

PACS: 87.53.-j, 87.14.Gg

Е.А. Гребнева

ОБЗОР ПОЛИМЕРАЗНО-ТАУТОМЕРНЫХ МОДЕЛЕЙ МИШЕННОГО
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО МУТАГЕНЕЗА ПРИ СИНТЕЗЕ,
СКЛОННОМ К ОШИБКАМ, И SOS-СИНТЕЗЕ ДВУНИТЕВОЙ ДНК,
СОДЕРЖАЩЕЙ ЦИС-СИН ЦИКЛОБУТАНОВЫЕ
ТИМИНОВЫЕ ДИМЕРЫ

Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина

Статья поступила в редакцию 9 января 2018 года

Показано, что общепринятая полимеразная парадигма не способна объяснить даже A-rule. Автором предложена и разрабатывается полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза. Разработан механизм образования редких таутомерных форм в спаренных основаниях ДНК. Исследованы условия, в которых эти редкие таутомерные формы будут устойчивыми. Показано, что тимин может образовывать пять редких таутомерных форм, способных влиять на характер спаривания оснований. Эти редкие таутомерные формы будут стабильными, если соответствующие нуклеотиды входят в состав циклобутановых пиримидиновых димеров. Установлено, что при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе ДНК специализированные и модифицированные ДНК-полимеразы встраивают напротив циклобутановых пиримидиновых димеров канонические основания, способные образовывать водородные связи с матричными основаниями. Предложены полимеразно-таутомерные модели механизмов образования мишеней: мутаций замены оснований, инсерций, делеций, сложных инсерций и задерживающихся мутаций замены оснований, вызванных цис-син циклобутановыми тиминовыми димерами.

Ключевые слова: ультрафиолетовый мутагенез, редкие таутомерные формы оснований ДНК, цис-син циклобутановые тиминового димеры, мишеней мутаций замены оснований, мишеней делеции, мишеней инсерции, мишеней сложные инсерции, мишеней задерживающихся мутаций замены оснований, склонная к ошибкам репликация, SOS-репликация

1. Введение

Главной причиной старения и раковых заболеваний являются ошибки текста молекулы ДНК. Для того чтобы разработать методики профилактики и лечения раковых заболеваний, опирающиеся на современные научные данные, необходимо изучить вклад различных факторов, влияющих на процессы, приводящие к старению и раковым заболеваниям.

Все живые существа состоят из белков. Молекула ДНК – это текст, в котором записана «инструкция» о том, когда, какие и каким образом синтези-

ровать белки. Вследствие внешних и внутренних воздействий в первую очередь повреждается молекула ДНК. В результате «инструкция» изменяется: белки синтезируются с ошибками, которые накапливаются, и, как следствие, белки выполняют свои функции все хуже и хуже. Это приводит к старению организма. Если синтезируются ошибочные белки, контролирующие деление клетки, то клетка начинает безудержно делиться и в результате появляются опухоли, которые в дальнейшем превращаются в злокачественные.

Автором были разработаны и предложены полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза [1–23], радиационно-индуцированных байстендер эффектов [3,6,11,13,21,23] и радиационно-индуцированной нестабильности генома [19,24]. Предложен механизм изменения таутомерных состояний в спаренных основаниях ДНК при облучении ее ультрафиолетовым светом [25–28]. Показано, что возможно образование пяти редких таутомерных форм тимина и аденина [5,7,22] и семи гуанина и цитозина [1,20]. Изучены условия, при которых эти редкие таутомерные формы будут устойчивыми [5,8,22]. Показано, что редкие таутомерные формы оснований ДНК устойчивы, если соответствующие основания входят в состав циклобутановых пиримидиновых димеров или находятся в небольших (3–5 оснований) окрестностях от них [5,8,22]. Они сохраняются и при синтезе ДНК [8,22]. Развиваются механизмы образования ошибок замены буквы на другую букву (мутаций замены оснований) [2,4,8,10,20,22], вставок (инсерций) [14,15,22] и потери (делеций) [16,18,22] одной или нескольких букв, замены участка текста на другой текст другого размера (сложных мутаций) [17,22] и замены букв, происходящих через продолжительное время после облучения (задерживающихся мутаций замены оснований) [19,24]. Эти явления изучены на участках ДНК, содержащих повреждения, останавливающие синтез ДНК (*цис-син* циклобутановых пиримидиновых димерах) [22], и на так называемых неповрежденных участках ДНК [3,6,11,13,21,23].

По мнению автора, в настоящее время мутагенез как область изучения переживает глубокий кризис. Мутационные исследования крайне важны. Они могут оказывать огромное влияние на политику в области экологии, разработки стратегии в борьбе с раковыми и другими заболеваниями.

В настоящей работе продемонстрировано, что в рамках общепринятой полимеразной парадигмы невозможно объяснить механизмы образования мутаций, даже мишеных мутаций замены оснований (*A-rule*), причем не существует объяснения механизмов образования делеций, инсерций и комплексных мутаций. Главное – абсолютно не понятно, почему в одних случаях появляются мутации замены оснований, а в других – мутации сдвига рамки. Отсутствуют объяснения механизмов образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза. Совершенно катастрофическим представляется положение при объяснении немишеных и немишеных задерживающихся мутаций. Они объединены в радиационно-индуцированные байстендер эффекты, и, по моему мнению, объяснения этих эффектов не вы-

держивают никакой критики. Все это обуславливает довольно печальное положение при изучении радиационно-индуцированной нестабильности генома. И на основании такого слабенького фундамента Tomasetti и Vogelstein [29] сделали вывод о том, что две трети всех мутаций не вызваны воздействием мутагенов, и широко опубликовали свое мнение. Естественно, оно вызвало критику и привлекло внимание общественности. Я полагаю, что все это является свидетельством необходимости смены парадигмы в мутагенезе и намерена показать, что полимеразно-таутомерная модель способна разрешить большинство проблем мутагенеза. В данной работе исследуется только мишенный (появляющийся напротив повреждений, останавливающих синтез ДНК) мутагенез при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры.

Ультрафиолетовый мутагенез самый простой и изучен лучше всего. Он происходит в результате ряда стадий, включающих физические, химические и биологические процессы. Как показывает сорокалетний опыт автора, для решения проблем мутагенеза необходимо, кроме всего прочего, изучать детали процессов, происходящих при воздействии мутагена на молекулу ДНК. Другими словами, при изучении мутагенеза необходимы совместные усилия молекулярных биологов, химиков и физиков.

1.1. Особенности ультрафиолетового мутагенеза

В результате облучения молекулы ДНК ультрафиолетовым светом образуются циклобутановые пиримидиновые димеры или (6–4)-аддукты (от 78% до 84%) [30,31]. Чаще всего формируются *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, в которых ориентация оснований относительно сахарофосфатного остова не изменяется [32,33]. Мутации всегда образуются при синтезе ДНК в процессах репликации, склонной к ошибкам, или SOS-репликации, репарации или транскрипции [34–38]. Они вызывают мишенные: мутации замены оснований [35,39,40], инсерции и делеции [41–43], сложные мутации [45,46] и задерживающиеся мутации [46–49]. Только 5–12% циклобутановых димеров и (6–4)-аддуктов приводят к ошибкам репликации [50], большая часть фотодимеров не вызывает мутации. Когда последние образуются напротив фотопродуктов, циклобутановых пиримидиновых димеров или (6–4)-аддуктов, такой мутагенез называется мишенным [51,52]. Если мутации появляются в небольшой окрестности от димеров, происходит немишенный мутагенез [53,54]. Иногда образуются задерживающиеся мутации [46–49]. Мишенные, немишенные и задерживающиеся мутации могут вносить значительный вклад в развитие раковых и генетических заболеваний [55].

1.2. Модели мутагенеза

В настоящее время существует несколько моделей, объясняющих механизмы образования различных мутаций [20]. Полимеразная модель опирается на идею, что причиной их возникновения являются ошибки ДНК-полимераз,

встраивающих напротив повреждений (например, циклобутановых пиримидиновых димеров) некомплементарные основания [56–60]. В таутомерной модели, предложенной Уотсоном и Криком [61], предполагается, что причина спонтанного мутагенеза – основания в редких таутомерных формах, появляющихся вследствие контактов с молекулами воды. Авторы [62,63] предполагают, что дезаминирование цитозина – это главная причина образования мутаций замены оснований. Природа немишеных мутаций, появляющихся на так называемых неповрежденных участках ДНК, и немишеных задерживающихся мутаций, образующихся через несколько циклов репликации после воздействия мутагена, рассматривается в настоящее время в рамках радиационно-индуцированных байстендер эффектов [64–69]. Такими эффектами называются мутации, образующиеся в необлученных клетках, находящихся недалеко от облученных [69]. А задерживающиеся мутации – одно из главных проявлений радиационно-индуцированной нестабильности генома [69]. Полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза [1–28] опирается на идею Уотсона и Крика [61] о том, что одной из его причин является способность оснований ДНК находиться в различных таутомерных формах.

2. Неспособность полимеразной парадигмы объяснить *A-rule*

2.1. Обзор экспериментальных данных по *A-rule*

A-rule является экспериментальным правилом, поэтому необходимо изучить, как полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза согласуется с *A-rule*. Авторами [59,70] был проведен анализ экспериментальных данных по работе большого количества полимераз, встраивающих основания напротив сайтов без оснований, циклобутановых пиримидиновых димеров и (6–4)-фотопродуктов. В работе [59] проанализированы полимеразы *iota* (ι), *kappa* (κ), T7, Dpo4, Pol ξ , DinB family, Rew I, Pol V, Pol IV, Pol α , Tag (Pol I family), HIV reverse transcriptase и Pol δ . Автор этой работы, опираясь на полимеразную парадигму, делает вывод, что «инструктивное или неинструктивное поведение повреждений ДНК в прямом нуклеотидном встраивании не является инвариантом свойств повреждения, но зависит от структуры и механизма вовлеченной полимеразы».

Эксперимент показывает, что напротив T(*cis-syn*)T чаще встраивается аденин (A) (94%), напротив T(*cis-syn*)C – гуанин (G) (95%) [35]. Pol V встраивает аденин (98%) напротив T(*cis-syn*)T [56], Pol η – аденин (99%) напротив T(*cis-syn*)C [40], Pol η – гуанин напротив T(*cis-syn*)C [71]. Полимераза *exo*-T7 DNA Pol встраивает аденин (98%) напротив T(*cis-syn*)T [72], полимеразы Pol η и Pol V – аденин напротив 3'-T TT [71].

Во время репликации напротив 5'T–T3' и 5'T–U3' циклобутановых пиримидиновых димеров ДНК-полимераза Pol ι встраивает гуанин G или тимин T напротив 3' нуклеотида [73–75]. ДНК-полимераза Pol η встраивает гуанин

G напротив 3'Т или (6–4)-аддуктов [76], Pol β – преимущественно аденин напротив циклобутановых пиримидиновых димеров и (6–4)-аддуктов, но иногда – цитозин (dСТР) [77]. Цитозин или аденин преимущественно встраиваются напротив сайтов без оснований [74,75].

2.2. Анализ объяснения A-rule, опирающегося на полимеразную парадигму

Полимеразная парадигма основана на идее о том, что причиной мутаций являются исключительно случайные ошибки ДНК-полимераз. Поэтому предполагается, что и матричные, и встраиваемые основания находятся в канонических таутомерных формах. Проведем структурный анализ встраивания канонических оснований, обнаруженных при изучении A-rule в работах [35,40,56,59,70–77], напротив *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров или (6–4)-аддуктов.

Из рис. 1,а видно, что канонический гуанин не может быть встроен напротив канонического тимина из-за отталкивания Н₁ гуанина и Н₃ тимина. Канонический тимин не может быть встроен напротив канонического тимина из-за отталкивания атомов водорода Н₃ обоих тиминов (рис. 1,з), но напротив канонического тимина можно встроить цитозин (рис. 1,б).

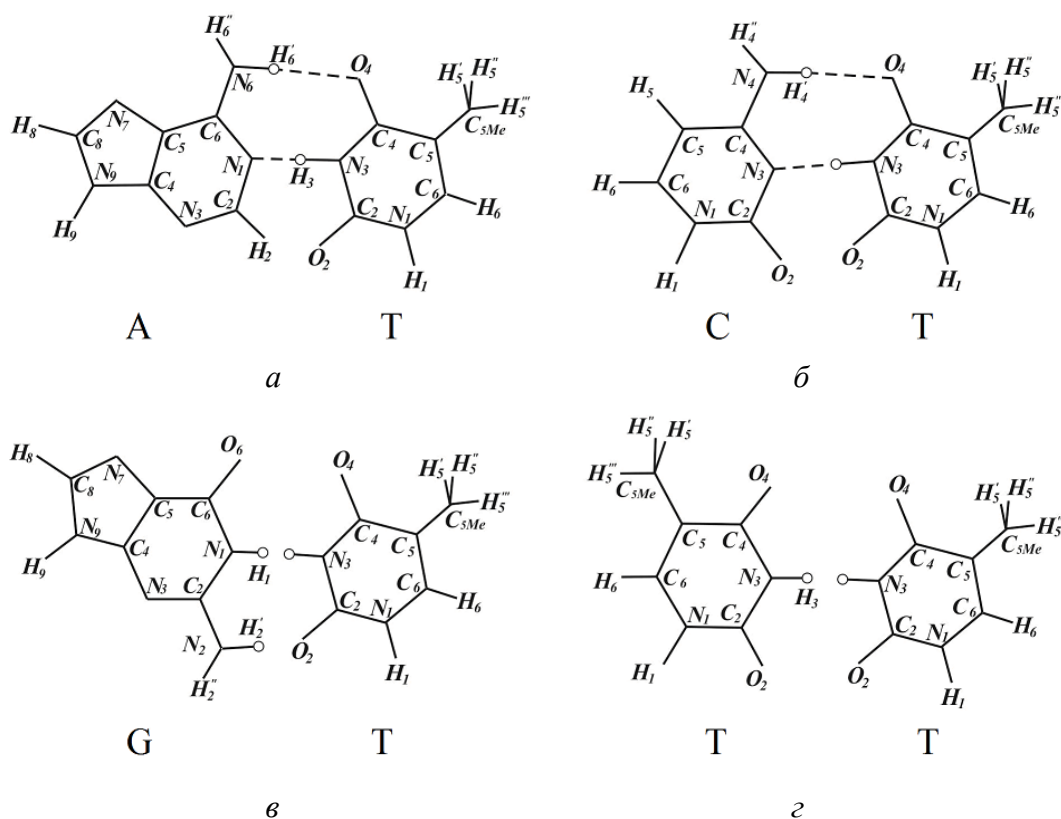


Рис. 1. Структурный анализ возможности спаривания канонического тимина Т с каноническими основаниями ДНК: а – аденином (пара Уотсона–Крика); б – цитозином; в – гуанином; з – тиминном [24]

Водородной называется связь между двумя электроотрицательными атомами, между которыми находится один атом водорода. Если между двумя электроотрицательными атомами находятся два атома водорода, то атомы водорода отталкиваются и связь не образуется.

Рассмотрим SOS-синтез у бактерий и склонный к ошибкам синтез ДНК млекопитающих. Такой индуцированный синтез может идти по нескольким путям. Во-первых, синтез может по-прежнему проходить с помощью конститутивных ДНК-полимераз, таких как III *E. coli* или δ млекопитающих. В результате действия механизма скользящей скрепки ДНК-полимеразы прижимаются к матричной нити ДНК, это позволяет синтезировать нити, содержащие димеры, однако в случае, если образовалась неканоническая пара оснований, $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаза не сможет ее удалить. Во-вторых, синтез может проходить с помощью специализированных ДНК-полимераз, таких как IV, V *E. Coli*, или ζ , η , θ , ι , κ , или ξ млекопитающих. Эти специализированные ДНК-полимеразы способны вести синтез на матрицах ДНК, содержащих димеры, однако они или лишены $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазной активности, или она ослаблена. В результате такие ДНК-полимеразы, встретив ошибочную пару оснований, либо не могут ее удалить, либо делают это гораздо реже, чем безошибочные ДНК-полимеразы (обзор в [20]). Следовательно, для того чтобы понять, какие мутации появятся, необходимо знать, как будут действовать индуцированные ДНК-полимеразы, встретив повреждение ДНК, например *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер.

Исследования встраивания аналогов нуклеотидных оснований в ДНК показали, что аналоги оснований, в которых атом O_2 пиримидина не соответствует такому же атому в канонических основаниях (например, к нему присоединен атом водорода), не встраиваются в цепь ДНК напротив канонических оснований. Способность оснований в матричной ДНК и встраиваемых оснований или их аналогов образовывать водородные связи является очень важным фактором в процессе опознавания в синтезе ДНК. Оказалось, что только пары оснований с геометрией типа Уотсона–Крика формировались во время репликации. При этом встраивались основания ДНК как в обычных, так и в редких таутомерных формах. Имеются доказательства того, что геометрия пары Уотсона–Крика является крайне важным фактором в процессах опознавания при синтезе ДНК. Исследования, посвященные встраиванию природных или синтетических аналогов мутагенных нуклеотидов, показали, что для их встраивания в ДНК необходимы способность к образованию водородных связей с матричными основаниями и соответствие стереохимических требований пары оснований по отношению к геометрии пары Уотсона–Крика (обзор в [8]).

Следовательно, самый стабильный, по-видимому, всегда соблюдаемый этап контроля – это способность матричных и встраиваемых оснований образовывать водородные связи. При работе ферментов решающую роль играет контроль над соответствием матричных и встраиваемых нуклеотидов

нуклеотидам типа Уотсона–Крика. На это указывают многочисленные факты [78,79]. Другими словами, при встраивании оснований напротив димеров, во-первых, контролируется структура встраиваемых оснований. Это означает, что встраиваются канонические основания. Во-вторых, встраиваются такие основания, которые могут образовывать водородные связи с основаниями матричной ДНК. Авторы [80] сделали вывод, что комплементарность оснований не является их внутренним свойством, а строго контролируется ДНК-полимеразами.

Анализ работы различных ДНК-полимераз показал, что специализированные и модифицированные ДНК-полимеразы встраивают напротив циклобутановых пиримидиновых димеров канонические основания, способные образовывать с матричными основаниями водородные связи [8].

Следовательно, объяснение спаривания канонических тимина и гуанина, тимина и цитозина, тимина и тимина, которое дается в рамках полимеразной парадигмы, противоречит не только свойствам водородных связей, но и экспериментальным данным по работе различных ДНК-полимераз.

Другими словами, полимеразная парадигма не способна объяснить даже *A-rule*. Таким образом, механизмы образования мишеных мутаций замены оснований, предложенные в рамках полимеразной парадигмы, являются ошибочными или, по крайней мере, неполными.

3. Механизм образования редких таутомерных форм в спаренных основаниях ДНК

Автор считает, что наиболее продуктивный путь выхода из сложившейся ситуации – дальнейшее развитие гипотезы Уотсона и Крика [61] о том, что в основе мутагенеза лежит способность оснований изменять свое таутомерное состояние. Обзор экспериментальных и теоретических данных свидетельствует о том, что редкие таутомерные формы нуклеотидных оснований – надежно установленный факт (обзор в [7]).

Чтобы понять механизмы образования различных мутаций под действием разных мутагенов, нужно изучить, что происходит при действии хотя бы одного мутагена. В качестве такой модели, по моему мнению, лучше всего подходит ультрафиолетовый мутагенез. Я считаю, что для того чтобы понять, как образуются мутации под действием ультрафиолетового света, надо сделать следующее. Изучить процессы, происходящие при взаимодействии ультрафиолетового кванта с молекулой ДНК. Посмотреть, к каким химическим изменениям структуры ДНК это может привести. Исследовать условия, в которых эти химические изменения будут устойчивыми. Изучить, к каким мутациям они могут приводить при репликации, склонной к ошибкам, или SOS-репликации ДНК, имеющей такие повреждения. Этот план реализован в нескольких циклах работ [1–24,81–102].

Разработана полуэмпирическая потенциальная функция, способная описывать водородные связи с длинами, отличными от равновесных [81–85].

Она использована для нахождения потенциальных кривых пары гуанин–цитозин для нескольких длин водородных связей [86,88]. Полученные кривые применены для изучения характера колебаний атомов и атомных групп для изолированных оснований и спаренных оснований гуанин–цитозин для водородных связей, находящихся в основном и возбужденном состояниях [87–90]. Задача решена для изолированной пары гуанин–цитозин [87,88] и пары гуанин–цитозин, находящейся в нити ДНК [89,90]. Разработана теория безызлучательных переходов протонов водородных связей в молекуле ДНК [91–96]. Полученные ранее результаты [86–90] позволили оценить время жизни возбужденной водородной связи по отношению к тепловым переходам [94–96]. Все эти результаты использованы при построении модели образования редких таутомерных форм оснований ДНК при облучении молекулы ДНК ультрафиолетовым светом [1,5,7,25–28]. Изучены процессы распространения энергии

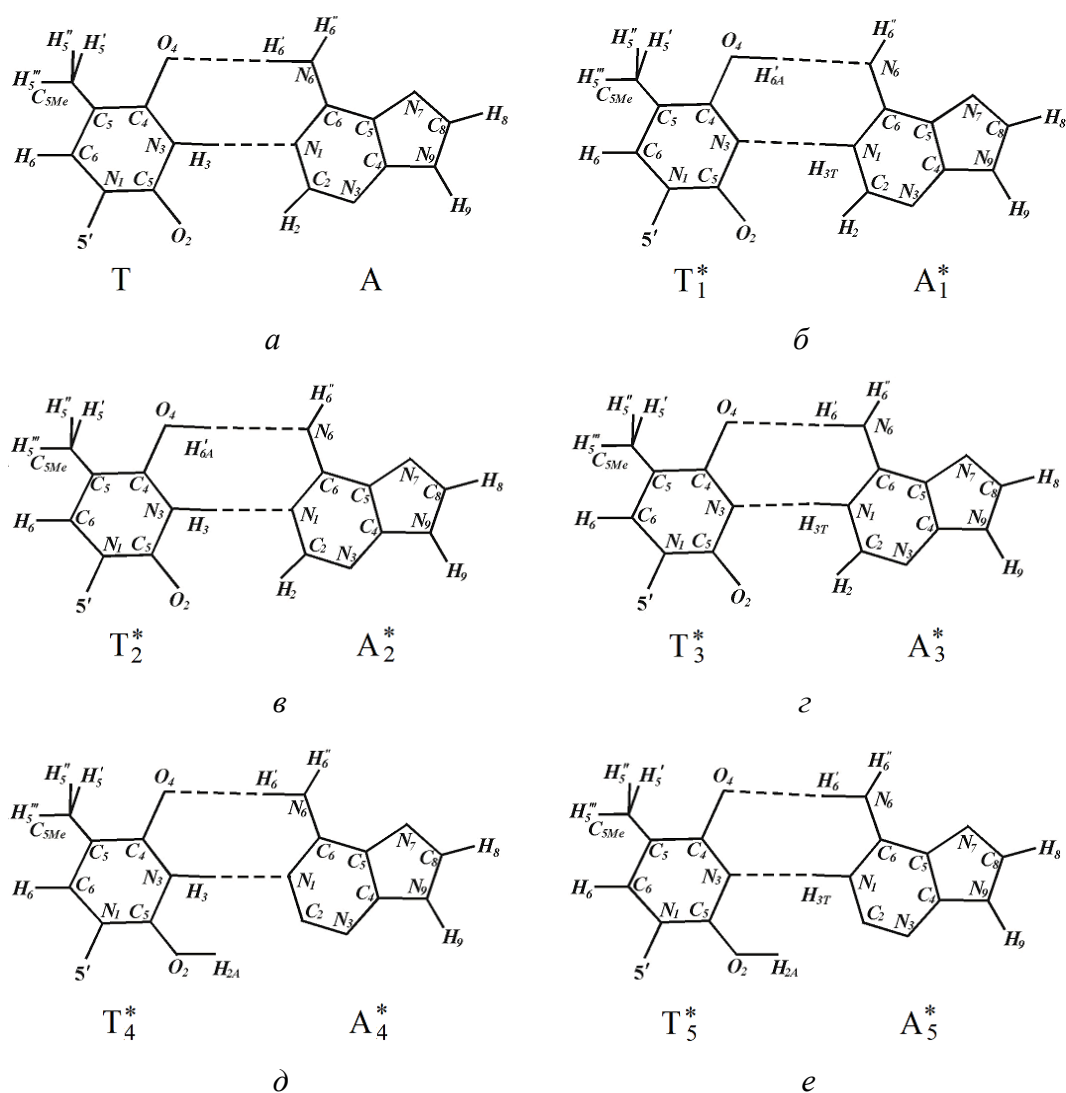


Рис. 2. Возможные таутомерные состояния тимина и аденина: а – канонические; б–е – редкие [5]

возбуждения по молекуле ДНК, предсказана новая квазичастица – протонный экситон и изучены ее свойства [97–101]. Оказалось, что главный вклад в процесс образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза вносят процессы распространения энергии возбуждения по молекуле ДНК [12].

Показано, что таутомерные изменения могут происходить при безызлучательном девозбуждении ДНК, поглотившей ультрафиолетовый квант с триплетных уровней энергии вследствие сильных вынужденных колебаний [1,5,7,25–28]. Такие колебания приводят к изменению длин водородных связей. Одним из этапов является этап полураскрытых метастабильных состояний. Найдено 7 редких таутомерных форм для гуанина и цитозина Уотсона–Крика [1,20] и 5 – для канонических тимина и аденина [5,7,22] (рис. 2), способных влиять на характер спаривания оснований.

При этом инициируется несколько типов повреждений. Во-первых, может произойти двухпротонная фототаутометрия с участием атомов водорода первой и второй Н-связей в парах гуанин–цитозин. Такое состояние оказывается устойчивым и приводит к немишенному мутагенезу. Во-вторых, изменения таутомерных состояний могут произойти у оснований ДНК, находящихся в небольшой окрестности от димеров, при определенных условиях они тоже могут вызывать немишенный мутагенез. В-третьих, изменение таутомерного состояния может произойти при формировании *цис-син* пиримидиновым димеров, являющихся основным видом фотоповреждений, напротив которых чаще всего образуются мутации. Они могут приводить к мишенным мутациям. Изучены условия, при которых редкие таутомерные состояния оснований будут устойчивыми.

4. Полимеразно-таутомерная модель образования мишенных мутаций замены оснований при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе двунитевой ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры

Проанализируем, как будет происходить синтез, склонный к ошибкам, и SOS-синтез двунитевой ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые димеры TT_1^* , TT_4^* и TT_5^* (* означает, что соответствующее основание находится в редкой таутомерной форме). Такой синтез может осуществляться только с участием ДНК-полимераз, способных вести синтез через повреждение. Сделан структурный анализ встраивания оснований напротив этих *цис-син* циклобутановых тиминных димеров. Возможные варианты образования пар оснований представлены на рис. 3. Напротив тимина T_1^* (рис. 2,б) может быть встроен гуанин (рис. 3,а) или тимин (рис. 3,б) в канонических таутомерных формах. В первом случае возникнет транзиция А–Т → G–C, во втором – гомологичная трансверсия А–Т → T–A [4,8,22]. Напротив тимина T_4^* (рис. 2,д) можно встроить цитозин. Тимин T_4^* может или не привести к мутации, или вызвать трансверсию А–Т → C–G. Тимин T_5^* (рис. 2,е) способен об-

разовать две водородные связи с цитозином (рис. 3,в) и две водородные связи с тиминном (рис. 3,з). Соответственно образуется или трансверсия А–Т → С–Г, или гомологичная трансверсия А–Т → Т–А [4,8,22].

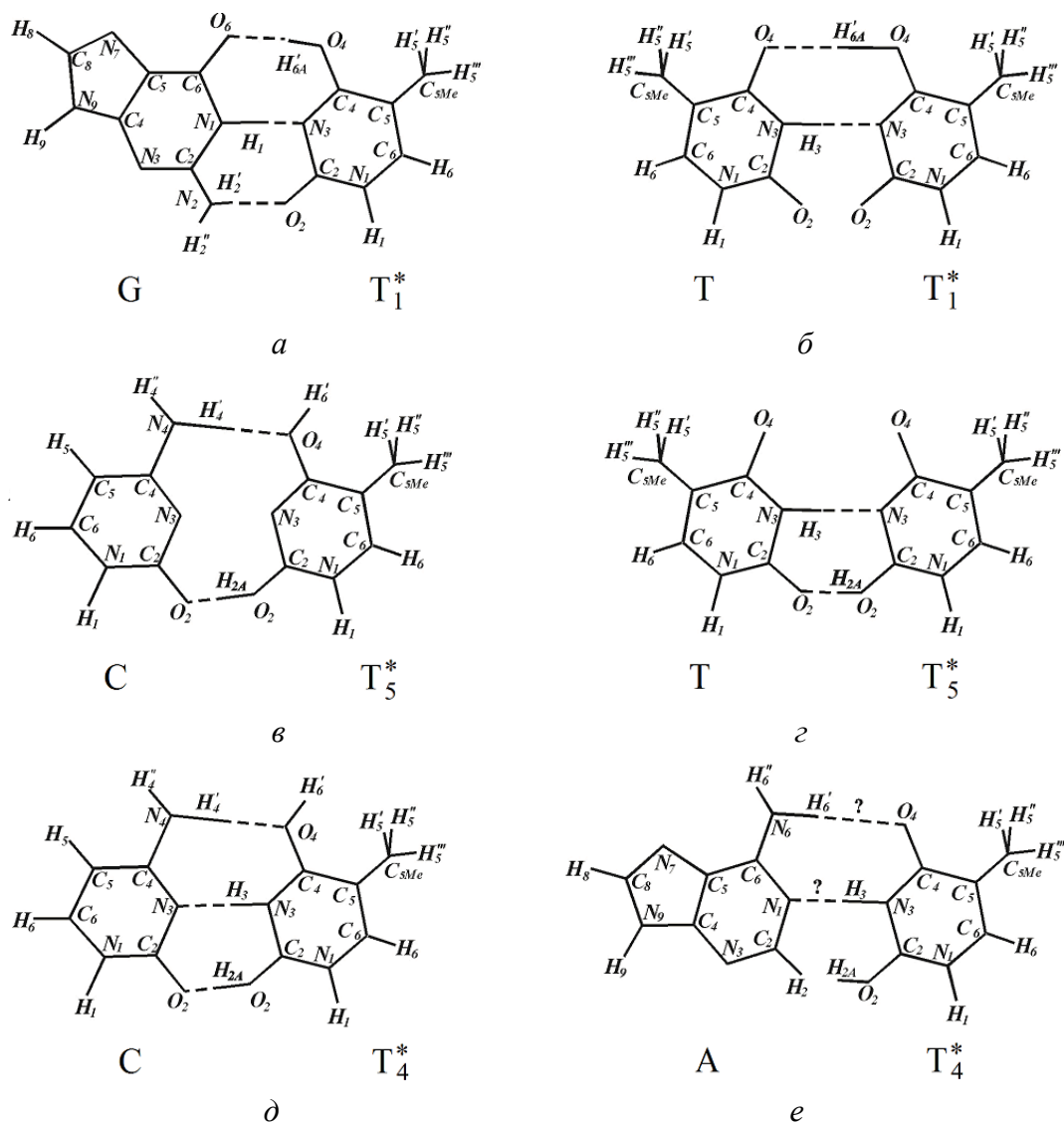


Рис. 3. Возможные варианты образования пар между основаниями в редких и канонических таутомernihих формах: а – T_1^* и G; б – T_1^* и T; в – T_5^* и C; з – T_5^* и T; д – T_4^* и C; е – T_4^* и A [4]

5. Полимеразно-таутомерная модель образования мишенньих инсерций при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе двунитевой ДНК, содержащей цис-син циклобутановые тиминные димеры

Мутации сдвига рамки чаще всего образуются на участках ДНК с однородным нуклеотидным составом. Это могут быть участки с монотонной последовательностью G–C- или А–Т-пар либо последовательным чередовани-

ем А–Т- или Т–А-пар. В рамках развиваемой автором полимерно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза предлагается модель механизма образования мишеных инсерций, мутаций сдвига рамки чтения, вызванных *цис-син* циклобутановыми тимinovыми димерами. Структурный анализ встраивания канонических оснований ДНК напротив *цис-син* циклобутановых тимinovых димеров T_2^* показал, что напротив них невозможно встроить ни одно каноническое основание так, чтобы образовались водородные связи между основаниями T_2^* и каноническими основаниями ДНК [14,15] (рис. 4). При этом мы опирались на тот факт, что при синтезе ДНК специализированные или модифицированные ДНК-полимеразы встраивают напротив циклобутановых димеров такие канонические основания, которые способны образовывать водородные связи с основаниями матричной ДНК.

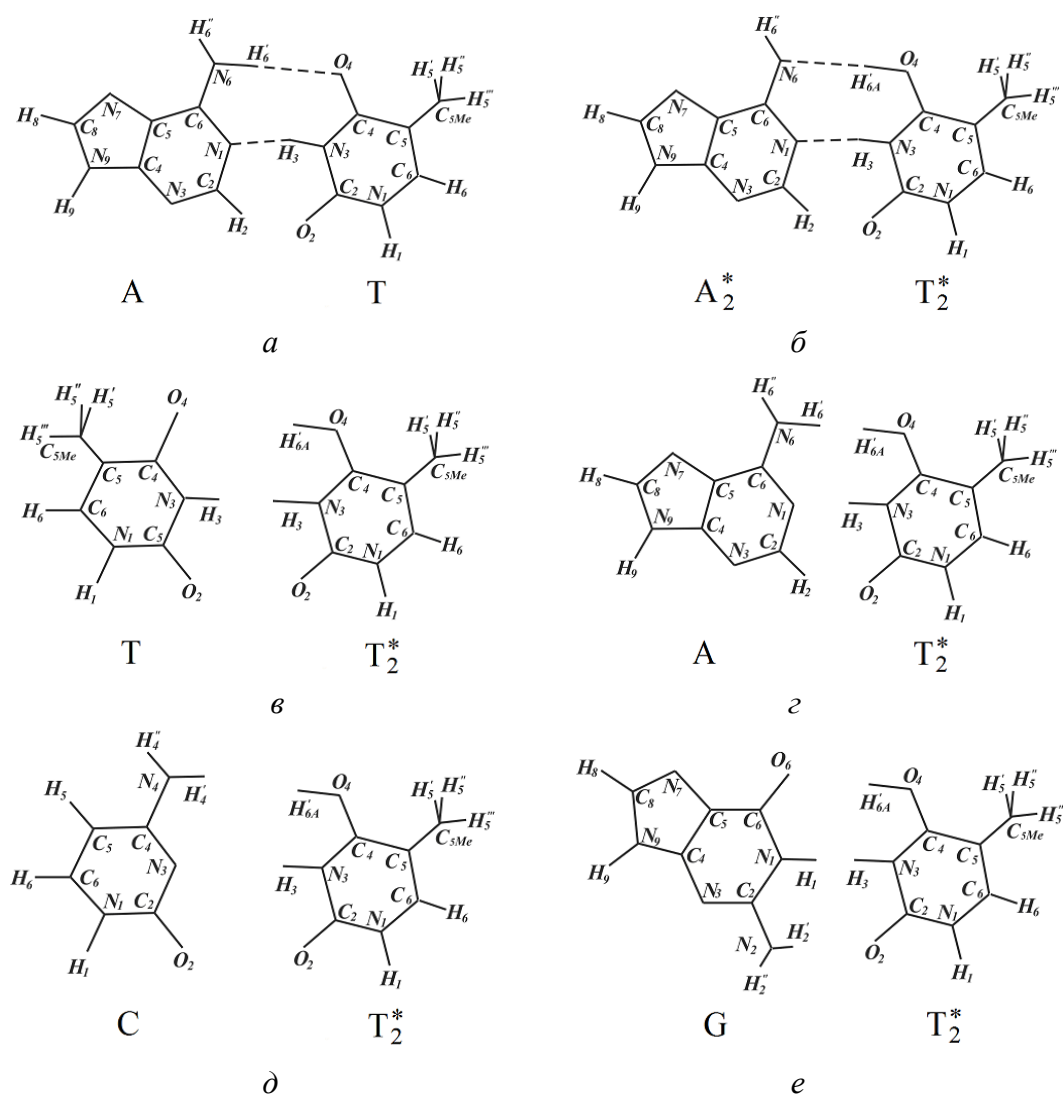


Рис. 4. Пары оснований аденин–тимин (*a* – каноническая, *б* – редкая $A_2^* - T_2^*$) и структурный анализ возможности спаривания тимина T_2^* с каноническими основаниями ДНК: *в* – тимин; *г* – аденин; *д* – цитозин; *е* – гуанин [14]

Рассмотрен синтез двухцепочечной ДНК, содержащей в одной из своих цепей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры, одно или оба основания в которых находятся в редких таутомерных формах T_2^* . Если синтез ДНК происходит с помощью модифицированных или специализированных ДНК-полимераз, то напротив димеров, содержащих молекулы тимина T_2^* , могут появиться бреши в один нуклеотид. На участках ДНК с однородным нуклеотидным составом в соответствии с моделью Стрейзингера концы растущей нити ДНК могут сползать, соединяться в новом месте и образовывать петли. В результате дочерняя нить удлиняется, появляется мишенная мутация сдвига рамки чтения – мишенная инсерция (вставка из нескольких нуклеотидов) [14,15,22] (рис. 5).

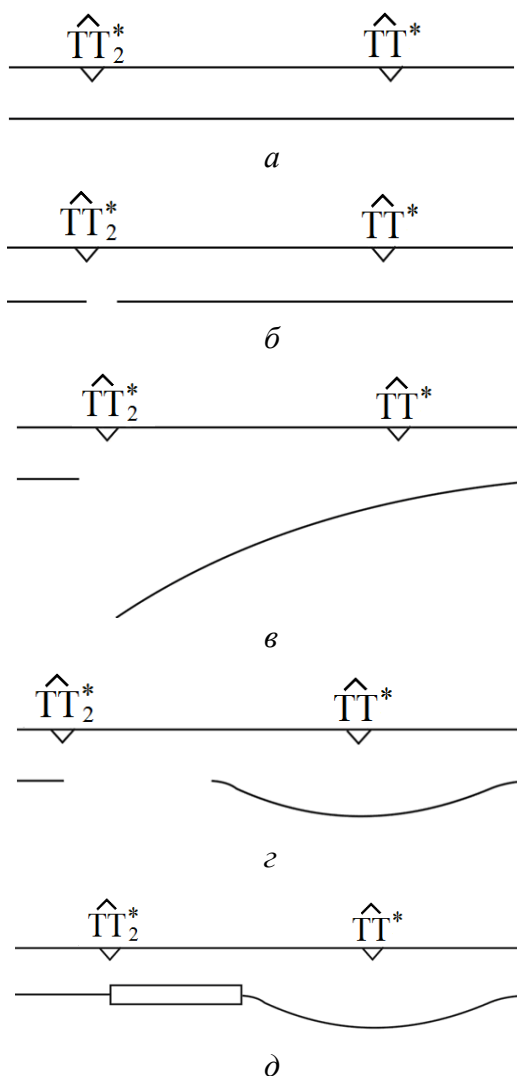


Рис. 5. Схемы образования мишенных инсерций из нескольких нуклеотидов: *a* – участок ДНК, содержащий циклобутановые цитозиновые димеры T_2^* и T ; *б* – напротив димера T_2^* появляется брешь в один нуклеотид; *в* – конец нити ДНК сползает; *г* – образуется петля; *д* – большая брешь застраивается, образуется вставка из нескольких нуклеотидов – мишенная инсерция [14]

6. Полимеразно-таутомерная модель образования мишеных делеций при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе двунитевой ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры

Рассмотрен синтез молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры \widehat{TT}_2^* , который осуществляется с помощью специализированных или модифицированных ДНК-полимераз. Тогда напротив димеров, содержащих молекулы тимина T_2^* , могут появиться брешы в один нуклеотид. Участок ДНК, содержащий циклобутановые димеры, искривляется, и водородные связи между основаниями рвутся. Поэтому участок ДНК напротив димеров \widehat{TT}_2^* может выпасть. Если в противоположной нити ДНК образуется петля, то при застройке сформировавшейся брешы дочерняя нить станет короче. В результате выпадет несколько оснований ДНК, т.е. образуется делеция – мутация сдвига рамки чтения. Если образовался один димер \widehat{TT}_2^* , то напротив него формируется брешь в один нуклеотид. Нить ДНК, содержащая один димер \widehat{TT}_2^* , может образовать небольшую петлю. Тогда противоположная нить немного сдвинется, а поскольку это однородный участок ДНК, она может соединиться в новом месте. В результате выпадет одно основание, т.е. образуется делеция в один нуклеотид [16,18,22] (рис.6).

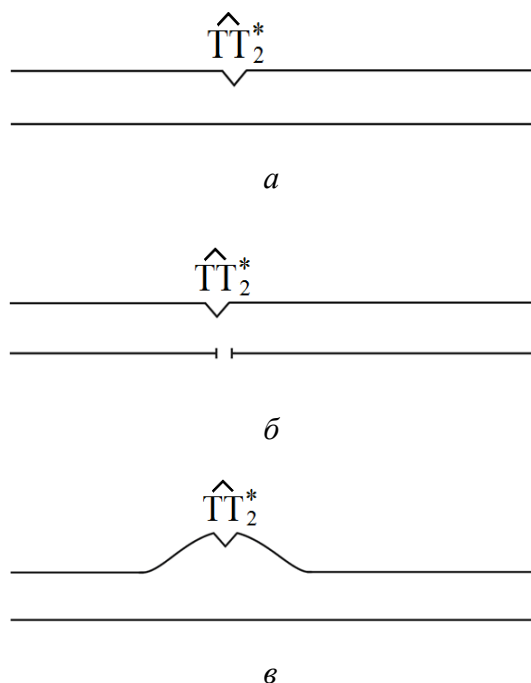


Рис. 6. Схемы образования делеций в один нуклеотид: *a* – участок ДНК, содержащий *цис-син* циклобутановый тиминный димер \widehat{TT}_2^* ; *б* – напротив димера \widehat{TT}_2^* появляется брешь в один нуклеотид; *в* – в нити ДНК, содержащей димер \widehat{TT}_2^* , образуется петля, противоположная нить ДНК сшивается лигазой. В результате дочерняя нить ДНК короче на один нуклеотид, образуется делеция в один нуклеотид [18]

**7. Полимеразно-таутомерная модель образования
мишенных сложных инсерций при синтезе,
склонном к ошибкам, и SOS-синтезе двуниевой ДНК,
содержащей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры**

Рассмотрим участок ДНК следующего нуклеотидного состава АТТГТТТТТТАТТС (13 нуклеотидов) (рис. 7,а). Пусть в результате облучения молекулы ДНК образовались *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры $ТТ_1^*$, $ТТ_2^*$ и $ТТ_5^*$, расположенные так, как показано на рис. 3,а. Тогда в противоположной нити ДНК напротив $Т_1^*$ будет находиться A_1^* , напротив $Т_2^* - A_2^*$, напротив $Т_5^* - A_5^*$ (рис. 3,а). Поскольку эта нить ДНК не содержит циклобутановых димеров, она будет синтезироваться безошибочным образом и, следовательно, к мутациям не приведет. Поэтому в дальнейшем ее рассматривать не будем. Так как кодирующая нить молекулы ДНК, изображенной на рис. 3,а, содержит несколько тиминовых димеров, при условии, что эти димеры не будут удалены в результате репарации, данный участок ДНК будет синтезироваться с помощью модифицированных или специализированных ДНК-полимераз.

Как было показано при изучении механизмов образования мишенных мутаций замены оснований [4,8], напротив тимина в редкой таутомерной форме $Т_1^*$ невозможно встроить канонический аденин так, чтобы между тимином $Т_1^*$ и каноническим аденином сформировались водородные связи, но можно встроить гуанин или тимин (рис. 3,б). Кроме того, напротив тимина в редкой таутомерной форме $Т_5^*$ невозможно встроить канонический аденин так, чтобы между тимином $Т_5^*$ и каноническим аденином образовались водородные связи, но можно встроить цитозин или тимин.

В работах [14–16,18] при изучении механизмов образования мутаций сдвига рамки считывания показано, что напротив тимина в редкой таутомерной форме $Т_2^*$ невозможно встроить ни одного канонического основания так, чтобы между тимином $Т_2^*$ и основаниями ДНК образовались водородные связи (см. рис. 4). Поэтому специализированные или модифицированные ДНК-полимеразы оставят брешь в один нуклеотид [14–16,18].

Напротив *цис-син* циклобутанового тиминового димера $ТТ_2^*$ появится брешь в один нуклеотид (рис. 7,б). Конец нити ДНК может сползти, тем более что недалеко от димера $ТТ_2^*$ есть еще циклобутановые димеры, так как напротив этих димеров цепь искривляется [14,15] и водородные связи между основаниями, находящимися в противоположных нитях ДНК, рвутся (рис. 7,в). Поскольку описываемые события происходят на участке с однородным нуклеотидным составом, при соединении нить ДНК может образовать небольшую петлю (рис. 7,г). Если эта нить ДНК соединится со следующим основанием ДНК в противоположной нити, то брешь расширится до двух нуклеотидов (рис. 7,г). При застройке этой бреши с помощью конститутивных

ДНК-полимераз образуется вставка из одного нуклеотида – мишенная инсерция в один нуклеотид (рис. 7,д). При репликации нити ДНК, не содержащей циклобутановых димеров, появится участок ДНК АТС(А)ГТТТТТТАГ(А)ТС (14 нуклеотидов). Таким образом, участок ДНК АТТГТТТТТАТТС (13 нуклеотидов) превратится в участок АТС(А)ГТТТТТТАГ(А)ТС (14 нуклеотидов) [17,22].

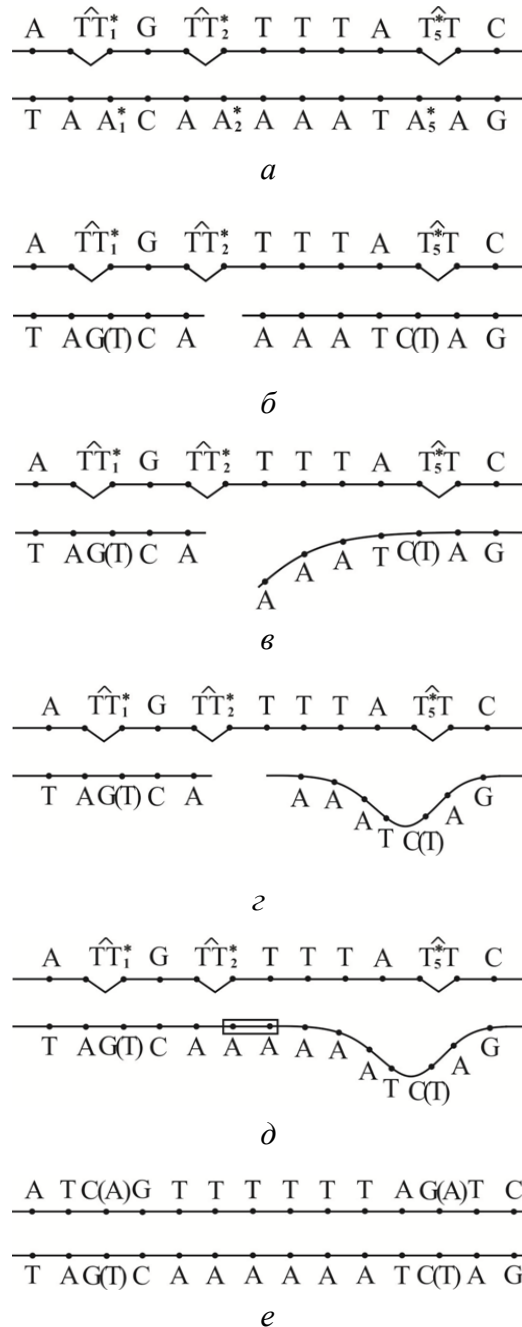


Рис. 7. Схемы образования мишенных сложных мутаций, когда длина участка ДНК увеличивается на один нуклеотид. Участок ДНК АТТГТТТТТАТТС (13 нуклеотидов) превратился в участок ДНК АТС(А)ГТТТТТТАГ(А)ТС (14 нуклеотидов) [17]

8. Полимеразно-таутомерная модель образования мишеных задерживающихся мутаций замены оснований при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе двунитовой ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры

Радиационно-индуцированной нестабильностью генома называются биологические эффекты, которые возникают в потомстве облученных клеток через многие поколения клеточного деления. Согласно этому определению такая нестабильность генома включает только задерживающиеся мутации. В настоящее время не ясны механизмы образования радиационно-индуцированной нестабильности генома и задерживающихся мутаций [46]. Обычно для их объяснения используется полимеразная парадигма мутагенеза.

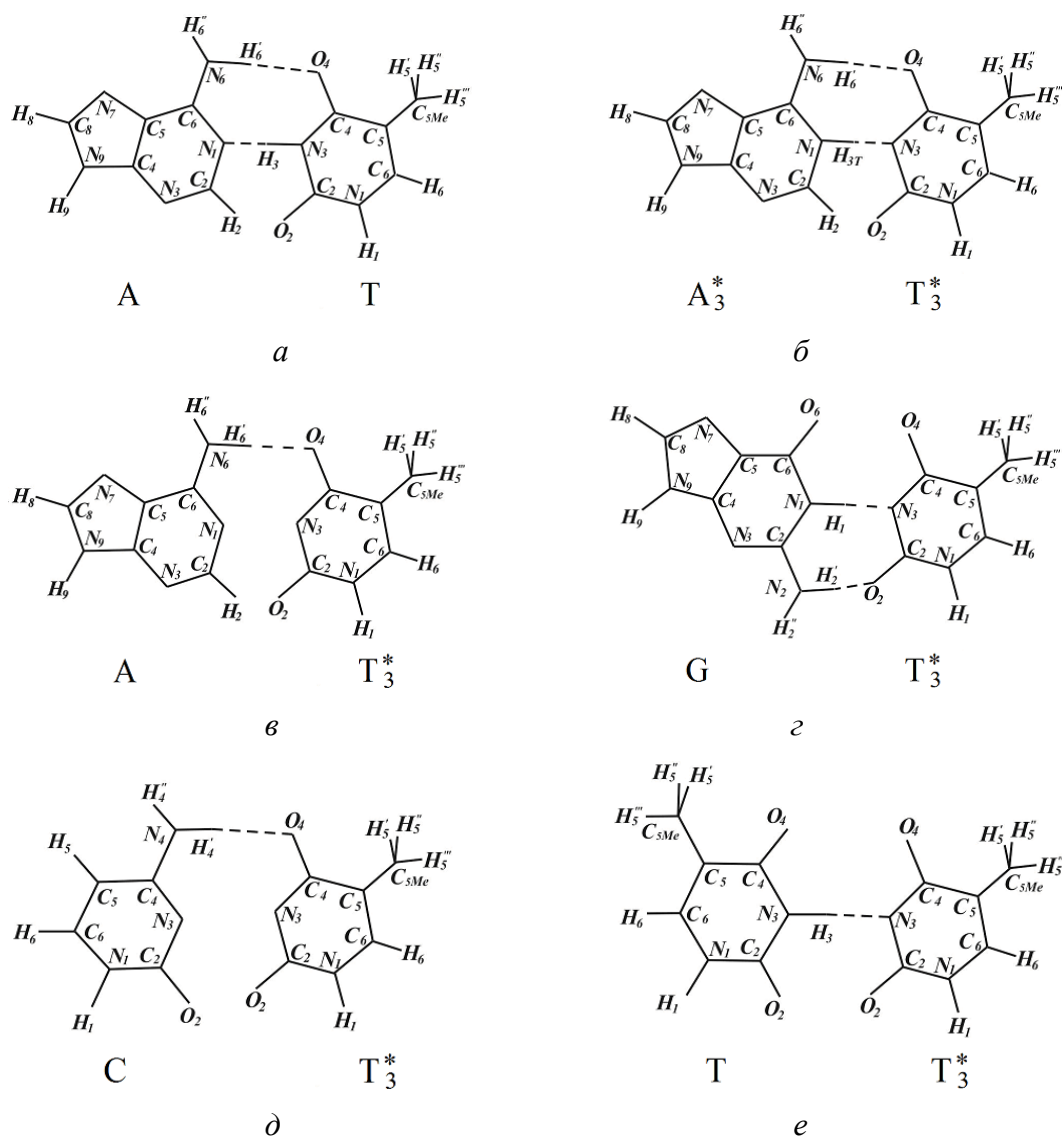


Рис. 8. Пары оснований аденин–тимин (*a* – каноническая, *б* – редкая A₃*–T₃*) и структурный анализ возможности спаривания тимина T₃* с каноническими основаниями ДНК: *в* – аденином; *г* – гуанином; *д* – цитозином; *е* – тимином [19]

В работах [19,24] предложена полимеразно-таутомерная модель механизма образования мишенных задерживающихся мутаций замены оснований, вызванных *цис-син* циклобутановыми тиминовыми димерами. Мишенные задерживающиеся мутации – это мутации, которые могут появляться через несколько циклов репликации после воздействия мутагена напротив повреждений, способных останавливать синтез ДНК. Они могут быть вызваны, в частности, ультрафиолетовым светом. Структурный анализ встраивания оснований показал, что напротив редкой таутомерной формы тимина T_3^* можно встроить аденин и любое другое каноническое основание так, чтобы между ними образовались водородные связи (рис. 8). Если синтез ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановый димер TT_3^* , идет с помощью ДНК-полимераза со сравнительно высокой точностью синтеза, мутации не появятся. Но если в дальнейшем в синтезе ДНК будут участвовать ДНК-полимеразы, обладающие низкой корректорской точностью, могут появиться мишенные задерживающиеся мутации замены оснований. Причем они могут образоваться через много циклов репликации после повреждения ДНК. Кроме того, выяснилось, что даже канонические *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры могут приводить к мишенным задерживающимся мутациям замены оснований. Они способны вызывать только мишенные задерживающиеся трансверсии $T-A \rightarrow G-C$ (см. рис. 1). Такие мутации могут образовываться лишь в том случае, когда рядом с каноническим тиминовым димером имеется очень много других повреждений ДНК.

Можно сделать вывод, что причиной нестабильности генома является большое количество повреждений ДНК. Не все эти повреждения обязательно должны быть мутагенными. Если они способны останавливать синтез ДНК, то, следовательно, могут приводить к синтезу через повреждение, вызывать ДНК-полимеразы с низкой точностью синтеза и вносить вклад в мутагенез [19,24].

9. Интерпретация *A-rule* в свете полимеразно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза

A-rule – это просто экспериментальные данные по образованию мишенных мутаций замены оснований, появляющихся напротив циклобутановых пиримидиновых димеров, (6–4)-аддуктов и сайтов без оснований. Оно ничего не говорит о процессах, которые происходят, когда образуются мутации, просто фиксируется ошибка. Проанализируем *A-rule* с позиций нашей полимеразно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза. Как показывает эксперимент, только несколько процентов циклобутановых пиримидиновых димеров приводит к мутациям, большая часть димеров вовсе не дает мутаций [50].

Согласно полимеразно-таутомерной модели полимеразы, встретив димер с основанием, находящимся в редкой таутомерной форме, встраивает напротив него такое каноническое основание, которое может образовывать водородные связи с матричным основанием. Другими словами, происходит ком-

плементарное встраивание, но само матричное основание находится в неканонической таутомерной форме. Это соответствует экспериментальным данным о работе ДНК-полимераз [8].

Необходимо изучить, как полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза согласуется с *A-rule*. В работах [59,70] проведен анализ экспериментальных данных по работе большого количества полимераз, встраивающих основания напротив сайтов без оснований, циклобутановых пиримидиновых димеров и (6–4)-фотопродуктов. Проанализированы полимеразы *iota* (ι), *kapra* (κ), T7, Dpo4, Pol ξ , DinB family, Rew I, Pol V, Pol IV, Pol α , Tag (Pol I family), HIV reverse transcriptase и Pol δ [59]. Опираясь на полимеразную парадигму, автор делает вывод что «инструктивное или неинструктивное поведение повреждений ДНК в прямом нуклеотидном встраивании не является инвариантом свойств повреждения, но зависит от структуры и механизма вовлеченной полимеразы» [59].

С точки зрения полимеразно-таутомерной модели происходит следующее. Когда ДНК-полимеразы V [56], η [40], ϵ -T7 [72] и β [77] встраивают аденин напротив *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров, это встраивание осуществляется напротив димеров, оба основания в которых находятся в канонических таутомерных формах.

Когда ДНК-полимераза ι [73–75] или ДНК-полимераза Pol η [76] встраивает гуанин напротив *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров, то это может быть только димер TT_1^* . Когда ДНК-полимеразы ι [73–75] или η [76] встраивают тимин напротив *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров, то это могут быть только димеры TT_1^* или TT_5^* . Когда ДНК-полимераза β [77] встраивает цитозин напротив *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров, то это могут быть только димеры TT_4^* или TT_5^* .

Таким образом, небольшая часть *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров и (6–4)-фотопродуктов, вызывающих мутации, являются димерами, одно или оба основания в которых находятся в редких таутомерных формах. С этих позиций видно, что *A-rule* – это экспериментальное правило, говорящее о том, что в процессе синтеза ДНК в большинстве случаев ДНК-полимеразы, встретив димеры, не ошибаются и происходит комплементарное встраивание. Напротив тимина, входящего в состав димера, встраивается аденин, а напротив цитозина – гуанин.

10. Заключение

Существующие в настоящее время модели не способны описать большинство явлений ультрафиолетового мутагенеза. В данной работе показано, что общепринятая полимеразная парадигма не может адекватно объяснить *A-rule* при синтезе ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры. *A-rule* – это правило, обобщающее эксперименты, описывающие особенности встраивания оснований ДНК напротив *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, (6–4)-аддуктов и сайтов без оснований.

Автором предложены и развиваются полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза, радиационно-индуцированных байстендер эффектов и радиационно-индуцированной нестабильности генома. Данный обзор посвящен полимеразно-таутомерным моделям механизмов образования мишеных: мутаций замены оснований, инсерций, делеций, сложных инсерций и задерживающихся мутаций замены оснований при синтезе, склонном к ошибкам, и SOS-синтезе ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры.

Разработан механизм образования редких таутомерных форм в спаренных основаниях ДНК под действием ультрафиолетового света. Показано, что возможно образование пяти редких таутомерных форм тимина и аденина. Они устойчивы, если соответствующие основания входят в состав циклобутановых тиминовых димеров, и редкие таутомерные состояния сохраняются при синтезе ДНК. Оказалось, что *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры TT_1^* , TT_4^* и TT_5^* могут приводить только к мишенным мутациям замены оснований. Димеры TT_2^* способны вызывать только мишенные мутации сдвига рамки считывания, инсерции и делеции, димеры TT_3^* – только мишенные задерживающиеся мутации замены оснований. Канонические димеры ТТ при определенных условиях могут приводить к мишенным задерживающимся мутациям замены оснований. Показано, что полимеразно-таутомерная модель способна объяснить *A-rule* для синтеза, склонного к ошибкам, и SOS-синтеза ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры.

Несколько работ, выполненных в последние годы, были посвящены проверке таутомерной гипотезы Уотсона и Крика [103–105]. Были найдены пары гуанин–тимин [103] и цитозин–аденин [104] с одним из оснований в редких таутомерных формах в активных центрах ДНК-полимераз. Результаты [103–105] однозначно демонстрируют, что пары оснований в редких таутомерных формах могут образовываться в активных сайтах ДНК-полимераз. Это обеспечивает автору данной работы сильную поддержку полимеразно-таутомерных моделей мутагенеза посредством прямых структурных доказательств.

1. Е.А. Гребнева, Доповіді НАН України № 7, 165 (2001).
2. Е.А. Гребнева, Доповіді НАН України № 8, 183 (2001).
3. Е.А. Гребнева, М.О. Иванов, Біополімери і клітина **17**, 388 (2001).
4. Е.А. Гребнева, Біополімери і клітина **17**, 487 (2001).
5. Е.А. Гребнева, Біополімери і клітина **18**, 205 (2002).
6. Е.А. Гребнева, Біополімери і клітина **18**, 394 (2002).
7. Н.А. Grebneva, J. Mol. Struct. **645**, 133 (2003).
8. Н.А. Grebneva, Environ. Mol. Mutagen. **47**, 733 (2006).
9. Е.А. Гребнева, Вісник Донецького університету, Сер. А: Природничі науки № 2, 306 (2008).
10. Е.А. Гребнева, Вісник Донецького університету, Сер. А: Природничі науки № 1, 323 (2009).

11. *Е.А. Гребнева*, Вісник Донецького університету, Сер. А: Природничі науки № 2, 132 (2011).
12. *Е.А. Гребнева*, Доповіді НАН України № 10, 181 (2012).
13. *Е.А. Гребнева*, Доповіді НАН України № 1, 143 (2013).
14. *Е.А. Гребнева*, Доповіді НАН України № 11, 156 (2014).
15. *Е.А. Гребнева*, Мол. Биол. **48**, 531 (2014).
16. *Н.А. Grebneva*, J. Phot. Mat. Techn. **1**, № 2, 19 (2015).
17. *Е.А. Гребнева*, Доповіді НАН України № 5, 145 (2015).
18. *Е.А. Гребнева*, Доповіді НАН України № 4, 124 (2015).
19. *Е.А. Гребнева*, Доповіді НАН України № 5, 101 (2016).
20. *Н.А. Grebneva*, Int. J. Mol. Biol.: Open Access **1**, № 1, 1 (2016).
21. *Н.А. Grebneva*, Int. J. Mol. Biol.: Open Access **2**, № 2, 1 (2017).
22. *Н.А. Grebneva*, Polymerase-tautomeric model for ultraviolet mutagenesis. Targeted base substitution and frameshift mutations caused by *cis-syn* cyclobutane thymine dimmers, LAP Lambert Academic Publishing, Germany (2017).
23. *Е.А. Гребнева*, Вестник Луганского национального университета им. В. Даля № 2(4), часть 1, 157 (2017).
24. *Е.А. Гребнева*, ФТВД **27**, № 3, 131 (2017).
25. *Е.А. Гребнева*, Укр. фіз. журн. **37**, 1636 (1992).
26. *Е.А. Гребнева*, Докл. НАН Украины № 2, 73 (1994).
27. *Е.А. Гребнева*, Мол. Биол. **28**, 805 (1994).
28. *Е.А. Гребнева*, ФТВД **6**, № 3, 141 (1996).
29. *C. Tomasetti, B. Vogelstein*, Science **347**, 78 (2015).
30. *A. Banyasz, I. Vayá, P. Changenet-Barret, T. Gustavsson, T. Douki, D. Markovitsi*, J. Amer. Chem. Soc. **133**, 5163 (2011).
31. *A. Besaratinia, J.I. Yoon, C. Schroeder, S.E. Bradforth, M. Cockburn, G.P. Pfeifer*, FASEB J. **25**, 3079 (2011).
32. *G.P. Pfeifer*, Photochem. Photobiol. **65**, 270 (1997).
33. *J.-H. Yoon, C.-S. Lee, T.R. O'Connor, A. Yasui, G.P. Pfeifer*, J. Mol. Biol. **299**, 681 (2000).
34. *S.K. Banerjee, A. Borden, R.B. Christensen, J.E. LeClerc, C.W. Lawrence*, J. Bacteriol. **172**, 2105 (1990).
35. *M.J. Horsfall, A. Borden, C.W. Lawrence*, J. Bacteriol. **179**, 2835 (1997).
36. *В.М. Крутяков*, Мол. Биол. **40**, № 2, 1 (2006).
37. *A. Hendel, O. Ziv, Q. Gueranger, N. Geacintov, Z. Livneh*, DNA Repair (Amst) **7**, 1636 (2008).
38. *C.R. Vasquez-Del, T.D. Silverstein, S. Lone, R.E. Johnson, L. Prakash, S. Prakash, A.K. Aggarwal*, J. Mol. Biol. **408**, 252 (2011).
39. *H. Ikehata, H. Kudo, T. Masuda, T. Ono*, Mutagenesis **18**, 511 (2003).
40. *M.J. Santiago, E. Alexandre-Durán, M. Ruiz-Rubio*, Mutat. Res. **601**, 51 (2006).
41. *C.-I. Wang, J.-S. Taylor*, Biochemistry **31**, 3671 (1992).
42. *X. Veaute, G. Mari-Giglia, C.W. Lawrence, A. Sarasin*, Mutat. Res. **459**, 19 (2000).
43. *E. Heidenreich, H. Eisler, F. Steinboeck*, Mutat. Res. **593**, 187 (2006).
44. *J.G. Levine, R.M. Schaaper, D.M. DeMarini*, Genetics **136**, 731 (1994).
45. *D.M. DeMarini, M.L. Shelton, A. Abu-Shakra, A. Szakmary, J.G. Levine*, Genetics **149**, 17 (1998).

46. J.B. Little, L. Gorgojo, H. Vetrovs, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **19**, 1425 (1990).
47. J.J.B. Boesen, S. Stuivenberg, C.H.M. Thyssens, H. Panneman, F. Darroudi, P.H.M. Lohman, J.W.I. Simons, *Mol. Gen. Genet.* **234**, 217 (1992).
48. K. Harper, S.A. Lorimore, E.G. Wrigh, *Experimental Hematology* **25**, 263 (1997).
49. J.P. O'Reilly, C. Mothersill, *Int. J. Radiat. Biol.* **72**, 111 (1997).
50. C.W. Lawrence, S.K. Banerjee, A. Borden, J.E. LeClerc, *Mol. Gen. Genet.* **222**, 166 (1990).
51. J.R. Christensen, J.E. LeClerc, P.V. Tata, R.B. Christensen, C.W. Lawrence, *J. Mol. Biol.* **203**, 635 (1988).
52. C.W. Lawrence, P.E.M. Gibbs, A. Borden, M.J. Horsfall, B.Y. Kilbey, *Mutat. Res.* **299**, 157 (1993).
53. B.A. Kunz, B.W. Glickman, *Genetics* **106**, 347 (1984).
54. A. Brotcorne-Lannoye, G. Maenhaut-Michel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 3904 (1986).
55. O. Niwa, *J. Radiat. Res.* **47**, Suppl., B25 (2006).
56. M. Tang, P. Pham, X. Shen, J.-S. Taylor, M. O'Donnell, R. Woodgate, M.F. Goodman, *Nature* **404**, 1014 (2000).
57. A. Maor-Shoshani, N.B. Reuven, G. Tomer, Z. Livneh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 565 (2000).
58. P. Pham, J.G. Bertram, M. O'Donnell, R. Woodgate, M.F. Goodman, *Nature* **409**, 366 (2001).
59. J.-S. Taylor, *Mutat. Res.* **510**, 55 (2002).
60. T.M. Rünger, U.P. Kappes, *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* **24**, 2 (2008).
61. J.D. Watson, F.H.C. Crick, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **18**, 123 (1953).
62. D.-H. Lee, G.P. Pfeifer, *J. Biol. Chem.* **278**, 10314 (2003).
63. H. Ikehata, T. Ono, *J. Radiat. Res.* **52**, 115 (2011).
64. H. Nagasawa, J.B. Little, *Cancer Res.* **52**, 6394 (1992).
65. M.A. Kadhim, S.R. Moore, E.H. Goodwin, *Mutat. Res.* **568**, 21 (2004).
66. J.R. Whiteside, S.L. Allinson, T.J. McMillan, *Photochem. Photobiol.* **87**, 435 (2011).
67. M. Kadhim, S. Salomaa, E. Wright, G. Hildebrandt, O.V. Belyakov, K.M. Prise, M.P. Little, *Mutat. Res.* **752**, 84 (2013).
68. W.F. Morgan, M.B. Sowa, *Cancer Lett.* **356**, 17 (2015).
69. J.B. Little, *Oncogene* **22**, 6978 (2003).
70. B.S. Strauss, *DNA Repair (Amst)* **1**, 125 (2002).
71. S.L. Yu, R.E. Johnson, S. Prakash, L. Prakash, *Mol. Cell. Biol.* **21**, 185 (2001).
72. L. Sun, M. Wang, E.T. Kool, J.-S. Taylor, *Biochemistry* **39**, 14603 (2000).
73. Y. Wang, R. Woodgate, T.P. McManus, S. Mead, J.J. McCormick, V.M. Maher, *Cancer Res.* **67**, 3018 (2007).
74. P. Auerbach, R.A.O. Bennett, E.A. Bailey, H.E. Krokan, B. Demple, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 17711 (2005).
75. V. Pagès, R.E. Johnson, L. Prakash, S. Prakash, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 1170 (2008).
76. H. Zhang, W. Siede, *Nucleic Acids Res.* **30**, 1262 (2002).
77. L. Servant, C. Cazaux, A. Bieth, S. Iwai, F. Hanaoka, J.-S. Hoffmann, *J. Biol. Chem.* **277**, 50046 (2002).

78. V.H. Harris, C.L. Smith, W.J. Cummins, A.L. Hamilton, H. Adams, M. Dickman, D.P. Hornby, D.M. Williams, *J. Mol. Biol.* **326**, 1389 (2003).
79. J.C. Delaney, P.T. Henderson, S.A. Helquist, J.C. Morales, J.M. Essigmann, E.T. Kool, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 4469 (2003).
80. О.М. Кречківська, Д.А. Косач, О.О. Судаков, Д.М. Говорун, *Біополімери і клітина* **19**, 382 (2003).
81. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, Модельный потенциал протона и свойства водородной связи в вакууме и диэлектрической среде, Препринт ДонФТИ – 84–3 (78).
82. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Ж. структ. химии* **26**, № 4, 65 (1985).
83. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Ж. структ. химии* **26**, № 5, 71 (1985).
84. Н.А. Grebneva, *J. Molec. Struct.* **296**, 127 (1993).
85. Е.А. Гребнева, *Ж. структ. химии* **38**, 422 (1997).
86. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Укр. физ. журн.* **33**, 1456 (1988).
87. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Укр. физ. журн.* **34**, 1791 (1989).
88. Н.А. Grebneva, К.В. Tolpygo, *Int. J. Quant. Chem.* **57**, 219 (1996).
89. Н.А. Grebneva, К.В. Tolpygo, *Int. J. Quant. Chem.* **62**, 115 (1997).
90. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Ж. физ. химии* **71**, 920 (1997).
91. Е.А. Гребнева, Ж.П. Ольховская, К.Б. Толыго, *Укр. физ. журн.* **25**, 1142 (1980).
92. Е.А. Гребнева, Ж.П. Ольховская, К.Б. Толыго, *Укр. физ. журн.* **27**, 422 (1982).
93. Е.А. Гребнева, Ж.П. Ольховская, К.Б. Толыго, *Биофизика* **28**, 519 (1983).
94. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Укр. физ. журн.* **34**, 832 (1989).
95. Н.А. Grebneva, К.В. Tolpygo, *Studia Biophysica* **135**, 115 (1990).
96. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Биофизика* **35**, 395 (1990).
97. К.Б. Толыго, Е.А. Гребнева, *Укр. физ. журн.* **38**, 355 (1993).
98. К.Б. Толыго, Е.А. Гребнева, *Укр. физ. журн.* **38**, 855 (1993).
99. К.Б. Толыго, Е.А. Гребнева, *Укр. физ. журн.* **38**, 976 (1993).
100. К.Б. Толыго, *J. Molec. Struct.* **299**, 185 (1993).
101. Е.А. Гребнева, К.Б. Толыго, *Ж. физ. химии* **63**, 1032 (1994).
102. Е.А. Гребнева, *Хим. физика* **12**, 1027 (1993).
103. K. Bebenek, L.C. Pedersen, T.A. Kunkel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 1862 (2011).
104. W. Wang, H.W. Hellings, L.S. Beese, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 17644 (2011).
105. S. Xia, W.H. Konigsberg, *Protein Sci.* **23**, 508 (2014).

Н.А. Grebneva

REVIEW OF POLYMERASE-TAUTOMERIC MODELS FOR TARGETED ULTRAVIOLET MUTAGENESIS UNDER ERROR-PRONE AND SOS SYNTHESIS OF DOUBLE-STRANDED DNA CONTAINING *CIS*-SYN CYCLOBUTANE TIMINE DIMERS

It is shown that the generally accepted polymerase paradigm is not able to explain even the *A-rule*. The author suggests and develops a polymerase-tautomeric model for ultraviolet mutagenesis. A mechanism for the formation of rare tautomeric forms in DNA base pairs has been developed. The conditions of stability of the rare tautomeric forms are investigated. It is shown that tymine forms five rare tautomeric conformations that are able to affect the character of base pairing. The rare tautomeric forms are stable when the respective bases are involved in cyclobutane pyrimidine dimers. During the error-prone or

SOS synthesis, special and modified DNA-polymerases incorporate the canonical bases, which can form hydrogen bonds with the bases of the template DNA, opposite to cyclobutane pyrimidine dimers. The author proposes the polymerase-tautomeric models for mechanisms of targeted base substitution mutations, targeted insertions, targeted deletions, targeted complex insertions and targeted delayed base substitution mutations formation during error-prone or SOS synthesis of DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers.

Keywords: UV-mutagenesis, rare tautomeric forms of DNA bases, *cis-syn* cyclobutane thymine dimers, targeted base substitution mutations, targeted deletions, targeted insertions, targeted complex insertions, targeted delayed substitution mutations, error-prone replication, SOS replication

Fig. 1. Structural analysis of possible pairing of canonical thymine T with canonical DNA bases: *a* – adenine (Watson–Crick pair); *b* – cytosine; *c* – guanine; *d* – thymine [24]

Fig. 2. Possible tautomeric states of thymine and adenine: *a* – canonical states; *b–e* – rare ones [5]

Fig. 3. Possible pairs of bases in rare and canonical tautomeric conformations: *a* – T_1^* and G; *b* – T_1^* and T; *c* – T_5^* and C; *d* – T_5^* and T; *e* – T_4^* and C; *f* – T_4^* and A [4]

Fig. 4. Pairs of adenine-thymine bases (*a* – canonical one, *b* – rare $A_2^* - T_2^*$) and structural analysis of potential pairing of thymine T_2^* with the canonical DNA bases: *c* – thymine; *d* – adenine; *e* – cytosine; *f* – guanine [14]

Fig. 5. Generation of a targeted insertion of several nucleotides: *a* – DNA region contains the *cis-syn* cyclobutane dimers TT_2^* and TT; *b* – a one-nucleotide gap arises opposite to the cyclobutane dimer TT_2^* ; *c* – the end of the growing DNA strand slips; *d* – a loop is formed; *e* – the large gap is filled in to produce a targeted insertion of several nucleotides [14]

Fig. 6. Generation of a one-nucleotide targeted deletion. *a* – DNA site containing the *cis-syn* cyclobutane thymine dimer TT_2^* ; *b* – a one-nucleotide gap arises opposite to the *cis-syn* cyclobutane thymine dimer TT_2^* ; *c* – DNA strand containing *cis-syn* cyclobutane dimer TT_2^* forms a small loop. The opposite DNA strand is joined by ligase. As a result, DNA site containing the gap is shifted by one nucleotide. A one-nucleotide targeted deletion is formed [18]

Fig. 7. Generation of a targeted complex insertion of one nucleotide. The DNA site ATTGTTTTTATTC consisting of 13 nucleotides has been replaced by the DNA site ATC(A)GTTTTTTAG(A)TC consisting of 14 nucleotides [17]

Fig. 8. Adenine-thymine base pairs (*a* – canonical one, *b* – rare $A_3^* - T_3^*$) and structural analysis of pairing of thymine T_3^* with canonical DNA bases: *c* – adenine; *d* – guanine; *e* – cytosine; *f* – thymine [19]