

O REPARO E A MUTAGÊNESE EM PROCARIOTOS COMO RESPOSTAS CELULARES A AGENTES AMBIENTAIS

Roberto Alcantara Gomes*

I — *Mecanismos corretos e incorretos de reparação*

A preservação da informação genética exige fidelidade nos processos de replicação semi-conservativa do DNA e funcionalidade de mecanismos enzimáticos capazes de reparar eventuais alterações estruturais produzidas por agentes físicos e químicos do meio ambiente.

A fidelidade é consequência de fenômenos observáveis durante ou após a replicação. No primeiro caso, incluem-se as diferenças de afinidade química das diversas bases nitrogenadas, a seleção destas pelas polimerases e a existência de atividades de degradação tendo como substrato regiões onde existam bases incorretamente emparelhadas (para revisões e referências, ver: Loeb *et al.*, 1978; Fersht e Knill-Jones, 1981). Entre os mecanismos que atuam após a replicação, merecem especial menção a eliminação de bases púricas ou pirimidicas por glicosidasas específicas (Laval, 1978; Lindahl, 1979; Lehmann, 1980); Warner *et al.*, 1981) e a degradação de fragmentos de DNA indevidamente inseridos, provavelmente dependente dos diferentes graus de metilação entre as hélices neossintetizadas e as pré-existentes (assim, por exemplo, cepas bacterianas que produzem a deoxiadeno-sina-metilase em falta ou em excesso são hipermutáveis; Glickman e Radman, 1980; Herman e Modrich, 1981). Além disto, o grau de metilação parece distinguir seqüências gênicas metabolicamente ativas das inativas (Naveh-Manly e Cedar, 1981).

Os mecanismos celulares de reparação do DNA são, em geral, dependentes dos produtos de diversos genes e se caracterizam por possuírem várias etapas. Desta natureza poligênica resulta o cunho multienzimático de que se revestem e a possibilidade de vias alternativas, muitas vezes coexistentes e competitivas (revisões: Alcantara Gomes, 1979; Hanawalt, *et al.*, 1979).

Algumas das enzimas de reparação encontram-se pré-formadas na célula, enquanto outras são significativamente acumuladas após o aparecimento das lesões no DNA (ou das alterações bioquímicas delas decorrentes). Torna-se difícil, entretanto, definir com precisão a natureza constitutiva de determinado mecanismo de

* Instituto de Biologia da UFRJ

reparação; este é o caso, por exemplo, da reparação por excisão, visto a endonucleases responsável por sua primeira etapa em *Escherichia coli* poder ser induzida por tratamentos que lesam o DNA, como recentemente demonstrado (Fogliano e Schendel, 1981; Kenyon e Walker, 1981). Já em *Micrococcus luteus*, o processo se inicia, provavelmente, pela produção de um sítio apurínico ou apirimidínico, como consequência da remoção, por uma glicosidase específica, da base nitrogenada lesada (Livneh *et al.*, 1979; Haseltine, *et al.*, 1980). Em *Saccharomyces cerevisiae*, a incisão é dependente dos produtos de, pelo menos, quatro genes distintos (Reynolds e Friedberg, 1981), enquanto em células eucarióticas este número deve ser bem mais elevado, como indica a existência de diversos grupos de complementação em pacientes acometidos de *xeroderma pigmentosum* (revisão: Sarasin, 1981).

Algumas vias de reparação atuam preservando a informação genética (mecanismos corretos), ao passo que outras se traduzem por modificações do conteúdo informacional, freqüentemente compatíveis com a manutenção da viabilidade (isto é, mutagênicas), como representado esquematicamente na figura 1.

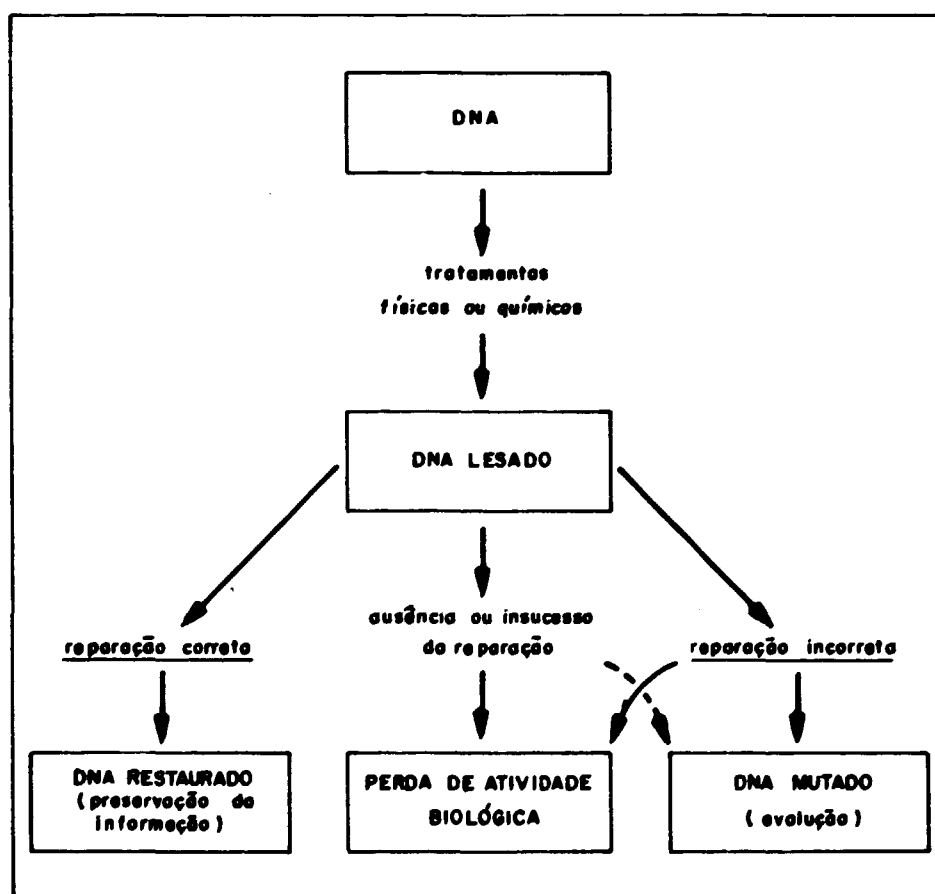


Figura 1 — Papel dos mecanismos de reparação na preservação do conteúdo informacional (reparação correta) e na evolução biológica (mutagênese, ou seja, reparação incorreta).

II — Respostas celulares induzidas pelas lesões do DNA

Diversas respostas celulares são induzidas por tratamentos com agentes físicos e químicos, capazes de promover lesões no DNA, em células possuidoras dos alelos selvagens dos genes *recA* e *lexA*. Tais respostas costumam ser designadas como *funções SOS* e incluem (revisões: Witkin, 1976; Devoret, 1978; Alcantara Gomes, 1979; Moreau, 1981):

- indução do profago em cepas lisogênicas;
- mutagênese;
- Weigle-reativação (reativação induzida do fago);
- filamentação;
- termoindutibilidade;
- bloqueio da respiração pós-irradiação.

O produto do gene *lexA* (proteína LexA) é o repressor do gene *recA*, do seu próprio operon e de diversos genes que se expressam após o aparecimento de lesões no DNA, tais como *sfiA* (que controla a filamentação) e *umuC* (que controla a reparação incorreta, isto é, a mutagênese; Kenyon e Walker, 1980). Um alelo do gene *umuC*, designado como *muc*, foi recentemente mapeado no plasmídeo pKM101, podendo talvez explicar o aumento da taxa de mutagênese em células portadoras deste plasmídeo (Langer *et al.*, 1981).

Após o tratamento com agentes físicos ou químicos, algumas moléculas da proteína RecA adquirem atividade proteolítica e se tornam assim capazes de clivar repressores intracelulares, entre os quais a proteína LexA e o repressor do profago λ . Aliás, estas duas proteínas possuem regiões homólogas que, provavelmente, seriam os sítios de clivagem (Horii *et al.*, 1981). As diferenças de afinidade entre o produto de *lexA* e os diversos operons por ele reprimidos poderiam justificar as distintas cinéticas de indução das diversas funções SOS (Brent e Ptashne, 1981; Little *et al.*, 1981).

A proteína RecA parece também desempenhar um papel significativo na manutenção da viabilidade celular, interagindo com os fragmentos do DNA em hélice simples e protegendo-os, assim, de uma degradação excessiva pelas exonucleases celulares, talvez atuando justamente com topoisomerasas (ver, por exemplo: Cunningham, *et al.*, 1981).

Na figura 2 podem ser vistas, de forma esquemática, as vias que conduzem à indução das funções SOS.

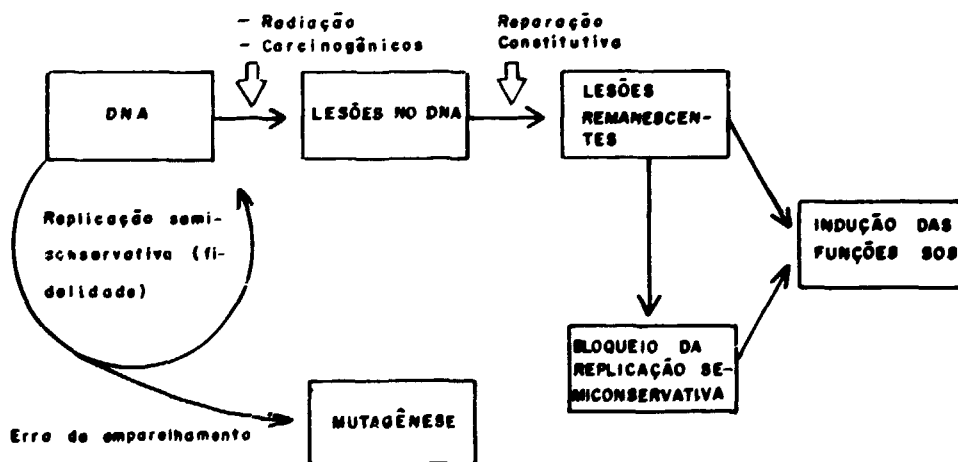


Figura 2 — Representação esquemática da indução das funções SOS, indicando também o controle da fidelidade da replicação semiconservativa e a mutagênese direta por erros de emparelhamento.

III — Efeitos moleculares da redutona

A redutona ($\text{HOCH}_2\text{-CO-CHO}$), um ceto-aldeído produzido pela termodegradação de diversos sacarídeos, em pH alcalino, produz intensa inativação em células proficientes em reparação previamente expostas ao UV (para revisão e referências, ver: Alcantara Gomes *et al.*, 1973; Leitão, 1977; Alcantara Gomes, 1979).

A redutona bloqueia a degradação de DNA consequente das atividades exonucleolíticas em células irradiadas com UV, mas não o faz em mutantes *polA*, o que sugere ser esta substância capaz de interagir com a polimerase I, mas não com a polimerase II (ou III) (Leitão *et al.*, 1981).

A redutona também produz quebras em cadeias polinucleotídicas, detectáveis em experimentos de ultracentrifugação em gradientes de sacarose (Leitão *et al.*, 1981). Tais quebras não podem ser explicadas por atividades enzimáticas ligadas ao reparo, pois foram igualmente observadas em preparações de DNA extraído de fago T₂ (Leitão *et al.*, em publicação).

A cinética de produção de quebras, em cepas proficientes em reparação e em mutantes *uvrA*, pode ser vista na figura 3. Verifica-se, assim, que a redutona não interfere na fase de incisão do processo de reparo, mas a reparação das

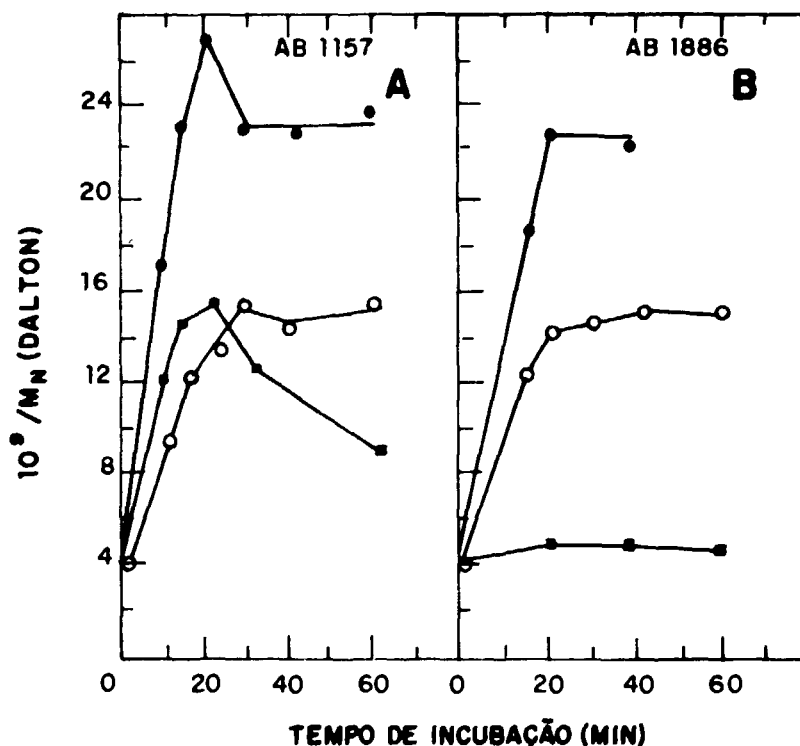


Figura 3 — Cinética de produção de roturas simples no DNA por tratamento com redutona, em células irradiadas ou não.

A — Cepa proficientes em reparação

B — Cepa *uvrA6*

(○) células não irradiadas e tratadas com redutona

(■) células irradiadas (dose que reduz a sobrevivência a 0,04)

(●) células irradiadas (sobrevivência: 0,04) e tratadas com redutona

Maiores informações e detalhes experimentais podem ser encontrados em Leitão *et al.*, em publicação.

quebras, ao longo da incubação pós-irradiação, parece ser inibida em ambas as cepas testadas.

As lesões produzidas pela redutona são capazes de promover a indução lisogênica, como mostrado na figura 4, assim como a mutagênese. A Weigle-reativação, entretanto, não foi observada em células tratadas com redutona (resultados não mostrados) o que talvez decorra da existência de limiares diversos para o desencadear das várias funções SOS ou de uma eventual degradação do DNA viral logo após sua penetração na célula hospedeira, durante um período no qual as biossínteses celulares estão ainda bloqueadas pela ação metabólica da substância (para revisão e referências sobre reparo em bacteriófagos, ver: Bernstein, 1981).

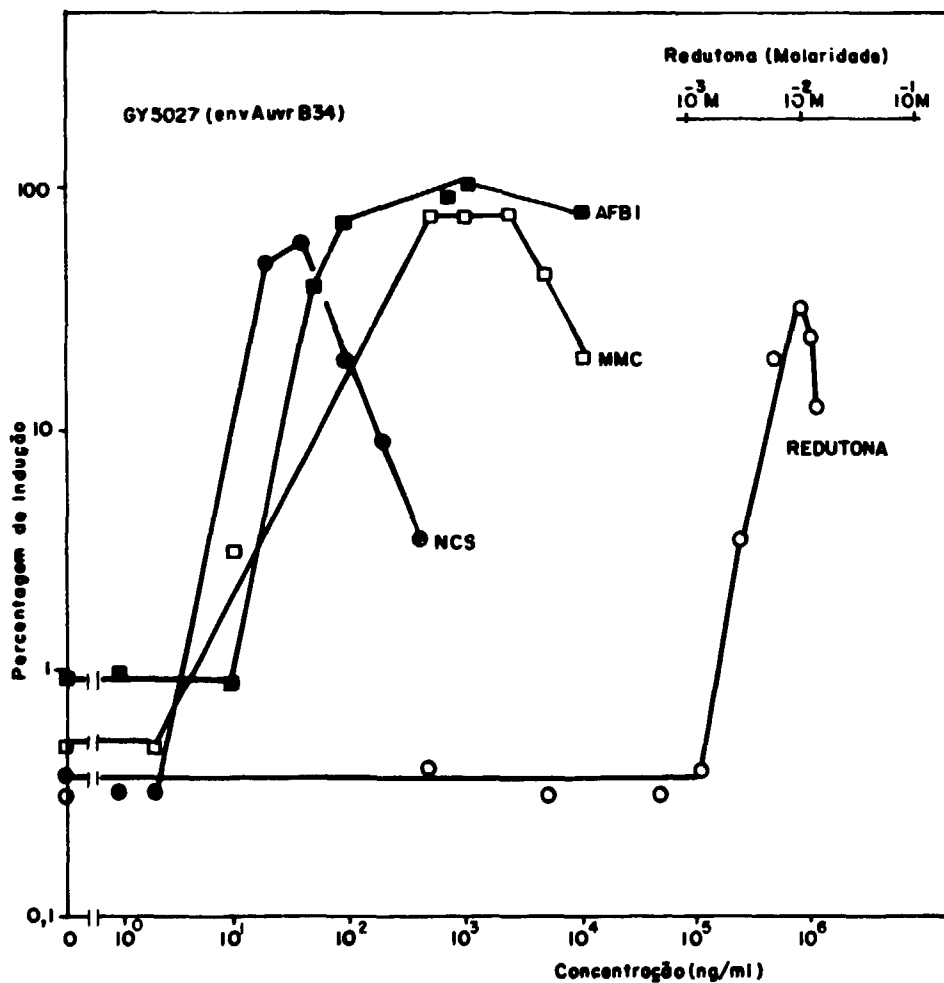


Figura 4 — Indução lisogênica pela redutona, podendo também ser vistos alguns controles utilizados em experimentos com a cepa de *E. coli* GY5027 (*envA uvrB*).

NCS — neocarcinostatina

MMC — mitomicina C

AFB1 — aflatoxina B1 previamente metabolizada

Outro agente redutor, o ácido ascórbico, mostrou-se capaz de induzir células lisogênicas e produzir mutações de forma análoga à redutona (Valsa, 1980; Valsa e Alcantara Gomes, manuscrito em preparação).

Os efeitos tóxicos e mutagênicos da redutona e do ácido ascórbico só são observáveis em atmosferas oxigenadas (para revisão e referências, ver: Valsa, 1980; Oliveira, 1980). Da mesma forma, os produtos da termodegradação de sacarídeos redutores só atuam em presença de oxigênio (Oliveira e Alcantara Gomes, 1980; Oliveira *et al.*, em publicação).

IV — Interações celulares em populações irradiadas

Os experimentos radiobiológicos envolvem, freqüentemente, o plaqueamento de culturas irradiadas em meios gelosados ou a incubação de amostras da população por tempos relativamente longos. Mede-se, assim, a capacidade de formar colônias (ou o comportamento de cada célula), admitindo-se, como premissa, que o potencial de divisão e os fenômenos metabólicos ocorridos neste intervalo de tempo sejam independentes da existência de outras células nas vizinhanças, viáveis ou não.

Células inviáveis podem liberar, no meio de cultura, substâncias que alteram (freqüentemente aumentando) a capacidade de divisão celular, fenômeno este descrito sob o nome de "reparação por vizinhança" (para referência e revisão, ver: Bernardo Filho, 1978; Bockrath *et al.*, 1980). O fenômeno pode ser mimetizado pela adição, a culturas irradiadas, de extratos bacterianos livres de células e parece estar intimamente associado à filamentação. Em condições que facilitem a troca de substâncias entre células de uma população irradiada, ocorre acúmulo de proteína RecA, mas a mutagênese é inibida, o que sugere interferência na expressão fenotípica das funções SOS (Bockrath *et al.*, 1980). Uma das formas de expressão dos fenômenos devidos à vizinhança, a septação em células irradiadas, foi recentemente explicado através da redução do teor de oxigênio no meio gelosado (Adler *et al.*, 1981).

Curvas de sobrevivência de culturas bacterianas, proficientes ou não em reparação, apresentam pontos de inflexão em suas porções terminais. A medida que a dose aplicada cresce, há necessidade de espalhar, na placa de Petri, quantidades crescentes de células e a distância entre estas diminui, o que deve facilitar a passagem de fatores de uma célula para outra, talvez justificando o aparecimento das "caudas" nas curvas de sobrevivência.

A heterogeneidade genética, nestes experimentos, foi excluída por meio de testes estatísticos, sendo analisada a fotossensibilidade de elevado número de colônias formadas em cada placa (Bernardo Filho e Alcantara Gomes, manuscrito em preparação). Da mesma forma, a sincronização das culturas não indicou fossem as "caudas" decorrentes de eventuais heterogeneidades fenotípicas.

Células irradiadas e incubadas antes do plaqueamento, em meio não nutriente (em tampão, por exemplo), apresentam progressivo aumento de viabilidade ("liquid holding recovery"; para revisão e referências, ver: Aragão, 1980).

A reparação em meio não nutriente foi interpretada como sendo mediada pela polimerase I e, durante a incubação em tampão, parece ocorrer contínua degradação e ressíntese de DNA (Tang *et al.*, 1979); a irradiação afetaria a taxa de ressíntese e poderia conduzir ao aparecimento de lacunas em zonas diametralmente opostas da estrutura em dupla hélice do DNA, provavelmente letais.

Este fenômeno só é detectável em cepas proficientes em excisão e mostra-se bastante amplificado em mutantes *recA*; recentemente foi mostrado, com o em-

prego de cepas termossensíveis, que o gene *recA* deve estar inativo durante a incubação em meio de crescimento, mas não quando da manutenção em tampão, para que o fenômeno se evidencie (Tang e Smith, 1980).

É indispensável, entretanto, em experimentos desta natureza, distinguir a recuperação de viabilidade pós-irradiação da multiplicação de células ainda viáveis, tornada possível pela liberação, no meio de incubação, de substâncias provenientes de células já inviáveis (Aragão *et al.*, 1980). Para tal, diversos métodos foram utilizados, tais como o plaqueamento em tampão solidificado ou em membranas de nitrocelulose, bem como o estudo da viabilidade em alíquotas da cultura irradiada, conveniente diluídas, conforme a metodologia empregada por Luria e Delbruck para realização do teste de flutuação. Estes métodos foram aplicados ao estudo de diversas cepas bacterianas, proficientes em reparação ou portadoras de mutações (*uvrA*, *recA*, *polA*, *lexA* etc.), permitindo uma nítida distinção entre recuperação da viabilidade e multiplicação celular (Aragão, 1980; Aragão *et al.*, 1980).

V — Utilização de testes microbianos para detecção de atividades oncogênicas

A detecção de substâncias potencialmente oncogênicas pode ser feita, com elevado grau de acurácia, através de testes microbianos, nos quais são medidas a capacidade mutagênica, a indução do profago ou a Weigle-reativação (para revisão, análise crítica e referências, ver, por exemplo: Moreau e Devoret, 1977; Serres e Shelby, 1979; Devoret, 1979; Valsa, 1980; Quadra, 1980; Anderson *et al.*, 1980).

Os resultados já descritos no item III deste trabalho permitem, a luz dos conhecimentos atuais, incluir a redutona e as soluções cúpricas de ácido ascórbico entre as substâncias potencialmente oncogênicas (Valsa, 1980; Valsa e Alcantara Gomes, manuscrito em preparação).

Testes análogos foram realizados com 15 compostos farmacêuticos dotados de atividade diurética, freqüentemente empregados em nosso meio, avaliando-se a indução do profago em cepas lisogênicas de *E. coli* e a capacidade mutagênica em cepas de *S. typhimurium*. Nestas condições, sem o emprego de prévia metabolização dos fármacos testados, o ácido tienílico e a espirolactona mostraram-se potencialmente oncogênicos (Quadra, 1980; Quadra e Alcantara Gomes, manuscrito em preparação).

VI — Conclusões

A viabilidade celular traduz a expressão final de processos competitivos entre a evolução das lesões produzidas por agentes físicos e químicos e os mecanismos enzimáticos que as eliminam. Alterações das condições ambientais podem e devem interferir em ambos os processos e, conseqüentemente, modificar a viabilidade.

A manutenção da capacidade de divisão, isto é, de formação de colônias, não implica na eliminação de todas as lesões. Algumas podem persistir, sendo "toleradas" pelas células ou diluídas de geração em geração, enquanto outras se traduzem pela indução das funções SOS, do que resulta a mutagênese, a indução lisogênica, e, ao nível de organização dos eucariotos, talvez a oncogênese.

Os ciclos bioquímicos de interconversão e armazenamento de energia regem a maquinaria celular, na qual processos biossintéticos e degradativos se encontram em permanente competição, deslocando-se o equilíbrio em funções das condições ambientais.

É evidente que a elucidação destas complexas vias bioquímicas exige o prévio conhecimento do equipamento enzimático celular. Mesmo em *E. coli*, talvez o organismo mais estudado até o momento atual, as proteínas já identificadas não ultrapassam 50% do total que poderia ser codificado pelo DNA bacteriano. Muitas das enzimas participam de diversos processos metabólicos e competem freqüentemente, pelos mesmos substratos.

Embora haja, freqüentemente, uma correlação aceitável entre reparação de lesões no DNA e manutenção da viabilidade celular, isto nem sempre ocorre. É provável que, em algumas situações, a remoção de tais lesões constitua somente um dos fatores condicionantes da sobrevivência, mas não tenha papel fundamental. O reinício da replicação semiconservativa do DNA representa um momento crítico para a manutenção da viabilidade celular, podendo propiciar condições para o aparecimento de roturas duplas nas cadeias polinucleotídicas, lesões freqüentemente letais.

O mecanismo de reparação por excisão em células integralmente proficientes na capacidade de eliminar lesões é, provavelmente, o mais significativo determinante da viabilidade celular (para a quantificação das eficiências das diferentes vias de reparo, ver, por exemplo: Pélico e Alcantara Gomes, 1979). A atividade desta via pode ser significativamente aumentada por alterações metabólicas como as acarretadas pelo carenciamento das células em fontes de carbono, embora, nestas condições, a amplificação da excisão não pareça dependente da polimerase I (Pélico *et al.*, 1980).

Os diversos tratamentos descritos no presente trabalho devem atuar de formas complexas na maquinaria celular e, principalmente, na desrepressão de vias bioquímicas. Os mecanismos propostos representam simplificações, baseadas em fatos supostamente conhecidos, e é assim que devem ser encarados. Eles interferem, simultaneamente, no metabolismo e na reparação das lesões, modificando a sobrevivência celular e o patrimônio genético.

Na figura 5 estão representadas as vias metabólicas e de reparação nas quais devem atuar estes tratamentos. O modelo se fundamenta em processos competitivos. O modelo se fundamenta em processos competitivos entre a evolução da lesão e sua eliminação, sendo ainda especulativo e rido de incertezas, como tudo mais em Ciência. Fundamentado nos argumentos experimentais obtidos, ele traduz crenças do presente, sem compromissos com o futuro.

Os resultados apresentados neste trabalho foram obtidos em colaboração com os professores B. R. Aragão, A. C. Araújo, M. Bernardo Filho, A. C. Leitão, H. C. Motta, R. L. C. Oliveira, J. V. C. Pélico e J. O. Valsa, graças ao apoio financeiro do CNPq, PIG-III, CAPES, MEC/SESU, CNEN e FINEP.

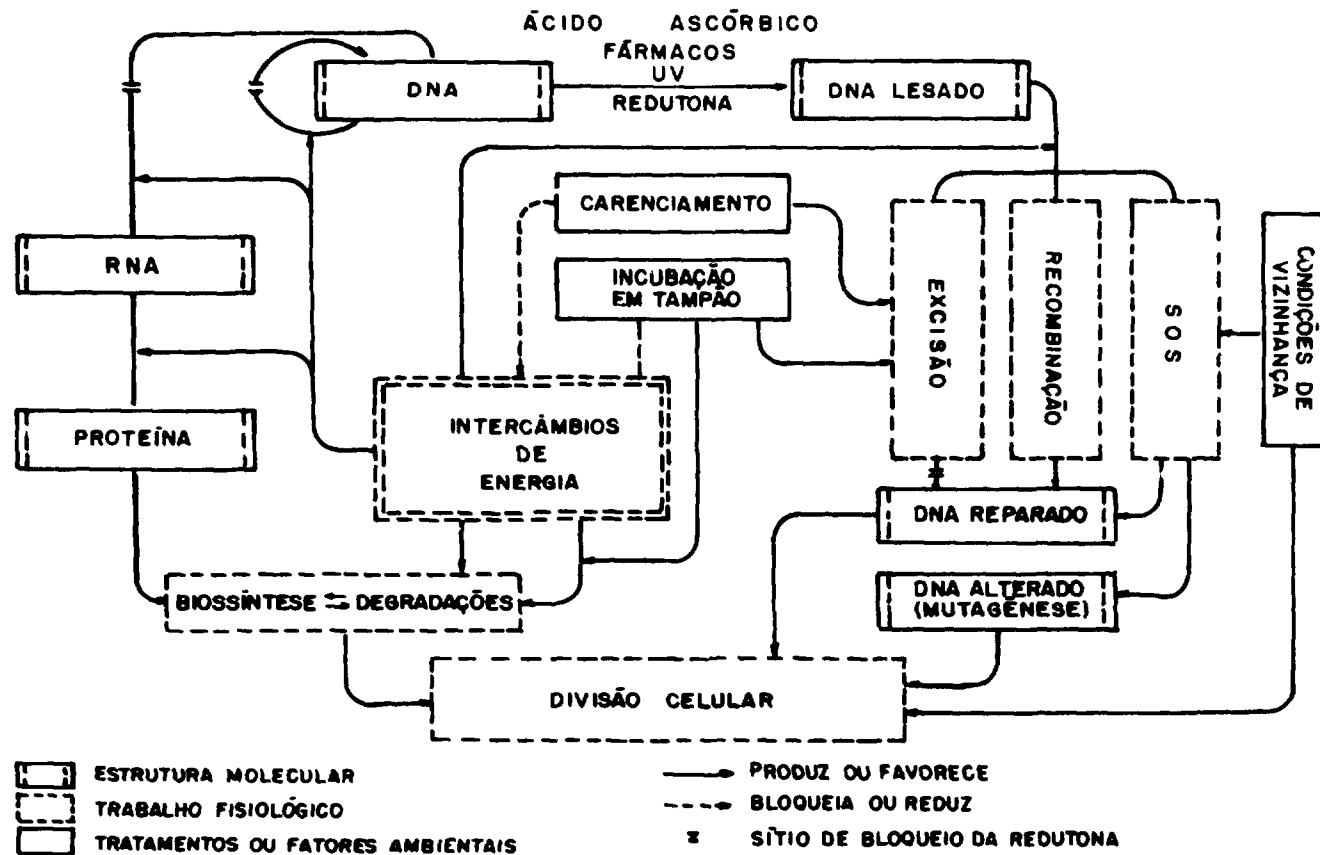


Figura 5 - A preservação da viabilidade celular após tratamentos físicos e químicos

BIBLIOGRAFIA

- ADLER, H. I., CARRASCO, A., CROW, W. & GILL, J. S. (1981) — Cytoplasmic membrane fraction that promotes septation in an *Escherichia coli lon* mutant. *J. Bacteriol.* 147:326-332.
- ALCANTARA GOMES, R., LEITÃO, A. C., ARAGÃO, B. R. & CALDAS, L. R. (1973) — Sensitization and repair in ultraviolet-irradiated bacteria. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 45:(supl.) 123-133.
- ALCANTARA GOMES, R. (1979) — *Determinantes Radiobiológicos da viabilidade celular*. Tese de Concurso para provimento do cargo de Professor Titular, Instituto de Biologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- ANDERSON, W. A., MOREU, P. L., DEVORET, R. & MARAL, R. (1980) — Induction of prophage λ by daunorubicin and derivatives. Correlation with antineoplastic activity. *Mutation Res.* 77:197-208.
- ARAGÃO, B. R. (1980) — *Respostas fisiológicas à irradiação celular: Recuperação por incubação em tampão*. Tese de Doutorado, Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- ARAGÃO, B. R., ARAUJO, A. C. & ALCANTARA GOMES, R. (1980) — Simplified fluctuation test to distinguish liquid holding recovery from cell multiplication in ultraviolet-irradiated *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 144:1176-1178.
- BERNARDO FILHO, M. (1978) — *Contribuição ao estudo do mecanismo de restauração por vizinhança*. Tese de Mestrado, Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- BERNSTEIN, C. (1981) — Deoxyribonucleic acid repair in bacteriophage. *Microbiological Reviews* 45:72-98.
- BOCKRATH, D. H. & KRISTOFF, S. (1980) — Crowding depression of UV-mutagenesis in *E. coli*. *Mutation Research* 73:43-58.
- BRENT, R. & PTASHNE, M. (1981) — Mechanism of action of the *lexA* gene product. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78:4204-4208.
- CUNNINGHAM, R. P., WU, A. M., SHIBATA, T., DasGUPTA, C. & RADDING, C. M. (1981) — Homologous pairing and topological linkage of DNA molecules by combined action of *E. coli recA* protein and topoisomerase I. *Cell* 24:213-223.
- DEVORET, R. (1978) — Inducible error-prone repair: one of the cellular responses to DNA damage. *Biochimie* 60:1135-1140.
- DEVORET, R. (1979) — Bacterial tests for potential carcinogens. *Scientific American* 241:40-49.
- FERSHT, A. R. & KNILL-JONES, J. W. (1981) — DNA polymerase accuracy and spontaneous mutation rates: Frequencies of purine-purine, purine-pyrimidine, and pyrimidine-pyrimidine mismatches during DNA replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78:4251-4255.
- FOGLIANO, M. & SCHENDEL, P. F. (1981) — Evidence for the inducibility of the *uvrB* operon. *Nature* 289:196-198.
- GLICKMAN, B. W. & RADMAN, M. (1980) — *Escherichia coli* mutator mutants deficient in methylation-instructed DNA mismatch correction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77:1063-1067.
- HANAWALT, P. C., COOPER, P. K., GANESAN, A. K. & SMITH, C. A. (1979) — DNA repair in bacteria and mammalian cells. *Ann Rev. Biochem.* 48:783-836.
- HASELTINE, W. A., GORDAN, L. K., LINDAN, C. P., GRAFSTROM, R. H., SHAPER, N. L. & GROSSMAN, L. (1980) — Cleavage of pyrimidine dimers in specific DNA by a pyrimidine dimer DNA-glycosylase of *M. luteus*. *Nature.* 295:634-641.
- HERMAN, G. E. & MODRICH, P. (1981) — *Escherichia coli* K-12 clones that overproduce *dam* methylase are hypermutable. *J. Bacteriol.* 145:644-646.

- HORII, T., OGAWA, T. & OGAWA, H. (1981) — Nucleotide sequence of the *lexA* gene of *E. coli*. *Cell*. 23:689-697.
- KENYON, C.J. & WALKER, G.C. (1980) — DNA-damaging agents stimulate gene expression at specific loci in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 77:2819-2823.
- KENYON, C.J. & WALKER, G.C. (1981) — Expression of the *E. coli* *uvrA* gene is inducible. *Nature* 289:808-810.
- LANGER, P.J., SHANABRUCH, W.G. & WALKER, A.C. (1981) — Functional organization of plasmid pKM101. *J. Bacteriol.* 145:1310-1316.
- LAVAL, J. (1978) — Recent progress in excision repair of DNA. *Biochimie*. 60: 1123-1134.
- LEHMANN, A.R. (1980) — Early steps in excision repair. *Nature* 285:614-615.
- LEITÃO, A.C. (1977) — *Contribuição ao estudo das restaurações celulares: efeito da redutona a nível molecular*. Tese de Doutorado, Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- LEITÃO, A.C., CALDAS, L.R. & ALCANTARA GOMES, R. (1981) — Inhibition of DNA repair and production of single-strand breaks in *Escherichia coli* by reductone. *Photochem. Photobiol.* 33:49-53.
- LEITÃO, A.C., MOTTA, H.C. & ALCANTARA GOMES, R. (1981) — Kinetics of DNA-induced breaks by reductone treatment: *In vitro* and *in vivo* studies. *Photochem. Photobiol.*, em publicação.
- LINDAHL, T. (1979) — DNA glycosylases, endonucleases for apurinic/apyrimidinic sites, and base excision-repair. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 22:135-192.
- LITTLE, J.W., MOUNT, D.W. & YANISCH-PERRON, C.R. (1981) — Purified *lexA* protein is a repressor of the *Escherichia coli* genes *recA* and *lexA*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78:4199-4203.
- LIVNEH, Z., ELAD, D. & SPERLING, J. (1979) — Enzymatic insertion of purine bases into depurinated DNA *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76: 1089-1093.
- LOEB, L.A., WEIMONTH, L.A., KUNKEL, T.A., GOPINATHAN, K.P., BECKMAN, R.A. & DUBE, D.K. (1978). On the fidelity of DNA replication. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 43:921-927.
- MOREAU, P.L. (1981) — *Mécanisme des fonctions cellulaires induites chez Escherichia coli par les lésions de l'ADN. Principe d'un test pour la détection et l'analyse du mécanisme d'action des substances cancérogènes ou antitumorales*. Tese de Doutorado em Ciências, Universidade de Paris-Sul.
- MOREAU, P. & DEVORET, R. (1977) — Potential carcinogens tested by induction and mutagenesis of prophage λ in *Escherichia coli* K12. In *Origins of Human Cancer* (Ed. Cold Spring Harbor Laboratory), p. 1451-1472.
- NAVEH-MANY, T. & CEDAR, H. (1981) — Active gene sequences are undermethylated. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78:4246-4250.
- OLIVEIRA, R.L.C. (1980) — *Produtos de termodegradação de sacarídeos: estudo do efeito sobre células de Escherichia coli K12S*. Tese de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- OLIVEIRA, R.L.C. & ALCANTARA GOMES, R. (1980) — Thermal degradation products of sugars in alkaline pH. I — Lethal effect of glucose-phosphate solutions on *Escherichia coli*. *Rev. Microbiol.* 11:55-59.
- OLIVEIRA, R.L.C., SÁ, P.N. & ALCANTARA GOMES, R. (1981) — Thermal degradation products of sugars in alkaline pH. II — Effect of mono- and disaccharide phosphate solutions on *Escherichia coli*. *Rev. Microbiol.*, em publicação.
- PÉLICO, J.V.C. & ALCANTARA GOMES, R. (1979) — Some repair effectiveness coefficients as indicators of *E. coli* UV-resistance. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 12:111-116.

- PÉLICO, J. V. C., VALSA, J. O., FELZENSZWALB, I., ALCANTARA GOMES, R. (1980) — A quantitative study for stravation-induced photoresistance in *E. coli*. *Rev. Microbiol.* 12:29-34.
- QUADRA, J. A. F. (1980) — *Potencialidade oncogênica de diuréticos: estudo experimental por teste microbianos*. Tese de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- REYNOLDS, R. J. & FRIEDBERG, E. C. (1981) — Molecular mechanisms of pyrimidine dimer excision in *Saccharomyces cerevisiae*: Incision of ultraviolet-irradiated deoxyribonucleic acid *in vivo*. *J. Bacteriol.* 146:692-704.
- SARASIN, A. (1981) — Le cancer et la réparation du DNA. *La Recherche.* 124:824-838.
- SERRES, F. J. & SHELBY, M. D. (1979) — Recommendation on data production and analysis using the *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutation Res.* 64:159-165.
- TANG, M. S. & SMITH, K. C. (1980) — The expression of liquid holding recovery in ultraviolet-irradiated *Escherichia coli* requires a deficiency in growth medium-dependent DNA repair. *Photochem. Photobiol.* 32:763-769.
- TANG, M. S., WANG, T. C. V. & PATRICK, M. H. (1979) — DNA turnover in buffer-held *Escherichia coli* and its effect on DNA repair of UV-damage. *Photochem. Photobiol.* 28:511-520.
- VALSA, J. O. (1980) — *Efeitos da redutona e do ácido ascórbico nas funções SOS — estudo comparativo*. Tese de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- WARNER, H. R., DUNCAN, B. K., GARRETT, C. & NEUHARD, J. (1981) — Synthesis and metabolism of uracilcontaining deoxyribonucleic acid in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 145:687-695.
- WITKIN, E. M. (1976) — Ultraviolet mutagenesis and inducible repair in *Escherichia coli*. *Bacteriol. Rev.* 40:869-907.