

Nehomologni popravak DNA kod prokariota

Bartulović, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

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:217:388124>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-09**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK**

NEHOMOLOGNI POPRAVAK DNA KOD PROKARIOTA

**DNA NONHOMOLOGOUS END-JOINING (NHEJ)
SYSTEM IN PROKARYOTES**

SEMINARSKI RAD

Ana Bartulović
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: Doc. dr. sc. Ivana Ivančić Baće

Zagreb, 2009.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OTKRIĆE I SVOJSTVA NHEJ POPRAVKA KOD PROKARIOTA	3
3. MODEL NEHOMOLOGNOG POPRAVKA KOD PROKARIOTA	5
4. VEZA NHEJ U ŽIVOTNOM CIKLUSU FAGA	9
5. LITERATURA	10
6. SAŽETAK	13
7. SUMMARY	14

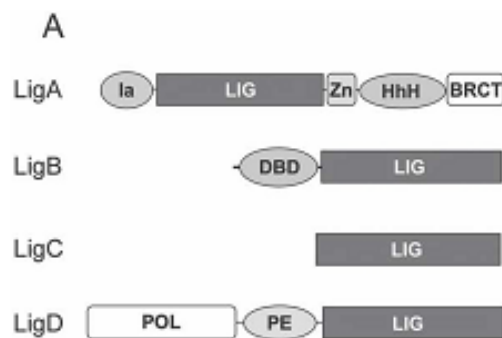
1. UVOD

Dvolančani lomovi su izrazito letalan oblik oštećenja DNA. Njih se može inducirati eksperimentalno u laboratoriju ionizirajućim zračenjem i restrikcijskim endonukleazama. U prirodi to se postiže i isušivanjem stanica (eksperimenti na *Deinococcus radiodurans*).

Dvolančani lomovi DNA mogu biti popravljani homolognom rekombinacijom (HR) ili nehomolognim spajanjem krajeva (NHEJ). S obzirom na to da je nehomolgni popravak neovisan o homolognom DNA kalupu (komplementarnom lancu DNA), on može popravljati i onda kada je samo jedna kromosomska kopija dostupna. Ovaj nehomolgni način je glavni put popravka kod eukariota tokom G1 faze staničnog ciklusa (Takata i sur. 1998; Ferreira i Cooper 2004). Najnovije studije su pokazale da je nehomolgni put zaslužan i za popravak dvolančanih lomova bakterijskog kromosoma (Pitcher i sur. 2007; Shuman i Glickman 2007), posebno tijekom stanja mirovanja poput sporulacije ili kulture u kasnoj stacionarnoj fazi (Wang i sur. 2006; Moeller i sur. 2007; Pitcher i sur. 2007; Stephanou i sur. 2007).

Zajedničko svojstvo i eukariotskog i prokariotskog nehomolognog popravka je njihova ovisnost o proteinu Ku (koji veže krajeve lomova DNA) i o ATP- ovisnoj DNA ligazi (Lig4 kod eukariota i LigD kod bakterija). Dok su protein Ku i ligaza Lig4 prisutne u proteomu gotovo svih eukariotskih vrsta, samo neke bakterije imaju gene koji kodiraju za Ku i LigD (među kojima su humani patogeni poput *Micobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus anthracis*).

Bakterije *M. tuberculosis* i *M. smegmatis* imaju 4, odnosno 5 DNA ligaza, dakle NAD⁺- ovisnu ligazu (LigA) i tri različite ATP-ovisne ligaze (LigB, LigC i LigD) (Slika 1).



Slika 1. Bakterijske ligaze (LigA, LigB, LigC, LigD).
 Polipeptidi s N-terminalnim krajem (lijevo) i
 C-terminalnim krajem (desno)
 (Preuzeto iz Aniwku i sur. 2008).

Mikobakterija *M. smegmatis* ima dva LigC paraloga kodiranih susjednim kromosomskim genima. Dok je LigA esencijalan za bakterijsko preživljavanje (Korycka-Machala i sur. 2007), geni koji kodiraju za LigB, LigC i LigD mogu biti deletirani, pojedinačno ili u parovima, bez ikakvog vidljivog utjecaja na stanični rast u laboratorijskim uvjetima (Gong i sur. 2005).

Biokemijske, strukturne i genetičke studije bakterijskih ligaza i proteina Ku otkrile su jedinstvene značajke nehomolognog popravka DNA kod prokariota. Ligaza LigD se razlikuje od svih ostalih DNA ligaza po tome što ima višestruke katalitičke aktivnosti unutar jednog polipeptida (Della i sur. 2004; Gong i sur. 2005; Zhu i Shuman 2007). Proteini ligaze LigD se sastoje od tri autonomne domene: ligaze (LIG), polimeraze (POL) i fosfoesteraze (PE). Polimeraza i fosfoesteraza su domene zaslužne za popunjavanje 3' kraja dvolančanog loma prije ligacije ligazom. POL domena je zaslužna za dodavanje kratkog niza nukleotida na DNA početnicu kalupa i za dodavanje jednog nukleotida bez homolognog kalupa na tupe krajeve dvolančanog loma (Della i sur. 2004; Gong i sur. 2005; Zhu i Shiman 2007). PE domena uklanja 3' fosfate i 3' nukleotide s komplementarnog kalupa.

2. OTKRIĆE I SVOJSTVA NHEJ POPRAVKA KOD PROKARIOTA

Direktan dokaz da bakterije mogu katalizirati nehomologni popravak dvolančanih lomova i otkrivanje samog mehanizma tog popravka proizašlo je iz studija o popravku linearnih plazmidnih DNA molekula transfekcijom unešenih u bakteriju *Mycobacterium smegmatis* (Aniukwu i sur. 2008). Plazmidni supstrat je sadržavao mikobakterijski početak replikacije, gen za rezistenciju na kanamicin i gen *lacZ* koji kodira za β -galaktozidazu. Digestija plazmida pomoću restriktivne endonukleaze koja cijepa samo jednom unutar gena *lacZ* stvorila je linearnu DNA s definiranim 5' stršećim ili tupim krajevima. Da bi transfekcijom unesena linearna DNA transformirala bakterijskog primaoca (*Mycobacterium smegmatis*) da stekne otpornost na kanamicin, krajevi plazmida morali su biti spojeni i formirati kružnu DNA sposobnu za replikaciju. Pošto bakterijski genom nije imao DNA sekvence homologne plazmidnoj DNA koja je okruživala dvolančane lomove, nije bilo moguće izvršiti popravak DNA homolognom rekombinacijom. Stoga je nehomologni popravak bio ključan u zatvaranju plazmida.

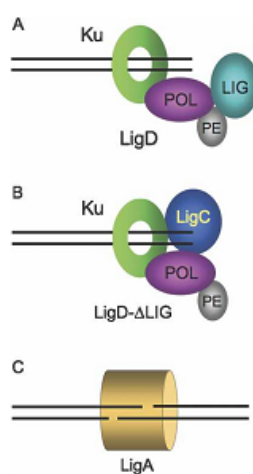
Osobito otkriće ovog ekperimenta je bilo to da je oko 50% kanamicin rezistentnih transformanata (poteklo od popravka tupih i 5' stršećih krajeva) imalo bijelu boju kolonija na mediju koji je sadržavao X-gal, ukazujući da je gen *lacZ* postao inaktiviran prilikom procesa popravka. Kod $\Delta ligD$ i Δku sojeva bakterije *M. smegmatis* učinkovitost nehomolognog popravka 5' stršećih i tupih krajeva je bila znatno smanjena. Analiza molekularnog mehanizma nevjernog nehomolognog popravka DNA kod bakterije divljeg tipa *in vivo* pokazala je učestalost insercija pojedinačnih nukleotida na 5' stršećim (uz komplementarni lanac) i tupim krajevima (bez komplementarnog lanca). U tom procesu je domena POL ligaze LigD bila katalizator ovih mutagenih insercija. Na temelju ovih rezultata, predložen je jednostavan model da bakterijski protein Ku i ligaza LigD zajedno sačinjavaju dvodijelni „stroj“ nehomolognog popravka dvolančanih lomova. Međutim, koncept ovog dvočlanog principa nehomolognog popravka, naime, nije jednak kod svih prokariota. Primjerice, popravak 3' stršećih krajeva se dramatično razlikuje kod bakterije *E. coli* u odnosu na bakteriju *M. smegmatis*, a isto tako i popravak 5' stršećih krajeva. Kod bakterije *E. coli* taj popravak je primarno netočan i stvara delecije na svim analiziranim mjestima popravka, dok kod *M. smegmatis* popravak dovodi do insercijskih frameshift mutacija uzrokovanih

polimeraznim popunjavanjem 5' stršćih krajeva. Ovakva odstupanja naglasila su važnost proučavanja bakterijskog nehomolognog popravka u nativnom kontekstu. Također je bitno naglasiti da nije potpuno razjašnjeno jesu li samo protein Ku i LigD sastavni dijelovi NHEJ popravka kod prokariota koje prirodno imaju takvu mogućnost popravka lomova. Protuargumenata tezi da su protein Ku i LigD jedini članovi nehomolognog popravka, ima više:

1. uloga varijabilnosti i složenosti DNA ligaza kod različitih bakterijskih vrsta koji otvara pitanja podjele posla i funkcionalnog preklapanja
2. pojava delecijских NHEJ događaja *in vivo* koja nisu rezultat direktnog djelovanja proteina Ku i ligaze LigD
3. još neistraženi primjeri različitih tipova lomova DNA koji su drugačije popravljani nehomologno kod prokariota

3. MODEL NEHOMOLOGNOG POPRAVKA KOD PROKARIOTA

Model nehomolognog popravka kod prokariota započinje vezanjem proteina Ku za lomove DNA i donošenjem ligaze LigD. Fizička interakcija između proteina Ku i ligaze LigD je proučena i prikazana detekcijom DNA-Ku-LigD tročlanog kompleksa uz pomoć nativne gel elektroforeze (Weller i sur. 2002, Gong i sur. 2005). Ovom metodom je također utvrđena domena POL kao glavna kontaktna točka između ligaze LigD i proteina Ku (Pitcher i sur. 2005). Pokazano je da u odsustvu domene POL, protein LigD, koji se sastoji samo od domene PE i domene LIG, neće biti učinkovito donesen do Ku-vezanog proteina na mjestima dvolančanih lomova. Nemogućnost djelovanja „rezervne“ ATP-ovisne ligaze u ovom slučaju ukazuje da domena POL ima drugu ulogu osim nosača za zatvaranje krajeva prekinutih lanaca. Nedavno objavljena kristalna struktura mikobakterijske domene POL vezane za DNA (Brissett i sur. 2007) daje ključni uvid u mehanizam samog nehomolognog popravka povezujući domenu POL ligaze LigD u mjesto prekinutih krajeva DNA. U skladu s tim, srž NHEJ kompleksa se vjerojatno sastoji od Ku homodimera smještenog u blizini kraja dvolančanog loma s domenom POL proteina LigD pričvršćenom za protein Ku sa strane okrenute prema samom lomu (slika 2 A).



Slika 2. Višestruki putovi nehomolognog popravka kod prokariota
(Pruzeto iz Aniuoku i sur. 2008).

Dva alternativna puta Ku-ovisnog popravka tupih krajeva prikazani su na slici 2 pod A i B. U stanicama divljeg tipa, aparat nehomolognog popravka je smješten na mjestu dvolančanog loma kontaktom homodimera proteina Ku (koji okružuje DNA kao toroidna spona) i domene POL ligaze LigD. Izbor između točnog i netočnog popravka DNA ovisi o domeni LIG i nekomplementarnom dodavanju pojedinačnih nukleotida pomoću domene POL ligaze LigD i delecije krajeva nepoznatom mikobakterijskom nukleazom (slika 2 A). U odsustvu domene LIG ligaze LigD (ili kad je aktivnost domene LIG na neki način suprimirana), ligaza LigC omogućava pomoćnu aktivnost zatvaranja 5' stršećih krajeva. Pošto svi tupi 5' stršeći krajevi nehomolognog popravka trebaju domenu POL, zaključeno je da ligaza LigC ostvaruje interakciju s Ku-POL kompleksom. Gotovo svi nehomologni popravci koji su izvršeni na ovaj način su mutageni (slika 2 B). Bakterija *M. smegmatis* ima i Ku-neovisan nehomologni popravak specifičan za stršeće 3' krajeve dvolančanih lomova koji nije mutagen. Taj popravak je aktivan u mutantima $\Delta ligB/C/D$ i ovisi o proteinu LigA. Zasada nije poznato postoje li dodatni faktori koji sudjeluju u ovom putu (slika 2 C).

Kada se u kompleksu nalazi cijeli protein LigD divljeg tipa, ishod popravka uglavnom ovisi o strukturi inicijalnih dvolančanih lomova. Tupi 5' stršeći krajevi se popravljaju s velikom stopom mutacija (43%-57%), dok se 3' krajevi komplementarno popravljaju uz samo 4% pogrešaka. Najnovija istraživanja pokazala su da je odluka između točnog i netočnog popravka utvrđena ravnotežom između ligazne i polimerazne aktivnosti proteina LigD i bakterijskih nukleaza koje uklanjaju krajeve dvolančanih lomova (Brissett i sur. 2007). Genetičkom manipulacijom uklonjena polimerazna aktivnost proteina LigD smanjuje učestalost mutacija tupih krajeva nehomolognog popravka (sa 43% na 7%) eliminacijom dodavanja pojedinačnih nukleotida koji se inače ne dodaju komplementarno i koji su glavni izvor mutacija divljeg tipa mikobakterija. Gubitkom polimerazne aktivnosti ligaze LigD također se smanjuje stopa mutacija 5' stršećih krajeva (sa 67% na 19%). Valja primjetiti da su reakcije nehomolognog popravka (pod utjecajem inaktivacije polimerazne aktivnosti mutacijama ligaze D) *in vivo* baš one u kojima domena POL ligaze sudjeluje i *in vitro* (Gong i sur. 2005; Pitcher i sur. 2005; Zhu i Schuman 2005).

Uklanjanjem ligazne aktivnosti proteina LigD drastično se povećava stopa delecija kod tupih i 5' stršećih krajeva nehomolgnog popravka. Ova činjenica odgođenog i neefikasnog zatvaranja lanaca pomoćnim ligazama omogućava nukleazama da uklanjaju nukleotide krajeva dvolančanih lomova. Ligaza LigC je najbolja pomoćna ligaza zbog svojih

sličnih strukturalnih i funkcionalnih karakteristika s domenom LIG ligaze D (Gong i sur. 2004; Zhu i Shuman 2007).

Ligaza B je učinkovit enzim lijepljenja lomova na temelju N-terminalne domene koja veže DNA, a koju ne sadržava ni ligaza LigD ni ligaza LigC. Ligaza B ne akumulira DNA-adenilat tijekom spajanja krajeva DNA *in vitro* (Gong i sur. 2004).

Rezultati istraživanja pokazali su da fosfoesterazna aktivnost (PE) ligaze LigD ne katalizira formiranje delecija i ne sudjeluje u plazmid-vezanom nehomolognom popravku ni tupih ni 5' stršećih krajeva dvolančanih lomova (Gong i sur. 2004). Postavilo se pitanje prave uloge PE domene ligaze. Funkcija DNA 3' fosfataze je možda bitna za popravak u slučajevima kad oštećenja stvaraju modificirane 3' krajeve koji ne mogu biti produženi polimeraznom aktivnošću ili zatvoreni ligazom. Primjerice, DNA lomovi s 3'-PO₄ krajevima uzrokovanim direktnim nukleolitičkim rezanjem, ionizirajućim zračenjem ili kao intermedijeri stvoreni tokom popravka delecijom baza. Pošto se 3'-PO₄ krajevi inače ne stvaraju prilikom nehomolognog popravka transfekcijom unešenih linearnih plazmida, očekuje se da mutacije koje inaktiviraju domenu PE mikobakterijske ligaze D neće imati utjecaj na nehomologni popravak *in vivo*.

Još nisu poznate mikobakterijske nukleaze zaslužne za formiranje delecija tijekom popravka tupih i 5' stršećih krajeva nehomolognog popravka. Bakterijski enzim RecBCD je heterotrimerna nukleaza/helikaza koja veoma brzo uklanja krajeve dvolančanih lomova kako *in vivo* tako i *in vitro*. Istraživanjem je utvrđen genetički dokaz da enzim RecBCD nije jedini katalizator uklanjanja krajeva dvolančanih lomova (Stephanou i sur. 2007). Dakle, nukleaza RecBCD ne može razgraditi krajeve dvolančanih lomova koji trebaju biti popravljani nehomologno jer su možda zaštićeni proteinom Ku ili postoje druge mikobakterijske nukleaze koje imaju sposobnost uklanjanja krajeva kad nukleaza RecBCD nije prisutna.

Dokazi potonjeg slučaja vezanog uz funkcionalni višak nukleaza ispitani su na mutiranom $\Delta recBCD$ soju koji nije bio ništa osjetljiviji na UV zračenje od divljeg tipa bakterije *M. smegmatis* (Stephanou i sur. 2007), dok se s druge strane bakterija *E. coli* uvelike oslanja na nukleazu RecBCD kao faktor otpornosti na UV zračenje .

Nije još razjašnjeno koju svrhu ima velika sklonost greškama prilikom nehomolognog komplementarnog popravka 5' stršećih krajeva i tupih krajeva dvolančanih lomova kod bakterija, kod kojih je istovremeno očuvana izrazita točnost prilikom komplementarnog popravka 3' stršećih krajeva. Iako se mutageni popravci dvolančanih lomova čine kontraproduktivnima, to može imati neke prednosti u stresnim slučajevima kao što je stacionarna faza prilikom izgladnjivanja (Ponder i sur. 2005). Prilikom izbora na staničnoj

razini između sigurne smrti kromosomskim lomovima ili preživljavanja pomoću nehomolognog popravka popraćenog točkastom mutacijom, mikobakterijskim stanicama u stanju mirovanja više se isplati preživjeti. Nehomologni popravak možda ima ulogu i u mikobakterijskoj rezistenciji na izoniazid (lijek za tretiranje oboljelih od tuberkuloze) koja se događa zbog „loss of function“ mutacije u genu *katG* (Zhang i sur. 1992).

4. VEZA NHEJ U ŽIVOTNOM CIKLUSU FAGA

Prednosti izrazito točnog popravka 3' stršećih krajeva *M. smegmatis* nisu definitivno utvrđene ali su očigledno iskorištene od strane mikobakteriofaga Omega i Corndog, koji ovise o domaćinovoju ligazi D za formiranje plakova (Pitcher i sur. 2006). Nijedan virus ne treba domaćinov protein Ku već svaki kodira za vlastiti Ku homolog. Infekcija fagom zahtjeva ligaznu aktivnost proteina LigD ali ne i njegovu polimeraznu aktivnost. Protein LigD potreban je za cirkularizaciju genoma faga, koja obuhvaća komplementarno zatvaranje 3' stršećih jednolančanih krajeva linearne DNA faga (Pitcher i sur. 2006). Razumljivo je da zatvaranje ovih 3' stršećih krajeva faga treba biti bez grešaka da bi omogućilo točno mjesno određeno rezanje replikativnih DNA potomaka faga u linearne genomske molekule. Nije jasno zašto LigD-neovisan put točnog nehomolognog popravka 3' stršećih krajeva (slika 2C) nije moguć u slučaju infekcije fagima. Pretpostavka je da se fagom kodiran protein Ku nalazi na krajevima linearnog genoma faga tijekom enkapsulacije DNA, gdje je spreman na direktno zatvaranje injektirane DNA faga LigD ovisnim putem za vrijeme sljedeće faze infekcije. Protein Ku kodiran fagom zajedno s Ku sličnim Gam proteinom bakteriofaga Mu (d'Adda di Fagagna i sur. 2003), je homodimer koji se veže za linearnu DNA i štiti ju od egzonukleolitičke razgradnje (Pitcher i sur. 2006).

5. LITERATURA

Akey, D., Martins, A., Aniuoku, J., Glickman, M.S., Scuman, S., and Berger, J.M. 2006. Crystal structure and nonhomologous end joining function of the ligase domain of *Mycobacterium* DNA ligase D. *Biol. Chem.* 281: 13412-13423

Brissett, N.C., Pitcher, R.S., Juarez, R., Picher, A.J., Green, A.J., Dafforn, T.R., Fox, G.C., Blanco, L., and Doherty, A.J. 2007. Structure of a NHEJ polymerase-mediated synaptic complex. *Science* 318: 456-459

d'Adda di Fagagna, F., Weller, G.R., Doherty, A.J., and Jackson, S.P. 2003. The Gam protein of bacteriophage Mu is an orthologue of eucaryotic Ku. *EMBO Rep.* 4: 47-52

Della, M., Palmbo, P.L., Tseng, H.M., Tonkin, L.M., Daley, J.M., Tooper, L.M., Pitcher, R.S., Tomkinson, A.E., Wilson, T.E., and Doherty, A.J. 2004. Mycobacterial Ku and ligase proteins constitute a two component NHEJ repair machine. *Science* 306: 683-685

Ferreira, M.G. and Cooper, J.P. 2004. Two modes of DNA double-strand break repair are reciprocally regulated through fission yeast cell. *Genes & Dev.* 18: 2249-2254

Gong, C., Martins, A., Bongiorno, P., Glickman, M., and Shuman, S. 2004. Biochemical and genetic analysis of the four DNA ligases of mycobacteria. *J. Biol. Chem.* 279: 20594-20606

Gong, C., Bongiorno, P., Martins, A., Stephanou, N.C., Zhu, H., Shuman, S., and Glickman, M.S. 2005. Mechanism of nonhomologous end-joining in mycobacteria: A low fidelity repair system driven by Ku, ligase D and ligase C. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 12: 304-312

Jidefor Aniuoku, Michael S. Glickman and Stewart Shuman, 2008., The Pathways and Outcomes of Mycobacterial NHEJ Depend on The Structure of the Broken DNA Ends, *Genes & Dev.*

Korycka-Machala, M., Rychta, E., Brzostek, A., Sayer, H.R., Rumijowska-Galewicz, A., Bowater, R.P., and Dziadek, J. 2007. Evaluation of NAD⁺-dependent DNA ligase of mycobacteria as a potential target for antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51: 2888-2897

Moeller, R., Stackebrandt, E., Reitz, G., Berger, T., Rettberg, P., Doherty, A.J., Horneck, G., and Nicholson, W.L. 2007. Role of DNA repair by nonhomologous end joining in *Bacillus subtilis* spore resistance to extreme dryness, mono- and polychromaticUV, and ionizing radiation. *J. Bacteriol.* 189: 3306-3311

Pitcher, R.S., Tonkin, L.M., Green, A.J., and Doherty, A.J. 2005. Domain structure of a NHEJ repair ligase from *Mycobacterium tuberculosis*, *J. Mol. Biol.* 351: 531-544

Pitcher, R.S., Tonkin, L.M., Daley, J.M., Palmbo, P.L., Green, A.J., Velting, T.L., Brzostek, A., Korycka-Machala, M., Cresawn, S., Dziadek, J., et al. 2006. Mycobacteriophage exploit NHEJ to facilitate genome circularization. *Mol. Cell* 23: 743-748

Pitcher, R.S., Brissett, N.C., and Doherty, A.J. 2007a. Nonhomologous end-joining in bacteria *Annu. Rev. Microbiol.* 61: 259-282

Shuman, S. And Glickman, M.S. 2007. Bacterial DNA repair by non-homologous end joining. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 852-861

Nicolas C. Stephanou, Feng Gao, Paola Bongiorno, Sabine Ehrt, Dirk Schnappinger, Stewart Shuman, Michael S. Glickman, 2007., Mycobacterial Nonhomologous End Joining Mediates Mutagenic Repair of Chromosomal Double-Strand DNA Breaks, *Journal Of Bacteriology*, July 2007, p.5237-5246

Stephanou, N.C., Gao, F., Bongiorno, P., Ehrt, S., Schnappinger, D., Shuman, S., and Glickman, M.S. 2007. Mycobacterial nonhomologous and joining mediates mutagenic repair of chromosomal double-strand breaks. *J. Bacteriol.* 189: 5237-5246

Weller, G.R., Kysela, B., Roy, R., Tonkin, L.M., Scanlan, E., Della, M., Devine, S.K., Day, J.P., Wilkinson, A., d'Adda di Fagagna, F., et al. 2002. Identification of a DNA nonhomologous end-joining complex in bacteria. *Science* 297: 1686-1689

Zhu, H. And Shuman, S. 2005b. Novel 3'-ribonuclease and 3'-phosphatase activities of the bacterial non-homologous end-joining protein, DNA ligase D. *J. Biol. Chem.* 280: 25973-25981

Zhu, H. And Shuman, S. 2006. Substrate specificity and structure-function analysis of the 3'-phosphoesterase component of the bacterial NHEJ protein, DNA ligase D. *J. Biol. Chem.* 281: 13873-13881

Zhu, H., Wang, L.K., and Shuman, S. 2005. Essential constituents of the 3'-phosphoesterase domain of the bacterial DNA ligase D, a nonhomologous end-joining enzyme. *J. Biol. Chem.* 280: 33707-33715

Zhu, H., Nandakumar, J., Aniukwu, J., Wang, L.K., Glockman, M.S., Lima, C.D., and Shuman, S. 2006. Atomic structure and nonhomologous end-joining function of the polymerase component of bacterial DNA ligase D. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 1711-1716

6. SAŽETAK

Mehanizmi popravka lomova DNA su detaljno proučavani zbog svoje važnosti na vijabilnost svih organizama u prirodi i njihovu genetičku stabilnost. Dva su najvažnija puta popravka lomova DNA; homologna rekombinacija (uz nisku stopu pogreške) te nehomologno spajanje krajeva (često popraćeno mutacijama).

Opisan je sam model nehomolognog popravka koji uključuje dva najvažnija enzima, a to su protein Ku i ligaza LigD, koji stvaraju kompleks s dvolančanim lomovima DNA. Ligaza LigD ima tri katalitičke aktivnosti (polimeraznu, ligaznu i fosfoesteraznu) koje djeluju u popravljanju lomova. Međutim, nije sasvim sigurno jesu li ova dva proteina jedini uključeni u popravak.

7. SUMMARY

DNA repair pathways of broken DNA have been intensely studied because of their importance for organism viability and genome integrity. The most important two pathways for repairing broken DNA are homologous recombination (error free) and nonhomologous end joining (error prone).

Nonhomologous pathway includes two significant factors; Ku protein and LigD ligase that form a complex with DNA double strand breaks. LigD ligase has three catalytic activities (polimerase, ligase and phosphoesterase) that participate in the repair. However, it is not completely clear if these two proteins are the only participants in this repair mechanism.