



УДК 577.15

## ТИРОЗИЛ-ДНК-ФОСФОДИЭСТЕРАЗА 1 – НОВЫЙ УЧАСТНИК РЕПАРАЦИИ АПУРИНОВЫХ/АПИРИМИДИНОВЫХ САЙТОВ В ДНК<sup>1</sup>

© 2015 г. Н. И. Речкунова, Н. А. Лебедева, О. И. Лаврик<sup>#</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8

Новосибирский государственный университет, Новосибирск

Поступила в редакцию 15.03.2015 г. Принята к печати 24.04.2015 г.

Геномная ДНК постоянно повреждается под действием внешних факторов и внутренних реакционно-способных метаболитов. К наиболее распространенным повреждениям ДНК относится образование апуриновых/апиримидиновых сайтов (АР-сайтов), которые возникают в результате действия ДНК-гликозилаз, а также спонтанного гидролиза *N*-гликозидных связей. Химическая реакционно-способность АР-сайтов является причиной образования разрывов в молекуле ДНК, а также сшивок ДНК-белок и ДНК-ДНК. Репарация АР-сайтов – один из важнейших механизмов сохранения стабильности генома. Несмотря на то, что основные участники репарации АР-сайтов достаточно хорошо изучены, обнаруживаются новые белки, которые могут быть вовлечены в этот процесс в качестве “запасных игроков”, либо могут выполнять определенные специализированные функции. Предлагаемый обзор посвящен одному из таких белков, тирозил-ДНК-фосфодиэстеразе 1 человека (Tdp1), для которой мы недавно показали, что помимо своей основной активности удалять ковалентные аддукты топоизомеразы I (Top1) и ДНК, этот фермент способен гидролизовать АР-сайты в ДНК и инициировать их репарацию. Впервые Tdp1 была обнаружена в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* как фермент, гидролизующий ковалентную связь между остатком тирозина и 3'-фосфатной группой ДНК. Tdp1 считается основным ферментом, осуществляющим репарацию необратимых комплексов топоизомеразы I с ДНК, которые стабилизируются в присутствии ингибиторов Top1, таких как камптотecin, поэтому Tdp1 может служить важной мишенью для разработки ингибиторов – антираковых препаратов. Кроме этого, Tdp1 удаляет широкий спектр 3'-концевых модифицированных звеньев в ДНК, а также 3'-концевые нуклеозиды и их производные с образованием 3'-фосфата. Способность Tdp1 расщеплять АР-сайты позволяет предположить ее участие в процессе эксцизионной репарации оснований в качестве альтернативного фермента вместо АР-эндонуклеазы 1 – основного фермента, гидролизующего АР-сайты в процессе репарации ДНК.

*Ключевые слова:* тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1, апуриновые/апиримидиновые сайты, эксцизионная репарация оснований, ингибиторы ферментов репарации ДНК.

DOI: 10.7868/S0132342315050127

### ВВЕДЕНИЕ

Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) впервые была обнаружена в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* как фермент, гидролизующий ковалентную связь

между остатком тирозина и 3'-фосфатной группой ДНК [1]. Поскольку единственным известным ферментом, формирующим 3'-фосфотирозильное соединение *in vivo*, является ДНК-топоизомераза I (Top1), предположили, что обнаруженная активность вовлечена в репарацию повреждений ДНК, возникающих в результате образования необратимых комплексов Top1 с ДНК. Если нет каких-либо к тому препятствий, Top1 расщепляет и вновь лигирует цепь ДНК в участке узнавания. Процесс катализа включает образование ковалентного ДНК-белкового интермедиата между каталитическим остатком тирозина в активном центре фермента и 3'-концом расщепленной цепи ДНК. Такой интермедиат обычно рассматривается как Top1-ДНК-расщепленный комплекс [2–4].

<sup>1</sup> Статья публикуется по материалам сообщения, представленного на VII Российском симпозиуме “Белки и пептиды”, Новосибирск, 12–17 июля 2015 г.

Список сокращений: АР-сайт – апуриновый/апиримидиновый сайт, 5'-dRibP – 5'-дезоксирибозофосфат, DD – декандиол, DEG – диэтиленгликоль, hhTHF – 3-гидрокси-2-гидроксиметилтетрагидрофуран, 3'-P – 3'-фосфат, 5'-P – 5'-фосфат, PNKP – полинуклеотидкиназа/фосфатаза, SCAN1 – синдром спиноцеребеллярной атаксии с аксональной невропатией, Tdp1 – тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1, Top1 – ДНК-топоизомераза I, UDG – урацил-ДНК гликозилаза, XRCC1 – белок, ответственный за радиочувствительность клеток, ЭРО – эксцизионная репарация оснований.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: +7 (383) 363-51-95; факс: +7 (383) 363-51-53; e-mail: lavrik@niboch.nsc.ru).

После перемещения разорванных концов ДНК относительно друг друга, в результате чего снимается локальное напряжение в дуплексе, Top1 восстанавливает целостность ДНК, катализируя реакцию лигирования разорванной цепи. В нормальных условиях скорость реакции лигирования значительно выше, чем скорость расщепления, но переходные комплексы могут быть стабилизированы. Так, антираковый препарат камптотecin связывает ковалентный комплекс ДНК и Top1 и тем самым блокирует процесс религирования разорванной нити ДНК. Наряду с камптотечином многие ДНК-аддукты и поврежденные основания в ДНК, такие как урацил, 8-оксогуанин, неправильно спаренные основания (мисматчи) или разрывы в ДНК, расположенные вблизи сайта узнавания Top1, могут стабилизировать Top1-ДНК-расщепленный комплекс [5–7].

Кроме того, мы обнаружили, что ковалентные аддукты Top1 дрожжей и человека с ДНК-структурами, содержащими в одной из цепей разрыв или короткую брешь, могут формироваться и в отсутствие специфических сайтов узнавания [8–10]. Ковалентный комплекс Top1-ДНК создает повреждение ДНК, затрудняющее репликацию и транскрипцию [11–13]. Считается, что удаление Top1 с 3'-конца разрыва ДНК в необратимом комплексе является основной функцией Tdp1 в клетке [1, 14]. В то же время, Tdp1 неспособна удалять полноразмерную Top1, поэтому необходима ее предварительная протеолитическая деградация [1, 15, 16]. Физиологическая важность Tdp1 в организме человека подтверждается наличием редкого рецессивного аутосомного нейродегенеративного заболевания – спиноцеребеллярной атаксии с аксональной невропатией (spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy, SCAN1), вызванной гомозиготной мутацией в гене *TDP1* [17].

### Tdp1 – “ЧИСТИЛЬЩИК” 3'-КОНЦОВ ДНК

Помимо расщепления фосфотирозильной связи Tdp1 удаляет широкий спектр 3'-концевых модифицированных звеньев ДНК, в том числе 3'-фосфогликоляты и 3'-дезоксирибозофосфат, образующиеся в результате окислительного повреждения ДНК, а также под действием радиомиметиков, таких как блеомицин [18, 19]. Биологическая значимость этой функции Tdp1 подтверждается тем, что дефицитные по этому белку клетки более чувствительны к окислительным повреждениям ДНК как в митохондриях, так и в ядре [20–22]. Tdp1 проявляет также нуклеозидазную активность, удаляя 3'-концевые дезоксирибо- и рибонуклеозиды, а также терминирующие синтез ДНК аналоги нуклеозидов, широко используемые в качестве противовирусных и противораковых препаратов [16, 23, 24]. В результате образуются 3'-фосфорилированные концы ДНК, устойчивые к действию

фермента. Кроме того, Tdp1 гидролизует широкий спектр синтетических ДНК-аддуктов, образующихся в результате присоединения к 3'-концевой фосфатной группе ДНК таких молекул, как биотин и различные флуорофоры [16, 23–27]. Это свойство может быть использовано для скрининга ингибиторов Tdp1 и детального изучения его механизма флуоресцентными методами.

### СТРУКТУРА Tdp1 И МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ

Tdp1 человека – полипептид массой 68 кДа, включающий 608 а.о. Белок состоит из двух доменов. N-Концевой домен, лишенный ферментативной активности, отвечает за стабильность белка, тогда как C-концевой домен является каталитическим и относится к семейству фосфолипаз D [28]. В C-концевом домене расположены два каталитических мотива (H263/K265/N283 и H493/K495/N516 в белке человека), разделенные 210 а.о. К настоящему времени установлена кристаллическая структура “усеченной” Tdp1 человека (D1-148), не содержащей N-концевого фрагмента, в комплексе с одноцепочечной ДНК, присоединенной к короткому тирозильному пептиду, и ионом ванадия, имитирующим фосфатную группу, присоединенную к каталитическому остатку тирозина Top1 [29, 30]. Tdp1 функционирует как мономер, в котором два каталитических мотива располагаются достаточно близко друг к другу и формируют активный центр внутри асимметричного, относительно узкого положительно заряженного канала в белке, связывающего одноцепочечную ДНК в составе субстрата. В месте расположения пептидной части субстрата канал расширяется. Одноцепочечная ДНК удерживается в участке связывания за счет полярных взаимодействий, в которые вовлечены 5'-фосфатные группы трех прилегающих к фосфотирозильной связи нуклеотидов и аминокислотные остатки S400, S403, K469, S518, K519 и A520. Важную роль играют также гидрофобные взаимодействия. Фермент эффективно удаляет не только аддукты Top1-ДНК, но и различные 3'-блокирующие группировки независимо от последовательности ДНК.

Для проявления каталитической активности Tdp1 не требуются нуклеотидные кофакторы или ионы  $Me^{2+}$ . Достаточно сложный механизм действия этого фермента включает две стадии с образованием переходного ковалентного интермедиата, включающего субстрат [28]. Первая стадия процесса – нуклеофильная атака фосфотирозильной связи Top1-ДНК остатком гистидина H263. Остаток H493 другого каталитического мотива выступает в качестве донора протона для тирозинсодержащей уходящей группы. В результате образуется ковалентная фосфоамидная связь между H263 и 3'-концом ДНК. Остаток H493 выступает в качестве основания и гидролизует образовавшийся

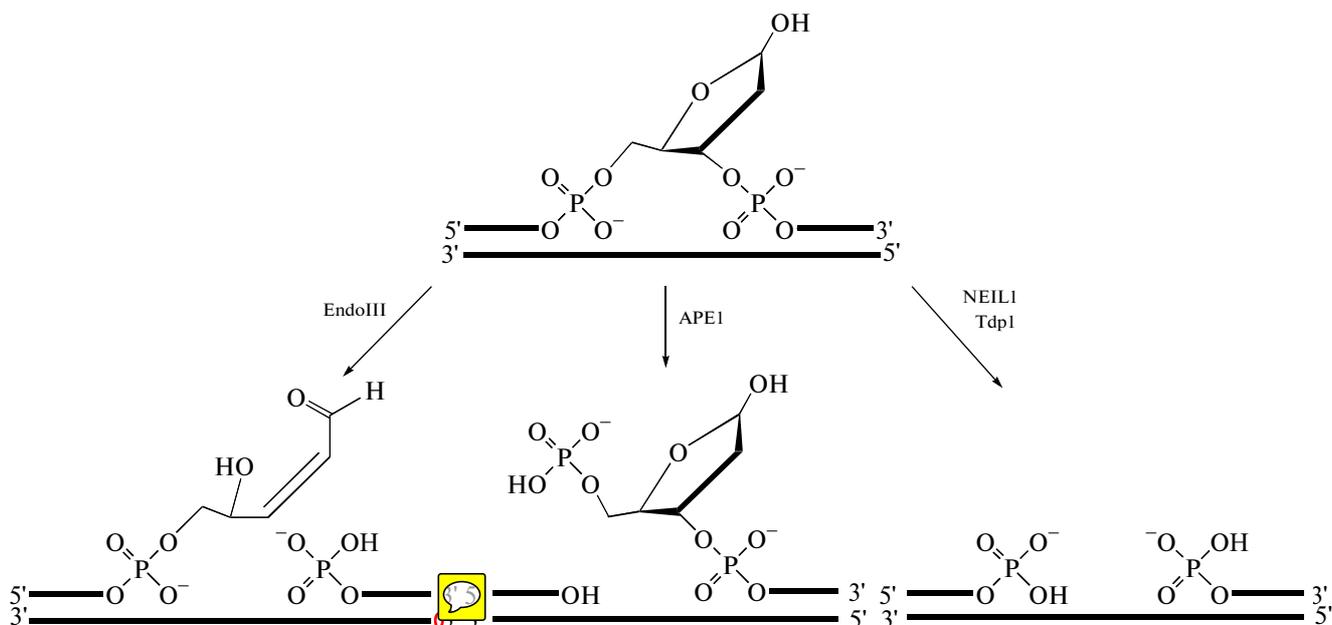


Рис. 1. Схема гидролиза AP-сайта различными ферментами.

интермедиат путем активации молекулы воды [29]. В результате образуется ДНК-продукт с 3'-фосфатной группой, для процессинга которого необходима полинуклеотидкиназа/фосфатаза (PNKP) [31]. Мутация, приводящая к замене одного из каталитических гистидинов на аргинин (H493R), ведет к накоплению ковалентного интермедиата Tdp1-ДНК [32] и является причиной возникновения нейродегенеративного расстройства SCAN1 [17]. Болезнь проявляется только в случае гомозиготной мутации [17], поскольку фермент дикого типа способен расщеплять образующийся интермедиат мутантного белка с ДНК, препятствуя его накоплению [16]. Участие остатка H263 в каталитическом акте подтверждается резким снижением (на 4 порядка) активности мутантной формы белка, несущей замену H263A [28].

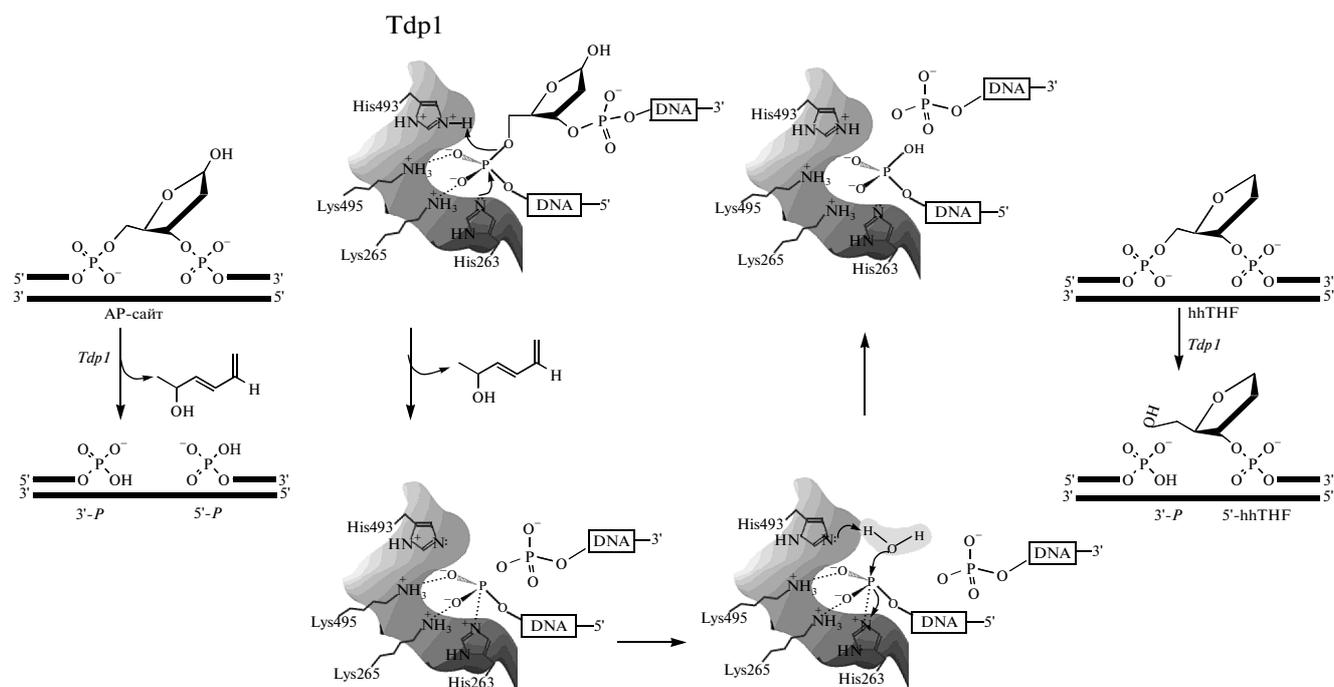
#### РЕПАРАЦИЯ AP-САЙТОВ, ИНДУЦИРУЕМАЯ Tdp1

Недавно мы обнаружили, что Tdp1 человека обладает еще одной активностью — способностью гидролизовать апуриновые/апиримидиновые (AP) сайты, расположенные внутри цепи ДНК [33]. AP-сайты появляются в результате действия ДНК-гликозилаз, а также спонтанного гидролиза *N*-гликозидных связей в ДНК, и относятся к числу наиболее распространенных повреждений ДНК. В клетках млекопитающих возникает до 50000 AP-сайтов в сутки, большая часть которых образуется в процессе апуринизации ДНК [34]. Число таких повреждений резко возрастает при интенсивном оксидативном стрессе, рентгеновском и УФ-облучении и других

воздействиях. Отсутствие кодирующего основания в матрице ДНК может приводить к блокированию ДНК- и РНК-полимераз, а также к мононуклеотидным заменам и делециям/инсерциям, если задействованы механизмы транслезионного синтеза (TLS, синтез ДНК через повреждение). Химическая реакционноспособность AP-сайтов является причиной образования разрывов в молекуле ДНК, а также сшивок ДНК-белок и ДНК-ДНК [35]. Все вышесказанное обуславливает высокую мутагенность и цитотоксичность такого рода повреждений.

Основной фермент, расщепляющий AP-сайты в клетках млекопитающих и инициирующий их репарацию по механизму эксцизионной репарации оснований (ЭРО) — апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза 1 (APE1). Обнаруженная способность Tdp1 гидролизовать AP-сайты позволяет предположить ее участие в процессе ЭРО в качестве фермента, альтернативного APE1 в этом процессе. Это предположение было основано на факте обнаружения Tdp1 в комплексе с несколькими белками ЭРО, а именно — ДНК-полимеразой  $\beta$ , поли(ADP-рибозо)-полимеразой 1, PNKP и комплексом ДНК-лигаза III/XRCC1 [36–38].

В результате гидролиза AP-сайта в составе ДНК-дуплекса с помощью APE1 и Tdp1 генерируются различные концы ДНК: APE1 гидролизует AP-сайт с образованием разрыва с 3'-ОН- и 5'-dRib-фосфатными (5'-dRibP) группами, тогда как Tdp1 генерирует мононуклеотидную брешь с фосфатными группами на 3'- (3'-P) и 5'- (5'-P) —концах (рис. 1). К числу ферментов, катализирующих гидролиз AP-сайтов, также относятся бифункциональные ДНК-глико-



**Рис. 2.** Механизм гидролиза AP-сайта и его синтетического аналога 3-гидрокси-2-гидроксиметил-тетрагидрофурана (hhTHF) тирозил-ДНК-фосфодиэстеразой 1 (Tdp1).

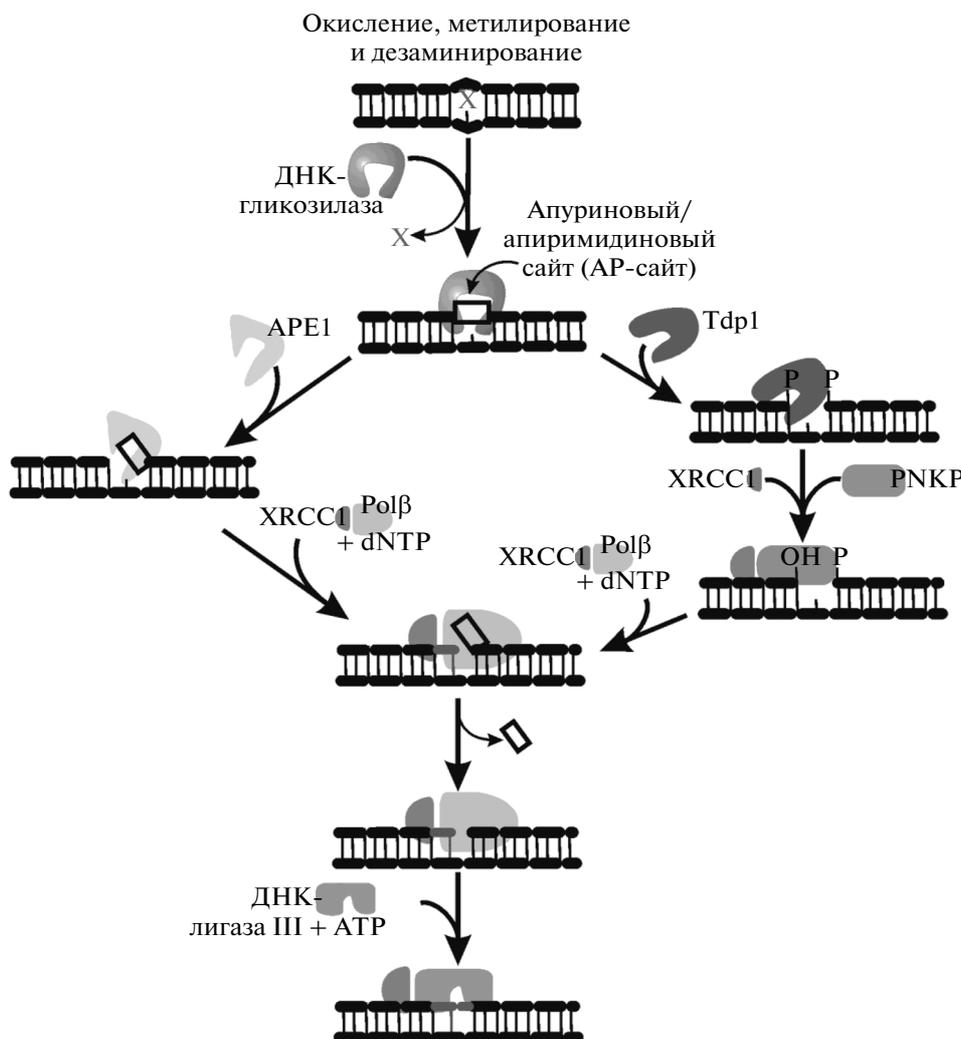
зилазы (например, Neil1) и AP-лиазы (например, EndoIII в *E. coli*). В первом случае гидролиз AP-сайта происходит по механизму в-д-элиминирования с образованием мононуклеотидной брешы с 3'-P- и 5'-P-концами (рис. 1). AP-лиазы функционируют по механизму в-элиминирования, в результате образуется разрыв ДНК, фланкированный 5'-P и 3'-фосфо-б,в-ненасыщенным альдегидом (рис. 1). Дальнейший процессинг 3'-конца может осуществлять APE1 с образованием 3'-ОН, а также Tdp1, — в этом случае образуется 3'-P [33, 39].

На основании перечисленных выше наблюдений можно было предположить, что расщепление AP-сайта Tdp1 происходит по AP-лиазному механизму с последующим удалением 3'-б,в-ненасыщенного альдегида. Однако это предположение противоречило способности Tdp1 гидролизовать ДНК, содержащую синтетический аналог AP-сайта — остаток 3-гидрокси-2-гидроксиметилтетрагидрофурана (hhTHF), которой не обладают AP-лиазы [33]. Следовательно, Tdp1 осуществляет гидролиз AP-сайта по другому механизму. Вероятнее всего, Tdp1 расщепляет фосфодиэфирную связь с образованием 3'-P и 5'-dRib на концах разрыва. Остаток 5'-dRib крайне нестабилен в отсутствие фосфатной группы и гидролизуется спонтанно, тогда как более стабильный остаток hhTHF должен сохраняться на 5'-конце разрыва.

С использованием ДНК-структур, радиоактивно меченных по 3'- или 5'-концу цепи, содержащей природный AP-сайт, генерируемый путем

выщепления урацила урацил-ДНК гликозилазой, или остаток hhTHF, была определена структура концов разрыва в ДНК, образующегося под действием Tdp1 [40]. Установлено, что в результате расщепления природного AP-сайта образуется разрыв с фосфатными группами на обоих концах, тогда как расщепление hhTHF приводит к образованию разрыва с 3'-фосфатной и 5'-hhTHF-группами. Показано также, что Tdp1 эффективно расщепляет аналоги AP-сайта — нунуклеотидные вставки в ДНК, такие как остатки декандиола (DD) и диэтиленгликоля (DEG), с образованием разрыва с 5'-DD/DEG и 3'-фосфатом.

Эффективность расщепления аналогов AP-сайта напрямую коррелирует со степенью дестабилизации двойной спирали ДНК, вносимой заместителем, и возрастает в ряду hhTHF < DEG < DD. Полученные данные позволяют предположить, что расщепление AP-сайта и его синтетических аналогов ферментом Tdp1 скорее всего происходит по тому же механизму, как и удаление любых модификаций с 3'-концевого фосфата с помощью Tdp1 (рис. 2). Образующийся после расщепления природного AP-сайта остаток 5'-дезоксирибозы легко деградирует вследствие своей нестабильности. В результате формируется мононуклеотидная брешь с обрамляющими ее фосфатными группами. В отличие от ДНК-интермедиата с 5'-dRibP группой, образующегося после расщепления AP-сайта AP-эндонуклеазой 1, дальнейший процессинг брешы, генерируемой Tdp1, не требует 5'-dRibP-лиазной



**Рис. 3.** Сопоставление путей репарации AP-сайтов с помощью APE1, XRCC1, ДНК-полимеразы в (Pol β), ДНК-лигазы III и Tdp1, PNKP, XRCC1, Pol β, ДНК-лигазы III.

активности и может быть осуществлен ДНК-полимеразой, не обладающей такой активностью либо лишенной ее вследствие мутации. Таким образом, индуцируемая Tdp1 репарация AP-сайтов может протекать в клетках, дефицитных по 5'-dRibP-лиазной активности, главным носителем которой в клетках является ДНК-полимераза в [41].

С использованием очищенных рекомбинантных белков был проведен полный цикл репарации ДНК-дуплекса, содержащего пару U : G. После обработки ДНК урацил-ДНК-гликозилазой (UDG) и расщепления образовавшегося AP-сайта Tdp1, гидролизующей AP-сайт с образованием мононуклеотидной брешы с фосфатными группами на 3'- и 5'-концах, дальнейший процессинг ДНК проходил с участием PNKP, обладающей 3'-фосфатазной активностью, ДНК-полимеразы в и ДНК-лигазы III/XRCC1 [33] (рис. 3). Репарация синтетических аналогов AP-сайтов, расщепленных с помо-

щью Tdp1, может быть осуществлена по механизму длиннозаплаточной ЭРО [40]. Таким образом, процесс репарации AP-сайтов с участием Tdp1 может быть отнесен к так называемым запасным путям, обеспечивающим дополнительную надежность функционирования механизмов репарации ДНК.

Оказалось, что в отличие от APE1 Tdp1 более эффективно гидролизует AP-сайты в одноцепочечной ДНК, чем в ДНК-дуплексе [33]. Это свойство Tdp1 позволяет предположить ее участие в процессинге AP-сайтов в одноцепочечных участках ДНК, возникающих во всех основных процессах метаболизма ДНК: репликации, транскрипции, рекомбинации и репарации. С использованием очищенных белков был реконструирован процесс репарации AP-сайта, расположенного в однонитчатой ДНК, инициируемый Tdp1 человека, с последующим участием PNKP, XRCC1, ДНК-полимеразы в и ДНК-лигазы III [42].

Таким образом, показана возможность инициированной Tdp1 репарации AP-сайта, расположенного в одноцепочечном участке частично открытого ДНК-дуплекса. Полученные данные позволяют предположить, что Tdp1 может быть вовлечена в репарацию AP-сайтов в одноцепочечных участках геномной ДНК, возникающих в процессах, связанных с воспроизведением и сохранением генетической информации. В том числе, частичное расплетание спирали ДНК и образование одноцепочечных участков происходит в процессе эксцизионной репарации нуклеотидов, ответственной за удаление объемных химических аддуктов и УФ-индуцированных повреждений ДНК [43]. В случае появления AP-сайта в противоположной цепи возникает кластерное повреждение, которое особенно токсично для клетки, так как может стать причиной появления двойных разрывов в ДНК. Для предотвращения разрыва обеих цепей ДНК необходима репарация AP-сайта системой ЭРО. Мы показали, что Tdp1 намного эффективнее расщепляет AP-сайт, расположенный напротив объемного повреждения в ДНК-дуплексе, чем ДНК-дуплекс, имеющий регулярную структуру [44]. Таким образом, Tdp1 может быть вовлечена в репарацию кластерных повреждений ДНК.

Мутации в активном центре Tdp1, H263A и H493R, вызывающая нейродегенеративное расстройство SCAN1, приводят к потере способности фермента расщеплять AP-сайт [44].

#### Tdp1 – ПЕРСПЕКТИВНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ ПРОТИВОРАКОВОЙ ТЕРАПИИ

Tdp1 является перспективной мишенью для лечения онкологических и нейродегенеративных заболеваний [36, 45]. Tdp1 играет важную роль в удалении повреждений ДНК, создаваемых топоизомеразой I (Top1), ее ингибитором камптотецином и антираковыми препаратами. Как было указано выше, ингибиторы Top1, такие как камптотецин и его производные (топотекан, иринотекан), применяющиеся в клинике, существенно замедляют скорость обратной реакции, катализируемой Top1. Невозможность восстановить структуру ДНК приводит к образованию одноцепочечных разрывов, которые могут превратиться в более токсичные двухцепочечные. Помимо ингибиторов, ряд повреждений ДНК вблизи от места присоединения Top1 также могут блокировать реакцию лигирования [5–7].

Таким образом, Tdp1 противостоит ингибиторам Top1, которые являются достаточно эффективными антираковыми препаратами [46, 47]. Предполагается, что именно Tdp1 ответственна за лекарственную устойчивость некоторых видов рака [36, 48]. Эта гипотеза подтверждается рядом исследований. Например, мыши, нокаутные по Tdp1, и человеческие клеточные линии, имеющие мутацию SCAN1, гиперчувствительны к камптотецину [21, 49–51]. И наоборот, в клетках с повышенным уровнем экс-

прессии Tdp1 камптотецин и этопозид вызывают меньшее число повреждений ДНК [52, 53]. Таким образом, ингибиторы Tdp1 могут увеличить цитотоксичность камптотецина и других ингибиторов Top1, а сочетание препаратов, воздействующих на Top1 и Tdp1, может существенно повысить эффективность химиотерапии. Терапевтическим эффектом применения ингибиторов Tdp1 может быть селективное увеличение активности ингибиторов Top1 в опухолях с нарушениями в процессах репарации ДНК и контроля клеточного цикла.

В литературе описано ограниченное число ингибиторов Tdp1, которые обладают мягким ингибирующим действием (в диапазоне концентраций 10–100 мкМ) [36, 54, 55]. Проведенный нами скрининг широкого спектра природных соединений и их химически модифицированных производных выявил высокий потенциал производных бензопентатиепина с гибким липофильным заместителем в первом положении в качестве ингибиторов Tdp1 [56]. Значения IC<sub>50</sub> для исследованных соединений находятся в диапазоне 0.2–6.0 мкМ, что позволяет отнести их к наиболее эффективным на настоящий момент ингибиторам Tdp1. Исследование цитотоксичности этих соединений выявило апоптотический эффект на клетках MCF-7 и HepG2. Таким образом, Tdp1 представляется интересным и важным ферментом репарации ДНК, а также перспективной мишенью для создания антираковых препаратов.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (14-14-00501).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yang S.W., Burgin A.B., Jr., HuiZenga B.N., Robertson C.A., Yao K.C., Nash H.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 11534–11539.
2. Chen A.Y., Liu L.F. // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1994. V. 34. P. 191–218.
3. Wang J.C. // Annu. Rev. Biochem. 1996. V. 65. P. 635–692.
4. Wang J.C. // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2002. V. 3. P. 430–440.
5. Pourquier P., Ueng L.M., Kohlhagen G., Mazumder A., Gupta M., Kohn K.W., Pommier Y. // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 7792–7796.
6. Pourquier P., Pilon A.A., Kohlhagen G., Mazumder A., Sharma A., Pommier Y. // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 26441–26447.
7. Pourquier P., Ueng L.M., Fertala J., Wang D., Park H.J., Essigmann J.M., Bjornsti M.A., Pommier Y. // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. P. 8516–8523.
8. Lebedeva N., Auffret Vander Kemp P., Bjornsti M.A., Lavrik O., Boiteux S. // DNA Repair. 2006. V. 5. P. 799–809.

9. Lebedeva N., Rechkunova N., Boiteux S., Lavrik O. // IUBMB Life. 2008. V. 60. P. 130–134.
10. Лебедева Н.А., Речкунова Н.И., Агама К., Поммье И., Лаврик О.И. // Биохимия. 2009. Т. 74. С. 1569–1576.
11. Holm C., Covey J.M., Kerrigan D., Pommier Y. // Cancer Res. 1989. V. 49. P. 6365–6368.
12. Hsiang Y.H., Lihou M.G., Liu L.F. // Cancer Res. 1989. V. 49. P. 5077–5082.
13. Wu J., Liu L.F. // Nucleic Acids Res. 1997. V. 25. P. 4181–4186.
14. Pouliot J.J., Yao K.C., Robertson C.A., Nash H.A. // Science. 1999. V. 286. P. 552–555.
15. Debüthune L., Kohlhagen G., Grandas A., Pommier Y. // Nucleic Acids Res. 2002. V. 30. P. 1198–1204.
16. Interthal H., Chen H.J., Champoux J.J. // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 36518–36528.
17. Takashima H., Boerkoel C.F., John J., Saifi G.M., Salih M.A., Armstrong D., Mao Y., Quioco F.A., Roa B.B., Nakagawa M., Stockton D.W., Lupski J.R. // Nat. Genet. 2002. V. 32. P. 267–272.
18. Inamdar K.V., Pouliot J.J., Zhou T., Lees-Miller S.P., Rasouli-Nia A., Povirk L.F. // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. P. 27162–27168.
19. Zhou T., Lee J.W., Tatavarthi H., Lupski J.R., Valerie K., Povirk L.F. // Nucleic Acids Res. 2005. V. 33. P. 289–297.
20. Das B.B., Dexheimer T.S., Maddali K., Pommier Y. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 19790–19795.
21. El-Khamisy S.F., Katyal S., Patel P., Ju L., McKinnon P.J., Caldecott K.W. // DNA Repair. 2009. V. 8. P. 760–766.
22. Ben Hassine S., Arcangioli B. // EMBO J. 2009. V. 28. P. 632–640.
23. Dexheimer T.S., Stephen A.G., Fivash M.J., Fisher R.J., Pommier Y. // Nucleic Acids Res. 2010. V. 38. P. 2444–2452.
24. Huang S.Y., Murai J., Dalla Rosa I., Dexheimer T.S., Naumova A., Gmeiner W.H., Pommier Y. // Nucleic Acids Res. 2013. V. 41. P. 7793–7803.
25. Raymond A.C., Rideout M.C., Staker B., Hjerrild K., Burgin A.B. // J. Mol. Biol. 2004. V. 338. P. 895–906.
26. Rideout M.C., Raymond A.C., Burgin A.B. // Nucleic Acids Res. 2004. V. 32. P. 4657–4664.
27. Antony S., Marchand C., Stephen A.G., Thibaut L., Agama K.K., Fisher R.J., Pommier Y. // Nucleic Acids Res. 2007. V. 35. P. 4474–4484.
28. Interthal H., Pouliot J.J., Champoux J.J. // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 2001. V. 98. P. 12009–12014.
29. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G. // Structure. 2002. V. 10. P. 237–248.
30. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G. // Chem. Biol. 2003. V. 10. P. 139–147.
31. Plo I., Liao Z.Y., Barcelo J.M., Kohlhagen G., Caldecott K.W., Weinfeld M., Pommier Y. // DNA Repair. 2003. V. 2. P. 1087–1100.
32. Interthal H., Chen H.J., Kehl-Fie T.E., Zotzmann J., Leppard J.B., Champoux J.J. // EMBO J. 2005. V. 24. P. 2224–2233.
33. Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., Lavrik O.I. // FEBS Lett. 2011. V. 550. P. 683–686.
34. Wilson D.M., Barsky D. // Mutat Res. 2001. V. 485. P. 283–307.
35. Sczepanski J.T., Wong R.S., McKnight J.N., Bowman G.D., Greenberg M.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2010. V. 107. P. 22475–22480.
36. Dexheimer T.S., Antony S., Marchand C., Pommier Y. // Anticancer Agents Med. Chem. 2008. V. 8. P. 381–389.
37. El-Khamisy S.F., Saifi G.M., Weinfeld M., Johansson F., Helleday T., Lupski J.R., Caldecott K.W. // Nature. 2005. V. 434. P. 108–113.
38. Prasad R., Williams J.G., Hou E.W., Wilson S.H. // Nucleic Acids Res. 2012. V. 40. P. 11571–11582.
39. Nilsen L., Forstrum R.J., Bjures M., Alseth I. // Nucleic Acids Res. 2012. V. 40. P. 2000–2009.
40. Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., Ishchenko A.A., Sarpabaev M., Lavrik O.I. // DNA Repair. 2013. V. 12. P. 1037–1042.
41. Sobol R.W., Prasad R., Evenski A., Baker A., Yang X.P., Horton J.K., Wilson S.H. // Nature. 2000. V. 405. P. 807–810.
42. Лебедева Н.А., Речкунова Н.И., Лаврик О.И. // Доклады Академии Наук. 2014. Т. 455. С. 474–477.
43. Gillet L.C., Schdrrer O.D. // Chem. Rev. 2006. V. 106. P. 253–276.
44. Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., El-Khamisy S.F., Lavrik O.I. // Biochimie. 2012. V. 94. P. 1749–1753.
45. Cortes Ledesma F., El Khamisy S.F., Zuma M.C., Osborn K., Caldecott K.W. // Nature. 2009. V. 461. P. 674–678.
46. Pommier Y. // Nat. Rev. Cancer. 2006. V. 6. P. 789–802.
47. Pommier Y., Leo E., Zhang H., Marchand C. // Chem. Biol. 2010. V. 17. P. 421–433.
48. Beretta G.L., Cossa G., Gatti L., Zunino F., Perego P. // Curr. Med. Chem. 2010. V. 17. P. 1500–1508.
49. Das B.B., Antony S., Gupta S., Dexheimer T.S., Redon C.E., Garfield S., Shiloh Y., Pommier Y. // EMBO J. 2009. V. 28. P. 3667–3680.
50. Katyal S., el-Khamisy S.F., Russell H.R., Li Y., Ju L., Caldecott K.W., McKinnon P.J. // EMBO J. 2007. V. 26. P. 4720–4731.
51. Hirano R., Interthal H., Huang C., Nakamura T., Deguchi K., Choi K., Bhattacharjee M.B., Arimura K., Umehara F., Izumo S., Northrop J.L., Salih M.A., Inoue K., Armstrong D.L., Champoux J.J., Takashima H., Boerkoel C.F. // EMBO J. 2007. V. 26. P. 4732–4743.
52. Barthelmes H.U., Habermeyer M., Christensen M.O., Mielke C., Interthal H., Pouliot J.J., Boege F., Marko D. // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 55618–55625.
53. Nivens M.C., Felder T., Galloway A.H., Pena M.M., Pouliot J.J., Spencer H.T. // Cancer Chemother. Pharmacol. 2004. V. 53. P. 107–115.
54. Antony S., Marchand C., Stephen A.G., Thibaut L., Agama K.K., Fisher R.J., Pommier Y. // Nucleic Acids Res. 2007. V. 35. P. 4474–4484.
55. Nguyen T.X., Morrell A., Conda-Sheridan M., Marchand C., Agama K., Bermingham A., Stephen A.G., Chergui A., Naumova A., Fisher R., O'Keefe B.R., Pommier Y., Cushman M. // J. Med. Chem. 2012. V. 55. P. 4457–4478.
56. Zakharenko A.L., Khomenko T.M., Zhukova S.V., Koval O.A., Zakharova O.D., Anarbaev R.O., N.A. Lebedeva N.A., Korchagina D.V., Komarova N.I., Vasiliev V.G., Reynisson J., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. // Bioorg. Med. Chem. 2015. V. 23. P. 2044–2052.

## Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1 Is a New Player in Repair of Apurinic/Apyrimidinic Sites

N. I. Rechkunova, N. A. Lebedeva, O. I. Lavrik\*,#

#Phone: +7 (383) 363-51-96; e-mail: lavrik@niboch.nsc.ru

\*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, ul. Lavrentieva 8, Novosibirsk, 630090 Russia  
Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia

Genomic DNA is constantly damaged by the action of exogenous factors and endogenous reactive metabolites. Apurinic/apyrimidinic sites (AP sites), which occur as a result of DNA glycosylase induced or spontaneous hydrolysis of the *N*-glycosidic bonds, are the most common damages of DNA. The chemical reactivity of AP sites is the cause of DNA breaks, and DNA-protein and DNA-DNA crosslinks. Repair of AP sites is one of the most important mechanisms for maintaining genome stability. Despite the fact that the main participants of the AP site repair are very well studied, the new proteins that could be involved potentially in this process as “back up” players or perform certain specialized functions are being found. This review is dedicated to one of these proteins, tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 (Tdp1), for which we have recently shown that in addition to its main activity of specific cleavage of the tyrosyl-DNA bond formed via a covalent attachment of topoisomerase 1 (Top1) to DNA, Tdp1 is able to initiate the cleavage of the internal AP sites in DNA and their following repair. Tdp1 was discovered in *Saccharomyces cerevisiae* yeast as an enzyme hydrolyzing the covalent bond between tyrosyl residue of topoisomerase 1 and 3'-phosphate group in DNA. Tdp1 is the major enzyme which carries out the repair of the irreversible complexes of DNA and topoisomerase 1, which appear in the presence of Top1 inhibitors, such as camptothecin, therefore Tdp1 is a very important target for the development of inhibitors—anticancer drugs. Besides, Tdp1 hydrolyzes a wide range of 3'-terminal DNA modifications and the 3'-end nucleosides and its derivatives to form a 3'-phosphate. Tdp1 ability to cleave AP sites suggests its involvement in the base excision repair as an alternative enzyme to cleave AP sites instead of AP endonuclease 1—the major enzyme hydrolyzing AP sites in DNA repair process.

*Keywords: tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1, apurinic/apyrimidinic sites, base excision repair, inhibitors of repair enzyme*