

REPARACION DEL ADN DAÑADO POR AGENTES FISICOS Y QUIMICOS

FERNANDO ZAMBRANO AGHIRICA

Departamento de Radiobiología. Instituto Nacional de Energía Nuclear. Salazar, Edo. de México.

RESUMEN

En la actualidad, se considera que existen cuatro tipos principales de mecanismos de reparación del ADN; fotoreactivación, que en presencia de luz repara daños *in situ*, reparación por escisión, que se efectúa antes de la duplicación del ADN y requiere de varias reacciones enzimáticas, reparación por recombinación, que repara daños que persisten aún después de la duplicación del ADN y reparación SOS, con varias características genéticas y fisiológicas, inducible y presente en el sistema bacteriófago lambda-*Escherichia coli*.

En este trabajo se presentan los hallazgos más recientes acerca de la reparación del ADN. También se discuten aspectos relacionados con todos estos mecanismos, como los daños al ADN, las deficiencias en la reparación y la relación con los fenómenos de mutagénesis y con algunas enfermedades hereditarias en el hombre.

ABSTRACT

Four types of DNA repair are currently recognized: fotoreactivation, which, in presence of visible light, repairs damage *in situ*; prereplicative excision repair consist of several enzymatic steps; recombination repair, which repairs damage remaining after DNA replication and SOS repair, with several genetic and physiological characteristics, inducible and present in the *Escherichia coli*-λ phage. This paper reviews the most recent findings concerning DNA damage and its repair mechanisms. Aspects related to all of these mechanisms such as damaged DNA repair deficiencias and the relationship between some of the mutagenesis phenonena to hereditary disases in man, are also discussed.

INTRODUCCION

La evolución orgánica ha requerido del establecimiento de ciertos tipos de mecanismos que permitan la supervivencia de los seres vivos.

Durante su formación, los primeros organismos se encontraron expuestos a radiaciones del tipo de la luz ultravioleta proveniente del sol y, por consiguiente, los mecanismos de protección y reparación del daño provocado por las radiaciones a los ácidos nucléicos debieron establecerse durante los primeros intentos de vida en este planeta. La presencia de estos mecanismos facilitó que algunos individuos, originalmente destinados a morir, no perecieran, aumentando así el grado

de variabilidad sobre la que actuaría posteriormente la selección natural. Dichos mecanismos debieron evolucionar desde una simple protección hasta la compleja reparación enzimática que presentan actualmente tanto los procariotes como los eucariotes (Radman *et al.*, 1973) y desde sistemas relativamente exactos, hasta sistemas de error-ensayo, los cuales pueden incrementar la variabilidad, que es la base fundamental de la evolución.

Daños causados al ADN por agentes físicos

Las radiaciones dañan al ADN de diferente manera, dependiendo del tipo de radiación incidente. Entre los principales daños se pueden mencionar los causados a las bases nitrogenadas, la formación de productos de adición, como la hidratación de las pirimidinas, la formación de complejos entre el ADN y las proteínas (Fornace y Kohn, 1976; Hawkin, 1976), la desaminación de bases y el rompimiento de los enlaces fosfodiéster en las cadenas de ADN (Matsudaira *et al.*, 1977; Srivastava, 1976a; Youngs y Smith, 1976a).

La radiación, ultravioleta provoca la formación de dímeros de pirimidinas en el ADN, principalmente timina, por la formación de un anillo ciclobutano entre los carbonos 5 y 6 de dos timinas adyacentes (Brunk, 1975); en tanto que el principal daño causado por las radiaciones ionizantes (Roufa, 1976) se debe a rompimientos simples y dobles de las bandas de ADN (Dugle *et al.*, 1976).

Los mecanismos de reparación del ADN dañado

En general se puede decir que todas las células, desde los procariotes hasta las de los mamíferos (Rommelaere *et al.*, 1974), tienen la capacidad de reparar el daño causado al ADN, tanto por agentes físicos (Hetzl *et al.*, 1976; Waldstein y Setlow, 1976) como químicos (Bordin *et al.*, 1976; Craddock *et al.*, 1976; Rydberg, 1977; Swann *et al.*, 1976; Thielmann *et al.*, 1975). Sin embargo, en algunas células, como *Chlamydomonas reinhardtii*, no se han evidenciado estos mecanismos (Swinton, 1975), ni tampoco en mitocondrias humanas (Clayton *et al.*, 1975).

Fotorreactivación

Hasta el momento se han identificado cuatro tipos diferentes de mecanismos de reparación (para revisión ver Hanawalt, 1975; Witkin, 1969b). El primero de ellos corresponde a la fotorreactivación y está presente tanto en *Escherichia coli* (Rupert, 1975), como en mamíferos (Sutherland, 1975). Este tipo de reparación *in situ* es relativamente simple y requiere de la actuación de una enzima fotorreactivante que cataliza el rompimiento de los enlaces covalentes entre las timinas adyacentes utilizando la luz visible como fuente de energía. Aparentemente, la enzima es capaz de reconocer la distorsión de la molécula de ADN, provocada por la formación del dímero.

Reparación por escisión

Otro tipo de reparación, llamada reparación oscura o por escisión requiere de la presencia de tres enzimas: la endonucleasa (Yasuda y Sekiguchi, 1976), la DNA polimerasa I y la polinucleótido ligasa. La primera de ellas cataliza la hidrólisis del enlace fosfodiéster cercano al extremo 5' del dímero de timina producido en una de las bandas del ADN irradiado (Radman, 1975b) y su actividad depende de la presencia de ATP (Masker, 1976). En *E. coli*, la endonucleasa está codificada por los genes *uvrA* (Suzuki y Nakazawa, 1976), *uvrB* (Youngs y Smith, 1976b) y *uvrC* (Seeberg *et al.*, 1976).

La segunda de las enzimas, la DNA polimerasa I, está asociada con una actividad 5' exonucleasa, además de polimerasa. Por acción de esta enzima (Masker, 1976), el dímero es separado junto con cierto número de nucleótidos adyacentes a éste y el hueco resultante en la molécula de ADN, es posteriormente llenado por polimerización. Finalmente, por acción de la polinucleótido ligasa, se junta el final de la nueva cadena de nucleótidos con el extremo preexistente. Aparentemente, la función de la polinucleótido ligasa es importante tanto en este tipo de reparación como en la reparación por combinación. Youngs y Smith (1977), demostraron que un mutante termosensible (*ligñ-7*) para esta ligasa, presenta sensibilidad a la radiación ultravioleta y disminución tanto en la reparación por escisión como en la reparación por recombinación a 42°C. La polinucleótido ligasa repara por simple unión los rompimientos por escisión o como resultado directo de la exposición a radiación ionizante (Jacobs *et al.*, 1972).

Los dos tipos de reparación antes descritos son prerreplicativos, es decir, que se efectúan antes de la replicación del ADN. Esto se ha demostrado utilizando mutantes termosensibles del fago λ y células de *E. coli* en la replicación del ADN del fago (Radman *et al.*, 1970). Cuando el número de dímeros de pirimidinas en el ADN del fago es reducido, la reparación se lleva al cabo principalmente por recombinación, mientras que si el daño es mayor, predomina la reparación por escisión, todo lo cual probablemente se encuentra relacionado con la replicación del ADN (Radman *et al.*, 1970). Inclusive, se ha demostrado que la reparación por escisión aumenta cuando se bloquea temporalmente la replicación del ADN, por lo que se considera que la regulación de la síntesis del ADN (Srivastava, 1976b) desempeña un papel importante en este tipo de reparación (Radman y Errera, 1970).

Se han hecho intentos para determinar si las mismas enzimas intervienen en la reparación de daños inducidos tanto por radiación como por sustancias químicas. En el caso de células expuestas a la metilmetanosulfonato, se ha aislado una endonucleasa activa también en el ADN tratado con metilnitrosourea o con radiación γ (Kirtikar *et al.*, 1976). Sin embargo, a pesar de que se supone que existen enzimas comunes para la reparación de los daños producidos por agentes físicos y químicos (Nishida *et al.*, 1976), se ha observado que la eficiencia en la reparación para cepas silvestres y en las deficientes en ésta, es la misma o difiere, dependiendo del mutágeno empleado. Por lo anterior se supone que aun cuando hay algunos pasos comunes en la reparación de los daños causados por diversos

agentes físicos y químicos, puede haber ciertas diferencias específicas en cada caso particular (Thielmann *et al.*, 1975).

Reparación por recombinación

La reparación postreplicativa o también llamada reparación por recombinación, fue descubierta por Rupp y Howard Flanders (1968). Debido a que un dímero de timina no tiene nucleótidos complementarios, al momento de la síntesis de nuevas moléculas de ADN, pueden quedar huecos opuestos a cada dímero (Buhl y Reagan, 1975), los cuales son reparados por recombinación. Se han propuesto varios modelos para tratar de explicar los mecanismos complejos de la recombinación genética (Meselson y Radding, 1975; Potter y Dressler, 1976; Wagner y Radman, 1975). Ya que algunas de las moléculas de ADN permanecen con cierto número de dímeros, el resultado final es que algunas de éstas son "sacrificadas" para que otras sean reparadas por múltiples intercambios entre las moléculas. Algunos autores no están de acuerdo con el hecho de que opuestos a cada dímero se encuentran huecos en el ADN (Meneghini y Hanawalt, 1975). La presencia de los dímeros de pirimidinas reduce la velocidad de replicación del ADN (Hewitt y Meyn, 1975) y es causa de la recombinación que se presenta durante y/o después de la replicación de éste (Lin y Howard-Flanders, 1976).

Buhl *et al.* (1975) proponen un sistema de reparación diferente que altera los dímeros en tal forma que no se interrumpe la replicación o que una polimerasa especial puede "saltar" el dímero, antes de que éste sea reparado o modificado (Buhl y Regan, 1975).

Se ha comprobado que la reparación postreplicativa (Rommelaere y Errera, 1973) necesita de la presencia de los genes *rec* (Holloman y Radding, 1976; McEntee *et al.*, 1976) y *lex* (Ganesan y Scawell, 1975; Volkert *et al.*, 1976) de *Escherichia coli* y *red* (Blanco y Arnengod, 1976; Sarthy y Melson, 1976) del fago λ .

Mutantes lex

En *Escherichia coli* el carácter *lex*⁻ es dominante y los mutantes son más sensibles a las radiaciones y a ciertos mutágenos químicos (Mount y Kosel, 1973). Después de la irradiación degradan su ADN a una velocidad mayor que las cepas normales (Moody *et al.*, 1973), son inmutables por acción de la luz ultravioleta (Mount *et al.*, 1972) y su frecuencia de recombinación es menor. Se requiere también la función del gene *lex* para la inducción de mutaciones en el bacteriófago λ por la radiación ultravioleta (Defais *et al.*, 1971). El hecho de que tanto la frecuencia de recombinación como la de mutación estén reducidas en los mutantes *lex*⁻, hace suponer que la recombinación genética puede estar asociada con la mutagénesis provocada por UV. Más aún, en mutantes deficientes en recombinación (mutantes *rec*⁻), la frecuencia de mutación se encuentra también reducida (Witkin, 1969a). Se piensa que las cepas *lex*⁺ pueden llenar el hueco que se

encuentra opuesto a cada dímero de timina y como los mutantes *lex* carecen de esa posibilidad, no se producen mutaciones (Mount y Kosel, 1973).

Recientemente se ha aislado un tipo de mutantes llamados *rnm* en los cuales se presenta una supresión parcial del genotipo *lex*. Dichos mutantes son resistentes a UV pero no son mutables por esta clase de radiaciones; los autores suponen que los mutantes *rnm* readquirieron el control sobre la actividad de una de las exonucleasas que intervienen en la reparación por escisión pero no la capacidad de reparación por el sistema de ensayo-error (Volkert *et al.*, 1976).

Mutantes rec

La intervención de la recombinación en la radiorresistencia se sugirió porque las cepas que presentaban incremento de sensibilidad a la luz UV, tenían reducida también la capacidad para efectuar la recombinación. Una mutación en los loci *rec* (*recA*, *recB* y *recC*) de *E. coli*, elimina la posibilidad de recombinación de las cepas y aumenta la sensibilidad a varios agentes que dañan el ADN, como la radiación ultravioleta, los rayos X y los agentes alquilantes. El gene *rec* es pleiotrópico y necesario para que se pueda inducir con luz UV, al profago de las bacterias lisogénicas. En las cepas *rec⁻* la inducción espontánea del profago se presenta a muy baja frecuencia, la mutagénesis provocada por ultravioleta está ausente (Miura y Tomizawa, 1968; Witkin, 1969a) y la degradación del ADN, ya sea espontánea o inducidas, es elevada, además de otras alteraciones enlistadas por Radman (1975a).

Utilizando mutantes del fago λ se ha aislado y caracterizado el producto del gene *recA* que es una proteína (McEntee *et al.*, 1976); la función de este gene y del ADN del tipo RF I del fago ϕ X 174 en la recombinación genética ha sido discutida recientemente (Holloman y Radding, 1976).

Resulta difícil establecer el papel que desempeña el gene *recA* en toda la serie de eventos citados anteriormente. La situación se complica aún más si se toma en cuenta el caso de mutantes *tif⁻*. Este gene se encuentra muy cerca del gene *recA* en el mapa de *Escherichia coli*. Las cepas portadoras de la mutación *tif* presentan algunas de las alteraciones mencionadas para los mutantes *recA⁻*, pero son inducibles con la temperatura (42°C). La inducción del profago y en mutantes *tif* a 42°C, es dependiente del gene *recA*, y se considera que *tif* es un gene regulador de la actividad o de la síntesis de las enzimas reparadoras del ADN (West *et al.*, 1975).

Reparación por recombinación en mamíferos

Se ha observado que en células de mamíferos, las radiaciones aumentan la frecuencia de recombinación, lo cual pudiera ser consecuencia de fenómenos de reparación por recombinación (Radman *et al.*, 1970) que se presentaran en el momento de la replicación del ADN o después de la misma.

Mediante técnicas autorradiográficas, Rommelaere *et al.* (1973), demostraron que en células de criceto (hamster chino) la frecuencia de recombinación aumenta

después de la irradiación con luz UV. También se ha observado incremento en la recombinación cuando se daña el ADN con agentes químicos como el N-acetoxiacetilaminofluoreno (D'Ambrosio y Setlow, 1976), dimetilnitrosamina y metilmetanosulfonato (Craddock *et al.*, 1976). La metilación del ADN es necesaria para la reparación de linfocitos expuestos a la mostaza nitrogenada (Drahovsky *et al.*, 1976).

La infección de células de rata con virus de la leucemia, aumenta la sensibilidad a la transformación producida por carcinógenos químicos e inhibe parcialmente la reparación postreplicativa (Waters *et al.*, 1977). Aparentemente los virus pueden actuar como co-carcinógenos, aumentando así la sensibilidad de las células a los mutágenos químicos.

Reparación SOS

El cuarto tipo de reparación llamado reparación SOS es un sistema inducible y mutagénico (Caillet-Fauquet, 1976; Radman, 1974) que requiere de síntesis de proteínas y de la presencia de los genes *rec* y *lex* de *Escherichia coli*. En este sistema se observa que la supervivencia del fago λ irradiado es mayor cuando el hospedero (*E. coli*) ha sido también irradiado. La hipótesis propone que al irradiar al hospedero se induce un sistema de reparación en las bacterias, que tienen ahora mayor capacidad para reparar el ADN dañado del fago, pero con un incremento en la frecuencia de mutación debido a la acción de una "polimerasa infiel" (Radman, 1975a) (para revisión ver Witkin, 1976).

Los requerimientos fisiológicos y genéticos para la expresión de la reparación SOS son parecidos a los que se necesitan para la inducción del profago.

La señal que induce los genes reprimidos para que el sistema SOS opere, es probablemente un bloqueo temporal de la replicación del ADN o la presencia de lesiones en el mismo. El hecho de que la mutagénesis aumenta como resultado de este proceso, puede ser consecuencia secundaria de las condiciones fisiológicas de ensayo-error bajo las cuales opera el sistema SOS. Los resultados obtenidos por Devoret *et al.* (1975) en condiciones de máxima homología entre el fago λ infectante y las bacterias lisogénicas infectadas, eliminan aparentemente la posibilidad de que la reparación SOS sea el resultado de un incremento en la recombinación.

Radman (1975a) propone que la reparación SOS es necesaria para que continúe la replicación del ADN dañado, ya sea mediante un "salto" de los dímeros por la polimerasa, por un "llenado de los huecos" del ADN, o por ambos procesos.

Es notable la similitud existente entre la reparación por el sistema SOS y la transformación oncogénica en cultivos de células de mamíferos. Para que la "transformación" se presente en ambos casos se requiere una respuesta celular activa al agente inductor. El caso del mutante *tif* es un ejemplo, donde a 42°C, las células se "desreprimen" convirtiéndose en células enfermas y genéticamente inestables (Radman, 1975a). Además, Ames *et al.* (1973) han demostrado recientemente que la mayoría de los carcinógenos son mutágenos potentes. Actualmente

se están efectuando investigaciones pertinentes para saber si el sistema SOS se presenta en mamíferos.

Resulta difícil establecer la relación existente entre los genes *uvr*, *lex* y *rec* de *Escherichia coli*, pero Radman (1975a) propone un esquema para explicar dicha relación en el proceso de la reparación obscura en esta bacteria, según el cual los genes *uvrA*, *uvrB*, *uvrC*, *polA* y *lig* están involucrados en la reparación por escisión (constitutiva), mientras que los genes *recA*, *recB* y *recC* intervienen en la reparación por recombinación (constitutiva). Los genes *lex* y *zab* están relacionados con los genes *rec*, formando una vía lateral en el proceso de la reparación postreplicativa y los tres genes (*rec*, *lex*, *zab*) son necesarios para la reparación SOS (inducible).

Reparación y mutagénesis

Según Witkin (1975), en las células genéticamente dañadas, los medios usados para la supervivencia como son la mutagénesis y la reparación, son inseparables. Las mutaciones en el ADN dañado se pueden originar por lesiones en el ADN que no pueden ser reparadas o bien por errores producidos por el sistema de ensayo-error, que cambió la secuencia de bases en el momento de la reparación (reparación por recombinación, reparación SOS).

Utilizando diferentes tipos de mutantes deficientes en la reparación, varios autores han señalado que existen sistemas de reparación "exactos y mutagénicos". La reparación por escisión es un mecanismo exacto (Witkin, 1968) que elimina las lesiones premutacionales en el ADN, mientras que la reparación por recombinación es mutagénica. Existe cierta correlación entre la recombinación y la mutación inducidas por radiación UV (Defais *et al.*, 1971, Zambrano y Radman datos no publicados).

Hay varias posibilidades para tratar de explicar la reparación de los huecos que quedan en el ADN, después de la acción de la endonucleasa en la reparación por escisión o los que se encuentran enfrente de cada dímero no reparado. Los huecos pueden ser reparados por sistemas de ensayo-error mediante enzimas que catalicen el llenado de los mismos, bien sea alguna de las polimerasas ya conocidas u otra diferente capaz de añadir al azar nucleótidos al ADN de una sola banda.

La presencia del gene *polC* es necesaria para la reparación de tipo ensayo-error y se considera que está involucrada en la inserción de bases incorrectas en el ADN (Bridges y Mottershead, 1976). Se han obtenido mutantes de *E. coli* en donde la inducción del profago y la reparación del ensayo-error son constitutivas (mutantes STS) (Mount, 1977).

A pesar de que el sistema SOS es inducible y mutagénico, Mount *et al.* (1976) proponen la existencia de sistemas inducibles, exentos de error (Eyfjord *et al.*, 1975), los cuales compiten con las de ensayo-error para reparar las lesiones del ADN en el fago λ . Dichos sistemas inducibles y exactos reparan dímeros de pirimidina del ADN dañado que previamente ha sido replicado (Mount *et al.*, 1976).

Según D'Ambrosio Setlow (1976), los daños causados al ADN por el N-acetoxiacetilaminofluoreno y la radiación UV, inducen los mecanismos de repara-

ción postreplicativa que pueden ser los responsables de la carcinogénesis producida en los mamíferos por agentes físicos y químicos. En una especie de peces (*Poecilia formosa*), se ha observado que la presencia de dímeros de timina provoca la formación de granulomas en el cuerpo y en el 100% de los casos, carcinomas de la tiroides (Hart y Setlow, 1975).

Además, las lesiones al ADN que no son reparadas pueden producir aberraciones cromosómicas. Strauss (1977) propone que las células viables dañadas pueden ocasionar tumores y que la reparación postreplicativa es importante en los eventos iniciales de la carcinogénesis.

Deficiencias de reparación en humanos

Aunque los diferentes organismos pueden reparar el daño inducido en el ADN, existen mutantes tanto en procariotes (Miura y Tomizawa, 1968) como en eucariotes, muy sensibles a la acción de ciertos agentes físicos y químicos. En el caso de eucariotes, existen algunas enfermedades, en el hombre en las que las células afectadas presentan características de células cancerosas. Una de ellas es una enfermedad autosómica y recesiva conocida con el nombre de ataxia telangiectásica en donde se observa que las células carecen de una γ -endonucleasa que las incapacita para llevar al cabo la reparación por escisión (Patterson, *et al.*, 1976).

La anemia de Fanconi es otro síndrome asociado a una marcada sensibilidad a ciertos carcinógenos y radiaciones y se tienen evidencias de que se debe también a una deficiencia en la reparación (Euerbach y Wolman, 1976; Kato y Stich, 1976; Latt *et al.*, 1975).

El caso más estudiado en enfermedades asociadas a una carencia para reparar el daño causado al ADN, es el del llamado xeroderma pigmentosum, enfermedad hereditaria, autosómica y recesiva. Los individuos que la padecen presentan múltiples carcinomas en la piel, sobre todo en las áreas expuestas al sol (Maher *et al.*, 1976). Hasta el momento se conocen varios tipos de líneas celulares con xeroderma pigmentosum, con diferente capacidad para llevar al cabo la reparación (Kraemer *et al.*, 1976; Wolff *et al.*, 1976). Un caso específico de la enfermedad es el de las células provenientes de individuos que carecen de la enzima endonucleasa que cataliza el rompimiento del enlace fosfodiéster en alguna de las cadenas de la molécula del ADN (Fornace *et al.*, 1976). Si esta enzima se aísla de otra fuente, como puede ser el bacteriófago T4, y por medio del virus Sendai, que altera la permeabilidad de la membrana, se introduce en ellas, las células recuperan la capacidad de reparar el daño al ADN (Tanaka *et al.*, 1975). Los daños producidos por agentes físicos o químicos que producen rompimientos simples en el ADN pueden ser reparados en la misma proporción, tanto en las células normales como en las células con xeroderma pigmentosum, ya que no se necesita la presencia de una endonucleasa (Haribaran y Cerutti, 1976; Lo y Stich, 1975).

Inhibidores de la reparación

Actualmente se conoce una gran cantidad de agentes químicos que inhiben la

reparación. Algunos de éstos se utilizan en terapéutica como la cloroquina (López-Zumel *et al.*, 1975) que se usa contra la malaria, o la prednisolona y la flufenaminacida que son antirreumáticos (Dunky *et al.*, 1975). Ciertos esteroides como la cortisona (Ivanova-Glavanakova *et al.*, 1975) y análogos de bases nitrogenadas como el bromouracilo (Myers *et al.*, 1977), incrementan la sensibilidad de las células a las radiaciones ionizantes y a la UV (Myers *et al.*, 1977).

Algunos agentes radiosensibilizadores (Hofer *et al.*, 1977) son en realidad inhibidores de la reparación y son muy importantes en la radioterapia de los tumores (López-Zumel *et al.*, 1975) al igual que ciertas drogas radioprotectoras (Yuhás *et al.*, 1977).

Dentro de la gran diversidad de sustancias químicas que invaden constantemente el medio ambiente, algunas son producto de la tecnología desarrollada por el hombre, pero otras se originan como productos naturales provenientes de ciertos organismos. Como ejemplo están la luteoskirina, originada por hongos del arroz y que es un antirreparador muy eficiente (Mouton y Fromageot, 1971), así como la cafeína que es un inhibidor específico de la reparación del daño provocado por la radiación UV (Ehmann *et al.*, 1976; Fujiwara y Tatsumi, 1976; Lung, 1975, Tondeur y Rommelaere, 1977).

Es posible que los mecanismos de reparación del ADN sean casi tan antiguos como las células mismas; sin embargo, no fue sino hasta hace pocos años cuando varios investigadores se dedicaron al estudio de tales mecanismos, los cuales tienen una función primordial para la supervivencia de los organismos.

LITERATURA

- AMES, B. N., DURSTON, W. E., YAMASAKI, E. Y LEE, F. D. (1973). Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70, 2281-2285.
- AUERBACH, A. D. Y WOLMAN, S. R. (1976). Susceptibility of Fanconi's anemia fibroblasts to chromosome damage by carcinogens. *Nature* 261, 494-496.
- BLANCO, M. Y ARMENGOD, M. E. (1976). Role of the bacterial and phage recombination systems and of DNA replication in genetic recombination of UV-irradiated phage λ . *Mol. Gen. Genet.* 146, 51-54.
- BORDIN, F., CARLASSARE, F., BACCICHETTI, F. Y ANSELMO, L. (1976). DNA repair and recovery in *Escherichia coli* after psoralen and angelicin photosensitization. *Biochim. Biophys. Acta* 447, 249-259.
- BRIDGES, B. A. Y MOTTERSHEAD, R. P. (1976). Mutagenic DNA repair in *Escherichia coli*. III. Requirement for a function of DNA polymerase III in ultraviolet-light mutagenesis. *Mol. Gen. Genet.* 144, 53-58.
- BRUNK, C. (1975). Formation of dimers in ultraviolet-irradiated DNA. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part A, pp. 61-66.
- BUHL, S. N. Y REGAN, J. D. (1975). Effects of caffeine on postreplication repair in xeroderma pigmentosum cells. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 627-630.
- , SETLOW, R. B. Y REGAN, J. D. (1975). Synthesis by UV-irradiated human cells of normal-sized DNA at long times after irradiation. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 625-626.

- CAILLET-FAUQUET, P. (1976). Etude biochimique, chez *E. coli* d'un mécanisme de réparation inductible et mutagène. Tesis. Université Libre de Bruxelles, Bélgica.
- CLAYTON, D. A., DODA, J. N. y FRIEDBERG, F. C. (1976). Absence of a pyrimidine dimer repair mechanism for mitochondrial DNA in mouse and human cells. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, part B, pp. 589-591.
- GRADDOCK, V. M., HENDERSON, A. R. y ANSLEY, C. M. (1976). Repair replication of DNA in the intact animal following treatment with dimethylsitosamine and with methyl methanesulfonate, studeid by fractionation of nuclei in a zonal centrifuge. *Biochim. Biophys. Acta* 447, 53-64.
- D'AMBROSIO, S. M. y SETLOW, R. B. (1976). Enhancement of postreplication repair in Chinese hamster cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 73, 2396-2400.
- DEFAIS, M., FAUQUET, P., RADMAN, M. y ERREERA, M. (1971). Ultraviolet reactivation and ultraviolet mutagenesis of λ in different genetic systems. *Virology* 43, 495-503.
- DEVORET, R., BLANCO, M., GEORGE, J. y RADMAN, M. (1975). Recovery of phage from ultraviolet damage. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part A, pp. 155-171.
- DRAHOVSKY, D., LACKOJAND, I. y WACKER, A. (1976). Enzymatic DNA methylation during repair synthesis in non-proliferating human peripheral lymphocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 447, 139-143.
- DUGLE, D. J., GILLESPIE, C. J. y CHAPMAN, J. D. (1976). DNA strand breaks, repair, and survival in X-irradiated mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 73, 809-812.
- DUNKY, A., TUSCHL, P., TAUSCH, G. y EBERL, R. (1975). *In vivo* investigation of the effect of antirheumatic drugs on DNA-synthesis and DNA repair. *Studia Biophys.* 50, 172.
- EHMANN, U. K., GEHRING, U. y TOMKINS, G. M. (1976). Caffeine, cyclic AMP and postreplication repair of mammalian cell DNA. *Biochim. Biophys. Acta* 447, 133-138.
- EYFJORD, J. E., GREEN, M. H. L. y BRIDGES, B. A. (1975). Mutagenic DNA repair in *Escherichia coli*: conditions for error-free filling of daughter strand gaps. *J. Gen. Microbiol.* 91, 369-375.
- FORNAGE, A. J. y KGHN, K. W. (1976). DNA-protein cross linking by ultraviolet radiations in normal human and xeroderma pigmentosum fibroblasts. *Biochim. Biophys. Acta* 435, 95-103.
- , y MANN, H. E. (1976). DNA single-strand breaks during repair of UV-damage in human fibroblasts and abnormalities of repair in xeroderma pigmentosum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 73, 39-43.
- FUJIWARA, Y. y TARSUMI, M. (1976). Replicative bypass repair of ultraviolet damage to DNA of mammalian cells: caffeine sensitive and caffeine resistant mechanisms *Mutation Res.* 37, 91-110.
- GANESAN, A. K. y SEAWELL, P. C. (1975). The effect of *lexA* and *rccF* mutations on postreplication repair and DNA synthesis in *Escherichia coli* K-12. *Mol. Gen. Genet.* 141, 189-205.
- HANAWALT, P. C. (1975). Repair models and mechanisms: overview. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 421-430.
- HARIHARAN, P. V. y CERUTTI, P. A. (1976). Excision of ultraviolet and gamma ray products of the 5, 6-dihydroxy-dihydrothymine type by nuclear preparations of xeroderma pigmentosum cells. *Biochim. Biophys. Acta* 447, 375-378.
- HART, R. W. y SETLOW, R. B. (1975). Direct evidence that pyrimidine dimers in DNA result in neoplastic transformation. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 719-724.
- HAWKINS, R. B. (1976). The measurement of ionizing radiation induced cross linkage of DNA and protein bacteriophage. *Radiation Res.* 68, 300-307.
- HETZEL, F. W., KRUVV, J. y FREY, H. E. (1976). Repair of potentially lethal damage in X-irradiated V 79 cells. *Radiation Res.* 68, 308-319.
- HEWITT, R. R. y MEYN, R. E. (1975). Concerning pyrimidine dimers as "blocks" to DNA replication in bacteria and mammalian cells. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 635-638.
- HOFER, K. G., HOFER, M. G., IERACITANO, J. y McLAUGHLIN, W. H. (1977). Radiosensitization of hypoxic tumor cells by simultaneous administration of hyperthermia and nitroimidazoles. *Radiation Res.* 70, 362-377.

- HOLLOMAN, W. K. y RADDING, C. M. (1976). Recombination promoted by super helical DNA and the *recA* gene of *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 73, 3910-3914.
- IVANOVA-GLAVANAKOVA, S., ALTMANN, H. y MUKHERJEE, R. (1975). DNA repair and DNA repair inhibitors in *Drosophila* investigations. Studia Biophys. 50, 117-121.
- JACOBS, A., BOFF, A. y HAGEN, U. (1972). *In vitro* repair of single-strand breaks in γ -irradiated DNA by polynucleotide ligase. Intern. J. Radiation. Biol. 22, 431-435.
- KATO, H. y STICH, H. F. (1976). Sister chromatid exchange in ageing and repair-deficient human fibroblasts. Nature 260, 447-448.
- KIRTIKAR, D. M., CATHVART, G. R. y GOEDTHWAIT, D. A. (1976). Endonuclease II, apurinic acid endonuclease, and exonuclease III, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 73, 4324-4328.
- KRAEMER, K. H., ANDREWS, A. D., BARRET, S. F. y OBBINS, J. H. (1976). Colony-forming ability of ultraviolet-irradiated xeroderma pigmentosum fibroblasts from different DNA repair complementation groups. Biochim. Biophys. Acta 442, 147-153.
- LATT, S. A., STETTEN, G., JUERGENSEN, L. A., BUCHANAN, G. R. y GERALD, P. S. (1975). Induction by alkylating agents of sister chromatid exchanges and chromatid breaks in Fanconi's anemia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 72, 4066-4070.
- LIN, P. F. y HOWARD-FLANDERS, P. (1976). Genetic exchanges caused by ultraviolet photoproducts in phage λ DNA molecules: the role of DNA replication. Mol. Gen. Genet. 146, 107-115.
- LO, L. W. y STICH, H. F. (1975). DNA damage, DNA repair and chromosome aberrations of xeroderma pigmentosum cells and controls following exposure to nitrosation products of methylguanidine. Mutation Res. 30, 397-406.
- LÓPEZ-ZUMEL, M., ASTUDILLO, M. D. y ALVAREZ, M. V. (1975). Studies on chloroquine as a DNA repair inhibitor. Studia Biophys. 50, 107-115.
- LUNG, H. (1975). Model for repair inhibition by caffeine. Studia Biophys. 50, 213-221.
- MAHER, V. M., OUELLETTE, L. M., CURREN, R. D. y MCCORMICK, J. J. (1976). Frequency of ultraviolet light-induced mutations is higher in xeroderma pigmentosum variant cells than in normal human cells. Nature 261, 593-594.
- MASKER, W. E. (1976). The ATP dependence of the incision and resynthesis steps of excision repair. Biochim. Biophys. Acta 442, 162-173.
- MATSUDAIRA, H., FURUNU, I., VENO, A. M., SHINOHARA, K. y YOSHIZAWA, K. (1977). Induction and repair of strand breaks and 3-hydroxyterminals in the DNA of mammalian cells in culture following X-rays irradiation. Biochim. Biophys. Acta 476, 97-107.
- MCENTEE, K., HESSE, J. E. y EPSTEIN, W. (1976). Identification and radiochemical purification of the *recA* protein of *Escherichia coli* K-12. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 73, 3979-3983.
- MENEGHINI, R. y HANAWALTH, P. C. (1975). Postreplication repair in human cells: on the presence of gaps opposite dimers and recombination. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalth y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 639-642.
- MESELSON, M. S. y RADDING, C. M. (1975). A general model for genetic recombination. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 72, 358-361.
- MIURA, A. y TOMIZAWA, J. (1968). Studies on radiation sensitive mutants of *E. coli*. III. Participation of the *rec* systems in induction of mutation by ultraviolet irradiation. Mol. Gen. Genet. 103, 1-10.
- MOODY, E. E. M., BROOKS-LOW, K. y MOUNT, D. W. (1973). Properties of strains of *Escherichia coli* K-12 carrying mutant *lex* and *rec* alleles. Mol. Gen. Genet. 121, 197-205.
- MOUNT, D. W. (1977). A mutant of *Escherichia coli* showing constitutive expression of the lysogenic induction and error-prone DNA repair pathways. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74, 300-304.
- , y KOSEL, C. (1973). Properties of strains of *Escherichia coli* K-12 carrying mutant *lex-1* and *uvr A₆* alleles. Mol. Gen. Genet. 120, 291-299.
- , BOOKS-LOW, K. y EDMISTON, S. J. (1972). Dominant mutations (*lex*) in *Escherichia coli* K-12 which affect radiation sensitivity and frequency of ultraviolet light induced mutations. J. Bacteriol. 112, 886-893.
- , KOSEL, C. K. y WALKER, A. (1976). Inducible, error-free DNA repair in *tsI recA* mutants of *E. coli*. Mol. Gen. eGnet. 146, 37-41.
- MOUTON, R. F. y FROMAGEOT, P. (1971). Inhibition of post UV-irradiation growth in the dark of *Tetrahymena pyriformis* by caffeine and the oncogenic mycotoxin luteoskyrin. FEBS Letters. 15, 45-48.

- MYERS, D. K., CHILDS, J. D. y JONES, A. R. (1977). Sensitization of bacteriophage T4 to ^{60}Co - γ radiation and to low-energy X-radiation by bromouracil. *Radiation Res.* 69, 152-165.
- NISHIDA, Y., YASUDA, S. y SEKIGUCHI, M. (1976). Repair of DNA damaged by methyl methanesulfonate in bacteriophage T₄. *Biochim. Biophys. Acta* 442, 208-215.
- PATERSON, M. C., SMITH, B. J., LOHMAN, P. H. M., ANDERSON, A. K. y FISHMAN, L. (1976). Defective excision repair of γ -ray damaged DNA in human (ataxia telangiectasia) fibroblasts *Nature* 260, 444-446.
- POTTER, H. y DRESSLER, D. (1976). On the mechanism of genetic recombination intermediates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 73, 3000-3004.
- RADMAN, M. (1974). Phenomenology of and inducible mutagenic DNA repair pathway in *Escherichia coli*: SOS repair hypothesis. In *Molecular and environmental aspects of mutagenesis*. (L. Prakash *et al.*, Eds.). 6th Rochester Conference on Environmental Toxicity. Thoms Publ., Springfield, Illinois, 128-142.
- (1975a). SOS repair hypothesis: phenomenology of an inducible DNA repair which is accompanied by mutagenesis. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part A, pp. 355-367.
- (1975b). Endonuclease III: An endonuclease from *Escherichia coli* that introduces single polynucleotide chain scissions in ultraviolet-irradiated DNA. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part A, pp. 197-200.
- , y ERRERA, M. (1970). Enhanced efficiency of excision repair of non replicated UV-damage *E. coli* DNA. *Mutation Res.* 9, 553-560.
- , ROMMELAERE, J. y ERRERA, M. (1973). Stability and evolution of DNA. In *Physico-chemical properties of nucleic acids*. (J. Duchesne, Ed.). Academic Press, Nueva York, Vol. 3, pp. 161-201.
- , CORDONE, L., KRSMANOVIC-SIMIC, D. y ERRERA, M. (1970). Complementary action of recombination and excision in the repair of ultraviolet irradiation damage to DNA. *J. Mol. Biol.* 49, 203-212.
- ROMMELAERE, J. y ERRERA, M. (1973). Unscheduled DNA synthesis and repair replication in UV-irradiated Chinese-hamster cells. *Arch. Int. Physiol. Biochim.* 81, 200-202.
- , SUSSIKIND, M. y ERRERA, M. (1973). Chromosome and chromatid exchanges in Chinese hamster cells. *Chromosome* 41, 243-257.
- , CORNELIS, J. J., MILLER-FAURES, A. y ERRERA, M. (1974). The influence of 5-Bromodeoxyuridine on DNA repair in Chinese hamster cells exposed to ultraviolet radiation. *Biochim. Biophys. Acta* 340, 388-399.
- ROUFA, D. J. (1976). 5-Bromodeoxyuridine-DNA strand symmetry and the repair of photolytic breaks in Chinese hamster cell chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 73, 3905-3909.
- RUPERT, C. S. (1975). Enzymatic photoreactivation: overview. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press. Nueva York, Part. A, pp. 73-88.
- RUPP, W. D. y HOWARD-FLANDERS, P. (1968). Discontinuities in the DNA synthesized in an excision-defective strain of *Escherichia coli* following ultraviolet irradiation. *J. Mol. Biol.* 31, 291-304.
- RYDBERG, B. (1977). Bromouracil mutagenesis in *Escherichia coli*. Evidence for involvement of mismatch repair. *Mol. Gen. Genet.* 152, 19-28.
- SARTHY, P. V. y MESELSON, M. (1976). Single burst study of rec and red mediated recombination in bacteriophage λ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 73, 4613-4617.
- SEEBERG, E., NISSEN-MEYER, J. y STRIKE, P. (1976). Incision of ultraviolet-irradiated DNA by extracts of *E. coli*, requires three different gene products. *Nature* 263, 524-526.
- SRIVASTAVA, B. S. ((1976a). Irradiation and DNA breaks. *Nature* 259, 425-426.
- (1976b). Radiation sensitivity of a mutant of *Escherichia coli* K-12 associated with DNA replication: evidence for a new repair function. *Mol. Gen. Genet.* 143, 327-332.
- STRAUSS, B. S. (1977). Molecular biology of the response of cells to radiation and to radiomimetic chemicals. *Cancer* 40, 471-480.
- SUTHERLAND, B. M. (1975). The human leukocyte photoreactivating enzyme. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Seltow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part A, pp. 107-114.

- SUZUKI, N. Y NAKAZAWA, A. (1976). Phenotypic difference between *uvrA* and *uvrB* mutants of *E. coli*. *Nature* 261, 244-245.
- SWANN, P. F., MAGEE, P. N., MOHR, U., REZNIK, G., GREEN, U. Y KAUFMAN, D. G. (1976). Possible repair of carcinogenic damage caused by dimethylnitrosamine in rat kidney. *Nature* 263, 134-136.
- SWINTON, D. C. (1975). Absence of a pyrimidine dimer excision and repair replication in *Chlamidomonas reinhardtii*. In *Molecular mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part B, pp. 585-588.
- TANAKA, K., SEKIGUCHI, M. Y OKADA, Y. (1975). Restoration of ultraviolet-induced unscheduled DNA synthesis of xeroderma pigmentosum cells by the concomitant treatment with bacteriophage T4 endonuclease V and HVJ (Sendai virus). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 4071-4075.
- THIELMANN, V. W., VOSBERG, H. P. Y REYERS, U. (1975). Carcinogen-induced DNA repair in nucleotide-permeable *Escherichia coli* cells. Induction of DNA repair by the carcinogens methyl and ethyl-nitrosourea and methyl methane sulfonate. *Eur. J. Biochem.* 56, 433-447.
- TONDEUR, F. Y ROMMELAERE, J. (1977). Interaction of caffeine with the DNA of Chinese hamster cells. *Biochim. Biophys. Acta* 475, 562-570.
- VOLKERT, M. R., GEORGE, D. L. Y WITKIN, F. M. (1976). Partial suppression of the *lexA* phenotype by mutations (*rnm*) which restore ultraviolet resistance but not ultraviolet mutability to *Escherichia coli* B/r *uvrA* *lexA*. *Mutation Res.* 36, 17-28.
- WAGNER, R. E. Y RADMAN, M. (1976). A mechanism for initiation of genetic recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 3619-3622.
- WALDSTEIN, E. A. Y SETLOW, R. B. (1976). Repair of V-ray-induced single strand breaks in toluenized *Escherichia coli* cells. *Biochim. Biophys. Acta* 442, 154-161.
- WATERS, R., MISHRA, N., BOUCK, N., DiMAYORGA, G. Y REGAN, J. D. (1977). Partial inhibition of postreplication repair and enhanced frequency of chemical transformation in rat cells infected by leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74, 238-242.
- WEST, S. C., POWELL, K. A. Y EMMERSON, P. T. (1975). *RecA*⁺ dependent inactivation of the lambda repressor in *Escherichia coli* lysogens by γ -radiation and by *tif* expression. *Mol. Gen. Genet.* 141, 1-8.
- WITKIN, E. M. (1968). The role of DNA repair and recombination in mutagenesis. *Proc-Int. Congr. Genet.* 12th. 3, 225-245.
- (1969a). The mutability toward ultraviolet light of recombination deficient strains of *Escherichia coli*. *Mutation Res.* 8, 9-14.
- (1969b). Ultraviolet-induced mutation and ADN repair. *Ann. Rev. Microbiol.* 23, 487-513.
- (1975). Relationships among repair, mutagenesis, and survival: overview. In *Molecular Mechanisms for repair of DNA*. (P. C. Hanawalt y R. B. Setlow, Eds.). Plenum Press, Nueva York, Part A, pp. 347-353.
- (1976). Ultraviolet mutagenesis and inducible DNA repair in *Escherichia coli*. *Bacteriol. Rev.* 40, 869-907.
- WOLFF, S., BODYCOTE, J., THOMAS, G. H. Y CLEAVER, J. E. (1975). Sister chromatid exchange in xeroderma pigmentosum cells that are defective in DNA excision repair or post-replication repair. *Genetics* 81, 349-355.
- YASUDA, S. Y SEKIGUCHI, M. (1976). Further purification and characterization of T₄ endonuclease V. *Biochim. Biophys. Acta* 422, 197-207.
- YOUNGS, D. A. Y SMITH, K. C. (1976a). The yield and repair of V-ray-induced single-strand breaks in the DNA of *Escherichia coli* K-12 cells. *Radiation Res.* 68, 148-154.
- (1976b). Genetic control of multiple pathways of post-replicative repair in *uvrB* strains of *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 125, 102-110.
- (1977). The involvement of polynucleotide ligase in the repair of UV-induced NDA damage in *Escherichia coli* K-12 cells. *Mol. Gen. Genet.* 152, 37-41.
- YUHAS, J. M., YURCONIC, M., KLIGERMAN, M. M., WEST, G. Y PETERSON, D. F. (1977). Combined use of radioprotective and radiosensitizing drugs in experimental radiotherapy. *Radiation Res.* 70, 433-443.