

Д. Манапқызы^{1*} , М.К. Сапарбаев² ,

С.М. Тайпакова¹ 

¹НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби», Казахстан, г. Алматы

²Лаборатория Механизмов ДНК Репарации и Карциногенеза СИЕ 9019, Институт Густава Русси, Франция, г. Вильжюиф

*e-mail: manatkyzy.diana@gmail.com

РОЛЬ ТИМИН ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ И СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА

Тимин ДНК-гликозилаза (TDG) привлекла к себе внимание благодаря своей способности удалять тимин, т.е. нормальное основание ДНК, из G:T неправильных пар. Это указывало на его функцию в эксцизионной репарации оснований ДНК в восстановлении пар оснований G:C после дезаминирования 5-метилцитозина. Из-за очевидной каталитической неэффективности, некоторые считали TDG плохим ферментом репарации ДНК без важной биологической функции. Однако было продемонстрировано, что этот фермент может действовать как ключевой игрок в транскрипционной регуляции через взаимодействие с различными ядерными рецепторами и факторами транскрипции что указывает на ее функцию в регуляции генов, которая, по-видимому, имеет решающее значение в процессах развития. Другие показали, что TDG участвует в эпигенетической регуляции экспрессии генов защищая CpG-богатые промоторы от *de novo* ДНК метилирования и может инициировать aberrantную репарацию. Недавние исследования на животных выявили связь между потерей TDG и началом опухолеобразования. Таким образом целью данного обзора является собрать воедино результаты различных экспериментов, в которых исследовалась тимин ДНК-гликозилаза с момента ее открытия, и оценить их влияние на определение возможных физиологических ролей этого фермента.

Ключевые слова: Тимин ДНК-гликозилаза, репарация ДНК, деметилирование ДНК, раковые заболевания.

D. Manapkyzy^{1,*}, M.K. Saparbaev², S.M. Taipakova¹

¹NCJSC «Al-Farabi Kazakh National University», Kazakhstan, Almaty

²Laboratory Mechanisms of DNA Repair and Carcinogenesis, UMR 9019, Institut Gustave Roussy, France, Villejuif

*e-mail: manatkyzy.diana@gmail.com

The role of human thymine DNA glycosylase in epigenetic regulation of transcription and genome stability

Thymine DNA glycosylase (TDG) attracted attention because of its ability to remove thymine, i.e., the normal DNA base, from G:T irregular pairs. This indicated its function in DNA base excision repair in the repair of G:C base pairs after deamination of 5-methylcytosine. Because of its apparent catalytic inefficiency, TDG was considered by some to be a poor DNA repair enzyme without an important biological function. However, it has been demonstrated that this enzyme can act as a key player in transcriptional regulation through interactions with various nuclear receptors and transcription factors, indicating its function in gene regulation, which appears to be crucial in developmental processes. Others have shown that TDG is involved in the epigenetic regulation of gene expression by protecting CpG-rich promoters from *de novo* DNA methylation and can initiate aberrant repair. Recent animal studies have revealed an association between loss of TDG and the onset of tumorigenesis. Thus, the purpose of this review is to bring together the results of various experiments in which thymine DNA-glycosylase has been studied since its discovery and to assess their implications for determining the possible physiological roles of this enzyme.

Key words: Thymine DNA glycosylase, DNA repair, DNA demethylation, cancer.

Д. Манапқызы^{1*}, М.К. Сапарбаев², С.М. Тайпакова¹

¹«Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» КеАҚ, Қазақстан, Алматы қ.

²ДНК репарациясының және канцерогенездің механизмдері зертханасы, АЗБ, Густав Русси институты, Франция, Вильжюиф қ.

*e-mail: manatkyzy.diana@gmail.com

Транскрипция мен геном тұрақтылығын эпигенетикалық реттеудегі адамның Тимин ДНҚ-гликозилазасының рөлі

Тиминдік ДНҚ гликозилаза (TDG) G:Т сәйкес келмейтін жұптардан ДНҚ-ның қалыпты негізі тиминді жою қабілетіне байланысты өзіне назар аударды. Бұл оның 5-метилцитозин дезаминденгеннен кейін G:C жұптарын қалпына келтірудегі негіздердің эксцизиялық ДНҚ репарациясындағы қызметін көрсетті. Көрінетін каталитикалық тиімсіздігіне байланысты, кейбіреулер TDG маңызды биологиялық қызметі жоқ, нашар ДНҚ репарациясының ферменті деп санайды. Дегенмен бұл фермент әртүрлі ядролық рецепторлармен және транскрипция факторларымен өзара әрекеттесу арқылы транскрипциялық реттеуде негізгі ойыншы ретінде әрекет ете алатыны көрсетілді, бұл даму процестерінде маңызды болып көрінетін гендік реттеудегі рөлді көрсетеді. Басқалары TDG CpG-ге бай промоторларды *de novo* ДНҚ метилденуінен қорғау арқылы ген экспрессиясының эпигенетикалық реттелуіне қатысатынын және аберрантты репарация бастауға қабілетті екенін көрсетті. Жануарларға жүргізілген соңғы зерттеулер TDG жоғалуы мен ісіктің басталуы арасындағы байланысты анықтады. Осылайша, бұл шолудың мақсаты Тимин ДНҚ-гликозилаза ашылғаннан бері зерттелген әртүрлі зерттеулердің нәтижелерін біріктіру және олардың осы ферменттің мүмкін болатын физиологиялық рөлдерін анықтауға әсерін бағалау.

Түйін сөздер: Тимин ДНҚ-гликозилаза, ДНҚ репарациясы, ДНҚ демитилденуі, қатерлі ісік аурулары.

Введение

Метилирование цитозина на 5-м углероде (5-mC) является распространенной формой модификации ДНК у млекопитающих, которая необходима для различных биологических процессов, таких как инактивация X-хромосомы, геномный импринтинг, дифференциация клеток и подавление мобильных генетических элементов (Bird) [1]. Кроме того, аберрантное метилирование ДНК является распространенным молекулярным повреждением при раковых заболеваниях, обычно вызывающим глобальное гипометилирование и локус-специфическое гиперметилирование генов-супрессоров опухоли. 5-mC встречается преимущественно в контексте островов CpG, которые представляют собой короткие, перемежающиеся, богатые цитозином и гуанином регионы ДНК, первоначально идентифицированные как неметилированная часть геномной ДНК мыши [2]. Острова CpG обычно имеют длину 500-3000 пар оснований и находятся внутри или рядом с почти половиной промоторов генов млекопитающих [3]. Например, все гены домашнего хозяйства связаны с промоторными CpG-островами, которые обогащены разрешающими H3K4me3 (триметилирование гистона H3) метками гистонов, содержат множество сайтов связывания транскрипционных фак-

торов и обычно не метилированы [4]. Острова CpG также могут быть найдены в энхансерных, межгенных и интронных областях и часто связаны с транскрипционной регуляцией соответствующих генов.

Недостатком этой эпигенетической регуляции является то, что спонтанное деаминирование 5-mC приводит к образованию тимина, в результате чего возникает G:Т несоответствие, которое, если его не восстановить, приводит к транзиции C→Т в динуклеотидах CpG. Фактически, было высказано предположение, что низкое содержание CpG в геномах млекопитающих связано с высокой мутабельностью 5-mC [5]. В клетках млекопитающих тимин-ДНК-гликозилаза (TDG) и белок метил-связывающего домена 4 (MBD4/MED1) предотвращают мутагенное воздействие деаминирования 5-mC путем вырезания тимина из G:Т неправильных пар в контексте CpG, который затем заменяется цитозином в процессе эксцизионной репарации оснований (BER)[6,7]. На пути BER ДНК-гликозилаза распознает аномальное основание и катализирует расщепление связи основания с сахаром (N-гликозидную), образуя абазисный сайт, который в свою очередь восстанавливается апуриновой/апиримидиновой (AP) эндонуклеазой [8,9].

За последнее десятилетие исследования TDG получили впечатляющее развитие в различных

дисциплинах. Ферментативные и структурные исследования позволили понять различные аспекты его функциональности. Выявление и характеристика гомологов и ортологов в филогенезе пролили свет на эволюцию этого семейства ДНК-гликозилаз и способствовали появлению первых генетических подходов к раскрытию биологических функций. Хотя до сих пор все усилия не позволили связать TDG человека с четко определенным клеточным процессом, они позволили установить линии доказательств, которые поддерживают три основные рабочие гипотезы. Биохимические и структурные свойства TDG поддерживают функцию в репарации поврежденных или модифицированных пиримидиновых оснований (BER)[10]; биохимические и клеточные, биологические данные предполагают роль в активном удалении 5-мС из метилированных CpG динуклеотидов в ДНК [11]; а [12,13]. Из всех этих исследований становится ясно, что, будучи ДНК-гликозилазой, TDG обладает довольно необычными свойствами, и что они могут указывать на связь между репарацией ДНК, контролем эпигенетической модификации ДНК и регуляцией экспрессии генов. Вопрос о том, можно ли и как-нибудь согласовать эти, казалось бы, несопадающие аспекты функции TDG в рамках единой механистической модели, предстоит решить в будущем. Целью данной статьи является обзор результатов последнего десятилетия исследований TDG и оценка возникающих концепций биологической функции.

Результаты и обсуждение

Роль ферментов TDG и MBD4 в репарации неправильно спаренных G/T

Учитывая роль TDG в восстановлении метилированных пар G:T после дезаминирования 5-меС, необходимо принять во внимание вторую ДНК-гликозилазу со способностью процессинга G:T, присутствующую в клетках позвоночных. Этот фермент, названный MBD4/MED1, принадлежит к семейству белков с метил-CpG-связывающим доменом (MBD) и состоит из N-концевого MBD-домена, который связан с C-концевым ДНК-гликозилазным доменом. Несмотря на структурную неродственность, MBD4/MED1 обладает ферментативными свойствами, очень похожими на свойства TDG; он высвобождает T и U из G:T и G-U несоответствий, соответственно, и обрабатывает ряд других субстратов, общих с TDG [7,14]. В какой степени любая из этих гликозилаз вносит свой вклад в процессинг G:T в живых клетках,

неизвестно. Нарушение MBD4/MED1 у мыши вызывает небольшое увеличение C→T мутаций на CpG сайтах, что соответствует дефекту в восстановлении дезаминированного 5-меС, который не может быть полностью компенсирован присутствием TDG [15]. С другой стороны, было обнаружено, что инактивация TDG в эмбриональных стволовых клетках и фибробластах мыши снижает G:T процессинг в клеточных экстрактах ниже уровня обнаружения, что указывает на то, что TDG обеспечивает преобладающую активность против продуктов дезаминирования 5-меС в этих клетках [16]. В свете этого очевидного несоответствия единственное твердое заключение, которое можно сделать на данный момент, заключается в том, что способность к репарации G:T в клетках позвоночных обеспечивается по крайней мере двумя различными ДНК-гликозилазами, которые могут действовать частично дублирующим образом.

В присутствии такой мощной защиты, однако, кажется удивительным, что метилированные CpG являются горячими точками мутаций в геноме млекопитающих, и что переходы C→T в таких местах часто встречаются в ДНК раковых клеток человека [17]. Можно утверждать, что, учитывая довольно неэффективную обработку субстратов G:T с помощью TDG и MBD4/MED1, количество субстратов, образующихся в результате дезаминирования, может превышать репарационные возможности клетки. Ошибки G:T, избежавшие репарации, могут привести к мутациям перехода C→T при репликации ДНК. В качестве альтернативы, пострепликативная система репарации несоответствий (MMR) может получать доступ к таким G:T парам время от времени и, не будучи в состоянии отличить мутантную последовательность от последовательности дикого типа в контексте нереплицирующейся ДНК, ошибочно обрабатывать цепь в составе которой находится G и, следовательно, исправлять мутацию.

Еще одна гипотеза, которую стоит рассмотреть, заключается в том, что гликозилазы G:T действуют не глобально в геноме, а направлены на конкретные участки. Действительно, сообщалось, что TDG взаимодействует с транскрипционными факторами и регулирует экспрессию генов на определенных промоторах. Аналогично было показано, что MBD4/MED1 подавляет транскрипцию репортерного гена, контролируемого гиперметилированными промоторами p16INK4a и hMLH1 [18]. Эти результаты согласуются с тем, что G:T-репарация с помощью TDG и MBD4/MED1 ограничена определенными областями генома и связана с определен-

ными физиологическими процессами, которые включают активацию или инактивацию генов. Следовательно, некоторые участки генома будут более восприимчивы к мутагенезу через дезаминирование 5-меС, в то время как другие будут защищены TDG и/или MBD4/MED1.

Наконец, хотя все эти объяснения кажутся логичными с механистической точки зрения, необходимо рассмотреть еще одну возможность, которая ставит под сомнение общепринятую догму о том, что дезаминирование 5-меС является основной причиной уменьшения количества динуклеотидов CpG в геноме. Появляется все больше доказательств того, что метилированные CpG не только гиперчувствительны к дезаминированию, но и к различным формам эндогенного и экзогенного генотоксического стресса, который может привести к мутагенным повреждениям, не являющимся субстратом для G:T гликозилаз [19]. Предпочтительный мутагенез на метилированных CpG через пути, которые не включают или не исключительно включают дезаминирование 5-меС, мог бы, таким образом, решить дилемму, почему мутации возникают в этих сайтах, несмотря на присутствие ферментов репарации G:T TDG и MBD4/MED1.

Более детальное исследование активности фермента показало, что TDG обладает широкой субстратной специфичностью, вырезая 3,N4-этиноцитозин [20], тимин-гликоль [21], 5-гидроксицитозин [22], 7,8-дигидро-8-оксоаденин [23], неспаренный U [11] и его C5-модифицированные производные [22]. Напротив, MBD4 обладает узкой субстратной специфичностью, удаляя из ДНК, T, U, 5-фторурацил и 5-гидроксиметилу-

рацил в контексте CpG [24,25]. Единственное исключение, MBD4, распознает неправильные пары G:T и другие повреждения со специфичностью для участков CpG [7,26].

Специфичность к CpG предполагает, что преобладающим биологическим субстратом для hTDG могут быть несовпадения G:T, возникающие при дезаминировании 5-мС, поскольку метилирование цитозина происходит избирательно на сайтах CpG в клетках позвоночных. В связи с тем, что hTDG вырезает тимин, она также должна использовать строгий механизм, чтобы избежать воздействия на огромный (в миллионы раз) избыток неповрежденных пар оснований A:T. Drohat и др. показали, что активность hTDG в 18 000 раз ниже для пар A:T против G:T и резко снижена для других повреждений в контексте ApX против GpX [28]. Однако преимущественная эксцизия оснований в паре с G также требует наличия механизма для минимизации эксцизии C из нормальных пар G:C. Исследования показывают, что специфичность для G:T по сравнению с парами G:C в основном объясняется большей стабильностью связи основание-сахар (N-гликозидная связь) для дезоксицитидина по сравнению с дезокситимидином, а не избирательным распознаванием оснований или неспособностью hTDG перевернуть цитозин в свой активный сайт [22]. В этом же исследовании было продемонстрировано, что фермент TDG связывается с ДНК субстратом в комплексе 2:1: одна субъединица на абазисном сайте (продукционный комплекс), а другая – на неповрежденном сайте (неспецифический комплекс) как продемонстрировано в Рисунке 1.

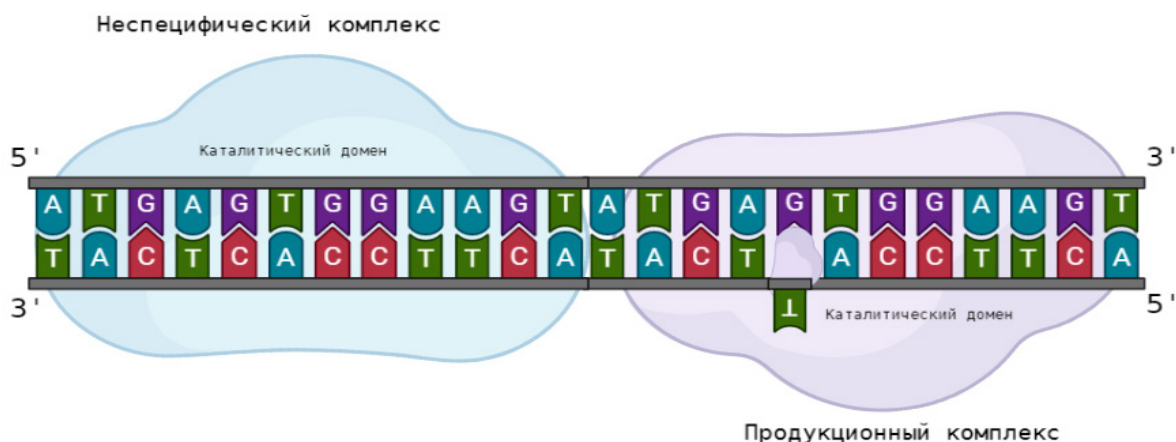


Рисунок 1 – Схематический обзор взаимодействий фермента с ДНК

Роль TDG в aberrантной репарации

Недавно было продемонстрировано, что TDG и MBD4 инициируют aberrантную репарацию путем вырезания Т в паре с поврежденным остатком аденина в дуплексной ДНК [28]. TDG нацелен на неповрежденную нить ДНК и эффективно вырезает Т, противоположный гипоксантину (Нх), 1, N6-этенoadенину (εА), 8-оксоА и сайта AP в контексте последовательности TrG/CpX, где X – модифицированный остаток. MBD4 удаляет только Т из пар с εА, но не с Нх или другими поврежденными остатками аденина. Выделенный каталитический домен TDG (остатки 111-308), лишенный N- и C-хвостов, сохраняя активность удаления урацила, очень слабо удаляет Т из этих субстратов, что позволяет предположить, что N- и C-концевые части TDG необходимы для aberrантной активности. Воссоздание *in vitro* показало, что катализируемая TDG aberrантная эксцизия обычного тимина, противоположного остатку Нх, инициирует репарационный синтез, который использует поврежденный шаблон ДНК, что в свою очередь приводит к мутации Т→С в отсутствие репликации ДНК [28]. Биоинформационный анализ базы данных однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) человека показал, что спектры спонтанных мутаций на островах CpG демонстрируют сильное смещение в сторону TrG, CpA→CpG мутаций, по сравнению с общегеномными спектрами мутаций. Эти преобладающие Т→С мутации в островах CpG позволяют предположить, что катализируемая TDG aberrантная BER может быть вовлечена в стабилизацию и увеличение содержания CG в промоторах, богатых CpG, *in vivo* [28]. Таким образом, при определенных условиях TDG может катализировать зависящее от контекста последовательности aberrантное удаление тимина, что может привести к мутациям TrG, CpA→CpG. В совокупности эти наблюдения позволяют предположить, что в отсутствие эффективной репарации эндогенных окислительно поврежденных ДНК, таких как Нх, εА и 8-оксоА, постмитотические клетки могут накапливать мутации из-за катализируемого TDG/MBD4- aberrантного вырезания обычных оснований ДНК, противоположных поврежденной нити ДНК.

Также было предположено, что TDG может aberrантно вырезать Т спаренный с аристокламовыми аддуктами (dA-AL), генерируемые под воздействием аристокламовой кислоты (AA), которая получила внимание научного сообщества в начале 1990-х годов. Тогда более чем у 100 бельгийских женщин развились хронические за-

болевания почек и уротелиальные карциномы после приема препарата для похудения, содержащего *Aristolochia fangchi* [29]. В почечных и уротелиальных тканях этих пациенток были обнаружены аддукты аристоклама (AL)-ДНК, что подтверждает предшествующее воздействие AA [9,30]. Синдром, первоначально названный нефропатией китайских трав (CHN), позже был переименован в нефропатию аристокламовой кислоты (AAN). AAN характеризуется тубулоинтерстициальным нефритом с уротелиальными карциномами верхних мочевых путей, развивающимися в 50% случаев [31]. Впоследствии во всем мире было зарегистрировано множество случаев AAN. Аристокламовые кислоты активируются клеточными нитроредуктазами [32], образуя реактивные промежуточные продукты, которые ковалентно связываются с ДНК. По этому механизму AA1 и AA2 образуют следующие аддукты ДНК: 7-(дезоксаденозин-N6-ил)аристокламам I (dA-ALI), 7-(дезоксигуанозин-N2-ил) аристокламам I (dG-ALI), 7-(дезоксаденозин-N6-ил) аристокламам II (dA-ALII) и 7-(дезоксигуанозин-N2-ил) аристокламам II (dG-ALII). Аддукты dG и dA блокируют репликацию ДНК и проявляют свойства перекодировки [33-35]. Аддукты dA-AL значительно более мутагенны и/или устойчивы, чем аддукты dG-AL, что отражено в наблюдении, что хроническое воздействие AA на человека приводит преимущественно к трансверсиям А → Т в Т → А [36,37]. Примечательной особенностью dA-AL аддуктов является их устойчивость в тканях-мишенях грызунов и людей [30,36,38,39], что позволяет предположить, что эти аддукты, по крайней мере, частично устойчивы к репарации.

Роль TDG и TET в активном деметилировании ДНК

Метилирование цитозина (5-mC) осуществляется во время эмбрионального развития ДНК-метилтрансферазами 3a/3b *de novo* (DNMT3a/3b), которые катализируют перенос метильной группы с S-аденозилметионина (SAM) на углерод C5 цитозина [40]. 5-mC точно воспроизводится в течение последовательных циклов репликации поддерживающей ДНК-метилтрансферазой 1 (DNMT1) в ассоциации с Убиквитин-подобным кофактором, содержащим PHD (домен гомеопатии растений) и RING пальцевые домены 1 (UHRF1) [41]. Хотя 5-mC долгое время считался относительно стабильной эпигенетической меткой, в ряде исследований было установлено, что метилирование ДНК, как и модификации гистонов, является динамичным [42,43].

У млекопитающих существует два основных механизма участвующих в удалении метки 5-mC: пассивное и активное деметилирование ДНК. При пассивном деметилировании метилированная ДНК разбавляется в течение последовательных циклов репликации за счет деактивации или ядерного исключения поддерживающего DNMT1 или связанного с ним кофактора UHRF. Это очевидно во время эмбрионального развития, когда материнский геном подвергается пассивному деметилированию ДНК путем ядерного исключения специфического для ооцитов UHRF1 [44].

Механизмы, посредством которых TDG опосредует деметилирование ДНК, до конца не изучены, и возможно, что в процесс вовлечены несколько путей. Dalton и др. в экспериментах Co-IP с использованием клеточных линий P19 обнаружили, что TDG образует комплекс с AID и GADD45a, а также что AID взаимодействует с GADD45a независимо от TDG. Также они наблюдали снижение экспрессии AID в клетках с пониженным уровнем TDG, поэтому возможно, что это взаимодействие *in vivo* имеет функциональные последствия для AID и, возможно, TDG регулирует уровни AID или его стабильность [45].

Связанный путь деметилирования, в котором могут участвовать TDG и AID/APOBECs, касается недавно идентифицированного основания ДНК, 5-гидроксиметилцитозина (5-hmC), продукта окисления 5-метилцитозина, образующегося под действием TET-оксидаз (TET1-3) [46]. TET1 был идентифицирован как ген, вовлеченный в t(10;11) (транслокация десять-одиннадцать) при остром миелогенном лейкозе [47]; TET2 часто мутирует при миелодиспластическом синдроме [58]. Белки TET вовлечены в активное деметилирование ДНК, происходящее во взрослом мозге, процесс, который также зависит от деаминаз AID/APOBEC [49]. Таким образом, возможно, что 5hmC дезаминируется до 5-гидроксиметилурацила (5-hmU), создавая несоответствие G:5hmU [49]. TDG обладает сильной гликозилазной активностью в отношении 5-hmU [45,50,51]. Фактически, в то время как две другие гликозилазы эксцизионной репарации оснований, MBD4 и SMUG1, эффективно удаляют несоответствие T и 5hmU, соответственно, TDG является единственной гликозилазой с сильной активностью в отношении обоих дезаминированных оснований [45]. Совсем недавно в других лабораториях был выявлен третий, независимый от деаминаз путь деметилирования, при котором 5-hmC последовательно окисляется

до 5-формилцитозина (5-fC) и 5-карбокситозина (5-caC) оксидазами TET [52-55]. Хотя возможно, что существует условная декарбоксилаза, которая непосредственно превращает 5-caC в цитозин, было показано, что TDG проявляет специфическую гликозилазную активность в отношении 5-fC и 5-caC [52,55]. Фактически, кристаллографические данные свидетельствуют о том, что 5-caC закрепляется в активном сайте TDG благодаря полярным взаимодействиям, участвующим в распознавании 5-карбоксильной молекулы. Благодаря этим эксклюзивным структурным свойствам TDG является первой и единственной гликозилазой, способной избирательно связывать и удалять 5-caC и 5-fC из дуплексной ДНК [56].

Эмбриональная летальность, связанная с инактивацией TDG в мышечной зародышевой линии

Лучшее понимание роли TDG в деметилировании ДНК, эпигенетической регуляции и развитии млекопитающих можно было получить только после того, как три исследовательские группы, включая группы *Primo Schär*, *Yoshihiko Uehara* и *Alfonso Bellacosa* [16,57,58], вывели и охарактеризовали мышью с направленной инактивацией TDG в зародышевой линии.

В процессе создания нокаутных по TDG мышью не наблюдалось рождения живых мышат *Tdg* ^{-/-}. Своевременные спаривания между *Tdg* ^{+/-} мышами показали, что эмбрионы *Tdg null* задерживались в развитии на эмбриональный день (E) 11.5 со сложным фенотипом. Макроскопические аномалии включали кровоизлияния в печень и перикард, гипопластические ветвистые дуги, задержку развития конечностей, заметные телеэнцефалические пузырьки и диффузные геморрагические поражения, а микроскопическое исследование показало специфические дефекты формирования сердца, стеноз дорсальной аорты и аномальное разветвление сосудов внутренних сонных и коронарных артерий [57]. Эмбриональная летальность *Tdg null* эмбрионов была также описана Cortazar и др., удалившими экзоны 6 и 7 [16], и Saito и коллегами, использовавшими таргетный вектор, который заменил части экзонов 8 и 9, соответствующие части домена, необходимого для активности гликозилазы, а также для взаимодействия *in vitro* с транскрипционными факторами RAR α и RXR α [16].

Было отмечено, что некоторые специфические фенотипические особенности *Tdg null* эмбрионов, включая сердечно-сосудистые дефекты, напоминают дефекты развития, ранее

отмеченные у эмбрионов, нулевых по ацетилтрансферазам гистонов p300 и CBP, а также по факторам сигнального пути ретиноевой кислоты, таким как RAR, RXR и Raldh2 [59-62]. Это наблюдение было подтверждено молекулярными анализами, продемонстрировавшими роль TDG в RAR/RXR- и p300-зависимой транскрипции. Таким образом, фенотип летальности, скорее всего, по крайней мере частично, обусловлен отсутствием этой связанной с транскрипцией функции TDG, необходимой для правильного эмбрионального развития.

С другой стороны, *Saito* и коллеги отметили сходство эмбриональной летальности с таковой у мышей с дефицитом GATA3 [58]. Сообщается, что эмбриональная летальность мутантных мышей GATA3 вызвана недостатком дофамина и норадреналина [63], катехоламинов, которые, как подтверждено, необходимы для нормального развития [3-5]. Для дальнейшего изучения этого сходства *Saito* и коллеги обнаружили сниженные уровни дофамина и, особенно, норадреналина у *Tdg null* эмбрионов. Затем они измерили уровни мРНК ферментов биосинтеза катехоламинов, тирозингидроксилазы (ТН, превращающей L-тирозин в L-ДОФА), декарбоксилазы лароматических аминокислот (AADC, декарбоксилирующей L-ДОФА в дофамин) и дофамин-бета-гидроксилазы (DBH, превращающей дофамин в норадреналин). Они сообщили о значительном истощении мРНК DBH в *Tdg null* эмбрионах [58]. Было показано, что GATA3-мутантные эмбрионы с дефицитом норадреналина могут быть спасены путем кормления самок предшественниками норадреналина, такими как D,L трео-3,4 дигидроксибензилсерин (DOPS), который непосредственно превращается в норадреналин под действием AADC [63]. *Saito* и коллеги обнаружили, что DOPS, которым кормили беременных гетерозиготных самок *Tdg*, смог частично спасти *Tdg null* эмбрионов, продлив их выживание до 14,5 день после соития (д.п.с.) [58]. Частичное спасение с помощью DOPS предполагает, что летальность эмбрионов мутанта TDG лишь частично обусловлена снижением уровня норадреналина.

Участие в регуляции транскрипции, посттрансляционной модификации TDG белками CBP/p300, SUMO и PKC

TDG содержит высоко консервативный центральный гликозилазный домен, фланкированный расходящимися амино- и карбокси-концевыми областями [64]. Аминоконцевая область

TDG млекопитающих содержит гидрофильную лизин-богатую область (остатки 70-118), которая ацетируется CREB-связывающим белком (CBP) и p300 (CBP/p300), а карбокси-концевая область модифицируется путем ковалентного присоединения малого убиквитин-подобного модификаторного (SUMO) белка [65]. Аминоконцевая область необходима для неспецифических взаимодействий с ДНК, а также для плотного связывания с абазисными сайтами и обработки неправильных пар G:T [64-67]. Плотное связывание TDG с абазисным сайтом после эксцизии основания предотвращает оборот фермента, тем самым ограничивая эффективность обработки неправильных пар [66].

CBP/p300 и TDG образуют с ДНК *in vitro* троичные комплексы, которые сохраняют способность к эксцизии оснований и ацетилированию гистонов, что позволяет предположить, что привлечение CBP/p300 *in vivo* может способствовать ремоделированию хроматина в месте репарации [12]. Кроме того, TDG стимулирует CBP-зависимую транскрипцию за счет присущей ему SUMO-связывающей активности [12]. Ковалентная конъюгация SUMO с карбокси-концевым остатком лизина эффективно отменяет связывание с ДНК и ассоциацию с CBP, а ацетилирование аминоконцевой области может регулировать взаимодействие с вспомогательными факторами [12,66,67]. Сообщалось, что ацетилирование CBP/p300 влияет на активность ферментов BER (TDG, *Polβ* и эндонуклеаза 1) [12,68,69], что позволяет предположить важную роль CBP/p300 в координации BER.

Исследования *Um* и др. показали, что TDG фосфорилируется в живых клетках [70], а анализ *in silico* выявил несколько предполагаемых сайтов фосфорилирования протеинкиназой C (PKC) a/b/g в аминоконцевом лизин-богатом регуляторном домене. PKC представляет собой семейство из 11 родственных сигнальных белков с различным распределением по тканям и требованиями к кофакторам, которые участвуют в различных клеточных процессах, таких как пролиферация, апоптоз и дифференциация клеток [71]. Сигналирование PKC активируется окислительным стрессом [72], и есть доказательства того, что *Polβ* и белки репарации несоответствий Msh2 и Msh6 регулируются посредством фосфорилированием PKC [73,74]. В своих исследованиях *Mohan* и др. выявили новый механизм перекрестного взаимодействия между белками CBP и PKC, который регулирует функции ДНК репарации неправильно спаренных оснований

ферментом TDG посредством взаимоисключающей ковалентной модификации аминоконцевой области [73].

Примечательно, что ацетилирование CBP/p300 избирательно отменяет процессинг G:T, в то время как фосфорилирование PKC может сохранять эту функцию *in vivo*, предотвращая CBP-опосредованное ацетилирование. Наши результаты показывают, что противоположные регуляторные роли CBP/p300 и PKC могут иметь глубокое влияние на функции TDG в поддержании стабильности CpG и эпигенетической регуляции в организме [75].

Интересно, что и сумоилирование, и ацетилирование под действием CBP/p300 отменяют связывание с ДНК и процессинг неправильных пар G:T. Однако, в отличие от сумоилирования, которое может происходить на ДНК, было показано, что CBP-опосредованное ацетилирование требует отсоединения TDG от ДНК. Более того, ацетилированный TDG (acTDG) сохраняет способность образовывать стабильные комплексы с абазисными сайтами, о чем свидетельствует стабильное связывание, наблюдаемое после обработки неправильных пар G:U. Можно предположить, что ацетилирование способствует ограниченным конформационным изменениям в аминоконцевой части в отличие от более обширных изменений, связанных с сумоилированием. Интересно, что замена лизинов 94, 95 и 98 на аланины не имитировала эффект ацетилирования на связывание ДНК, и этот мутант был устойчив к вытеснению APE1 при связывании с абазисными сайтами. Эти данные свидетельствуют о том, что эти остатки лизина играют важную роль в связывании ДНК и обработке неправильных пар, а эффект ацетилирования не связан с потерей положительного заряда. Были представлены биохимические доказательства взаимодействия CBP/p300 и PKC в модуляции ДНК-репарирующих функций TDG, давая представление о сложной роли посттрансляционных модификаций в регуляции поддержания генома и путей экспрессии генов. Тот факт, что сигнальные пути CBP/p300 и PKC дерегулируются при онкогенезе [76], позволяет предположить, что TDG может быть мишенью нисходящих путей, который может быть функционально скомпрометирован и способствовать геномной нестабильности, связанной с раком. Интересно, что недавно было показано, что TDG эффективно удаляет 5-фторурацил из ДНК и играет роль в клеточном ответе на этот широко используемый химиотерапевтический агент [75]. Исследования

Mohan и др. показывают возможность изменения функций TDG по обработке поврежденных ДНК *in vivo* путем воздействия на сигнальные пути, которые опосредуют ацетилирование и фосфорилирование этого фермента [67].

Роль TDG в развитии раковых заболеваний

Участие TDG в сигнале p53 было одним из самых ранних признаков того, что TDG является потенциальным опухолевым супрессором. Было установлено, что TDG стимулирует сигнал p53, который, в свою очередь, регулирует его собственную экспрессию [77]. Также было установлено, что TDG необходим для экспрессии нескольких генов-супрессоров опухолей *in vitro*, таких как *p15ink4b*, *Hic1*, *Rarb* и *Nr0b2* [78,79]. Несколько исследований условного нокаута TDG, проведенных на мышах, подтвердили роль TDG как опухолевого супрессора *in vivo* [78,80]. В одном из исследований было показано, что кишечнo-специфическая потеря TDG у мышей ArcMin, хорошо изученной модели предрасположенности к опухолям, привела к двукратному увеличению аденом тонкого кишечника [80]. Этот фенотип наблюдался преимущественно у самок мышей, что позволяет предположить, что половой диморфизм может вносить вклад в заболеваемость раком в ответ на потерю TDG. Используя новую модель условного нокаута TDG, содержащую тамоксифен-индуцибельный Cre-ERT2 для временного удаления TDG во всех тканях [78], лаборатория *Torchia и др.* продемонстрировала, что условное удаление TDG у взрослых мышей (*TdgcKO*) приводит к развитию поздней гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и гепатобластомы (ГБ). Интересно отметить, что у мышей *TdgcKO* наблюдался перекоп в заболеваемости ГЦК по половому признаку: у самцов мышей заболеваемость ГЦК увеличивалась примерно в 2 раза по сравнению с самками. Более того, у самцов мышей *TdgcKO* наблюдалось увеличение массы тела и непереносимость глюкозы – общие симптомы, связанные с ожирением и диабетом 2 типа, которые являются основными факторами риска развития ГЦК [81]. Этиологически, потеря гомеостаза ЖК является основным фактором развития ГЦК у мышей и людей [82]. Соответственно, у самцов мышей *TdgcKO* с возрастом увеличивается содержание печеночных и сывороточных желчных кислот (ЖК). Иммуногистохимия печени мышей *TdgcKO* показала, что окрашивание 5-карбоксилцитозина (5-caC) было более интенсивным в субпопуляции клеток в печени. Это свидетельствует о том, что деле-

ция *Tdg* может блокировать активное деметилирование ДНК, что приводит к накоплению 5-саС в печени в дополнение к потере рекрутирования ко-активаторов и связанным с этим транскрипционным последствием. Благодаря высокопроизводительному транскриптомному анализу печени самцов *TdgckO* с последующим анализом обогащения наборов генов, метаболизм был определен как наиболее дисрегуляторный путь у мышей *TdgckO*. Учитывая, что фарнезоидный X-рецептор (FXR) является главным регулятором различных метаболических процессов, включая печеночный БА и метаболизм глюкозы, вполне вероятно, что коактивирующая роль TDG в FXR-сигнализации играет значительную роль в поддержании печеночного гомеостаза. Подобно *TdgckO* мышам, у нокаутных мышей *Fxr* также развивается ГЦК с поздним началом и проявляются симптомы, связанные с ожирением и диабетом 2 типа, включая непереносимость глюкозы и накопление первичных желчных кислот с возрастом [47,77]. Важно отметить, что внутрибрюшинное введение мышам агониста FXR GW4064 вызывало быстрое присоединение комплекса FXR, состоящего из FXR, TDG, лизин-ацетилтрансферазы CBP и TET2 к подмножеству генов-мишеней FXR. В совокупности эти результаты показывают, что потеря *Tdg* приводит к дисрегуляции оси FXR-SHP в печени и что у мышей *TdgckO* наблюдается повышенная распространенность ГЦК на фоне повышенного уровня сывороточного и внутрипеченочного БА. Возникновение рака печени у мышей *TdgckO* было удивительным, учитывая, что экспрессия *Tdg* является повсеместной и резко отличается от нокаутных TET, которые приводят к преимущественно гемопозитическим аномалиям и злокачественным опухолям [47]. В отличие от кроветворной системы, гепатоциты при нормальных физиологических условиях, митотически спящие и в основном находятся в состоянии покоя (G0). Это может обеспечить более благоприятную среду для накопления 5-fC/5-саС в печени *TdgckO* во время активного деметилирования ДНК, которое является репликационно-независимым процессом.

В отличие от его опухолеподавляющих свойств, два исследования показали, что TDG может способствовать опухолевому генезу и может быть потенциальной мишенью для терапии рака. Первое исследование показало, что TDG сверхэкспрессируется в подгруппе пациентов с колоректальным раком (КРР)[80]. TDG действует как позитивный регулятор сигнализации WNT, функционируя в качестве адаптерного

белка для транскрипционного фактора TCF4 и рекрутируя CBP/300. Более того, стабильная трансфекция TDG shRNA в несколько клеточных линий CRC подавляла рост клеток. Важно отметить, что стабильный нокаунт *Tdg* снижает способность клеток CRC образовывать опухоли в ксенотрансплантационных анализах, что позволяет предположить, что TDG необходим для пролиферации клеток CRC *in vivo*. Недавно на модели клеточной линии меланомы было показано, что инактивация TDG вызывает остановку клеточного цикла и старение, а также увеличение метилирования ДНК в подмножестве CpG-сайтов[48]. Кроме того, было показано, что нокаунт *Tdg* подавляет образование опухолей клеточных линий меланомы в ксенотрансплантационных моделях, что позволяет предположить, что активность TDG является критической для возникновения и/или прогрессии опухоли. Используя высокопроизводительный скрининговый анализ, зависящий от каталитической активности TDG, авторы определили ингибиторы TDG первого поколения, которые снижали жизнеспособность и клоногенную способность линий меланомы.

На сегодняшний день гомозиготные мутации у больных раком не выявлены. Гетерозиготная миссенс-мутация в *Tdg*, связанная со снижением уровня белка TDG, была выявлена при раке прямой кишки [50]. У людей несколько однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) в гене *Tdg* были связаны с повышенным риском развития рака. Например, SNP rs4135054 связан с плоскоклеточной карциномой пищевода (ESCC) [51]. Кроме того, несинонимичный кодирующий SNP rs2888805 (мутация V367M) и интронный SNP rs4135150 связаны с повышенным риском развития немеланомного рака кожи (NMSC) и других видов рака [52]. В более позднем исследовании было установлено, что два других SNP (rs4135113 и rs1866074) связаны с повышенным риском развития колоректального рака [53]. Генотип AA SNP rs4135113 увеличивал риск развития рака толстой кишки более чем в 3,6 раза, тогда как минорный аллель A увеличивал риск в 1,6 раза. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что TDG обладает как опухолеподавляющими и онкогенными свойствами в зависимости от типа рака.

Заключение

TDG выполняет ключевые функции в репарации ДНК, деметилировании ДНК и в качестве коактиватора транскрипции. Эти функции пере-

кряваются в регуляции генов через ассоциации с различными взаимодействующими партнерами. Также было продемонстрировано, что TDG обладает аберрантной активностью, которое может приводить к мутациям в определенных контекстах последовательности ДНК. Недавние исследования условного нокаута *Tdg* продемонстрировали роль TDG как опухолевого супрессора *in vivo* и как промотора опухоли в некоторых контекстах, подчеркивая важность роли TDG в поддержании нормального клеточного гомеостаза. Все эти наблюдения говорят о том, что относительная важность TDG в различных

клеточных процессах, описанных выше, будет определена, и эти знания, в паре с использованием систем животных для воссоздания физиопатологических механизмов и моделирования заболеваний человека, позволят выявить пути лечения заболеваний, связанных с функциональной значимостью TDG.

Финансирование

Эта работа была профинансирована Министерством образования и науки Республики Казахстан, грант №AP13067762.

Литература

1. Bird A. DNA Methylation Patterns and Epigenetic Memory. // *Genes Dev.* – 2002. – Vol. 16. – P. 6–21.
2. Bird A., Taggart M., Frommer M., Miller O.J., Macleod D. A. Fraction of the Mouse Genome That Is Derived from Islands of Nonmethylated, CpG-Rich DNA // *Cell* – 1985. – Vol. 40. – P. 91–99.
3. Akan P., Deloukas P. DNA Sequence and Structural Properties as Predictors of Human and Mouse Promoters // *Gene* – 2008. – Vol. 410. – P.165–176.
4. Deaton A.M., Bird A. CpG Islands, and the Regulation of Transcription. // *Genes Dev.* – 2011. – Vol. 25. – P.1010–1022.
5. Bird A.P. DNA methylation and the frequency of CpG in animal DNA. // *Nucleic Acids Res.*, – 1980. – Vol. 8. – P. 1499–1504.
6. Neddermann P., Jiricny J. The purification of a mismatch-specific thymine-DNA glycosylase from HeLa cells // *J Biol Chem.* – 1993. – Vol. 268. – P. 21218–21224.
7. Hendrich B., Hardeland U., Ng H. H., Jiricny J., Bird A. The thymine glycosylase MBD4 can bind to the product of deamination at methylated CpG sites // *Nature*, – 1999. – Vol. 401. – P. 301–304.
8. Hitomi K., Iwai S. and Tainer J.A. The intricate structural chemistry of base excision repair machinery: implications for DNA damage recognition, removal, and repair. // *DNA Repair (Amst)*, – 2007. – Vol. 6. – P. 410–428.
9. Krokan H.E. and Bjoras M. Base excision repair. *Cold Spring Harb. Perspect. // Biol.*, – 2013. – Vol.5, No 4. a012583.
10. Hardeland U., Bentele M., Jiricny J., Schar P. The versatile thymine DNA-glycosylase: a comparative characterization of the human, *Drosophila* and fission yeast orthologs // *Nucleic Acids Res.* – 2003. – Vol. 31. – P. 2261–2271.
11. Scharer O.D., Kawate T., Gallinari P., Jiricny J., Verdine G.L. Investigation of the mechanisms of DNA binding of the human G/T glycosylase using designed inhibitors. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1997. – Vol. 94. – P. 4878–4883.
12. Tini M., Benecke A., Um S.J., Torchia J., Evans R.M. and Chambon P. Association of CBP/p300 acetylase and thymine DNA glycosylase links DNA repair and transcription. // *Mol. Cell.* – 2002. – Vol. 9. – P.265–277.
13. Kalkhoven E. CBP and p300: HATs for different occasions, // *Biochem. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 68. – P.1145–1155.
14. Bellacosa A. Role of MED1 (MBD4) gene in DNA repair and human cancer, // *J. Cell Physiol.*, – 2001. – Vol. 187. – P.137–144.
15. Millar C.B., Guy J., Sansom O.J., Selfridge J., MacDougall E., Hendrich B., Keightley P.D., Bishop S.M., Clarke A.R., Bird A. Enhanced CpG mutability and tumorigenesis in MBD4-deficient mice // *Science*, – 2002. – Vol. 297. – P. 403–405
16. Cortazar D., Kunz C., Saito Y., Steinacher R., Schar P. The enigmatic thymine DNA glycosylase // *DNA Repair (Amsterdam)*. – 2007. – Vol.6. – P.489–504.
17. Greenblatt M.S., Bennett W.P., Hollstein M., Harris C.C. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis // *Cancer Res.*, – 1994. – Vol. 54. – P. 4855–4878.
18. Kondo E., Gu Z., Horii A., Fukushige S. The thymine DNA glycosylase MBD4 represses transcription and is associated with methylated p16(INK4a) and hMLH1 genes // *Mol. Cell. Biol.*, – 2005. – Vol.25. – P. 4388–4396.
19. Pfeifer G.P. Mutagenesis at methylated CpG sequences // *Curr. Top/ Microbiol. Immunol.* – 2006. – Vol. 301. – P. 259–281.
20. Hang B., Medina M., Fraenkel-Conrat H., Singer B. A 55-kDa protein isolated from human cells shows DNA glycosylase activity toward 3, N4-ethenocytosine and the G/T mismatch // *Proc Natl Acad Sci U S A*, – 1998. – Vol. 95. – P.13561–13566.
21. Yoon J. H., Iwai S., O'Connor T. R., Pfeifer G. P. Human thymine DNA glycosylase (TDG) and methyl-CpG-binding protein 4 (MBD4) excise thymine glycol (Tg) from a Tg:G mispair // *Nucleic Acids Res.*, – 2003. – Vol. 31. – P.5399–5404.
22. Bennett M. T., Rodgers M. T., Hebert A. S., Ruslander L. E., Eisele L., Drohat A.C. Specificity of human thymine DNA glycosylase depends on N-glycosidic bond stability // *J. Am. Chem. Soc.*, – 2006. – Vol. 128. – P.12510–12519.
23. Talhaoui I., Couve S., Ishchenko A. A., Kunz C., Schar P., Saparbaev M. 7,8-Dihydro-8-oxoadenine, a highly mutagenic adduct, is repaired by *Escherichia coli* and human mismatch-specific uracil/thymine-DNA glycosylases // *Nucleic Acids Res.*, – 2013.

24. Petronzelli F., Riccio A., Markham G. D., Seeholzer S. H., Genuardi M., Karbowski M., Yeung A. T., Matsumoto Y., Bellocosa A. Investigation of the substrate spectrum of the human mismatch-specific DNA N-glycosylase MED1 (MBD4): fundamental role of the catalytic domain // *J. Cell. Physiol.*, – 2000. – Vol. 185. – P. 473–480.
25. Hashimoto H., Liu Y., Upadhyay A. K., Chang Y., Howerton S. B., Vertino P. M., Zhang X., Cheng X. Recognition and potential mechanisms for replication and erasure of cytosine hydroxymethylation // *Nucleic Acids Res.*, – 2012
26. Wu P., et al. Mismatch repair in methylated DNA. Structure and activity of the mismatch-specific thymine glycosylase domain of methyl-CpG-binding protein MBD4 // *J Biol Chem.*, – 2003. – Vol. 278. – P.5285–5291
27. Morgan M.T., Bennett M.T., Drohat A.C. Excision of 5-halogenated uracils by human thymine DNA glycosylase: Robust activity for DNA contexts other than CpG // *J Biol Chem.*, – 2007. – Vol. 282. – P.27578–27586.
28. Maiti A., Morgan M.T., Pozharski E., Drohat A.C. Crystal structure of human thymine DNA glycosylase bound to DNA elucidates sequence-specific mismatch recognition // *PNAS*, – 2008. – Vol. 105. – P. 8890–8895
29. Talhaoui I., Couve S., Gros L., Ishchenko A.A., Matkarimov B., Saparbaev M.K. Aberrant repair initiated by mismatch-specific thymine-DNA glycosylases provide a mechanism for the mutational bias observed in CpG islands // *Nucleic Acids Res.*, – 2014. – Vol. 42. – P. 6300–6313.
30. Talhaoui I., Matkarimov B.T., Tchenio T., Zharkov D.O., Saparbaev M., Aberrant base excision repair pathway of oxidatively damaged DNA: Implications for degenerative diseases // *Free Rad. Bio. & Medicine*, – 2017. – Vol. 107. – P. 266–277
31. Vanherweghem J.L., Debelle F., Muniz Martinez M.C. and Nortier J. In: De Broe M.E., Porter G.A., Bennet W.M. and Verpooten G.A. (eds) // *Clinical Nephrotoxins*, 2nd edn. Dordrecht Kluwer, Netherlands, – 2003. – P. 588–601.
32. Nortier J.L., Martinez M.C., Schmeiser H.H., Arlt V.M., Bieler C.A., Petein M., Depierreux M.F., De Pauw L., Abramowicz D., Vereerstraeten P., et al. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*) // *N. Engl. J. Med.*, – 2000. – Vol. 42, No 3. – P.1686–1692.
33. Grollman A.P., Scarborough J. and Jelakovic B. In: Fishbein J.C // *Advances in Molecular Toxicology*, Vol. 3. The Netherlands, Elsevier, Amsterdam, – 2009. – P. 211–222.
34. Stiborova M., Frei E., Sopko B., Sopkova K., Markova V., Lankova M., Kumstyrova T., Wiessler M. and Schmeiser H.H. Human cytosolic enzymes involved in the metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid: evidence for reductive activation by human NAD(P)H:quinone oxidoreductase // *Carcinogenesis*, – 2003.– Vol. 24. – P.1695–1703.
35. Schmeiser H.H., Scherf H.R. and Wiessler M. Activating mutations at codon 61 of the c-Ha-ras gene in thin-tissue sections of tumors induced by aristolochic acid in rats and mice // *Cancer Lett.* , – 1991. – Vol. 59. – P.139–143.
36. Arlt V.M., Stiborova M. and Schmeiser H.H. Aristolochic acid as a probable human cancer hazard in herbal remedies: a review // *Mutagenesis*, – 2002. – Vol. 17. – P.265–277.
37. Attaluri S., Bonala R.R., Yang I.Y., Lukin M.A., Wen Y., Grollman A.P., Moriya M., Iden C.R. and Johnson, F. DNA adducts of aristolochic acid II: total synthesis and site-specific mutagenesis studies in mammalian cells // *Nucleic Acids Res.*, – 2010. – Vol. 38. – P.339–352.
38. Grollman A.P., Shibutani S., Moriya M., Miller F., Wu L., Moll U., Suzuki N., Fernandes A., Rosenquist T., Medverec Z. et al. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, – 2007. – Vol. 104. – P.12129–12134.
39. Moriya M., Slade N., Brdar B., Medverec Z., Tomic K., Jelakovic B., Wu L., Truong S., Fernandes A. and Grollman A.P. TP53 mutational signature for aristolochic acid: an environmental carcinogen // *Int. J. Cancer*. – 2011. – Vol. 129. – P. 1532–1536.
40. Fernando R.C., Schmeiser H.H., Scherf H.R. and Wiessler M. Formation and persistence of specific purine DNA adducts by 32P-postlabelling in target and non-target organs of rats treated with aristolochic acid I // *IARC Sci. Publ.* – 1993. – P.167–171.
41. Jelakovic B., Karanovic S., Vukovic L., Miller F., Edwards K., Nikolic J., Tomic K., Slade N., Brdar B., Turesky R. et al. Aristolactam-DNA adducts in the renal cortex: biomarkers of environmental exposure to aristolochic acid // *Kidney Int.* – 2011. – Vol. 81, N°6. – P. 559–567.
42. Okano M., Bell D.W., Haber D.A., Li E. DNA Methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b Are Essential for De Novo Methylation and Mammalian Development // *Cell*. – 1999. – Vol. 99. – P. 247–257.
43. Bostick M., Kim J.K., Estève P.-O., Clark A., Pradhan S., Jacobsen S.E. UHRF1 Plays a Role in Maintaining DNA Methylation in Mammalian Cells // *Science*. – 2007. – Vol. 317. – P.1760–1764.
44. Bhutani N., Burns D.M., Blau H.M. DNA Demethylation Dynamics // *Cell*. – 2011. – Vol. 146. –P. 866–872.
45. Kohli R.M., Zhang Y. TET Enzymes, TDG and the Dynamics of DNA Demethylation // *Nature*. – 2013. – Vol. 502. – P.472–479.
46. Messerschmidt D.M., Knowles B.B., Solter D. DNA Methylation Dynamics during Epigenetic Reprogramming in the Germline and Preimplantation Embryos // *Genes Dev.* – 2014. – Vol. 28. – P.812–828.
47. Rai K., Huggins I.J., James S.R., et al. DNA demethylation in zebrafish involves the coupling of adeaminase, a glycosylase, and gadd45 // *Cell*. – 2008. – Vol. 35. – P. 1201–1212.
48. Popov A.V., Grin I.R., Dvornikova A.P., Matkarimov B.T., Groisman R., Saparbaev M., Zharkov D.O. Reading Targeted DNA Damage in the Active Demethylation Pathway: Role of Accessory Domains of Eukaryotic AP Endonucleases and Thymine-DNA Glycosylases // *JMB*. – 2019. – Vol. 432. – P.1747–1768
49. Neri F., Incarnato D., Krepelova A., Rapelli S., Anselmi F., Parlato C., Medana C., Dal Bello F., Oliviero S. Single-Base Resolution Analysis of 5-Formyl and 5-Carboxyl Cytosine Reveals Promoter DNA Methylation Dynamics // *Cell Rep.* – 2015. –10. P.674–683.
50. Yang F., Huang X., Yi T., Yen Y., Moore D.D., Huang W. Spontaneous Development of Liver Tumors in the Absence of the Bile Acid Receptor Farnesoid X Receptor // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 863–867.

51. Fromme J.C., Verdine G.L. Base Excision Repair // *Adv. Protein Chem.* – 2004. – Vol. 69. – P.1–41.
52. Vasovcak P., Krepelova A., Menigatti M., Puchmajerova A., Skapa P., Augustinakova A., Amann G., Wernstedt A., Jiricny J., Marra G., et al. Unique Mutational Profile Associated with a Loss of TDG Expression in the Rectal Cancer of a Patient with a Constitutional PMS2 Deficiency // *DNA Repair.* – 2012. – Vol. 11. – P.616–623.
53. Li W. Q., Hu N., Hyland P.L., Gao Y., Wang Z. M., Yu K., Su H., Wang, C.-Y., Wang L.-M., Chanock, S.J., et al. Genetic Variants in DNA Repair Pathway Genes and Risk of Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Gastric Adenocarcinoma in a Chinese Population // *Carcinogenesis.* – 2013. – Vol. 34. – P.1536–1542.
54. Ruczinski I., Jorgensen T.J., Shugart Y.Y., Schaad Y.B., Kessing B., Hoffman-Bolton J., Helzlsouer K.J., Kao W.H.L., Wheelless L., Francis L., et al. A Population-Based Study of DNA Repair Gene Variants in Relation to Non-Melanoma Skin Cancer as a Marker of a Cancer-Prone Phenotype // *Carcinogenesis.* – 2012. – Vol. 33. – P.1692–1698.
55. Reddy Parine N., Alanazi I.O., Shaik J.P., Aldhaian S., Aljebreen A.M., Alharbi O., Almadi M.A., Azzam, N.A., Alanazi M. TDG Gene Polymorphisms and Their Possible Association with Colorectal Cancer: A Case Control Study // *J. Oncol.* – 2019. – P.7091815.
56. Bhattacharyya S., Yu Y., Suzuki M., Campbell N., Mazdo J., Vasanthakumar A., Bhagat T.D., Nischal S., Christopheit M., Parekh S., et al. Genome-Wide Hydroxymethylation Tested Using the HELP-GT Assay Shows Redistribution in Cancer. *Nucleic Acids Res.* – 2013. – Vol. 41. – e157.
57. Chen K., Zhang J., Guo Z., Ma Q., Xu Z., Zhou Y., Xu Z., Li Z., Liu Y., Ye X., et al. Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is Linked to Gene Body Hypermethylation in Kidney Cancer // *Cell Res.* – 2016. – Vol. 26. – P.103–118.
58. Kudo Y., Tateishi K., Yamamoto K., Yamamoto S., Asaoka Y., Ijichi H., Nagae G., Yoshida H., Aburatani H., Koike K. Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is Accompanied with Malignant Cellular Transformation // *Cancer Sci.* – 2012. – Vol.103. –P. 670–676.
59. Cortellino S., Xu J., Sannai M., et al. Thymine DNA glycosylase is essential for active DNA demethylation by linked deamination-base excision repair // *Cell.* – 2011. – Vol. 146. –P.67–79.
60. Saito Y., Ono T., Takeda N., et al. Embryonic lethality in mice lacking mismatch-specific thymine DNA glycosylase is partially prevented by DOPS, a precursor of noradrenaline // *J Exp Med.* – 2012. – Vol. 226. – P.75–83.
61. Mark M., Ghyselinc N.B., Chambon P. Function of retinoid nuclear receptors: lessons from genetic and pharmacological dissections of the retinoic acid signaling pathway during mouse embryogenesis // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2006. – Vol. 46. – P.451–480.
62. Tanaka Y., Naruse I., Hongo T., et al. Extensive brain hemorrhage and embryonic lethality in a mouse null mutant of CREB-binding protein // *Mech Dev.* – 2000. – Vol. 95. – P.133–145.
63. Mancuso P., Tricarico R., Bhattacharjee V., Cosentino L., Kadariya Y., Jelinek J., Nicolas E., Einarson M., Beechary N., Devarajan K., et al. Thymine DNA Glycosylase as a Novel Target for Melanoma // *Oncogene.* – 2019. – Vol. 38. – P. 3710–3728.
64. Vermot J., Niederreither K., Garnier J.M., et al. Decreased embryonic retinoic acid synthesis results in a DiGeorge syndrome phenotype in newborn mice // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2003. – Vol.100. – P.1763– 1768.
65. Yao T.P., Oh S.P., Fuchs M., et al. Gene dosage-dependent embryonic development and proliferation defects in mice lacking the transcriptional integrator p300 // *Cell.* –1998. – Vol. 93. – P.361–372.
66. Lim K.C., Lakshmanan G., Crawford S.E., et al. Gata3 loss leads to embryonic lethality due to noradrenaline deficiency of the sympathetic nervous system // *Nat Genet.* – 2000. – Vol. 25. – P.209–212.
67. Gallinari P., Jiricny J. A new class of uracil-DNA glycosylases related to human thymine-DNA glycosylase // *Nature.* – 1996. – Vol. 383. – P.735–738.
68. Hardeland U., Steinacher R., Jiricny J., Schar P. Modification of the human thymine–DNA glycosylase by ubiquitin-like proteins facilitates enzymatic turnover // *EMBO J.* – 2002. – Vol. 21. – P.1456–1464.
69. Steinacher R., Schar P. Functionality of human thymine DNA glycosylase requires SUMO-Regulated changes in protein conformation // *Curr Biol.* – 2005. – Vol. 15. – P.616–623.
70. Mohan R.D., Rao A., Gagliardi J., Tini M. SUMO-1-dependent allosteric regulation of thymine DNA glycosylase alters subnuclear localization and CBP/p300 recruitment // *Mol. Cell. Biol.* –2007. – Vol. 27. – P. 229–243.
71. Hasan S., El-Andaloussi N., Hardeland U., Hassa P.O., Burki C., Imhof R., Schar P., Hottiger M.O. Acetylation regulates the DNA end-trimming activity of DNA polymerase beta // *Mol. Cell.* – 2002. – Vol. 10. –P.1213–1222.
72. Hasan S., Stucki M., Hassa P.O., Imhof R., Gehrig P., Hunziker P., Hubscher U.,Hottiger M.O. Regulation of human flap endonuclease-1 activity by acetylation through the transcriptional coactivator p300 // *Mol. Cell.* – 2001. – Vol. 7. – P.1221–1231.
73. Um S., Harbers M., Benecke A., Pierrat B., Losson R., Chambon P. Retinoic acid receptors interact physically and functionally with the T:G mismatch-specific thymine-DNA glycosylase // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P.20728–20736.
74. Griner E.M., Kazanietz M.G. Protein kinase C and other diacylglycerol effectors in cancer // *Nat. Rev. Cancer.* – 2007. – Vol. 7. – P.281–294.
75. Gopalakrishna R. and Jaken S. Protein kinase C signaling and oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28. – P.1349–1361.
76. Christmann M., Tomicic M.T., Kaina B. Phosphorylation of mismatch repair proteins MSH2 and MSH6 affecting MutSalpha mismatch-binding activity // *Nucleic Acids Res.* – 2002. – Vol. 30. – P.1959–1966.
77. Tokui T., Inagaki M., Nishizawa K., Yatani R., Kusagawa M., Ajiro K., Nishimoto Y., Date T., Matsukage A. Inactivation of DNA polymerase beta by in vitro phosphorylation with protein kinase C // *J. Biol. Chem.*– 1991. – Vol. 266. – P.10820–10824.
78. Mohan R.D., Litchfield D.W., Torchia J., Tini M. Opposing regulatory roles of phosphorylation and acetylation in DNA mispair processing by thymine DNA glycosylase // *Nucleic Acids Res.* – 2010. – Vol. 38, No 4. – P.1135–1148.

79. Kim E.-J., Um S.-J. Thymine–DNA Glycosylase Interacts with and Functions as a Coactivator of P53 Family Proteins // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol. 377. – P. 838–842.
80. Hassan H.M., Isovich M., Kolendowski B., Bauer-Maison N., Onabote O., Cecchini M., Haig A., Maleki Vareki S., Underhill T.M., Torchia J. Loss of Thymine DNA Glycosylase Causes Dysregulation of Bile Acid Homeostasis and Hepatocellular Carcinoma // *Cell Rep.* – 2020. – Vol. 31. P.107475.
81. Thillainadesan G., Chitilian J.M., Isovich M., Ablack J.N.G., Mymryk J.S., Tini M., Torchia J. TGF- β -Dependent Active Demethylation and Expression of the P15ink4b Tumor Suppressor Are Impaired by the ZNF217 CoREST // *Complex. Mol. Cell.* – 2012. – Vol. 46. P. 636–649.
82. Xu J., Cortellino S., Tricarico R., Chang W.C., Scher G., Devarajan K., Slifker M., Moore R., Bassi M.R., Caretti E., et al. Thymine DNA Glycosylase (TDG) Is Involved in the Pathogenesis of Intestinal Tumors with Reduced APC Expression // *Oncotarget*, – 2017. – Vol. 8. – P.89988–89997.
83. Sanyal A.J., Yoon S.K., Lencioni R. The Etiology of Hepatocellular Carcinoma and Consequences for Treatment // *Oncologist*, – 2010. – Vol.15. – P.14–22.
84. Xu X., Yu T., Shi J., Chen X., Zhang W., Lin T., Liu Z., Wang Y., Zeng Z., Wang C., et al. Thymine DNA Glycosylase Is a Positive Regulator of Wnt Signaling in Colorectal Cancer // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289. – P. 8881–8890.

References

1. Akan P., Deloukas P. (2008) DNA Sequence and Structural Properties as Predictors of Human and Mouse Promoters. *Gene*, vol. 410, pp. 165–176.
2. Arlt V.M., Stiborova M. and Schmeiser H.H. (2002) Aristolochic acid as a probable human cancer hazard in herbal remedies: a review. *Mutagenesis*, vol. 17, pp. 265–277.
3. Attaluri S., Bonala R.R., Yang I.Y., Lukin M.A., Wen Y., Grollman A.P., Moriya M., Iden C.R. and Johnson, F. (2010) DNA adducts of aristolochic acid II: total synthesis and site-specific mutagenesis studies in mammalian cells. *Nucleic Acids Res.*, vol. 38, pp. 339–352.
4. Bellacosa A., (2001) Role of MED1 (MBD4) gene in DNA repair and human cancer. *J. Cell Physiol.*, vol. 187, pp. 137–144.
5. Bennett M. T., Rodgers M. T., Hebert A. S., Ruslander L. E., Eisele L., Drohat A. C. (2006) Specificity of human thymine DNA glycosylase depends on N-glycosidic bond stability. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, pp. 12510–12519.
6. Bhattacharyya S., Yu Y., Suzuki M., Campbell N., Mazdo J., Vasanthakumar A., Bhagat T.D., Nischal S., Christopheit M., Parekh S., et al. (2013) Genome-Wide Hydroxymethylation Tested Using the HELP-GT Assay Shows Redistribution in Cancer. *Nucleic Acids Res.*, vol. 41. pp. 157.
7. Bhutani N., Burns D.M., Blau H.M. (2011) DNA Demethylation Dynamics. *Cell*. vol.146. pp. 866–872.
8. Bird A. (2002) DNA Methylation Patterns and Epigenetic Memory. *Genes Dev.*, vol.16, pp. 6–21.
9. Bird A., Taggart M., Frommer M., Miller O.J., Macleod D. A. (1985) Fraction of the Mouse Genome That Is Derived from Islands of Nonmethylated, CpG-Rich DNA. *Cell*, vol.40, pp. 91–99.
10. Bird A.P. (1980) DNA methylation and the frequency of CpG in animal DNA. *Nucleic Acids Res.*, vol. 8, pp. 1499–1504.
11. Bostick M., Kim J.K., Estève P.O., Clark A., Pradhan S., Jacobsen S.E. (2007) UHRF1 Plays a Role in Maintaining DNA Methylation in Mammalian Cells. *Science*, vol. 317. pp. 1760–1764.
12. Chen K., Zhang J., Guo Z., Ma Q., Xu Z., Zhou Y., Xu Z., Li Z., Liu Y., Ye X., et al. (2016) Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is Linked to Gene Body Hypermethylation in Kidney Cancer. *Cell Res.*, vol. 26, pp.103–118.
13. Christmann M., Tomicic M.T. and Kaina B. (2002) Phosphorylation of mismatch repair proteins MSH2 and MSH6 affecting MutS α mismatch-binding activity. *Nucleic Acids Res.*, vol. 30. pp.1959–1966.
14. Cortazar D., Kunz C., Saito Y., Steinacher R., Schar P. (2007) The enigmatic thymine DNA glycosylase. *DNA Repair (Amsterdam)*, vol. 6, pp. 489–504.
15. Cortellino S, Xu J, Sannai M, et al. (2011) Thymine DNA glycosylase is essential for active DNA demethylation by linked deamination-base excision repair. *Cell*, vol. 146, pp. 67–79.
16. Deaton A.M.; Bird A. (2011) CpG Islands, and the Regulation of Transcription. *Genes Dev.*, vol. 25, pp. 1010–1022.
17. Fernando R.C., Schmeiser H.H., Scherf H.R. and Wiessler M. (1993) Formation and persistence of specific purine DNA adducts by 32P-postlabelling in target and non-target organs of rats treated with aristolochic acid I. *IARC Sci. Publ.*, pp. 167–171.
18. Fromme J.C.; Verdine G.L. (2004) Base Excision Repair. *Adv. Protein Chem.* vol. 69, pp.1–41.
19. Gallinari P., Jiricny J. (1996) A new class of uracil-DNA glycosylases related to human thymine-DNA glycosylase. *Nature*, vol. 383, pp. 735–738.
20. Gopalakrishna R. and Jaken S. (2000) Protein kinase C signaling and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 28, pp. 1349–1361.
21. Greenblatt M.S., Bennett W.P., Hollstein M., Harris C.C. (1994) Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.*, vol. 54, pp. 4855–4878.
22. Griner E.M. and Kazanietz M.G. (2007) Protein kinase C and other diacylglycerol effectors in cancer. *Nat. Rev. Cancer*, vol. 7, pp. 281–294.
23. Grollman A.P., Scarborough J. and Jelakovic B. In: Fishbein J.C. (2009) Advances in Molecular Toxicology. *The Netherlands, Elsevier, Amsterdam*, vol. 3. pp. 211–222.
24. Grollman A.P., Shibutani S., Moriya M., Miller F., Wu L., Moll U., Suzuki N., Fernandes A., Rosenquist T., Medverec Z. et al. (2007) Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, vol. 104, pp. 12129–12134.

25. Hang B., Medina M., Fraenkel-Conrat H., Singer B., (1998) A 55-kDa protein isolated from human cells shows DNA glycosylase activity toward 3, N4-ethenocytosine and the G/T mismatch. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 95, pp.13561-13566.
26. Hardeland U., Bentele M., Jiricny J., Schar P. (2003) The versatile thymine DNA-glycosylase: a comparative characterization of the human, Drosophila and fission yeast orthologs. *Nucleic Acids Res.*, vol. 31, pp. 2261-2271.
27. Hardeland U., Steinacher R., Jiricny J., Schar P., (2002) Modification of the human thymine-DNA glycosylase by ubiquitin-like proteins facilitates enzymatic turnover. *EMBO J*, vol. 21, pp.1456-1464.
28. Hasan S., El-Andaloussi N., Hardeland U., Hassa P.O., Burki C., Imhof R., Schar P. and Hottiger M.O. (2002) Acetylation regulates the DNA end-trimming activity of DNA polymerase beta. *Mol. Cell*, vol. 10, pp.1213-1222.
29. Hasan S., Stucki M., Hassa P.O., Imhof R., Gehrig P., Hunziker P., Hubscher U. and Hottiger M.O. (2001) Regulation of human flap endonuclease-1 activity by acetylation through the transcriptional coactivator p300. *Mol. Cell*, vol. 7, pp. 1221-1231.
30. Hashimoto H., Liu Y., Upadhyay A. K., Chang Y., Howerton S. B., Vertino P. M., Zhang X., Cheng X. (2012) Recognition and potential mechanisms for replication and erasure of cytosine hydroxymethylation. *Nucleic Acids Res.*, vol. 40, no 11, pp. 4841-9.
31. Hassan H.M.; Isovici M.; Kolendowski B.; Bauer-Maison N.; Onabote O.; Cecchini M.; Haig A.; Maleki Vareki S.; Underhill T.M.; Torchia J. (2020) Loss of Thymine DNA Glycosylase Causes Dysregulation of Bile Acid Homeostasis and Hepatocellular Carcinoma. *Cell Rep.*, vol. 31, pp.107475.
32. Hendrich B., Hardeland U., Ng H. H., Jiricny J., Bird A. (1999) The thymine glycosylase MBD4 can bind to the product of deamination at methylated CpG sites. *Nature*, vol. 401, pp. 301-304.
33. Hitomi K., Iwai S. and Tainer J.A. (2007) The intricate structural chemistry of base excision repair machinery: implications for DNA damage recognition, removal, and repair. *DNA Repair (Amst)*, vol. 6, pp. 410-428.
34. Jelakovic B., Karanovic S., Vukovic L., Miller F., Edwards K., Nikolic J., Tomic K., Slade N., Brdar B., Turesky R. et al. (2011) Aristolactam-DNA adducts in the renal cortex: biomarkers of environmental exposure to aristolochic acid. *Kidney Int. (in press)*
35. Kalkhoven E., (2004) CBP and p300: HATs for different occasions. *Biochem. Pharmacol.*, vol. 68, pp.1145-1155.
36. Kim E.J., Um S.J. (2008) Thymine-DNA Glycosylase Interacts with and Functions as a Coactivator of P53 Family Proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* vol. 377, pp. 838-842.
37. Kohli R.M., Zhang Y. (2013) TET Enzymes, TDG and the Dynamics of DNA Demethylation. *Nature*, vol. 502, pp. 472-479.
38. Kondo E., Gu Z., Horii A., Fukushige S., (2005) The thymine DNA glycosylase MBD4 represses transcription and is associated with methylated p16(INK4a) and hMLH1 genes. *Mol. Cell. Biol.*, vol. 25, pp. 4388-4396.
39. Krokan H.E. and Bjoras M. (2013) Base excision repair. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 5, pp. 012583.
40. Kudo Y., Tateishi K., Yamamoto K., Yamamoto S., Asaoka Y., Ijichi H., Nagae G., Yoshida H., Aburatani H., Koike K. (2012) Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is Accompanied with Malignant Cellular Transformation. *Cancer Sci.*, vol. 103, pp. 670-676.
41. Li W.Q., Hu N., Hyland P.L., Gao Y., Wang Z.M., Yu K., Su H., Wang C.Y., Wang L.M., Chanock S.J., et al. (2013) Genetic Variants in DNA Repair Pathway Genes and Risk of Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Gastric Adenocarcinoma in a Chinese Population. *Carcinogenesis*, vol. 34, pp.1536-1542.
42. Lim K.C., Lakshmanan G., Crawford S.E., et al. (2000) Gata3 loss leads to embryonic lethality due to noradrenaline deficiency of the sympathetic nervous system. *Nat Genet.*, vol. 25, pp. 209-212.
43. Maiti A., Morgan M.T., Pozharski E., Drohat A.C. (2008) Crystal structure of human thymine DNA glycosylase bound to DNA elucidates sequence-specific mismatch recognition. *PNAS*, vol. 105, pp. 8890-8895
44. Mancuso P., Tricarico R., Bhattacharjee V., Cosentino L., Kadariya Y., Jelinek J., Nicolas E., Einarson M., Beechery N., Devarajan K., et al. (2019) Thymine DNA Glycosylase as a Novel Target for Melanoma. *Oncogene*, vol. 38, pp. 3710-3728.
45. Mark M., Ghyselinck N.B., Chambon P. (2006) Function of retinoid nuclear receptors: lessons from genetic and pharmacological dissections of the retinoic acid signaling pathway during mouse embryogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 46, pp. 451-480.
46. Messerschmidt D.M., Knowles B.B., Solter D. (2014) DNA Methylation Dynamics during Epigenetic Reprogramming in the Germline and Preimplantation Embryos. *Genes Dev.*, vol. 28, pp. 812-828.
47. Millar C.B., Guy J., Sansom O.J., Selfridge J., MacDougall E., Hendrich B., Keightley P.D., Bishop S.M., Clarke A.R., Bird A. (2002) Enhanced CpG mutability and tumorigenesis in MBD4-deficient mice. *Science*, vol. 297, pp. 403-405
48. Mohan R.D., Rao A., Gagliardi J. and Tini M. (2007) SUMO-1-dependent allosteric regulation of thymine DNA glycosylase alters subnuclear localization and CBP/p300 recruitment. *Mol. Cell. Biol.*, vol. 27, pp. 229-243.
49. Morgan M.T., Bennett M.T., Drohat A.C. (2007) Excision of 5-halogenated uracils by human thymine DNA glycosylase: Robust activity for DNA contexts other than CpG. *J Biol Chem.*, vol. 282, pp. 27578-27586.
50. Moriya M., Slade N., Brdar B., Medverec Z., Tomic K., Jelakovic B., Wu L., Truong S., Fernandes A. and Grollman A.P. (2011) TP53 mutational signature for aristolochic acid: an environmental carcinogen. *Int. J. Cancer*, vol. 129, pp. 1532-1536.
51. Neddermann P., Jiricny J. (1993) The purification of a mismatch-specific thymine-DNA glycosylase from HeLa cells. *J Biol Chem.*, vol. 268, pp. 21218-21224.
52. Neri F., Incarnato D., Krepelova A., Rapelli S., Anselmi F., Parlato C., Medana C., Dal Bello F., Oliviero S. (2015) Single-Base Resolution Analysis of 5-Formyl and 5-Carboxyl Cytosine Reveals Promoter DNA Methylation Dynamics. *Cell Rep.*, vol. 10, pp. 674-683.
53. Nortier J.L., Martinez M.C., Schmeiser H.H., Arlt V.M., Bieler C.A., Petein M., Depierreux M.F., De Pauw L., Abramowicz D., Vereerstraeten P., et al. (2000) Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *N. Engl. J. Med.*, vol. 42, no 3, pp.1686-1692.
54. Okano M., Bell D.W., Haber D.A., Li E. (1999) DNA Methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b Are Essential for De Novo Methylation and Mammalian Development. *Cell*, vol. 99, pp. 247-257.
55. Petronzelli F., Riccio A., Markham G. D., Seeholzer S. H., Genuardi M., Karbowski M., Yeung A. T., Matsumoto Y., Bellacosa A. (2000) Investigation of the substrate spectrum of the human mismatch-specific DNA N-glycosylase MED1 (MBD4): fundamental role of the catalytic domain. *J. Cell. Physiol.*, vol. 185, pp. 473-480.

56. Pfeifer G.P., (2006) Mutagenesis at methylated CpG sequences. *Curr. Top/ Microbiol. Immunol.*, vol. 301, pp. 259–281.
57. Popov A.V., Grin I.R., Dvornikova A.P., Matkarimov B.T., Groisman R., Saparbaev M., Zharkov D.O. (2019) Reading Targeted DNA Damage in the Active Demethylation Pathway: Role of Accessory Domains of Eukaryotic AP Endonucleases and Thymine-DNA Glycosylases. *JM*, vol.432, pp. 1747-1768
58. Rai K, Huggins IJ, James SR, et al. (2008) DNA demethylation in zebrafish involves the coupling of adeaminase, a glycosylase, and gadd45. *Cell*, vol. 35, pp. 1201–1212.
59. Reddy Parine N., Alanazi I.O., Shaik J.P., Aldhaian S., Aljebreen A.M., Alharbi O., Almadi M.A., Azzam N.A., Alanazi M. (2019) TDG Gene Polymorphisms and Their Possible Association with Colorectal Cancer: A Case Control Study. *J. Oncol.*, 709 1815.
60. Ruczinski I., Jorgensen T.J., Shugart Y.Y., Schaad Y.B., Kessing B., Hoffman-Bolton J., Helzlsouer K.J., Kao W.H.L., Wheeler L., Francis L., et al. (2012) A Population-Based Study of DNA Repair Gene Variants in Relation to Non-Melanoma Skin Cancer as a Marker of a Cancer-Prone Phenotype. *Carcinogenesis*, vol.33, pp.1692–1698
61. Ryan D., David W., Torchia J. and Tini M. (2010) Opposing regulatory roles of phosphorylation and acetylation in DNA mismatch processing by thymine DNA glycosylase. *Nucleic Acids Res.*, vol 38, no 4, pp. 1135–1148.
62. Saito Y., Ono T., Takeda N., et al. (2012) Embryonic lethality in mice lacking mismatch-specific thymine DNA glycosylase is partially prevented by DOPS, a precursor of noradrenaline. *J Exp Med.*, vol. 226, pp. 75–83.
63. Sanyal A.J., Yoon S.K., Lencioni R. (2010) The Etiology of Hepatocellular Carcinoma and Consequences for Treatment. *Oncologist*, vol.15, pp.14–22.
64. Scharer O.D., Kawate T., Gallinari P., Jiricny J., Verdine G.L. (1997) Investigation of the mechanisms of DNA binding of the human G/T glycosylase using designed inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 94, pp. 4878–4883.
65. Schmeiser H.H., Scherf H.R. and Wiessler M. (1991) Activating mutations at codon 61 of the c-Ha-ras gene in thin-tissue sections of tumors induced by aristolochic acid in rats and mice. *Cancer Lett.*, vol. 59, pp.139–143.
66. Steinacher R., Schar P. (2005) Functionality of human thymine DNA glycosylase requires SUMO-Regulated changes in protein conformation. *Curr Biol.*, vol.15, pp.616–623.
67. Stiborova M., Frei E., Sopko B., Sopkova K., Markova V., Lankova M., Kumstyrova T., Wiessler M. and Schmeiser H.H. (2003) Human cytosolic enzymes involved in the metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid: evidence for reductive activation by human NAD(P)H:quinone oxidoreductase. *Carcinogenesis*, vol. 24, pp. 1695–1703.
68. Talhaoui I., Couve S., Gros L., Ishchenko A.A., Matkarimov B., Saparbaev M.K., (2014) Aberrant repair initiated by mismatch-specific thymine-DNA glycosylases provide a mechanism for the mutational bias observed in CpG islands. *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, pp. 6300–6313.
69. Talhaoui I., Couve S., Ishchenko A. A., Kunz C., Schar P., Saparbaev M. (2013.) 7,8-Dihydro-8-oxoadenine, a highly mutagenic adduct, is repaired by *Escherichia coli* and human mismatch-specific uracil/thymine-DNA glycosylases. *Nucleic Acids Res.*
70. Talhaoui I., Matkarimov B.T., Tchenio T., Zharkov D.O., Saparbaev M., Aberrant base excision repair pathway of oxidatively damaged DNA: Implications for degenerative diseases. (2017) *Free Rad. Bio. & Medicine*, vol.107, pp. 266–277
71. Tanaka Y., Naruse I., Hongo T., et al. (2000) Extensive brain hemorrhage and embryonic lethality in a mouse null mutant of CREB-binding protein. *Mech Dev.*, vol. 95, pp.133–145.
72. Thillainadesan G., Chitilian J.M., Isovich M., Ablack J.N.G., Mymryk J.S., Tini M., Torchia J. (2012) TGF- β -Dependent Active Demethylation and Expression of the P15ink4b Tumor Suppressor Are Impaired by the ZNF217 CoREST. *Complex. Mol. Cell.*, vol. 46, pp.636–649.
73. Tini M., Benecke A., Um S.J., Torchia J., Evans R.M. and Chambon P. (2002) Association of CBP/p300 acetylase and thymine DNA glycosylase links DNA repair and transcription. *Mol. Cell.*, vol. 9, pp. 265–277.
74. Tokui T., Inagaki M., Nishizawa K., Yatani R., Kusagawa M., Ajiro K., Nishimoto Y., Date T. and Matsukage A. (1991) Inactivation of DNA polymerase beta by in vitro phosphorylation with protein kinase C. *J. Biol. Chem.*, vol. 266, pp. 10820–10824.
75. Um S., Harbers M., Benecke A., Pierrat B., Losson R. and Chambon P. (1998) Retinoic acid receptors interact physically and functionally with the T:G mismatch-specific thymine-DNA glycosylase. *J. Biol. Chem.*, vol. 273, pp. 20728–20736.
76. Vanherweghem J.L., Debelle F., Muniz Martinez M.C. and Nortier J. In: De Broe M.E., Porter G.A., Bennet W.M. and Verpooten G.A. (eds). (2003) *Clinical Nephrotoxins, 2nd edn. Dordrecht Kluwer, Netherlands*, pp. 588–601.
77. Vasovcak P., Krepelova A., Menigatti M., Puchmajerova A., Skapa P., Augustinakova A., Amann G., Wernstedt A., Jiricny J., Marra G., et al. (2012) Unique Mutational Profile Associated with a Loss of TDG Expression in the Rectal Cancer of a Patient with a Constitutional PMS2 Deficiency. *DNA Repair.*, vol. 11, pp. 616–623.
78. Vermot J., Niederreither K., Garnier J.M., et al. (2003) Decreased embryonic retinoic acid synthesis results in a DiGeorge syndrome phenotype in newborn mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol.100, pp. 1763–1768.
79. Wu P., et al. (2003) Mismatch repair in methylated DNA. Structure and activity of the mismatch-specific thymine glycosylase domain of methyl-CpG-binding protein MBD4. *J Biol Chem.*, vol. 278, pp. 5285–5291
80. Xu J., Cortellino S., Tricarico R., Chang W.C., Scher G., Devarajan K., Slifker M., Moore R., Bassi M.R., Caretti E., et al. (2017) Thymine DNA Glycosylase (TDG) Is Involved in the Pathogenesis of Intestinal Tumors with Reduced APC Expression. *Oncotarget*, vol. 8, pp. 89988–89997.
81. Xu X., Yu T., Shi J., Chen X., Zhang W., Lin T., Liu Z., Wang Y., Zeng Z., Wang C., et al. (2014) Thymine DNA Glycosylase Is a Positive Regulator of Wnt Signaling in Colorectal Cancer. *J. Biol. Chem.*, vol. 289, pp. 8881–8890.
82. Yang F., Huang X., Yi T., Yen Y. Moore D.D., Huang W. (2007) Spontaneous Development of Liver Tumors in the Absence of the Bile Acid Receptor Farnesoid X Receptor. *Cancer Res.*, vol.67, pp. 863–867.
83. Yao T.P., Oh S.P., Fuchs M., et al. (1998) Gene dosage-dependent embryonic development and proliferation defects in mice lacking the transcriptional integrator p300. *Cell*, vol. 93, pp. 361–372.
84. Yoon J. H., Iwai S., O'Connor T. R., Pfeifer G. P. (2003) Human thymine DNA glycosylase (TDG) and methyl-CpG-binding protein 4 (MBD4) excise thymine glycol (Tg) from a Tg:G mismatch. *Nucleic Acids Res.*, vol. 31, pp. 5399-5404.