- Repair (Amst.). 2021. V. 108. 103225.
12. Schärer O.D. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003. V. 42. P. 2946–2974.
 13. Lloyd D.R., Hanawalt P.C. // *Cancer Res.* 2002. V. 62. № 18. P. 5288–5294.
 14. Duan M., Ulibarri J., Liu K.J., Mao P. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 23. P. 1–13.
 15. Rastogi R.P., Kumar A., Tyagi M.B., Sinha R.P. // *J. Nucl. Acids.* 2010. 592980.
 16. Brooks P.J., Wise D.S., Berry D.A., Kosmoski J.V., Smerdon M.J., Somers R.L., Mackie H., Spoonde A.Y., Ackerman E.J., Coleman K., et al. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 29. P. 22355–22362.
 17. Okahashi Y., Iwamoto T., Suzuki N., Shibutani S., Sugiura S., Itoh S., Nishiwaki T., Ueno S., Mori T. // *Nucl. Acids Res.* 2010. V. 38. № 12. e133.
 18. Pratt M.M., John K., Maclean A.B., Afework S., Phillips D.H., Poirier M.C. // *Int. J. Environ. Res. Public Hlth.* 2011. V. 8. № 7. P. 2675–2691.
 19. Phillips D.H. // *Environ. Health Perspect.* 1996. V. 104. № 3. P. 453–458.
 20. Guo S., Leng J., Tan Y., Price N.E., Wang Y. // *Chem. Res. Toxicol.* 2019. V. 32. № 4. P. 708–717.
 21. Baker D.J., Wuenschell G., Xia L., Termini J., Bates S.E., Riggs A.D., O'Connor T.R. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 31. P. 22592–22604.
 22. Grollman A.P., Shibutani S., Moriya M., Miller F., Wu L., Moll U., Suzuki N., Fernandes A., Rosenquist T., Medverec Z., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 29. P. 12129–12134.
 23. Sidorenko V.S., Yeo J.E., Bonala R.R., Johnson F., Schärer O.D., Grollman A.P. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 6. P. 2494–2505.
 24. Geacintov N.E., Broyde S. // *Chem. Res. Toxicol.* 2017. V. 30. P. 1517–1548.
 25. Stornetta A., Zimmermann M., Cimino G.D., Henderson P.T., Sturla S.J. // *Chem. Res. Toxicol.* 2017. V. 30. № 1. P. 388–409.
 26. Gong J., Vaidyanathan V.G., Yu X., Kensler T.W., Peterson L.A., Sturla S.J. // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. № 7. P. 2101–2111.
 27. Boamah E.K., Brekman A., Tomasz M., Myeku N., Figueiredo-Pereira M., Hunter S., Meyer J., Bhosle R.C., Bargonetti J. // *Chem. Res. Toxicol.* 2010. V. 23. № 7. P. 1151–1162.
 28. Yang F., Teves S.S., Kemp C.J., Henikoff S., Lecture N., Gasser H., Yang F., Teves S.S., Kemp C.J., Henikoff S. // *Biochim. Biophys. Acta – Rev. Cancer.* 2014. V. 1845. № 1. P. 84–89.
 29. Hartmann A., Agurell E., Beevers C., Brendler-Schwaab S., Burlinson B., Clay P., Collins A., Smith A., Speit G., Thybaud V., et al. // *Mutagenesis.* 2003. V. 18. № 1. P. 45–51.
 30. Buss P., Caviezel M., Lutz W.K. // *Carcinogenesis.* 1990. V. 11. № 12. P. 2133–2135.
 31. Phillips D.H., Farmer B.P., Beland F.A., Nath R.G., Poirier M.C., Reddy M.V., Turteltaub K.W. // *Env. Mol. Mutagen.* 2000. V. 35. № 3. P. 222–233.
 32. Singh R., Gaskell M., Le Pla R.C., Kaur B., Azim-Araghi A., Roach J., Koukouves G., Souliotis V.L., Kyrtopoulos S.A., Farmer P.B. // *Chem. Res. Toxicol.* 2006. V. 19. № 6. P. 868–878.
 33. Poirier M.C. // *Environ. Health Perspect.* 1997. V. 105. № 4. P. 907–912.
 34. Lippard S.J., Merkel C.M., Lippard S.J., Ushay H.M., Poirier M.C., Poirier M.C. // *Biochemistry.* 1983. V. 22. № 22. P. 5165–5168.
 35. Aloisi C.M.N., Nilforoushan A., Ziegler N., Sturla S.J. // *J. Am. Chem. Soc.* 2020. V. 142. № 15. P. 6962–6969.
 36. Yang Z., Faustino P.J., Andrews P.A., Monastra R., Rasmussen A.A., Ellison C.D., Cullen K.J. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2000. V. 46. № 4. P. 255–262.
 37. Otteneeder M., Lutz W.K. // *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 1999. V. 424. № 1–2. P. 237–247.
 38. Farmer P.B., Brown K., Tompkins E., Emms V.L., Jones D.J.L., Singh R., Phillips D.H. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005. V. 207. № 2. P. 293–301.
 39. Farmer P.B., Singh R. // *Mutat. Res.* 2008. V. 659. № 1–2. P. 68–76.
 40. Brown K. // *Methods Mol. Biol.* 2012. V. 817. P. 207–230.
 41. Tretyakova N., Goggin M., Sangaraju D., Janis G. // *Chem. Res. Toxicol.* 2012. V. 25. № 10. P. 2007–2035.
 42. Collins A., Gedik C., Vaughan N., Wood S., White A., Dubois J., Rees J.F., Loft S., Møller P., Poulsen H., et al. // *Free Radic. Biol. Med.* 2003. V. 34. № 8. P. 1089–1099.
 43. Rogozin I.B., Pavlov Y.I. // *Mutat. Res. – Rev. Mutat. Res.* 2003. V. 544. № 1. P. 65–85.
 44. Sturla S.J. // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2007. V. 11. № 3. P. 293–299.
 45. Gillet L.C., Schärer O.D. // *Chem. Rev.* 2006. V. 106. № 2. P. 253–276.
 46. Hargis J., Schaefer H., Houk K., Wheeler S. // *J. Phys. Chem. A.* 2010. V. 8. № 24. P. 4017–4018.
 47. Eaton D.L., Gallagher E.P. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1994. V. 34. № 1. P. 135–172.
 48. Bedard L.L., Massey T.E. // *Cancer Lett.* 2006. V. 241. № 2. P. 174–183.
 49. Romano L., Vooradi V. // *Biochemistry.* 2010. V. 38. № 3. P. 319–335.
 50. Mu H., Kropachev K., Wang L., Zhang L., Kolbanovskiy A., Kolbanovskiy M., Geacintov N.E., Broyde S. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 19. P. 9675–9690.
 51. Hemminki K., Thilly W.G. // *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 1988. V. 202. № 1. P. 133–138.
 52. Mohamad O., Sishc B.J., Saha J., Pompos A., Rahimi A., Story M.D., Davis A.J., Kim D.W.N. // *Cancers (Basel).* 2017. V. 9. № 6. P. 1–30.
 53. Regulus P., Duroux B., Bayle P.A., Favier A., Cadet J., Ravanat J.L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 35. P. 14032–14037.
 54. Iida T. // *Neuro. Oncol.* 2001. V. 3. № 2. P. 73–81.
 55. Goodman M., Bostick R.M., Dash C., Terry P., Flanders W.D., Mandel J. // *Cancer Causes Control.* 2008. V. 19. № 10. P. 1051–1064.
 56. Grivennikov S.I., Greten F.R., Karin M. // *Cell.* 2010. V. 140. № 6. P. 883–899.
 57. Ward J.F. // *Radiat. Res.* 1994. V. 138. № 1 (suppl). P. S85–S88.
 58. Goodhead D.T. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1994. V. 65. № 1. P. 7–17.
 59. Watanabe R., Rahmanian S., Nikjoo H. // *Radiat. Res.* 2015. V. 183. № 5. P. 525–540.
 60. Sutherland B.M., Bennett P.V., Sidorkina O., Laval J. // *Mutagenesis.* 2000. V. 97. № 1. P. 247–261.
 61. Gulston M., de Lara C., Jenner T., Davis E., O'Neill P. // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. № 4. P. 1602–1609.
 62. Gates K.S. // *Chem. Res. Toxicol.* 2009. V. 22. № 11. P. 1747–1760.
 63. Starostenko L.V., Maltseva E.A., Lebedeva N.A., Pestryakov P.E., Lavrik O.I., Rechkunova N.I. // *Biochem. (Moscow).* 2016. V. 81. № 3. P. 233–241.

64. Greenberg M.M. // *Acc. Chem. Res.* 2014. V. 47. № 2. P. 646–655.
65. Clauson C., Schärer O.D., Niedernhofer L. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013. V. 5. № 10. a012732.
66. Chen J., Stubbe J.A. // *Nat. Rev. Cancer.* 2005. V. 5. № 2. P. 102–112.
67. Nickoloff J.A., Sharma N., Taylor L. // *Genes.* 2020. V. 11. № 1. P. 99.
68. Smith B.L., Bauer G.B., Povirk L.F. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. № 48. P. 30587–30594.
69. Takata H., Hanafusa T., Mori T., Shimura M., Iida Y., Ishikawa K., Yoshikawa K., Yoshikawa Y., Maeshima K. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 10. e75622.
70. Ljungman M., Hanawalt P.C. // *Mol. Carcinog.* 1992. V. 5. № 4. P. 264–269.
71. Falk M., Lukášová E., Kozubek S. // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* 2008. V. 1783. № 12. P. 2398–2414.
72. Gunz D., Hess M.T., Naegeli H., For E., Probing A.T. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 41. P. 25089–25098.
73. Dong Y., Chen Y., Zhou L., Shao Y., Fu X., Zheng Y. // *Int. J. Radiat. Biol.* 2017. V. 93. № 11. P. 1274–1282.
74. Zheng Y., Sanche L. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 15. 3749.
75. Cheung-Ong K., Giaever G., Nislow C. // *Chem. Biol.* 2013. V. 20. № 5. P. 648–659.
76. Fu D., Calvo J.A., Samson L.D. // *Nat. Rev. Cancer.* 2012. V. 12. № 2. P. 104–120.
77. Min J., Pavletich N.P. // *Nature.* 2007. V. 449. P. 570–575.
78. Jain V., Hilton B., Lin B., Patnaik S., Liang F., Darian E., Zou Y., MacKerell A.D., Cho B.P. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 2. P. 869–880.
79. Cheon N.Y., Kim H.S., Yeo J.E., Schärer O.D., Lee J.Y. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 16. P. 8337–8347.
80. Krasikova Y.S., Rechkunova N.I., Maltseva E.A., Pestryakov P.E., Petrusseva I.O., Sugawara K., Chen X., Min J.H., Lavrik O.I. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. № 15. P. 10936–10947.
81. Maillard O., Solyom S., Naegeli H. // *PLoS Biol.* 2007. V. 5. № 4. e79.
82. Camenisch U., Träutlein D., Clement F.C., Fei J., Leitenstorfer A., Ferrando-May E., Naegeli H. // *EMBO J.* 2009. V. 28. № 16. P. 2387–2399.
83. Bunick C.G., Miller M.R., Fuller B.E., Fanning E., Chazin W.J. // *Biochemistry.* 2006. V. 45. P. 14965–14979.
84. Paul D., Mu H., Zhao H., Ouerfelli O., Jeffrey P.D., Broyde S., Min J.H. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 12. P. 6015–6028.
85. Chen X., Velmurugu Y., Zheng G., Park B., Shim Y., Kim Y., Liu L., van Houten B., He C., Ansari A., et al. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. 5849.
86. Hilton B., Gopal S., Xu L., Mazumder S., Musich P.R., Cho B.P., Zou Y.Z. // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 6. P. 1–21.
87. Luijsterburg M.S., Bornstaedt G. Von, Gourdin A.M., Politi A.Z., Moné M.J., Warmerdam D.O., Goedhart J., Vermeulen W., Van Driel R., Höfer T. // *J. Cell Biol.* 2010. V. 189. № 3. P. 445–463.
88. Yeo J.E., Khoo A., Fagbemi A.F., Schärer O.D. // *Chem. Res. Toxicol.* 2012. V. 25. № 11. P. 2462–2468.
89. Buterin T., Meyer C., Giese B., Naegeli H. // *Chem. Biol.* 2005. V. 12. № 8. P. 913–922.
90. Nishi R., Sakai W., Tone D., Hanaoka F., Sugawara K. // *Mol. Cell Biol.* 2013. V. 41. № 14. P. 5664–5674.
91. Dantas T.J., Wang Y., Lalor P., Dockery P., Morrison C.G. // *J. Cell Biol.* 2011. V. 193. № 2. P. 307–318.
92. Bergink S., Toussaint W., Luijsterburg M.S., Dinant C., Alekseev S., Hoeijmakers J.H.J., Dantuma N.P., Houtsmuller A.B., Vermeulen W. // *J. Cell Biol.* 2012. V. 196. № 6. P. 681–688.
93. Volker M., Moné M.J., Karmakar P., Van Hoffen A., Schul W., Vermeulen W., Hoeijmakers J.H.J., van Driel R., van Zeeland A.A., Mullenders L.H.F. // *Mol. Cell.* 2001. V. 8. № 1. P. 213–224.
94. Araújo S.J., Nigg E.A., Wood R.D. // *Mol. Cell Biol.* 2001. V. 21. № 7. P. 2281–2291.
95. Greber B.J., Hoang T., Nguyen D., Fang J., Afonine P.V., Paul D., Nogales E., Division I.B., National L.B., Biology C. // *Nature.* 2017. V. 549. № 7672. P. 414–417.
96. Yokoi M., Masutani C., Maekawa T., Sugawara K., Ohkuma Y., Hanaoka F. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 13. P. 9870–9875.
97. Greber B.J., Toso D.B., Fang J., Nogales E. // *Elife.* 2019. V. 8. e44771.
98. Houten B., van Kuper J., Kisker C. // *DNA Repair (Amst.).* 2016. V. 44. P. 136–142.
99. Oksenysh V., Coin F. // *Cell Cycle.* 2010. V. 9. № 1. P. 90–96.
100. Egly J.M., Coin F. // *DNA Repair (Amst.).* 2011. V. 10. № 7. P. 714–721.
101. Kuper J., Braun C., Elias A., Michels G., Sauer F., Schmitt D.R., Poterszman A., Egly J.M., Kisker C. // *PLoS Biol.* 2014. V. 12. № 9. e1001954.
102. Lukyanchikova N.V., Petrusseva I.O., Evdokimov A.N., Koroleva L.S., Lavrik O.I. // *Mol. Biol.* 2018. V. 52. № 2. P. 237–246.
103. Lee Y.C., Cai Y., Mu H., Broyde S., Amin S., Chen X., Min J.H., Geacintov N.E. // *DNA Repair (Amst.).* 2014. V. 19. P. 55–63.
104. Evdokimov A.N., Tsidulko A.Y., Popov A.V., Vorobiev Y.N., Lomzov A.A., Koroleva L.S., Silnikov V.N., Petrusseva I.O., Lavrik O.I. // *DNA Repair (Amst.).* 2018. V. 61. P. 86–98.
105. Krasikova Y.S., Rechkunova N.I., Maltseva N.I., Petrusseva I.O., Lavrik O.I. // *Nucl. Acids Res.* 2010. V. 38. № 22. P. 8083–8094.
106. Li C.L., Golebiowski F.M., Onishi Y., Samara N.L., Sugawara K., Yang W. // *Mol. Cell.* 2015. V. 59. № 6. P. 1025–1034.
107. Martijn J.A., Hoeijmakers J.H.J., Vermeulen W. // *Mol. Cell.* 2015. V. 59. № 6. P. 885–886.
108. Sugawara K., Shimizu Y., Iwai S., Hanaoka F. // *DNA Repair (Amst.).* 2002. V. 1. № 1. P. 95–107.
109. Sugawara K., Akagi J., Nishi R., Iwai S., Hanaoka F. // *Mol. Cell.* 2009. V. 36. № 4. P. 642–653.
110. Nemzow L., Lubin A., Zhang L., Gong F. // *DNA Repair (Amst.).* 2015. V. 36. P. 19–27.
111. Kusakabe M., Onishi Y., Tada H., Kurihara F., Kusao K., Furukawa M., Iwai S., Yokoi M., Sakai W., Sugawara K. // *Genes Environ.* 2019. V. 41. P. 1–6.
112. Reeves D.A., Mu H., Kropachev K., Cai Y., Ding S., Kolbanovskiy A., Kolbanovskiy M., Chen Y., Krzeminski J., Amin S., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. № 20. P. 8752–8764.
113. Petrusseva I., Naumenko N., Kuper J., Anarbaev R., Kappenberger J., Kisker C., Lavrik O. // *Front. Biosci.* 2021. V. 9. 617160.