

Thymine Dimer를 포함한 DNA와 T₄ Endonuclease V * DNA 복합체의 구조에 관한 연구

이봉진* · 유준석 · 임형미

서울대학교 약학대학

Study on the Structure of DNA Containing a Thymine Dimer and T₄ Endonuclease V * DNA Complex

Bong Jin LEE*, Jun Seok YU and Hyung Mi LIM

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received February 26, 1994; accepted March 19, 1994)

Abstract—In order to obtain insight into the repair mechanism of DNA containing thymine photo-dimer, the conformation of the duplex d(GCGGTTGGCG)·d(CGCCAACCGC) with a thymine dimer incorporated has been studied by proton NMR. NOE data show that, although the local environment around the thymine dimer is altered, the gross structural changes are relatively small. T₄ endonuclease V exhibited a conformational change on complex formation with DNA. This conformational change occurred around histidine 16 which was close to tyrosine 129 located in the aromatic segment (WYKYY) near the C-terminus. It is likely that the interaction between T₄ endonuclease V and DNA is strong since the complex was not dissociated up to 1.6 M NaCl.

Keywords □ NMR, T₄ endonuclease V, thymine dimer.

생체 유전물질인 DNA는 방사선, 자외선, 화학물질 등 여러 변이원에 의해 손상을 입고 있으며, 이들에 의해 생긴 DNA 손상은 돌연변이 또는 치사의 원인이 된다. 그러나 DNA 손상의 대부분은 생체내에 존재하는 효소에 의해 수복되어 DNA는 안정하게 유지된다. 이와 같은 DNA 수복은 생명의 유지, 종의 보존에 중요한 역할을 하고 있다. 옛날부터 T₄ phage는 다른 T-even phage에 비해, UV 조사에 의한 손상에 대해 저항성을 나타내는 것이 알려져 있어(Luria, 1947), UV 손상을 수복하는 효소를 갖고 있다고 여겨져왔다. 1963년에 W. Harm은 UV 조사에 대해 감수성이 높은 변이주 T₄ V주를 발견하였다(Earm, 1963). 그 후, Sekiguchi 등은 T₄ phage를 감염시킨 대장균중에, UV를 조사한 2분쇄 DNA에 대해 1분 절단을 행하는 효소가 존재하는 것을 찾아냈다(Yasuda 등, 1976). 이 효소는 T₄ V주를 감염시킨 대장균안에는 존재하지 않는 것으로 보아 이 효소가 T₄ phage의 DNA 수복효소라고 여겨져, T₄ endonuclease V라고 명명되었다. 이 효소는 Sekiguchi

등에 의해 완전히 정제되어, 분자량 16,000의 단백질이라는 것을 알았다(Nakabeppu 등, 1981; Nakabeppu 등, 1982).

T₄ endonuclease V는 작은 효소이면서, pyrimidine dimer-DNA glycosylase와 apyrimidinic DNA endonuclease라는 2개의 효소활성을 갖고 있다. 이 효소는 nucleotide 제거 수복 기구의 제1단계에서 dimer를 형성한 5' 측 pyrimidine의 glycosyl 결합을 절단해 apyrimidinic site (AP site)를 생성시키고, 제2단계에서 이 AP site의 3' 측의 인산 ester결합을 절단한다. 이 효소는 DNA 수복효소 중에서는 가장 잘 연구된 것 중의 하나이다. 1984년에는 K. Valerie 등에 의해 유전자가 cloning되어(Valerie 등, 1984; Radany 등, 1984), 그 염기배열에 의해 단백질의 1차구조가 결정되었다. 대장균에서의 pyrimidine dimer는 Uvr A, Uvr B, Uvr C라는 3개의 효소군에 의한 DNA 수복기구로 수복된다(Sancar 등, 1988). 이들 효소는 T₄ endonuclease V가 발견된 후에 밝혀진 것으로, 분자량은 각각 10만, 8만, 6.5만이고 pyrimidine dimer 뿐만아니라, 화학물질에 의한 손상의 수복도 행한다고 보고되고 있다(Thomas 등, 1985;

* To whom correspondence should be addressed.

Oh 등, 1987; Myles 등, 1987; Sancar 등, 1983). T₄ endonuclease V를 code하는 유전자(Valerie 등, 1985; Chenevert 등, 1986; Recinos 등, 1986), 혹은 효소 그 자체(Shimizu 등, 1979)를 이들 효소를 결손한 대장균에 도입하면 DNA 수복능이 회복되는 것으로 알려져있다. 즉, T₄ endonuclease V는 이들 대장균 수복효소계의 일부를 담당하는 역할을하나 아직 불확실한 점이 많다. 한편 인간의 질환인 색소성 건피증(xeroderma pigmentosum)은 태양광선, 특히 자외선에 의해 고빈도로 피부암을 발생한다. 1968년, J. E. Cleaver는 이환자의 배양피부섬유아세포를 사용해 이 질환이 유전적으로 DNA 수복기구에 장애가 있기 때문에 일어나는 것을 증명했다(Cleaver, 1968). 그후 색소성 건피증의 배양세포에 T₄ endonuclease V를 도입하면 세포의 DNA수복능력이 회복되는 것이 밝혀져(Tanaka 등, 1975; Okada 등, 1977; deJong 등, 1985), 이 질환이 제1단계, 즉 endonuclease의 결손에 의한 것이 시사되었다. 이것은 인간과 phage라는 서로 멀리 떨어진 생물종에 공통의 DNA 수복기구가 존재한다는 것을 나타내고 있다. 또한 최근에는 DNA 수복능에 결함이 있는 hamster의 배양세포에 T₄ endonuclease V를 도입했을 때, DNA 수복능의 회복이 관찰되었다는 보고도 있다(Valerie 등, 1985). T₄ endonuclease V의 원자 level에서의 작용 mechanism은 아직 잘 알려져 있지 않다. 우리는 이 논문에서 핵자기 공명법(NMR)을 사용하여 원자 level에서 T₄ endonuclease V와 DNA의 구조를 연구하여 T₄ endonuclease V의 작용 mechanism에 관해 지견을 얻고자 하였다.

실험방법

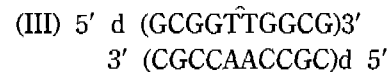
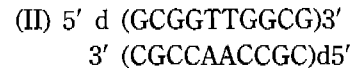
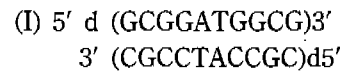
단백질 정제

T₄ endonuclease V 유전자를 갖는 plasmid를 대장균(*E. coli*)에 transformation시킨 후 대장균으로부터 대량생산된 T₄ endonuclease V를 분리 정제하여 NMR실험에 사용했다. 정제과정은 다음과 같다. 균을 30°C에서 배양한 후 균의 밀도가 1 OD정도 되었을 때 β-indoleacrylic acid로 induction하였다. Induction한 후 4시간 후에 균을 원심시켜 pellet를 취하였다. 취한 균을 sonification시켜 파괴시킨 후 원심분리하였다. 상등액을 양이온교환수지인 Bio-Rex 70 column을 통과시킨 후 salt gradient를 걸었다. 단백질이 나온 fraction 부분을 제2의 column에 통과시킨 후 salt gradient를 걸었다. 최종적으로 취한 단백질을 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis로 확인한 결과 99% 이상의 순도를 가지는 단백질을 얻을 수 있었다.

DNA 합성 및 정제

T₄ endonuclease V의 기질(DNA)로서 thymine photo-dimer를 1개 함유하는 DNA 10mer를 합성하였다. Thymine photo-dimer 1개를 함유하는 DNA는 protected thymine dimer derivative를 사용하여 합성하였다(Taylor

등, 1987). DNA의 길이는 10 mer 이상인 경우 이 단백질의 binding에 큰 영향을 미치지 않으므로 10 mer를 합성하였다. 이 단백질은 thymine dimer를 포함하는 specific DNA와 이를 포함하지 않는 nonspecific DNA를 구별하여 repair 작용을 나타내므로 nonspecific DNA도 합성하여 NMR 실험에 사용하였다. Nonspecific DNA는 DNA 합성기를 사용하여 합성하였다. DNA합성은 500 OD 이상하였다. 합성한 DNA sequences는 다음과 같다.



DNA 정제는 다음과 같이 행하였다. 우선 역상 HPLC로 정제하여 major fraction을 취하였다. 이 DNA를 Pyridine Dowex column을 통과시켜 pyridine 형태로 만든 후, 이것을 다시 Na⁺ Dowex column을 통과시켜 Na⁺ 형태로 만들었다. 최종적으로 Chelex Dowex를 통과시켜 금속이온을 제거하였다. 이것을 동결건조시킨후 원하는 buffer로 치환하였다. 90°C에서 annealing을 행한후 NMR 실험에 사용하였다.

NMR 실험

Sample buffer로는 50 mM potassium phosphate(pH 6.5, 0.3 M KCl)를 사용하였다. NMR 측정은 23°C에서 하였다. 사용한 NMR 기계는 JEOL GSX 400M와 Bruker AMX 500M이다. DNA의 D₂O sample은 동결건조법에 의해 제조하였으며 Protein의 D₂O sample은 D₂O로 dialysis하여 제조하였다. 2D NOESY, DQF-COSY, TOCSY는 1.5~2.5 mM DNA 용액을 사용하였으며, protein은 2 mM 용액을 사용하였다. NOE mixing time은 100~200 ms를 사용했으며 TOCSY mixing time은 50 ms를 사용하였다. 1D NOE 실험은 200 ms의 presaturation pulse와 2 s의 delay로 이루어진 inter-leaved difference spectroscopy 방법을 사용하여 행하였다. H₂O 속에서의 측정은 1-1 echo pulse를 사용하여 측정하였다. Chemical shift 값은 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate를 기준으로 하였다.

실험결과

DNA의 Peak Assignment

DNA의 비교환성 proton peak의 assignment는 base proton과 sugar H1' proton 사이의 NOE를 이용하였다. 즉 right-handed DNA에서 base proton(pyrimidine의 H6, purine의 H8)과 같은 잔기에 있는 H1' proton(또는 5' 쪽의 이웃잔기의 H1' proton) 사이의 거리가 가까워 NOE가

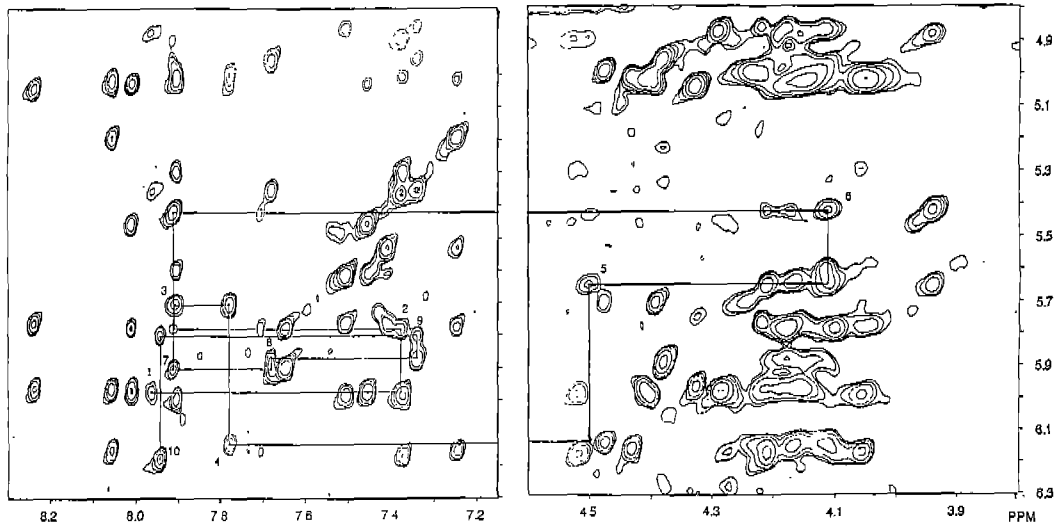


Fig. 1. A Region of 2D NOESY spectrum showing the cross-peak between the base H6/H8 and sugar H1' protons of decamer containing the thymine dimer. Sequential assignments of the d(CGCGTTGGCG) strand are indicated by lines. The spectrum was recorded for D_2O solution (2 mM DNA) with a mixing time of 200 ms.

나타나는 것을 이용했다. DNA I, DNA II, DNA III의 minus strand에 대해 완전한 sequential assignment를 하였다. DNA III(-TT-)의 plus strand의 sequential NOE는 G 1-G4, G7-G10 사이에는 관측이 되었으나 G4와 T5 사이에는 NOE가 관측되지 않았다(Fig. 1). 이것은 이 부위에서 구조에 변화가 있었음을 나타낸다. DNA의 교환성 imino, amino proton peak의 assignment는 H_2O 속에서 측정하여 행하였다. GC1과 GC10 imino proton은 terminal fraying effect때문에 H_2O 와 교환이 매우 빨라 관측되지 않았다. GC2~GC9의 imino proton과 amino proton에 대해 완전히 assignment하였다.

Thymine Dimer 형성으로 인한 Chemical Shift 변화

DNA II와 DNA III의 각 proton peak chemical shift 값으로부터 RMSD(root mean square differences) 값을 구하였다(Fig. 2-1). 이 계산에는 교환성, 비교환성 proton peak의 chemical shift 모두를 사용했다. Chemical shift의 가장 큰 변화가 일어난 곳은 thymine dimer site이지만 dimer position에 이웃한 부분에서도 변화가 일어났다. 이들 변화는 dimer site로부터 거리가 멀어질수록 점차 감소했다. Dimer site의 3' 측에 이웃하고 있는 GC7 base pair에서도 비교적 큰 변화가 일어났다. 전체적으로 변화는 5' 측 보다는 3' 측에서 크게 일어났다. 일부 imino proton peak(TA5, TA6, GC7)는 thymine dimer 형성시 큰 up-field shift를 나타냈다. 이들 큰 shift는 thymine dimer 형성으로 인한 base pair 간의 수소결합의 약화에 의한 것 같다. Thymine dimer 형성으로 인한 RMSD 값의 크기가 어느 정도인가를 알기 위해 DNA II와 DNA III 사이의 RMSD 값을 구하여 비교하였다 (Fig. 2-2). DNA II와 DNA III 사이의 RMSD 값은 thymine dimer site를 제외한 나

머지 부위(GC1~4, GC7~10)에서 DNA II와 DNA I 사이의 RMSD 값보다 약간 컸다.

T₄ Endo V와 DNA I, DNA II와의 복합체 형성시 일어나는 고자장, 저자장 Peak 변화

T₄ Endo V의 결합양식을 연구하기 위해 T₄ Endo V에 대한 DNA I과 DNA II의 결합을 조사했다. DNA II를 T₄ Endo V에 가했을 때 고자장영역인 -0.9, -1.25 ppm에서 새로운 peak가 나타났다. 또한 -0.5~0.5 ppm에서 peak 강도의 변화가 있었다(Fig. 3-1). 저자장영역에선 9.7 ppm 주위에 새로운 peak가 나타났다. 따라서 bound된 형태와 free 형태 사이의 exchange가 NMR time scale보다 늦다는 것을 알았다. -1.25 ppm의 peak를 irradiation했을 때 8.35 ppm 부근에 NOE가 나타났다(Fig. 3-2). 8.35 ppm의 peak는 histidine 16의 aromatic ring의 C-2H peak이다. 따라서 -1.25 ppm 부근의 CH₃ peak는 histidine 16 부근의 amino 산의 methyl기임을 알 수 있다. DNA I 결합의 경우는 peak 변화의 양상이 DNA II 결합의 경우와 달랐다. -0.9와 -1.25 ppm에 새로운 peak가 나타나지 않았으며 -0.5~0.5 ppm, 그리고 9.5~10 ppm의 peak 강도 변화도 작았다.

T₄ Endo V와 DNA II와의 복합체 형성시 일어난 고자장 Peak 변화의 염농도 의존성

단백질의 고자장 영역 NMR peak는 단백질의 3차원 구조를 잘 반영하는 indicator이다. 이들 고자장 영역의 peak는 aromatic ring에 의해 ring-current shift된 methyl기의 peak로 주로 이루어져 있다. 이들 peak는 단백질을 denature 시켜 3차구조를 파괴하면 없어진다. T₄ Endo V와 DNA의 complex 형성으로 생겨난 고자장 peak

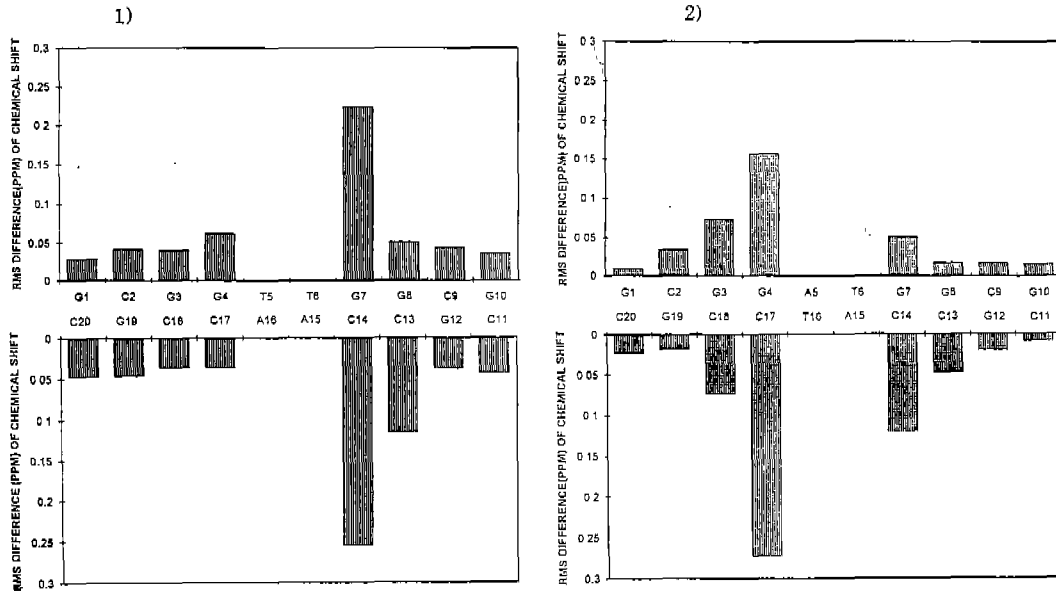


Fig. 2. 1) Root mean square (RMS) differences of the chemical shifts between the proton signals of DNA II and DNA III (upper figure for the plus strand and lower figure for the minus strand).
2) Root mean square (RMS) differences of the chemical shifts between the proton signals of DNA II and DNA I (upper figure for the plus strand and lower figure for the minus strand).

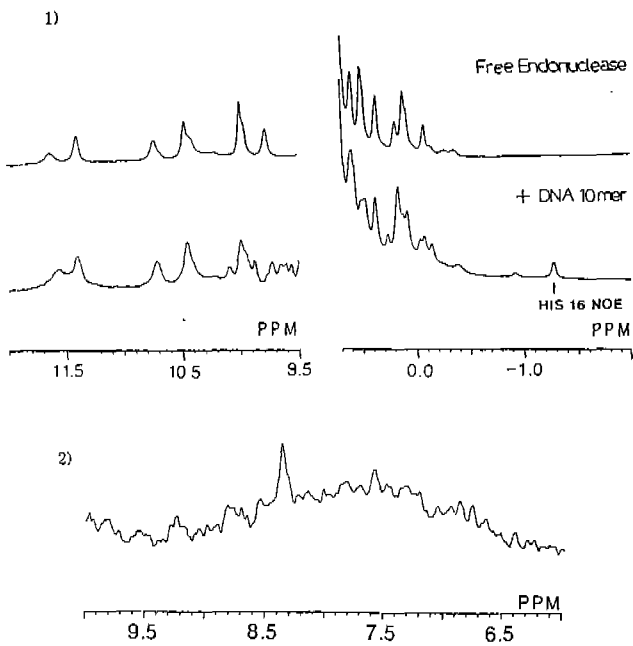


Fig. 3. 1) The high-field and low-field resonances of T₄ Endo V and its complexes with DNA II in H₂O. The molar ratio of T₄ Endo V to DNA was 1, and the concentration of T₄ Endo V was 0.5 mM.
2) NOE difference spectra (off-resonance minus on-resonance). The peak (-1.25 ppm) are saturated for 200 ms.

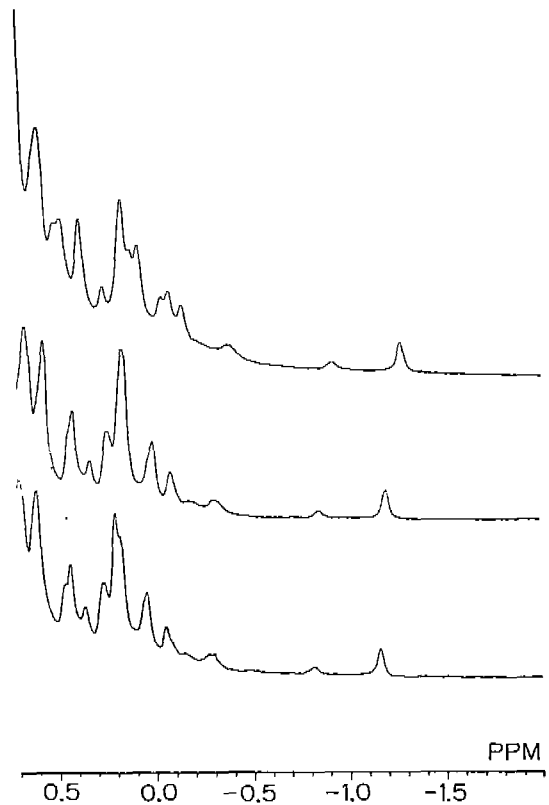


Fig. 4. Effects of increasing concentration of NaCl on the high-field resonances of T₄ Endo V * DNA II complex, with different ratios of NaCl to T₄ Endo V * DNA II complex. The concentrations of NaCl are respectively 0.3 M, 1.3 M, 1.6 M.

(-0.9와 -1.25 ppm)를 염농도를 증가시켜 가면서 관측했다(Fig. 4). NaCl 농도를 1.6 M까지 증가시켜도 -0.9

ppm의 peak와 -1.25 ppm의 peak는 거의 변함이 없었다. 단지 $-0.1 \sim 0.7$ ppm에서만 peak 변화가 있었다.

고 찰

Cyclobutane-type pyrimidine dimer의 존재가 DNA 구조에 distortion을 일으킨다고 알려져 왔다. Dimer의 존재는 DNA의 melting temperature를 낮추고(Hayes 등, 1971), aldehyde 형성을 잘 되게하며(Shafranovskaya 등, 1973), single strand-specific endonuclease에 대한 반응성을 높인다(Legerski 등, 1977; Heflich 등, 1977). NMR data로부터 thymine dimer 주위의 국소적인 구조변화는 있지만 전체구조변화는 비교적 작다는 것을 알았다. 즉 thymine dimer 함유 DNA duplex는 B-form DNA에서 약간의 distortion만을 나타냈다. 구조적 변화는 dimer site로부터 이웃으로 점차 전달되어짐을 알았으며, dimer site의 5' 쪽보다는 3' 쪽이 더 큼을 알 수 있었다. DNA의 imino proton peak의 chemical shift로부터 thymine dimer 함유 DNA(DNA III)에서 3개의 base pair(TA5, TA6, GC7)의 수소결합이 약화는 되었으나 파괴되지 않았음을 알았다.

Protein에 DNA를 가했을 때 protein의 구조변화로 여겨지는 peak 변화가 고자장과 저자장 영역에서 일어났다. TT배열을 함유하는 DNA II의 경우가 AT 배열을 함유하

는 DNA I보다도 peak 변화가 컸다. DNA II를 가했을 때 나타나는 고자장 peak가 어느부위인가를 NOE로 확인한 결과 His 16 주위라는 것을 알았다. 따라서 이 부분을 중심으로 단백질의 구조변화가 일어났음을 알 수 있다. His 16과 매우 가까운 위치에 Trp 128과 Tyr 129가 존재한다(Fig. 5). Trp 128과 Tyr 129는 T₄ Endo V의 C-terminal aromatic ring cluster인 WYKYY에 속하며 이 부위는 DNA와의 binding에 관여하는 부위로 추측되는 곳이다. DNA III와 T₄ Endo V의 complex 실험은 불가능한 상태다. 이것은 T₄ Endo V가 thymine dimer 함유 DNA를 수분 이내에 digest해버리기 때문에 NMR 측정이 불가능하다. 따라서 DNA I, DNA II와 T₄ Endo V의 complex 실험으로부터 model을 유추할 수 밖에 없다.

일반적인 DNA 결합 단백질에서처럼, T₄ Endo V는 다수의 arginine과 lysine 잔기를 함유하고 있다. Protein 표면의 electrostatic potential의 graphic display를 통해서 arginine과 lysine의 positive charge가 protein의 한쪽에 치우쳐 나타나고 있는 것을 알았다(Fig. 6). 따라서 이 부위가 DNA와 electrostatic interaction을 하고 있는 부위라고 추측된다. Arg 26은 T₄ Endo V가 nontarget DNA를 scanning하는데 필요한 잔기로 알려져 있다(Dowd 등, 1990). Arg 26은 T₄ Endo V의 glycosylase 활성화 부위로 알려진 Glu 23과도 가까운 거리에 위치하고 있다(Fig. 6). Glu 23과 Arg 26은 T₄ Endo V의 결정구조에서 helix H 1에 존재한다. 따라서 이 helix H1이 DNA와의 결합에 관여한다는 것을 추측할 수 있다. T₄ Endo V는 C-terminal에 aromatic ring amino acid가 풍부한 sequence(WYKYY)를 갖고 있다. 이 부위에서의 point mutation 결과로부터 이 부위가 thymine dimer specific binding에 관여한다고 알려져 있다(Stump 등, 1988). 이 aromatic segment는 T₄ Endo V를 target site에 정확하게 위치시키는데 중요한 역할을 하는 것 같다.

DNA I과 DNA II는 non-specific DNA에도 불구하고 NMR data를 통해 T₄ endonuclease V가 이들 DNA를

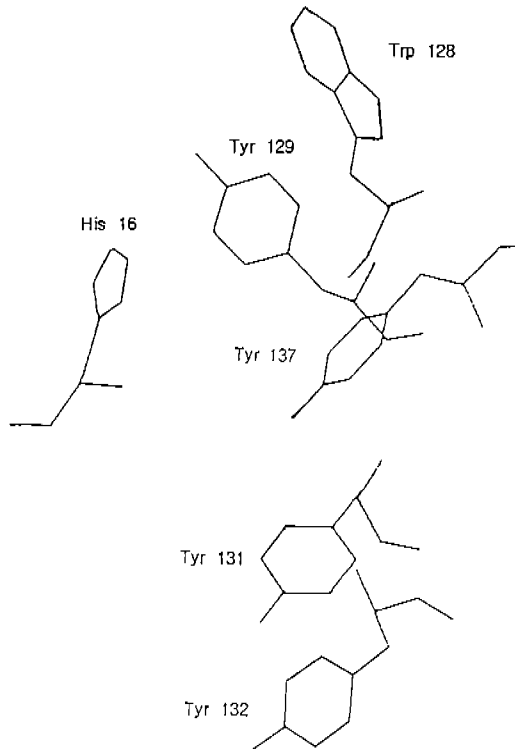


Fig. 5. Relative orientation of His 16 side chain to the side chains of aromatic C-terminal amino acid (WYKYY). These data is from a X-ray crystal structure of T₄ Endo V.

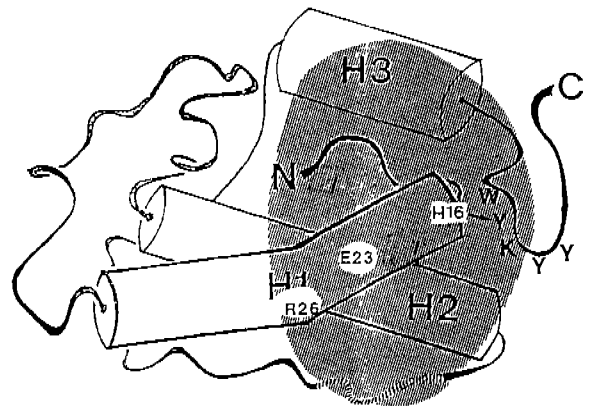


Fig. 6. Schematic drawing of T₄ Endo V from a X-ray crystal structure. The shaded area represents a cluster of positive charges.

구별할 수 있다는 것을 알았다. 따라서 thymine-thymine(-TT-)배열이 T₄ endonuclease V의 DNA결합에 중요한 것 같다. DNA 결합 단백질은 specific DNA와는 강한 결합을 하나 non-specific DNA와는 약한 결합(주로 electrostatic 결합)을 한다. 따라서 염농도를 증가시키면 약한 non-specific 결합은 쉽게 파괴되어 DNA와 단백질은 분리된다. T₄ Endo V * DNA II 복합체에 NaCl을 가해 농도를 1.6 M 까지 올려도 고자장영역의 peak (-0.9 ppm, -1.25 ppm)에 변화가 없음을 알 수 있다. 따라서 DNA II는 non-specific DNA라고 하기보다는 semi-specific DNA라고 할 수 있다.

감사의 말씀

이 논문은 “서울대학교 발전기금 대우학술연구비(1992년)와 보건사회부 신약개발연구비 지원에 의하여 연구되었음”을 감사드립니다.

참고문헌

- Luria, S. E. (1947). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **33**, 253-264.
- Earm, W. (1963). *Virology* **19**, 66-71.
- Yasuda, S. and Sekiguchi, M. (1976). *Biochim. Biophys. Acta* **442**, 197-207.
- Nakabeppu, Y. and Sekiguchi, M. (1981). Physical association of pyrimidine dimer DNA glycosylase and apurinic/apyrimidinic DNA endonuclease essential for repair of ultraviolet-damaged DNA *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 2742-2746.
- Nakabeppu, Y., Yamashita K. and Sekiguchi, M. (1982). Purification and characterization of normal and mutant form of T₄ endonuclease V *J. Biol. Chem.* **257**, 2556-2562.
- Valerie, K., Henderson E. E. and deRiel, J. K. (1984). Identification, physical map location and sequence of the *denV* gene from bacteriophage T₄ *Nucleic Acids Res.* **12**, 80-85-8096.
- Radany, E. H., Naumovski, L., Love, J. D., Gutekunst, K. A., Hall D. H. and Friedberg, E. C. (1984). Physical mapping and complete nucleotide sequence of the *denV* gene of bacteriophage T₄ *Virol. J.* **52**, 846-856.
- Sancar, A. and Sancar, G. B. (1988). DNA repair enzymes *Ann. Rev. Biochem.* **57**, 29-67.
- Thomas, D. C., Levy M. and Sancar, A. (1985). Amplification and purification of UvrA, UvrB, and UvrC proteins of Escherichia coli. *J. Biol. Chem.* **260**, 9875-9883.
- Oh, E. Y. and Grossman, L. (1987). Helicase properties of the Escherichia coli UvrAB protein complex *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 3638-3642.
- Myles, G. M., Houten, B. V. and Sancar, A. (1987). Utilization of DNA photolyase, pyrimidine dimer endonucleases and alkali hydrolysis in the analysis of aberrant ABC excinuclease incisions adjacent to UV-induced DNA photoproducts *Nucleic Acids Res.* **15**, 1227-1243.
- Sancar, A. and Rupp, W. D. (1983). A novel repair enzyme: UvrABC excision nucleus of Escherichia coli cuts a DNA strand on both sides of the damaged region *Cell* **33**, 249-260.
- Valerie, K., Henderson, E. E. and deRiel, J. K. (1985). Expression of a cloned *denV* gene of bacteriophage T₄ in Escherichia coli *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 4763-4767.
- Chenevert, J. M., Naumovski, L., Schultz, R. A. and Friedberg, E. C. (1986). Partial complementation of the UV sensitivity of E. coli and yeast excision repair mutants by the cloned *denV* gene of bacteriophage T₄ *Mol. Gen. Genet.* **203**, 163-171.
- Recinos, A. III, Augustine, M. L. Higgins, K. M. and Lloyd, R. S. (1986). Expression of the bacteriophage T₄ *denV* structural gene in Escherichia coli *J. Bacteriol.* **168**, 1014-1018.
- Shimizu, K. and Sekiguchi, M. (1979). *Mol. Gen. Genet.* **168**, 37-47.
- Cleaver, J. E. (1968). Defective repair replication of DNA in Xeroderma pigmentosum *Nature* **218**, 652-656.
- Tanaka, K., Sekiguchi, M. and 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.
- deJonge, A. J. R., Vermeulen, W., Keijzer, W., Hoeizmakers, J. H. J. and Bootsma, D. (1985). Microinjection of Micrococcus luteus UV-endonuclease restores UV-induced unscheduled DNA synthesis in cells of 9 Xeroderma pigmentosum complementation groups *Mutation Res.* **150**, 99-105.
- Valerie, K., deRiel, J. K. and Henderson, E. E. (1985). Genetic complementation of UV-induced DNA repair in chinese hamster ovary cells by the *denV* gene of phage T₄ *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 7656-7660.
- Taylor, J. S., Brockie, I. R. and O'Day, C. L. (1987). A building block for the sequence-specific introduction of cis-syn thymine dimers into oligonucleotides. solid-phase synthesis of T_PT[c,s]_PT_PT *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 6735-6742.
- Hayes, F. N., Williams, D. L., Ratliff, R. L., Valglese, A. J. and Rupert, C. S. (1971). Effect of a single thymine photodimer on the oligodeoxythymidylate-polydeoxyacetylate interaction *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 4940-4942.
- Shafraunovskaya, N. N., Trifonov, E. N., Lazurkin, Yu. S. and Frank-kamenetski, M. D. (1973). *Nature New Biol.* **241**, 58-60.
- Legerski, R. J., Gray, H. B. and Robbertson, D. L. (1977). A sensitive endonuclease probe for lesions in deoxyribonucleic acid helix structure produced by carcinogenic or mutagenic agents *J. Biol. Chem.* **252**, 8740-8746.
- Heflich, R. H., Dorney, D. J., Maher V. M. and McCormick, J. J. (1977). Reactive derivatives of benzo(A)pyrene and 7, 12-dimethylbenz(A)anthracene cause S₁ nuclease sensitive sites in DNA and "UV-like" repair *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **77**, 634-641.
- Dowd, D. R. and Lloyd, R. S. (1990). Biological significance of facilitated diffusion in protein-DNA interactions *J. Biol. Chem.* **265**, 3424-3431.
- Stump, D. G. and Lloyd, R. S. (1988). Site-directed mutagenesis of the T₄ endonuclease V gene: Role of tyrosine-129 and -131 in pyrimidine dimer-specific binding *Biochemistry* **27**, 1839-1843.