

УДК: 577.24

РЕПАРАЦИЯ ОБЪЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК – ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

© 2013 г. Л. В. Скосарева^{1,2}, Н. А. Лебедева¹, О. И. Лаврик^{1,2,3}, Н. И. Речкунова^{1,2*}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090

³Алтайский государственный университет, Барнаул, 656049

Поступила в редакцию 20.03.2013 г.

Принята к печати 22.04.2013 г.

Геномная ДНК повреждается под действием различных факторов, оказывающих негативное влияние на организм человека, таких как повышенный уровень загрязнения окружающей среды, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, токсические вещества. Загрязнение воздуха продуктами неполного сгорания углеводородного топлива, а также отходы различных производств считаются основными источниками полициклических ароматических углеводородов – соединений, продукты метаболизма которых способны повреждать ДНК, образуя с ней объемные аддукты, что может привести к возникновению мутаций и некоторых форм рака. Эксцизионная репарация нуклеотидов – основной путь исправления таких повреждений в клетках эукариот. Эффективность вырезания поврежденных участков ДНК зависит от многих факторов, в том числе от структуры объемного заместителя и степени вносимой им дестабилизации в двойную спираль ДНК. Наибольшую опасность для клетки представляют кластерные повреждения ДНК, для исправления которых необходима кооперация различных систем репарации ДНК. В обзоре рассмотрены особенности механизмов восстановления структуры ДНК с объемными повреждениями, как одиночными, так и в составе кластеров, на примере природного канцерогена бенз[а]пирена.

Ключевые слова: объемные повреждения ДНК, бенз[а]пирен, эксцизионная репарация нуклеотидов.

REPAIR OF BULKY DNA DAMAGES – DERIVATIVES OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS by L. V. Skosareva^{1,2}, N. A. Lebedeva¹, O. I. Lavrik^{1,2,3}, N. I. Rechkunova^{1,2*} (¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia; *e-mail: nadyarec@niboch.nsc.ru; ²Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia; ³Altay State University, Barnaul, 656049 Russia). The genomic DNA is damaged under the influence of different environmental factors such as air pollutions, ultraviolet and ionizing radiation, and toxic substances that negatively impact on the humans. Air pollution by the products of incomplete combustion of hydrocarbon fuels and waste of various industries are main sources of polycyclic aromatic hydrocarbons. Some metabolites of these compounds can damage DNA through forming the bulky DNA adducts that potentially leads to mutagenesis and cancer. A nucleotide excision repair is the major pathway for the reparation of such DNA lesions in eukaryotic cells. The excision efficiency of bulky adducts depends on many factors including the structure of a substituent and degree of DNA double helix distortion induced by a lesion. The most danger for cell is clustered DNA lesions. To repair them the cooperation of different DNA repair systems is required in the process of damage recognition and removal. This review is focused on the features of repair mechanisms for DNA with bulky lesions appeared in the result of action of natural carcinogen benzo[*a*]pyrene as an example.

Keywords: bulky DNA lesions, benzo[*a*]pyrene, nucleotide excision repair.

DOI: 10.7868/S0026898413050182

Принятые сокращения: ПАУ – полициклические ароматические углеводороды; ЭРН – эксцизионная репарация нуклеотидов; ЭРО – эксцизионная репарация оснований; AP-сайт – апуриновый/апиримидиновый сайт; APE1 (apurinic/apurimidinic endonuclease 1) – апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза 1; B[*a*]P – бенз[*a*]пирен; B[*c*]Ph – бенз[*c*]фенантрен; BPDE – бенз[*a*]пирен-7,8-диол-9,10-эпоксид; dRP (deoxyribosephosphate) – дезоксирибозофосфатная группа; ХРС–RAD23В – фактор пигментной ксеродермы комплементарной группы С в комплексе с гомологом дрожжевого белка Rad23.

* Эл. почта: nadyarec@niboch.nsc.ru

Неполное сгорание углеводородного топлива, а также отходы различных производственных предприятий представляют собой основные источники появления в окружающей среде полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) – обширного класса химических соединений, продукты метаболизма которых в организме человека способны образовывать ковалентные аддукты с ДНК. Наиболее известный представитель ПАУ – это **бенз[а]пирен (В[а]Р)**, обладающий ярко выраженными цитотоксическими, мутагенными и канцерогенными свойствами. После проникновения в организм млекопитающих через кожу, органы дыхания, пищеварительный тракт и трансплацентарным путем В[а]Р распределяется по печени, почкам и мочевому пузырю, при этом накапливаясь в этих органах. Печень содержит больше всего ферментов, которые необходимы для биоактивации В[а]Р. Кроме того, липофильная природа В[а]Р способствует его распространению и накоплению в жировой ткани.

ДНК-аддукты В[а]Р образуются чаще всего в организмах людей, работающих в угольной промышленности, и у жителей городов с неблагоприятной экологией. Кроме того, содержание В[а]Р в некоторых пищевых продуктах, особенно в копченостях, табачном дыме, выхлопных газах, асфальте превышает установленную норму. Воздействие В[а]Р приводит к развитию мутаций, изменению гормонального статуса, вызывает образование опухолей, иммунодепрессию, а также оказывает тератогенное влияние. Кроме генетических повреждений, вызванных действием В[а]Р, выявлено и нарушение белок-белковых путей передачи сигналов [1, 2].

Из-за генотоксичности и способности образовывать ковалентные аддукты с ДНК производные В[а]Р широко используются в качестве модели во многих исследованиях, направленных на изучение механизмов репарации объемных ДНК-аддуктов, возникающих под действием генотоксикантов и трудно поддающихся репарации.

СТРУКТУРА ОБЪЕМНЫХ АДДУКТОВ ДНК С ПРОИЗВОДНЫМИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Гетероциклические амины, афлатоксины, ПАУ и ряд других соединений при попадании в организм подвергаются метаболической активации с образованием электрофильных производных, которые способны вступать в химические реакции с гетероциклическими основаниями ДНК. Экзоциклическая аминогруппа и N7-положение гуанина особенно чувствительны к атаке электрофильного углерода таких соединений, и в этом случае преимущественно образуются С–N-связи. Независимо от позиции замещения, такой аддукт сильно нарушает комплементарное спаривание

оснований между цепями и, следовательно, структуру двойной спирали ДНК [3].

К ароматическим аминам относятся вещества, используемые в производстве анилиновых красителей и резиновой промышленности. Контакт с ними приводит к развитию рака мочевого пузыря у рабочих, занятых в указанных производствах. Один из представителей этой группы – 2-нафтиламин, химическая модификация которого происходит главным образом в печени.

ПАУ – большая группа соединений, состоящих из трех или более конденсированных ароматических колец, в которых определенные атомы углерода обобщены двумя или тремя кольцами. Кольца могут располагаться по прямой линии, под углом или в виде кластеров. Такие соединения встречаются в каменном угле, неочищенной нефти, бензине. Неполное сгорание органического материала, в том числе ископаемого топлива и табака, приводит к выделению таких веществ в окружающую среду [4]. К ПАУ относятся сотни соединений, которые привлекают к себе большое внимание, потому что многие из них канцерогенны, особенно те, которые содержат 4–6 ароматических колец. Известно, что эти соединения приобретают канцерогенную и мутагенную активность только после того, как произойдет их активация, сопряженная с окислением [5, 6].

ПАУ стали первыми соединениями, канцерогенность которых была доказана экспериментально в начале XX века, когда из каменноугольной смолы выделили бензантрацен, В[а]Р, 7,12-диметилбензантрацен и другие соединения, содержащие конденсированные ароматические кольца. Гораздо раньше появились документальные свидетельства о корреляции между контактами людей с определенными веществами и развитием рака. Так, еще в 1775 г. сообщалось о том, что у трубочистов Лондона особенно часто встречается рак мошонки, и было сделано предположение, что это связано с их работой – постоянным контактом с каменноугольной смолой и сажей. Почти в то же время обнаружили взаимосвязь между употреблением нюхательного табака и раком носа, курением и раком губ или легких.

ПАУ поступают в организм человека в процессе дыхания, с приемом пищи и при контакте с кожей, затем они подвергаются химическим изменениям (в печени, почках, легких) и выделяются в желчь, мочу или грудное молоко (в меньшей степени запасаются в жировой ткани). Липофильность ПАУ позволяет им довольно быстро проникать в клеточные мембраны [7]. Дальнейший метаболизм превращает их в растворимые в воде соединения для последующего удаления из организма. Однако в процессе метаболизма ПАУ могут превращаться в токсичные или канцерогенные продукты. В результате химической активи-

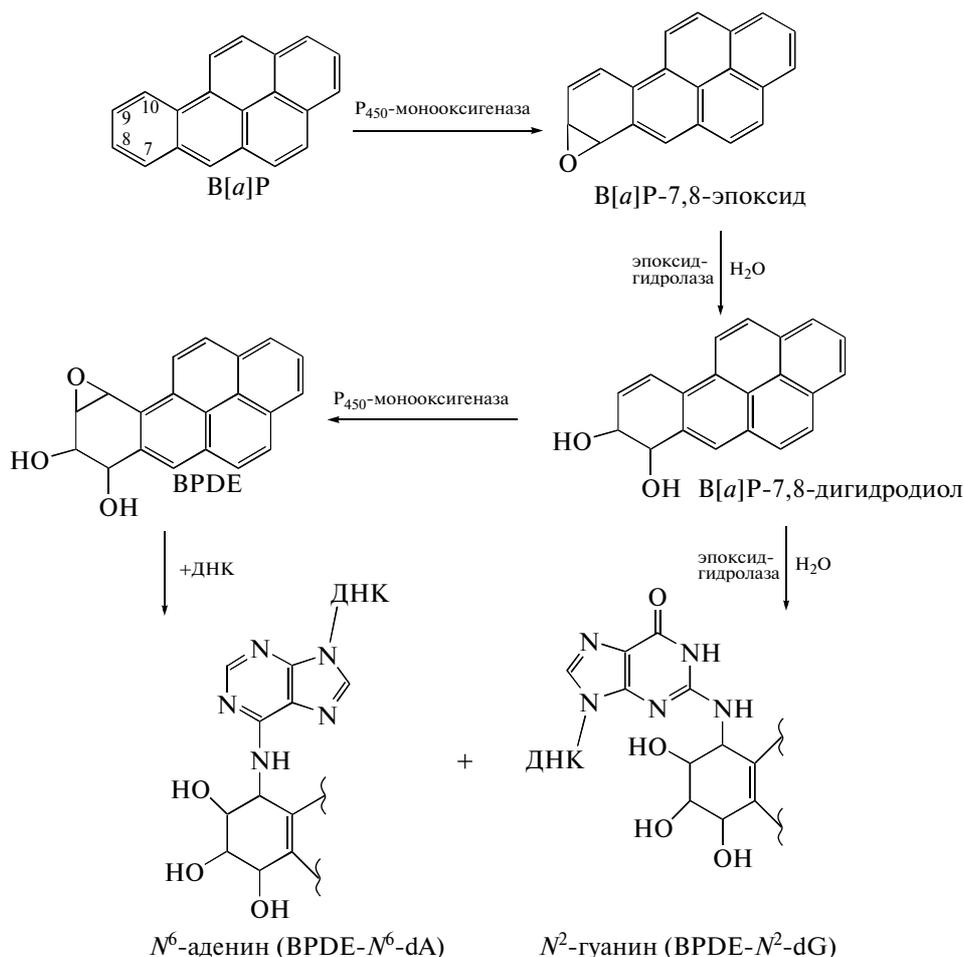


Рис. 1. Метаболическая активация В[а]Р с образованием аддуктов с аденином или гуанином (BPDE- N^6 -dA или BPDE- N^2 -dG соответственно).

вазии ПАУ монооксигеназами, работающими при участии различных изоформ цитохрома P₄₅₀, образуются эпоксыды, которые превращаются в диолы с помощью эпоксидгидролазы (рис. 1). Первичные или вторичные эпоксыды, обладая высокой реакционной способностью, ковалентно связываются с пуриновыми основаниями (особенно с гуанином) и формируют аддукты различной структуры [8]. В специальных исследованиях показано, что такие ДНК-аддукты блокируют репликативную активность ДНК-полимераз, способствуя повышению уровня повреждений ДНК [9].

Бенз[а]пирен – типичный пример объемного соединения, которое может участвовать в обмене веществ на разных стадиях, оказывая мутагенное действие на организм. Это химический канцероген окружающей среды. Молекула В[а]Р представляет собой пентациклическое соединение, способное к образованию хинонов. Один из наиболее активных метаболитов В[а]Р – 7,8-дигидродиол-9,10-эпоксид (BPDE) – взаимодействует

с ДНК с образованием аддукта с пуриновыми основаниями. Присоединение реакционно-способного производного В[а]Р происходит в основном по экзоциклической аминогруппе гуанина (BPDE- N^2 -dG) либо аденина (BPDE- N^6 -dA) (рис. 1).

Для производных В[а]Р характерна оптическая и конформационная изомерия. Идентичные по химической формуле, но зеркально отличающиеся по структуре молекулы называют энантиомерами (оптическими изомерами). В зависимости от направления вращения плоскости поляризации света различают (+)-изомеры (правовращающие) и (–)-изомеры (левовращающие). Канцерогенный метаболит В[а]Р – это стереоизомер 10R-(+)-anti-B[a]P- N^2 -dG [(+)-anti-BPDE]. Интересно, что зеркальный стереоизомер 10R-(–)-anti-B[a]P- N^2 -dG [(–)-anti-BPDE] не канцерогенен. Мутагенные активности этих двух энантиомеров также отличаются: (+)-anti-BPDE обладает наибольшим мутагенным потенциалом в клетках млекопитающих, а (–)-anti-BPDE – в бактериальных клетках [10]. Оба энантиомера взаи-

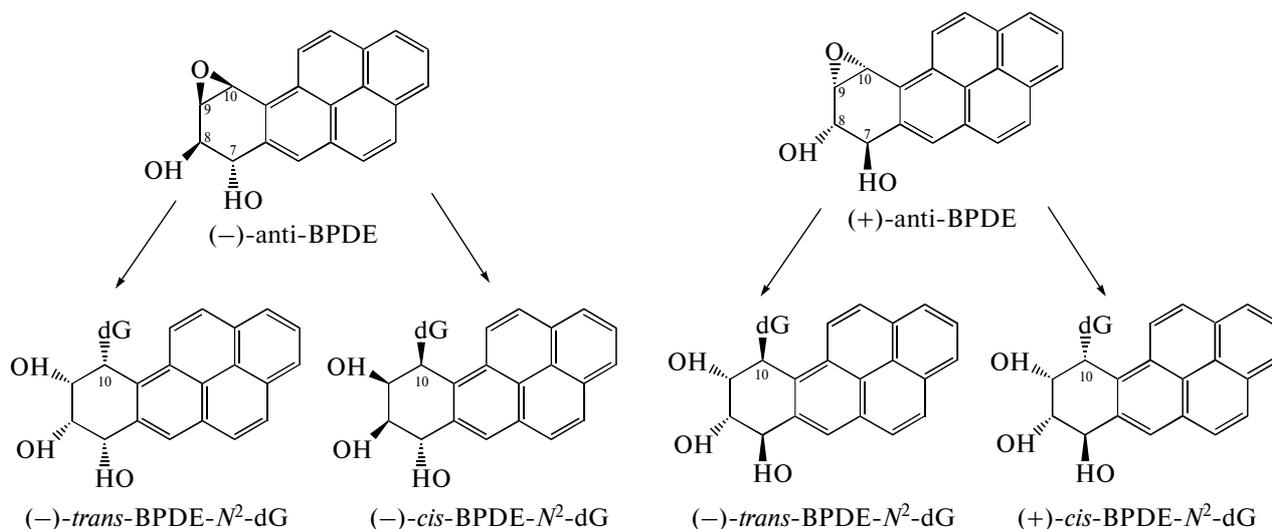


Рис. 2. Стереохимические формы аддуктов BPDE- N^2 -dG.

модействуют с ДНК преимущественно путем раскрытия эпоксидного кольца в C10-позиции BPDE и присоединяются в *cis*- или *trans*-конформации к экзоциклической аминогруппе остатка гуанина в ДНК. В *cis*-BPDE заместители находятся по одну сторону от плоскости кольца, в *trans*-BPDE — по разные стороны.

Стереохимические формы четырех возможных BPDE- N^2 -dG-аддуктов представлены на рисунке 2. Различия в стереохимии позволяют изучать молекулярные основы взаимосвязи между структурой ДНК-аддукта и его биологической активностью. В зависимости от стереоизомерии эти повреждения вызывают разные структурные изменения в ДНК. Известно, что искажения нативной спирали ДНК неблагоприятно влияют на клеточный метаболизм модифицированной ДНК и играют важную роль в инициирующих стадиях онкогенеза [11–13].

На начальных этапах изучения свойств производных B[a]P: (+)-anti- и (-)-anti-BPDE— сравнивали их взаимодействие с нативной ДНК [14]. Четыре возможных стереохимических аддукта с dG образовывались в разных пропорциях. В случае (+)-энантиомера 94% было (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG, 3% находились в (+)-*cis*-конфигурации и менее 1% относилось к dA-аддуктам. Распределение аддуктов, образованных (-)-anti-BPDE-изомером, было следующим: 58% относились к (-)-*trans*-BPDE- N^2 -dG, 5% к (-)-*cis*-BPDE- N^2 -dG и 15% к (-)-*trans*-BPDE- N^6 -dA. Аддукты (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG численно превосходили все другие в соотношении 20 : 1 и, таким образом, преобладали в пуле ДНК-повреждений производными B[a]P.

ЭКСЦИЗИОННАЯ РЕПАРАЦИЯ НУКЛЕОТИДОВ – ОСНОВНОЙ ПУТЬ УДАЛЕНИЯ ОБЪЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ – ПРОИЗВОДНЫХ ПАУ

В клетках эукариот существуют несколько молекулярных механизмов, направленных на исправление повреждений ДНК, возникающих под действием реакционно-способных метаболитов ПАУ. Основную роль в удалении такого типа повреждений играет эксцизионная репарация нуклеотидов (ЭРН) [15]. Существуют два пути ЭРН: транскрипционно-зависимая, которая восстанавливает транскрибируемую цепь ДНК транскрипционно активных генов, и общегеномная, обеспечивающая восстановление ДНК в нетранскрибируемых частях генома [16]. Различие путей ЭРН проявляется на этапе узнавания повреждения. Молекулярный механизм общегеномной репарации в целом изучен достаточно хорошо. Известно, что удаление повреждений происходит последовательно и включает следующие стадии: узнавание повреждения; расплетание ДНК вблизи повреждения (образование открытого комплекса); вырезание одноцепочечного участка, содержащего повреждение; застройка образовавшейся брешы и лигирование разрыва (рис. 3). Для прохождения этого пути требуется координированное действие множества белков репарации, большинство которых гетеросубъединичны и состоят из двух и более полипептидных цепей, так что в целом в процесс ЭРН вовлечены не менее 30 различных полипептидов [17]. Ключевым фактором, обеспечивающим первоначальное узнавание повреждений ДНК в процессе ЭРН, считается гетеродимер ХРС–RAD23В. Затем происходит формирование предрасщепляющего комплекса с участием ХРА, RPA и ТФИИИ. Белки ХРД и ХРВ –

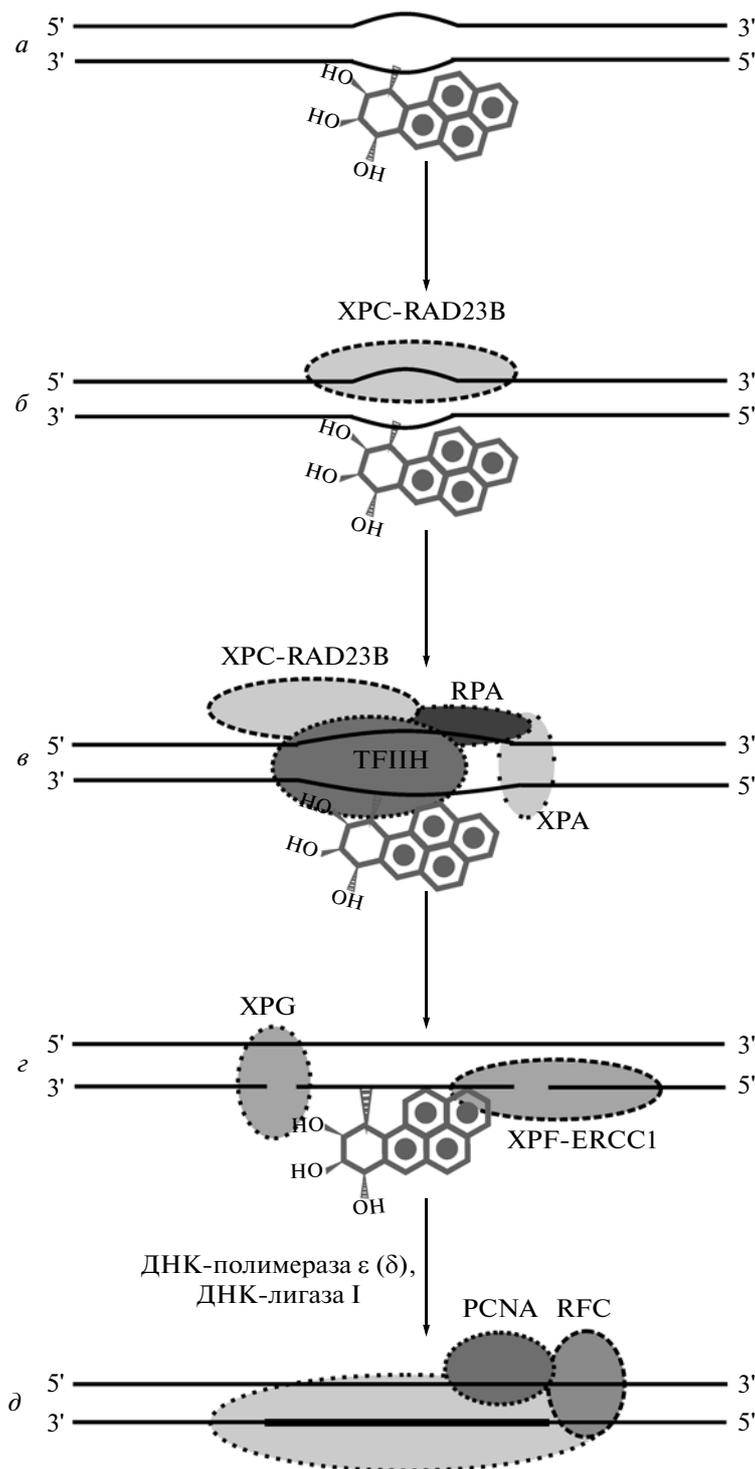


Рис. 3. Схема репарации BPDE- N^2 -dG по механизму эксцизионной репарации нуклеотидов: *a* – повреждение ДНК (дестабилизация дуплекса); *б* – узнавание повреждения комплексом XPC-RAD23B; *в* – образование предрасщепляющего комплекса; *г* – двойное расщепление и выщепление повреждения; *д* – репарационный синтез и лигирование ДНК.

это субъединицы фактора транскрипции TFIIH, которые представляют собой АТФ-зависимые геликазы, расплетающие ДНК в направлении соот-

ветственно $3' \rightarrow 5'$ и $5' \rightarrow 3'$. Две структурно-специфические эндонуклеазы, XPF-ERCC1 и XPG, осуществляют разрезание участка ДНК соответ-

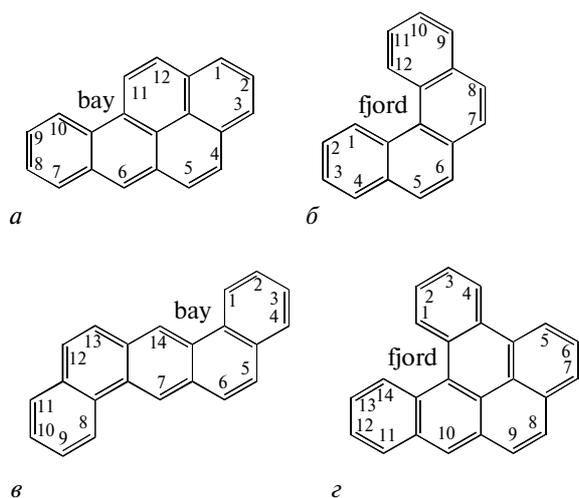


Рис. 4. Структуры различных полициклических ароматических углеводородов: бенз[а]пирена (а), бенз[с]фенантрена (б), дибенз[а,г]антрацена (в) и дибенз[а,л]пирена (г).

ственно с 5'- и 3'-стороны от повреждения. После этого ДНК-полимераза ϵ (δ) с участием факторов RFC и PCNA катализирует стадию синтеза ДНК. Несомненно, ЭРН — это уникальный процесс, в ходе которого исправляется большой спектр различных повреждений ДНК [18].

Структурные особенности объемных повреждений ДНК, удаляемых ЭРН, представляют большой интерес, поскольку относительная эффективность вырезания различных аддуктов отличается на несколько порядков. Наиболее детально исследована взаимосвязь «структура заместителя–эффективность ЭРН» на примере ДНК, содержащих BPDE-замещенные производные нуклеотидов с определенными оптическими и конформационными свойствами: (–)-*cis*-, (+)-*cis*-, (–)-*trans*- и (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG [19–22]. Показано, что ДНК, содержащие B[a]P в конфигурациях, вносящих незначительные изменения в структуру двойной спирали ДНК, отличались низкой эффективностью вырезания поврежденного участка системой ЭРН [20]. В частности, аддукты в конфигурации (–)-*cis* и (+)-*cis*, интеркалированные в двойную спираль ДНК, удалялись в 8–10 раз эффективнее, чем соответствующие (–)-*trans*- и (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG-аддукты, экспонированные в малую бороздку дуплекса. Эффективность вырезания (+)-*cis* и (–)-*cis*, но не (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG, уменьшалась в 10 раз в том случае, когда комплементарный dC был замещен на dA; и вырезания не происходило вообще, когда комплементарный дезоксирибонуклеотид отсутствовал [19, 22]. Таким образом, эффективность вырезания повреждения сильно зависит от стереохимии объемного аддукта, а также

наличия комплементарного нуклеотида в противоположной цепи. Более того, эффективность репарации B[a]P-аддуктов также зависит от последовательности ДНК вокруг поврежденного участка [23, 24]. В случае, когда аддукты BPDE- N^2 -dG не удаляются, они оказывают сильное мутагенное действие [25].

Недавно показано, что белки ЭРН узнают не само повреждение, а изменения, вносимые им в структуру двойной спирали ДНК [26, 27]. Авторы одной из работ [26] исследовали серию специфично модифицированных олигонуклеотидов, содержащих аддукты ПАУ с определенными особенностями в расположении бензольных колец. Активированные метаболиты ПАУ разделяют на две группы: “bay”- и “fjord”-диолепксиды — в зависимости от расположения бензольных колец относительно эпоксидного звена. Известно, что эти группы соединений значительно отличаются по эффективности репарации их ДНК-аддуктов системой ЭРН [3, 20, 26]. В структуре B[a]P бензольные кольца образуют небольшое углубление, “bay” (рис. 4а), и ковалентные аддукты, образованные B[a]P (BPDE), успешно удаляются ферментами ЭРН *in vitro*. В свою очередь, аддукт, имеющий в своей структуре более закрытое углубление, “fjord”, — бенз[а]фенантрен (BPhDE) (рис. 4б) — более устойчив к репарации [26]. Таким образом, аддукты ПАУ с “fjord”-участком, как правило, не удаляются системой ЭРН, в то время как аддукты с “bay”-участком легче обнаруживаются и удаляются [20, 26, 28]. Возможно, причина различий заключается в том, что ароматические группы “fjord”-участка легче “укладываются” в дуплексе ДНК вследствие более гибкой и изогнутой структуры [29], при этом значительных искажений в структуре двойной спирали не происходит и, как следствие, комплекс ЭРН не узнает аддукты ПАУ с “fjord”-участком [3, 20]. Наоборот, введение заместителя с более плоским и жестким “bay”-участком приводит к большему напряжению в спирали ДНК, и аддукты лучше узнаются белками репарации [26].

Другие исследователи сравнивали эффективность ЭРН в отношении аналогичных аддуктов с двумя похожими по структуре соединениями: дибенз[а,г]антраценом (DBADE) и дибенз[а,л]пиреном (DBPDE) (рис. 4в, г) [30]. В структуре DBADE (рис. 4в), как и у BPDE, имеется небольшое углубление, что отличает их от DBPDE (рис. 4г), содержащего “fjord”-участок (как у BPhDE). Если бы эффективность ЭРН зависела от наличия в структуре “bay”- или “fjord”-участка, то можно было бы разделить объемные повреждения только по этому признаку. Но в конечном результате у одинаковых по структуре соединений измеряемые показатели отличались. Авторы утверждают, что эффективность ЭРН изучаемых соединений (BPDE и DBADE, BPhDE и DBPDE) не мо-

жет быть связана только с данным структурным признаком, она зависит от многих сопутствующих факторов. Например, различия в эффективности репарации могут быть связаны с предпочтительным образованием ДНК-аддуктов исследуемых соединений с разными пуриновыми основаниями – гуанином или аденином. Производные В[а]Р образуют аддукты в основном в N²-позиции dG, в то время как производные DBPDE и BPhDE предпочтительнее взаимодействуют с N⁶-позицией dA. Образование аддуктов производных DBADE с dG происходит, как и в случае В[а]Р, по N²-позиции, хотя преимущественно модификация происходит по dA [28].

Несмотря на то, что ЭРН – универсальный защитный механизм, некоторые объемные повреждения оказываются устойчивыми к нему и причины этого до конца не выяснены. В одном из исследований механизм ЭРН изучали в клеточных экстрактах HeLa на двух топологически разных повреждениях ДНК [31]. Одно было производным В[а]Р (10R-(+)-*cis*-anti-BPDE-N²-dG), другое – производным пищевого мутагена 2-амино-1-метил-6-фенилимидазол[4,5-*b*]пиридина (C8-dG-PhIP). Эти повреждения были введены в полные либо делеционные дуплексы (когда нуклеотид напротив повреждения отсутствовал). Аддукты (+)-*cis*-BPDE-N²-dG и C8-dG-PhIP дестабилизировали ДНК-дуплексы, не содержащие делеций, и становились хорошей мишенью для системы ЭРН [31]. Аддукт (+)-*cis*-BPDE-N²-dG в составе делеционного дуплекса сильно увеличивал его термостабильность и был полностью устойчив к ЭРН. С помощью молекулярного моделирования показано, что в составе такого дуплекса дестабилизация, вызываемая введением (+)-*cis*-BPDE, компенсируется участием ароматической системы этого заместителя в стэкинг-взаимодействиях с основаниями ДНК-дуплекса. В делеционном дуплексе с повреждением C8-dG-PhIP ароматическая кольцевая система заместителя не стабилизирована стэкинг-взаимодействием с основаниями ДНК, что обеспечивает умеренную эффективность ЭРН в отношении этого дуплекса. Отсюда следует, что присутствие нуклеотида напротив повреждения не следует считать абсолютным условием успешной инициации ЭРН [20].

Таким образом, дестабилизация дуплексной структуры ДНК, вносимая объемным повреждением, – необходимое условие эффективной репарации этого участка ДНК системой ЭРН. Повреждения, не вносящие существенных нарушений в регулярную структуру ДНК-дуплекса, как правило, плохо удаляются в процессе ЭРН и несут скрытый мутагенный потенциал. Возможно, для репарации таких повреждений ДНК необходимо участие дополнительных факторов. Известно, что белок UV-DDB, специфичный к циклобутанпи-

римидиновым димерам, связывается с этим повреждением, мало влияющим на структуру ДНК, обеспечивая тем самым его дальнейший процессинг [32].

РЕПАРАЦИЯ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗ[А]ПИРЕНА В СОСТАВЕ КЛАСТЕРОВ

Кластеры, в которых повреждения различной природы: окисленные основания, апуриновые/апириимидиновые сайты (АР-сайты), разрывы цепи, а также объемные повреждения – находятся в пределах 1–2 витков спирали ДНК и/или располагаются в обеих цепях ДНК, представляют наибольшую опасность для клетки [33]. Кластерные повреждения ДНК возникают в результате интенсивного воздействия на клетку повреждающих агентов, таких как ионизирующее излучение или окислительный стресс. Действие этих факторов в сочетании с попаданием в организм различных ПАУ может вызывать кластерные повреждения, сочетающие объемные повреждения и окисленные основания и/или АР-сайты.

АР-сайты, а также другие повреждения ДНК, не нарушающие структуру двойной спирали, например, окисленные основания или остатки уридина, образующиеся вследствие дезаминирования dC [34], исправляются в процессе эксцизионной репарации оснований (ЭРО). АР-сайты, возникающие в результате спонтанного гидролиза N-гликозидной связи, а также в случае удаления неправильного или поврежденного основания ДНК-гликозилазами, относятся к числу наиболее распространенных повреждений ДНК: в клетках млекопитающих при физиологических условиях ежедневно образуется около 10 000 АР-сайтов на клетку [35, 36]. Наличие АР-сайтов очень опасно для клетки, особенно в процессе репликации ДНК, поскольку потеря кодирующего основания в матричной цепи может приводить к появлению мутаций, включая делеции и сдвиг рамки считывания [37]. Кроме того, АР-сайты обладают высокой реакционной способностью и могут образовывать сшивки с ДНК и белками (основания Шиффа) [38, 39]. Недавно показано, что на уровне хроматина АР-сайты представляют собой источник ДНК-белковых сшивок, сшивок между цепями ДНК, а также двойных разрывов в ДНК [40]. После удаления поврежденного основания с помощью ДНК-гликозилазы образовавшийся АР-сайт расщепляет апуриновая/апириимидиновая эндонуклеаза 1 (APE1), генерируя одноцепочечный разрыв с 3'-ОН- и 5'-дезоксирибозофосфатными (dRP)-концами. Такой интермедиат может процессироваться более чем по одному пути ЭРО с участием различных ДНК-полимераз. В клетках высших эукариот основной вклад в репарацию повреждений ДНК, исправляемых по механизму ЭРО, вносит путь с

включением одного нуклеотидного звена (“короткозаплаточный” путь, *short-path repair*). ДНК-полимераза β ($\text{Pol}\beta$) обладает двумя ферментативными активностями – ДНК-полимеразной (5'-3'-дезоксинуклеотидилтрансферазной) и дезоксирибофосфатлиазной (*dRP*- или *AP*-лиазной), удаляющей 5'-концевые *AP*-сайты, ограничивающие бреши в ДНК, по механизму бета-элиминирования. В случае короткозаплаточного пути $\text{Pol}\beta$ сначала удаляет 5'-*dRP*-фрагмент, а затем включает остаток *dNMP* в 3'-конец праймера, после чего ДНК-лигаза зашивает одноцепочечный разрыв. Альтернативный путь – ЭРО с включением нескольких нуклеотидных звеньев (“длиннозаплаточный” путь, *long-path repair*). Он реализуется в тех случаях, когда 5'-*dRP*-фрагмент модифицирован и не может быть удален с помощью $\text{Pol}\beta$. В этом случае полимераза осуществляет синтез ДНК с вытеснением цепи протяженностью в 2–13 н. Синтез ДНК в процессе длиннозаплаточной репарации могут вести ДНК-полимеразы $\text{Pol}\beta$, $\text{Pol}\delta$ и $\text{Pol}\epsilon$. До сих пор не выяснено, какая из полимераз вовлечена в этот процесс *in vivo*, хотя показано, что $\text{Pol}\beta$ всегда инициирует синтез ДНК [41].

Объемные повреждения вызывают искажения двойной спирали, что приводит к увеличению термодинамической нестабильности ДНК [42, 43]. Это может облегчить доступ к поврежденному участку окисляющих агентов или усилить спонтанный гидролиз гликозидных связей [44], увеличивая тем самым вероятность образования *AP*-сайтов вблизи объемного повреждения. В частности, *AP*-сайты могут возникать напротив *BPDE-dG*-аддуктов. В таких кластерах репарация *AP*-сайтов в противоположной цепи может быть критичной для инициации процесса ЭРН в отношении *BPDE-dG*-аддуктов. При репарации таких ДНК требуется точная регуляция последовательности исправления отдельных повреждений во избежание формирования двухцепочечных разрывов, которые более токсичны для клетки, чем разрывы в одной цепи ДНК [34].

Результаты многочисленных биохимических исследований позволили предположить, что участок неповрежденной цепи напротив объемного повреждения играет важную роль в иницирующих стадиях ЭРН [17, 19, 45, 46]. Основным фактором, первично узнающим повреждения в процессе ЭРН, считается гетеродимер *XPC-RAD23B*, проявляющий высокое сродство к дестабилизированным повреждением участкам двойной спирали ДНК [47]. Известно, что *XPC-RAD23B* узнает не повреждение, а участок неспаренных оснований в ДНК, возникающий вследствие дестабилизации дуплекса, и взаимодействует с областью неповрежденной цепи напротив повреждения. Первоначально предположение о механизме взаимодействия *XPC-RAD23B* с неповрежденной цепью ос-

новывалось на данных об отсутствии репарации ДНК, содержащих объемные повреждения в обеих цепях, в экстрактах клеток *HeLa* [48]. Вскоре эту гипотезу подтвердили с помощью рентгеноструктурного анализа комплекса дрожжевого ортолога *XPC-RAD23B*, *Rad4-Rad23* с фрагментом поврежденной ДНК [49], а также данными по фотоаффинной модификации *XPC-RAD23B* фрагментами ДНК, содержащими повреждение [46, 50]. Дополнительным подтверждением необходимости неповрежденного одноцепочечного участка напротив повреждения для эффективного протекания процесса ЭРН служат данные о том, что ДНК, содержащие *cis-BP-dG*-аддукты в отсутствие комплементарного нуклеотида в противоположной цепи, полностью устойчивы к процессу ЭРН в клеточных экстрактах [19, 31, 48].

Недавно нами выявлено [51] взаимодействие белков, вовлеченных в процесс ЭРН (*XPC-RAD23B*, *XPA* и *RPA*), с ДНК-дуплексами, содержащими объемное повреждение в одной цепи и *AP*-сайт в противоположной цепи. Такое взаимодействие может влиять на протекание репарации в клетке. Предполагается, что связывание *XPC-RAD23B* с ДНК-дуплексом, содержащим *AP*-сайт в участке противоположной цепи напротив объемного повреждения может инициировать сборку комплекса ЭРН и начало репарации по этому пути, а, следовательно, блокировать доступ к *AP*-сайту белков ЭРО. В качестве объемного повреждения использовали остаток флуоресцеина, присоединенный к *dUMP-Flu-dUMP* (5-{3-[6-(карбоксамидо-флуоресцеинил) амидокапроми-л]аллил}-2'-деоксиуридин-5'-монофосфат). Это объемное ароматическое соединение узнается и удаляется системой ЭРН [52]. Если участок, содержащий объемное повреждение, будет удален, то спонтанное расщепление *AP*-сайта в противоположной цепи неизбежно приведет к образованию разрывов обеих цепей ДНК, что крайне нежелательно для клетки. Соответственно, благоприятным сценарием в репарации такого типа повреждений будет опережающая репарация *AP*-сайта по механизму ЭРО.

Необходимый этап репарации *AP*-сайта, расположенного напротив объемного повреждения, – встраивание нуклеотида напротив повреждения в матричной цепи (синтез ДНК через повреждение). Известно, что $\text{Pol}\beta$ и $\text{Pol}\lambda$, которые рассматриваются в настоящее время как основные репарационные полимеразы в процессе ЭРО [53, 54], способны в определенных случаях вести синтез ДНК через повреждение, в том числе при застраивании одноцепочечных брешей [55–59], проявляя при этом 5'-*dRP*-лиазную активность [54, 60]. Таким образом, эти ДНК-полимеразы потенциально могут быть вовлечены в процессинг *AP*-сайтов в контексте кластерных повреждений по основному пути ЭРО. В связи с этим мы исследовали актив-

ность Pol β и Pol λ в реакции застраивания бреши, образующейся после расщепления AP-сайта, расположенного в различных положениях относительно объемного повреждения – (+)-*trans*- либо (+)-*cis*-BPDE- N^2 -dG – в противоположной цепи ДНК [61]. В качестве модельных ДНК использованы ДНК-дуплексы, содержащие AP-сайт напротив B[a]P-dG (положение 0) со смещением на один нуклеотид к 3'-концу (положение +1) или к 5'-концу (положение –1) цепи. Поскольку APE1 – главный фермент, катализирующий гидролиз AP-сайтов в процессе ЭРО, мы оценивали эффективность расщепления AP-сайта в исследуемых ДНК. Показано, что APE1 достаточно эффективно гидролизует AP-сайт в присутствии остатка B[a]P-dG в противоположной цепи, однако скорость гидролиза зависит как от положения AP-сайта относительно объемного повреждения, так и от пространственной конформации последнего. Показано, что только фермент Pol λ способен катализировать включение комплементарного dCMP в однонуклеотидную брешь напротив *cis*- B[a]P-dG, но не *trans*-изомера. Обе ДНК-полимеразы катализируют синтез ДНК при смещении AP-сайта в положение –1 относительно объемного заместителя, независимо от его конформации. В случае, когда AP-сайт располагается в положении +1, Pol β не способна вести синтез ДНК, а Pol λ работает с низкой эффективностью и точностью. В системе, реконструированной из рекомбинантных белков ЭРО, содержащей APE1, Pol λ и ДНК-лигазу III, может происходить полный цикл репарации AP-сайта напротив (+)-*cis*-BPDE- N^2 -dG, а также когда AP-сайт находится в положении –1 относительно любого из изомеров. На основании полученных данных можно сделать вывод о важной роли Pol λ в синтезе ДНК-участка напротив повреждения (+)-*cis*-BPDE- N^2 -dG, что обусловлено способностью этого фермента встраивать комплементарный dCMP. Однако в выбранных условиях ни одна из исследованных нами ДНК-полимераз не катализировала синтез через (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG – основного продукта модификации ДНК производными B[a]P.

Ранее в экспериментах *in vitro* с использованием ДНК-матриц, содержащих (+)- или (–)-*trans*-BPDE-dG, (+)- или (–)-*trans*-BPDE-dA, показано, что синтез через BPDE-dG-аддукты достаточно эффективен в случае катализа ДНК-полимеразы, относящимися к γ -семейству: Pol κ и Pol η [62–64], – которые, в отличие от Pol λ и Pol β , не обладают 5'-dRP-лиазной активностью [65]. Показано, что Pol κ эффективно катализирует синтез на матрице, содержащей (+)- или (–)-*trans*-BPDE-dG-аддукт, но не аналогичные *trans*-BPDE-dA-аддукты. В отличие от Pol κ , активность Pol η частично блокируется аддуктами BPDE-dG и (–)-*trans*-BPDE-dA, в то время как синтез через (+)-

trans-BPDE-dA оказался более эффективным [62]. В экспериментах *in vivo* показано, что в фибробластах эмбрионов мышей Pol κ отличается большей точностью при синтезе через BPDE-dG-аддукты [65, 66] по сравнению с Pol η , которая делает больше ошибок при синтезе ДНК на таких повреждениях [62, 67].

Другая ДНК-полимераза, относящаяся к γ -семейству, Pol ι , также может рассматриваться в качестве кандидата на участие в репарационном синтезе в процессе репарации AP-сайтов в составе кластеров с объемными повреждениями. Эта полимеразы способна катализировать синтез через BPDE-dG-аддукты, хотя и с низкой точностью [62, 68], а также обладает 5'-dRP-лиазной активностью [69, 70]. Предполагается, что конформационная подвижность Pol ι позволяет ей приспосабливаться к структурным особенностям ДНК так, чтобы вести синтез через объемные повреждения с использованием уотсон-криковских, хугстиновских и, возможно, других типов образования пар оснований [71]. Различия в эффективности синтеза через повреждение, по-видимому, могут быть обусловлены положением, структурой и размером повреждения [20, 26].

Недавно показано [59], что при высоких концентрациях dNTP (в миллимолярном диапазоне) фермент Pol β может встраивать правильный нуклеотид напротив (+)-, (–)-*trans*-BPDE-dA либо (+)-, (–)-*trans*-BPDE-dG; причем эффективность синтеза на ДНК-структурах, содержащих модифицированные остатки dA, оказалась выше, чем на ДНК с аналогичными производными dG. Кроме того, независимо от структуры аддукта включение нуклеотида в 3'-конец праймера напротив повреждения было крайне неэффективным в случае ДНК с выступающим одноцепочечным участком матрицы в сравнении с ДНК-дуплексом с двунауклеотидной брешью, хотя эффективность синтеза через (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG и в случае бреши оставалась очень низкой.

Таким образом, объемные повреждения, возникающие в ДНК под действием реакционноспособных метаболитов ПАУ, удаляются, в основном, по механизму ЭРН, эффективность которого очень сильно зависит от структурных особенностей ДНК-аддукта, в первую очередь, от степени дестабилизации ДНК-дуплекса, вызываемого объемным заместителем. Высокая мутагенность и канцерогенность B[a]P определяется в большой степени низкой эффективностью репарации основного продукта модификации ДНК – (+)-*trans*-BPDE- N^2 -dG – в процессе ЭРН. Определенный вклад в мутагенность B[a]P вносят транслезионные полимеразы, катализирующие включение ошибочного нуклеотида напротив повреждения, что требует привлечения других механизмов для последующей репарации повреждения. Понимание

молекулярных механизмов процессинга ДНК, содержащих аддукты — производные ПАУ, — необходимо для оценки потенциального вреда этих веществ для человека и для разработки технологий, нацеленных на уменьшение негативных эффектов при их попадании в организм.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (11-04-00559, 12-04-33162, 13-04-00538), Минобрнауки РФ (соглашение № 14.В37.21.0188) и Президиума РАН (программа “Молекулярная и клеточная биология”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Verma N., Pink M., Rettenmeier A.W., Schmitz-Spanke S. 2012. Review on proteomic analyses of benzo[a]pyrene toxicity. *Proteomics*. **12**, 1731–1755.
- Alexandrov K., Rojas M., Satarug S. 2010. The critical DNA damage by benzo(a)pyrene in lung tissues of smokers and approaches to preventing its formation. *Toxicol. Lett.* **198**, 63–68.
- Geacintov N.E., Cosman M., Hingerty B.E., Amin S., Broyde S., Patel D.J. 1997. NMR solution structures of stereoisomeric covalent polycyclic aromatic carcinogen-DNA adduct: principles, patterns, and diversity. *Chem. Res. Toxicol.* **10**, 111–146.
- Luch A. 2005. Nature and nurture — lessons from chemical carcinogenesis. *Nat. Rev. Cancer*. **5**, 113–125.
- Conney A.H. 1982. Induction of microsomal enzymes by foreign chemicals and carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons: G.H.A. Clowes Memorial Lecture. *Cancer Res.* **42**, 4875–4917.
- Desler C., Johannessen C., Rasmussen L.J. 2008. Repair of DNA damage induced by anthanthrene, a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) without bay or fjord regions. *Chem. Biol. Interact.* **177**, 212–217.
- Yu S.H., Ke L., Wong Y.S., Tam N.F. 2005. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments. *Environ. Int.* **31**, 149–154.
- Aimová D., Poljaková J., Kotrbová V., Moserová M., Frei E., Arlt V.M., Stiborová M. 2008. Ellipticine and benzo(a)pyrene increase their own metabolic activation via modulation of expression and enzymatic activity of cytochromes P450 1A1 and 1A2. *Interdisc. Toxicol.* **1**, 160–168.
- Hsu P.C., Chen I.Y., Pan C.H., Wu K.Y., Pan M.H., Chen J.R., Chen C.J., Chang-Chien G.P., Hsu C.H., Liu C.S., Wu M.T. 2006. Sperm DNA damage correlates with polycyclic aromatic hydrocarbons biomarker in coke-oven workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* **79**, 349–356.
- Xu R., Mao B., Xu J., Li B., Birke S., Swenberg C.E., Geacintov N.E. 1995. Stereochemistry-dependent bending in oligonucleotide duplexes induced by site-specific covalent benzo[a]pyrenediol epoxide-guanine lesions. *Nucl. Acids Res.* **23**, 2314–2319.
- Rodriguez H., Loechler E.L. 1993. Mutational specificity of the (+)-anti-diol epoxide of benzo[a]pyrene in a supF gene of an *Escherichia coli* plasmid: DNA sequence context influences hotspots, mutagenic specificity and the extent of SOS enhancement of mutagenesis. *Carcinogenesis*. **14**, 373–383.
- Fernandes A., Liu T., Amin S., Geacintov N.E., Grollman A.P., Moriya M. 1998. Mutagenic potential of stereoisomeric bay region (+)- and (–)-*cis*-antibenzo[a]pyrenediol epoxide-N2-2'-deoxyguanosine adducts in *Escherichia coli* and simian kidney cells. *Biochemistry*. **37**, 10164–10172.
- Harris C.C. 1991. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. *Cancer Res.* **51**, 5023–5044.
- Cheng S.C., Hilton B.D., Roman J.M., Dipple A. 1989. DNA adducts from carcinogenic and noncarcinogenic enantiomers of benzo[a]pyrenediol hydrodiol epoxide. *Chem. Res. Toxicol.* **2**, 334–340.
- Braithwaite E., Wu X., Wang Z. 1998. Repair of DNA lesions induced by polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell-free extracts: involvement of two excision repair mechanisms in vitro. *Carcinogenesis*. **19**, 1239–1246.
- Bohr V.A., Smith C.A., Okumoto D.S., Hanawalt P.C. 1985. DNA repair in an active gene: removal of pyrimidine dimers from the DHFR gene of CHO cells is much more efficient than in the genome overall. *Cell*. **40**, 359–369.
- Gillet L.C., Scharer O.D. 2006. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. *Chem. Rev.* **106**, 253–276.
- Wood R.D. 1997. Nucleotide excision repair in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* **272**, 23465–23468.
- Hess M.T., Gunz D., Luneva N., Geacintov N.E., Naegeli H. 1997. Base pair conformation-dependent excision of benzo[a]pyrenediol epoxide-guanine adducts by human nucleotide excision repair enzymes. *Mol. Cell. Biol.* **17**, 7069–7076.
- Buterin T., Hess M.T., Luneva N., Geacintov N.E., Amin S., Kroth H., Seidel A., Naegeli H. 2000. Unrepaired fjord region polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in ras codon 61 mutational hot spots. *Cancer Res.* **60**, 1849–1856.
- Dip R., Camenisch U., Naegeli H. 2004. Mechanisms of DNA damage recognition and strand discrimination in human nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst)*. **3**, 1409–1423.
- Mocquet V., Kropachev K., Kolbanovskiy M., Kolbanovskiy A., Tapias A., Cai Y., Broyde S., Geacintov N.E., Egly J.M. 2007. The human DNA repair factor XPC-HR23B distinguishes stereoisomeric benzo[a]pyrenyl-DNA lesions. *EMBO J.* **26**, 2923–2932.
- Kropachev K., Kolbanovskii M., Cai Y., Rodríguez F., Kolbanovskii A., Liu Y., Zhang L., Amin S., Patel D., Broyde S., Geacintov N.E. 2009. The sequence dependence of human nucleotide excision repair efficiencies of benzo[a]pyrene-derived DNA lesions: insights into the structural factors that favor dual incisions. *J. Mol. Biol.* **386**, 1193–1203.
- Cai Y., Kropachev K., Xu R., Tang Y., Kolbanovskii M., Kolbanovskii A., Amin S., Patel D.J., Broyde S., Geacintov N.E. 2010. Distant neighbor base sequence context effects in human nucleotide excision repair of a

- benzo[*a*]pyrene-derived DNA lesion. *J. Mol. Biol.* **399**, 397–409.
25. Wei D., Maher V.M., McCormick J.J. 1995. Site-specific rates of excision repair of benzo[*a*]pyrenediol epoxide adducts in the hypoxanthine phosphoribosyltransferase gene of human fibroblasts: correlation with mutation spectra. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**, 2204–2208.
 26. Geacintov N.E., Broyde S., Buterin T., Naegeli H., Wu M., Yan S., Patel D.J. 2002. Thermodynamic and structural factors in the removal of bulky DNA adducts by the nucleotide excision repair machinery. *Biopolymers.* **65**, 202–210.
 27. Maillard O., Camenisch U., Clement F.C., Blagoev K.B., Naegeli H. 2007. DNA repair triggered by sensors of helical dynamics. *Trends Biochem. Sci.* **32**, 494–499.
 28. Dreij K., Seidel A., Jernström B. 2005. Differential removal of DNA adducts derived from anti-diol epoxides of dibenzo[*a,l*]pyrene and benzo[*a*]pyrene in human cells. *Chem. Res. Toxicol.* **18**, 655–664.
 29. Cho K.B., Dreij K., Jernström B., Gräslund A. 2003. Conformations of benzene- and dibenzo[*a,l*]pyrenediol epoxides studied by density functional theory: ground states, transition states, dynamics, and solvent effects. *Chem. Res. Toxicol.* **16**, 590–597.
 30. Lagerqvist A., Håkansson D., Lundin C., Prochazka G., Dreij K., Segerbäck D., Jernström B., Törnqvist M., Frank H., Seidel A., Erixon K., Jenssen D. 2011. DNA repair and replication influence the number of mutations per adduct of polycyclic aromatic hydrocarbons in mammalian cells. *DNA Repair (Amst.)*. **10**, 877–886.
 31. Reeves D.A., Mu H., Kropachev K., Cai Y., Ding Sh., Kolbanovskiy A., Kolbanovskiy M., Chen Y., Krzeminski J., Amin Sh., Patel D.J., Broyde S., Geacintov N.E. 2011. Resistance of bulky DNA lesions to nucleotide excision repair can result from extensive aromatic lesion-base stacking interactions. *Nucl. Acids Res.* **39**, 8752–8764.
 32. Blagoev K.B., Alexandrov B.S., Goodwin E.H., Bishop A.R. 2006. Ultra-violet light induced changes in DNA dynamics may enhance TT-dimer recognition. *DNA Repair (Amst.)*. **5**, 863–867.
 33. Sage E., Harrison L. 2011. Clustered DNA lesion repair in eukaryotes: relevance to mutagenesis and cell survival. *Mutat. Res.* **711**, 123–133.
 34. Sung J.S., Demple B. 2006. Roles of base excision repair subpathways in correcting oxidized abasic sites in DNA. *FEBS J.* **273**, 1620–1629.
 35. Lindahl T., Wood R.D. 1999. Quality control by DNA repair. *Science.* **286**, 1897–1905.
 36. Barnes D.E., Lindahl T. 2004. Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Annu. Rev. Genet.* **38**, 445–476.
 37. Loeb L.A. 1985. Apurinic sites as mutagenic intermediates. *Cell.* **40**, 483–484.
 38. Pierson C.E., McCullough A.K., Lloyd R.S. 2000. AP lyases and dRPases: commonality of mechanism. *Mutat. Res.* **459**, 43–53.
 39. Boiteux S., Guillet M. 2004. Abasic sites in DNA: repair and biological consequences in *Saccharomyces cerevisiae*. *DNA Repair (Amst.)*. **3**, 1–12.
 40. Sczepanski J.T., Wong R.S., McKnight J.N., Bowman G.D., Greenberg M.M. 2010. Rapid DNA-protein cross-linking and strand scission by an abasic site in a nucleosome core particle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 22475–22480.
 41. Podlitsky A.J., Dianova I.I., Podust V.N., Bohr V.A., Dianov G.L. 2001. Human DNA polymerase beta initiates DNA synthesis during long-patch repair of reduced AP sites in DNA. *EMBO J.* **20**, 1477–1482.
 42. Gunz D., Hess M.T., Naegeli H. 1996. Recognition of DNA adducts by human nucleotide excision repair. Evidence for a thermodynamic probing mechanism. *J. Biol. Chem.* **271**, 25089–25098.
 43. Isaacs R.J., Spielmann H.P. 2004. A model for initial DNA lesion recognition by NER and MMR based on local conformational flexibility. *DNA Repair (Amst.)*. **3**, 455–464.
 44. Gates K.S. 2009. An overview of chemical processes that damage cellular DNA: spontaneous hydrolysis, alkylation, and reactions with radicals. *Chem. Res. Toxicol.* **22**, 1747–1760.
 45. Maillard O., Camenisch U., Clement F.C., Blagoev K.B., Naegeli H. 2007. DNA repair triggered by sensors of helical dynamics. *Trends Biochem. Sci.* **32**, 494–499.
 46. Maltseva E.A., Rechkunova N.I., Petrusseva I.O., Vermeulen W., Schärer O.D., Lavrik O.I. 2008. Crosslinking of nucleotide excision repair proteins with DNA containing photoreactive damages. *Bioorg. Chem.* **36**, 77–84.
 47. Sugawara K., Okamoto T., Shimizu Y., Masutani C., Iwai S., Hanaoka F. 2001. A multistep damage recognition mechanism for global genomic nucleotide excision repair. *Genes Dev.* **15**, 507–521.
 48. Buterin T., Meyer C., Giese B., Naegeli H. 2005. DNA quality control by conformational readout on the undamaged strand of the double helix. *Chem. Biol.* **12**, 913–922.
 49. Min J.H., Pavletich N.P. 2007. Recognition of DNA damage by the Rad4 nucleotide excision repair protein. *Nature.* **449**, 570–575.
 50. Красикова Ю.С., Речкунова Н.И., Мальцева Е.А., Петруссева И.О., Сильников В.Н., Зацепин Т.С., Орецкая Т.С., Шерер О.Д., Лаврик О.И. 2008. Взаимодействие факторов эксцизионной репарации нуклеотидов ХРС-HR23b, ХРА и RPA с поврежденной ДНК. *Биохимия.* **73**, 1101–1113.
 51. Скосарева Л.В., Лебедева Н.А., Речкунова Н.И., Мальцева Е.А., Пестряков П.Е., Лаврик О.И. 2012. Взаимодействие факторов эксцизионной репарации нуклеотидов с ДНК, содержащей объемное повреждение и апуриновый/апиримидиновый сайт. *Биохимия.* **77**, 648–656.
 52. Nakano T., Katafuchi A., Shimizu R., Terato H., Suzuki T., Tauchi H., Makino K., Skorvaga M., Van Houten B., Ide H. 2005. Repair activity of base and nucleotide excision repair enzymes for guanine lesions induced by nitrosative stress. *Nucl. Acids Res.* **33**, 2181–2191.
 53. Sobol R.W., Horton J.K., Kühn R., Gu H., Singhal R.K., Prasad R., Rajewsky K., Wilson S.H. 1996. Requirement of mammalian DNA polymerase-beta in base-excision repair. *Nature.* **11**, 183–186.

54. García-Díaz M., Bebenek K., Kunkel T.A., Blanco L. 2001. Identification of an intrinsic 5'-deoxyribose-5-phosphate lyase activity in human DNA polymerase lambda: a possible role in base excision repair. *J. Biol. Chem.* **276**, 34659–34663.
55. Belousova E.A., Maga G., Fan Y., Kubareva E.A., Romanova E.A., Lebedeva N.A., Oretskaya T.S., Lavrik O.I. 2010. DNA polymerases beta and lambda bypass thymine glycol in gapped DNA structures. *Biochemistry.* **49**, 4695–4704.
56. Штыгашева А.А., Белоусова Е.А., Речкунова Н.И., Лебедева Н.А., Лаврик О.И. 2008. ДНК-полимеразы бета и лямбда как потенциальные участники системы синтеза через повреждение в процессе репликации отстающей цепи геномной ДНК. *Биохимия.* **73**, 1504–1512.
57. van Loon B., Hübscher U. 2009. An 8-oxo-guanine repair pathway coordinated by MUTYH glycosylase and DNA polymerase lambda. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 18201–18206.
58. Villani G., Hübscher U., Gironis N., Parkkinen S., Pospiech H., Shevelev I., di Cicco G., Markkanen E., Syyaoja J.E., Tanguy N. Le Gac. 2011. *In vitro* gap-directed translesion DNA synthesis of an abasic site involving human DNA polymerases epsilon, lambda, and beta. *J. Biol. Chem.* **286**, 32094–32104.
59. Chary P., Beard W.A., Wilson S.H., Lloyd R.S. 2012. DNA polymerase β gap-filling translesion DNA synthesis. *Chem. Res. Toxicol.* **25**, 2744–2754.
60. Matsumoto Y., Kim K. 1995. Excision of deoxyribose phosphate residues by DNA polymerase beta during DNA repair. *Science.* **269**, 699–702.
61. Skosareva L.V., Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., Kolbanovskiy A., Geacintov N.E., Lavrik O.I. 2012. Human DNA polymerase λ catalyzes lesion bypass across benzo[a]pyrene-derived DNA adduct during base excision repair. *DNA Repair (Amst.)*, **11**, 367–373.
62. Rechkoblit O., Zhang Y., Guo D., Wang Z., Amin S., Krzeminsky J., Louneva N., Geacintov N.E. 2002. Translesion synthesis past bulky benzo[a]pyrenediol epoxide N2-dG and N6-dA lesions catalyzed by DNA bypass polymerases. *J. Biol. Chem.* **277**, 30488–30494.
63. Zhang Y., Yuan F., Wu X., Wang M., Rechkoblit O., Taylor J.S., Geacintov N.E., Wang Z. 2000. Error-free and error-prone lesion bypass by human DNA polymerase kappa *in vitro*. *Nucl. Acids Res.* **28**, 4138–4146.
64. Avkin S., Goldsmith M., Velasco-Miguel S., Geacintov N., Friedberg E.C., Livneh Z. 2004. Quantitative analysis of translesion DNA synthesis across a benzo[a]pyrene-guanine adduct in mammalian cells: the role of DNA polymerase kappa. *J. Biol. Chem.* **279**, 53298–53305.
65. Haracska L., Prakash L., Prakash S. 2003. A mechanism for the exclusion of low-fidelity human Y-family DNA polymerases from base excision repair. *Genes Dev.* **17**, 2777–2785.
66. Ogi T., Shinkai Y., Tanaka K., Ohmori H. 2002. Pol kappa protects mammalian cells against the lethal and mutagenic effects of benzo[a]pyrene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **99**, 15548–15553.
67. Klarer A.C., Stallons L.J., Burke T.J., Skagg R.L., McGregor W.G. 2012. DNA Polymerase eta participates in the mutagenic bypass of adducts induced by benzo[a]pyrene diol epoxide in mammalian cells. *PLoS One.* **7**, e39596.
68. Frank E.G., Sayer J.M., Kroth H., Ohashi E., Ohmori H., Jerina D.M., Woodgate R. 2002. Translesion replication of benzo[a]pyrene and benzo[c]phenanthrene-diol epoxide adducts of deoxyadenosine and deoxyguanosine by human DNA polymerase iota. *Nucl. Acids Res.* **30**, 5284–5292.
69. Bebenek K., Tissier A., Frank E.G., McDonald J.P., Prasad R., Wilson S.H., Woodgate R., Kunkel T.A. 2001. 5'-Deoxyribose phosphate lyase activity of human DNA polymerase iota *in vitro*. *Science.* **291**, 2156–2159.
70. Prasad R., Bebenek K., Hou E., Shock D.D., Beard W.A., Woodgate R., Kunkel T. A., Wilson S.H. 2003. Localization of the deoxyribose phosphate lyase active site in human DNA polymerase iota by controlled proteolysis. *J. Biol. Chem.* **278**, 29649–29654.
71. Donny-Clark K., Brody S. 2009. Influence of local sequence context on damaged base conformation in human DNA polymerase iota: molecular dynamics studies of nucleotide incorporation opposite a benzo[a]pyrene-derived adenine lesion. *Nucl. Acids Res.* **37**, 7095–7109.