

**Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów
Polskiej Akademii Nauk w Łodzi**



**SZKOŁA DOKTORSKA
BioMedChem**

Uniwersytetu Łódzkiego
i Instytutów Polskiej
Akademii Nauk w Łodzi



mgr Filip Gąsior

*Analiza funkcjonalna potencjalnych białek naprawy DNA – Msmeg_1891
i Rv3226c – u prątków z rodzaju Mycobacterium.*

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem

promotora: dr hab. Anny Brzostek, prof. IBM PAN

promotora pomocniczego: dr Przemysława Płocińskiego

Praca wykonana w ramach realizacji grantu Narodowego Centrum Nauki,

*OPUS 17 nr. 2019/33/B/NZ1/02770, pt.: „Weryfikacja roli białek –
przewidywanych czynników naprawczych, biorących udział w naprawach
pęknięć DNA u mykobakterii”.*

Kierownik projektu: dr Przemysław Płociński



NARODOWE CENTRUM NAUKI

Życiorys naukowy

Wykształcenie

- **Uniwersytet Łódzki**

Mikrobiologia

10.2017 – 06.2019

Specjalizacja: Mikrobiologia, mikrobiologia medyczna, immunologia i diagnostyka laboratoryjna

Poziom wykształcenia: magister

Tytuł pracy: „*Udział białka Msmeg_1891 w odpowiedzi na uszkodzenia DNA u prątków z rodzaju Mycobacterium*”.

- **Uniwersytet Łódzki**

Mikrobiologia

10.2014 – 07.2017

Poziom wykształcenia: licencjat

Tytuł pracy: „*Przyczyny i skutki występowania antybiotyków w środowisku*”.

Publikacje

- Minias A., Żukowska L., Lechowicz E., **Gąsior F.**, Knast A., Podlewska S., Zygała D., Dziadek J. Early drug development and evaluation of putative antitubercular compounds in the – omics era. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11:618168. **100 pkt. MEiN; IF = 5,640.**
- Minias A., **Gąsior F.**, Brzostek A., Jagielski T., Dziadek J. Cobalamin is present in cells of non-tuberculous mycobacteria, but not in *Mycobacterium tuberculosis*. *Scientific Reports*. 2021; 11:12267. **140 pkt. MEiN; IF = 4,379.**

- Brzostek A., Płociński P., Minias A., Ciszewska A., **Gąsior F.**, Pawełczyk J., Dziadek B., Słomka M., Dziadek J. Dissecting the RecA-(In)dependent Response to Mitomycin C in *Mycobacterium tuberculosis* Using Transcriptional Profiling and Proteomics Analyses. *Cells*. 2021; 10(5):1168. **140 pkt. MEiN; IF = 6,600.**
- Brzostek A., **Gąsior F.**, Lach J., Żukowska L., Lechowicz E., Korycka-Machała M., Strapagiel D., Dziadek J. ATP-Dependent Ligases and AEP Primases Affect the Profile and Frequency of Mutations in Mycobacteria under Oxidative Stress. *Genes*. 2021; 12(4):547. **100 pkt. MEiN; IF = 4,096.**

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF; z ang. Impact Factor) publikacji: **20,715**. Łączna liczba punktów wg listy czasopism punktowanych MEiN: **480**.

Komunikaty i doniesienia zjazdowe

- *Deciphering the role of SRAP proteins associated with DNA damage repair in Mycobacterium*. Gordon Research Seminar on Tuberculosis Drug Discovery and Development. Castelldefels, 22-23.07.2023.
- *Functional analysis of a potential DNA repair protein Msmeg_1891 in Mycobacterium smegmatis*. Polski Kongres Genetyki, Kraków 27-30.06.2022.
- *Determination of the Msmeg_1891 role in response to DNA damage in M.smegmatis*. ESM 41st Annual Congress (Virtual), 28-29.06.2021.
- Udział białka Msmeg_1891 w odpowiedzi na uszkodzenia DNA u *Mycobacterium smegmatis*. Makro – kierunki w mikro – biologii. Warszawa, 02.12.2019.
- *Identification of Msmeg_1891 protein involved in repair of DNA damages*, 8th International Weigl Conference. Łódź, 26-28.06.2019.

- *Zastosowanie technologii iCHIP do poszukiwania nowych antybiotyków.* I Ogólnopolska Konferencja Biotechnologia nie jedno ma imię, Poznań, 24-25.11.2018.
- Consequences of the presence of subinhibitory concentrations of antibiotics in the environment, 21st Century Medicine International Medical Congress, Lublin, 06.04.2018.

Udział w projektach badawczych

- OPUS 17 nr. 2019/33/B/NZ1/02770, pt.: „Weryfikacja roli białek – przewidywanych czynników naprawczych, biorących udział w naprawach pęknięć DNA u mykobakterii”. **Kierownik projektu:** dr Przemysław Płociński.
- OPUS 10 2015/19/B/NZ6/02978, pt.: „RecA niezależna odpowiedź prątków gruźlicy na uszkodzenia DNA”. **Kierownik projektu:** dr hab. Anna Brzostek, prof. IBM PAN.

Wprowadzenie

Prątki z rodzaju *Mycobacterium* nieustannie narażone są na działanie endogennych jak i egzogennych czynników genotoksycznych, prowadzących do uszkodzeń DNA. Z tego powodu w ich komórkach niezbędna jest obecność funkcjonalnych białek zaangażowanych w naprawę materiału genetycznego, gwarantujących utrzymanie stabilności genomu. W genomie prątków zidentyfikowano różne systemy naprawy uszkodzeń DNA, tj.: NER (*Nucleotide Excision Repair*), BER (*Base Excision Repair*), HR (*Homologous Recombination*), NHEJ (*Non – Homologous End - Joining*) a także MMR (*Mismatch Repair*) i DR (*Direct Reversal*), w których zaangażowanych jest szereg białek, w tym wiele o nieznanym funkcji. Jednym ze stosunkowo niedawno zidentyfikowanych białek o nieznanym funkcji, przypuszczalnie biorącym udział w takich naprawach, jest należące do rodziny peptydaz związanych z odpowiedzią SOS (SRAP) Msmeg_1891 (*M. smegmatis*) oraz jego homolog Rv3226c (*M. tuberculosis*) (Płociński i in., 2017; Płociński i in., 2019). Po raz pierwszy białka

należące do rodziny peptydaz związanych z odpowiedzią SOS (SRAP) zostały scharakteryzowane u organizmów eukariotycznych, w badaniach mających na celu wyselekcjonowanie białek wiążących się do metylowanych substratów DNA (np. 5-hydroksymetylocytozyny), w embrionalnych komórkach myszy, jak należące do tej rodziny C3Orf37 (Spruijt i in., 2013; Aravind i in., 2013), poniekąd ukierunkowując je na możliwość uczestnictwa w naprawach uszkodzeń DNA związanych z jego metylacją. W innych badaniach udowodniono, że białka SRAP mogą brać udział w usuwaniu 5-metylocytozyny poprzez autoproteolizę sprzężoną z aktywacją nukleazy nacinającej zmetylowane miejsce w DNA (Kweon i in., 2017). W przypadku prokariotycznych białek z rodziny SRAP, do niedawna ich funkcja w tych organizmach była bardzo słabo scharakteryzowana, jednak na przestrzeni ostatnich lat można zaobserwować wzrost ilości informacji, prowadzących do wyjaśnienia ich funkcji. Dla przykładu, białko z rodziny SRAP – YedK pochodzące z komórek *E. coli* wykazywało wiązanie z uszkodzeniami jednoniciowego DNA (imitującymi miejsca apurynowe/apirymidynowe), sugerując możliwość jego uczestnictwa w naprawach z wycinaniem zasady azotowej (Wang i in., 2019). Dodatkowo białko to posiada aktywność bezpośredniej regeneracji miejsc AP poprzez rewersję wiązań białko-DNA (Paulin i in., 2022).

Pierwsze doniesienia publikacyjne o możliwości uczestnictwa badanych w niniejszej rozprawie doktorskiej białek (Msmeg_1891 i Rv3226c) w naprawach uszkodzeń DNA u mykobakterii pochodziły z prac, w których badano funkcje białek w szlaku naprawy z wycinaniem uszkodzonej zasady azotowej (BER). Wykazano w nich z zastosowaniem techniki spektrometrii mas, że Msmeg_1891 może wiązać się z substratami DNA, imitującymi pojedyncze i podwójne pęknięcia w ciągłości nici DNA (Płociński i in., 2017). Ponadto, w badaniach przeprowadzonych w celu molekularnego scharakteryzowania degradosomu RNA *M. tuberculosis*, poprzez zastosowanie techniki sieciowania wiązań RNA-białko wykazano, że homolog białka Msmeg_1891 – Rv3226c jest jednym z najsilniej wiążących się białek z RNA (Płociński i in., 2019).

Cel pracy

Głównym celem niniejszej pracy doktorskiej było określenie funkcji białka Msmeg_1891 (oraz jego homologa Rv3226c), zawierającego domenę proteazy związanej z odpowiedzią SOS (SRAP; z *ang.* SOS Response Associated- Peptidase) potencjalnie zaangażowanego w proces naprawy uszkodzeń DNA u prątków z rodzaju *Mycobacterium*.

Cel ten był realizowany przez następujące cele cząstkowe:

- Konstrukcję mutantów delecyjnych *M. smegmatis* i *M. tuberculosis*, pozbawionych funkcjonalnych białek Msmeg_1891 i Rv3226c.
- Konstrukcję mutantu *M. smegmatis* z obniżonym poziomem ekspresji genu *msmeg_1891* z wykorzystaniem metody CRISPRi/dCas9.
- Analizy fenotypowe szczepów kontrolnych *M. smegmatis* i *M. tuberculosis* oraz otrzymanych mutantów, zmierzające do określenia udziału badanych białek w naprawach uszkodzeń DNA po ekspozycji hodowli na wybrane czynniki genotoksyczne.
- Oczyszczenie preparatów rekombinowanego białka Msmeg_1891 w fuzji ze znacznikiem polihistydynowym (HIS-tag), oraz przygotowanie surowicy odpornościowej anty-Msmeg_1891.
- Określenie zdolności wiązania się białka Msmeg_1891 do jednoniciowych i dwuniciowych substratów DNA oraz RNA, oraz substratów zawierających uszkodzenia lub syntetycznie wprowadzone rybonukleotydy i uracyl.
- Poszukiwanie białek partnerskich dla białka Msmeg_1891 z wykorzystaniem chromatografii powinowactwa sprzężonej ze spektrometrią mas.
- Ocenę poziomu ekspresji genu *msmeg_1891* i poziomu białka Msmeg_1891 po ekspozycji hodowli na działanie wybranych czynników genotoksycznych.
- Globalną analizę transkryptomiczną *M. tuberculosis* Δ *rv3226c* po ekspozycji na działanie wybranych czynników genotoksycznych.

Metodyka badawcza i wyniki

W pierwszym etapie badań skonstruowano mutantą *M. smegmatis* z obniżonym poziomem ekspresji *msmeg_1891* (CRISPR-dCas9-*msmeg_1891*) z wykorzystaniem plazmidu pLJR962 (dedykowanego dla *M. smegmatis*) i odpowiednio zaplanowanej sekwencji nukleotydowej do wydajnego obniżania poziomu ekspresji badanego genu przy użyciu chemicznego induktora – 100 ng anhydrotetracykliny. Dodatkowo przygotowano mutanty delecyjne *M. smegmatis* i *M. tuberculosis* pozbawione funkcjonalnych genów, odpowiednio *msmeg_1891* i *rv3226c*. Konstrukcja wektorów do rekombinacji homologicznej przebiegała wieloetapowo i obejmowała w początkowej fazie wklonowanie do wektora p2NIL fragmentów DNA flankujących gen docelowy na końcu 5' i 3' (gen z wewnętrzną delecją) a także pochodzącej z wektora pGOAL17 kasety markerowej (zawierającej: *lacZ* – gen kodujący β-galaktozydazę, umożliwiający selekcję niebieskich kolonii w obecności X-gal; *sacB* – gen kodujący lewanosacharazę, warunkujący wrażliwość na sacharozę oraz *aph*, gen nadający oporność na kanamycynę). Obecność genów markerowych pozwoliła na selekcję mutantów typu SCO (z *ang.* Single crossover), zawierających zarówno natywną jak i zmutowaną kopię genów oraz mutantów typu DCO (z *ang.* Double crossover), zawierających natywną lub zmutowaną formę genu docelowego. Obecność zmutowanej kopii genów w szczepach *Mycobacterium* potwierdzano metodą PCR z wykorzystaniem sekwencji oligonukleotydowych komplementarnych do genu oraz metodą hybrydyzacji Southern blot z odpowiednio zaplanowanymi sondami genetycznymi. Uzyskane szczepy wykorzystano do analiz fenotypowych z zastosowaniem wybranych czynników genotoksycznych: MMS (metanosulfonian metylu), promieniowanie ultrafioletowe (UV), mitomycyna C (MMC), wodoronadtlenek kumenu (CHP), nadtlenuk wodoru (H₂O₂), a ich przeżywalność analizowano za pomocą CFU i metody kropkowe. Zaobserwowano spadek przeżywalności szczepów z delecją w obrębie genu *msmeg_1891* (i *rv3226c*) oraz szczepu z obniżonym poziomem ekspresji *msmeg_1891* po ekspozycji na działanie 0,4% MMS. W kolejnym etapie prac badawczych o oczyszczono białko Msmeg_1891 w heterologicznych układach *E. coli* BL21 i *E. coli* Rosetta, przy użyciu chromatografii metalopowinowactwa i wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie AKTA Start, z wykorzystaniem

kolumny jonowymiennej i kolumny do filtracji żelowej. W celu określenia jego właściwości enzymatycznych przeprowadzono analizę oddziaływania Msmeg_1891 z substratami DNA i RNA z wykorzystaniem testu spowolnienia migracji kwasów nukleinowych w żelach poliakrylamidowych (EMSA, *Electroforetic Mobility Shift Assay*). W badaniu analizowano aktywność Msmeg_1891 z substratami naśladującymi uszkodzone substraty DNA. W tym celu zastosowano rozdziały elektroforetyczne w 15% żelach poliakrylamidowych zawierających 7M mocznik (warunki denaturujące). W celu zidentyfikowania szlaków naprawczych, w których mogłoby być zaangażowane białko Msmeg_1891, postanowiono użyć go jako przynęty dla poszukiwania białek partnerskich. W tym celu skonstruowano szczep *M. smegmatis*, niosący plazmid pJAM-FLAG-TEV-*msmeg_1891*, umożliwiającą indukowaną acetamidem nadprodukcję Msmeg_1891, jako białka stanowiącego przynętę dla współczyszczania białek partnerskich. Do oczyszczenia kompleksów białkowych stosowano chromatografię powinowactwa przepuszczając lizaty komórkowe uzyskane po indukcji acetamidem przez złożę opłaszczone przeciwciałami anti-FLAG o stężeniu wynoszącym 1,5 mg/ml. Związane ze złożem kompleksy wytrącano wykorzystując bufor zawierający czerwień pirogalolu (0,05 mM) a następnie wirowano (3900 x g w temp. 4°C) i suszono w celu otrzymania osadu. Próbkę analizowano z wykorzystaniem wysokosprawnej spektrometrii mas we współpracy z Instytutem Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. Uzyskane wyniki poddano analizie bioinformatycznej w programie MaxQuant v1.6 wykorzystując proteomiczną bazę danych dedykowaną do badań nad prątkami gruźlicy mycobrowser.epfl.ch (École Polytechnique Fédérale de Lausanne).

Ze względu na zaobserwowany wcześniej fenotyp uwrażliwienia szczepów z zaburzonym poziomem białek SRAP w obecności MMS, na kolejnym etapie prowadzonych badań postanowiono zbadać poziom ekspresji genu *msmeg_1891* oraz poziom białka Msmeg_1891 w komórkach szczepu kontrolnego *M. smegmatis* mc² 155, poddanego ekspozycji na działanie tego czynnika. W celu weryfikacji poziomu ekspresji genu *msmeg_1891*, izolowano RNA z hodowli *M. smegmatis*, będącej w logarytmicznej fazie wzrostu (OD₆₀₀ 0,6-0,8) i poddanej odpowiednio ekspozycji na 0,4% MMS w czasie: 30 min, 60 min i 90 min. Następnie, na matrycy RNA syntetyzowano cDNA, który wykorzystano w ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą (qRT-PCR), pozwalającej na ilościową analizę powstającego transkryptu *msmeg_1891* w czasie

rzeczywistym. Kontrolę w badaniach stanowił poziom transkryptu dla *sigA*, ulegającego stałej, konstytutywnej ekspresji w komórkach *Mycobacterium*. Analiza otrzymanych wyników ujawniła przyrost transkryptów dla *msmeg_1891* pod wpływem MMS. Szczególnie wysoki poziom ekspresji genu *msmeg_1891* (1000- krotnie wyższy od kontroli) zaobserwowano po 30 min ekspozycji komórek *M. smegmatis* na działanie MMS. W celu skorelowania poziomu transkryptu z poziomem białka Msmeg_1891 po ekspozycji hodowli na działanie 0,4% metanosulfonianu metylu (MMS), przeprowadzono analizę western blot (wykorzystując lizaty komórkowe *M. smegmatis*, otrzymane z hodowli poddanych działaniu MMS w czasie 30 min, 60 min i 90 min, a także nietraktowane MMS (kontrola) przy zastosowaniu oczyszczonych przeciwciał skierowanych przeciwko białku Msmeg_1891. W celu określenia zmienności poziomu transkryptów określonych genów w komórkach *M. tuberculosis Δrv3226c* po działaniu MMS, przeprowadzono globalną analizę transkryptomu po działaniu tego związku, w której wykazano znaczącą odpowiedź szczepów traktowanych MMS, jednak różnica pomiędzy szczepem *M. tuberculosis Δrv3226c* a kontrolą (szczepem dzikim) była stosunkowo niewielka.

Celem prac eksperymentalnych niniejszej rozprawy doktorskiej była weryfikacja roli białek opisywanych jako domniemane czynniki naprawcze, potencjalnie biorące udział w naprawach pęknięć DNA u mykobakterii. Głównym przedmiotem badań były mykobakteryjne białka należące do rodziny peptydaz związanych z odpowiedzią SOS (SOS-Response Associated Peptidases, SRAP) – Msmeg_1891 (*M. smegmatis*) i jego homolog Rv3226c (*M. tuberculosis*), o nieokreślonej dotąd funkcji w naprawach uszkodzeń DNA u tych organizmów. Przeprowadzone badania na temat napraw uszkodzeń DNA u mykobakterii i ich adaptacji do niesprzyjających warunków, prowadzących m.in. do metylacji DNA i obecności w jego sekwencji uracylu, spowodowanej np. poprzez deaminację cytozyny lub działanie mutagennych polimeraz w globalnej odpowiedzi SOS oraz uzyskany na ich podstawie zakres informacji, zostanie rozwinięty w dalszych badaniach, niemieszczących się w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej. Mechanizm działania metanosulfonianu metylu (MMS) na DNA, polega w dominującej części na metylacji puryn, a w konsekwencji powstawaniu 7-metyloguaniny i 3-metyloadeniny (Singh, 2017; Van der Veen i Tang, 2015). Takie zmiany usuwane są na drodze naprawy z wycinaniem zasady azotowej (BER) lub ulegają spontanicznej depurynacji prowadząc do powstania miejsc apurynowych (Steininger

i in., 2010). Zrealizowane w niniejszej pracy zadania badawcze, zmierzające do poznania funkcji potencjalnych białek naprawy uszkodzeń DNA u mykobakterii – Msmeg_1891 i Rv3226c – należących do rodziny peptydaz związanych z odpowiedzią SOS (SRAP), pozwoliły na szczegółową charakterystykę białek należących do rodziny SRAP, poprzez analizy mutantów delecyjnych i wykrycie fenotypu uwrażliwienia na MMS oraz określenie specyficzności substratowej i zdefiniowanie aktywności enzymatycznej białka Msmeg_1891.

Wnioski i stwierdzenia końcowe

Podczas realizacji pracy doktorskiej:

- Wykazano udział białek Msmeg_1891 i Rv3226c w naprawie uszkodzeń DNA spowodowanych działaniem metanosulfonianu metylu (MMS, czynnika metylującego zasady azotowe DNA) poprzez konstrukcję mutantów delecyjnych *M. smegmatis* i *M. tuberculosis*, pozbawionych funkcjonalnych genów *msmeg_1891* i *rv3226c* oraz mutantu z obniżonym poziomem ekspresji genu *msmeg_1891* i ich analizy fenotypowe.
- Oczyszczono preparaty rekombinowanego białka Msmeg_1891 w fuzji ze znacznikiem polihistydynowym (6x HIS) i wykazano zdolność wiązania się Msmeg_1891 do jedno- i dwuniciowych substratów DNA/RNA, w tym zawierających syntetycznie wprowadzone rybonukleotydy lub 2'-deoksyurydynę.
- Określono specyficzność substratową dla białka Msmeg_1891, wskazując na aktywność enzymatyczną podobną do glikozylazy uracyl-DNA - Udg związaną z wycinaniem uracylu z dwuniciowego substratu DNA.
- Wytypowano białka partnerskie dla Msmeg_1891, które są anotowane jako potencjalne białka uczestniczące w naprawach uszkodzeń DNA u *Mycobacterium* (PolA, DinG, helikaza DNA lub RNA).

Powyższe badania pozwalają wskazać funkcję białek Msmeg_1891/Rv3226c w korygowaniu uszkodzeń DNA u prątków z rodzaju *Mycobacterium*, w procesach usuwania uszkodzonych zasad azotowych (BER). Naprawa dotyczy niestabilności genetycznych generowanych w wyniku akumulacji nukleotydów zbliżonych strukturalnie do 5-deoksyuracylu w DNA w wyniku jego ekspozycji na czynniki powodujące metylację cytozyn, takie jak MMS.

Literatura

- Aravind, L., Anand, S., & Iyer, L. M. (2013). Novel autoproteolytic and DNA-damage sensing components in the bacterial SOS response and oxidized methylcytosine-induced eukaryotic DNA demethylation systems. *Biology Direct*, 8, 20.
- Kweon, S.-M., Zhu, B., Chen, Y., Aravind, L., Xu, S.-Y., & Feldman, D. E. (2017). Erasure of Tet-Oxidized 5-Methylcytosine by a SRAP Nuclease. *Cell Reports*, 21(2), 482–494.
- Paulin, K. A., Cortez, D., & Eichman, B. F. (2022). The SOS response-associated peptidase (SRAP) domain of YedK catalyzes ring opening of abasic sites and reversal of its DNA-protein cross-link. *The Journal of Biological Chemistry*, 298(9), 102307.
- Płociński, P., Brissett, N. C., Bianchi, J., Brzostek, A., Korycka-Machała, M., Dziembowski, A., Dziadek, J., & Doherty, A. J. (2017). DNA Ligase C and Prim-PolC participate in base excision repair in mycobacteria. *Nature Communications*, 8(1), 1251.
- Płociński, P., Macios, M., Houghton, J., Niemiec, E., Płocińska, R., Brzostek, A., Słomka, M., Dziadek, J., Young, D., & Dziembowski, A. (2019). Proteomic and transcriptomic experiments reveal an essential role of RNA degradosome complexes in shaping the transcriptome of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nucleic Acids Research*, 47(11), 5892–5905.

- Singh, A. (2017). Guardians of the mycobacterial genome: A review on DNA repair systems in *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiology (Reading, England)*, 163(12), 1740–1758.
- Spruijt, C. G., Gnerlich, F., Smits, A. H., Pfaffeneder, T., Jansen, P. W. T. C., Bauer, C., Münzel, M., Wagner, M., Müller, M., Khan, F., Eberl, H. C., Mensinga, A., Brinkman, A. B., Lephikov, K., Müller, U., Walter, J., Boelens, R., van Ingen, H., Leonhardt, H., Vermeulen, M. (2013). Dynamic readers for 5-(hydroxy)methylcytosine and its oxidized derivatives. *Cell*, 152(5), 1146–1159.
- Steininger, S., Ahne, F., Winkler, K., Kleinschmidt, A., Eckardt-Schupp, F., & Moertl, S. (2010). A novel function for the Mre11-Rad50-Xrs2 complex in base excision repair. *Nucleic Acids Research*, 38(6), 1853–1865.
- Van der Veen, S., & Tang, C. M. (2015). The BER necessities: The repair of DNA damage in human-adapted bacterial pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 13(2), Article 2.
- Wang, N., Bao, H., Chen, L., Liu, Y., Li, Y., Wu, B., & Huang, H. (2019). Molecular basis of abasic site sensing in single-stranded DNA by the SRAP domain of *E. coli* yedK. *Nucleic Acids Research*, 47(19), 10388–10399.