

Evolucija mehanizama popravka DNA

Pul, Patrik

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:738712>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)

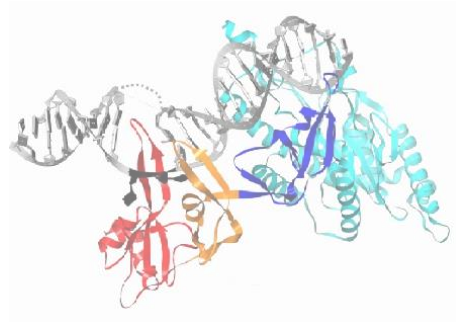


SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Seminarski rad

Evolucija mehanizama popravka DNA

Evolution of DNA repair mechanisms



Patrik Pul

Preddiplomski studij molekularne biologije
Undergraduate Study of Molecular Biology

Mentor: izv. prof. dr. sc. Damjan Franjević

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

UVOD	1
1. Evolucija popravka pogrešno sparenih baza - MMR	2
1.1. Očuvanost MMR puta kod eukariota i bakterija	2
1.2. Očuvanost mehanizama prepoznavanja i diverzifikacija MutS proteina	4
1.3. Diverzifikacija MutL proteina i gubitak endonukleazne aktivnosti	5
1.4. Evolucija <i>mutS</i> i <i>mutL</i> obitelji gena	6
1.5. Evolucija MMR sustava vođenog metilom	7
1.6. Alternativni MMR kod većine arheja i nekih bakterija	8
2. Evolucija direktnog popravka fotolijazom – PHR	9
2.1. Fotolijaze i kriptokromi	9
2.2. Evolucija CRY/PHR superobitelji	10
2.3. Vežanje lezija i tranzicija prema kriptokromima	12
2.4. Evolucija CPD i (6-4) PP popravka	13
3. Evolucija popravka izrezivanjem nukleotida – NER	14
3.1. Konvergentna evolucija NER puta kod eukariota i bakterija	14
3.2. Postoji li NER kod arheja?	15
3.3. Evolucija XPD, XPF i XPB proteina	16
ZAKLJUČAK	20
LITERATURA	21
SAŽETAK	26
SUMMARY	26

UVOD

Genomi svih organizama svakodnevno su izloženi raznim utjecajima koji narušavaju očuvanje integriteta nasljedne upute. Postoji širok spektar oštećenja i nepravilnosti koje mogu nastati u molekuli DNA, od spontanih do onih uzrokovanih okolišnim faktorima poput zračenja ili kao posljedica nesavršenosti replikacijske mašinerije. Ta oštećenja i nepravilnosti mogu rezultirati nastankom mutacija, najčešće neutralnih koje ne utječu na sposobnost preživljavanja organizma. Mutacije su također zaslužne za stvaranje genetičke raznolikosti koja je od ključne važnosti za proces evolucije, ali mogu i negativno utjecati na sposobnost organizma da uspješno preživljava. Kroz proces evolucije pojavili su se razni mehanizmi kojima se te greške i nepravilnosti mogu ispraviti. Gotovo svi organizmi u sve tri domene živoga svijeta, definirane prema razlikama u genima za 16S rRNA (*Bacteria*, *Archaea* i *Eukaryota*), kodiraju čitav arsenal različitih proteina i enzima koji imaju sposobnost manipulacije molekulom DNA u tu svrhu.

Postoji mnogo različitih puteva popravka različite specifičnosti za pojedina oštećenja i nepravilnosti: popravak pogrešno sparenih baza (MMR – eng. *mismatch repair*), popravak izrezivanjem nukleotida (NER – eng. *nucleotide excision repair*), popravak izrezivanjem baze (BER – eng. *base excision repair*), direktni fotopopravak (PHR- eng. *photorepair*), popravak pomoću VSR endonukleaze, translezijska sinteza i rekombinacijski popravak. Neki od njih su homologni u različitim skupinama organizama dok su neki specifični za pojedine skupine. Čak i u nekim relativno očuvanim putevima postoje određene razlike između skupina. Cilj ovog rada je dati neki pregled evolucije odabranih puteva popravka u tri domene života na temelju dosadašnjih istraživanja. Razmatraju se očuvani i divergentni aspekti, te evolucija funkcije pojedinih proteina koji u tim putevima sudjeluju. U ovom završnom seminaru obrađeni su:

1. Put popravka pogrešno sparenih baza
2. Direktna reverzija oštećenja fotolijazama
3. Put popravka izrezivanjem nukleotida

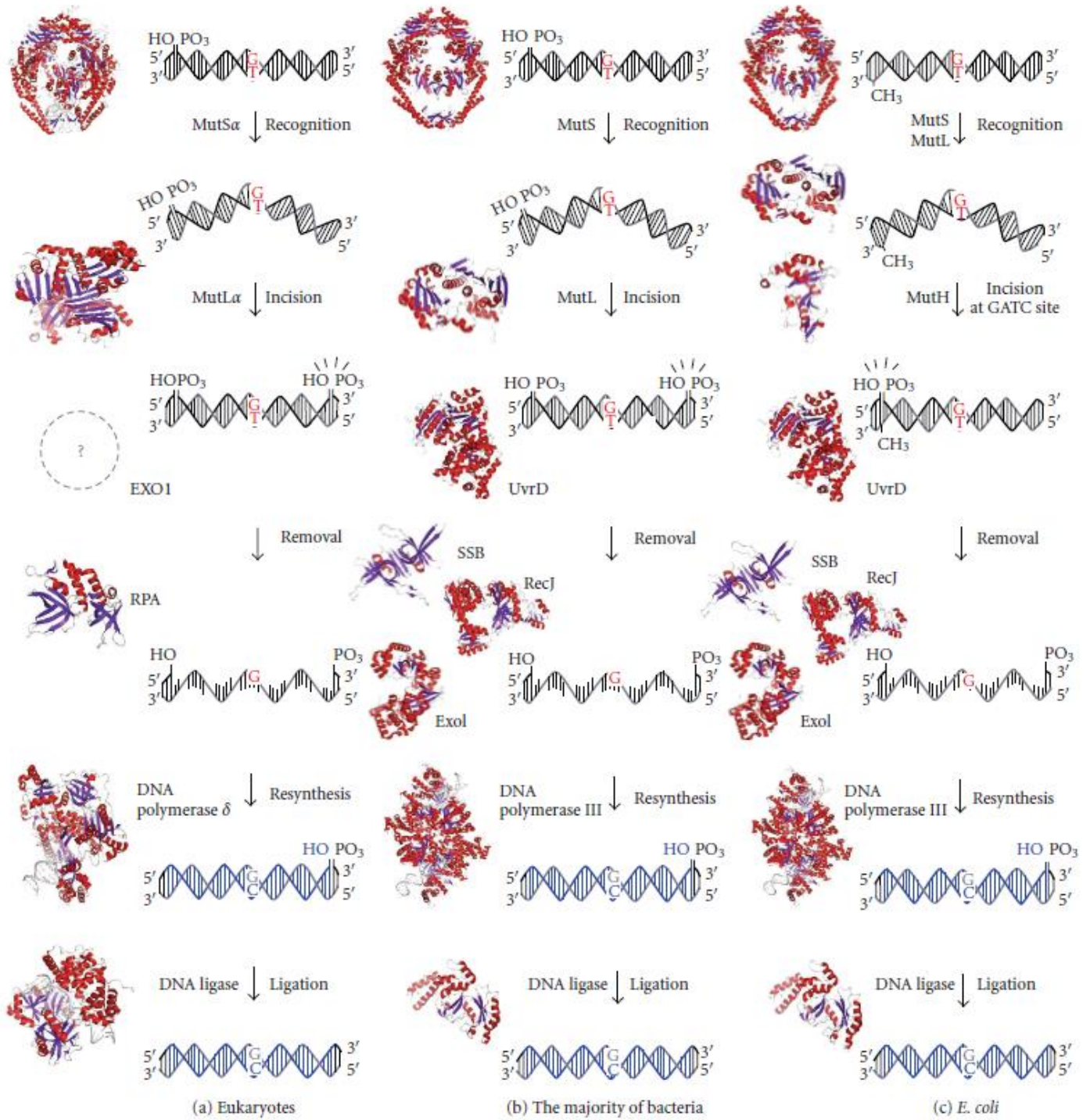
1. Evolucija popravka pogrešno sparenih baza - MMR

1.1. Očuvanost MMR puta kod eukariota i bakterija

Popravak pogrešno sparenih baza je put popravka u kojem se prepoznaju i popravljaju pogrešno sparene baze u DNA zavojnici, ali i insercijsko-delecijske petlje (ID – eng. insertion-deletion loop). Do pogrešnog sparivanja baza najčešće dolazi zbog dodavanja pogrešne baze tijekom replikacije ili zbog nastanka modificiranih baza koje ne prate uobičajeno Watson-Crickovo sparivanje. MMR se odvija ubrzo nakon ili tijekom replikacije¹. Kod bakterija i eukariota je MMR put relativno očuvan posebice u prvim reakcijama prepoznavanja oštećenja međutim razlikuju se u nekim nizvodnim reakcijama (Slika 1).

Kod eukariota pogrešno sparene baze prepoznaju proteinski kompleksi MutS α ili MutS β nakon čega proteinski kompleks MutL α uvodi ureze u novosintetiziranom tromom ili vodećem lancu distalno od lezije u odnosu na postojeći urez. EXO1 (5'-3' egzonukleaza) degradira nastali fragment, a RPA proteini stabiliziraju nastalu jednolančanu DNA. Ako s 5' strane lezije u blizini postoji praznina između Okazakijevih fragmenata MutL α ne uvodi ureze. Urezi se uvode u vodećem lancu, a u tromom onda kada nema bliske praznine između Okazakijevih fragmenata s 5' strane lezije. Reparativnu sintezu vrše DNA polimeaza δ i DNA ligaza^{1,2}. Sličan mehanizam koristi i većina bakterija gdje MutS prepoznaje leziju, a MutL uvodi ureze. Izrezivanje vrše razne egzonukleaze poput RecJ i ExoI (postoje i druge), a kod nekih bakterija često i uz pomoć UvrD helikaze. SSB proteini stabiliziraju nastalu jednolančanu DNA. DNA polimeraza III i ligaza vrše reparativnu sintezu^{1,3}.

Manji broj bakterija među kojima je i *E.coli* posjeduje nešto drugačiji MMR put. Prepoznavanje lezije također vrši MutS međutim razlika je u tome što za uvođenje ureza koriste MutH endonukleazu umjesto MutL. MutH specifično prepoznaje nemetilirano GATC mjesto u hemimetiliranoj DNA u kratkom periodu nakon replikacije prije nego što Dam metiltransferaza metilira novosintetizirani lanac. MutL ovdje služi kao medijator interakcija s MutH. Izrezivanje se vrši raznim egzonukleazama (ExoI, RecJ i dr.) ovisno o položaju uvedenog ureza u odnosu na leziju te UvrD helikazom. U stabilizaciji sudjeluju SSB proteini, a reparativnu sintezu vrše DNA polimeraza III i ligaza kao kod ostalih bakterija^{1,3}. Iz navedenoga je vidljivo da su MutS i MutL homolozi očuvani u MMR putu bakterija i eukariota te da predstavljaju temelj za odvijanje ovog puta popravka.

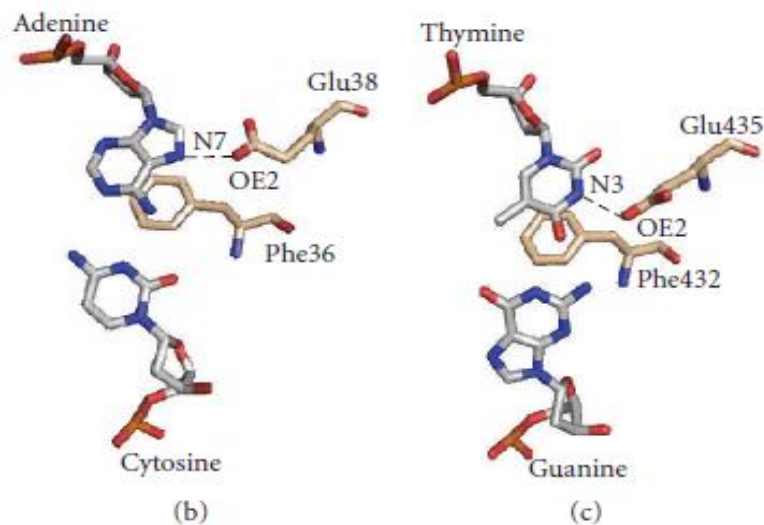


Slika 1. Usporedba MMR puta kod bakterija i eukariota ¹.

1.2. Očuvanost mehanizma prepoznavanja i diverzifikacija MutS proteina

MutS proteini sudjeluju u prepoznavanju krivo sparenih baza te ID petlji. Pripadaju ABC obitelji ATP-aza te koriste ATP za regulaciju aktivnosti ⁴. Kod bakterija je primarna struktura MutS visokoočuvana te on tvori homodimere dok je kod eukariotskih homologa došlo do znatne diverzifikacije; MSH2, MSH3 i MSH6 su vrlo slični bakterijskom MutS te tvore heterodimere MutS α (MSH2/MSH6) i MutS β (MSH2/MSH3) ^{1, 5, 6, 7}. Postoje i neki drugi homolozi koji su specifični za pojedine skupine eukariota međutim njihove uloge nisu u potpunosti poznate. Neki sudjeluju u popravku mitohondrijske i plastidne DNA dok ostali najvjerojatnije u nekim drugim procesima ⁸. MutS α glavni je u prepoznavanju krivo sparenih baza te kraćih ID petlji, a MutS β preferira veće ID petlje ⁹. Za sve navedene homologe uočena je funkcionalna asimetrija, odnosno samo jedna podjedinica prepoznaje leziju, a to vrijedi i za bakterijski MutS ¹⁰.

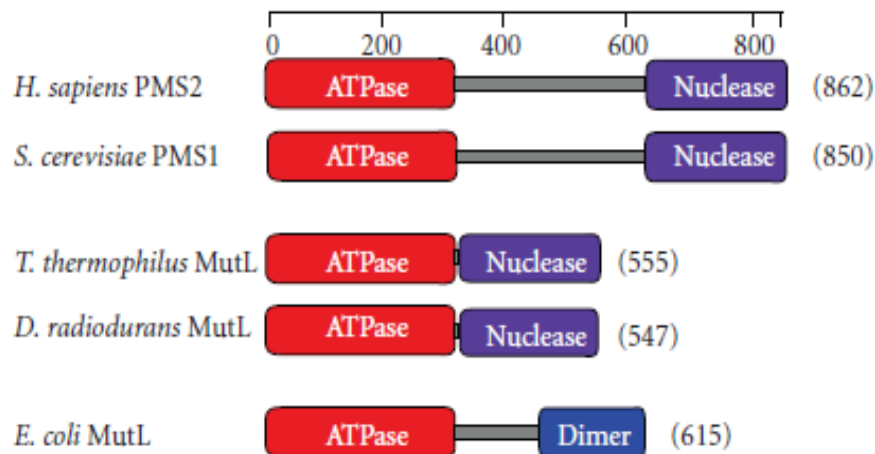
Mehanizam prepoznavanja krivo sparenih baza interkalacijom fenilalanina kroz mali utor očuvan je kod bakterija i eukariota Phe36 kod *E.coli* MutS odnosno Phe432 kod humanog MSH6 ¹¹. Susjedni glutamat (Glu38 kod *E.coli* MutS odnosno Glu 434 kod humanog MSH6) također je očuvan, a stvaranjem vodikove veze s pogrešno uvrštenom bazom potvrđuje grešku (Slika 2.) ¹². Zanimljivo je da kod MSH3 nedostaje ključni fenilalanin te umjesto njega sadrži nekoliko polarnih aminokiselina koje ostvaruju interakcije s okosnicom većih ID petlji te tako omogućuju njihovo prepoznavanje ¹³.



Slika 2. Prepoznavanje pogrešno sparenih baza kod bakterijskog (b) i eukariotskog (c) MutS ¹.

1.3. Diverzifikacija MutL proteina i gubitak endonukleaze aktivnosti

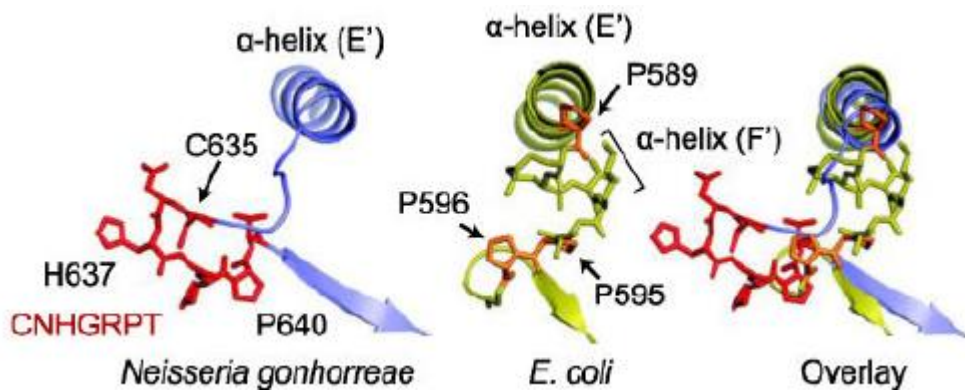
Bakterijski MutL homolozi tvore homodimere, a eukariotski heterodimere MutL α (humani MLH1/PMS2), MutL β (humani MLH1/PMS1) i MutL γ (humani MLH1/MLH3). MutL α ima vodeću ulogu u ovome tipu popravka kod eukariota dok funkcija MutS β u ovome putu nije u potpunosti razjašnjena¹. Poznato je da MutL γ ima važnu ulogu u razrješenju Hollidayevih veza u mejotičkoj rekombinaciji što pokazuje da je diverzifikacija ovih proteina dovela do podjele uloga u drugim putevima procesuiranja DNA izvan kanonskog MMR puta popravka¹⁴. MutL proteini organizirani su u dvije domene (Slika 3.) ; N-terminalnu ATP-aznu i C-terminalnu dimerizacijsku/endonukleaznu domenu koje su uglavnom kod eukariota povezane dugom spojnicom¹⁵. ATP vezujuća domena igra ulogu u interakciji MutL s MutS te u kontroli endonukleazne aktivnosti MutL. C-terminalna domena sudjeluje u dimerizaciji te kod eukariota i velikog broja bakterija sadrži endonukleaznu aktivnost važnu za uvođenje jednolančanih ureza koji služe kao signal za nizvodne reakcije izrezivanja¹.



Slika 3. Strukturna organizacija MutL homologa kod različitih organizama¹.

Jedna od glavnih značajki evolucije MutL proteina je gubitak endonukleazne aktivnosti kod bakterija koje sadrže MutH endonukleazu i MMR vođen metilacijom DNA. Do gubitka endonukleazne aktivnosti došlo je zbog promjena u petlji koja sadrži CNHGRPT motiv. U njoj se nalaze histidin i cistein koji vežu metalne ligande važne za katalizu (Cys635 i His637 kod vrste *Neisseria gonorrhoeae*). Ta važna petlja izlazi iz α -zavojnice E' kod *N. gonorrhoeae* dok je kod *E. coli* i

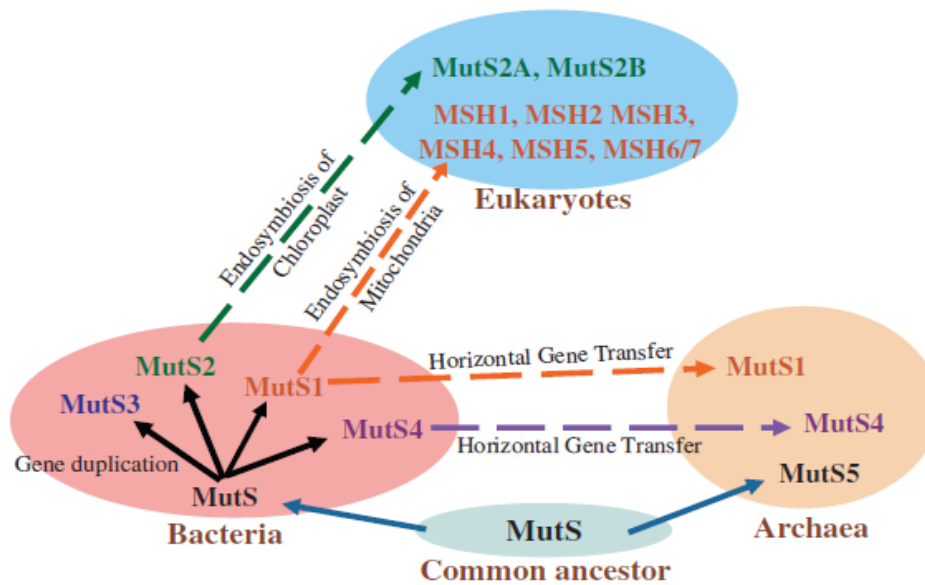
Enterobacteriales ona narušena s tri očuvana prolina Pro589, Pro595 i Pro596. Pro589 terminira α -zavojnica E' i započinje kratku α -zavojnica F' koja završava s Pro595 i Pro596. Razlozi gubitka endonukleazne aktivnosti kod drugih bakterija su raznovrsniji (Slika 4.)³.



Slika 4. MutL petlja s CNHGRPT motivom kod *N. gonorrhoeae* i *E. coli*³.

1.4. Evolucija *mutS* i *mutL* obitelji gena

Otkriveno je čak pet podobitelji *mutS* gena od kojih proteini kodirani genima *mutS1* i *mutS2* podobitelji sudjeluju u MMR putu kod raznih organizama. Model koji postuliraju Zhenguo i suradnici 2007. kaže da je prvotno došlo do nekoliko duplikacija predačkog *mutS* gena prije divergencije bakterija pri čemu su nastale obitelji *mutS1-4*. Arheje su naslijedile ancestralni gen koji evoluirao u *mutS5* gen međutim on je izgubljen u većine arhejskih vrsta. Kod nekih arheja su pronađeni homolozi *mutS1* gena dobivenih horizontalnim transferom od bakterija međutim većina recentnih arheja ne posjeduje kanonski MMR sustav. Eukariotski *mutS1* homolozi nastali su duplikacijom iz predačkih gena dobivenih horizontalnim transferom iz α -proteobakterija tijekom endosimbiotskog postanka mitohondrija. Kod biljaka i zelenih algi je dodatno došlo do horizontalnog transfera i duplikacije *mutS2* gena endosimbiozom kloroplasta (Slika 5). Zapaženo je da se *mutL* homolozi nalaze isključivo kod vrsta koje sadrže *mutS1* te da su u arheje i eukariote također dospjeli horizontalnim transferom. Obje skupine gena karakterizira značajna diverzifikacija u eukariota te specijalizacija na funkcije izvan primarnog MMR puta posebice u mejozi. Ova zapažanja upućuju na koevoluciju *mutS* i *mutL* obitelji⁸.

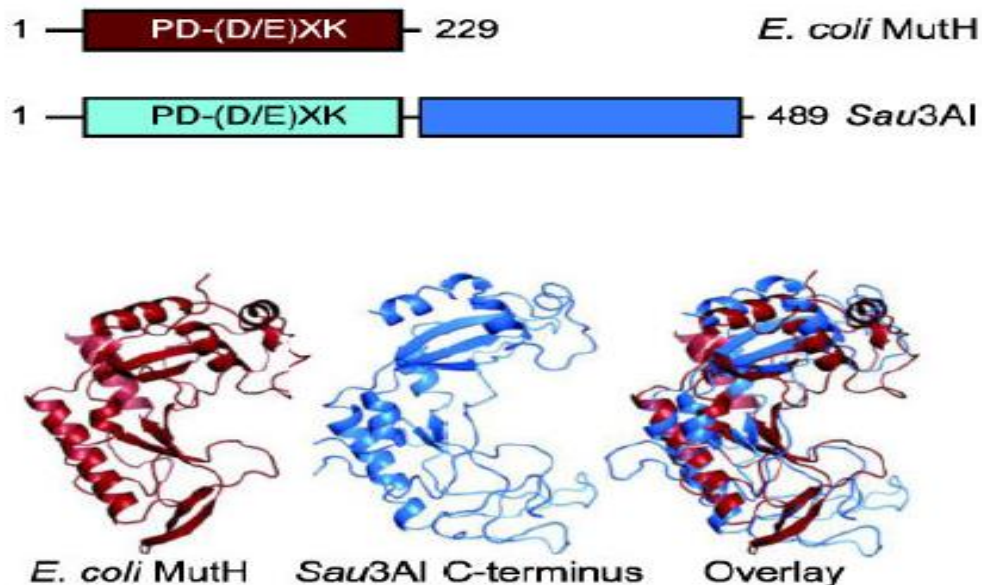


Slika 5.. Model porijekla i evolucije *mutS* gena ⁸.

1.5. Evolucija MMR sustava vođenog metilom

Ovakav MMR postoji u nekim redovima *Gammaproteobacteria*, a to su *Enterobacteriales*, *Pasteurellales*, *Vibrionales*, *Aeromonadales* i neke *Alteromonadales* (EPVAA grupa) te neke *Gammaproteobacteria* koje su potrebne gene dobile horizontalnim transferom – *Legionella*, *Fluoribacter*, *Tatlockia*, *Methylophaga* i *Nitrosococcus* ³. Smatra se da je ovakav MMR vođen metilom nastao iz kanoničnog MMR sustava drugih organizama.

Prvi korak u njegovoj evoluciji je akvizicija Dam metiltransferaze koja je blisko srodna drugim metiltransferazama restriksijsko- modifikaicjskih sustava ¹⁶. Drugi korak je akvizicija MutH i gubitak endonukleazne aktivnosti MutL. MutH je mogao nastati iz restriksijske endonukleaze tipa II s PD-(D/E)XK motivom koja je zajednički predak sa *Sau3AI* koji ima dvije gotovo identične domene od kojih samo N-terminalna sadrži taj motiv (Slika 6.). Većina restriksijskih endonukleaza su homodimeri čije podjedinice svaka režu po jedan lanac DNA dok je MutH stabilni monomer u otopini i vezan na DNA, a *Sau3AI* monomer slobodan i dimerizira kod vezanja na DNA. Oba enzima cijepaju na 5' gvanina u d(GATC) mjestima. U prilog toj hipotezi ide i činjenica je enzimska aktivnost oba proteina inducibilna, za MutH kroz interakcije s MutL, a za *Sau3AI* alosterički ³.



Slika 6. Strukturna organizacija MutH (iz *E. coli*) i *Sau3AI*³.

1.6. Alternativni MMR kod većine arheja i nekih bakterija

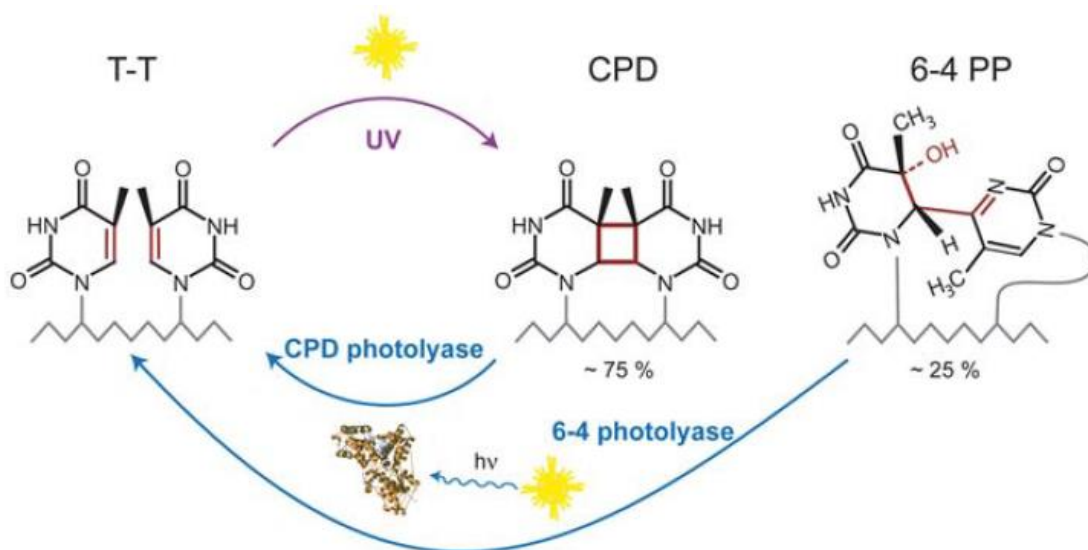
Većina arheja ne posjeduje kanonski MMR put popravka te kod njih nije uočena povećana stopa mutacija, a kod onih koje ga posjeduju poput *Halobacterium salinarum* delecije u *mutS* i *mutL* genima ne dovode do razvoja mutatorskog fenotipa^{17, 18}. Ove činjenice upućuju na postojanje alternativnog puta popravka krivo sparenih baza. Istraživanja na vrsti *Pyrococcus furiosus* potvrdila su postojanje endonukleaze EndoMS (NucS) koja specifično cijepa DNA na mjestu krivo sparenih baza¹⁹. Strukturne analize pokazale su da EndoMS tvori dimere gdje svaka podjedinica uvodi urez u jedan lanac što rezultira dvolančanim lomom koji bi se mogao popraviti homolognom rekombinacijom. Također je uočena interkacija EndoMS s PCNA što upućuje na moguću lokalizaciju ovih proteina na novosintetiziranu DNA kako bi se pogreške u replikaciji odmah prepoznale^{20, 21}. Nedostatak nukleazne aktivnosti *in vitro* sugerira da u tom alternativnom putu sudjeluju dodatni nepoznati proteini. EndoMS pronađen je i kod nekih *Actinobacteria* kojima nedostaju MutS/MutL proteini²². Evolucijsko porijeklo EndoMS nije razjašnjeno međutim mehanizam djelovanja nalikuje mehanizmu koji koriste restriksijske endonukleaze tipa II.

2. Evolucija direktnog popravka fotolijazom – PHR

2.1. Fotolijaze i kriptokromi

Fotolijaze su enzimi koji kataliziraju direktnu reverziju najčešćih oštećenja prouzrokovanih UV zračenjem. Ciklobutanski pirimidinski dimeri (CPD – eng. cyclobutane pyrimidine dimer) čine oko 75% takvih oštećenja, a oko 25% čine (6-4) fotoprodukti (PP- eng. pyrimidine-pyrimidone photoproduct) (Slika 7.). Takva oštećenja mogu inhibirati replikaciju DNA i transkripciju te rezultirati mutacijama kada se pri replikaciji zaobilaze mutagenim translezijskim polimerazama^{23,24}.

Fotolijaze su flavoproteini; u aktivnom mjestu sadrže najčešće FAD u reduciranom obliku (FADH⁻) koji zajedno sa susjednim aminokiselinama proteina sudjeluje u vezanju i katalizi reverzije oštećenja²⁵. Osim toga sadrže i drugi kromofor, najčešće MTHF ili 8-HDF koji služi kao antena koja apsorbira plavu svjetlost te prenosi ekscitacijsku energiju na FAD i izbacuje njegove elektrone u CPD/(6-4) PP^{24, 26}. Recentne fotolijaze pripadaju CRY/PHR superobitelji proteina koja uključuje i kriptokrome (CRY); flavoproteinske receptore koji koriste svjetlost za regulaciju ekspresije gena i cirkadijanih ritmova. Takvi su proteini mnogobrojni međutim izraz “kriptokrom” odnosi se na one koji su homologni fotolijazama (25-40% sličnosti u slijedu aminokiselina)²⁷.



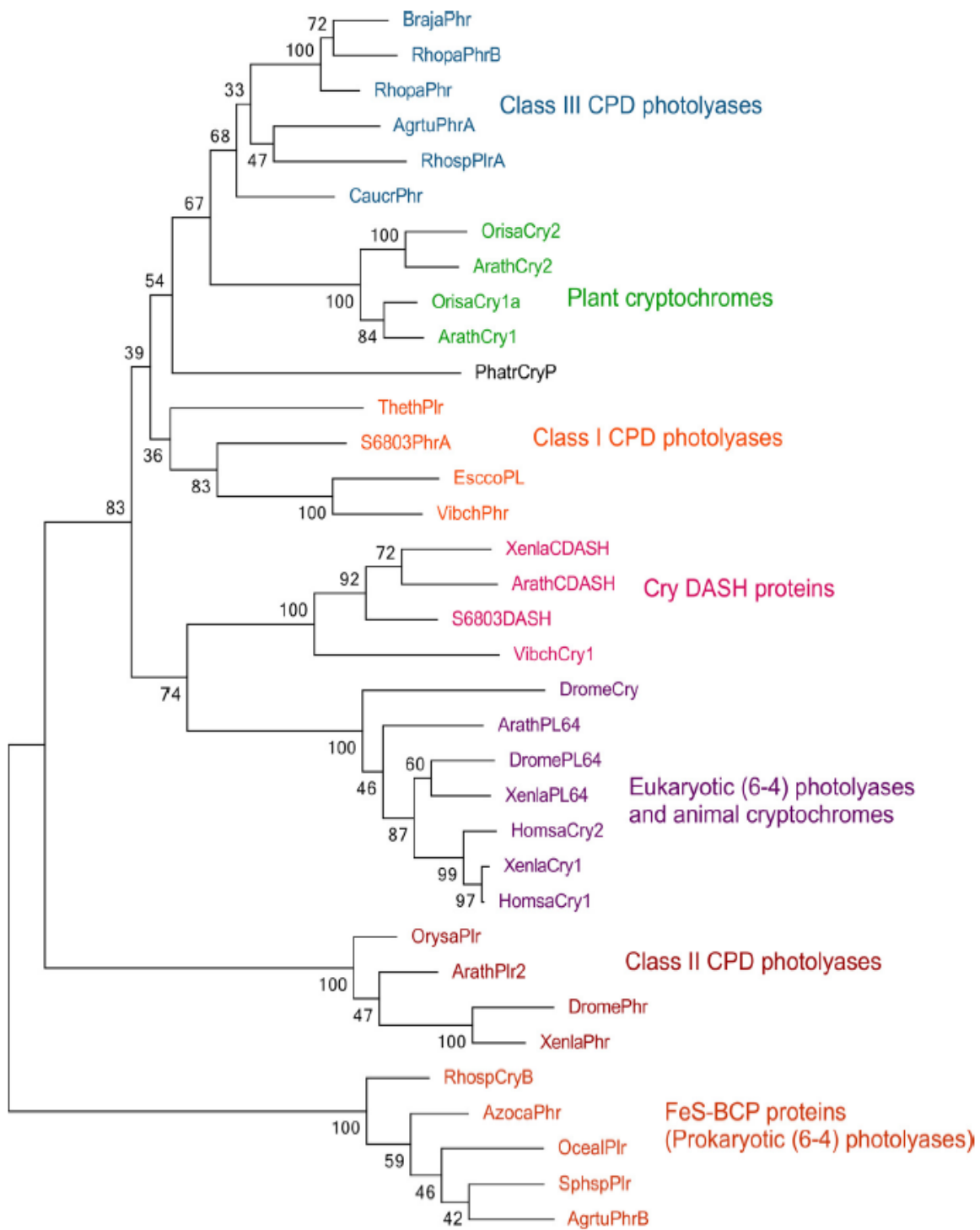
Slika 7. Shema reverzije oštećenja fotolijazama³⁰.

2.2. Evolucija CRY/PHR superobitelji

CRY/PHR superobitelj sastoji se od 7 podobitelji: CPD tip I, CPD tip II, CPD tip III, (6-4) fotolijaze s animalnim kriptokromima, CRY-DASH, biljni CRY i prokariotski FeS-BCP (Slika 8.)²⁸. CRY/PHR su rasprostranjeni u svim domenama živog svijeta te se smatra da je LUCA posjedovao nekoliko gena za ove proteine koji su začetnici recentnih pripadnika ove superobitelji²⁹. Fotolijazna aktivnost omogućila mu je preživljavanje u drevnim uvjetima velike količine UV zračenja koja je za tri reda veličine veća od današnje³⁰. Vjerojatno je predak CRY/PHR proteina bio CPD fotolijaza s primarnom ulogom fotopopravka, ali je posjedovao i mogućnost fotoregulacije aktivnosti raznih gena²⁹. Pretpostavlja se da su obje funkcije primarno igrale ulogu u zaštiti od UV zračenja; fotolijazna za popravak oštećenja, te kriptokromska za svjetlosnu regulaciju ponašanja odnosno izbjegavanje zračenja²⁹. Dobar recentni primjer za ovakvo ponašanje su planktonski organizmi čije je gibanje u stupcu vode regulirano svjetlošću preko kriptokroma³¹.

Kroz višestruke duplikacije originalnih gena došlo je do specijalizacije pojedinih homologa za određene funkcije te su tako kriptokromi izgubili sposobnost popravka DNA dok su fotolijaze izgubile kriptokromsku aktivnost. Unatoč tome i dalje postoje primjeri CRY/PHR proteina koji su zadržali obje funkcije kao što je npr. CryA iz *Aspergillus nidulans* te CRY-DASH proteini koji sadrže N-terminalnu ekstenziju za prijenos signala poput ArathCry3 iz *Arabidopsis thaliana* uz fotolijaznu aktivnost na jednolančanoj DNA²⁹. Kod nekih bakterija i arheja došlo je do potpunog gubitka PHR gena što se povezuje s naseljavanjem staništa slabo izloženih UV zračenju²⁹.

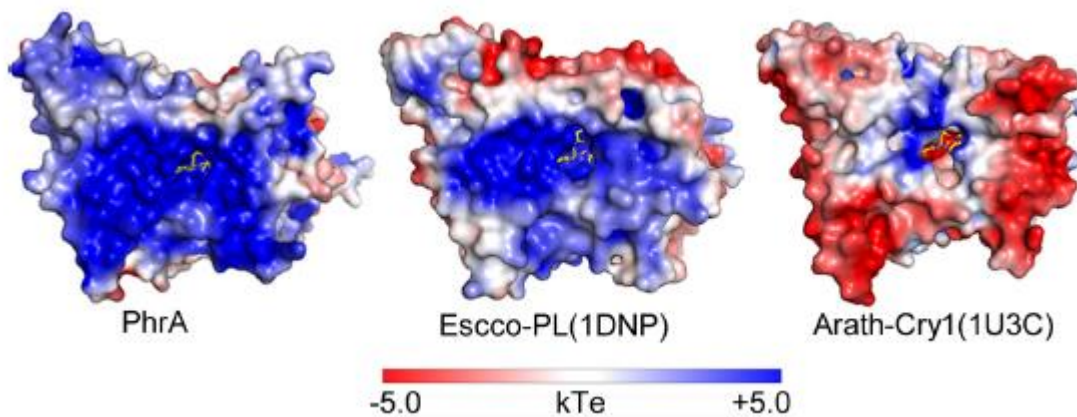
Zanimljivo je da kod placentalnih sisavaca za razliku od drugih Metazoa dolazi do gubitka PHR što se povezuje s nekoliko faktora kao što su pojava dlake i zaštitne pigmentacije, ali i posljedičnim povećanjem evolvabilnosti koje je omogućilo bržu adaptaciju na promijenjene uvjete²⁹. Iznenadujuće je to da fotolijaze kodiraju i dvolančani DNA genomi nekih virusa poput *Myxoma virusa* i dr. Popravak oštećenja induciranih UV zračenjem štiti ih od gubitka virulentnosti dok se nalaze izvan domaćina. Porijeklo virusnih gena za fotolijaze je nepoznato, no smatra se da su ih pokupili od domaćina rano u evoluciji³².



Slika 8. Filogenetsko stablo CRY/PHR superobitelji proteina s odabranim vrstama ²⁸.

2.3. Vežanje lezija i tranzicija prema kriptokromima

Fotolijaze vežu lezije po principu prevrtanja baze (eng. *base flipping*) u hidrofobni džep nakon vezanja DNA³³. Površinu fotolijaza u blizini DNA vezujućeg džepa karakterizira pozitivan naboj kojim se ostvaruju interakcije s okosnicom DNA. Odsustvo pozitivno nabijenih aminokiselina u ovoj regiji kod kriptokroma moguće je objašnjenje za gubitak fotolijazne aktivnosti. Npr. u usporedbi elektrostatskih potencijala (Slika 9.) površine PhrA fotolijaze iz *Agrobacterium tumefaciens*, CPD I fotolijaze iz *E. coli* (Escco-PL) s bliskim srodnikom ArathCry1 kriptokromom iz *Arabidopsis thaliana* vidi se da je površina znatno negativnije nabijena kod ArathCry1 koji ne posjeduje fotolijaznu aktivnost²⁸.



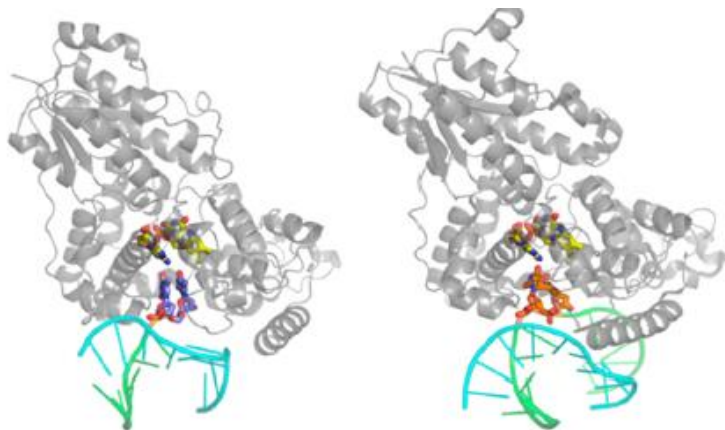
Slika 9. Usporedba elektrostatskih potencijala PhrA, Escco-PL i ArathCry1²⁸.

Također u navedenom džepu postoji šest očuvanih aminokiselina kojima se ostvaruju interakcije s lezijom. Kod PhrA, CPD I fotolijaze iz *E. coli* i CPD I iz *Anacystis nidulans*, a to su Arg-230, Glu-277, Trp-280, Asn-343, Met-347 i Trp-386. S obzirom na evolucijsku srodnost PhrA i ArathCry1 zapanjujuće je da je samo jedna aminokiselina Lys292 u ArathCry1 identična kao u PhrA (Lys292) u DNA vezujućem džepu, a niti jedna od šest navedenih nije očuvana. Vrlo drastična evolucija u toj regiji proteina također je uzrok gubitka fotolijazne aktivnosti kod biljnih kriptokroma. Zanimljivo je da CRY-DASH protein ArathCry3 koji na homolognim pozicijama sadrži četiri identične te dvije izmijenjene aminokiseline (Gln-395 i Tyr-434) posjeduje slabu fotolijaznu aktivnost²⁸.

2.4. Evolucija CPD i (6-4) PP popravka

Fotolijaze su vrlo selektivne u izboru supstrata pa tako CPD fotolijaze ne mogu popravljati (6-4) fotoprodukte, a (6-4) fotolijaze ne popravljaju ciklobutanske pirimidinske dimere. Kako su ovo najčešći tipovi oštećenja uzrokovanih UV zračenjem, ne čudi da je došlo do evolucije specijaliziranih enzima. Unatoč vrlo sličnoj strukturi (6-4) fotolijaza iz vrste *Drosophila melanogaster* i CPD fotolijaza iz *Anacystis nidulans* imaju samo oko 25% sličnosti u slijedu nukleotida (Slika 10.). Međutim nepoznato je što je dovelo do divergencije ovih dvaju tipova fotolijaza ³⁴.

Kako bi se dobio neki uvid u njihovu evoluciju, mutacijama su se pokušale provesti funkcionalne konverzije CPD i (6-4) fotolijaza. Yamada i suradnici proveli su eksperiment u kojem su supstituirali određene aminokiseline u pojedinoj fotolijazi koje su odgovorne za vezanje i pozicioniranje supstrata u aktivnom mjestu. Cilj je bio dobiti (6-4) fotolijazu koja popravlja CPD i CPD fotolijazu koja popravlja (6-4) fotoprodukt. Uspjeli su dobiti nekoliko trostrukih mutanata (6-4) fotolijaze koji mogu popraviti CPD s različitom efikasnošću. Najefikasniji je bio H354N/L355R/H358M (6-4) PHR trostruki mutant, međutim njegova efikasnost je i dalje bila 12 puta manja od divljeg tipa CPD fotolijaze te je izgubio (6-4) fotolijaznu aktivnost. Razlog nižoj aktivnosti ovog mutanta od CPD fotolijaze su manje strukturne promjene tijekom reakcije. Funkcionalna konverzija CPD fotolijaze u (6-4) fotolijazu nije bila uspješna unatoč uvođenju različitog broja različitih mutacija. Razlog tome su kompleksni katalitički mehanizam (6-4) fotolijaza i visoka energija potrebna za nastajanje kompleksa. Ovakva asimetrična funkcionalna konverzija i filogenetičke analize idu u prilog hipotezi da su se CPD fotolijaze pojavile prve te su se iz njih kasnije razvile (6-4) fotolijaze ³⁴.



Slika 10. Struktura CPD fotolijaze iz *A. nidulans* (lijevo) i (6-4) fotolijaze iz *D. melanogaster* (desno) ³⁴.

3. Evolucija popravka izrezivanjem nukleotida - NER

3.1. Konvergentna evolucija NER puta kod eukariota i bakterija

Popravak izrezivanjem nukleotida je po općem mehanizmu vrlo očuvan put u svim domenama života, a popravlja širok spektar različitih oštećenja koja rezultiraju stvaranjem lokalnih distorzija u DNA zavojnici. Neka od tih oštećenja su ciklobutanski pirimidinski dimeri i (6-4) fotoprodukti uzrokovani UV zračenjem, ali popravlja i mnoga druga poput benzo[α]pirenskog adukta (i drugih) te razne modificirane baze³⁵. Mehanizam NER puta općenito se temelji na prepoznavanju lezija u DNA i lokalnog odvijanja zavojnice uzvodno i nizvodno od lezije nakon čega nastaje preincizijski kompleks. Slijedi regrutacija raznih proteina uključujući i endonukleaze koje uvode ureze u oštećeni lanac s obje strane lezije. Oligonukleotid koji sadrži oštećenje se uklanja te se na temelju kalupa sintetizira novi lanac.

Ovaj evolucijski očuvani obrazac slijede bakterijski i eukariotski NER unatoč tome što popravak obavljaju različiti nehomologni proteini³⁶. Kod globalnog genomskog popravka (GGR – eng. *global genomic repair*) u ljudima, lezije primarno prepoznaje XPC-HR23B, ali ponekad su potrebni dodatni DDB proteini kako bi se afinitet XPC proteina prema leziji povećao. Nakon prepoznavanja, veže se TFIIH u sklopu kojeg se nalaze XPB i XPD helikaze koje lokalno odvijaju zavojnicu oblikujući preincizijski kompleks. Stvaranje kompleksa dovodi do regrutacije XPA i RPA proteina koji sudjeluju u verifikaciji oštećenja i stabilizaciji jednolančane DNA u nastaloj strukturi mjehura. Zatim XPF-ERCC1 uvodi urez uzvodno od lezije i XPG nizvodno, izrezani oligonukleotid se izbacuje, a DNA polimeraze δ i ϵ sintetiziraju novi lanac nasuprot neoštećenog kalupa. Na kraju DNA ligaza sintetizira fosfodiesterske veze između novosintetiziranog oligonukleotida i ostatka prethodnog lanca³⁵.

Bakterije koriste analogni UvrABC sustav koji je jednostavniji od eukariotskog. UvrA dimer prepoznaje lokalne deformacije u zavojnici uzrokovane oštećenjima te regrutira UvrB koji slabom helikaznom aktivnošću (analogno eukariotskom XPB) lokalno odvijaje odnosno destabilizira zavojnicu^{37, 38, 39}. Vežanjem UvrB za DNA dolazi do disocijacije UvrA i nastanka UvrB-DNA preincizijskog kompleksa^{36, 40}. Zatim se regrutira dvostruka endonukleaza UvrC koja uvodi urez uzvodno i nizvodno od lezije pomoću dva odvojena endonukleazna centra⁴¹. Izrezani oligonukleotid odvoji se

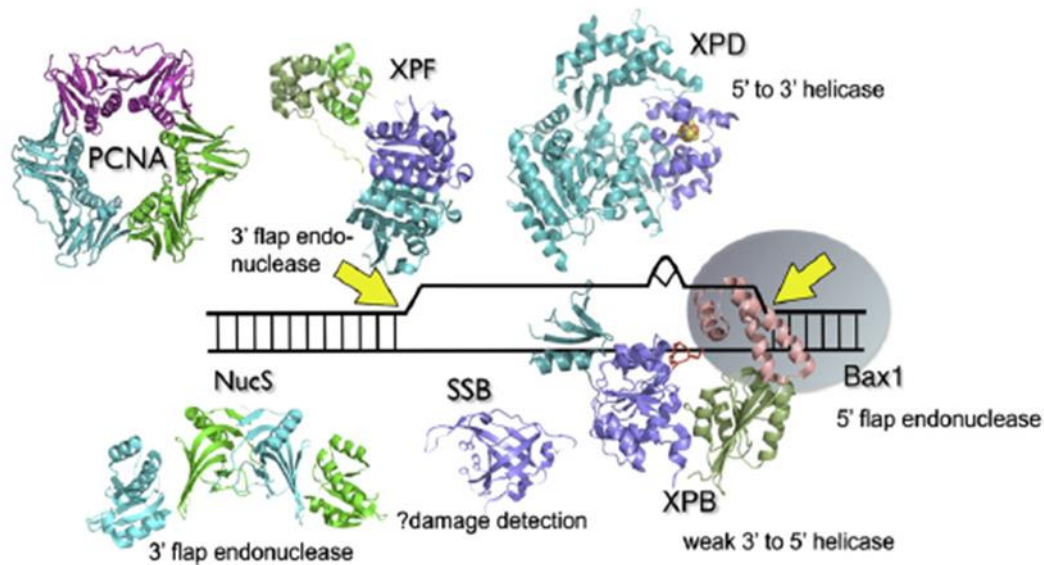
djelovanjem UvrD helikaze nakon čega DNA polimeraza I sintetizira novi lanac, a ligaza fosfodiesterske veze ⁴².

Analogije između eukariotskog i bakterijskog NER puta postoje i kod popravka združenog s transkripcijom (TCR-eng. *transcription coupled repair*). U oba slučaja kod transkripcije može doći do kočenja RNA polimeraze kada naiđe na leziju u DNA kalupu. Zaustavljena polimeraza kod ljudi regrutira proteine CSA i CSB koji promoviraju vezanje TFIIH te nizvodne NER reakcije, dok kod bakterija analognu ulogu ima Mfd protein ^{35,43}. Unatoč postojećim analogijama eukariotski NER je znatno kompleksniji te uključuje i spregu s proteinima koji sudjeluju u remodeliranju kromatina poput SWI/SNF kompleksa kod kvasca ⁴⁴. Kompleksnost eukariotskog NER puta odraz je općenitog povećanja kompleksnosti staničnih mehanizama u odnosu na bakterije.

3.2. Postoji li NER kod arheja?

O evoluciji NER sustava kod eukariota i arheja ne zna se mnogo, no trenutni modeli evolucije pojedinih proteina koji u njemu sudjeluju temelje se na paralelnom proučavanju arhejskih i eukariotskih homologa. Velik broj arheja kodira dio eukariotskih homologa; XPD, XPB i XPF proteine, dok neke pak koriste UvrABC preuzet iz bakterija horizontalnim transferom ⁴⁵. Opažena je dominacija UvrABC sustava kod onih koje posjeduju oba ⁴⁶. Nadalje kod arheja nisu pronađeni homolozi XPC, XPG i XPA proteina ⁴⁷. Činjenice da kod arheja ne postoji kompletni set eukariotskih homologa proteina za NER, da neke ne nalazimo kod svih arheja (pojedinačno ili u kompletu) te da neki od tih proteina u eukariota obavljaju i alternativne funkcije u stanici upućuju na to da postojeći homolozi u arheja možda uopće ne sudjeluju u NER putu. Također postoje primjeri arheja poput *Methanothermobacter thermoautotrophicus* koja nema XPB, XPD ni UvrABC sustav, ali može popravljati UV oštećenja ⁴⁵.

Rouillon i White svejedno postuliraju model mogućeg arhejskog NER sustava (Slika 11.) koji je pojednostavljena verzija eukariotskog. U njemu detekciju oštećenja obavljaju SSB proteini ili neki drugi trenutno neidentificirani proteini, XPD i XPB odvijaju DNA stvarajući strukturu mjehura, XPF cijepa DNA uzvodno, a Bax1 nizvodno od lezije. Alternativa XPF proteinu mogao bi biti EndoMS (NucS) koji bi cijepao uzvodno od lezija i igrao ulogu u postavljanju PCNA na DNA prije koraka sinteze ⁴⁵. XPB, XPF i XPD detaljnije su u kontekstu evolucije objašnjeni u ostatku teksta.



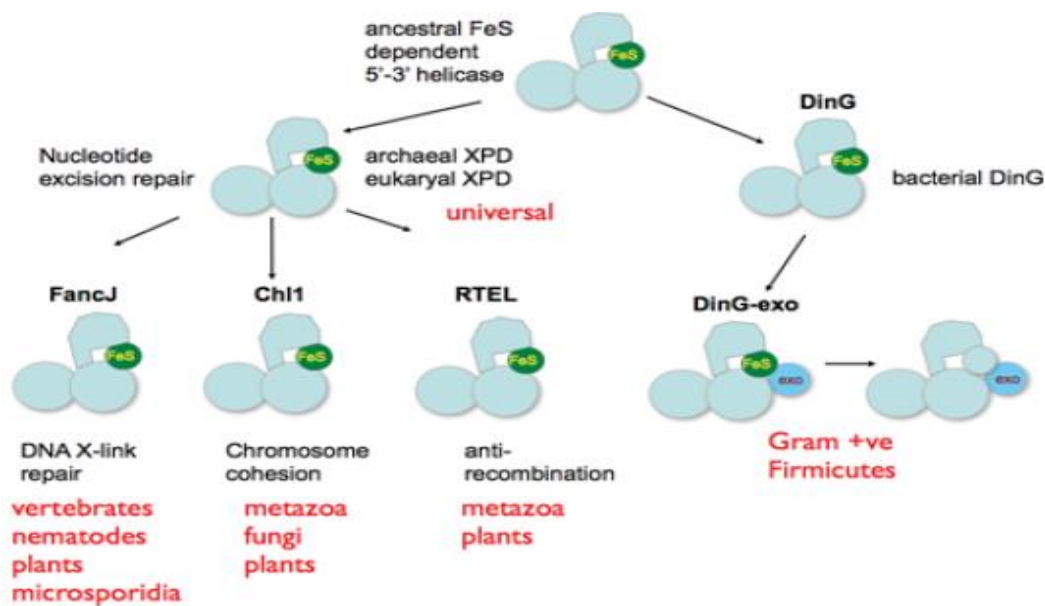
Slika 11 . Model arhejskog NER sutava sličnog eukariotskom ⁴⁵.

3.3. Evolucija XPD, XPF i XPB proteina

Većina arheja kodira homolog XPD proteina, 5'-3' helikazu koja posjeduje FeS klaster koordiniran s četiri očuvana cisteina kao i kod eukariota ⁴⁸. Taj FeS klaster je esencijalan za helikaznu aktivnost XPD proteina te u interakciji s "Arch" domenom stvara kanal za prolaz jednolančane DNA ^{48,49}. Istraživanja su pokazala da arhejski XPD proteini posjeduju funkcionalno očuvane aminokiseline u džepu blizu FeS klastera koje odgovaraju eukariotskim Tyr-192 i Arg-196 koje su važne za zaustavljanje XPD proteina na mjestu lezije što bi moglo služiti kao mehanizam verifikacije oštećenja ⁵⁰. Inducirane mutacije na tom položaju dale su različite rezultate kod različitih arheja s obzirom na sposobnost XPD da se zaustavi na mjestu lezije što upućuje na moguću raznolikost i diverzifikaciju funkcije XPD kod arheja ^{50,51,52}.

Također su rađeni razni eksperimenti u kojima su se u arhejski XPD uvodile mutacije koje kod ljudi uzrokuju različite bolesti poput XP, TTD i CS. Pokazalo se da mutacije u vrlo očuvanim regijama homologa dovode do gubitka helikazne aktivnosti (pa tako i gubitka NER-a) dok neke mutacije u vanjskim slabo očuvanim dijelovima proteina kod eukariota dovode do gubitka NER-a, a kod arheja ne. Ova činjenica upućuje na mogućnost da se NER kod arheja odvija izvan konteksta TFIIH kompleksa ⁴⁹.

Kod eukariota je došlo do diverzifikacije XPD proteina paralelno s povećanjem kompleksnosti sustava za procesuiranje DNA u stanicama. Prepoznata su tri paraloga FancJ, RTEL i Chl1 koji posjeduju četiri očuvana cisteina i FeS klaster⁵³. Homolog XPD proteina koji posjeduje četiri očuvana cisteina i FeS klaster pronađen je i kod bakterija, a radi se o proteinu DinG koji sudjeluje u SOS odgovoru⁵⁴. Na temelju velikih sličnosti arhejskog i eukariotskog XPD te manje sličnosti s bakterijskim DinG, White predlaže da su se XPD i DinG razvili iz predačke 5'-3' helikaze koja sadrži FeS klaster zajedničkog pretka svih organizama nakon čega XPD postaje "osnivač" mnogih paraloga u eukariota (Slika 12.)⁵³.

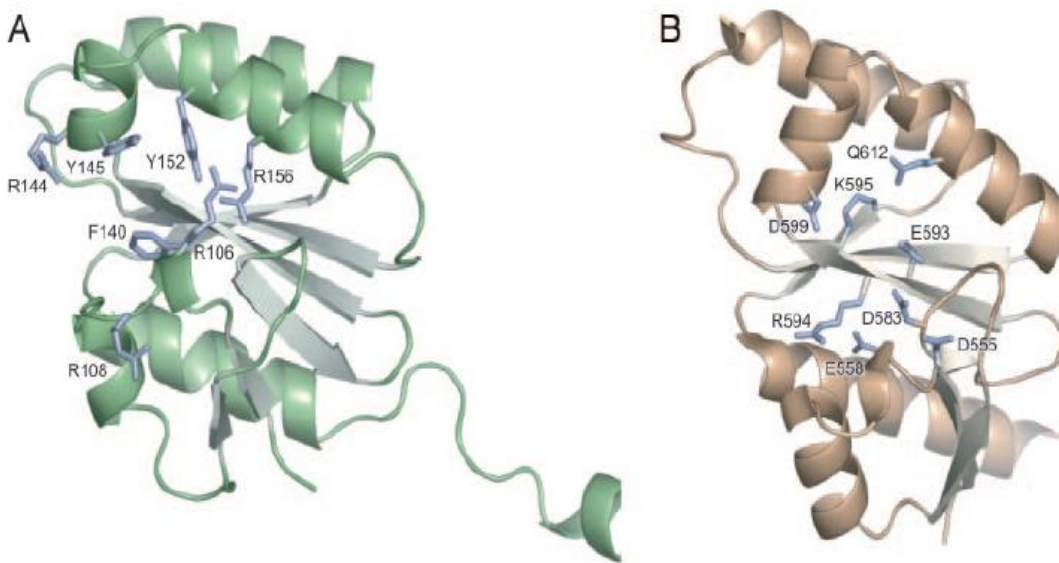


Slika 12. Model evolucije XPD proteina⁵³.

Pripadnike XPF/MUS81 obitelji proteina nalazimo kod arheja i eukariota, ali ne i kod prokariota⁵⁵. Većina eukariota posjeduje najmanje četiri proteina iz te obitelji koji formiraju heterodimere čija je jedna podjedinica endonukleazna dok druga nekatalitička ima ulogu u specifikaciji supstrata i interakciji s drugim proteinima. Kod ljudi ti kompleksi su XPF-ERCC1, MUS81-EME1, MUS81-EME2 te se njihovi ortolozi nalaze u većini ostalih eukariota (prva navedena podjedinica je katalitička npr. XPF u XPF-ERCC1) međutim kod vertebrata postoji još i FANCM-FAAP24 kod kojih nije opažena endonukleazna aktivnost, ali sadrže SF2 helikaznu domenu^{56,57}. Svi katalitički XPF homologe sadrže karakterističnu centralnu ERCC4 endonukleaznu domenu te (HhH)₂ domenu dok je kod nekatalitičkih formi došlo do divergencije ERCC4 domene i gubitka

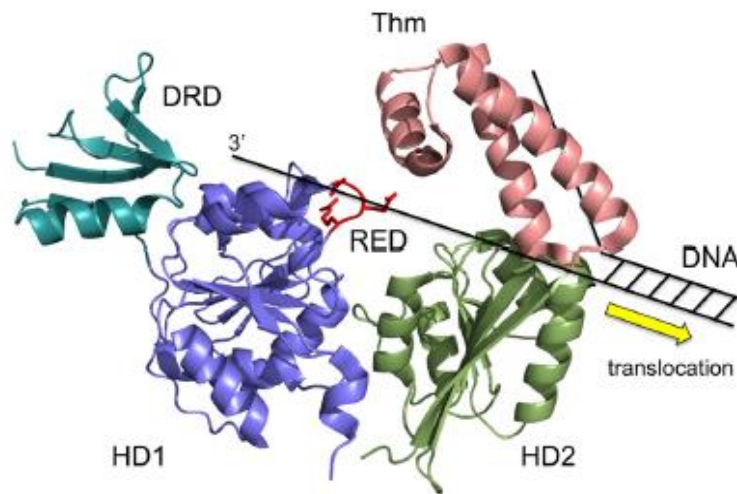
endonukleazne aktivnosti što je omogućilo sudjelovanje u drugim procesima procesuiranja DNA uključujući i puteve popravka izvan NER-a zbog promjene repertoara preferiranih supstrata te mogućnosti interakcije s drugim proteinima ⁵⁸. Arhejski XPF proteini također dimeriziraju, ali u funkcionalno asimetrične homodimere kod kojih samo jedna podjedinica obavlja endonukleaznu aktivnost. Pronalazimo kratke homologe koji posjeduju očuvane ERCC4 i (HhH)₂ domene te duge homologe koji sadrže fuzioniranu SF2 helikaznu domenu kao kod proteina Hef. Zanimljivo je da su strukturno arhejski XPF homologe sličniji eukariotskom XPF-ERCC1 dok se funkcionalno ponašaju slično MUS81-EME1 u preferenciji supstrata ^{58,59}.

Smatra se da originalno XPF nije bio uključen u NER, te da je predački oblik XPF proteina nalik onom u *Crenarchaeota*. Kod *Euryarchaeota* dolazi do fuzije endonukleazne i helikazne domene, nakon čega uslijed diverzifikacije dolazi do inaktivacije ili gubitka pojedine domene kao npr. gubitak helikazne i inaktivacija endonukleazne domene kod ERCC1 ⁵⁹. Usporedbom strukture centralne endonukleazne domene arhejskog Hef proteina i centralne domene ERCC1 pokazano je kako je modifikacija centralne domene XPF homologa ERCC1 dovela do gubitka endonukleazne aktivnosti, ali i do povećanog afiniteta u vezanju jednolančane DNA u strukturama mjehura kakve nastaju u NER-u. Centralna domena ERCC1 bogata je aromatskim i bazičnim aminokiselinama koje pogoduju vezanju DNA dok centralna domena Hef proteina sadrži kisele aminokiseline koje mogu vezati katalitički važne metale (Slika 13.) ⁶⁰.



Slika 13. Usporedba centralne domene ERCC1 (A) i Hef (B) proteina ⁶⁰.

XPB je druga helikaza koja sudjeluje u eukariotskom NER putu te je kao i XPD sastavni dio TFIIH. ATP-azna funkcija XPB proteina važna je u NER putu te inicijaciji transkripcije dok mutacije u helikaznoj domeni inhibiraju samo transkripciju, ali ne i NER. Strukturne analize su pokazale da se XPB ne ponaša kao kanonska helikaza nego kao ATP-ovisna molekularna sklopka koja samo jednokratno lokalno odvija dupleks u 3'-5' smjeru ⁶¹. Eukarioti i većina arheja imaju jedan *xpb* gen dok pripadnici *Crenarchaeota* imaju dvije kopije gena ⁶². Arhejski XPB (Slika 14.) sadrži dvije motorne domene HD1 (s RED motivom) i HD2, N-terminalnu domenu DRD domenu (DRD – eng. damage recognition domain) te domenu palca vezanu na HD2 ⁶³.



Slika 14. Struktura arhejskog XPB proteina ⁶³.

Domena palca slabo je očuvana između arheja i eukariota, a ima ulogu u vezanju TFIIH na DNA i zajedno s motornim domenama sudjeluje u odvijanju dupleksa ⁶⁴. Eukariotski XPB još sadrži dugu N-terminalnu ekstenziju koja ostvaruje interakciju s p52 podjedinicom i usidruje TFIIH kompleks na DNA ⁶⁵. Kod arheja je pronađena endonukleaza Bax1 koja interagira s XPB, a oba gena su kotranskribirana ⁶². Bax1 endonukleaza cijepa jednolančanu DNA u strukturama mjehura kakve nastaju u NER putu, a vođena je aktivnošću XPB proteina koji prethodno odvija oko 6-8pb u 3'-5' smjeru neoštećenog lanca. (samostalno Bax1 ne funkcioniše u malim mjehurima jer ne može vezati dovoljno jednolančanu DNA). Ove činjenice sugeriraju da XPB pozicionira Bax1 i omogućuje mu da cijepa DNA s 3' strane lezije što Bax1 čini funkcionalnim ekvivalentom eukariotskog XPG iako međusobno nisu homologni ⁶³.

Rouillon i White na temelju funkcionalne povezanosti XPB i Bax1 prepostavljaju da je pređaška funkcija XPB proteina bila upravo u NER putu te da je kod eukariota došlo do gubitka Bax1, a evolucija duge N-terminalne ekstenzije omogućila je interakciju s p52 i funkciju XPB u inicijaciji transkripcije. Mnogo je još nepoznanica o molekularnim detaljima NER puta, no očito je da postoji određeni stupanj kompleksne koevolucije interakcija proteina koji sudjeluju u NER putu te inicijaciji transkripcije preko TFIID⁶³.

ZAKLJUČAK

Različite puteve popravka karakteriziraju različiti evolucijski obrasci. Kod MMR popravka mehanizmi prepoznavanja nepravilnosti su očuvani kod većine organizama, međutim diverzifikacija i koevolucija MutS i MutL proteina dovele su i do razvitka funkcija u drugim procesima. Kod nekih organizama došlo je do promjene u strategiji npr. povezivanje popravka s metilacijom DNA što je dovelo do promjena kanonskog puta. Neke su skupine taj klasičan put izgubile u potpunosti i koriste drugačiji set proteina u tu svrhu.

Fotolijaze, jedni od najstarijih enzima za popravak oštećenja induciranih UV zračenjem, kroz evoluciju poprimaju i novu funkciju u svjetlosnoj regulaciji ekspresije gena. Unatoč tome mehanizam popravka dugo je očuvan i vjerojatno se nije znatnije mijenjao tijekom evolucije. Fotolijaze su bile vrlo važne u počecima razvoja života na Zemlji međutim s pojavom NER puta i nekih drugih čimbenika se gube u pojedinim skupinama.

Postojanje analognog NER puta kod bakterija i eukariota je posljedica konvergentne evolucije, a pojedini proteini svoje korijene vjerojatno imaju još u zajedničkom pretku svih organizama (XPD). Neki su se pojavili kasnije, vjerojatno u zajedničkom pretku eukariota i arheja (XPF, XPB) i nisu nužno bili dio NER puta nego se uloga u njemu razvila kasnije (XPF). Drugi su se pak izgubili u nekim skupinama (Bax1) ili potencijalno poprimili i neke druge uloge izvan NER puta (XPB). Došlo je i do pojave homologa nekih od njih koji su poprimili alternativne funkcije (XPD, XPF), ali i homologa koji su povećali specifičnost samog procesa popravka (ERCC1).

Tematika evolucije ovih mehanizama je i dalje slabo istražena te su potrebna daljnja istraživanja kako bi se dobila jasnija slika.

LITERATURA:

1. Fukui, K. (2010). DNA mismatch repair in eukaryotes and bacteria. *Journal of nucleic acids*, 2010.
2. Hsieh, P., & Zhang, Y. (2017). The Devil is in the details for DNA mismatch repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(14), 3552-3554.
3. Putnam, C. D. (2016). Evolution of the methyl directed mismatch repair system in Escherichia coli. *DNA repair*, 38, 32-41.
4. Hopfner, K. P., & Tainer, J. A. (2003). Rad50/SMC proteins and ABC transporters: unifying concepts from high-resolution structures. *Current opinion in structural biology*, 13(2), 249-255.
5. Mendillo, M. L., Putnam, C. D., & Kolodner, R. D. (2007). Escherichia coli MutS tetramerization domain structure reveals that stable dimers but not tetramers are essential for DNA mismatch repair in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 282(22), 16345-16354.
6. Groothuizen, F. S., Fish, A., Petoukhov, M. V., Reumer, A., Manelyte, L., Winterwerp, H. H (2013). Using stable MutS dimers and tetramers to quantitatively analyze DNA mismatch recognition and sliding clamp formation. *Nucleic acids research*, 41(17), 8166-8181.
7. Lamers, M. H., Winterwerp, H. H., & Sixma, T. K. (2003). The alternating ATPase domains of MutS control DNA mismatch repair. *The EMBO journal*, 22(3), 746-756.
8. Lin, Z., Nei, M., & Ma, H. (2007). The origins and early evolution of DNA mismatch repair genes—multiple horizontal gene transfers and co-evolution. *Nucleic acids research*, 35(22), 7591-7603.
9. McCulloch, S. D., Gu, L., & Li, G. M. (2003). Nick-dependent and-independent processing of large DNA loops in human cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(50), 50803-50809.
10. Warren, J. J., Pohlhaus, T. J., Changela, A., Iyer, R. R., Modrich, P. L., & Beese, L. S. (2007). Structure of the human MutS α DNA lesion recognition complex. *Molecular cell*, 26(4), 579-592.
11. Obmolova, G., Ban, C., Hsieh, P., & Yang, W. (2000). Crystal structures of mismatch repair protein MutS and its complex with a substrate DNA. *nature*, 407(6805), 703-710. ztd
12. Lamers, M. H., Perrakis, A., Enzlin, J. H., Winterwerp, H. H., de Wind, N., & Sixma, T. K. (2000). The crystal structure of DNA mismatch repair protein MutS binding to a G·T mismatch. *Nature*, 407(6805), 711-717.
13. Jiricny, J. (2013). Postreplicative mismatch repair. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(4), a012633.
14. Ranjha, L., Anand, R., & Cejka, P. (2014). The Saccharomyces cerevisiae Mlh1-Mlh3 heterodimer is an endonuclease that preferentially binds to Holliday junctions. *Journal of Biological Chemistry*, 289(9), 5674-5686.

15. Guarné, A., Ramon-Maiques, S., Wolff, E. M., Ghirlando, R., Hu, X., Miller, J. H., & Yang, W. (2004). Structure of the MutL C-terminal domain: a model of intact MutL and its roles in mismatch repair. *The EMBO journal*, 23(21), 4134-4145.
16. Løbner-Olesen, A., Skovgaard, O., & Marinus, M. G. (2005). Dam methylation: coordinating cellular processes. *Current opinion in microbiology*, 8(2), 154-160.
17. Grogan, D. W. (2004). Stability and repair of DNA in hyperthermophilic Archaea. *Current issues in molecular biology*, 6(2), 137-144.
18. Busch, C. R., & DiRuggiero, J. (2010). MutS and MutL are dispensable for maintenance of the genomic mutation rate in the halophilic archaeon *Halobacterium salinarum* NRC-1. *PLoS One*, 5(2), e9045.
19. Ishino, S., Nishi, Y., Oda, S., Uemori, T., Sagara, T., Takatsu, N., & Ishino, Y. (2016). Identification of a mismatch-specific endonuclease in hyperthermophilic Archaea. *Nucleic acids research*, 44(7), 2977-2986.
20. Ren, B., Kühn, J., Meslet-Cladiere, L., Briffotiaux, J., Norais, C., Lavigne, R., ... & Myllykallio, H. (2009). Structure and function of a novel endonuclease acting on branched DNA substrates. *The EMBO Journal*, 28(16), 2479-2489.
21. Beattie, T. R., & Bell, S. D. (2011). Molecular machines in archaeal DNA replication. *Current opinion in chemical biology*, 15(5), 614-619.
22. Castaneda-Garcia, A., Prieto, A. I., Rodriguez-Beltran, J., Alonso, N., Cantillon, D., Costas, C., Tonjum, T. (2017). A non-canonical mismatch repair pathway in prokaryotes. *Nature communications*, 8(1), 1-10.
23. Todo, T., Takemori, H., Ryo, H., Matsunaga, T., Nikaido, O., Sato, K., & Nomura, T. (1993). A new photoreactivating enzyme that specifically repairs ultraviolet light-induced (6-4) photoproducts. *Nature*, 361(6410), 371-374.
24. Sancar, A. (1994). Structure and function of DNA photolyase. *Biochemistry*, 33(1), 2-9.
25. Kanai, S., Kikuno, R., Toh, H., Ryo, H., & Todo, T. (1997). Molecular evolution of the photolyase–blue-light photoreceptor family. *Journal of molecular evolution*, 45(5), 535-548.
26. Kritsky, M. S., Telegina, T. A., Vechtomova, Y. L., Kolesnikov, M. P., Lyudnikova, T. A., & Golub, O. A. (2010). Excited flavin and pterin coenzyme molecules in evolution. *Biochemistry (Moscow)*, 75(10), 1200-1216.
27. Cashmore, A. R., Jarillo, J. A., Wu, Y. J., & Liu, D. (1999). Cryptochromes: blue light receptors for plants and animals. *Science*, 284(5415), 760-765.
28. Scheerer, P., Zhang, F., Kalms, J., von Stetten, D., Krauß, N., Oberpichler, I., & Lamparter, T. (2015). The class III cyclobutane pyrimidine dimer photolyase structure reveals a new antenna chromophore binding site and alternative photoreduction pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 290(18), 11504-11514.

29. Vechtomova, Y. L., Telegina, T. A., & Kritsky, M. S. (2020). Evolution of Proteins of the DNA Photolyase/Cryptochrome Family. *Biochemistry (Moscow)*, 85(1), 131-153.
30. Essen, L. O., & Klar, T. (2006). Light-driven DNA repair by photolyases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 63(11), 1266-1277.
31. Mei, Q., & Dvornyk, V. (2015). Evolutionary history of the photolyase/cryptochrome superfamily in eukaryotes. *PloS one*, 10(9), e0135940.
32. van Oers, M. M., Lampen, M. H., Bajek, M. I., Vlak, J. M., & Eker, A. P. (2008). Active DNA photolyase encoded by a baculovirus from the insect *Chrysodeixis chalcites*. *DNA repair*, 7(8), 1309-1318.
33. Müller, M., & Carell, T. (2009). Structural biology of DNA photolyases and cryptochromes. *Current opinion in structural biology*, 19(3), 277-285.
34. Yamada, D., Dokainish, H. M., Iwata, T., Yamamoto, J., Ishikawa, T., Todo, T., ... & Kandori, H. (2016). Functional conversion of cpd and (6-4) photolyases by mutation. *Biochemistry*, 55(30), 4173-4183.
35. Costa, R. M., Chiganças, V., da Silva Galhardo, R., Carvalho, H., & Menck, C. F. (2003). The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. *Biochimie*, 85(11), 1083-1099.
36. Truglio, J. J., Croteau, D. L., Van Houten, B., & Kisker, C. (2006). Prokaryotic nucleotide excision repair: the UvrABC system. *Chemical reviews*, 106(2), 233-252.
37. Van Houten, B., & Snowden, A. (1993). Mechanism of action of the *Escherichia coli* UvrABC nuclease: clues to the damage recognition problem. *Bioessays*, 15(1), 51-59.
38. DellaVecchia, M. J., Croteau, D. L., Skovvaga, M., Dezhurov, S. V., Lavrik, O. I., & Van Houten, B. (2004). Analyzing the handoff of DNA from UvrA to UvrB utilizing DNA-protein photoaffinity labeling. *Journal of Biological Chemistry*, 279(43), 45245-45256.
39. Skovvaga, M., DellaVecchia, M. J., Croteau, D. L., Theis, K., Truglio, J. J., Mandavilli, B. S., ... & Van Houten, B. (2004). Identification of residues within UvrB that are important for efficient DNA binding and damage processing. *Journal of Biological Chemistry*, 279(49), 51574-51580.
40. Orren, D. K., & Sancar, A. (1990). Formation and enzymatic properties of the UvrB. DNA complex. *Journal of Biological Chemistry*, 265(26), 15796-15803.
41. Sancar, A., & Rupp, W. D. (1983). A novel repair enzyme: UVRABC excision nuclease of *Escherichia coli* cuts a DNA strand on both sides of the damaged region. *Cell*, 33(1), 249-260.
42. Caron, P. R., Kushner, S. R., & Grossman, L. (1985). Involvement of helicase II (uvrD gene product) and DNA polymerase I in excision mediated by the uvrABC protein complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(15), 4925-4929.

43. Selby, C. P., & Sancar, A. (1993). Molecular mechanism of transcription-repair coupling. *Science*, 260(5104), 53-58.
44. Gong, F., Fahy, D., & Smerdon, M. J. (2006). Rad4–Rad23 interaction with SWI/SNF links ATP-dependent chromatin remodeling with nucleotide excision repair. *Nature structural & molecular biology*, 13(10), 902-907.
45. Rouillon, C., & White, M. F. (2011). The evolution and mechanisms of nucleotide excision repair proteins. *Research in microbiology*, 162(1), 19-26.
46. Ögrünç, M., Becker, D. F., Ragsdale, S. W., & Sancar, A. (1998). Nucleotide excision repair in the third kingdom. *Journal of bacteriology*, 180(21), 5796-5798.
47. White, M. F., & Allers, T. (2018). DNA repair in the Archaea—an emerging picture. *FEMS microbiology reviews*, 42(4), 514-526.
48. Rudolf, J., Makranton, V., Ingledew, W. J., Stark, M. J., & White, M. F. (2006). The DNA repair helicases XPD and FancJ have essential iron-sulfur domains. *Molecular cell*, 23(6), 801-808.
49. Liu, H., Rudolf, J., Johnson, K. A., McMahon, S. A., Oke, M., Carter, L., ... & White, M. F. (2008). Structure of the DNA repair helicase XPD. *Cell*, 133(5), 801-812.
50. Mathieu, N., Kaczmarek, N., Rüthemann, P., Luch, A., & Naegeli, H. (2013). DNA quality control by a lesion sensor pocket of the xeroderma pigmentosum group D helicase subunit of TFIIH. *Current Biology*, 23(3), 204-212.
51. Mathieu, N., Kaczmarek, N., & Naegeli, H. (2010). Strand-and site-specific DNA lesion demarcation by the xeroderma pigmentosum group D helicase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(41), 17545-17550.
52. Rudolf, J., Rouillon, C., Schwarz-Linek, U., & White, M. F. (2010). The helicase XPD unwinds bubble structures and is not stalled by DNA lesions removed by the nucleotide excision repair pathway. *Nucleic acids research*, 38(3), 931-941.
53. White, M. F. (2009). Structure, function and evolution of the XPD family of iron–sulfur-containing 5'→ 3' DNA helicases. *Biochemical Society Transactions*, 37(3), 547-551.
54. Voloshin, O. N., & Camerini-Otero, R. D. (2007). The DinG protein from Escherichia coli is a structure-specific helicase. *Journal of Biological Chemistry*, 282(25), 18437-18447.
55. White, M. F. (2003). Archaeal DNA repair: paradigms and puzzles.
56. Sijbers, A. M., De Laat, W. L., Ariza, R. R., Biggerstaff, M., Wei, Y. F., Moggs, J. G., Rademakers, S. (1996). Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease. *Cell*, 86(5), 811-822.
57. Ciccia, A., Ling, C., Coulthard, R., Yan, Z., Xue, Y., Meetei, A. R., ... & Wang, W. (2007). Identification of FAAP24, a Fanconi anemia core complex protein that interacts with FANCM. *Molecular cell*, 25(3), 331-343.

58. Ciccia, A., McDonald, N., & West, S. C. (2008). Structural and functional relationships of the XPF/MUS81 family of proteins. *Annu. Rev. Biochem.*, 77, 259-287.
 59. Roberts, J. A., & White, M. F. (2005). An archaeal endonuclease displays key properties of both eukaryal XPF-ERCC1 and Mus81. *Journal of Biological Chemistry*, 280(7), 5924-5928.
 60. Tsodikov, O. V., Enzlin, J. H., Schärer, O. D., & Ellenberger, T. (2005). Crystal structure and DNA binding functions of ERCC1, a subunit of the DNA structure-specific endonuclease XPF-ERCC1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(32), 11236-11241.
 61. Coin, F., Oksenysh, V., & Egly, J. M. (2007). Distinct roles for the XPB/p52 and XPD/p44 subcomplexes of TFIIH in damaged DNA opening during nucleotide excision repair. *Molecular cell*, 26(2), 245-256.
 62. Richards, J. D., Cubeddu, L., Roberts, J., Liu, H., & White, M. F. (2008). The archaeal XPB protein is a ssDNA-dependent ATPase with a novel partner. *Journal of molecular biology*, 376(3), 634-644.
 63. Rouillon, C., & White, M. F. (2010). The XBP-Bax1 Helicase-Nuclease Complex Unwinds and Cleaves DNA IMPLICATIONS FOR EUKARYAL AND ARCHAEAL NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR. *Journal of Biological Chemistry*, 285(14), 11013-11022.
 64. Oksenysh, V., De Jesus, B. B., Zhovmer, A., Egly, J. M., & Coin, F. (2009). Molecular insights into the recruitment of TFIIH to sites of DNA damage. *The EMBO journal*, 28(19), 2971-2980.
 65. Jawhari, A., Lainé, J. P., Dubaele, S., Lamour, V., Poterszman, A., Coin, F., Egly, J. M. (2002). p52 Mediates XPB function within the transcription/repair factor TFIIH. *Journal of Biological Chemistry*, 277(35), 31761-31767.
- Naslovna slika : Rad4 vezan na CPD leziju - Schärer, O. D. (2007). Achieving broad substrate specificity in damage recognition by binding accessible nondamaged DNA. *Molecular cell*, 28(2), 184-186.

SAŽETAK

Kroz proces evolucije pojavili su se razni proteini s funkcijom popravka oštećenja i nepravilnosti u molekuli DNA izazvanih raznim endogenim i egzogenim faktorima. Put popravka krivo sparenih baza, put popravka ekscizijom nukleotida i direktni fotopopravak vrlo su rašireni u živom svijetu te se u ovom seminaru opisuju njihove značajke u kontekstu evolucije poput zastupljenosti u domenama života, očuvanih i divergentnih svojstava na razini strukture proteina te moguće evolucijske promjene koje su dovele do recentnih oblika ovih puteva ili poprimanja novih funkcija.

SUMMARY

Throughout evolution, various proteins with the ability to repair damage and irregularities in the DNA molecule induced by endogenous and exogenous factors have emerged. Mismatch repair, nucleotide excision repair and direct photorepair pathways are widely present in the living world and this review describes their characteristics in the evolutionary context. Those include their prevalence in the domains of life, conserved and divergent properties at the protein structure level, possible evolutionary changes that led to the formation of those pathways in their extant form and others.