

분열형 효모에서 유전자 결실에 의해 알킬화제와 3-AMINO BENZAMIDE에 저항성을 나타내는 새로운 유전자의 특성 분석

차재영 · 황성진 · 박세근 · 김미영 · 백성민 · 최인순¹ · 이정섭² · 박종균*

원광대학교 자연대 생명과학부, 신라대학교 자연대 생물과학부¹
조선대학교 자연대 생명과학과²

Characterization of a New Gene Resistant to Alkylating Agents and 3-Aminobenzamide When Knocked Out in Fission Yeast

JY Cha, SJ Hwang, SG Park, MY Kim, SM Baek, IS Choi¹, JS Lee² and JK Park*

Div. of Biological Science, Wonkwang Univ., Iksan, Chonbuk, Div. of Biological Science, Shinra Univ., Busan¹
Dept. of Life Science, Chosun Univ., Kwangju²

Abstract

The organization of eukaryotic chromatin into specific conformation that are associated with transcription, replication, repair and other nuclear processes are achieved via a series of DNA-protein interaction. These interactions are mediated by a range of DNA-binding domains such as SAP domain *et al.* By searching *S. pombe* genomic DNA database, we have found a gene named *SAPuvs* (SAP UV Sensitive) whose amino acid sequence is in part similar to SAP domain of *Arabidopsis* poly (ADP-ribose) polymerase and Ku70. Knock-out cell of *S. pombe* *SAPuvs* gene was constructed using *Ura4* as a selection marker. Survival analysis of knock-out cell indicated that treatment with UV significantly reduces the survival compared to wild type cell. Potentiation of MMS-induced cytotoxicity by 3AB post-treatment was observed in wild type cells, but not in knock-out cells. These data suggested that the protein encoded by *SAPuvs* gene is associated with chromatin reorganization during DNA repair.

Key words – *S. pombe*, MMS (methylmethane sulfonate), UV, 3AB (3-Aminobenzamide), PARP (poly (ADP-ribose)polymerase), SAP (SAF-A/B, Acinus and P-IAS) domain

서 론

진핵세포의 염색체는 전사, 복제, 회복 등의 과정에서 관여하는 단백질의 기능으로 구조가 변하게 된다. 이때 관여하는 단백질은 DNA-단백질의 상호작용에 의해서 이루

어지게 되는데, 이때 단백질의 일부는 일정한 상동성이 존재하게 된다. 이러한 부분은 motif나 domain으로 구성되는데, 예를 들면, high mobility group 1 (HMG1)[6], AT hook[5], plant homeodomain (PHD) finger[1], bright domain[7], Myb/SANT domain[2]과 SAP domain[4]등을 들 수 있다.

SAP (SAF-A/B, Acinus and PIAS) domain은 전사, 복제, DNA 상해회복에 관련된 몇 유전자에서 발견된 domain

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 063-850-6200, Fax : 063-843-2781:
E-mail : jkpark@wonkwang.ac.kr

으로, 식물의 PARP (poly (ADP-ribose)polymerase)과 척추동물, 선충류, 곰팡이의 DNA 회복 단백질인 Ku70/80에서 발견되었다[4]. 이러한 유전자 회복에 관련된 단백질 외에도 전사 등에 관련된 helicase II[18]등에서도 발견되었다.

원핵세포와 진핵세포에서의 DNA 회복 기작 연구에는 염기 절제회복기작(base excision repair, BER)과 뉴클레오타이드 절제회복기작(nucleotide excision repair, NER)등이 있다. 이러한 회복 기작은 자외선으로부터 생성되는 cyclobutane pyrimidine dimer (CPD), (6-4) photoproducts, 커다란 화학적 염기 부가물 그리고 DNA 교차결합 등의 상해들로부터 유도된다. 대장균에서의 연구에서 이러한 상해 제거는 여러 단계를 거쳐 수행되는 것으로 보고되었다[19]. 뉴클레오타이드 절제회복기작(nucleotide excision repair, NER)이 진행될 때는 상해를 입은 DNA에 여러 관련된 단백질이 결합하여 상해부분을 포함하여 가닥을 열어주는 과정이 필요하다[8,15,20]. 반면에 염기 절제회복기작(base excision repair, BER)의 경우는 DNA glycosylase가 deoxynucleoside 바깥부분의 염기-당 결합의 촉매반응에 의해서 회복기작이 수행된다[9]. 따라서, 염색체의 커다란 변형이 요구되지 않는다.

SAP domain은 DNA 결합 단백질이 가지고 있는 domain으로 DNA와 상호 작용할 가능성이 크다. 따라서 본 연구에서는 현재까지 발견된 SAP domain을 중심으로 *S. pombe*의 genomic DNA 염기서열을 아미노산 서열로 전환하여 SAP domain과 상동성이 높은 유전자를 분석하여 DNA 회복과정에 관여하는 새로운 유전자를 SAP_{UVs} (SAP UV Sensitive) 유전자로 명명하였으며, 이를 유전자의 기능을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

상동성을 보이는 유전자 분석

NCBI의 blast와 Sanger Centre의 *Schizosaccharomyces pombe*의 genome project database를 이용하여 가능성 있는 유전자를 선별하였다.

균주 및 유전자 운반체

균주로는 *Schizosaccharomyces pombe* diploid (DE668: *h+*, *leu1-32*, *ura4-D18*, *ade6-M216*; ED665: *h+*, *leu1-32*, *ura4-D18*,

ade6-M218)을 사용하였으며, genomic DNA는 Sanger centre에서 얻은 *S. pombe* genomic DNA clone C31H12를 이용하였다. Plasmid vector로는 pGEM-7zf와 한국식물유전체 연구단에서 보내준 SK-T vector를 사용하였다. Cloning된 plasmid를 증폭하기 위하여 형질전환에 사용된 *Escherichia coli* 균주로는 JM109를 사용하였다.

Knock-out을 위한 Polymerase Chain Reaction

PCR방법은 Cryer등의 방법[7]을 변형하여 사용하였다. PCR기기는 Stratagene사의 robocycler을 사용하였다. Knock-out을 위한 실험에서는 *S. pombe* genomic DNA clone C31H12를 추출하여 주형으로 30 ng정도를 사용하였고 Knock-out을 확인하기 위해서는 knock-out 된 세포로부터 genomic DNA를 추출하여 사용하였다. 또한 primer 염기서열은 primer 1 (forward): 5'-CTT GAC GCT AAA GGT TGT TGA ATG-3', primer 2 (reverse): 5'-AGG GAG AAA GTA TAT CCC AAC ATC-3', primer 3 (reverse): 5'-GTT CAT ACT TGA TGA ATG GTC CGT-3'이며, primer를 0.5 μM를 각각 사용하였다. 또한 이 반응에는 0.2 mM dNTP와 TaKaRa사의 Pyrobest *Taq* polymerase를 사용하였다. Denaturation은 94°C에서 1분, annealing은 54°C에서 30초간 하였고 elongation은 72°C에서 1분간하여 35 cycle을 수행하였다. 이를 확인하기 위하여 1% 아가로스 젤에서 전기영동하여 확인하였다.

세포형태 관찰

정상의 *S. pombe* ED668 세포와 SAP_{UVs} knock-out 세포를 ZEISS 현미경 400배율에서 관찰하여 ZEISS digital camera로 같은 노출로 촬영하였다.

Survival 실험

정상 세포와 SAP_{UVs} gene knock-out cell을 3AB가 첨가된 YES 또는 정상 YES 배지에 dotting 한 후 다양한 선량의 자외선과 MMS를 처리한 후 12시간 또는 36시간 후까지 배양하여 형성된 colony를 digital camera로 촬영하였다.

결 과

SAP domain과 상동성을 보이는 유전자 분석

본 연구자는 SAP domain을 가지는 새로운 유전자를 *S.*

*pombe*에서 분석하기 위하여 Sanger 센터의 *S. pombe* 데이터베이스를 tblastx program으로 분석하였다. 여기에서 C31H12.c03 유전자는 아직 그 특성이 밝혀지지 않은 유전자로 그 안에 포함된 SAP domain은 식물의 *Arabidopsis thaliana* PARP의 DNA binding domain내에 존재하는 SAP과 68% 또는 78%의 높은 상동성을 보였다(Fig. 1). SAP domain을 가지고 있는 여러 단백질과도 상동성이 보였으나, *Arabidopsis thaliana* PARP의 SAP이 가장 높은 상동성을 보였다. 이 유전자의 뉴클레오티드 서열을 조사하여 예상 ORF를 분석하였고 이를 기초로 아미노산 서열로 번역하였다(Fig. 2). 이렇게 분석된 유전자를 *SAP_{Uvs}* (*SAP UV sensitive*)으로 명명하였다.

상동성 유전자의 Knock-out 세포 구성

SAP_{Uvs} 유전자의 세포 내에서의 기능을 확인하기 위하여 상동성이 높게 나타난 SAP domain 부분을 결실시켰다. 상동성 부분을 결실시키기 위하여 SAP domain이 들어있는 genomic DNA clone인 C31H12 clone을 Sanger센터로부터 기부받았으며, 이를 주형으로 PCR을 하여 상동성 부분을 포함하여 1212 bp의 DNA 절편을 얻었다(Fig. 3 A and B). 또한 증폭된 DNA 서열이 원하는 부분인지 확인하기 위하여 nested PCR을 통해 816 bp의 DNA를 합성하여 SAP domain부분이 존재하는 DNA임을 확인하였다(Fig. 3 A and B).

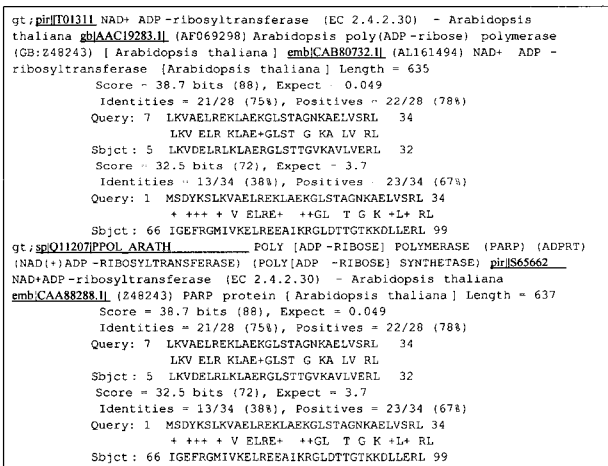


Fig. 1. Blast search results from *S. pombe* genome project database showing homology with *Arabidopsis thaliana* PARP amino acids sequence.

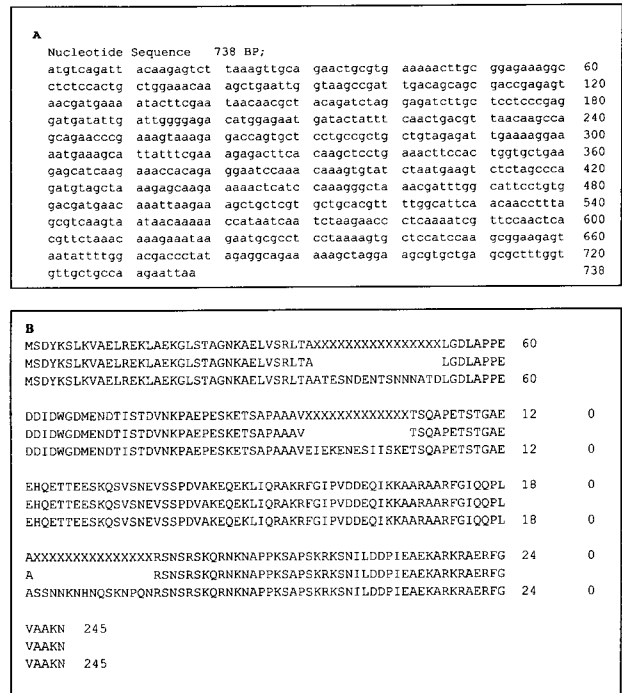


Fig. 2. Nucleotide (A) and amino acid (B) sequences of the *SAP_{Uvs}* gene in *S. pombe*. X, intron region.

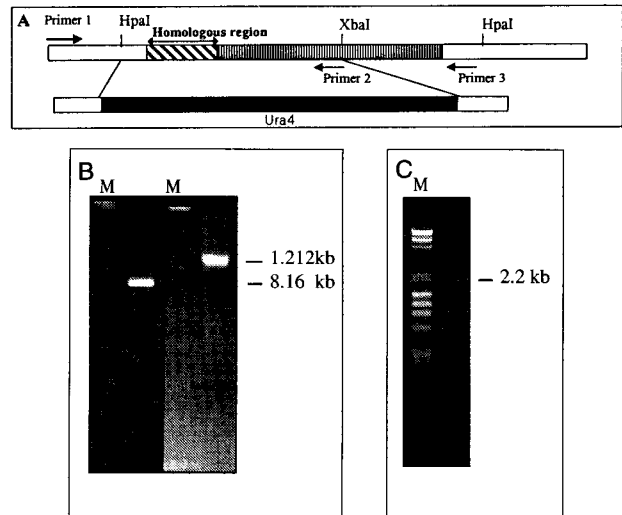


Fig. 3. (A) strategy of homologous recombination for knock-out *S. pombe* *SAP_{Uvs}* gene. (B) The 1,212 bp fragment is amplified using the *S. pombe* genomic DNA as a template and primer 1 and primer 3. The 816 bp fragment is a nested PCR product of the 1,212 bp fragment using primer 1 and primer 2. (C) 2.2 kb fragment is amplified using the knock-out *S. pombe* genomic DNA as a template and primer 1 and primer 3.

이렇게 합성된 유전자를 T-vector에 넣어 증폭시킨 후 Hpa I과 Xba I으로 절단하여 SAP domain 부분을 제거하고 이 부분에 선별표지로 사용하는 *Ura4* 유전자를 넣어 재조합 DNA를 합성하였다. 이렇게 합성된 DNA를 PCR로 증폭하여 증폭된 DNA를 배수체 *S. pombe*에 형질 전환하여 SAP domain 부분이 결실된 세포를 얻었다. 이를 확인하기 위하여 genomic DNA를 추출하여 이를 주형으로 primer1과 primer 3으로 PCR하여 SAP domain이 결실된 세포임을 확인하였다(Fig. 3C).

SAP domain결실에 따른 세포 외형의 변화

SAP domain이 결실된 세포는 정상 세포와는 다른 외형을 보였다(Fig. 4). 그림 4에서 보이는 것과 같이 정상 세포의 경우 같은 형태로 분열하는 것과는 다르게 동일한 분열이 아닌 비정상적인 분열을 보였다. 이는 유전자 결실에 따른 세포 분열의 이상으로 보이고 따라서 이 유전자가 세포분열과정에 관여함을 시사한다.

알킬화제와 자외선 처리에 따른 SAPuvs유전자결실의 영향

정상세포와 knock-out된 세포에 자외선을 0~120 J/m²의 선량으로 조사하고 세포의 성장되는 정도를 비교 분석하였다(Fig. 5 A and B). 정상세포는 자외선 상해 중 회복하여 성장하는 반면, knock-out세포는 30 J/m² 이상의 자외선 상해를 회복하지 못하고 죽었다. 이는 SAP domain을 가지고 있는 유전자가 자외선의 상해회복에 필요한 유전자임을 확인한 결과이다.

알킬화제인 MMS 처리에서는 knock-out세포가 저항성을 보이며 정상세포의 성장속도 보다 잘 자라는 현상을 보였다(Fig. 5C). 이는 *SAPuvs* 유전자가 MMS에 의한 DNA 상해 회복 과정에서 역할을 수행하지만 유전자의 결실로 인하여 MMS에 대한 저항성이 높아진 것으로 보여진다.



Fig. 4. Light micrographs (1000×) of *S. pombe* wild type (A) and *SAPuvs* gene knock-out cell (B and C).

3AB는 BER (base excision repair)를 저해하는 물질로 MMS와 함께 처리한 결과 MMS만 처리한 세포와 같은 세포수에 처리하였음에도 불구하고 3AB의 영향으로 적게 자랐다(Fig 5D). 이는 MMS 처리후 상해회복과정이 진행되었음을 알 수 있다. 따라서, *SAPuvs*는 DNA 상해회복에서 직접적인 회복과정에 관여하는 것이 아니라, DNA 상해회복과정을 수행할 수 있도록 염색사의 구조를 변화시키는데 관여하는 것으로 추측할 수 있다.

고 찰

SAP domain은 동물, 식물, 곰팡이, 효모 등에서 염색체를 안정화시키는데 관여하는 단백질의 DNA-binding domain이다[4,6,16]. SAP domain이 N-terminal에 존재하는 유전자는 식물의 poly (ADP-ribose) polymerase와 인간의 Acinus이며, SAF-A와 DNA 상해회복 단백질도 상동성을 보였다[4,12].

이러한 유전자들은 DNA 상해회복과 염색체의 안정성에 관여하고 있는데 그 특징이 있다. 따라서 N-terminal 부분에 SAP domain을 가지고 있는 유전자의 경우 대부분이 이 부분이 DNA-binding domain이었다[7].

*S. pombe*는 하등진핵세포로서 분열법으로 성장을 하고 *Saccharomyces cerevisiae*보다는 진화된 유전정보를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. *S. pombe*는 genomic DNA 서열이 완전히 밝혀졌으며, 유전자 기능을 연구하기 편리한 시스템을 가지고 있다. 본 연구자는 *S. pombe*에서 SAP domain을 가지고 있는 새로운 유전자의 기능을 밝히고자 하였다.

SAP domain을 가지고 있으며, DNA 상해회복 및 염색체 안정성에 관여하는 유전자를 찾기 위하여 이미 밝혀진 유전자 중 PARP의 SAP domain을 중심으로 분석하였다. *S. pombe*의 밝혀진 genomic DNA 서열을 단백질로 번역될 가능성이 있는 ORF를 번역하여 아직 연구되지 않은 단백질의 아미노산 서열을 PARP의 SAP domain으로 상동성이 높은 유전자를 blast search program을 이용하여 분석하였다[3]. 78%와 68%의 상동성을 보이는 유전자 부분은 C31H12.c03부분으로 밝혀졌다. 이 부분의 가능성 있는 새로운 motif를 분석하였으나, 단지 SAP domain만이 존재하였다(Fig. 2)

Jean-Paul Javerzat [9]은 염색체 분리에 관여하는 새

분열형 효모에서 유전자 결실에 의해 알킬화제와 3-AMINO BENZAMIDE에 저항성을 나타내는 새로운 유전자의 특성 분석

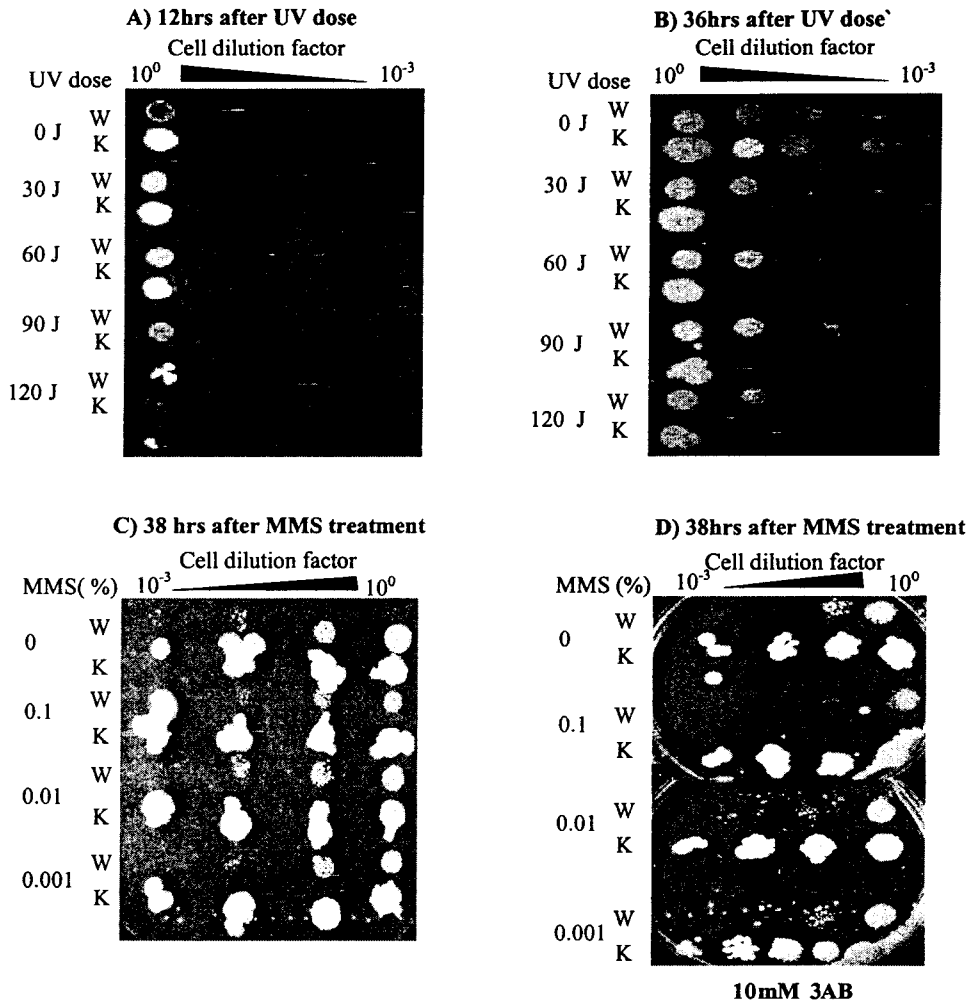


Fig. 5. Survival test of wild type (W) or knock-out (K) *S. pombe* cell irradiated by UV (A, B) or treated with MMS (C, D). (A) and (B); Survival of yeast cells irradiated by various doses of UV and then incubated on complete medium for 12 hrs (A) or 36 hrs (B). (C) Survival of yeast cells exposed to various doses of MMS for 1 hr and then incubated on complete medium for 38 hrs. (D); Survival of yeast cells exposed to various doses of MMS for 1 hr and then incubated on complete medium containing 10 mM 3AB for 38 hrs.

로운 유전자를 찾았는데 *mlo1*, *mlo2*, *mlo3*이었다. 이 중 *mlo1*이 본 연구에서 분석된 유전자와 같은 유전자였으며, *mlo1* 유전자의 일부 cDNA를 클로닝하여 이를 초과 발현시켜 이 유전자의 기능을 분석하였다. 이 유전자의 일부를 과발현시켰을 때 염색체가 비분리되는 현상을 보고하였다 [9]. 하지만 이때 보고된 유전자는 C-terminal 부분으로부터 일부분이며, SAP domain은 포함되지 않았다. 본 연구자가 분석한 SAP domain은 식물의 PARP과의 상동성이 가장 높았으며, PARP 또한 염색체 안정성에 관여하는 기능을 가지고 있다. PARP이 초과 발현되면 NAD^+ 를 이용

하여 염색체에 관여하는 DNA binding 단백질에 ADP-ribose polymer를 형성하여 염색체를 풀어지도록 도와 준다[13]. 또한 인간, 쥐, 초파리, 식물까지 PARP의 존재 여부가 밝혀졌으나[11,13,14], 아직까지는 yeast에서의 존재가 밝혀지지 않고 있다. 하지만 비슷한 기능의 단백질이 존재할 것으로 믿어지고 있다.

*SAPuvs*의 경우는 PARP의 NAD domain과 상동성을 갖는 부분이 존재하지 않았다. 따라서, *SAPuvs*가 PARP이라고는 단정할 수는 없지만 PARP의 DNA binding domain을 가지고 있으므로 PARP과의 연관성이 없다고 볼 수는

없다. 진화학적으로 보았을 때 인간으로부터 초파리, 식물에서 PARP의 경우 유전자 구조가 다르게 나타났다[13]. 또한 효모에서는 다른 형태의 구조를 구성할 가능성도 있으므로 효모에서는 단백질의 복합체를 이루어 PARP의 기능을 수행할 가능성도 있다. 따라서, SAPuvs의 경우는 DNA 결합요소로 회복단백질복합체의 일부부분으로 보여진다.

SAPuvs결실 돌연변이세포는 자외선에 저항성이 떨어져 생존율이 적었다. 이는 자외선 상해에 따른 DNA 상해회복에 실패하여 세포가 죽음으로 이른 것으로 보여진다. 자외선 상해는 pyrimidine dimer와 같이 주변 염기에 이상이 NER (nucleotide excision repair)의 과정에 의해 회복된다. 이 과정은 상해부분을 포함하여 24~48개의 뉴클레오타이드를 잘라내고 다시 합성하는 과정으로 상해회복이 이루어진다. 따라서, 자외선에 의한 상해회복은 염색체의 구조가 풀어져야 회복이 가능해진다[17].

본 연구에서 SAPuvs 결실 돌연변이의 자외선 조사 실험에서는 자외선 상해가 증가함에 따라 세포가 죽어가는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 MMS의 상해의 경우는 BER (base excision repair)과정으로 회복하므로 염기하나의 절단 및 합성과정에는 염색체가 풀리는 복잡한 과정이 절실히 요구되지는 않는다[12]. BER의 저해제인 3AB의 처리에 따른 회복 저해 현상이 이를 증명할 수 있다.

본 연구에서 SAPuvs는 MMS와 3AB에 영향을 받는다. 따라서, 식물이나 동물의 PARP의 원형(prototype)을 제시할 가능성이 있다. 이 경우 본 연구의 SAPuvs는 DNA 결합 domain만 존재하고 고등진핵세포의 PARP에서 보이는 NAD 결합 domain이나, automodification domain 등은 보이지 않는다. SAPuvs 단백질이 효모 세포 내에서 고등진핵세포의 PARP과 유사한 기능을 수행하기 위해서는 다른 단백질과의 복합체 형성이 요구될 것이다.

본 연구자는 앞으로 SAPuvs 유전자의 promoter를 과발현 promoter인 p3nmt로 상동성 재조합을 통해 대치시켜 과발현을 유도하여 복합체를 밝히고, GFP를 N-terminal에 tag하여 발현시키고 세포 내에서 SAPuvs의 위치를 확인하고자 한다.

요 약

진핵세포의 염색체는 전사, 복제, 회복 등의 과정에서 관여하는 단백질의 기능으로 구조가 변하게 된다. 이때 관

여하는 단백질은 DNA-단백질의 상호작용에 의해서 이루어지게 되는데, 이때 단백질의 일부부분은 일정한 상동성이 존재하게 된다. 이러한 부분은 motif나 domain으로 구성되는데, 예를 들면, SAP domain등을 들 수 있다. *S. pombe* genomic DNA 데이터베이스를 검색하여 *Arabidopsis* PARP과 KU70과 상동성을 보이는 새로운 유전자를 찾았다. 이를 SAPuvs (SAP UV Sensitive)라 명명하였으며, Ura4를 선별표지로 이용하여 *S. pombe* SAPuvs 유전자 결실세포를 구성하였다. SAPuvs 유전자 결실세포는 자외선 조사 실험에서 정상의 세포에 비해 현저하게 죽었다. 그러나, MMS 또는 MMS와 3AB의 처리 실험에서는 저항성을 보였다. 이러한 결과로 SAPuvs는 DNA 상해회복에서 염색사구조 형성에 연관되어 있음을 확인하였다.

감사의 글

“이 논문은 원광대학교 2001년도 교비연구지원에 의하여 연구되었음”

참 고 문 헌

1. Aasland, R., T. J. Gibson and A. F. Stewart. 1995. The PHD finger: implications for chromatin-mediated transcriptional regulation. *Trends Biochem Sci.* **20**, 56-59.
2. Aasland, R., A. F. Stewart and T. Gibson. 1996. The SANT domain: a putative DNA-binding domain in the SWI-SNF and ADA complexes, the transcriptional co-repressor N-CoR and TFIIB. *Trends Biochem Sci.* **21**, 87-88.
3. Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* **25**, 3389-3402.
4. Aravind, L. and E. V. Koonin. 2000. SAP-a putative DNA-binding motif involved in chromosomal organization. *Trends Biochem. Sci.* **25(3)** 112-114.
5. Aravind, L. and D. Landsman. 1998. AT-hook motifs identified in a wide variety of DNA-binding proteins. *Nucleic Acids Res.* **26**, 4413-4421.
6. Baxevanis, A.D. and D. Landsman. 1995. the HMG-1 box protein family: classification and functional relationships. *Nucleic Acids Res.* **23**, 1604-1613.

7. Cryer, D. R., R. Eccleshull and J. Marmur. 1975. in *Methods cell Biology*, **12** : 39-44, Academic Press.
8. Gregory, S. L., R. D. Kortschak, B. Kalionis and R. Saint. 1996. Characterization of the dead ringer gene identifies a novel, highly conserved family of sequence-specific DNA-binding proteins. *Mol. Cell Biol.* **16**, 792-799.
9. Javerzat, J. P., G. Cranston and R. C. Allshire. 1996. Fission yeast genes which disrupt mitotic chromosome segregation when overexpressed. *Nucleic Acids Res.* Dec **1** ; **24(23)** 4676-4683.
10. Laat de, W. L., N. G. Jaspers and J. H. Hoeijmakers. 1999 Molecular mechanism of nucleotide excision repair. *Genes Dev.* **13**, 768-785.
11. Lepiniec, L., E. Babiychuk, S. Kushnir, M. Van Montagu and D. Inze. 1995. Characterization of an *Arabidopsis thaliana* cDNA homologue to animal poly (ADP-ribose) polymerase. *FEBS Lett.* **364(2)** 103-108.
12. Lindahl, T. 2001. Keynote: past, present, and future aspects of base excision repair. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* **68** : xvii-xxx.
13. Menissier, de Murcia J., G. de Murcia, V. Schreiber, M. Molinete, B. Saulier, O. Poch, M. Masson and C. Niedergang. 1994. Structure and function of poly (ADP-ribose) polymerase. *Mol, Cell Biochem.* **138(1-2)** 15-24.
14. Miwa, M., K. Uchida, S. Hanai, K. Ishikawa, Y. Ozawa, M. Uchida and T. Sugimura. 1993. Cloning of cDNA encoding *Drosophila* poly (ADP-ribose) polymerase: leucine zipper in the auto-modification domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90(8)** 3481-3485.
15. Romig, H., F. O. Fackelmayer, A. Renz, U. Ramsperger and A. Richter. 1992. Characterization of SAF-A, a novel nuclear DNA-binding protein from HeLa cells with high affinity for nuclear matrix/scaffold attachment DNA elements. *EMBO J.* **11**, 3431-3440.
16. Sancar, A. S. 1996. DNA excision repair. *Annu. Rev. Biochem.* **65**, 43-81.
17. Scott Hawleya, R., J. J. Sekelsky, K. J. Hollis, A. I. Eimerl and K. C. Burtis, 2000. Nucleotide excision repair endonuclease genes in *Drosophila melanogaster*. *Mut. Res.* Volume **459(3)** 219-228
18. Tatusov, R. L., S. F. Altschul and E. V. Koonin. 1994. Detection of conserved segments in proteins: iterative scanning of sequence databases with alignment blocks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 12091-12095.
19. Valdez, B. C., D. Henning, L. Perlaky, R. K. Busch and H. Busch. 1997. Cloning and characterization of Gu/RH-II binding protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **234**, 335-340.
20. Van Houten, B. 1990. Nucleotide excision repair in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* **54(1)** 18-51.
21. Wood, R. D. 1996. DNA repair in eukaryotes. *Annu. Rev. Biochem.* **65**, 135-167.

(Received February 20, 2002; Accepted April 19, 2002)