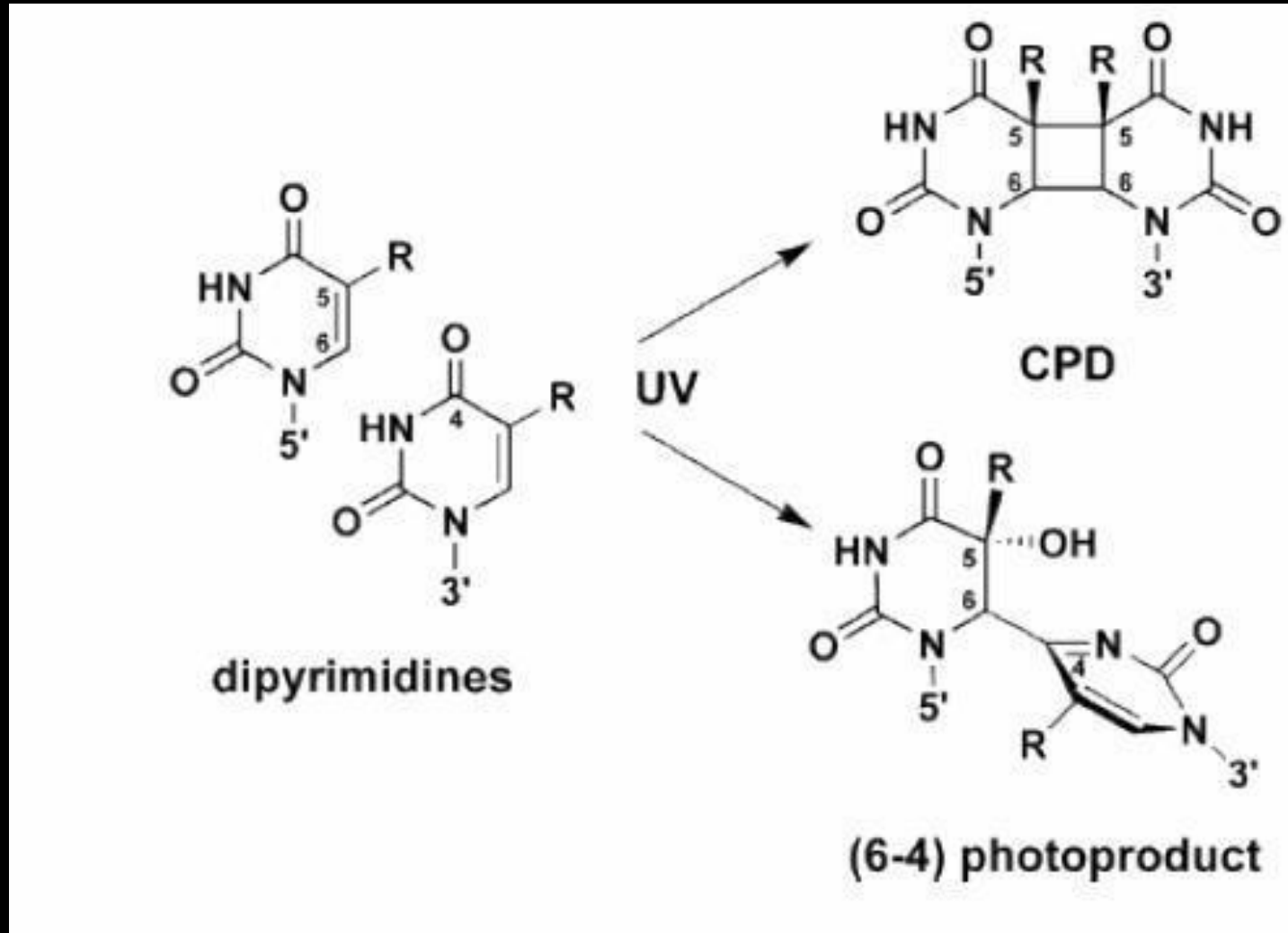


Лекция 3
Nucleotide excision repair

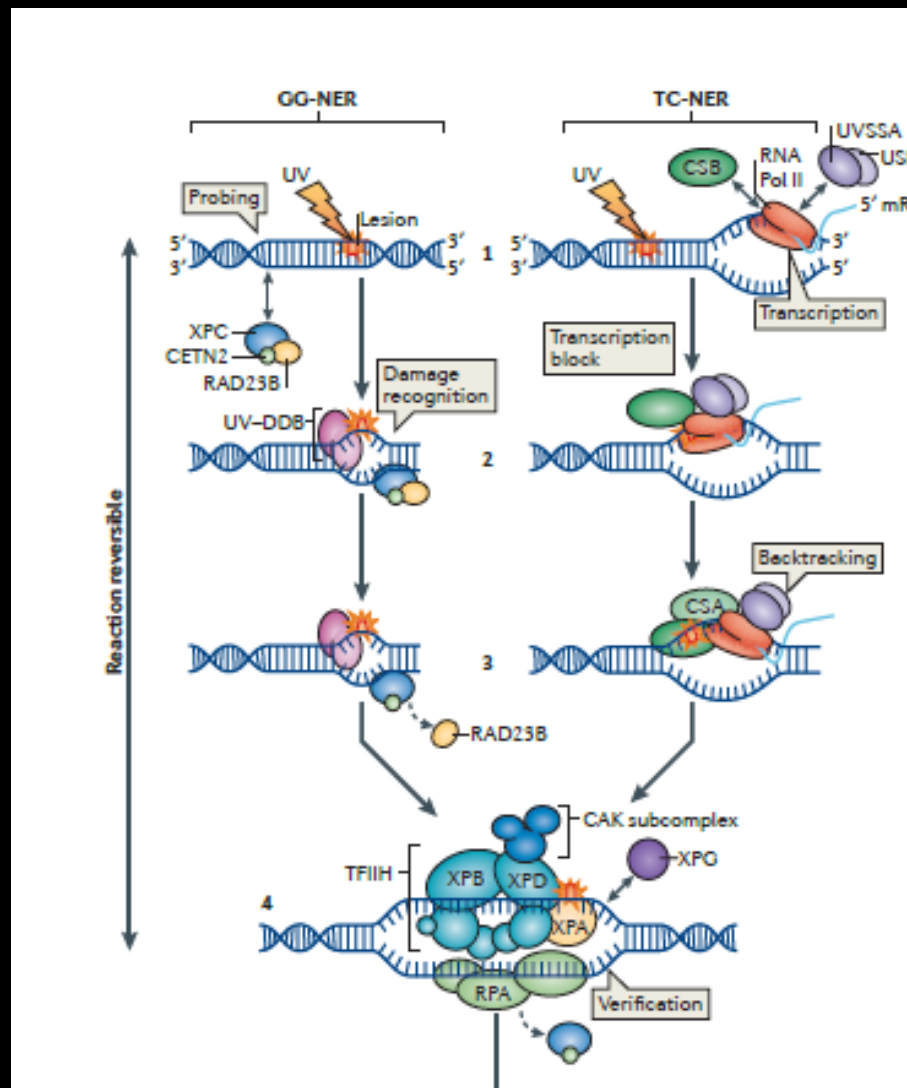
UV damage



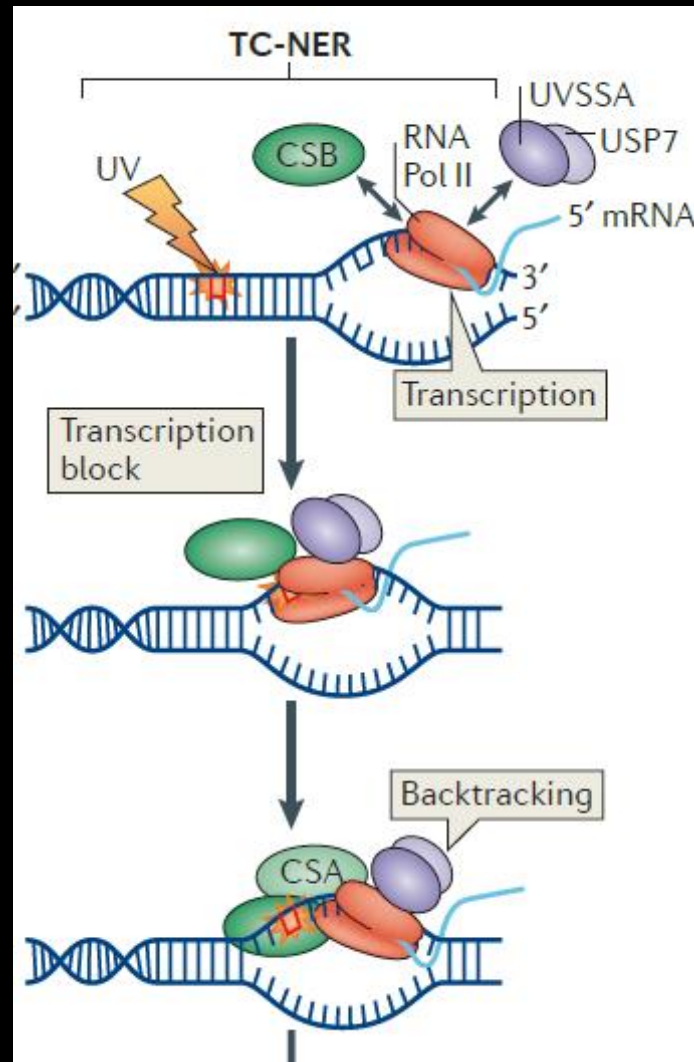
cyclobutane pyrimidine dimers

pyrimidine(6-4)pyrimidone
photoproducts

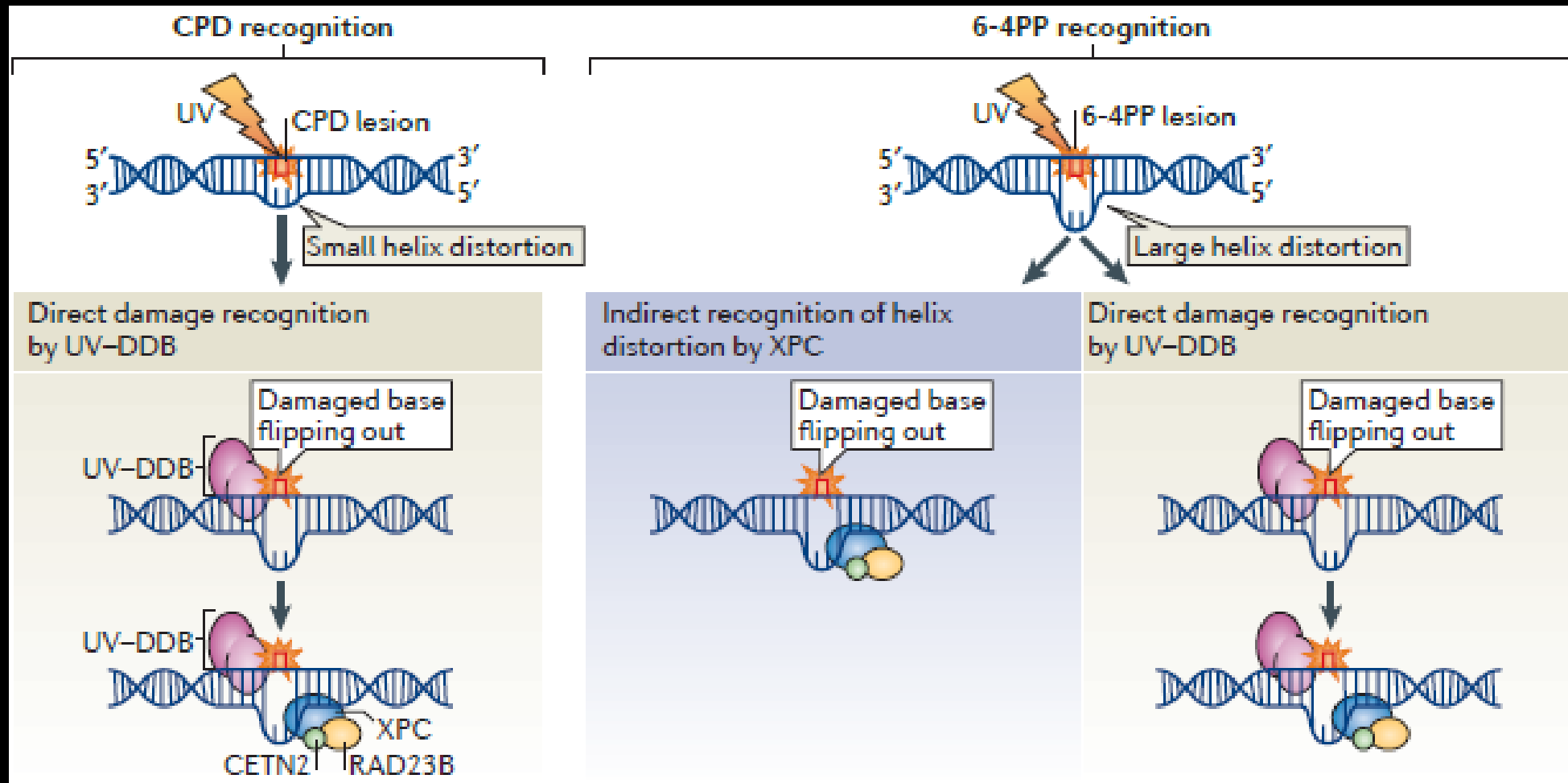
Nucleotide excision repair (NER)



Молекулярные основы работы TCR

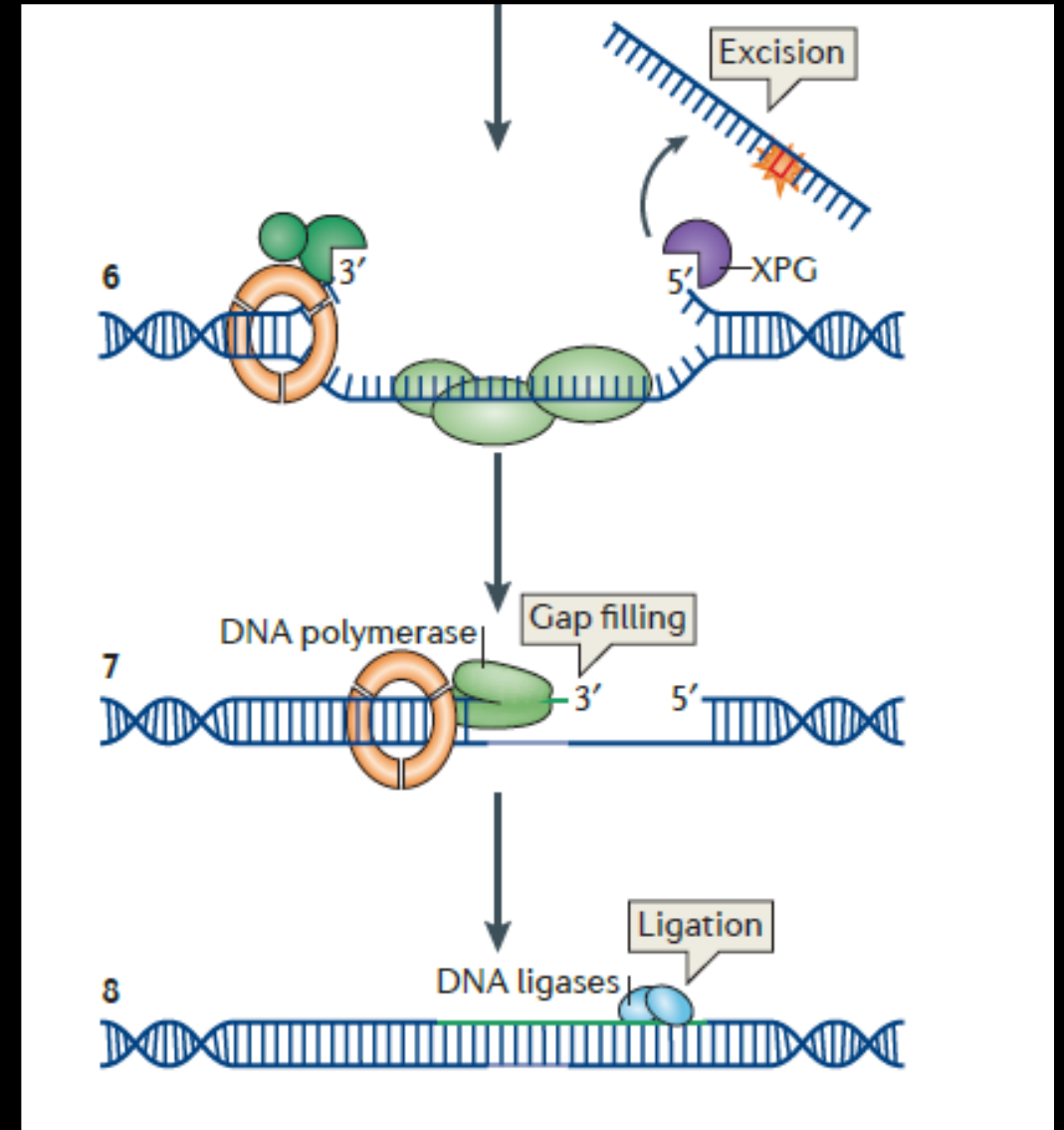
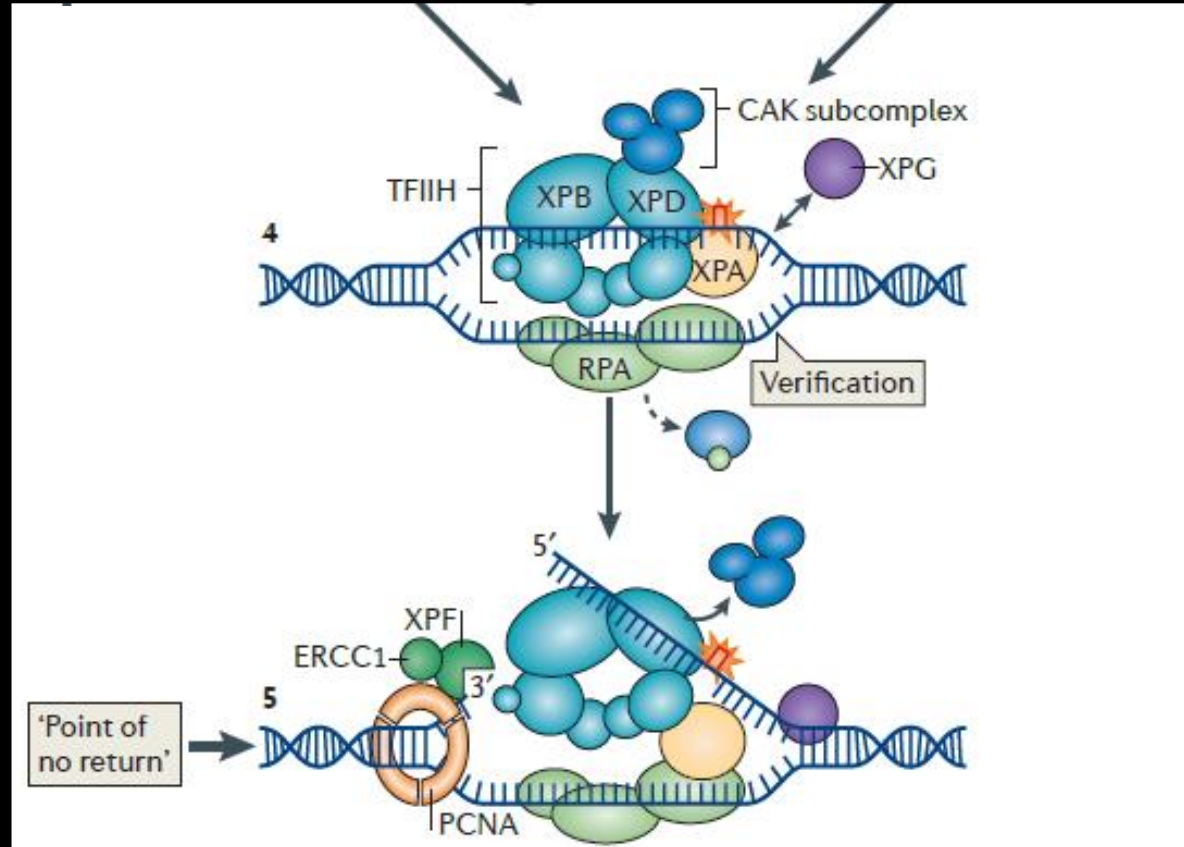


GG-NER. Специфика CPD и (6-4)PP

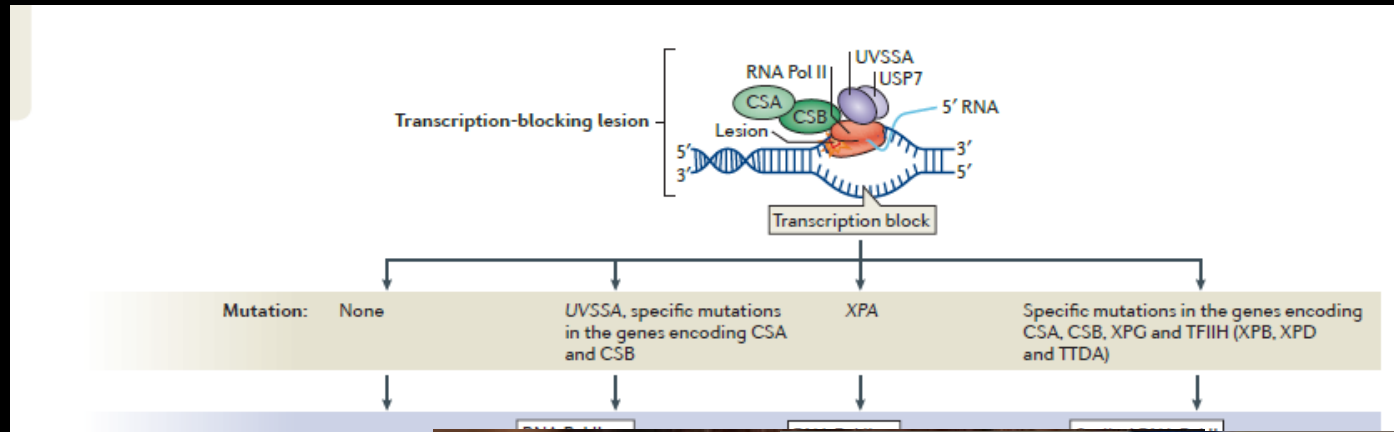


CPD случаются вдвое чаще после UV, и на прямую не узнаются XPC

Общая часть



Поломки в репарации и заболевания

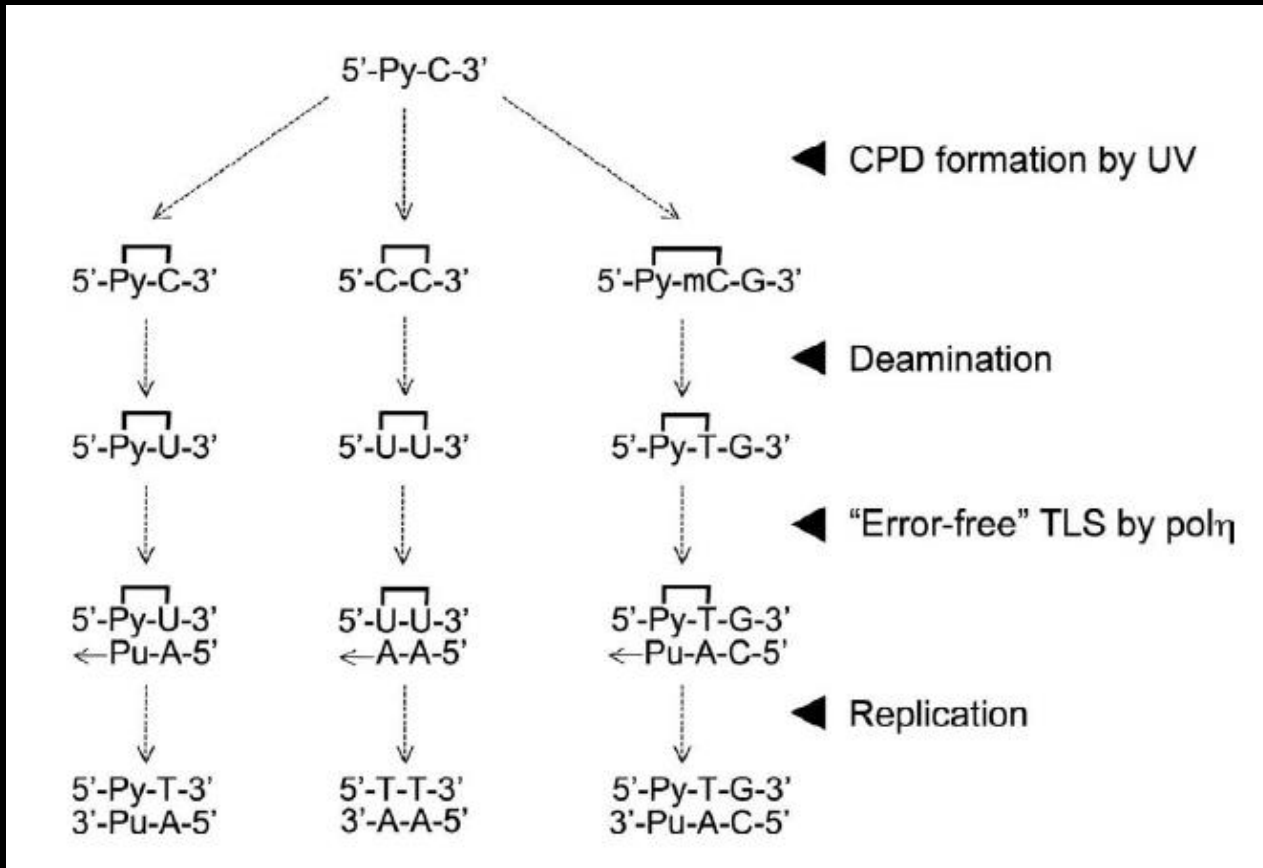


UV sensitivity syndrome

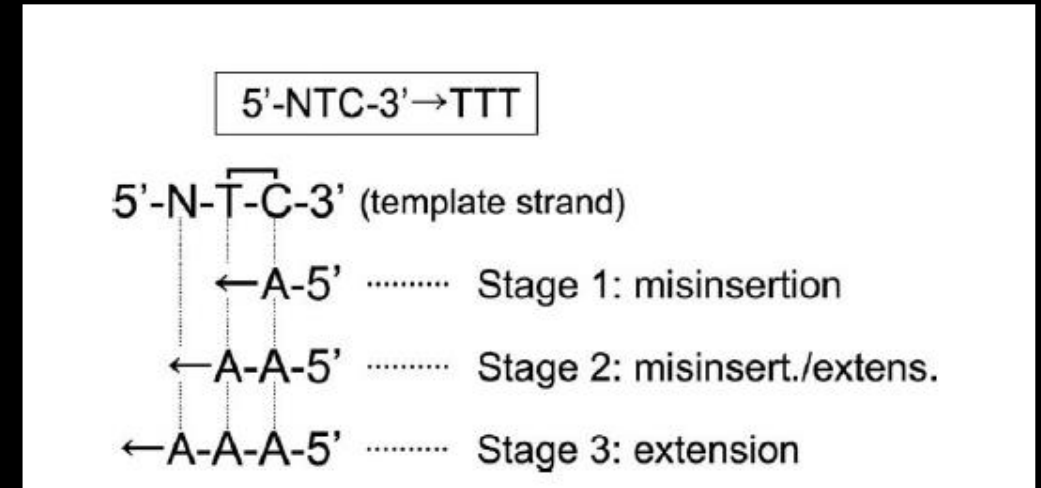


Additional defect in CS/NER, this can result in the more severe XPCS or COFS

UV damage и мутации

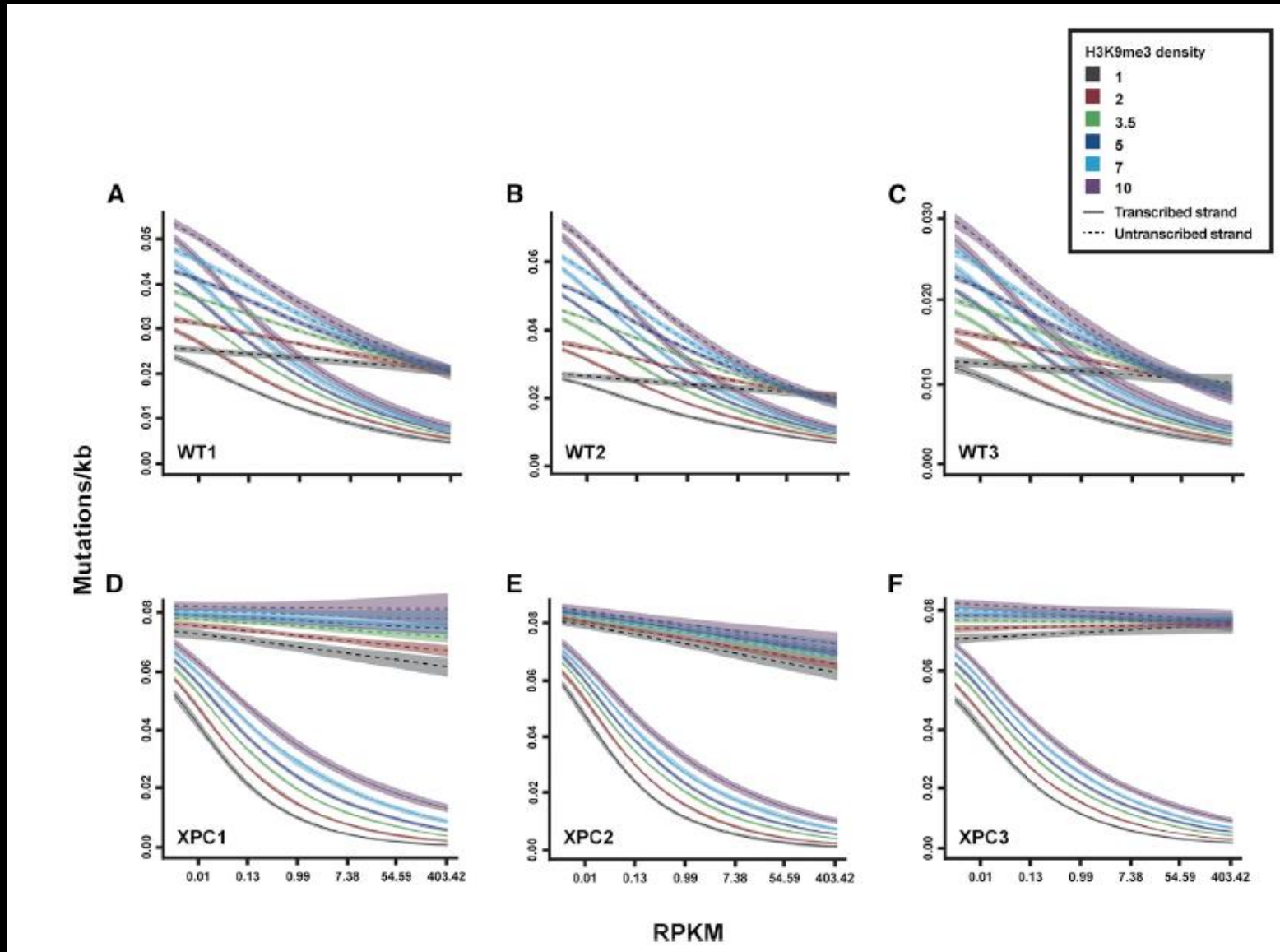


"Error-free" polymerase η

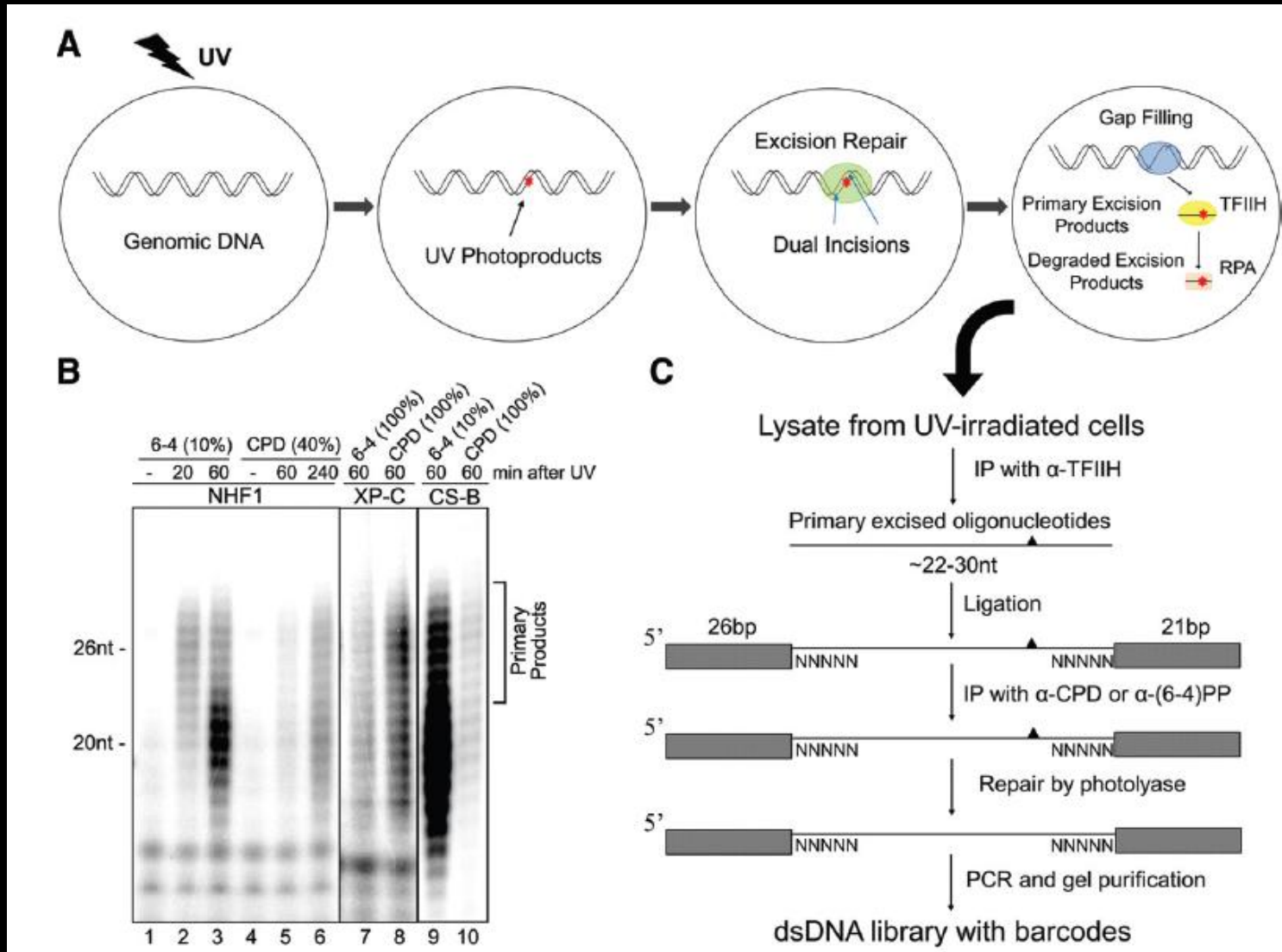


Two-step model with
"error-prone" polymerase

Особенности мутирования



XR-seq

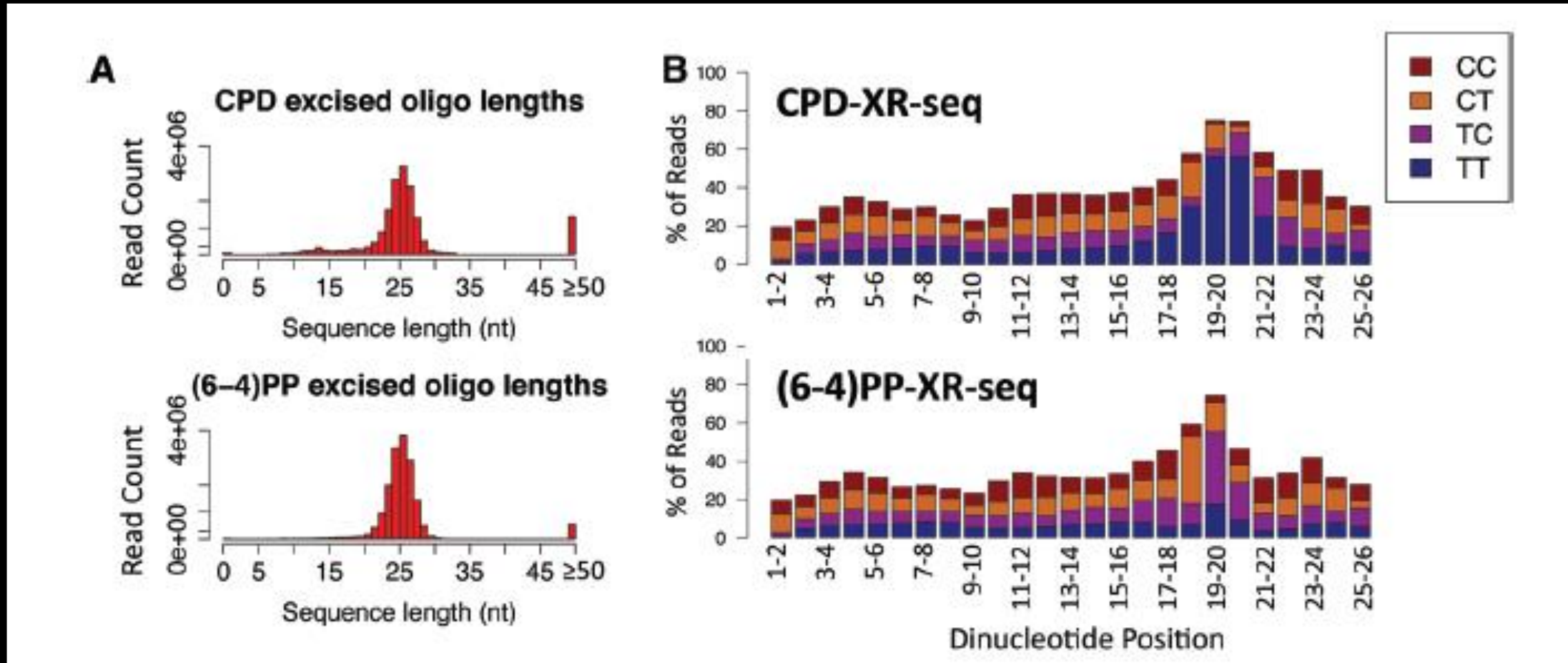


В wt репарация CPD начинается, когда репарация (6-4)PPs почти завершена.

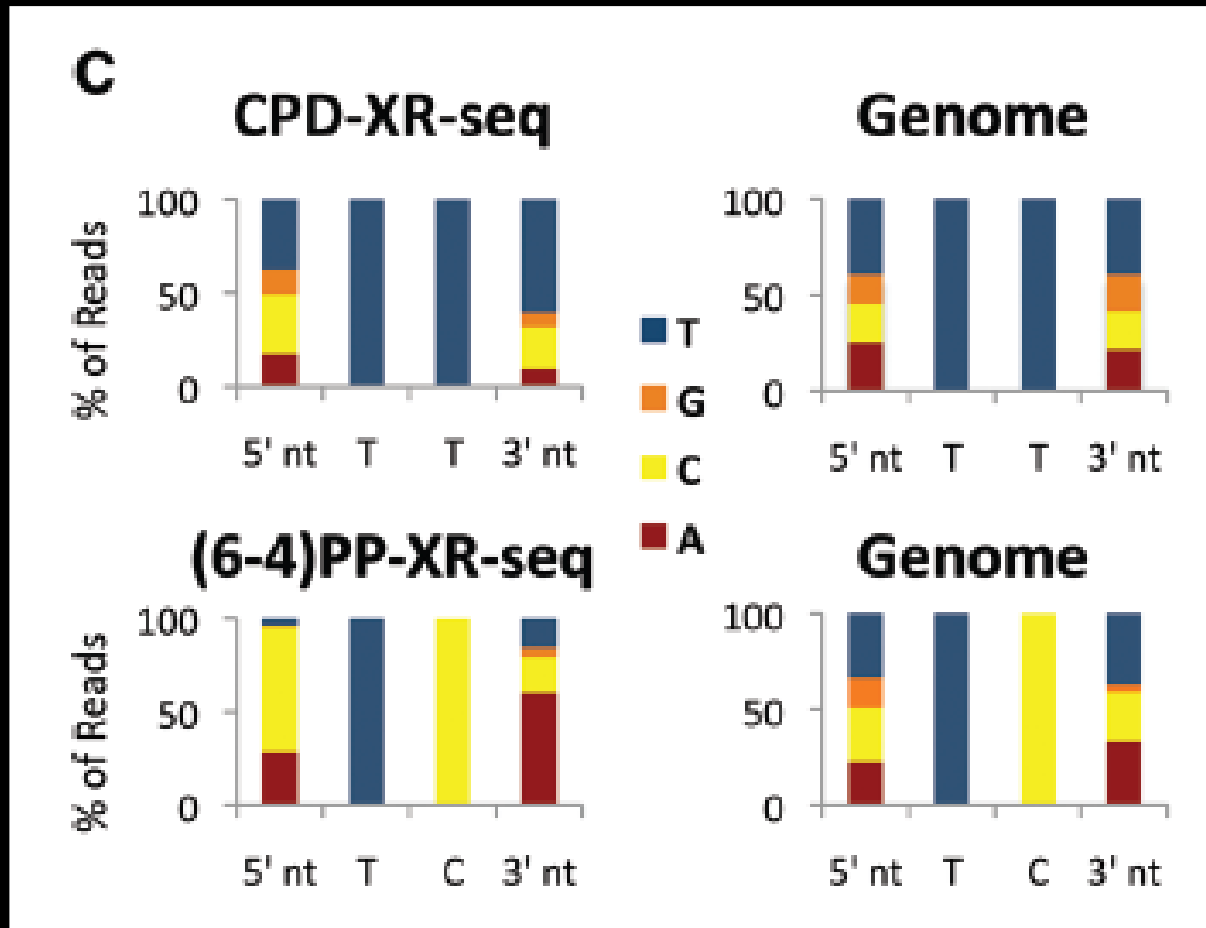
И клетках без GG-NER, репарация пропорциональна встречаемости димеров. CPD встречаются чаще и репарируются примерно в 5 раз быстрее.

В клетках без TC-NER (6-4)PPs репарируются быстрее, чем CPD и даже быстрее, чем в wt.

Особенности вырезанных фрагментов (26nt)



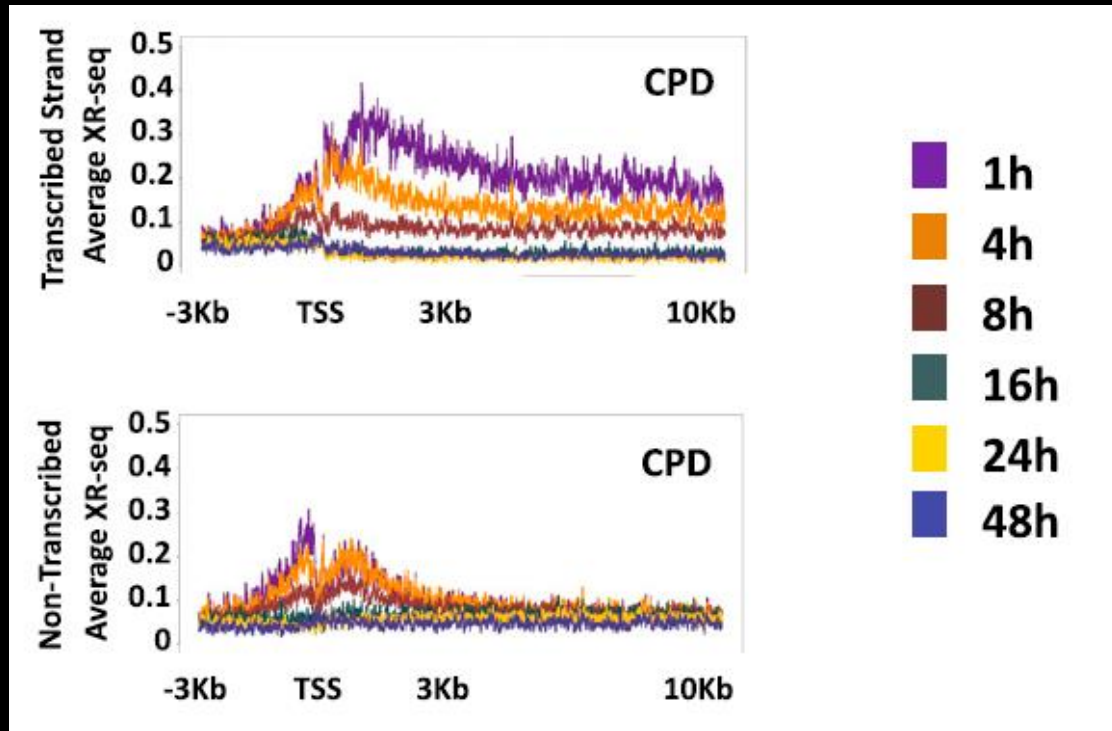
Контекст УФ повреждений



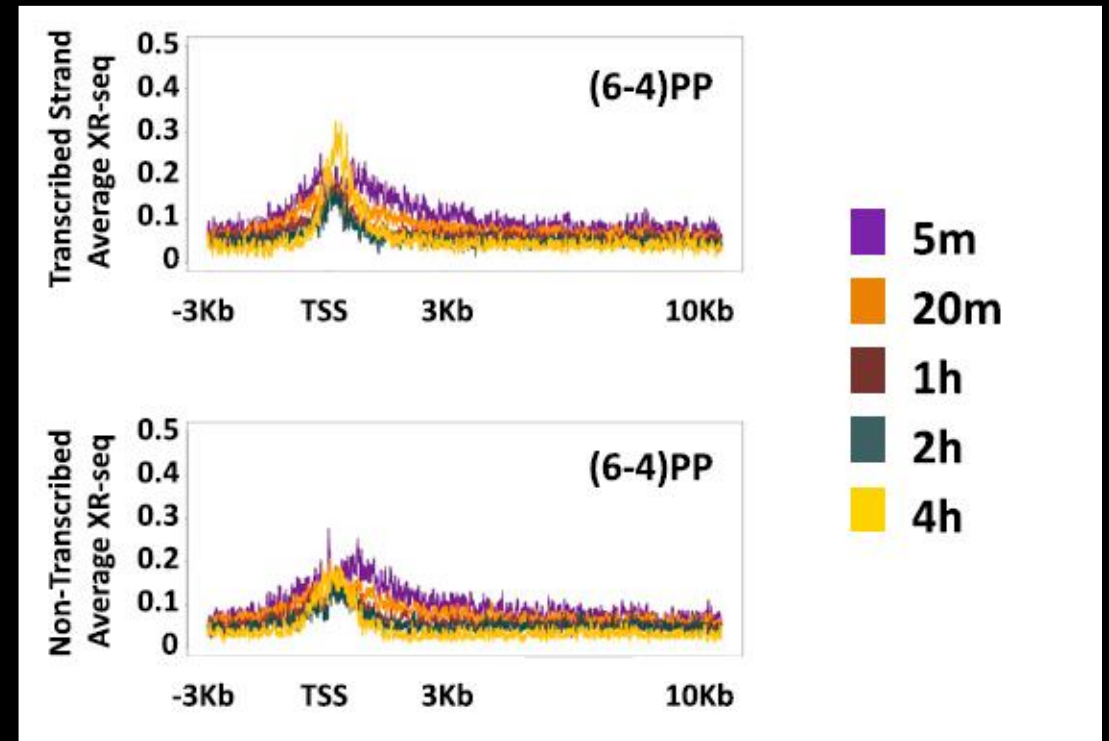
контекст не влияет на репарацию
(in vitro репарация (TCA vs TCG))

Специфика репарации CPD и (6-4)PP

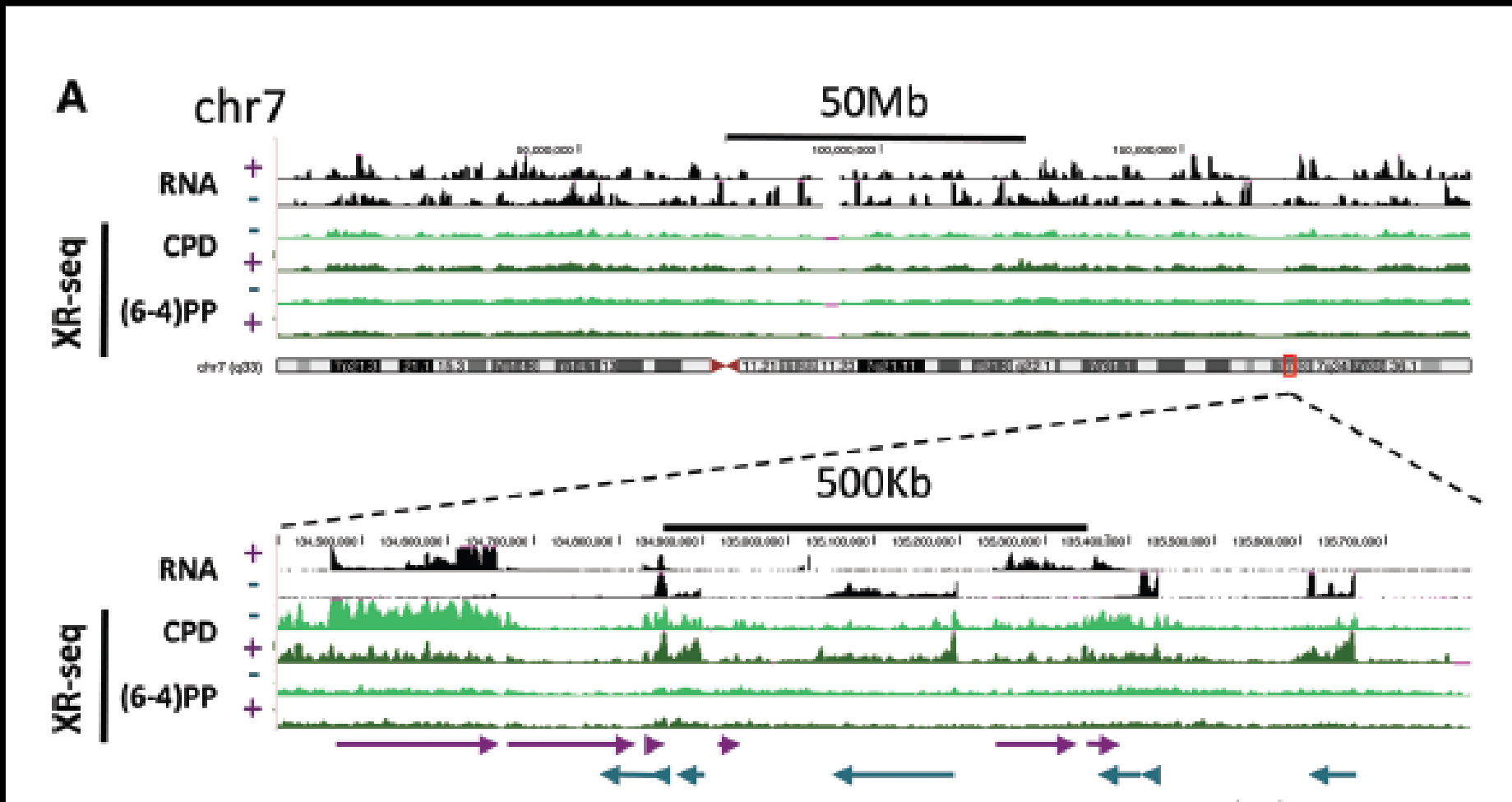
1) CPD (пик на 4 часа, и до 48 часов присутствует)



2) (6-4)PP (уже через 5 минут, через 4 часа почти не видно)



Специфика репарации CPD и (6-4)PP

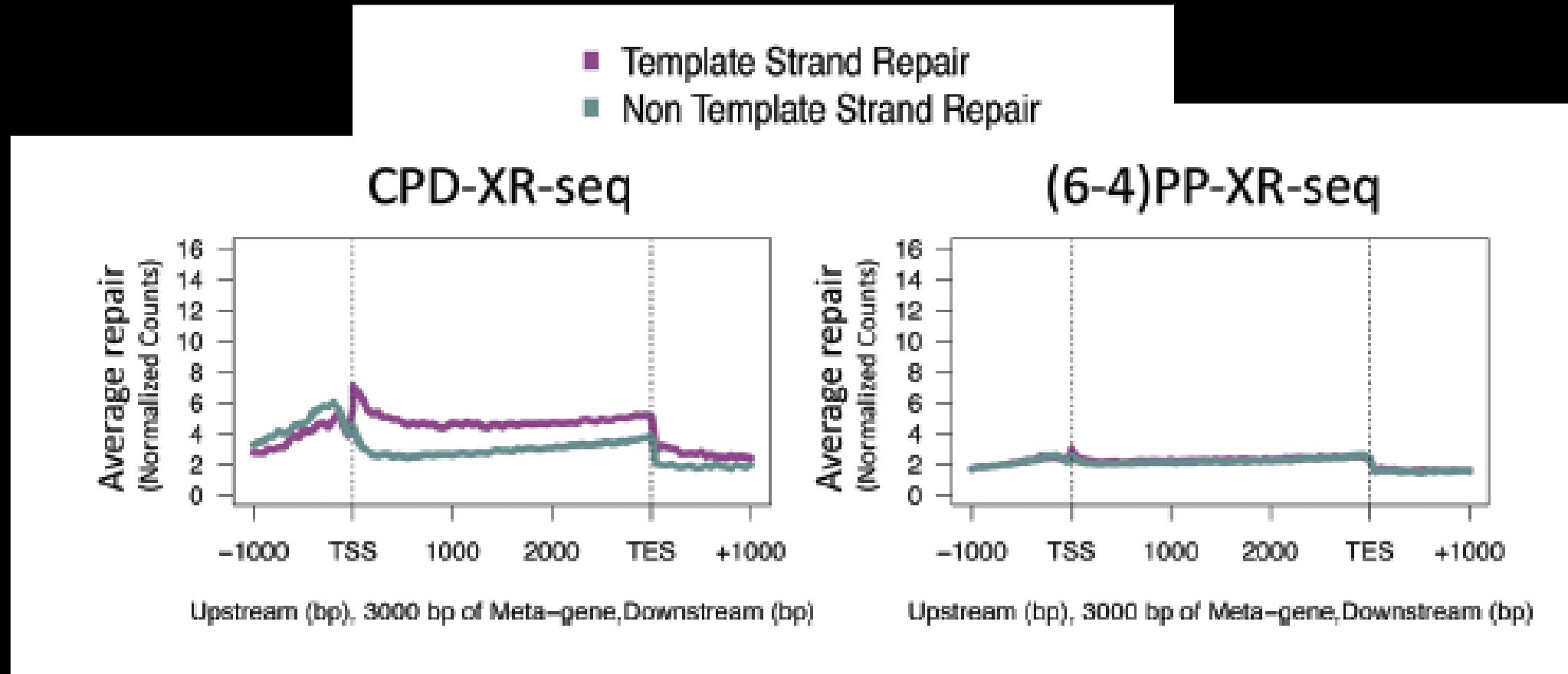


(6-4)PP репарируются равномерно по геному

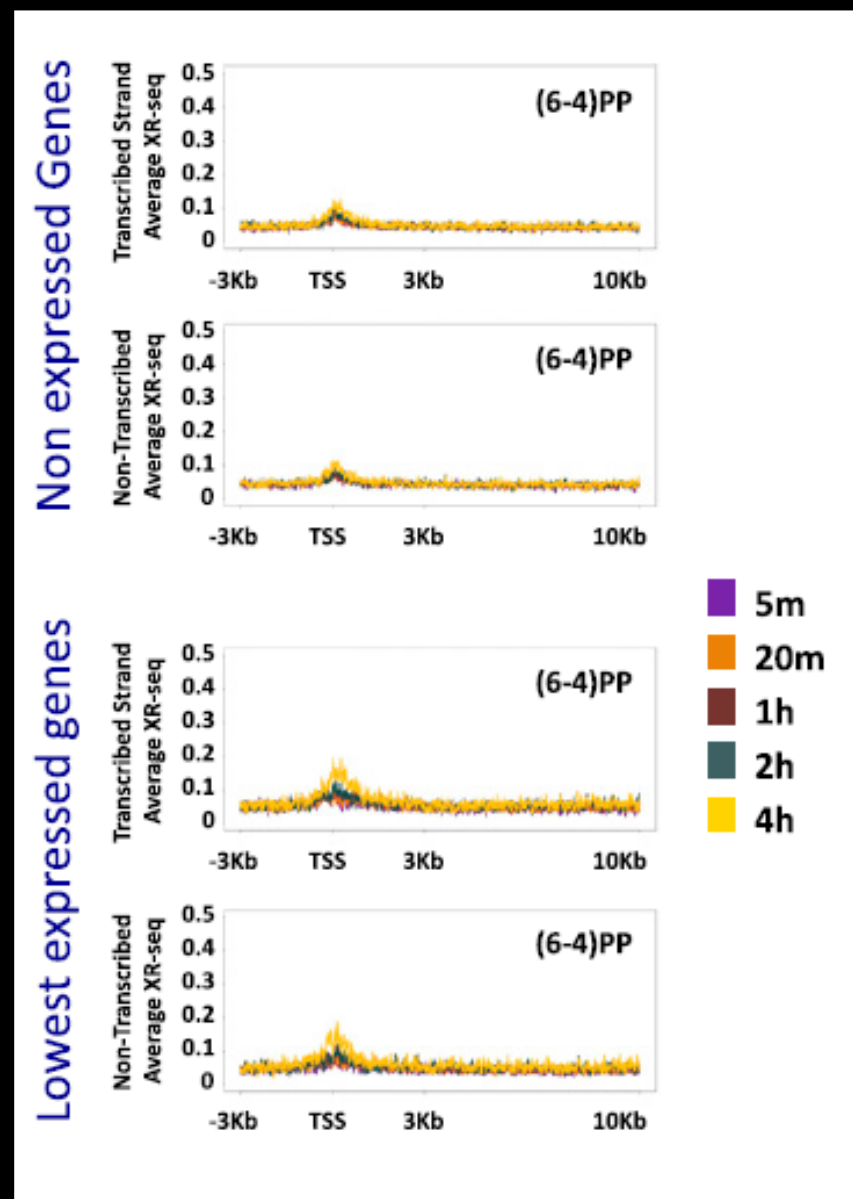
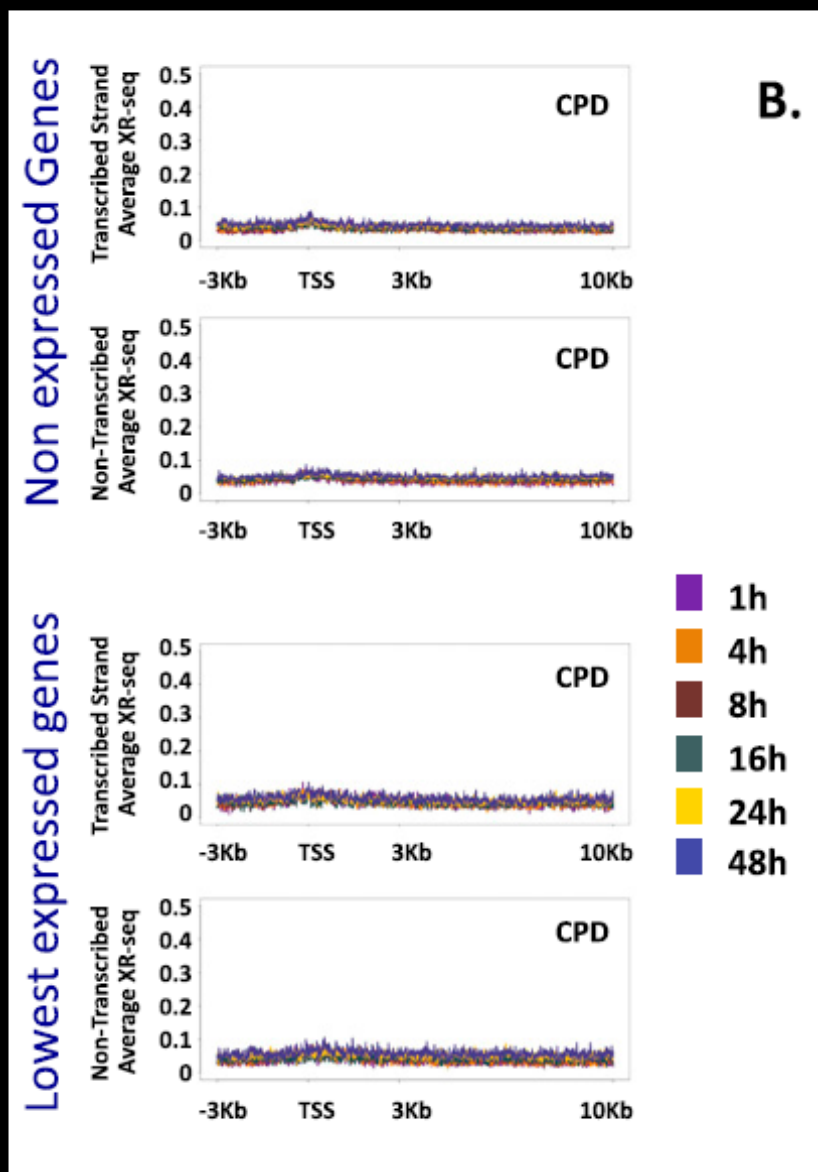
Участки эффективной репарации CPD коррелируют с транскрибируемыми участками и преобладает на транскрибируемой цепи

Специфика репарации CPD и (6-4)PP

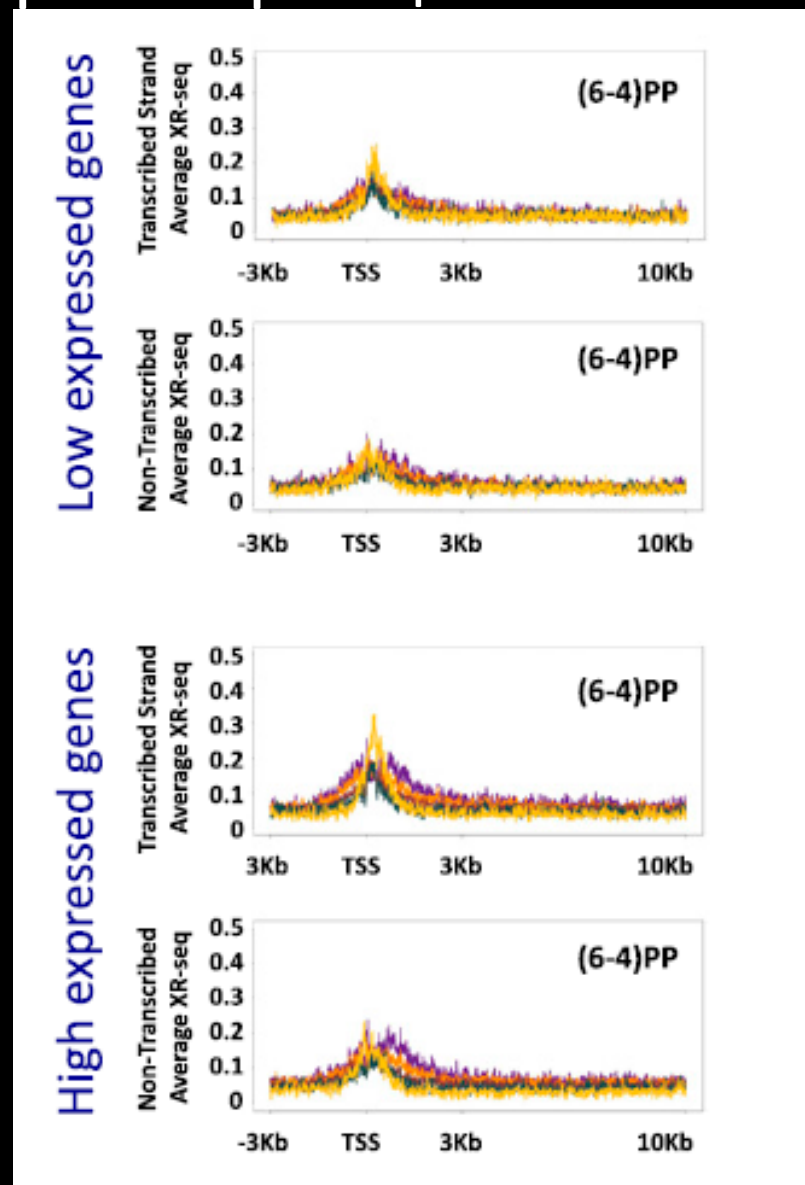
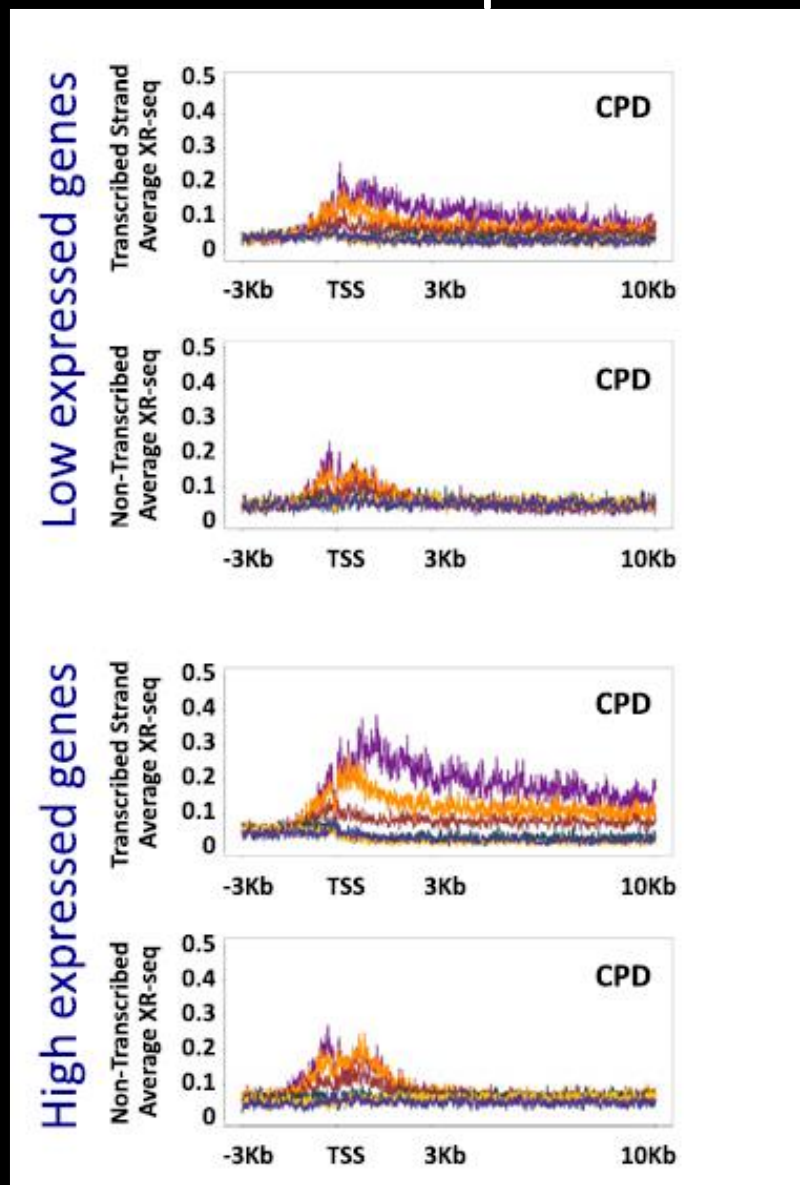
Вдоль гена CPD репарируется активнее и цепеспецифично. Перед геном Т-асимметрия в другую сторону. Для (6-4)PP ничего такого нет.



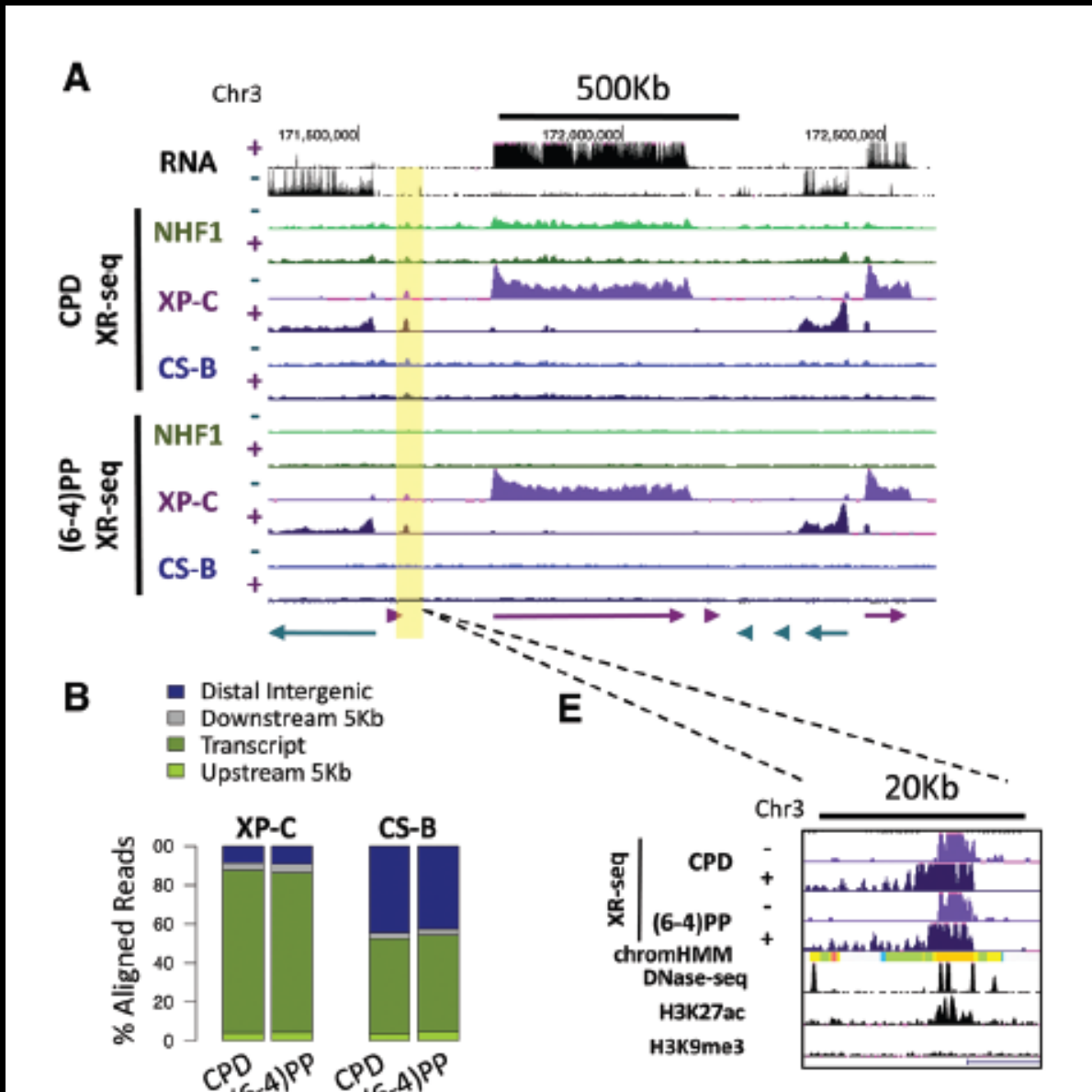
Уровень экспрессии и репарация



Уровень экспрессии и репарация



Мутанты по GG-NER и TC-NER



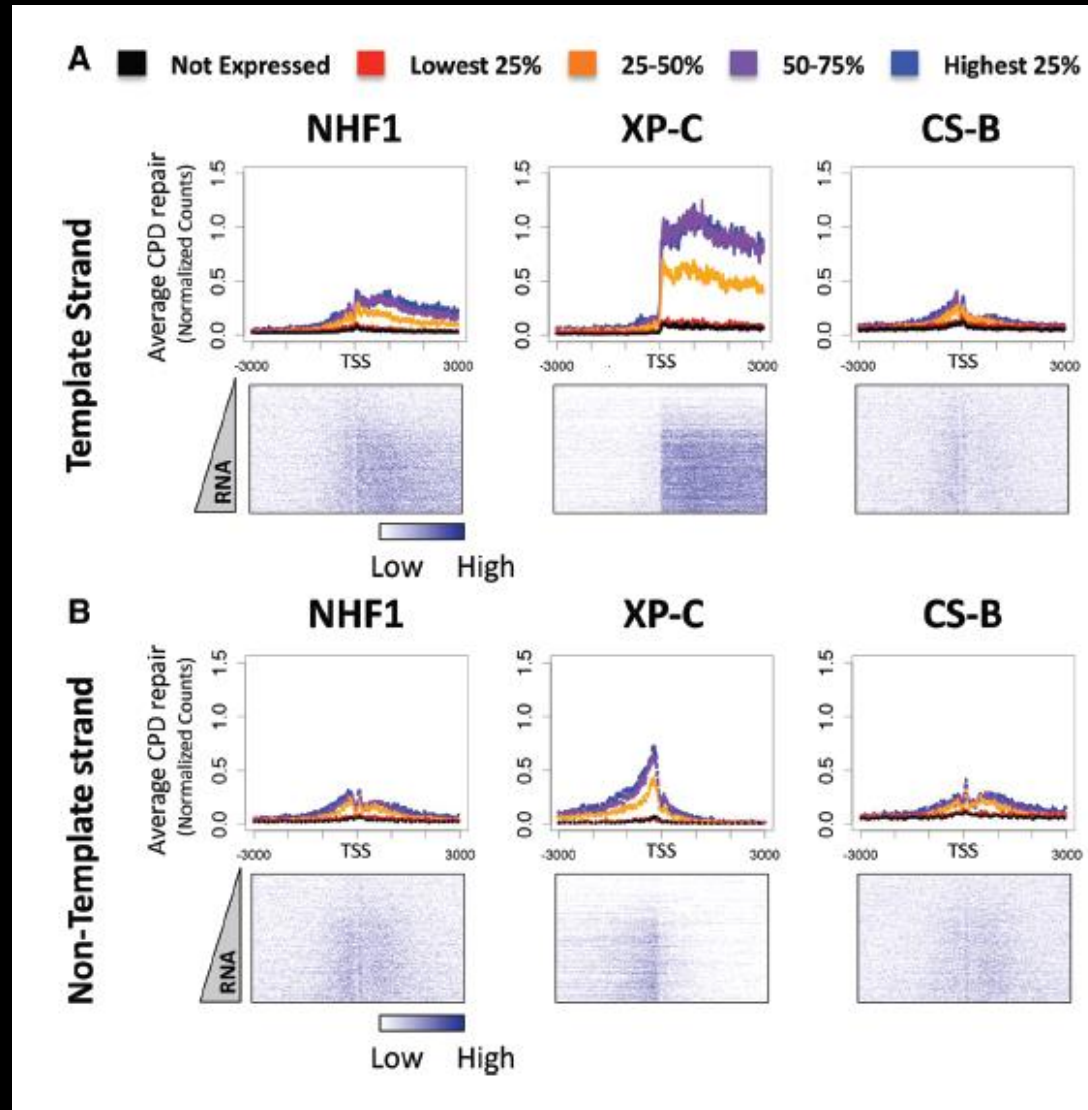
Если есть только TC-NER, то асимметрия между цепями для CPD увеличилась еще сильнее. (6-4)PP тоже теперь репарируется только в генах и асимметрично по цепям.

Если есть только GG-NER, наоборот, распределение по геному становится равномерным для обоих типов повреждений.

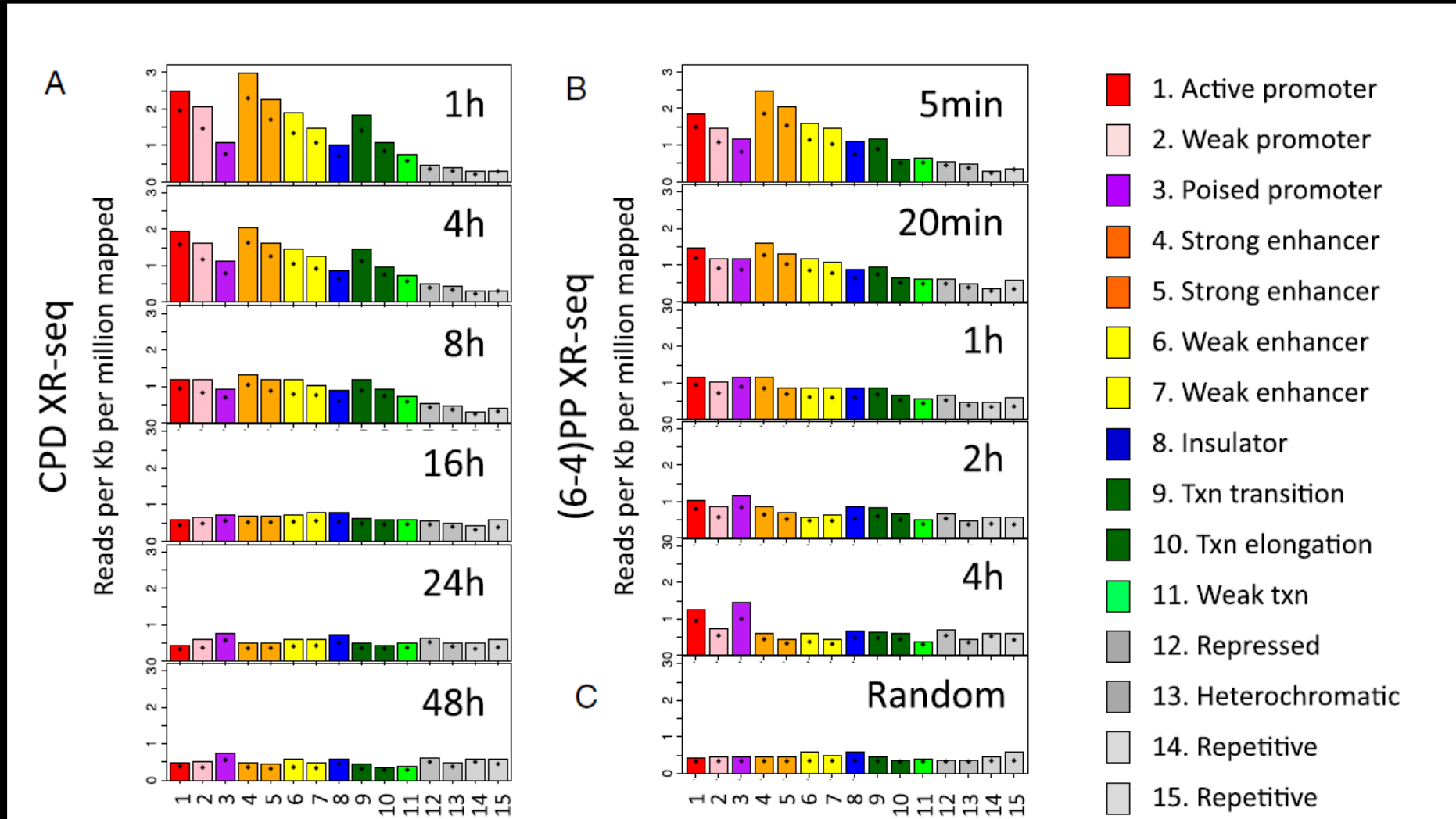
Паттерны репарации 2 типов повреждений отличаются в wt, но похожи в мутантах.

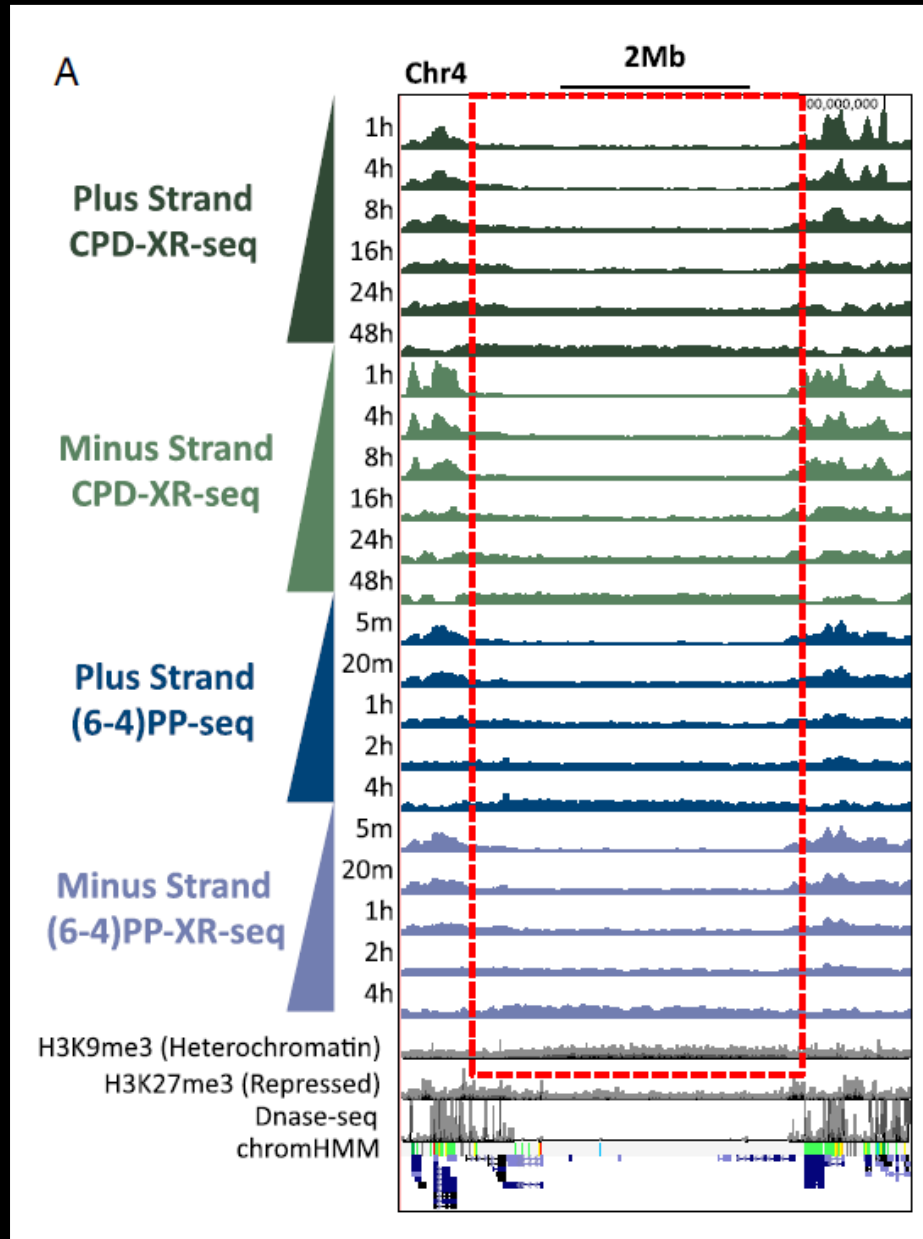
Желтое – репарация вне генов, возможно транскрибируемые энхансеры. Их положение действительно коррелирует с DHS сайтами и H3K27ac – метками энхансеров. Вокруг DHS, где нет меток энхансеров – нет сигнала XR-seq.

Репарация и транскрипция

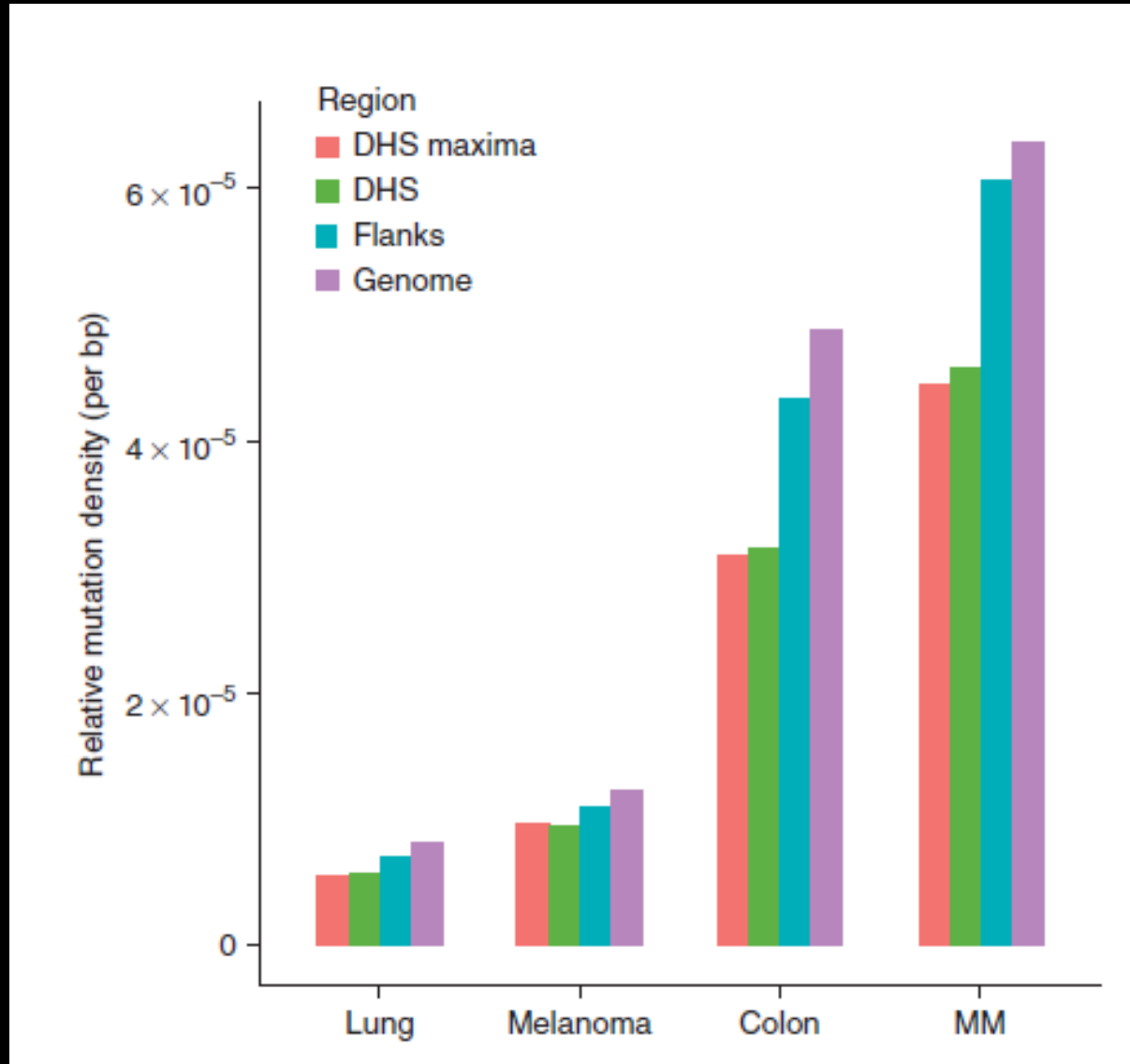


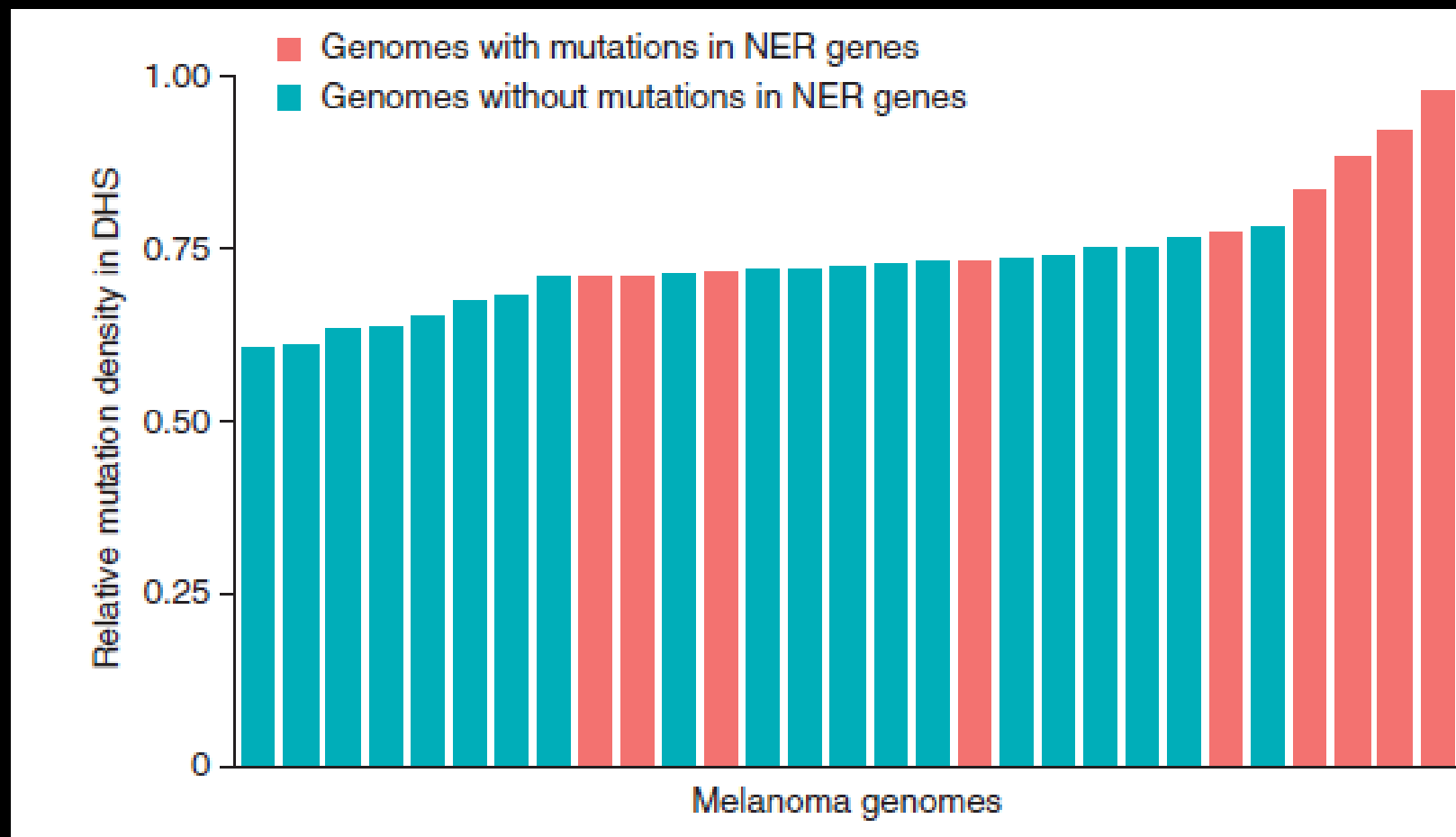
Для обоих типов повреждений на ранних временах в основном починка в открытом хроматине. На поздних временах для CPD выравнивается, а для (6-4)PP все равно даже на поздних временах в открытом хроматине репарация активнее.



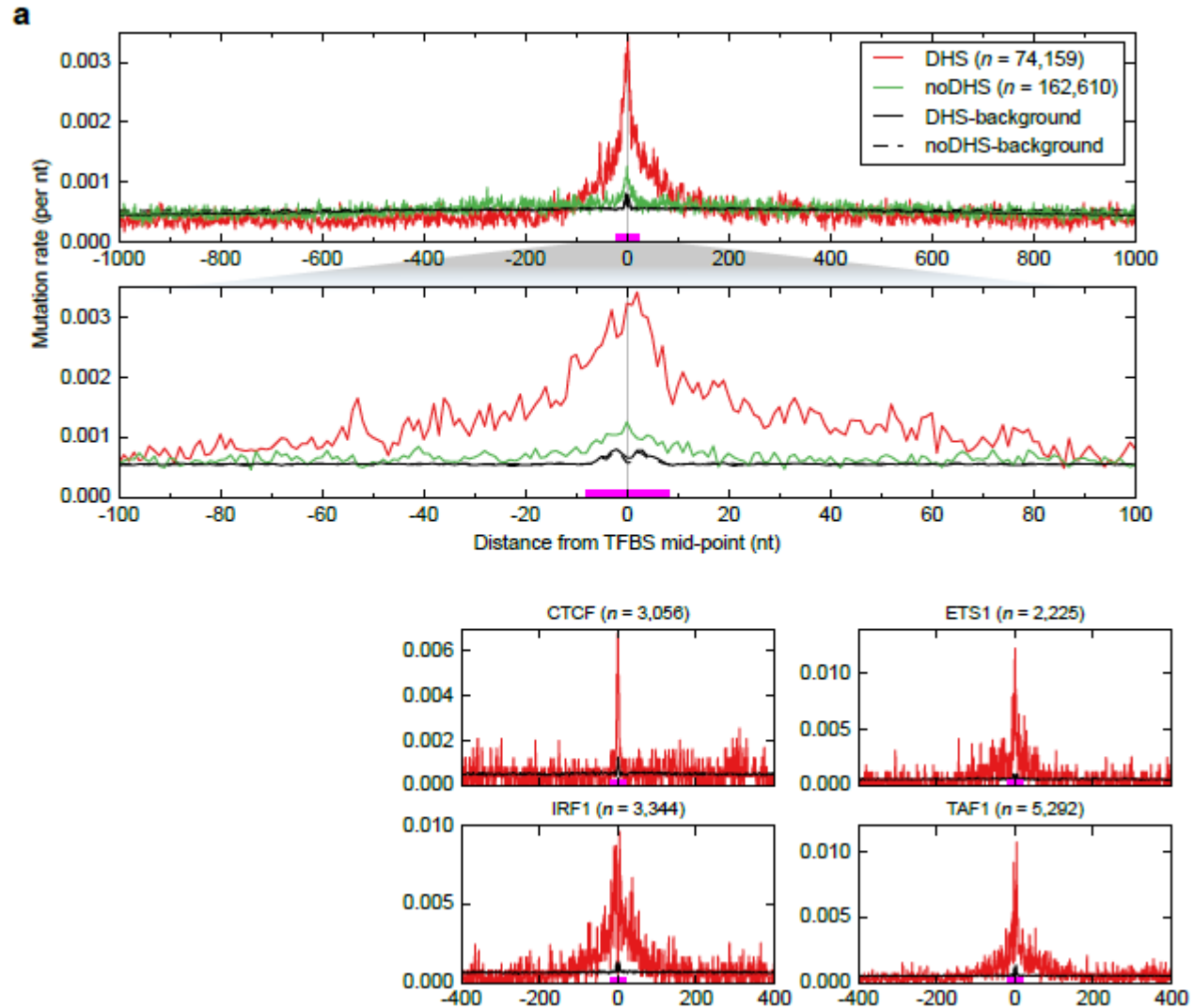


Меньше мутаций в DHS

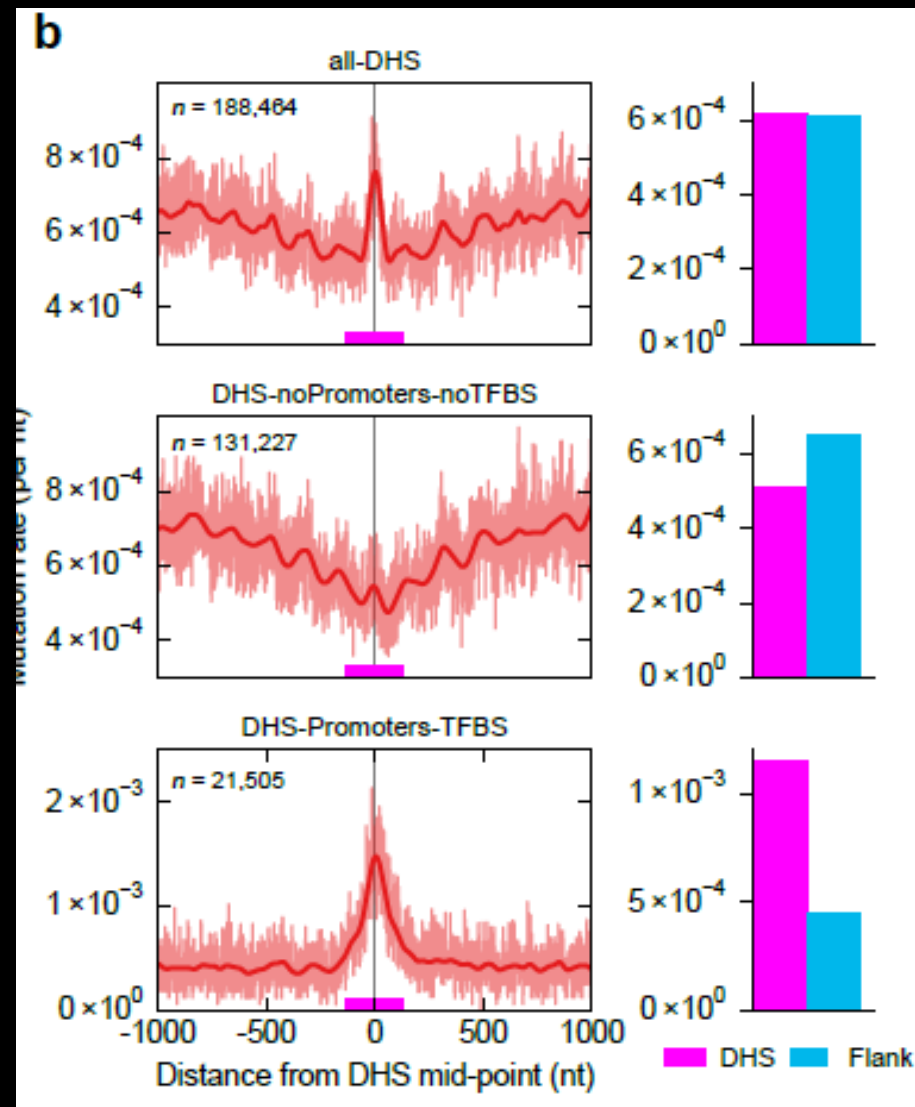




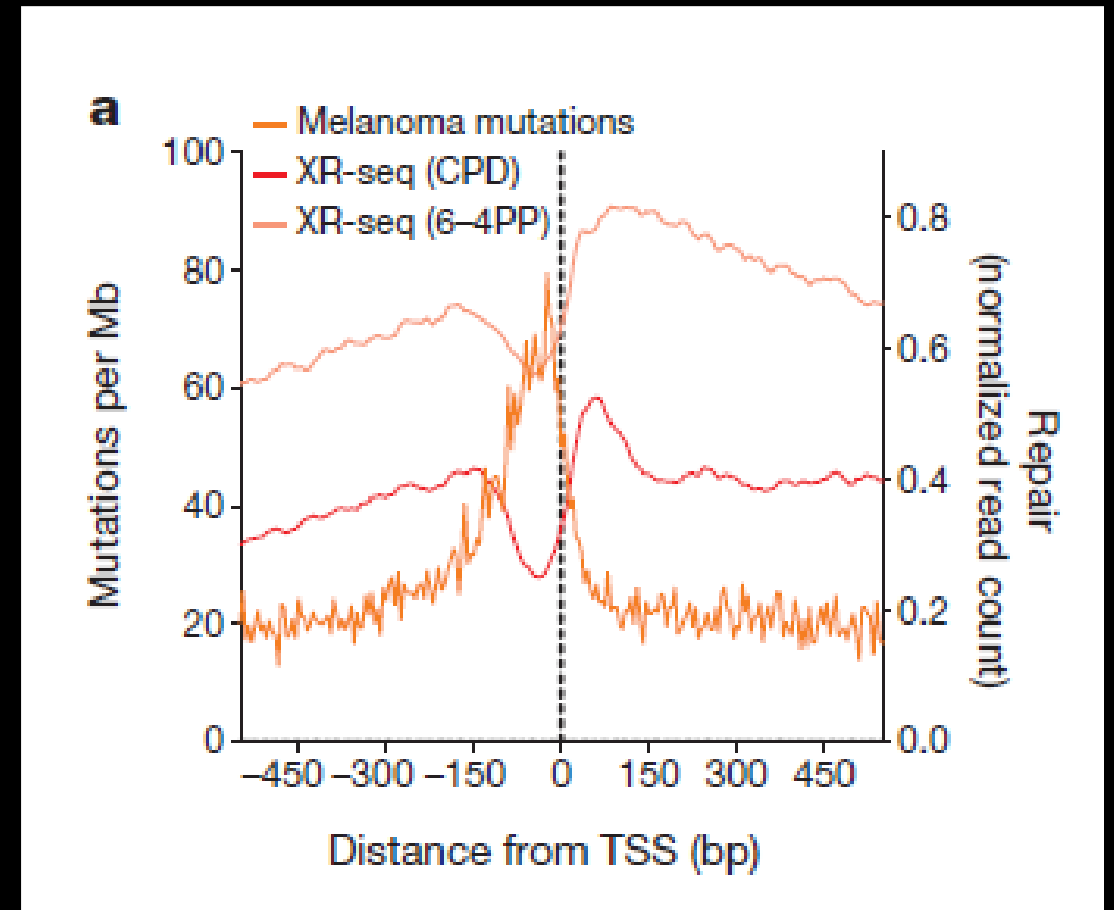
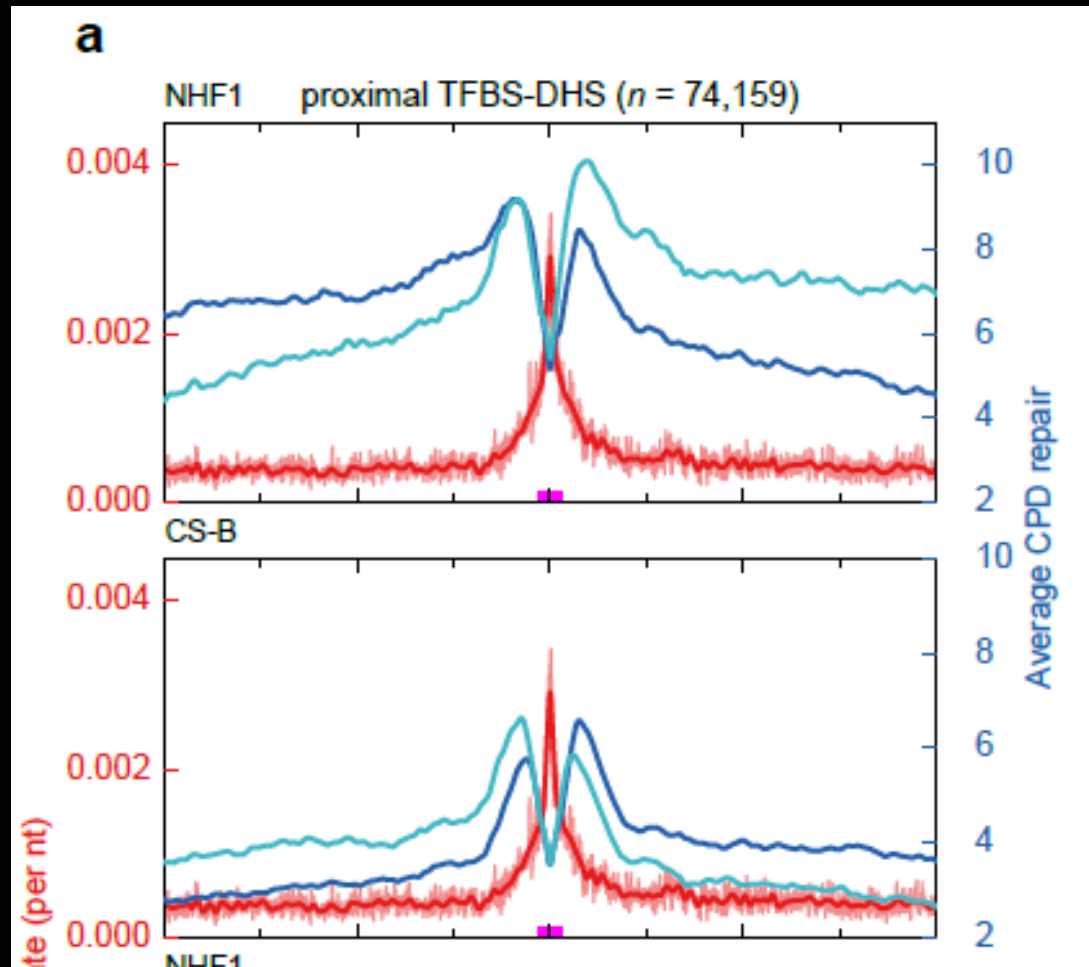
TF мешают NER



TF – плохо, открытый хроматин - хорошо

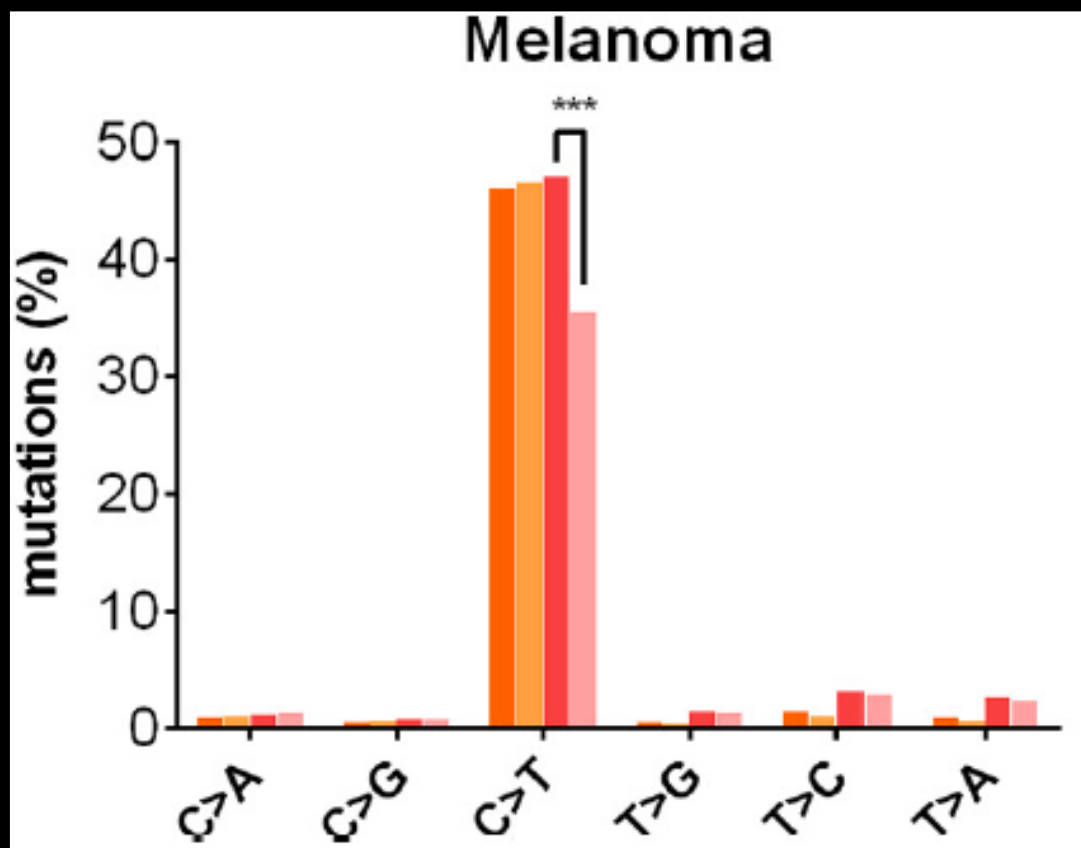


TF влияет на скорость мутирования через скорость репарации

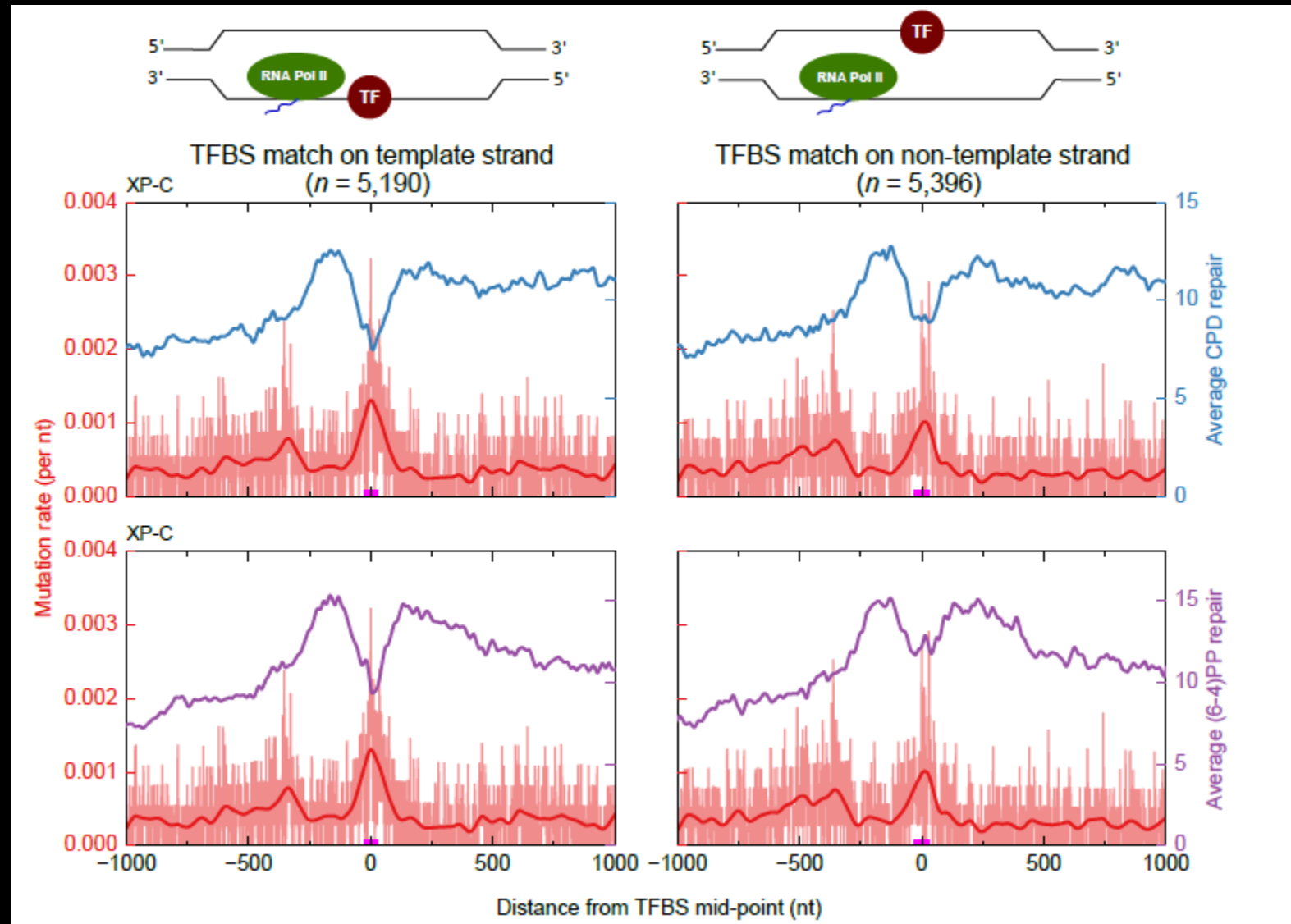


Нет асимметрии в DHS сайтах

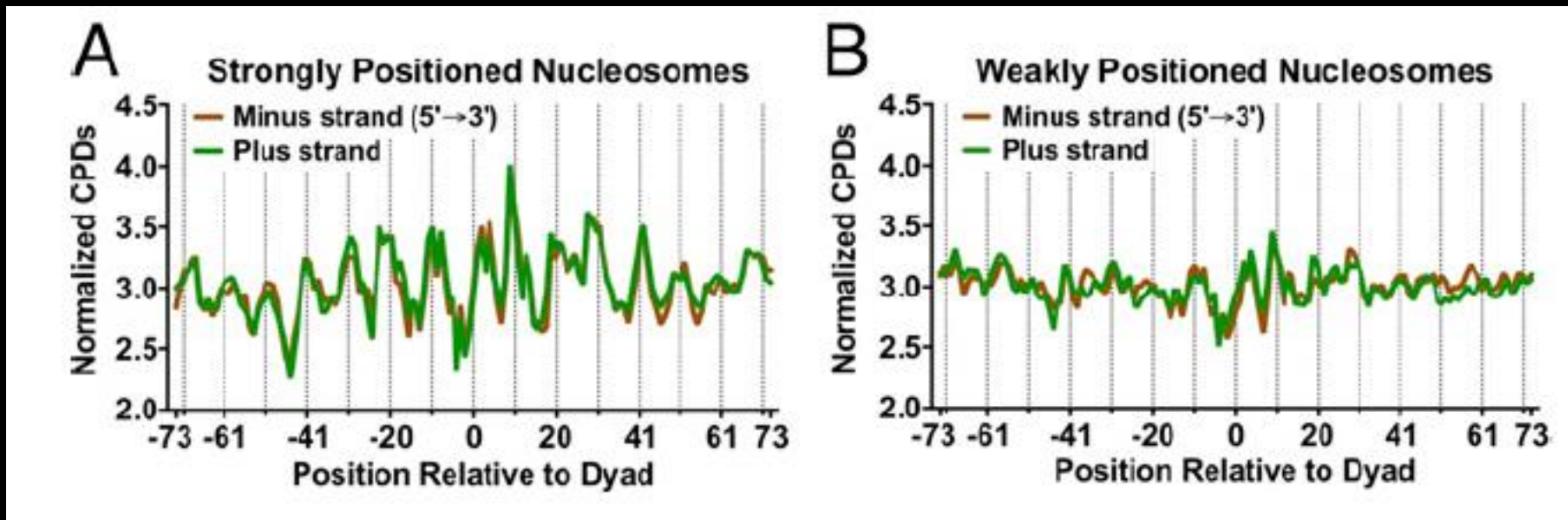
■ Promoter DHS Non-template ■ Promoter DHS Template ■ Genic Non-template ■ Genic Template



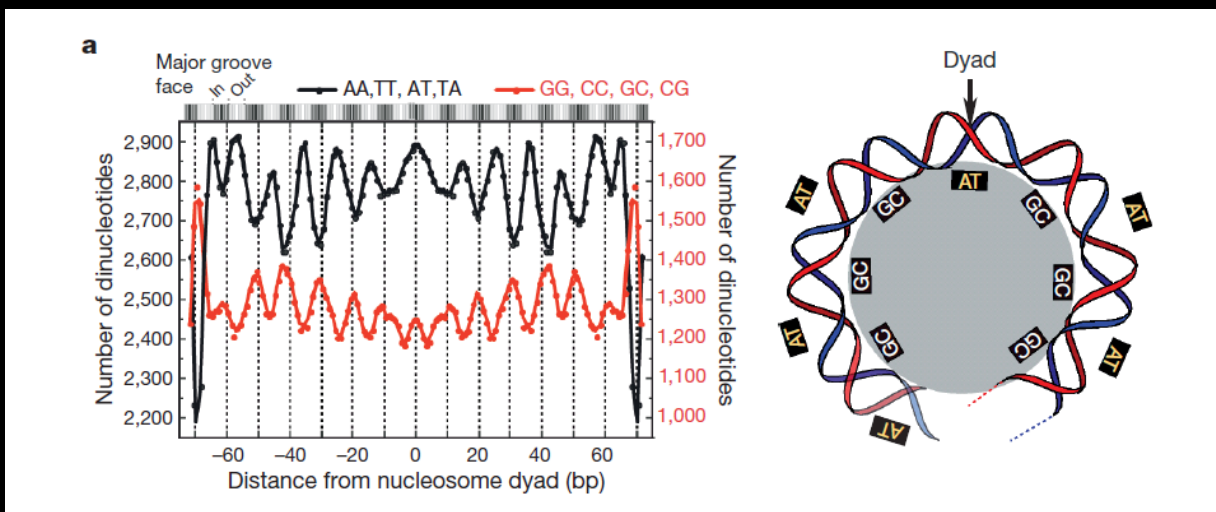
Не прямой эффект TF на TCR



Нуклеосомы и репарация

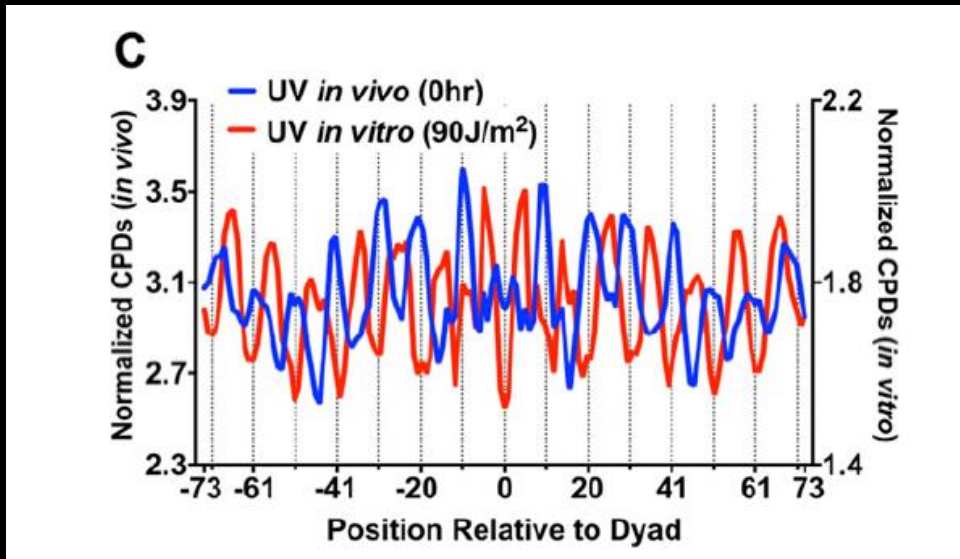


Mao et al, 2016, *PNAS*



Istvan Albert et al., 2007, *Nature*

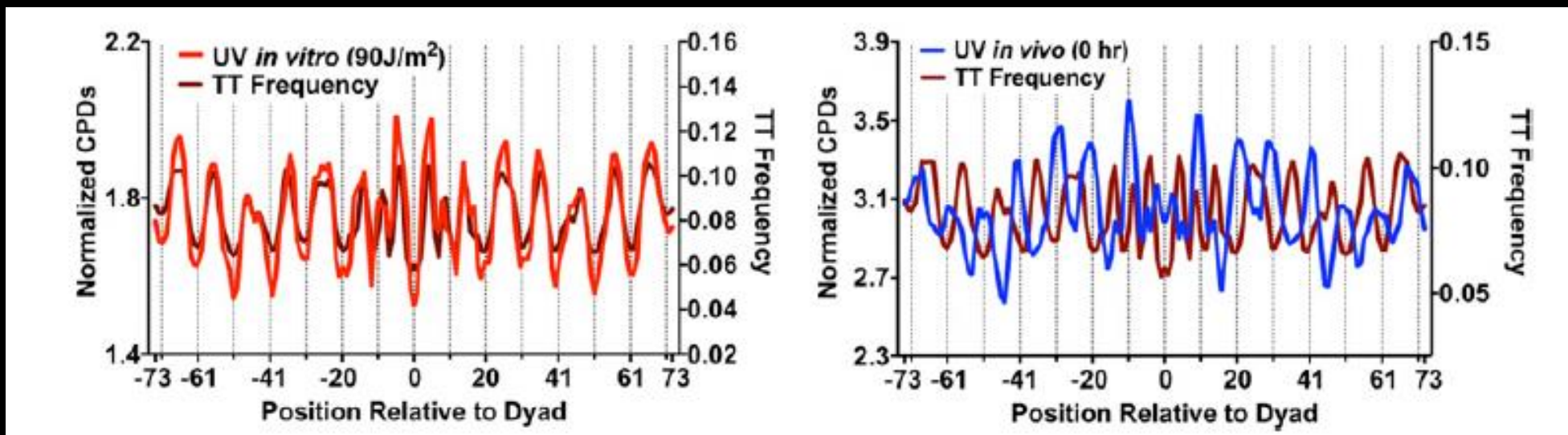
Нуклеосомы и репарация



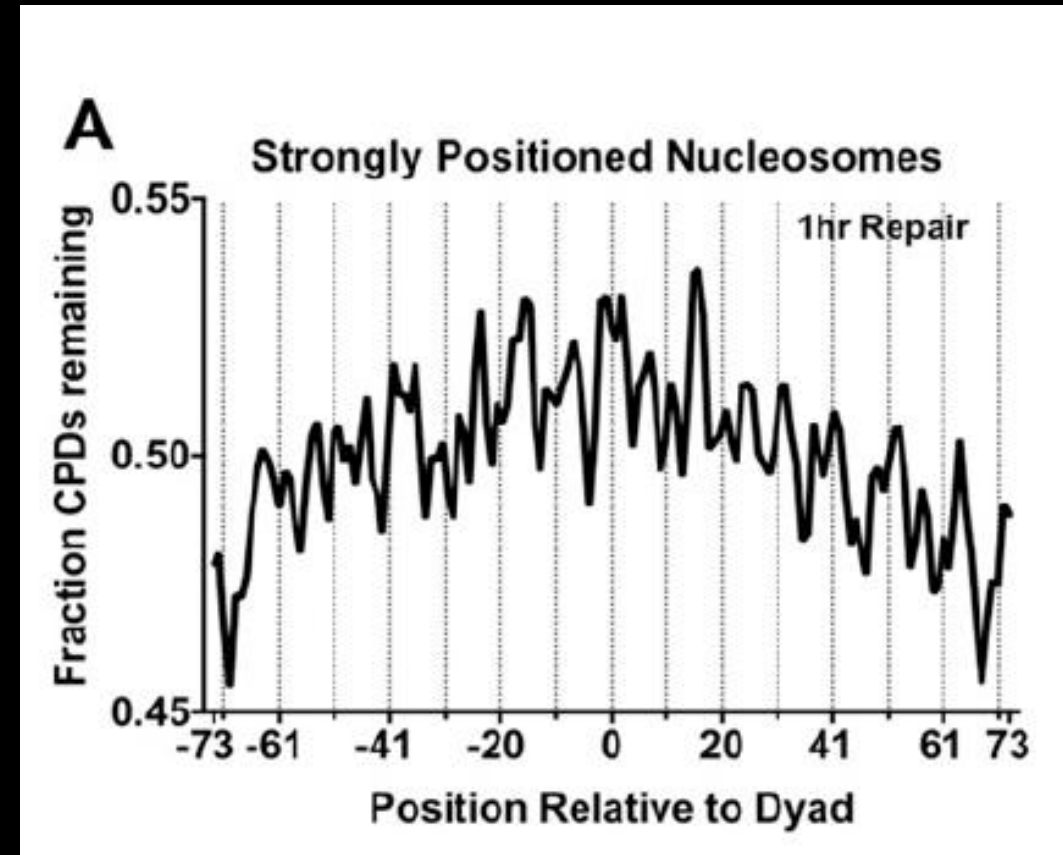
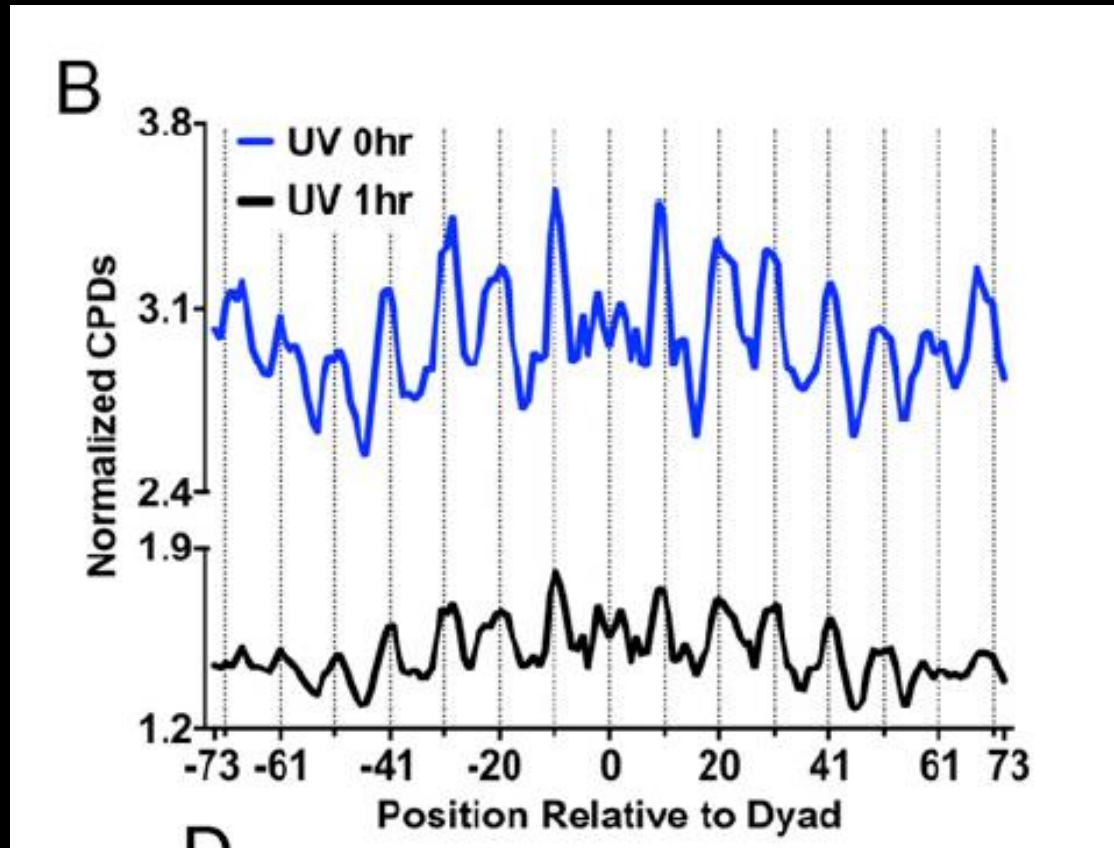
Пики CPD *in vivo* противоположны тем, что образуются *in vitro* без нуклеосом

Пики CPD в голой ДНК соответствуют ТТ динуклеотидам. И все это соответствует внутренней стороне.

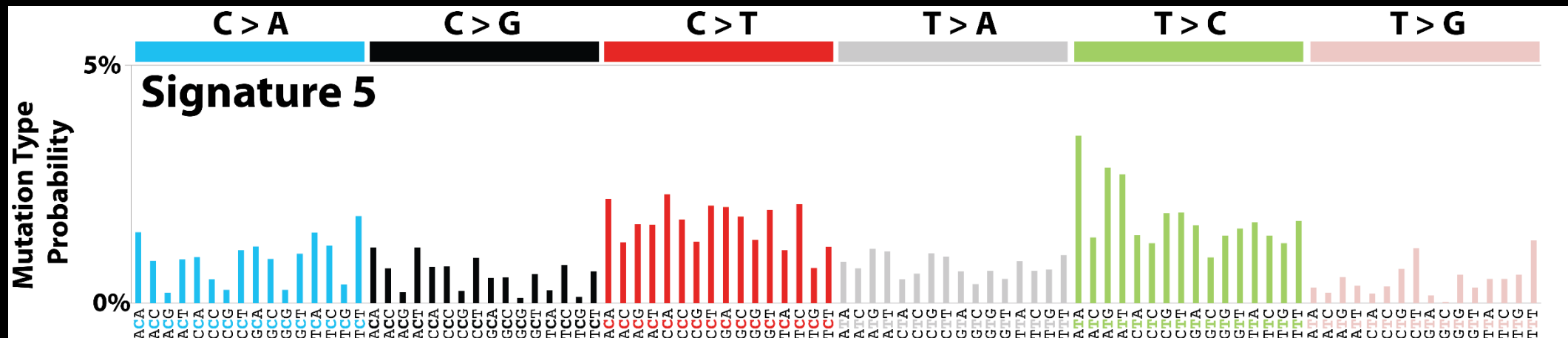
Нуклеосомы ингибируют образование CPD димеров.

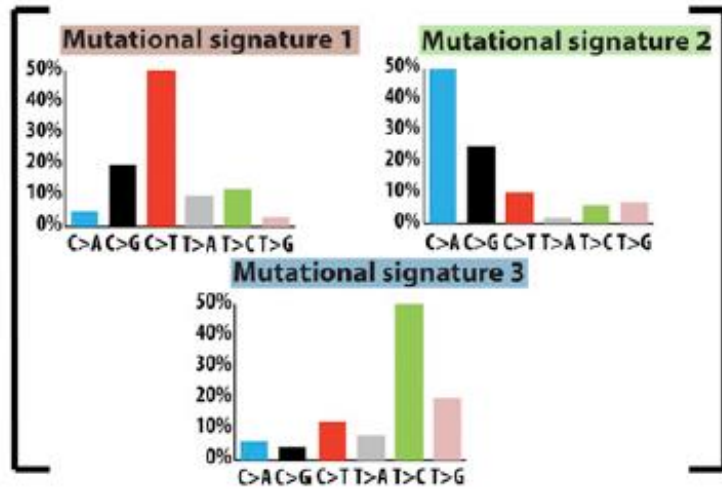


Нуклеосомы и репарация

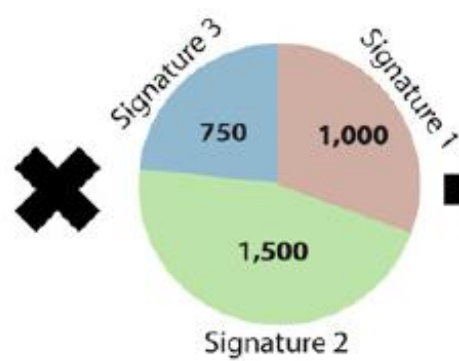


Мутационные подписи





Signatures of mutational processes



Number of mutations contributed by each signature

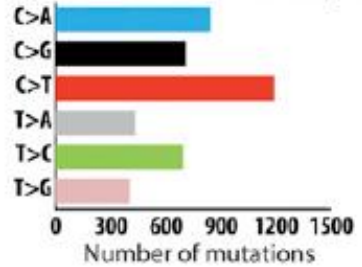


Non-systematic analysis errors

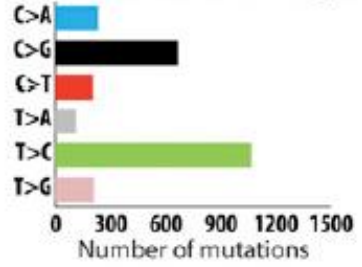


Mutational catalogue of a cancer genome

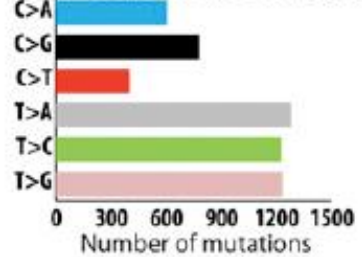
Genome #1 catalogue



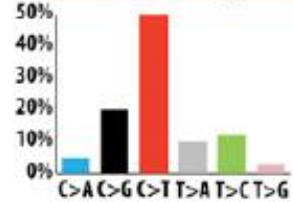
Genome #2 catalogue



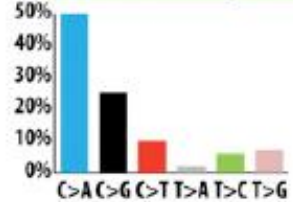
Genome #G catalogue



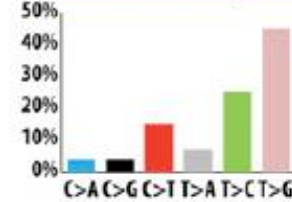
Mutational signature 1



Mutational signature 2



Mutational signature N

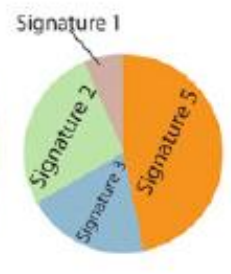


Signatures of mutational processes

=



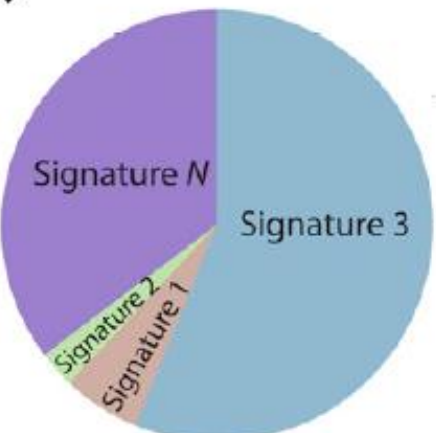
Genome #1
3,705 mutations



Genome #2
2,362 mutations



Genome #3
3,936 mutations



Genome #4
11,179 mutations



Genome #G
5,511 mutations

Number of mutations contributed by each signature

+



9% error



7% error



11% error



5% error

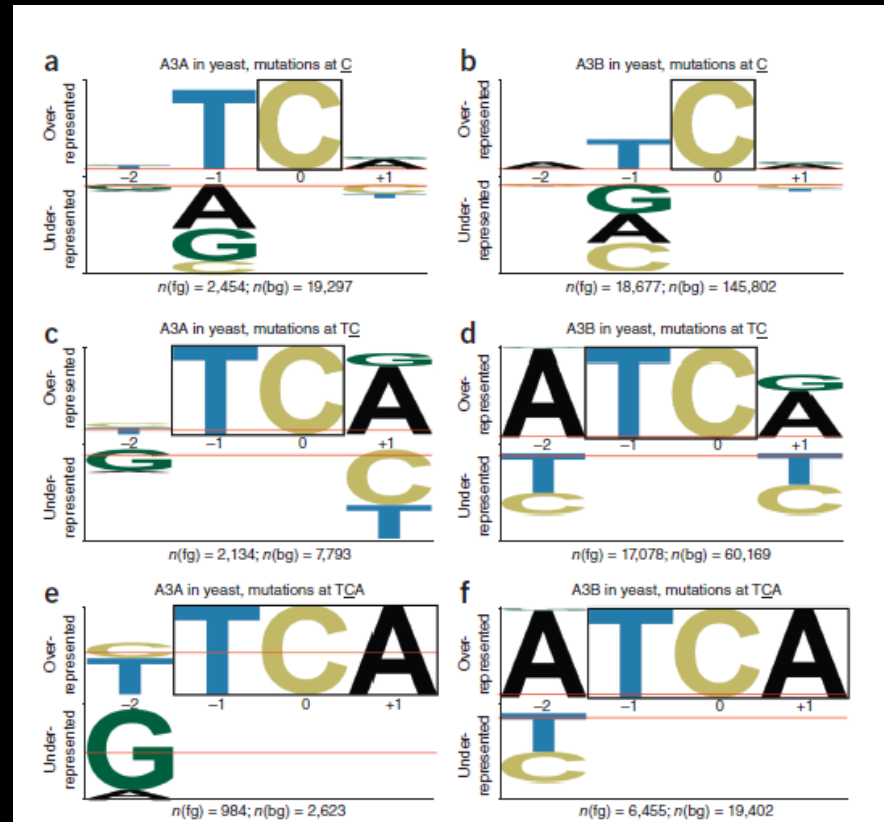
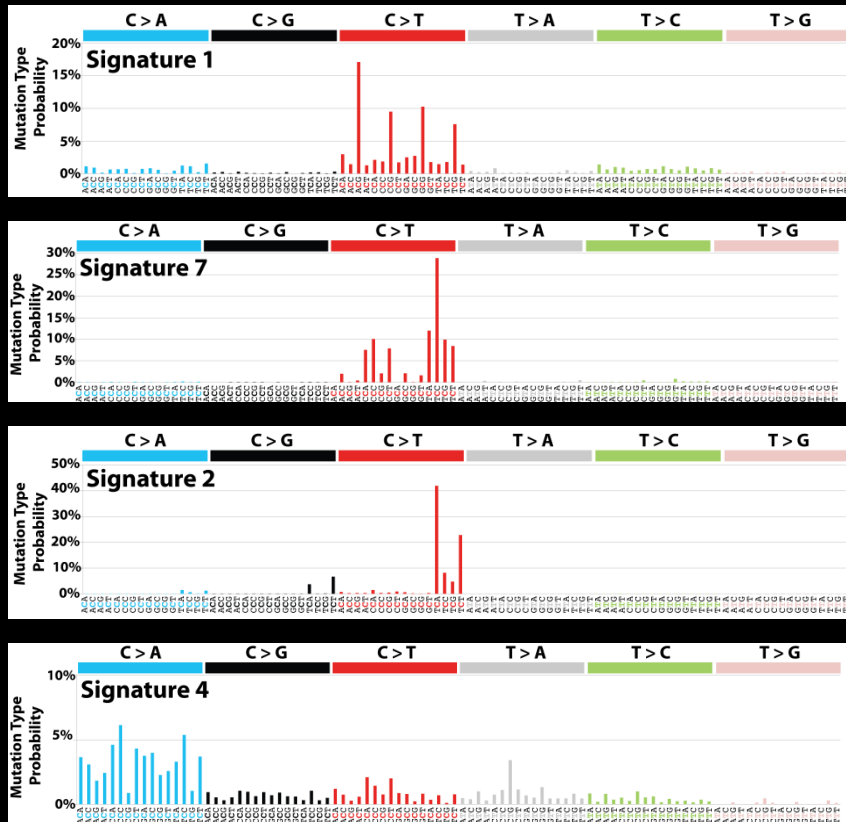
...



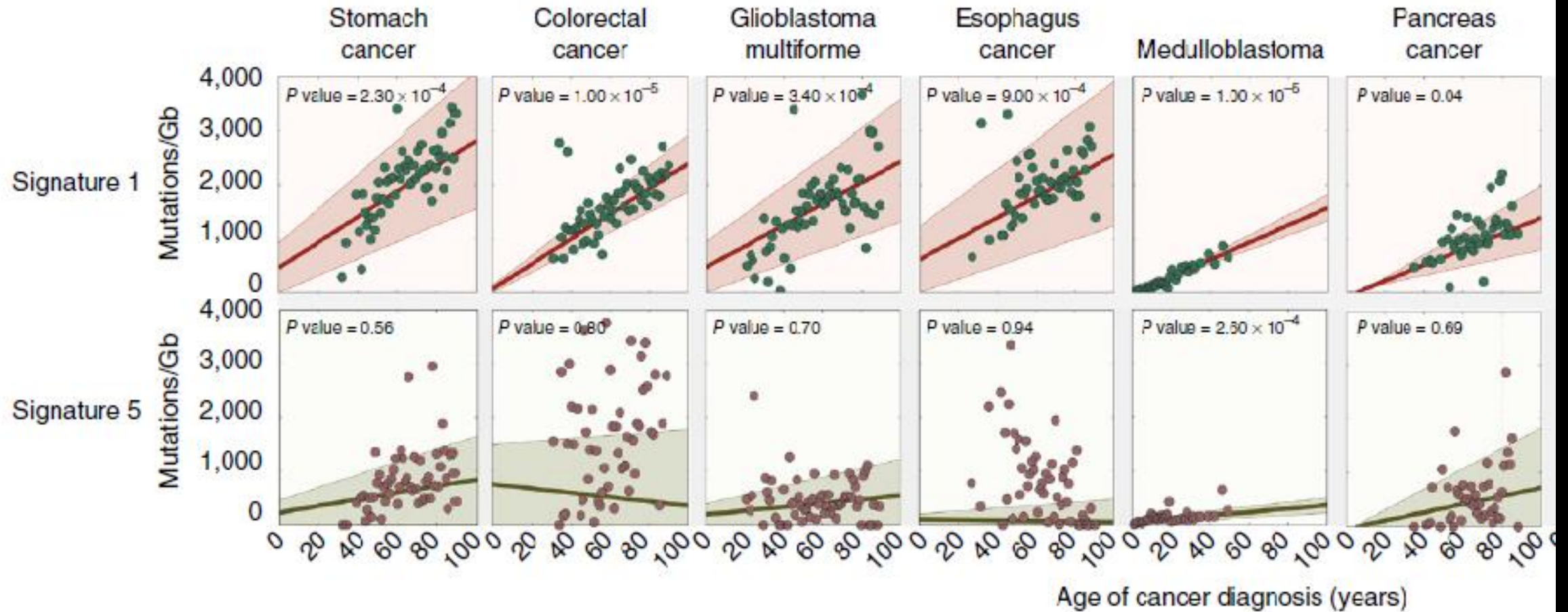
4% error

Reconstruction error

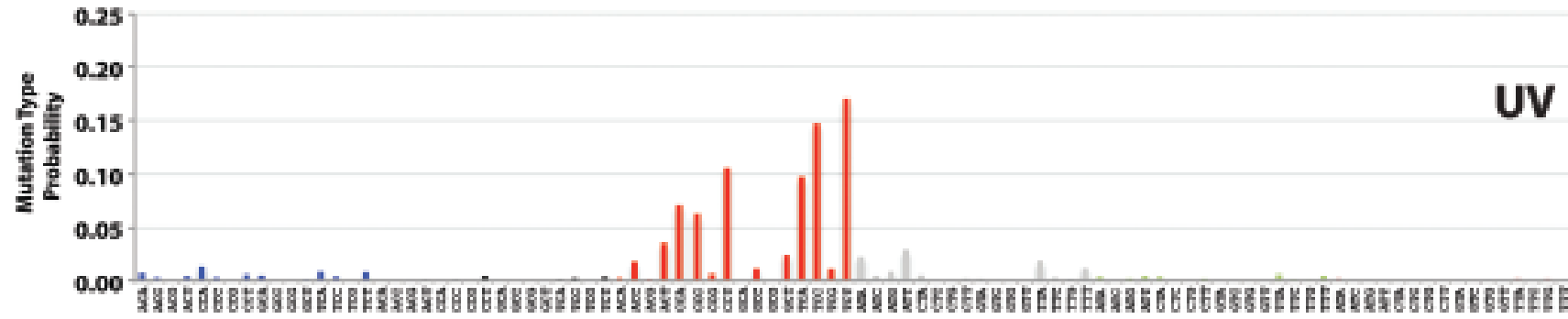
Мутационные контексты



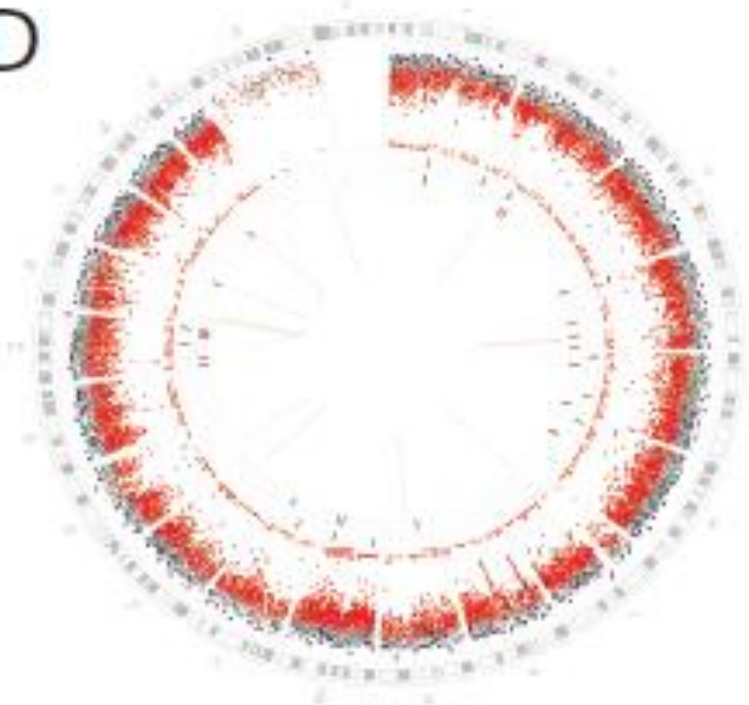
Clock-like signatures



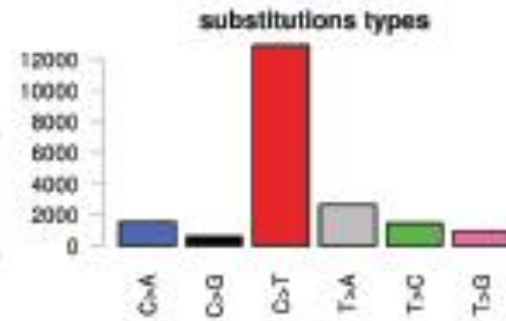
MEF Extracted
Signature D



D

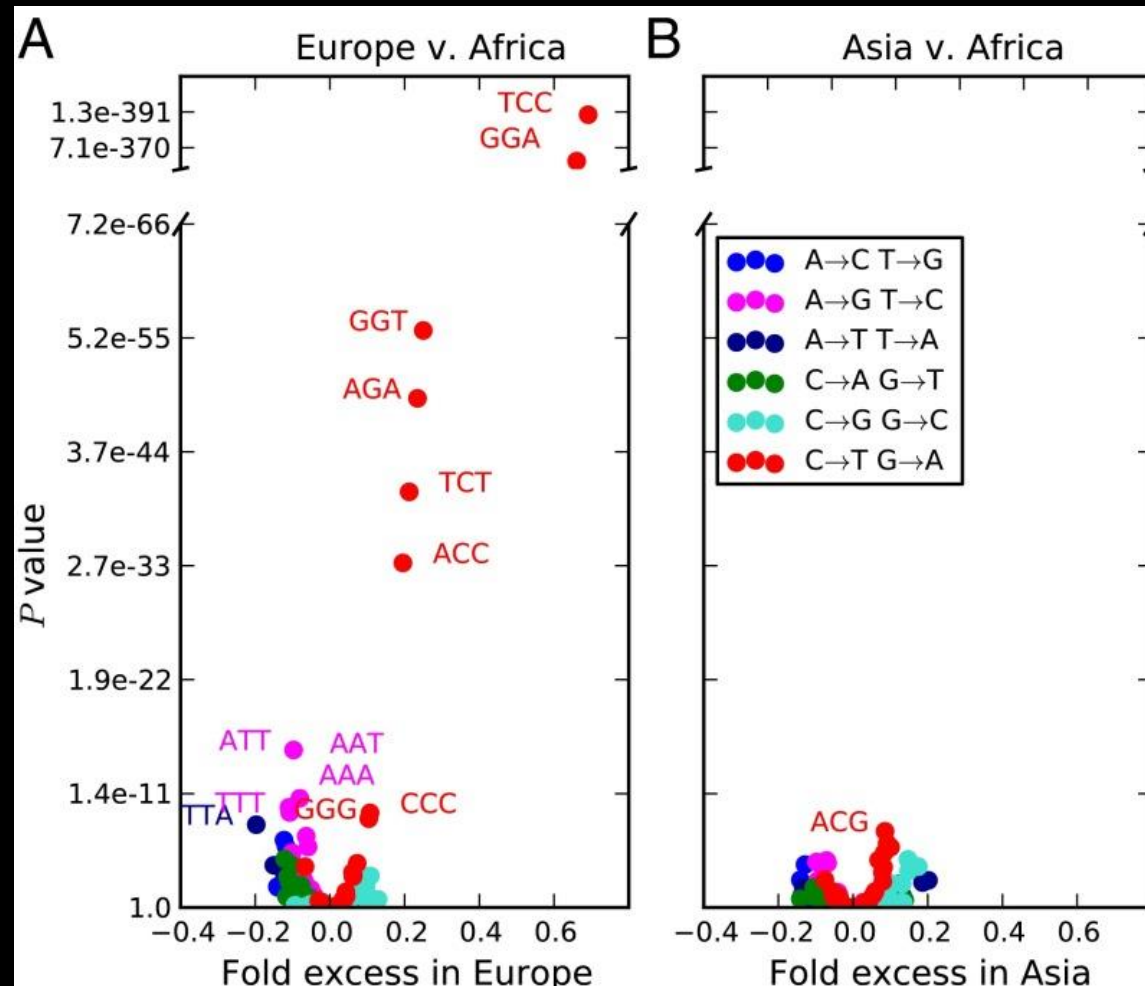


UV

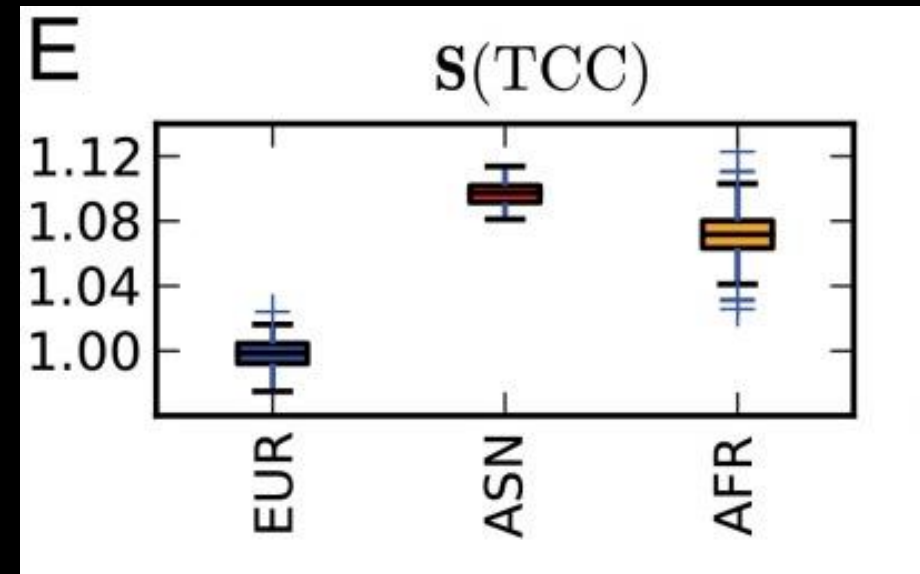
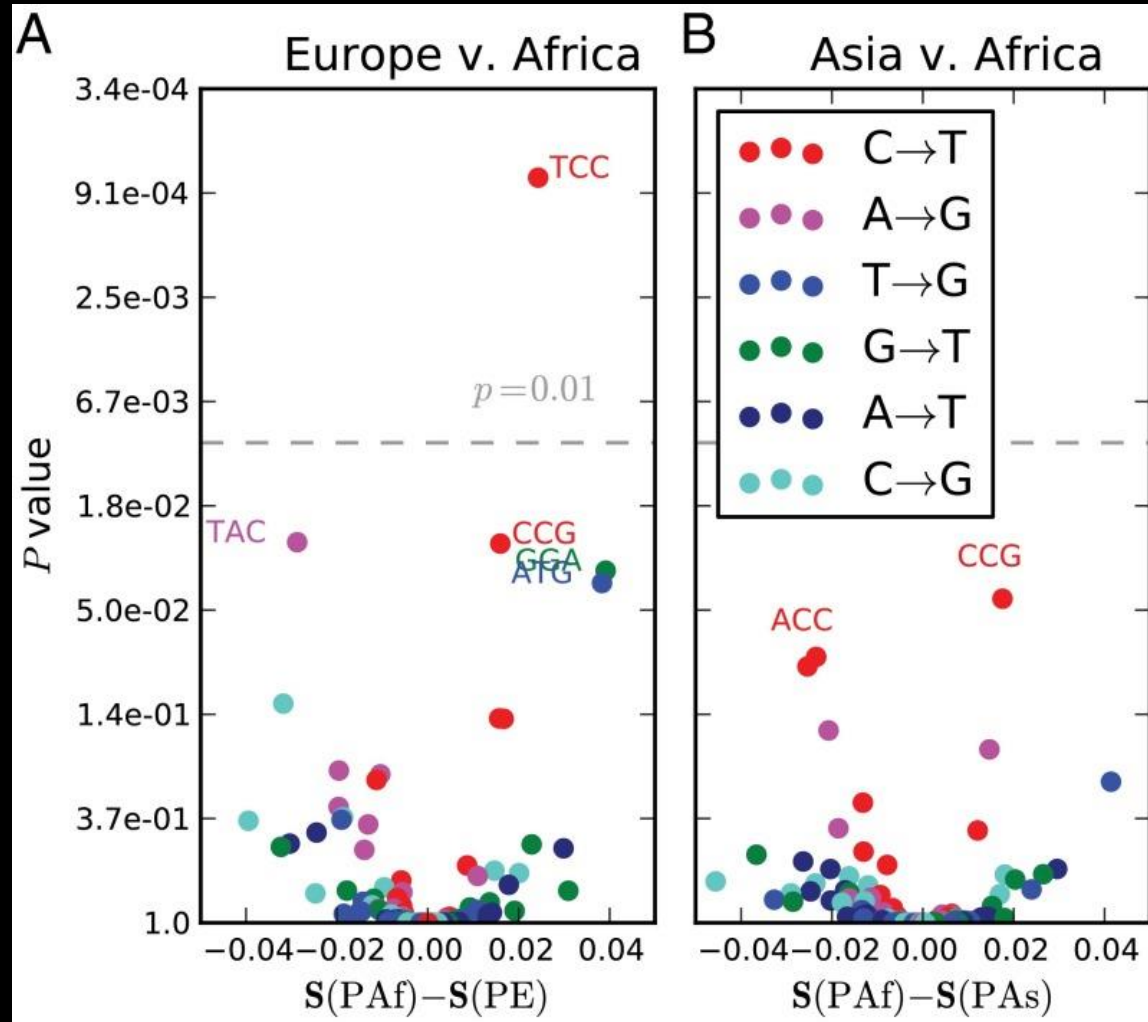


Nik-Zainal et al, 2015, *Mutagenesis*

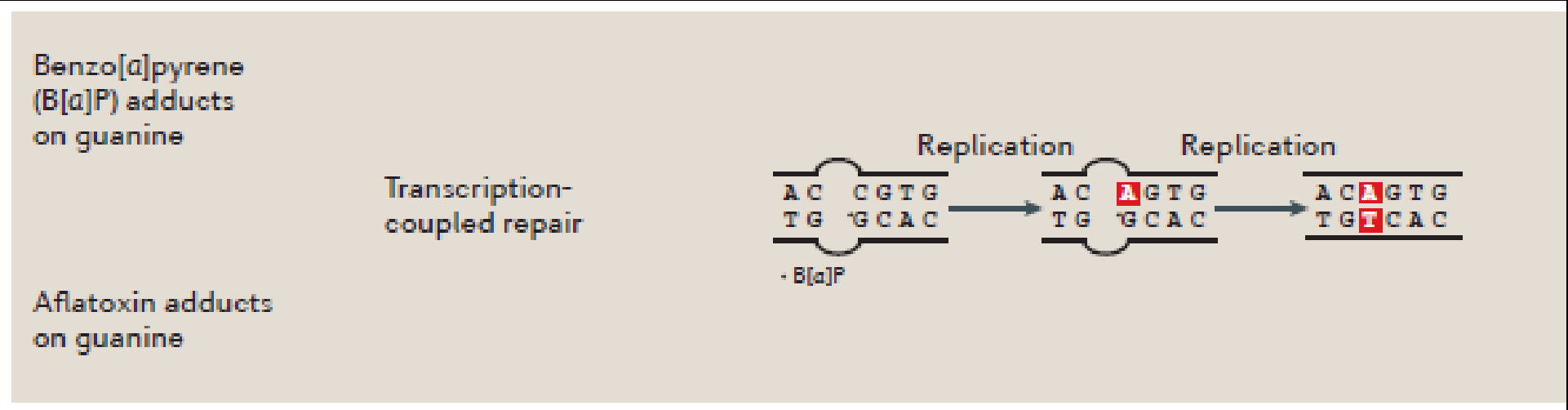
UV-signature изменчива между популяциями



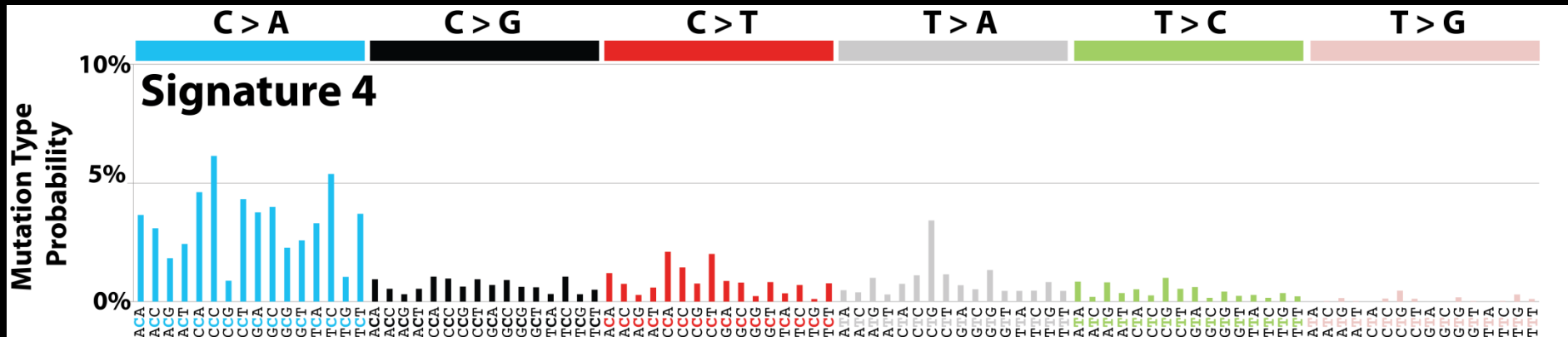
UV-signature изменчива между популяциями

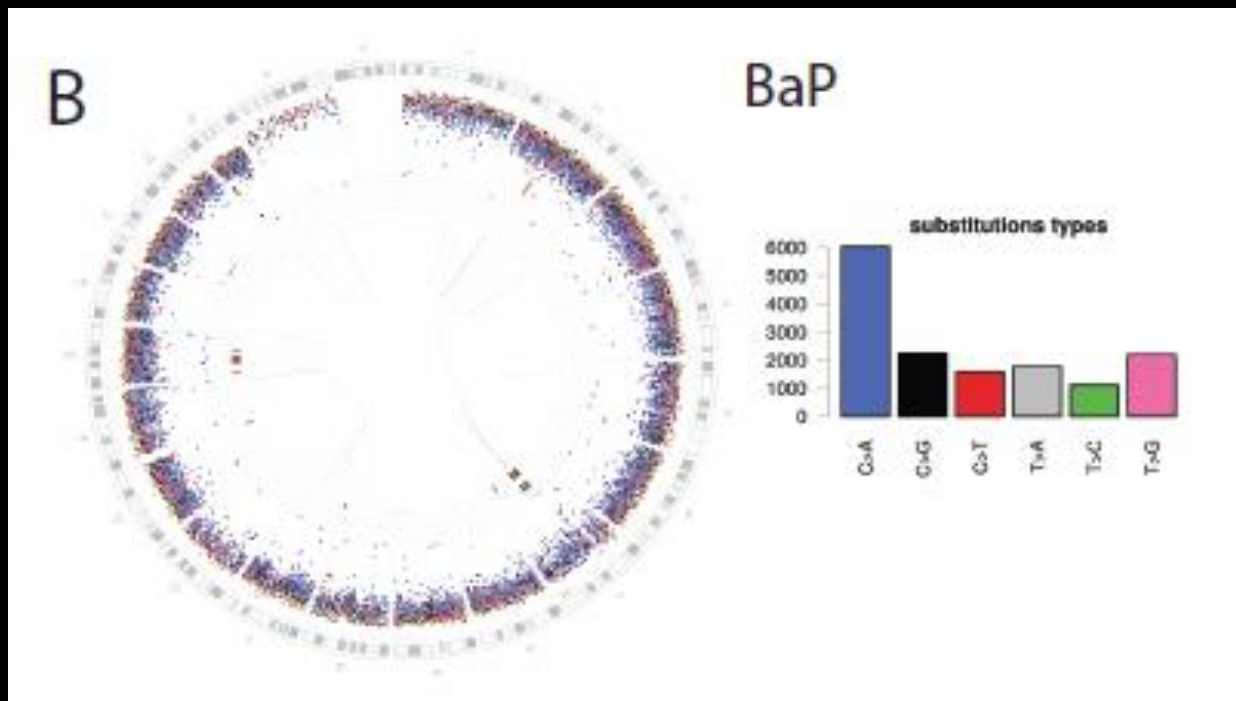
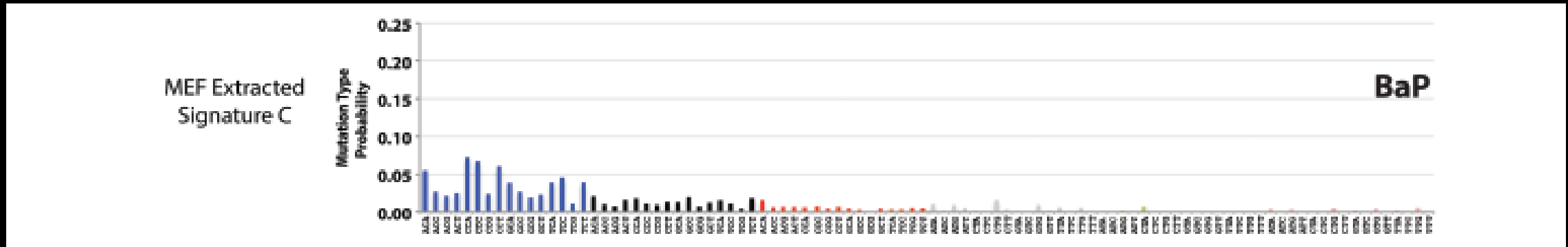


Окислительный стресс (T-asymmetry)



Helleday et al, 2014, *Nat Rev Gen*

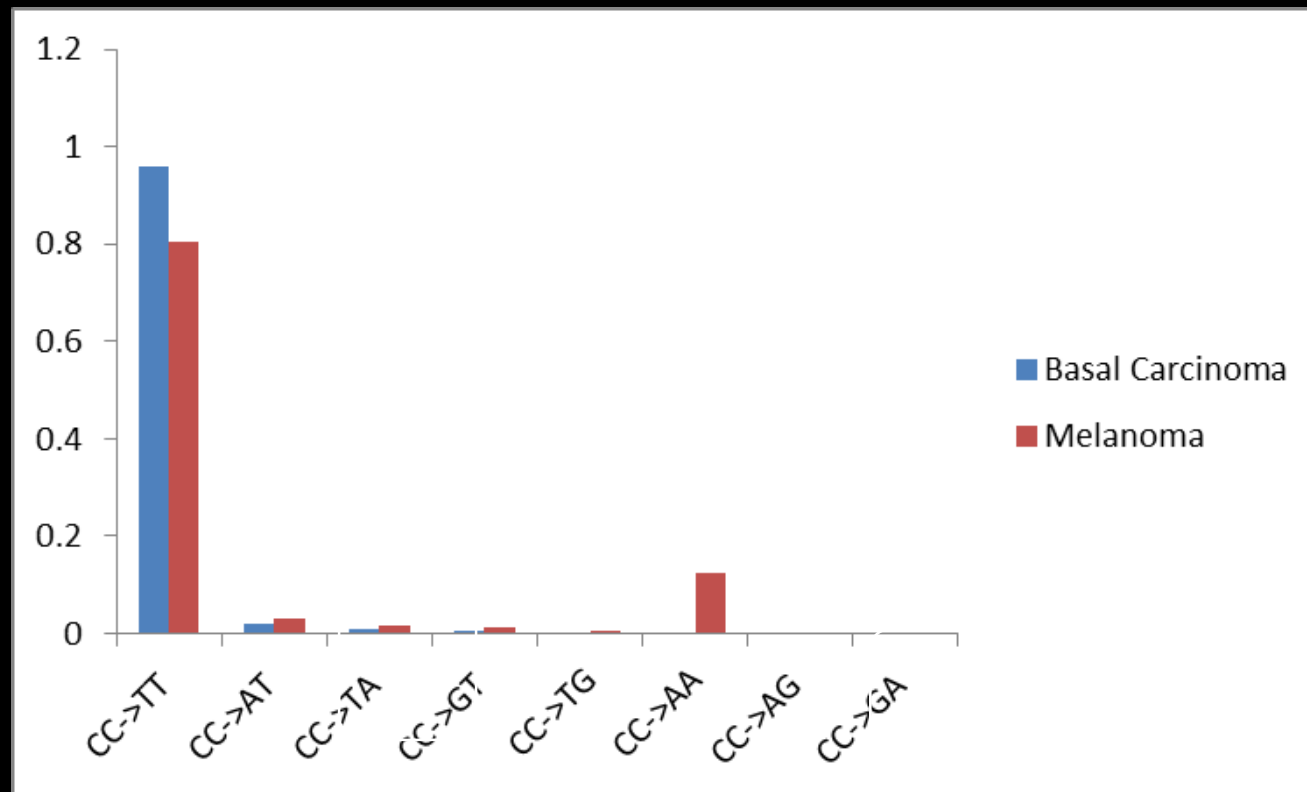




Serena Nik-Zainal et al, 2015, *Mutagenesis*

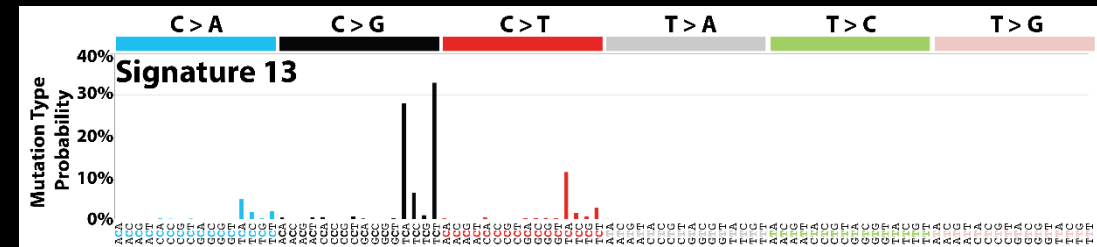
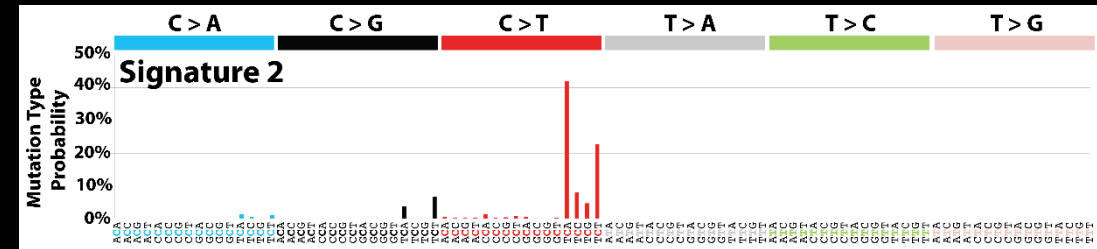
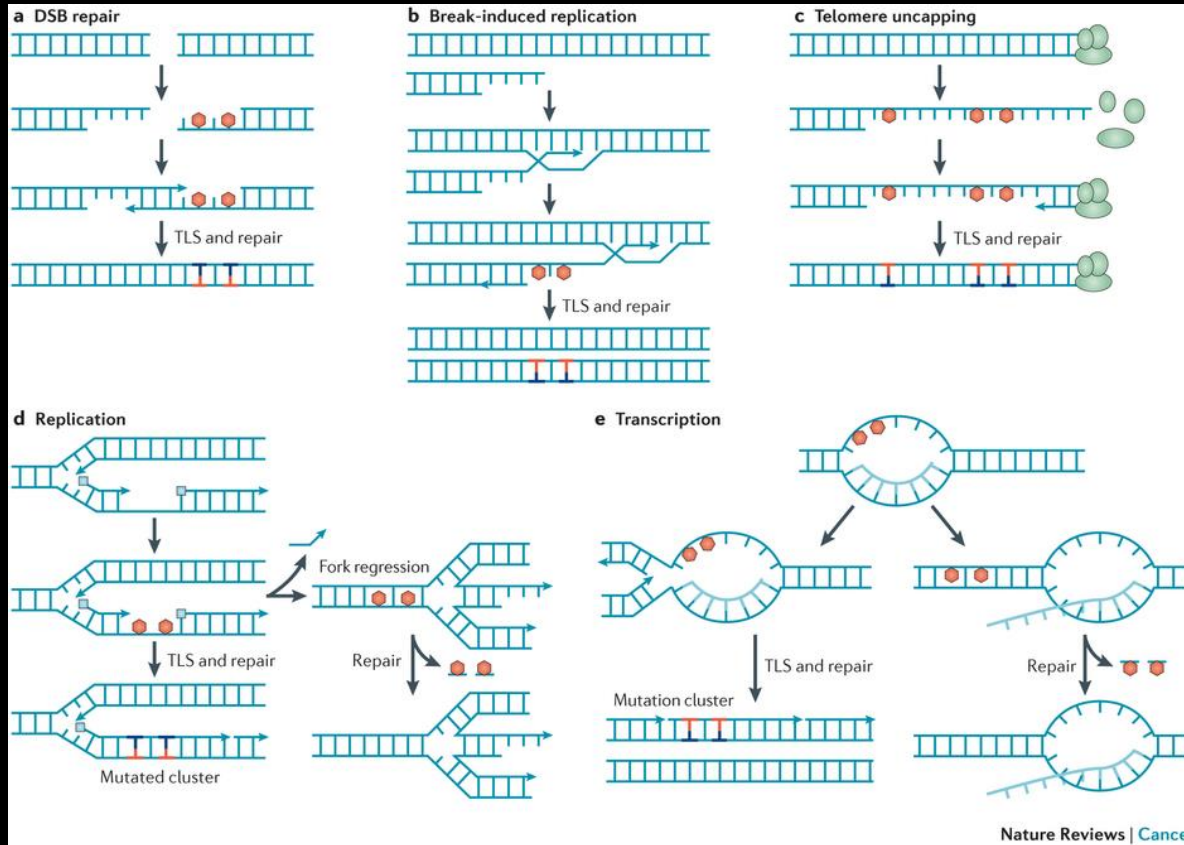
Окислительный стресс сильнее в меланоме, чем в базальной карциноме

		BCC	melanoma
UV light	TCC->TTC	0.252	0.227
Oxidative stress	G->T	0.023	0.030



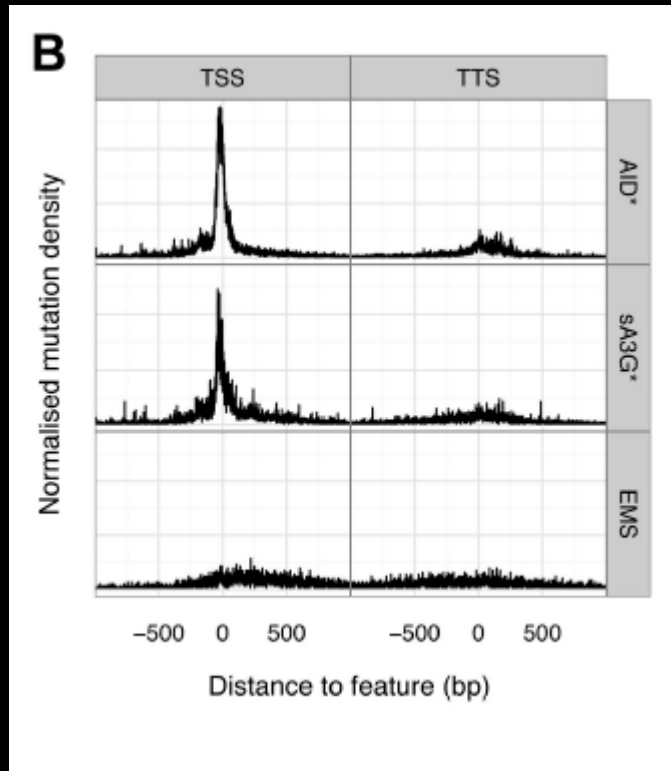
Bonila et al, 2016, *Nat. Gen*

APOBEC3 signature (TpC->Tp[T,G])

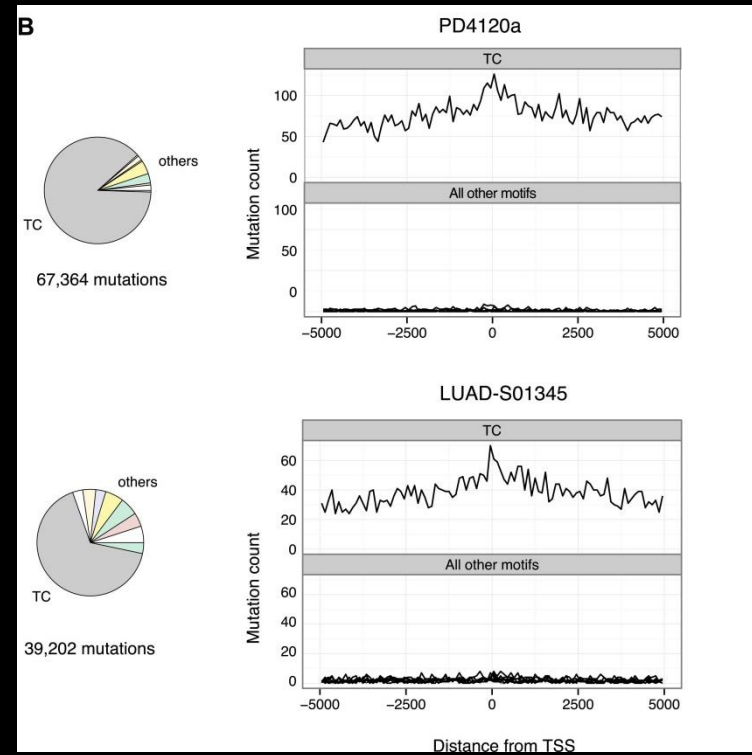


АРОВЕСЗ мутирует регион около TSS

Yeast experiments



Human cancers



АРОВЕС мутирует отстающую цепь (R-asymmetry)

