

Received: 2013.02.11
Accepted: 2013.12.18
Published: 2014.05.08

Rola białek szlaku niedokrwistości Fanconiego w naprawie DNA i utrzymaniu stabilności genomu

The role of the Fanconi anemia pathway in DNA repair and maintenance of genome stability

Aleksandra M. Koczorowska, Aneta Białkowska, Katarzyna Kluzek,
Małgorzata Z. Zdzenicka

Katedra i Zakład Genetyki Molekularnej Komórki, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy,

Streszczenie

Szlak białek niedokrwistości Fanconiego (FA) jest jednym z systemów naprawy DNA biorących udział w usuwaniu wiązań krzyżowych. Białka te mają fundamentalne znaczenie dla ochrony informacji genetycznej, a zaburzenia ich funkcji niosą poważne konsekwencje dla całego organizmu. Bialleliczne mutacje genów FA są przyczyną rozwoju ciężkiej choroby genetycznej - niedokrwistości Fanconiego, która objawia się licznymi wadami wrodzonymi, niestabilnością chromosomalną oraz zwiększoną predyspozycją do zachorowań na nowotwory. Geny szlaku FA kodują piętnaście białek. Osiem z nich tworzy tzw. kompleks jądrowy, odpowiedzialny za monoubikwitynację FANCD2 oraz FANCI. Jest to ważny etap usuwania wiązań krzyżowych z DNA, niezbędny do rekrutacji pozostałych białek naprawczych. Większość białek FA niezwiązanych z procesem monoubikwitynacji uczestniczy w naprawie podwójnych pęknięć DNA przez rekombinację homologiczną. Oprócz bezpośredniego udziału w naprawie uszkodzeń genomu, część białek należących do szlaku FA jest również zaangażowana w inne ważne procesy komórkowe, których niezakłócony przebieg warunkuje zachowanie stabilności genomu. Do procesów tych zalicza się replikacja, kontrola cyklu komórkowego oraz mitozę.

Słowa kluczowe:

niedokrwistość Fanconiego • rekombinacja homologiczna • naprawa wiązań krzyżowych • stabilność genomu

Summary

The Fanconi anemia (FA) pathway is one of the DNA repair systems involved in removal of DNA crosslinks. Proteins which belong to this pathway are crucial to the protection of genetic information, whereas disturbances in their function have serious implications for the whole organism. Biallelic mutations in FA genes are the cause of Fanconi anemia – a genetic disease which manifests itself through numerous congenital abnormalities, chromosomal instability and increased predisposition to cancer. The FA pathway is composed of fifteen proteins. Eight of them, in the presence of DNA interstrand crosslinks (ICLs), form a nuclear core complex responsible for monoubiquitination of FANCD2 and FANCI, which is a key step of ICL repair. FA proteins which are not involved in the monoubiquitination step participate in repair of DNA double strand breaks via homologous recombination. Some of the FA proteins, besides having a direct role in the repair of DNA damage, are engaged in replication, cell cycle control and mitosis. The unperturbed course of those processes determines the maintenance of genome stability.

Keywords:

Fanconi anemia • homologous recombination • DNA interstrand crosslink repair • genome stability

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1101567>

Word count: 4267
Tables: 2
Figures: 4
References: 114

Adres autorki: Aleksandra M. Koczorowska, Katedra i Zakład Genetyki Molekularnej Komórki, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, ul. M Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz; e-mail: aleksandra.koczorowska@gmail.com

Wykaz skrótów: **BIR** – replikacja indukowana pęknięciem, **DSBR** – naprawa podwójnych pęknięć DNA, **DSBs** – podwójne pęknięcia DNA, **FA** – niedokrwistość Fanconiego, **HJ** – struktura Hollidaya, **HR** – rekombinacja homologiczna, **ICLS** – międzyciniowe wiązania krzyżowe DNA, **MMR** – naprawa błędnie sparowanych zasad, **NER** – naprawa przez wycięcie nukleotydu, **NHEJ** – naprawa przez łączenie niehomologicznych końców, **SDSA** – łączenie nici zależne od syntezy DNA, **TLS** – synteza DNA z ominięciem miejsca uszkodzenia.

WPROWADZENIE

Materiał genetyczny jest nieustannie narażony na działanie czynników endo- i egzogennych mogących prowadzić do jego uszkodzeń. Dlatego też komórki wykształciły wiele mechanizmów związanych z ochroną integralności informacji genetycznej. Uszkodzenie DNA jednocześnie uruchamia kilka typów odpowiedzi komórki, do których należą aktywacja punktów kontrolnych cyklu komórkowego i systemów naprawy DNA, zmiana profilu transkrypcji oraz apoptoza. Białka uczestniczące w tych procesach ściśle ze sobą współpracują, a zaburzenia ich funkcji prowadzą do niestabilności genomu. Sygnał o uszkodzeniu DNA jest przekazywany od białek sensorowych, a następnie przez białka mediatorowe i przekaznikowe do białek efektorowych, które powodują m.in. zahamowanie cyklu komórkowego i zapoczątkowanie procesów naprawy DNA. Umożliwia to reperację materiału genetycznego i zapobiega przekazywaniu uszkodzonych lub nie w pełni zreplikowanych chromosomów do komórek potomnych. Gdy uszkodzeń w DNA jest zbyt wiele, komórka może zostać skierowana na drogę programowanej śmierci – apoptozy [74].

Do jednych z najgroźniejszych dla komórki uszkodzeń DNA należą międzyciniowe wiązania krzyżowe (ICLS - DNA interstrand crosslinks). Ich usuwanie jest procesem niezmiernie skomplikowanym i angażuje białka należące do szlaku naprawy przez wycięcie nukleotydu (NER - nucleotide excision repair), syntezy DNA z ominięciem miejsca uszkodzenia (TLS - translesion synthesis), naprawy błędnie sparowanych zasad (MMR - mismatch repair), rekombinacji homologicznej (HR - homologous recombination) oraz szlaku białek niedokrwistości Fanconiego (FA - Fanconi anemia), czyli niemal wszystkich znanych systemów reperacji genomu [15]. Szlak białek FA, jako jedyny uczestniczy w większości etapów usuwania wiązań krzyżowych, a także współdziała z pozostałymi systemami naprawczymi zaangażowanymi w ten

proces. Mutacje genów kodujących białka szlaku FA powodują rozwój niedokrwistości Fanconiego. Choroba ta, podobnie jak ataksja-teleangiektazja, zespół Blooma, Xeroderma pigmentosum czy zespół Nijmegen, jest jednym z dziedzicznych zespołów chorobowych, których cechą charakterystyczną na poziomie komórkowym jest niestabilność chromosomalna, skutkująca u chorych zwiększoną predyspozycją do karcynogenezy.

OBRAZ KLINICZNY NIEDOKRWISTOŚCI FANCONIEGO

Niedokrwistość Fanconiego jest rzadką chorobą genetyczną opisaną po raz pierwszy przez szwajcarskiego pediatrę Guido Fanconiego w 1927 r. Dotychczas zidentyfikowano 15 genów zaangażowanych w rozwój tej choroby (*FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *BRCA2*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *BRIP1*, *FANCL*, *FANCM*, *PALB2*, *RAD51C* i *SLX4*), które kodują białka tworzące tzw. szlak białek niedokrwistości Fanconiego (alternatywne nazwy genów FA wymieniane w piśmiennictwie przedstawiono w tabeli 1). Niedokrwistość Fanconiego jest najczęściej uwarunkowana mutacjami w genach *FANCA*, *FANCC* oraz *FANCG* i dziedziczona w sposób autosomalny recesywny, a w przypadku mutacji genu *FANCB* w sposób recesywny sprzężony z chromosomem X [32,35]. Charakterystyczną cechą pacjentów cierpiących na to schorzenie są zaburzenia układu krwiotwórczego objawiające się anemią aplastyczną wynikającą z postępujących zaburzeń funkcji szpiku kostnego. Dodatkowo u chorych często występuje opóźnienie umysłowe oraz liczne wady wrodzone, do których należą mikrocefalia, hiperpigmentacja skóry, nieprawidłowości w budowie organów wewnętrznych, np. serca i nerek, a także liczne wady szkieletowe [35,82].

Choroba ta wiąże się również ze zwiększonym ryzykiem zachorowań na nowotwory, takie jak ostra białaczka szpikowa oraz nowotwory wątroby, głowy i szyi, przewodu pokarmowego, skóry, układu moczowego i piersi [11]. U 20% pacjentów rozwijają się one w bardzo wczesnym

wieku. Najcięższy przebieg FA zaobserwowano u pacjentów posiadających mutacje w genie *BRCA2* (breast cancer 2, early onset). W tej grupie chorych ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych wynosi 60-80%. Rozwijają się w dzieciństwie między 4 a 10 rokiem życia [2]. Zaburzeń hematologicznych nie zaobserwowano jedynie w przypadku białelicznych mutacji w genie *RAD51C* (*RAD51* (*S. cerevisiae*) homolog C), dlatego choroba wywołana mutacją w tym genie jest często nazywana zespołem podobnym do niedokrwiłości Fanconiego [88,100].

Na poziomie komórkowym niedokrwiłość Fanconiego objawia się podwyższoną liczbą spontanicznych i indukowanych związkami sieciującymi DNA złamań chromosomów [11]. Często prowadzą one do powstania tzw. figur radialnych tworzących się w wyniku fuzji chromosomów [64]. Komórki pacjentów cechuje ponadto zwiększona apoptoza, częstsze mutacje oraz zaburzenia cyklu komórkowego przejawiające się wydłużoną fazą G2 [11]. Charakterystyczna dla niedokrwiłości Fanconiego jest również nadwrażliwość komórek pacjentów na związki wprowadzające wiązania krzyżowe do DNA, która jest cechą wykorzystywaną w diagnostyce tego schorzenia. Fenotyp chorych uwarunkowany uszkodzeniami genów FA sugeruje, iż kodowane przez nie białka są zaangażowane w wiele ważnych procesów komórkowych.

BIĄŁKA SZLAKU NIEDOKRWIŁOŚCI FANCONIEGO

Większość białek należących do szlaku FA poznano w ostatniej dekadzie. Do końca lat dziewięćdziesiątych XX w. dzięki analizie komplementacyjnej, polegającej na hybrydyzacji komórek pochodzących od różnych pacjentów (ryc. 1), wśród chorych na niedokrwiłość

Fanconiego zidentyfikowano osiem grup komplementacyjnych [93]. Grupy te oznaczono literami A-H, a każda z nich reprezentowała pacjentów z mutacjami różnych genów. Do 2000 r. sklonowano część genów FA (*FANCA*, *FANCC*, *FANCE*, *FANCF* i *FANCG*) [3,12,13,14,93] oraz wycofano z klasyfikacji grupę H, ponieważ ponowna analiza komplementacyjna dowiodła, że pacjent z tej grupy posiadał mutację w tym samym genie co chorzy z grupy A [31]. W następnym roku wykazano niejednorodność grupy D i ustalono, że chorzy przyporządkowani do tej grupy komplementacyjnej posiadają mutacje w dwóch różnych genach – *FANCD1* i *FANCD2* [99]. W następnych latach dynamiczny rozwój technik biologii molekularnej umożliwił odkrycie i poznanie sekwencji aż dziewięciu pozostałych genów szlaku FA (*FANCB*, *BRCA2/FANCD1*, *FANCI*, *BRIP1*, *FANCL*, *FANCM*, *PALB2*, *RAD51C* oraz *SLX4*) [17,28,44,56,57,58,72,91,100].

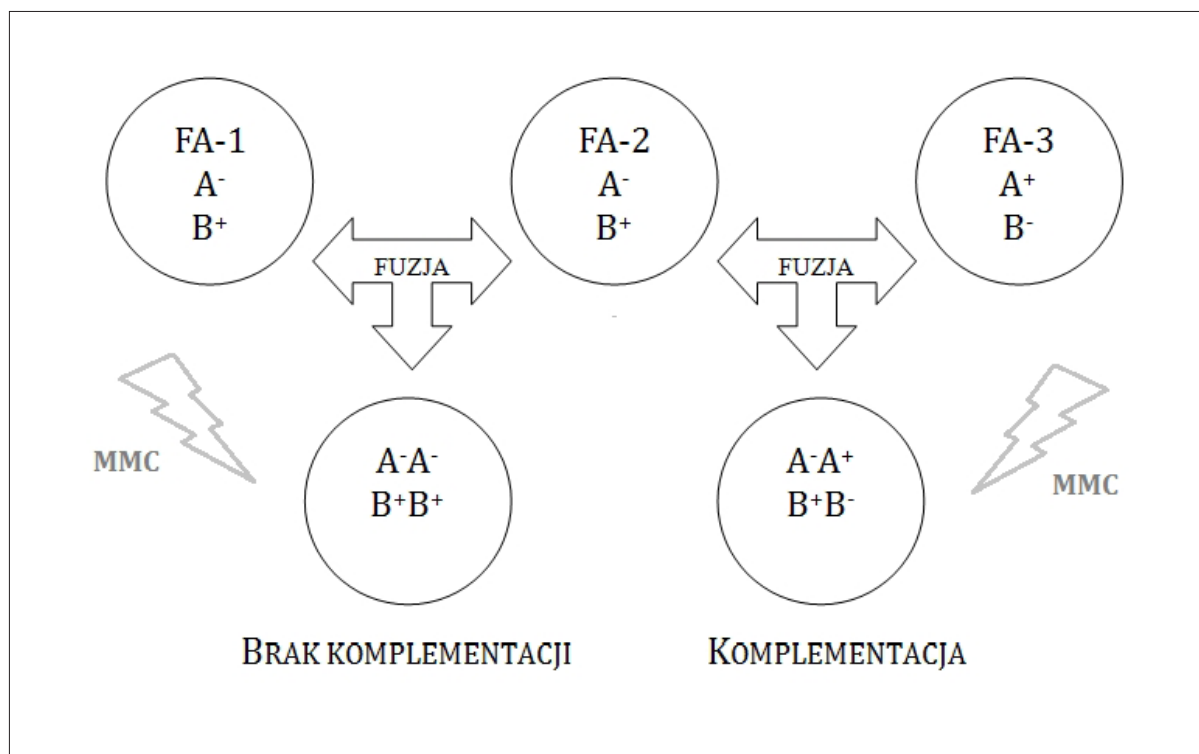
Spośród znanych obecnie piętnastu białek szlaku niedokrwiłości Fanconiego, osiem tworzy tzw. kompleks jądrowy (*FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCL* oraz *FANCM*). Kompleks ten powstaje przypuszczalnie w kilku etapach z połączenia mniejszych kompleksów białkowych, jednak dokładny proces jego tworzenia nadal nie został w pełni poznany. Najprawdopodobniej subkompleksy *FANCL-FANCB* oraz *FANCA-FANCG* są transportowane z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie łączą się z białkiem *FANCM*. Do tego kompleksu przyłącza się kolejny subkompleks *FANCC-FANCE*, a następnie białko *FANCF* [55].

Kompleks jądrowy przeprowadza monoubikwitylację tzw. heterodimeru ID zbudowanego z białek *FANCD2* oraz *FANCI*. W kompleksie jądrowym funkcję katali-

Tabela 1. Geny szlaku niedokrwiłości Fanconiego

Grupa komplementacyjna	Uszkodzony gen*	Alternatywne nazwy genu	Locus	Liczebność pacjentów % [108]
FA-A	FANCA	FAA, FA-H, FAH	16q24.3	~ 60-70
FA-B	FANCB	FAB, FLJ34064, FAAP95	Xp22.2	~ 2
FA-C	FANCC	FAC, FA3	9q22.3	~ 14
FA-D1	BRCA2	FANCD1, FAD, FAD1, BRCC2	13q12-q13	~ 3
FA-D2	FANCD2	FAD, FA-D2	3p25.3	~ 3
FA-E	FANCE	FAE	6p22-p21	~ 3
FA-F	FANCF	FAF	11p15	~ 2
FA-G	FANCG	FAG, XRCC9	9p13	~ 10
FA-I	FANCI	FLJ10719	15q26.1	~ 1
FA-J	BRIP1	FANCI, BACH1, OF	17q22.2	~ 2
FA-L	FANCL	FLJ10335, FAAP43, Pog	2p16.1	~ 0,2
FA-M	FANCM	FAAP250	14q21.3	~ 0,2
FA-N	PALB2	FANCN, FLJ21816	16p12.1	~ 0,7
FA-O	RAD51C	RAD51L2	17q22	~ 0,2
FA-P	SLX4	FANCP, KIAA1784, KIAA1987,	16p13.3	~ 0,2

*- nazwy genów wg HGNC – HUGO Gene Nomenclature Committee.



Ryc. 1. Schemat analizy komplementacyjnej komórek pacjentów z niedokrwiistością Fanconiego nadwrażliwych na mitomycynę C (MMC). Hybryda, która powstała w wyniku fuzji komórek chorych należących do tej samej grupy komplementacyjnej (FA-1 i FA-2) zachowuje nadwrażliwość na MMC. Fuzja komórek pacjentów pochodzących z dwóch różnych grup komplementacyjnych (FA-2 i FA-3), prowadzi do utworzenia komórki hybrydowej wykazującej prawidłowy fenotyp

tyczną związaną z monoubikwitynacją tych białek pełni FANCL, mające aktywność ligazy E3 ubikwityny [56]. Do prawidłowego przebiegu procesu monoubikwitynacji wymagana jest także obecność enzymu E2 sprzęgającego ubikwitynę. Enzymem tym jest UBE2T, które przyłącza się do domeny palca PHD (plant homeo domain) białka FANCL, co umożliwia ich współdziałanie. Udział UBE2T w usuwaniu ICLs jest również związany z ochroną komórek przed aberracjami chromosomalnymi indukowanymi związkami sieciującymi DNA [51]. Spośród pozostałych białek kompleksu jądrowego, jedynie FANCM jest aktywne enzymatycznie. Pełni ono funkcję helikazy, ATP-azy oraz translokazy, dzięki czemu może transportować kompleks jądrowy wzdłuż nici DNA [58]. W skład kompleksu jądrowego oprócz białek FA wchodzi także białka towarzyszące, tzw. FAAP (Fanconi anemia associated proteins) oraz MFH (FANCM-associated histone fold proteins). Ich funkcja nie została jeszcze dokładnie poznana. Dotychczas przeprowadzone badania wskazują, że czynnik FAAP100 stabilizuje kompleks jądrowy przez bezpośrednie oddziaływanie z białkami FANCB oraz FANCL. Zapobiega to nukleolitycznej degradacji poszczególnych składników kompleksu jądrowego [46]. Natomiast FAAP24 oraz białka MHF1 i MHF2 stymulują aktywność tego kompleksu przez interakcje z białkiem FANCM, a ich obecność jest niezbędna do prawidłowego przebiegu procesu monoubikwitynacji kompleksu ID. Dodatkowo FAAP24 wraz z FANCM odpowiadają za rekrutację kompleksu jądrowego do miejsca uszkodzenia DNA, a MFH1 za przyłączanie go do chromatyny [8,85].

Zidentyfikowany niedawo czynnik FAAP20, dzięki domenie UBZ (ubiquitin-binding zinc finger domain) pomaga zachować integralność kompleksu jądrowego i jest niezbędny do wiązania białka FANCA z chromatyną w odpowiedzi na uszkodzenia DNA [1]. Pozostałe białka szlaku niedokrwiistości Fanconiego: BRCA2, BRIP1, PALB2, RAD51C oraz SLX4 nie są związane z monoubikwitynacją kompleksu ID i biorą udział w naprawie podwójnych pęknięć DNA (DSBs - DNA double strand breaks) przez rekombinację homologiczną.

ROLA BIAŁEK SZLAKU FA W USUWANIU WIĄZAŃ KRZYŻOWYCH

Główną funkcją szlaku białek FA w ochronie genomu jest usuwanie z DNA wiązań krzyżowych wprowadzanych przez czynniki sieciujące (tabela 2). Związki te, mogące mieć pochodzenie endo- i egzogenne, tworzą addukty, które kowalencyjnie łączą dwie zasady azotowe leżące w obrębie tej samej bądź dwóch przeciwstawnych nici DNA, tworząc odpowiednio wiązania krzyżowe wewnątrz- i międzyniciowe [76]. W warunkach fizjologicznych wiązania krzyżowe są wprowadzane do DNA przez produkty peroksydacji lipidów, np. aldehyd malonowy, α,β -nienasycone kwasy tłuszczowe lub też mogą powstawać samoistnie [79,92]. Wśród egzogennych czynników sieciujących dużą grupę stanowią związki stosowane w terapii nowotworów, takie jak mitomycyna C, pochodne platyny (cisplatyna, karboplatyna), pochodne iperytu azotowego - melfalan i chlorambucyl, a także chloroetylonitrozomoczniki i psoraleny

Tabela 2. Białka należące do szlaku niedokrwistości Fanconiego oraz ich funkcja w naprawie ICLs

Kompleks jądrowy	
FANCA	Białka budujące kompleks jądrowy biorący udział w procesie monoubikwitynacji kompleksu ID
FANCB	
FANCC	
FANCE	
FANCF	
FANCG	
FANCL	Ligaza E3 ubikwityny odpowiedzialna za monoubikwitynację białek wchodzących w skład kompleksu ID
FANCM	Białko konstitutywnie związane z chromatyną o aktywności helikazy, translokazy i ATP-azy, biorące udział w reorganizacji chromatyny oraz aktywacji ATR
Kompleks ID	
FANCD2	Centralne białko szlaku FA, podlegające monoubikwitynacji z udziałem białek kompleksu jądrowego, niezbędne do rekrutacji nukleaz i białek związanych z HR w obrębie ICLs
FANCI	Paralog FANCD2 podlegający procesowi monoubikwitynacji
Białka szlaku FA związane z rekombinacją homologiczną	
BRCA2	Białko wiążące i transportujące RAD51 w miejsce DSBs
BRIP1	Helikaza współdziałająca z BRCA1 w naprawie DSBs oraz z MutLa w usuwaniu ICLs
PALB2	Partner molekularny BRCA2 biorący udział w tworzeniu nukleofilamentu RAD51
RAD51C	Paralog RAD51 niezbędny w tworzeniu nukleofilamentu RAD51 i inwazji nici podczas naprawy DSBs
SLX4	Białko tworzące kompleks z SLX1 o aktywności resolwazy struktury Hollidaya, niezbędne do rekrutacji ERCC1-XPF podczas naprawy ICLs

[15,30,49,67,71]. Związki sieciujące DNA mają silne działanie cytotoksyczne, ponieważ wprowadzane przez nie międzyniciowe wiązania krzyżowe blokują replikację i transkrypcję.

Obecność ICLs w materiale genetycznym w czasie fazy S cyklu komórkowego powoduje zatrzymane widełek replikacyjnych, co aktywuje kinazę ATR (ataxia-teleangiectasia and RAD3-related protein), będącą jednym z białek sensorowych odpowiedzialnych za rozpoznawanie uszkodzeń DNA (ryc. 2). W aktywacji ATR uczestniczy również szlak białek FA, za pośrednictwem kompleksu FANCM-FAAP24. Rearanżuje on strukturę widełek replikacyjnych, zapewniając wydajne przekazywanie sygnału o uszkodzeniu DNA przez ATR [27]. Aktywowana kinaza ATR wraz z białkiem towarzyszącym ATRIP fosforyluje białka FANCD2 oraz FANCI, które następnie podlegają monoubikwitynacji [81,87] (ryc. 3). Monoubikwitynacja kompleksu ID jest ważnym etapem usuwania wiązań krzyżowych z DNA, ponieważ proces ten umożliwia rekrutację w miejsce uszkodzenia wielu białek, które są niezbędne w kolejnych etapach naprawy. Należą do nich PCNA (proliferating cell nuclear antigen) i białka rekombinacji homologicznej: BRCA1, BRCA2 i RAD51 [64,97,102]. Proces deubikwitynacji kompleksu ID wyłą-

cza natomiast szlak białek FA z naprawy ICLs. Reakcja deubikwitynacji jest przeprowadzana przez kompleks USP1-UAF1, który dodatkowo promuje dalszą naprawę DNA przez HR [62,66]. Wykazano, że zaburzenia monoubikwitynacji kompleksu ID prowadzą do zahamowania nacięcia nici w obrębie wiązania krzyżowego, co znacząco wpływa na wydajne usuwanie ICLs [38]. Nacięcie nici DNA przeprowadzają kompleksy MUS81-EME1, ERCC1-XPF, a także nukleaza FAN1 (FANCD2/FANCI associated nuclease 1), której rekrutacja do ICLs uzależniona jest głównie od obecności monoubikwitynowanej postaci FANCD2 [25,39,86].

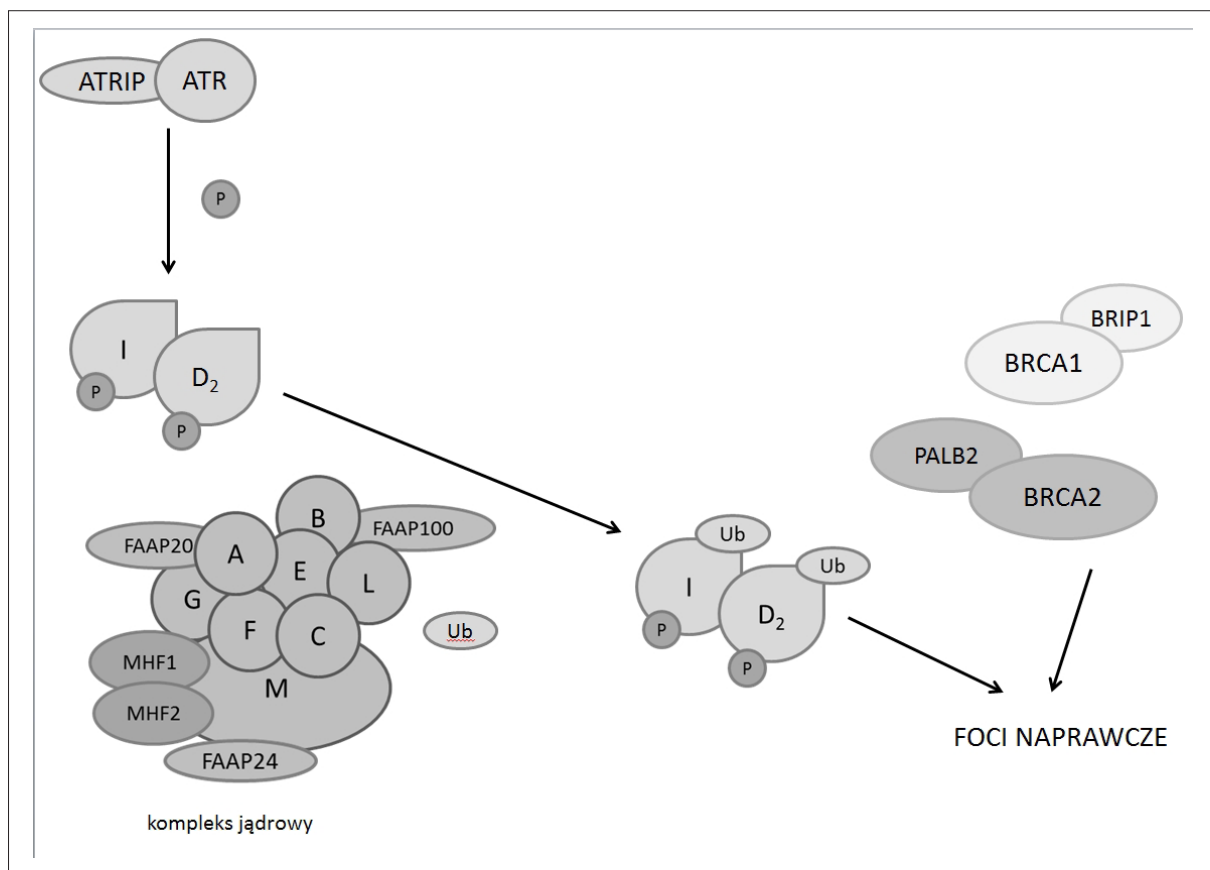
Przypuszczalnie kompleks MUS81-EME1 jako pierwszy nacina nicę po stronie 3' wiązania krzyżowego, co skutkuje powstaniem podwójnego pęknięcia nici DNA [25]. W kolejnym etapie naprawy następuje drugie nacięcie w obrębie ICLs, umożliwiające odsunięcie uszkodzonego fragmentu DNA i prowadzące do utworzenia przerwy w naciętej nici. Przez wiele lat uważano, że należący do szlaku NER kompleks ERCC1-XPF nacina DNA po stronie 5' wiązania krzyżowego. Odkrycie nukleazy FAN1 sugeruje jednak, że proces nacinania nici DNA podczas usuwania ICLs może przebiegać inaczej. FAN1 preferencyjnie nacina nici po stronie 5', w przeciwieństwie do

ERCC1-XPF i MUS81-EME1 preferujących stronę 3' [86]. Badania ostatnich lat wskazują, że na funkcjonowanie nukleaz wpływa także SLX4. Białko to jest niezbędne do tworzenia skupisk białkowych (foci) ERCC1-XPF, ale również może oddziaływać z kompleksem MUS81-EME1 [94]. Najprawdopodobniej funkcja SLX4 w usuwaniu wiązań krzyżowych w znacznym stopniu wiąże się jednak z transportem ERCC1-XPF w miejsce uszkodzenia [91]. Etap ten ma duże znaczenie, ponieważ obecność kompleksu ERCC1-XPF jest niezbędna do wydajnego przyłączenia FANCD2 do chromatyny i naprawy podwójnego pęknięcia DNA przez białka HR [6,54].

Dalsza naprawa ICLs obejmuje przywrócenie integralności materiału genetycznego przez wypełnienie przerwy w DNA powstałej w wyniku działania nukleaz. Proces ten wymaga udziału polimeraz należących do szlaku TLS (polimerazy Rev1, N, ζ, η oraz κ), które umożliwiają syntezę DNA, mimo obecnego w nici matrycowej uszkodzenia [60,61,75,84,114]. W procesie usuwania ICLs jest to addukt związku sieciującego połączonego z wcześniej naciętym przez nukleazy fragmentem DNA. Polimerazy szlaku TLS wykazują mniejszą wierność niż replikacyjna polimeraza δ, dlatego naprawa z udziałem tego szlaku często prowadzi do powstawania mutacji [42,64]. W czasie usuwania wiązań krzyżowych szlak TLS współdziała z PCNA, stanowiącym rodzaj platformy służącej

do przełączania polimeraz, a także z białkami szlaku niedokrwistości Fanconiego, takimi jak FANCC i kompleks ID [61,65,113]. Ostatnie badania wykazały, że aktywność Rev1 jest regulowana przez FAAP20, nowo zidentyfikowane białko wchodzące w skład kompleksu jądrowego. Może to wskazywać, że szlak białek FA stymuluje usuwanie wiązań krzyżowych poprzez promowanie TLS, a tym samym zapobiega powstaniu dużych insercji bądź delecji [36].

W kolejnym etapie naprawy następuje reoperacja podwójnego pęknięcia, za pośrednictwem rekombinacji homologicznej (naprawę podwójnych pęknięć DNA przez HR opisano w dalszej części artykułu), a fragment DNA zawierający ICLs zostaje usunięty, najprawdopodobniej przez NER lub spontaniczną hydrolizę [64]. Ostatnim krokiem naprawy jest przywrócenie prawidłowej struktury widełek replikacyjnych. Najprawdopodobniej odbywa się to z udziałem helikazy Blooma (BLM) oraz topoiizomerazy IIIα. Współdziałają one bezpośrednio z białkami szlaku FA, a także mają aktywność resolwazy struktury Hollidaya, która może powstawać podczas naprawy DSBs przez HR [56,64]. Białka te wraz z RPA (replication protein A) oraz wchodzącymi w skład kompleksu jądrowego białkami FANCA, FANCC, FANCE, FANCF i FANCG tworzą także tzw. kompleks BRAFT uczestniczący w rozwijaniu nici DNA [59]. W odpowiedzi na ICLs rolę łącznika mię-



Ryc. 2. Aktywacja szlaku FA (opis w tekście)

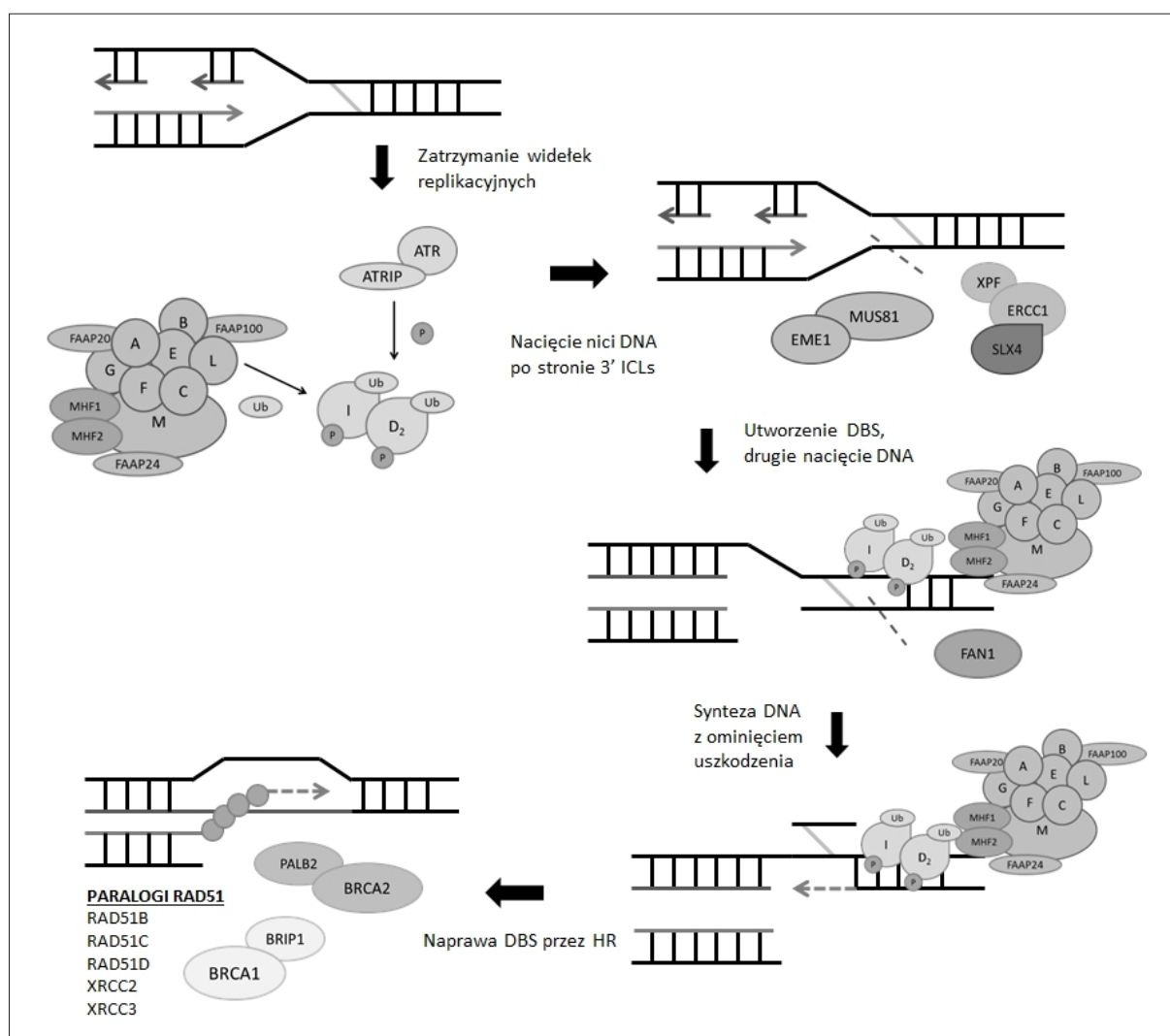
dzy helikazą BLM, a wchodzącymi w skład kompleksu BRAFT białkami FA pełni FANCM [16].

W usuwaniu wiązań krzyżowych biorą również udział niektóre białka systemu naprawy MMR, które oddziałują z białkami szlaku niedokrwistości Fanconiego. Ich rola w usuwaniu ICLs jest jednak słabo poznana [69,112]. Najwięcej wiadomo na temat oddziaływań między BRIP1 a MutL α , będącym kompleksem białek PMS2 oraz MLH1. BRIP1 łączy się poprzez domenę helikazową z MLH1, a oddziaływanie między obydwoma białkami jest istotne w prawidłowej odpowiedzi BRIP1 w naprawie wiązań krzyżowych. Mimo że PMS2 nie łączy się bezpośrednio z BRIP1, to obecność tego białka stabilizuje kompleks BRIP1 z MLH1 [69]. MutL α tworzy również kompleks z nukleazą FAN1. Dlatego też można przypuszczać, że kompleks ID rekrutuje w miejsce uszkodzenia nie tylko FAN1, ale także kompleks MutL α -FAN1, który potencjalnie może wpływać na włączanie do procesu naprawy kolejnych białek, takich jak BRIP1 [86]. Potwierdzałyby to wcześniejsze przypuszczenia, że BRIP1 dzięki funkcji

helikazowej pośredniczy w nacinaniu nici DNA od strony 5' wiązania krzyżowego przez rozwijanie nici DNA i tworzenie odpowiedniego substratu dla nukleaz [98].

WSPÓŁDZIAŁANIE BIAŁEK SZLAKU FA Z REKOMBINACJĄ HOMOLOGICZNĄ W NAPRAWIE PODWÓJNYCH PĘKNIĘĆ DNA

Rola białek szlaku niedokrwistości Fanconiego w naprawie uszkodzeń DNA nie ogranicza się jedynie do usuwania wiązań krzyżowych. Znaczna część białek tego szlaku jest zaangażowana także w reperację podwójnych pęknięć DNA przez rekombinację homologiczną. HR jest oprócz naprawy przez łączenie niehomologicznych końców (NHEJ - nonhomologous end joining) jednym z dwóch procesów odpowiedzialnych za naprawę DSBs w komórkach ssaków. Uszkodzenia te, podobnie jak wiązania krzyżowe, są silnymi induktorami aberracji chromosomalnych. Rekombinacja homologiczna w czasie późnej fazy S oraz G2 cyklu komórkowego naprawia podwójne pęknięcia powstałe na skutek działania czynników zewnętrznych np. promieniowania jonizują-



Ryc. 3. Schemat usuwania wiązań krzyżowych z DNA (opis w tekście)

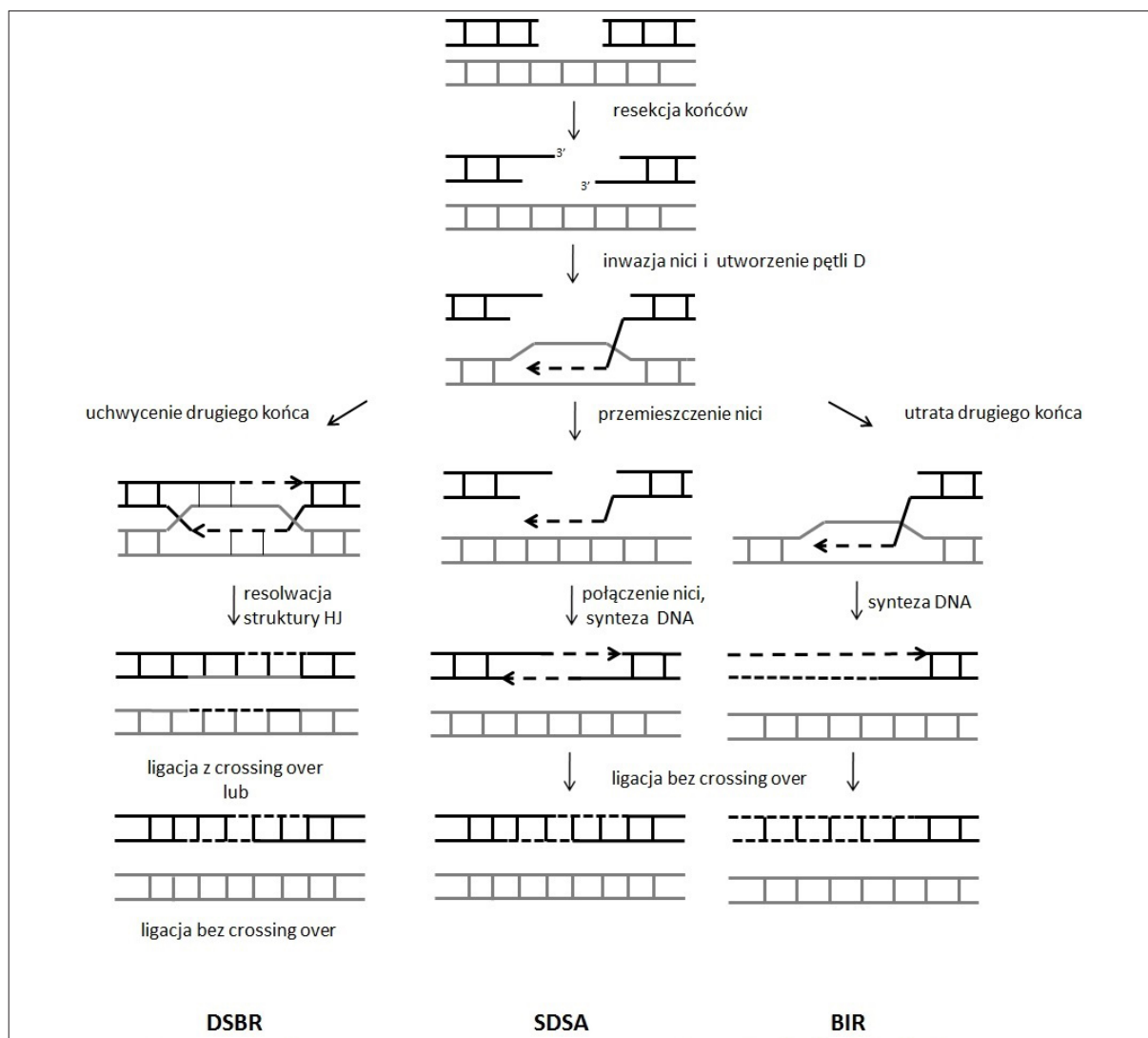
cego lub podczas fizjologicznych procesów np. mejozy. W HR jako matryca do reparacji DNA jest wykorzystywana chromatyda siostrzana, co zapewnia bezbłędną naprawę uszkodzenia [45,90]. Ogromne znaczenie dla zrozumienia współdziałania HR z białkami szlaku FA miało odkrycie z 2002 r., kiedy wykazano, że do rozwoju niedokrwistości Fanconiego w grupie komplementacyjnej D1 prowadzą bialleliczne mutacje genu kodującego BRCA2 [28]. Białko to było wcześniej przyporządkowane wyłącznie do systemu rekombinacji homologicznej. Od tamtego czasu zidentyfikowano osiem kolejnych genów kodujących białka FA, z których połowa, tj. BRIP1, PALB2, RAD51C i SLX4 działa poniżej etapu monoubikwitynacji kompleksu ID i uczestniczy bezpośrednio lub pośrednio w naprawie podwójnych pęknięć przez HR.

DSBs naprawiane przez rekombinację homologiczną są rozpoznawane przez kompleks MRN, który tworzą białka MRE11, RAD50 i NBS1. Kompleks ten bierze udział w naprawie DNA zarówno w procesie HR jak i NHEJ [37]. W obecności podwójnego pęknięcia DNA kompleks MRN aktywuje kinazę ATM (ataxia-teleangiectasia mutated), występującą w stanie nieaktywnym w postaci homodimeru. Aktywacja ATM prowadzi do monomeryzacji kompleksu i autofosforylacji białek [9,41]. Aktywowana kinaza ATM fosforyluje następnie liczne białka zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego, np. BRCA1, MDC1 (mediator of DNA damage checkpoint 1), CHK2 (checkpoint kinase 2), a także histon H2AX [9,18]. W następstwie aktywności ATM zostaje zatrzymany cykl komórkowy i są uruchamiane procesy reparacji DNA. Pierwszym etapem naprawy podwójnego pęknięcia jest resekcja DNA dokonywana przez białko MRE11, prowadząca do powstania jednoniciowych 3' końców, zakończonych grupą hydroksylową [68]. Resekcja nici jest również promowana przez białko CtIP (CtBP interacting protein), które uczestniczy w rekrutacji RPA opłaszczającego powstające wolne końce DNA, co przeciwdziała ich degradacji [9]. W ochronie jednoniciowych fragmentów DNA (ssDNA - single stranded DNA) bierze udział także białko RAD52. Jego obecność zapobiega atakom nukleaz i ułatwia parowanie nici DNA w dalszych etapach naprawy [23].

W rekombinacji homologicznych 3' końców DNA ważną rolę odgrywa rekombinaza RAD51, która buduje tzw. nukleofilament, złożony z wielu monomerów tego białka [5]. W proces powstawania nukleofilamentu zaangażowane jest białko BRCA2 łączące się bezpośrednio z RAD51. Białka te oddziałują ze sobą przez powtórzenia BRC zlokalizowane w środkowej części BRCA2 oraz przez C-końcowy region tego białka wiążący RAD51. Obecność BRCA2 promuje przyłączanie RAD51 do ssDNA, a proces ten jest stymulowany dodatkowo przez białko DSS1 [24,26,48]. Prawidłowe działanie BRCA2 uzależnione jest od obecności białek PALB2 (partner and localizer of BRCA2) oraz BRCA1. PALB2 jest partnerem jądrowym BRCA2 i uczestniczy w jego umiejscawianiu w miejscach uszkodzeń DNA [106]. Dodatkowo PALB2 stanowi rusztowanie dla kompleksu między białkami

BRCA2 i BRCA1 [95]. W reparaację podwójnych pęknięć DNA pośrednio jest zaangażowana także helikaza BRIP1 (BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1), która współdziała z BRCA1. Połączenie tych białek następuje przez obecne w BRCA1 domeny BRCT, a oddziaływanie to ma wpływ na wybór odpowiedniej ścieżki naprawy DNA i sprzyja reparaacji przez homologiczną rekombinację [47,111]. Nieprawidłowe wiązanie BRIP1 do BRCA1 skutkuje naprawą z udziałem polimerazy η należącej do szlaku TLS. Włączenie TLS do naprawy podwójnych pęknięć następuje jednak jedynie w wyniku bezpośredniego związania BRIP1 z MLH1 [107]. Kompleks BRCA1 i BRIP1 pełni również dodatkowe funkcje w ochronie genomu w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Jest on niezbędny do uruchomienia punktu kontrolnego cyklu komórkowego w czasie przejścia z fazy G2 do M [111].

Powstały nukleofilament RAD51 odpowiada za odnawianie homologicznej nici DNA, a także stymuluje inwazję nici. W procesie tym biorą udział także dodatkowe białka takie jak RAD54 oraz paralogi RAD51 (RAD51B, RAD51C, RAD51D, XRCC2 i XRCC3) [70,96]. Paralogi te formują jeden duży kompleks BCDX2 i dwa mniejsze kompleksy RAD51C-XRCC3 oraz RAD51D-XRCC2. Wykazują one powinowactwo do tzw. rozgałęzionych struktur DNA, katalizują łączenie jednoniciowych fragmentów DNA, a także pełnią funkcję mediatora w procesie wymian homologicznych nici DNA z udziałem RAD51 [40,52,53,83,110]. Inwazja nici stymulowana przez RAD51 powoduje powstanie tzw. pętli D (displacement loop), a wolne 3' końce są substratem dla polimeraz, które wydłużają nici DNA na matrycy, którą jest chromatyda siostrzana. Pętla D jest strukturą wyjściową dla kilku ścieżek HR. W podtypie SDSA (synthesis-dependent strand annealing), czyli łączeniu nici zależnym od syntezy DNA, dokonują inwazji jednoniciowy fragment DNA ulega wydłużeniu, a następnie jest uwalniany z udziałem helikaz i łączony z drugim końcem 5'. Podczas naprawy może również dojść do utraty jednego z 3' końców. Wówczas w wyniku replikacji indukowanej pęknięciem (BIR - break induced replication) pozostały jednoniciowy fragment DNA dokonuje inwazji nici promując jednocześnie syntezę DNA do końca chromosomu. W przypadku głównego szlaku naprawy podwójnych pęknięć DNA - DSBR (double strand break repair) wydłużaniu ulega zarówno dokonująca inwazji nić DNA, jak również drugi 3' koniec DNA, który zostaje uchwycony i związany z chromatydą siostrzaną [4]. Prowadzi to do utworzenia tzw. struktury Hollidaya (HJ - Holliday junction). Aktywność nukleazową niezbędną do jej rozplecenia mają m.in. kompleksy MUS81-EME1, ERCC1-XPF oraz nukleaza Yen1/GEN1. Badania ostatnich lat wskazują, że kompleks między SLX1 a należącym do białek szlaku niedokrwistości Fanconiego SLX4 również ma aktywność resolwazy struktury HJ. SLX4 jest także platformą, do której mogą się przyłączać kompleksy MUS81-EME1 oraz ERCC1-XPF, co przypuszczalnie mogłoby umożliwić współdziałanie tych nukleaz w rozplataniu struktury HJ (ryc. 4) [94].



Ryc. 4. Schemat naprawy podwójnych pęknięć DNA przez rekombinację homologiczną. DSBR – naprawa podwójnych pęknięć DNA, SDSA – naprawa przez łączenie nici zależne od syntezy DNA, BIR - naprawa w wyniku replikacji indukowanej pęknięciem (opis w tekście)

Mechanizm naprawy DSB powstającego podczas wycinania wiązania krzyżowego z DNA nie jest dokładnie poznany. Po ekspozycji komórek z mutacjami w genach kodujących BRCA2, PALB2 oraz paralogi RAD51 na czynniki sieciujące DNA, tworzenie nukleofilamentu RAD51 jest zaburzone. Wskazuje to nie tylko na udział HR w naprawie ICLs, ale także, że etap inwazji nici, poprzedzający reperacyjną syntezę DNA z wykorzystaniem chromatydy siostrzanej jako matrycy, zachodzi również podczas usuwania ICLs [7,19,20,105]. Kolejnym potwierdzeniem ścisłego współdziałania HR oraz białek szlaku FA jest opisanie pacjenta należącego do nowej grupy komplementacyjnej FA, posiadającego mutację w genie *XRCC2*, którą zidentyfikowano przez sekwencjonowanie całego eksonu tego chorego [80]. Grupie tej nie przypisano jeszcze nowej nazwy, jest to już jednak drugi paralog RAD51, poza RAD51C, zaangażowany w patogenezę niedokrwiłości Fanconiego.

ROLA BIAŁEK FA W STABILIZACJI GENOMU

Wiele dotychczas przeprowadzonych badań wskazuje, że szlak białek FA odgrywa ogromną rolę w zachowaniu stabilności genomu nie tylko przez udział w naprawie uszkodzeń DNA, ale także przez uczestnictwo w innych ważnych procesach komórkowych, których prawidłowy przebieg warunkuje utrzymanie integralności materiału genetycznego. Białka FA są aktywne w fazie S cyklu komórkowego, dlatego też mogą współpracować zarówno z maszyną replikacyjną, jak również z białkami zaangażowanymi w kontrolę cyklu komórkowego w tej fazie.

Spośród białek szlaku niedokrwiłości Fanconiego najważniejszą rolę w trakcie replikacji pełnią BRCA2 oraz FANCM. Mutacje genu kodującego BRCA2 opóźniają

postęp widełek replikacyjnych, co wskazuje na udział tego białka w prawidłowym przebiegu replikacji DNA [10]. Dodatkowo BRCA2 odgrywa także rolę w ochronie widełek replikacyjnych przed rozpadem. C-końcowy fragment tego białka stabilizujący nukleofilament RAD51 blokuje degradację nowo zsyntetyzowanych fragmentów DNA przez nukleazę MRE11, co zapobiega powstawaniu aberracji chromosomalnych. Funkcja ta jest niezależna od roli BRCA2 w naprawie podwójnych pęknięć DNA, dlatego jest możliwe, że głównym zadaniem tego białka w utrzymaniu stabilności genomu i supresji nowotworów może być przeciwdziałanie powstawaniu uszkodzeń DNA [77]. Rolą FANCM jest natomiast reorganizacja struktury widełek replikacyjnych i kontrola wydłużania łańcucha DNA w sposób zależny od ATP [50] i promowanie wznowienia postępu widełek replikacyjnych po ich zatrzymaniu w obecności uszkodzeń DNA [78]. Wciąż jeszcze niewiele wiadomo na temat funkcji pozostałych białek szlaku FA w replikacji. Białka te są związane z chromatyną podczas prawidłowego przebiegu tego procesu, dlatego przypuszcza się, że ich funkcja najprawdopodobniej polega na stabilizacji widełek replikacyjnych [101].

Niezakończony przebieg replikacji ma ogromne znaczenie dla zachowania ciągłości informacji genetycznej zawartej w DNA. Obecność uszkodzeń w materiale genetycznym może prowadzić do zatrzymania widełek replikacyjnych. Dalsza replikacja DNA następuje po naprawie uszkodzeń DNA, poprzedzonej aktywacją punktów kontrolnych i zatrzymaniem cyklu komórkowego. W ich uruchomieniu biorą także udział białka szlaku FA - FANCM oraz BRIP1. Białka te są związane z aktywacją punktu kontrolnego fazy S cyklu komórkowego zależnego od kinazy ATR. Białko to należy do rodziny kinaz związanych z kinazami 3-fosfatydyloinozylu i uczestniczy we wczesnych etapach aktywacji punktów kontrolnych. Pełni ono rolę białka sensorowego rozpoznającego zatrzymane widełki replikacyjne oraz produkty przejściowe naprawy DNA. Przekazywanie sygnału w punkcie kontrolnym fazy S zależnym od ATR zapoczątkowuje przyłączenie kompleksu ATR z partnerskim białkiem ATRIP do jednoniciowych fragmentów DNA, które zostały wcześniej opłaszczane przez RPA. Aktywowana kinaza ATR fosforyluje kolejne białka zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego, a jej funkcja kinazowa jest stymulowana przez białko TOPBP1 [108]. W odpowiedzi na działanie związków sieciujących punkt kontrolny zależny od ATR jest aktywowany również przez FANCM, które jest niezbędne do rekrutacji białka RPA w miejsce uszkodzenia DNA [29]. FANCM i FAAP24 dodatkowo asocjują z ATR oraz z białkiem je stabilizującym - HCLK2 [27,34]. Kompleks FANCM-FAAP24 wpływa także na działanie ATR przez utrzymywanie białka TOPBP1 w obrębie chromatyny [78]. W regulację aktywności ATR jest zaangażowane także BRIP1, współdziałające z TOPBP1. Zaburzenia w funkcjonowaniu kompleksu tych białek zmniejszają wydajność przyłączania RPA do chromatyny, a to wpływa na fosforylację białek za pośrednictwem ATR w odpowiedzi na stres replika-

cyjny [21,43]. Ponadto białka BRIP1 i TOPBP1 oddziałują z BRCA1 i wraz z nim biorą udział w kontroli fazy S cyklu komórkowego w odpowiedzi na uszkodzenia DNA, przypuszczalnie przez wpływ na wznowienie replikacji [22]. Punkt kontrolny fazy S jest także regulowany przez białko RAD51C, jednak nadal niewiele wiadomo na temat jego funkcji w kontroli cyklu komórkowego. Najprawdopodobniej pośredniczy ono w przekazywaniu sygnału o obecności wiązań krzyżowych i podwójnych pęknięć DNA oraz reguluje aktywność białka przekąźnikowego jakim jest kinaza CHK2 [89].

W przypadku gdy mechanizmy kontrolne cyklu komórkowego zawiodą, uszkodzenia DNA mogą się utrzymywać aż do mitozy, co może spowodować niestabilność chromosomalną. Szlak białek niedokrwiistości Fanconiego uczestniczy w dodatkowym mechanizmie ochraniającym stabilność genomu, polegającym na znakowaniu uszkodzeń DNA w czasie tej fazy cyklu komórkowego. W komórkach eksponowanych na działanie afidokoliny (związku o właściwościach antymitotycznych) obserwuje się zwiększoną liczbę foci FANCD2 w łamliwych miejscach chromosomów mitotycznych [34]. Foci te zazwyczaj występują podwójnie, po jednym skupisku białkowym na chromatydę, dlatego nazywa się je siostrzanymi [109]. Miejsca wiązania FANCD2 oraz FANCI na chromosomie pokrywają się często z obecnością tzw. ultracienkich mostów chromatydowych (UFB - ultrafine DNA bridges). Mosty te, złożone z fragmentów nici DNA łączących dwie chromatydy, powstają po fuzji telomerów bądź chromatyd siostrzanych, czego skutkiem jest wadliwa segregacja chromosomów do komórek potomnych. Do UFB wiąże się również helikaza BLM. Może to sugerować, że białka te znakują uszkodzenia DNA w komórkach mitotycznych, które ominęły punkty kontrolne cyklu komórkowego. Wiązanie i obecność kompleksu ID na chromosomie umożliwia aktywację szlaków naprawy DNA i reperację materiału genetycznego, co zapobiega mutacjom i aberracjom chromosomalnym, które mogą spowodować niestabilność genomu [34]. Dodatkowo w komórkach z mutacjami w genach *FANCA*, *FANCC* i *FANCD2* zaobserwowano zmniejszoną rekrutację helikazy BLM do UFB w niecentromerowych regionach chromosomów. Wskazuje to, że białka szlaku FA współdziałają wraz z BLM w usuwaniu nieprawidłowych struktur DNA, które powstają w wyniku niezakończonych replikacji fragmentów chromosomów [63,104].

PODSUMOWANIE

Rola białek szlaku FA w ochronie stabilności genomu jest niezwykle złożona. Z pewnością największe znaczenie dla zachowania integralności materiału genetycznego ma ich udział w usuwaniu ICLs i podwójnych pęknięć DNA, mogących prowadzić do powstania aberracji chromosomalnych, a nawet śmierci komórki. Coraz więcej danych wskazuje na równie istotny wkład białek tworzących szlak niedokrwiistości Fanconiego w kontrolę cyklu komórkowego, replikację i znakowanie uszkodzeń DNA. Funkcja białek szlaku FA może być jednak bardziej zło-

zona, ponieważ wchodzą one także w liczne interakcje z proteinami zaangażowanymi w apoptozę i transkrypcję, a także odpowiedź komórki na stres oksydacyjny [33]. Rola białek FA w wymienionych procesach wymaga jednak dalszych badań, które pozwolą lepiej zrozumieć funkcje szlaku niedokrwiistości Fanconiego na poziomie komórkowym oraz jego znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania całego organizmu. Mimo że wiedza dotycząca udziału białek należących do tego szlaku oraz ich roli znacząco się rozszerzyła, to nadal nie wszystkie geny FA zostały zidentyfikowane. U prawie 5% chorych podłoże genetyczne niedokrwiistości Fanconiego nadal pozostaje nieznanne (dane Fanconi Anemia Research Fund, Inc. z 14 listopada 2013 r.), co wskazuje na obecność dodatkowych białek zaangażowanych w szlak FA. Wszystkie zidentyfikowane w ostatnich latach nowe białka FA działające poniżej etapu monoubikwitynacji kompleksu ID są powiązane z rekombinacją homologiczną lub bezpośrednio biorą udział w tym procesie. Ścisłe i coraz lepiej udokumentowane współdziałanie

tych systemów naprawy DNA może sugerować, że obszar poszukiwań kolejnych białek FA powinien być ukierunkowany na szlak HR.

Na ogromną rolę białek szlaku niedokrwiistości Fanconiego w kontroli stabilności genomu wskazuje także zwiększona predyspozycja do rozwoju nowotworów obserwowana u pacjentów z heterozygotycznymi mutacjami genów - *BRCA2*, *PALB2*, *BRIP1* oraz *RAD51C*. Mimo że uszkodzenia pojedynczego allele tych genów (należących jednocześnie do szlaku FA i HR) nie prowadzą do rozwoju niedokrwiistości Fanconiego, wiążą się jednak ze zwiększonym ryzykiem zachorowań na raka piersi i/lub jajnika [73,88,103]. Poznanie wszystkich białek FA pozwoli z pewnością na pełne zrozumienie ich funkcji w procesach odpowiedzialnych za stabilizację genomu, co może się przyczynić do zaprojektowania nowych strategii leczniczych dla pacjentów z niedokrwiistością Fanconiego oraz skuteczniejszych terapii przeciwnowotworowych.

PISMIENICTWO

- [1] Ali A.M., Pradhan A., Singh T.R., Du C., Li J., Wahengbam K., Grassman E., Auerbach A.D., Pang Q., Meetei A.R.: FAAP20: a novel ubiquitin-binding FA nuclear core-complex protein required for functional integrity of the FA-BRCA DNA repair pathway. *Blood*, 2012; 119: 3285-3294
- [2] Alter B.P., Rosenberg P.S., Brody L.C.: Clinical and molecular features associated with biallelic mutations in *FANCD1/BRCA2*. *J. Med. Genet.*, 2007; 44: 1-9
- [3] Apostolou S., Whitmore S.A., Crawford J., Lennon G., Sutherland G.R., Callen D.F., Ianzano L., Savino M., D'Apolito M., Notarangelo A., Memeo E., Piemontese M.R., Zelante L., Savoia A., Gibson R.A. i wsp.: Positional cloning of the Fanconi anaemia group A gene. *Nat. Genet.*, 1996; 14: 324-328
- [4] Barlow J.H., Rothstein R.: Timing is everything: cell cycle control of Rad52. *Cell Div.*, 2010; 5: 7
- [5] Baumann P., Benson F.E., West S.C.: Human Rad51 protein promotes ATP-dependent homologous pairing and strand transfer reactions *in vitro*. *Cell*, 1996; 87: 757-766
- [6] Bhagwat N., Olsen A.L., Wang A.T., Hanada K., Stuckert P., Kanaar R., D'Andrea A., Niedernhofer L.J., McHugh P.J.: XPF-ERCC1 participates in the Fanconi anemia pathway of cross-link repair. *Mol. Cell Biol.*, 2009; 29: 6427-6437
- [7] Bishop D.K., Ear U., Bhattacharyya A., Calderone C., Beckett M., Weichselbaum R.R., Shinohara A.: Xrcc3 is required for assembly of Rad51 complexes *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 21482-21488
- [8] Ciccia A., Ling C., Coulthard R., Yan Z., Xue Y., Meetei A.R., Laghmani el H., Joenje H., McDonald N., de Winter J.P., Wang W., West S.C.: Identification of FAAP24, a Fanconi anemia core complex protein that interacts with FANCM. *Mol. Cell*, 2007; 25: 331-343
- [9] Czornak K., Chughtai S., Chrzanowska K.H.: Mystery of DNA repair: the role of the MRN complex and ATM kinase in DNA damage repair. *J. Appl. Genet.*, 2008; 49: 383-396
- [10] Daboussi F., Courbet S., Benhamou S., Kannouche P., Zdzienicka M.Z., Debatisse M., Lopez B.S.: A homologous recombination defect affects replication-fork progression in mammalian cells. *J. Cell Sci.*, 2008; 121: 162-166
- [11] D'Andrea A.D., Grompe M.: Molecular biology of Fanconi anemia: implications for diagnosis and therapy. *Blood*, 1997; 90: 1725-1736
- [12] de Winter J.P., Léveillé F., van Berkel C.G., Rooimans M.A., van Der Weel L., Steltenpool J., Demuth I., Morgan N.V., Alon N., Bosnoyan-Collins L., Lightfoot J., Leegwater P.A., Waisfisz Q., Komatsu K., Arwert F., Pronk J.C., Mathew C.G., Digweed M., Buchwald M., Joenje H.: Isolation of a cDNA representing the Fanconi anemia complementation group E gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000; 67: 1306-1308
- [13] de Winter J.P., Waisfisz Q., Rooimans M.A., van Berkel C.G., Bosnoyan-Collins L., Alon N., Carreau M., Bender O., Demuth I., Schindler D., Pronk J.C., Arwert F., Hoehn H., Digweed M., Buchwald M., Joenje H.: The Fanconi anaemia group G gene *FANCG* is identical with *XRCC9*. *Nat. Genet.*, 1998; 20: 281-283
- [14] de Winter J.P., Rooimans M.A., van Der Weel L., van Berkel C.G., Alon N., Bosnoyan-Collins L., de Groot J., Zhi Y., Waisfisz Q., Pronk J.C., Arwert F., Mathew C.G., Scheper R.J., Hoatlin M.E., Buchwald M., Joenje H.: The Fanconi anaemia gene *FANCF* encodes a novel protein with homology to ROM. *Nat. Genet.*, 2000; 24: 15-16
- [15] Deans A.J., West S.C.: DNA interstrand crosslink repair and cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2011; 11: 467-480
- [16] Deans A.J., West S.C.: FANCM connects the genome instability disorders Bloom's syndrome and Fanconi anemia. *Mol. Cell*, 2009; 36: 943-953
- [17] Dorsman J.C., Levitus M., Rockx D., Rooimans M.A., Oostra A.B., Haitjema A., Bakker S.T., Steltenpool J., Schuler D., Mohan S., Schindler D., Arwert F., Pals G., Mathew C.G., Waisfisz Q., de Winter J.P., Joenje H.: Identification of the Fanconi anemia complementation group I gene, *FANCI*. *Cell. Oncol.*, 2007; 29: 211-218
- [18] Giunta S., Belotserkovskaya R., Jackson S.P.: DNA damage signaling in response to double-strand breaks during mitosis. *J. Cell Biol.*, 2010; 190: 197-207
- [19] Godthelp B.C., Artwert F., Joenje H., Zdzienicka M.Z.: Impaired DNA damage-induced nuclear Rad51 foci formation uniquely characterizes Fanconi anemia group D1. *Oncogene*, 2002; 21: 5002-5005
- [20] Godthelp B.C., Wiegant W.W., van Duijn-Goedhart A., Schärer O.D., van Buul P.P., Kanaar R., Zdzienicka M.Z.: Mammalian Rad51C

contributes to DNA cross-link resistance, sister chromatid cohesion and genomic stability. *Nucleic Acids Res.*, 2002; 30: 2172-2182

[21] Gong Z., Kim J.E., Leung C.C., Glover J.N., Chen J.: BACH1/FANCF acts with TopBP1 and participates early in DNA replication checkpoint control. *Mol. Cell*, 2010; 37: 438-446

[22] Greenberg R.A., Sobhian B., Pathania S., Cantor S.B., Nakatani Y., Livingston D.M.: Multifactorial contributions to an acute DNA damage response by BRCA1/BARD1-containing complexes. *Genes Dev.*, 2006; 20: 34-46

[23] Grimme J.M., Honda M., Wright R., Okuno Y., Rothenberg E., Mazin A.V., Spies M.: Human Rad52 binds and wraps single-stranded DNA and mediates annealing via two hRAD52-ssDNA complexes. *Nucleic Acids Res.*, 2010; 38: 2917-2930

[24] Gudmundsdottir K., Lord C.J., Witt E., Tutt A.N., Ashworth A.: DSS1 is required for RAD51 focus formation and genomic stability in mammalian cells. *EMBO Rep.*, 2004; 5: 989-993

[25] Hanada K., Budzowska M., Modesti M., Mass A., Wyman C., Essers J., Kanaar R.: The structure-specific endonuclease Mus81-Eme1 promotes conversion of interstrand DNA crosslinks into double-strand breaks. *EMBO J.*, 2006; 25: 4921-4932

[26] Holloman W.K.: Unraveling the mechanism of BRCA2 in homologous recombination. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2011; 18: 748-754

[27] Horejsi Z., Collis S.J., Boulton S.J.: FANCM-FAAP24 and HCLK2: roles in ATR signalling and the Fanconi anemia pathway. *Cell Cycle*, 2009; 8: 1133-1137

[28] Howlett N.G., Taniguchi T., Olson S., Cox B., Waisfisz Q., De Die-Smulders C., Persky N., Grompe M., Joenje H., Pals G., Ikeda H., Fox E.A., D'Andrea A.D.: Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia. *Science*, 2002; 297: 606-609

[29] Huang M., Kim J.M., Shiotani B., Yang K., Zou L., D'Andrea A.D.: The FANCM/FAAP24 complex is required for the DNA interstrand crosslink-induced checkpoint response. *Mol. Cell*, 2010; 39: 259-268

[30] Hwang G.S., Kim J.K., Choi B.S.: The solution structure of a psoralen cross-linked DNA duplex by NMR and relaxation matrix refinement. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996; 219: 191-197

[31] Joenje H., Levitus M., Waisfisz Q., D'Andrea A., Garcia-Higuera I., Pearson T., van Berkel C.G., Rooimans M.A., Morgan N., Mathew C.G., Arwert F.: Complementation analysis in Fanconi anemia: assignment of the reference FA-H patient to group A. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000; 67: 759-762

[32] Joenje H., Patel K.J.: The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia. *Nat. Rev. Genet.*, 2001; 2: 446-457

[33] Kaddar T., Carreau M.: Fanconi anemia proteins and their interacting partners: a molecular puzzle. *Anemia*, 2012; 2012: 425814

[34] Kee Y., D'Andrea A.D.: Expanded roles of the Fanconi anemia pathway in preserving genomic stability. *Genes Dev.*, 2010; 24: 1680-1694

[35] Kennedy R.D., D'Andrea A.D.: The Fanconi anemia/BRCA pathway: new faces in the crowd. *Genes Dev.*, 2005; 19: 2925-2940

[36] Kim H., Yang K., Dejsuphong D., D'Andrea A.D.: Regulation of Rev1 by the Fanconi anemia core complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2012; 19: 164-170

[37] Kim J.S., Krasieva T.B., Kurumizaka H., Chen D.J., Taylor A.M., Yokomori K.: Independent and sequential recruitment of NHEJ and HR factors to DNA damage sites in mammalian cells. *J. Cell Biol.*, 2005; 170: 341-347

[38] Knipscheer P., Räschele M., Smogorzewska A., Enoiu M., Ho T.V., Schärer O.D., Elledge S.J., Walter J.C.: The Fanconi anemia pathway promotes replication-dependent DNA interstrand cross-link repair. *Science*, 2009; 326: 1698-1701

[39] Kuraoka I., Kobertz W.R., Ariza R.R., Biggerstaff M., Essigmann J.M., Wood R.D.: Repair of an interstrand DNA cross-link initiated

by ERCC1-XPF repair/recombination nuclease. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 26632-26636

[40] Kurumizaka H., Ikawa S., Nakada M., Enomoto R., Kagawa W., Kinebuchi T., Yamazoe M., Yokoyama S., Shibata T.: Homologous pairing and ring and filament structure formation activities of the human Xrcc2*Rad51D complex. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 14315-14320

[41] Lee J.H., Paull T.T.: ATM activation by DNA double strand breaks through the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Science*, 2005; 308: 551-554

[42] Lehmann A.R.: Replication of damaged DNA by translesion synthesis in human cells. *FEBS Lett.*, 2005; 579: 873-876

[43] Leung C.C., Gong Z., Chen J., Glover J.N.: Molecular basis of BACH1/FANCF recognition by TopBP1 in DNA replication checkpoint control. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 4292-4301

[44] Levitus M., Waisfisz Q., Godthelp B.C., de Vries Y., Hussain S., Wiegant W.W., Elghalbzouri-Maghrani E., Steltenpool J., Rooimans M.A., Pals G., Arwert F., Mathew C.G., Zdzienicka M.Z., Hiom K., De Winter J.P., Joenje H.: The DNA helicase BRIP1 is defective in Fanconi anemia complementation group J. *Nat. Genet.*, 2005; 37: 934-935

[45] Lieber M.R.: The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 1-5

[46] Ling C., Ishiai M., Ali A.M., Medhurst A.L., Neveling K., Kalb R., Yan Z., Xue Y., Oostra A.B., Auerbach A.D., Hoatlin M.E., Schindler D., Joenje H., de Winter J.P., Takata M., Meetei A.R., Wang W.: FAAP100 is essential for activation of the Fanconi anemia-associated DNA damage response pathway. *EMBO J.*, 2007; 26: 2104-2114

[47] Litman R., Peng M., Jin Z., Zhang F., Zhang J., Powell S., Andreassen P.R., Cantor S.B.: BACH1 is critical for homologous recombination and appears to be the Fanconi anemia gene product FANCF. *Cancer Cell*, 2005; 8: 255-265

[48] Liu J., Doty T., Gibson B., Heyer W.D.: Human BRCA2 protein promotes RAD51 filament formation on RPA-covered single-stranded DNA. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010; 17: 1260-1262

[49] Ludlum D.B.: The chloroethylnitrosoureas: sensitivity and resistance to cancer chemotherapy at the molecular level. *Cancer Invest.*, 1997; 15: 588-598

[50] Luke-Glaser S., Luke B., Grossi S., Constantinou A.: FANCM regulates DNA chain elongation and is stabilized by S-phase checkpoint signalling. *EMBO J.*, 2010; 29: 795-805

[51] Machida Y.J., Machida Y., Chen Y., Gurtan A.M., Kupfer G.M., D'Andrea A.D., Dutta A.: UBE2T is the E2 in the Fanconi anemia pathway and undergoes negative autoregulation. *Mol. Cell*, 2006; 23: 589-596

[52] Masson J.Y., Stasiak A.Z., Stasiak A., Benson F.E., West S.C.: Complex formation by the human RAD51C and XRCC3 recombination repair proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 8440-8446

[53] Masson J.Y., Tarsounas M.C., Stasiak A.Z., Stasiak A., Shah R., McIlwraith M.J., Benson F.E., West S.C.: Identification and purification of two distinct complexes containing the five RAD51 paralogs. *Genes Dev.*, 2001; 15: 3296-3307

[54] McCabe K.M., Hemphill A., Akkari Y., Jakobs P.M., Pauw D., Olson S.B., Moses R.E., Grompe M.: ERCC1 is required for FANCD2 focus formation. *Mol. Genet. Metab.*, 2008; 95: 66-73

[55] Medhurst A.L., Laghmani el H., Steltenpool J., Ferrer M., Fontaine C., de Groot J., Rooimans M.A., Scheper R.J., Meetei A.R., Wang W., Joenje H., de Winter J.P.: Evidence for subcomplexes in the Fanconi anemia pathway. *Blood*, 2006; 108: 2072-2080

[56] Meetei A.R., de Winter J.P., Medhurst A.L., Wallisch M., Waisfisz Q., van de Vrugt H.J., Oostra A.B., Yan Z., Ling C., Bishop C.E., Hoatlin M.E., Joenje H., Wang W.: A novel ubiquitin ligase is deficient in Fanconi anemia. *Nat. Genet.*, 2003; 35: 165-170

[57] Meetei A.R., Levitus M., Xue Y., Medhurst A.L., Zwaan M., Ling C., Rooimans M.A., Bier P., Hoatlin M., Pals G., de Winter J.P., Wang

- W., Joenje H.: X-linked inheritance of Fanconi anemia complementation group B. *Nat. Genet.*, 2004; 36: 1219-1224
- [58] Meetei A.R., Medhurst A.L., Ling C., Xue Y., Singh T.R., Bier P., Steltenpool J., Stone S., Dokal I., Mathew C.G., Hoatlin M., Joenje H., de Winter J.P., Wang W.: A human ortholog of archeal DNA repair protein Hef is defective in Fanconi anemia complementation group M. *Nat. Genet.*, 2005; 37: 958-963
- [59] Meetei A.R., Sechi S., Wallisch M., Yang D., Young M.K., Joenje H., Hoatlin M.E., Wang W.: A multiprotein nuclear complex connects Fanconi anemia and Bloom syndrome. *Mol. Cell. Biol.*, 2003; 23: 3417-3426
- [60] Minko I.G., Harbut M.B., Kozekov I.D., Kozekova A., Jakobs P.M., Olson S.B., Moses R.E., Harris T.M., Rizzo C.J., Lloyd R.S.: Role for DNA polymerase κ in the processing of N²-N²-guanine interstrand crosslinks. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 17075-17082
- [61] Moldovan G.L., Madhavan M.V., Mirchandani K.D., McCaffrey R.M., Vinciguerra P., D'Andrea A.D.: DNA polymerase POLN participates in cross-link repair and homologous recombination. *Mol. Cell. Biol.*, 2010; 30: 1088-1096
- [62] Murai J., Yang K., Dejsuphong D., Hirota K., Takeda S., D'Andrea A.D.: The USP1/UAF1 complex promotes double-strand break repair through homologous recombination. *Mol. Cell. Biol.*, 2011; 31: 2462-2469
- [63] Naim V., Rosselli F.: The FANCD1 pathway and BLM collaborate during mitosis to prevent micro-nucleation and chromosome abnormalities. *Nat. Cell Biol.*, 2009; 11: 761-768
- [64] Niedernhofer L.J., Lalai A.S., Hoeijmakers J.H.: Fanconi anemia (cross)linked to DNA repair. *Cell*, 2005; 123: 1191-1198
- [65] Niedzwiedz W., Mosedale G., Johnson M., Ong C.Y., Pace P., Patel K.J.: The Fanconi anaemia gene FANCC promotes homologous recombination and error-prone DNA repair. *Mol. Cell*, 2004; 15: 607-620
- [66] Nijman S.M., Huang T.T., Dirac A.M., Brummelkamp T.R., Kerkhoven R.M., D'Andrea A.D., Bernards R.: The deubiquitinating enzyme USP1 regulates the Fanconi anemia pathway. *Mol. Cell*, 2005; 17: 331-339
- [67] Palom Y., Kumar G.S., Tang L.Q., Paz M.M., Musser S.M., Rockwell S., Tomasz M.: Relative toxicities of DNA cross-links and monoadducts: new insights from studies of decarbamoyl mitomycin C and mitomycin C. *Chem. Res. Toxicol.*, 2002; 15: 1398-1406
- [68] Paull T.T., Gellert M.: The 3' to 5' exonuclease activity of Mre11 facilitates repair of DNA double-strand breaks. *Mol. Cell*, 1998; 1: 969-979
- [69] Peng M., Litman R., Xie J., Sharma S., Brosh M.R.Jr., Cantor S.B.: The FANCD1/MutL α interaction is required for correction of the cross-link response in FA-J cells. *EMBO J.*, 2007; 26: 3238-3249
- [70] Petukhova G., Stratton S., Sung P.: Catalysis of homologous DNA pairing by yeast RAD51 and RAD54 proteins. *Nature*, 1998; 393: 91-94
- [71] Rabik C.A., Dolan M.E.: Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat. Rev.*, 2007; 33: 9-23
- [72] Reid S., Schindler D., Hanenberg H., Barker K., Hanks S., Kalb R., Neveling K., Kelly P., Seal S., Freund M., Wurm M., Batish S.D., Lach F.P., Yetgin S., Neitzel H., Ariffin H., Tischkowitz M., Mathew C.G., Auerbach A.D., Rahman N.: Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat. Genet.*, 2007; 39: 162-164
- [73] Risch H.A., McLaughlin J.R., Cole D.E., Rosen B., Bradley L., Kwan E., Jack E., Vesprini D.J., Kuperstein G., Abrahamson J.L., Fan I., Wong B., Narod S.A.: Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001; 68: 700-710
- [74] Sancar A., Lindsey-Boltz L.A., Ünsal-Kaçmaz K., Linn S.: Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu. Rev. Biochem.*, 2004; 73: 39-85
- [75] Sarkar S., Davies A.A., Ulrich H.D., McHugh P.J.: DNA interstrand crosslink repair during G1 involves nucleotide excision repair and DNA polymerase ζ . *EMBO J.*, 2006; 25: 1285-1294
- [76] Schärer O.D.: DNA interstrand crosslinks: natural and drug-induced DNA adducts that induce unique cellular responses. *ChemBiochem*, 2005; 6: 27-32
- [77] Schlacher K., Christ N., Siaud N., Egashira A., Wu H., Jasin M.: Double-strand break repair-independent role for BRCA2 in blocking stalled replication fork degradation by MRE11. *Cell*, 2011; 145: 529-542
- [78] Schwab R.A., Blackford A.N., Niedzwiedz W.: ATR activation and replication fork restart are defective in FANCM-deficient cells. *EMBO J.*, 2010; 29: 806-818 [79] Sczepanski J.T., Jacobs A.C., Greenberg M.M.: Self-promoted DNA interstrand cross-link formation by an abasic site. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008; 130: 9646-9647
- [80] Shamseldin H.E., Elfaki M., Alkuraya F.S.: Exome sequencing reveals a novel Fanconi group defined by XRCC2 mutation. *J. Med. Genet.*, 2012; 49: 184-186
- [81] Shigechi T., Tomida J., Sato K., Kobayashi M., Eykelenboom J.K., Pessina F., Zhang Y., Uchida E., Ishiai M., Lowndes N.F., Yamamoto K., Kurumizaka H., Maehara Y., Takata M.: ATR-ATRIP kinase complex triggers activation of the Fanconi anemia DNA repair pathway. *Cancer Res.*, 2012; 75: 1149-1156
- [82] Shimamura A., Alter B.P.: Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev.*, 2010; 24: 101-122
- [83] Sigurdsson S., Van Komen S., Bussen W., Schild D., Albala J.S., Sung P.: Mediator function of the human Rad51B-Rad51C complex in the RAD51/RPA-catalyzed DNA strand exchange. *Genes Dev.*, 2001; 15: 3308-3318
- [84] Simpson L.J., Sale J.E.: Rev1 is essential for DNA damage tolerance and non-templated immunoglobulin gene mutation in a vertebrate cell line. *EMBO J.*, 2003; 22: 1654-1664
- [85] Singh T.R., Saro D., Ali A.M., Zheng X.F., Du C.H., Killen M.W., Sachpatzidis A., Wahengbam K., Pierce A.J., Xiong Y., Sung P., Meetei A.R.: MHF1-MHF2, a histone-fold-containing protein complex, participates in the Fanconi anemia pathway via FANCM. *Mol. Cell*, 2010; 37: 879-886
- [86] Smogorzewska A., Desetty R., Saito T.T., Schlabach M., Lach F.P., Sowa M.E., Clark A.B., Kunkel T.A., Harper J.W., Colaiacovo M.P., Elledge S.J.: A genetic screen identifies FAN1, a Fanconi anemia-associated nuclease necessary for DNA interstrand crosslink repair. *Mol. Cell*, 2010; 39: 36-47
- [87] Smogorzewska A., Matsuoka S., Vinciguerra P., McDonald E.R. 3rd, Hurov K.E., Luo J., Ballif B.A., Gygi S.P., Hofmann K., D'Andrea A.D., Elledge S.J.: Identification of the FANCI protein, a monoubiquitinated FANCD2 paralog required for DNA repair. *Cell*, 2007; 129: 289-301
- [88] Somyajit K., Subramanaya S., Nagaraju G.: RAD51C: a novel cancer susceptibility gene is linked to Fanconi anemia and breast cancer. *Carcinogenesis*, 2010; 31: 2031-2038
- [89] Somyajit K., Subramanaya S., Nagaraju G.: Distinct roles of FANCO/RAD51C protein in DNA damage signaling and repair: implications for Fanconi anemia and breast cancer susceptibility. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 3366-3380
- [90] Sonoda E., Hohegger H., Saberi A., Taniguchi Y., Takeda S.: Differential usage of non-homologous end-joining and homologous recombination in double strand break repair. *DNA Repair*, 2006; 5: 1021-1029
- [91] Stoepker C., Hain K., Schuster B., Hillhorst-Hofstee Y., Roemans M.A., Steltenpool J., Oostra A.B., Eirich K., Korthof E.T., Nieuwint A.W., Jaspers N.G., Bettecken T., Joenje H., Schindler D., Rouse J., de Winter J.P.: SLX4, a coordinator of structure-specific endonu-

cleases, is mutated in a new Fanconi anemia subtype. *Nat. Genet.*, 2011; 43: 138-141

[92] Stone M.P., Cho Y.J., Huang H., Kim H.Y., Kozekov I.D., Kozekova A., Wang H., Minko I.G., Lloyd R.S., Harris T.M., Rizzo C.J.: Interstrand DNA cross-links induced by α,β -unsaturated aldehydes derived from lipid peroxidation and environmental sources. *Acc. Chem. Res.*, 2008; 41: 793-804

[93] Strathdee C.A., Gavish H., Shannon W.R., Buchwald M.: Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. *Nature*, 1992; 356: 763-767

[94] Svendsen J.M., Smogorzewska A., Sowa M.E., O'Connell B.C., Gygi S.P., Elledge S.J., Harper J.W.: Mammalian BTBD12/SLX4 assembles a Holliday junction resolvase and is required for DNA repair. *Cell*, 2009; 138: 63-77

[95] Sy S.M., Huen M.S., Chen J.: PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 7155-7160

[96] Tan T.L., Essers J., Citterio E., Swagemakers S.M., de Wit J., Benson F.E., Hoijmakers J.H., Kanaar R.: Mouse Rad54 affects DNA conformation and DNA-damage-induced Rad51 foci formation. *Curr. Biol.*, 1999; 9: 325-328

[97] Taniguchi T., Garcia-Higuera I., Andreassen P.R., Gregory R.C., Grompe M., D'Andrea A.D.: S-phase-specific interaction of the Fanconi anemia protein, FANCD2, with BRCA1 and RAD51. *Blood*, 2002; 100: 2414-2420

[98] Thompson L.H.: Unraveling the Fanconi anemia-DNA repair connection. *Nat. Genet.*, 2005; 37: 921-922

[99] Timmers C., Taniguchi T., Hejna J., Reifsteck C., Lucas L., Bruun D., Thayer M., Cox B., Olson S., D'Andrea A.D., Moses R., Grompe M.: Positional cloning of a novel Fanconi anemia gene, FANCD2. *Mol. Cell*, 2001; 7: 241-248

[100] Vaz F., Hanenberg H., Schuster B., Barker K., Wiek C., Erven V., Neveling K., Endt D., Kesterton I., Autore F., Fraternali F., Freund M., Hartmann L., Grimwade D., Roberts R.G. i wsp.: Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat. Genet.*, 2010; 42: 406-409

[101] Wang L.C., Stone S., Hoatlin M.E., Gautier J.: Fanconi anemia proteins stabilize replication forks. *DNA Repair*, 2008; 7: 1973-1981

[102] Wang X., Andreassen P.R., D'Andrea A.D.: Functional interaction of monoubiquitinated FANCD2 and BRCA2/FANCD1 in chromatin. *Mol. Cell. Biol.*, 2004; 24: 5850-5862

[103] Wong M.W., Nordfors C., Mossman D., Pecanpetelovska G., Avery-Kieja K.A., Talseth-Palmer B., Bowden N.A., Scott R.J.: BRIP1,

PALB2, and RAD51C mutation analysis reveals their relative importance as genetic susceptibility factors for breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2011; 127: 853-859

[104] Wu Y., Shin-ya K., Brosh R.M. Jr.: FANCF helicase defective in Fanconi anemia and breast cancer unwinds G-quadruplex DNA to defend genomic stability. *Mol. Cell. Biol.*, 2008; 28: 4116-4128

[105] Xia B., Dorsman J.C., Ameziane N., de Vries Y., Rooimans M.A., Sheng Q., Pals G., Errami A., Gluckman E., Llera J., Wang W., Livingston D.M., Joenje H., de Winter J.P.: Fanconi anemia is associated with a defect in the BRCA2 partner PALB2. *Nat. Genet.*, 2007; 39: 159-161

[106] Xia B., Sheng Q., Nakanishi K., Ohashi A., Wu J., Christ N., Liu X., Jasin M., Couch F.J., Livingston D.M.: Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Mol. Cell*, 2006; 22: 719-729

[107] Xie J., Litman R., Wang S., Peng M., Guillemette S., Rooney T., Cantor S.B.: Targeting the FANCF-BRCA1 interaction promotes a switch from recombination to pol η -dependent bypass. *Oncogene*, 2010; 29: 2499-2508

[108] Xu Y.J., Leffak M.: ATRIP from TopBP1 to ATR - *in vitro* activation of a DNA damage checkpoint. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 13561-13562

[109] Ying S., Hickson I.D.: Fanconi anaemia proteins are associated with sister chromatid bridging in mitosis. *Int. J. Hematol.*, 2011; 93: 440-445

[110] Yokoyama H., Sarai N., Kagawa W., Enomoto R., Shibata T., Kurumizaka H., Yokoyama S.: Preferential binding to branched DNA strands and strand-annealing activity of the human Rad51B, Rad51C, Rad51D and Xrcc2 protein complex. *Nucleic Acids Res.*, 2004; 32: 2556-2565

[111] Yu X., Chini C.C., He M., Mer G., Chen J.: The BRCT domain is a phospho-protein binding domain. *Science*, 2003; 302: 639-642

[112] Zhang N., Liu X., Li L., Legerski R.: Double-strand breaks induce homologous recombinational repair of interstrand cross-links via cooperation of MSH2, ERCC1-XPF, REV3, and the Fanconi anemia pathway. *DNA Repair*, 2007; 6: 1670-1678

[113] Zhang N., Lu X., Legerski R.: Partial reconstitution of human interstrand cross-link repair *in vitro*: characterization of the roles of RPA and PCNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 309: 71-78

[114] Zheng H., Wang X., Warren A.J., Legerski R.J., Nairn R.S., Hamilton J.W., Li L.: Nucleotide excision repair- and polymerase η -mediated error prone removal of mitomycin C interstrand cross-links. *Mol. Cell. Biol.*, 2003; 23: 754-761

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.