

Молекулярные механизмы образования мутаций замены оснований при пострепликативной SOS-репарации двухцепочечной ДНК, содержащей тиминовые димеры

Е. А. Гребнева

Донецкий физико-технический институт НАН Украины
Ул. Розы Люксембург, 72, Донецк, 83114, Украина

E-mail: greb@host.dipt.donetsk.ua

Анализируется пострепликативная SOS-репарация ДНК, содержащей в одной из своих цепей тиминовые димеры с нуклеотидными основаниями в редких таутомерных формах, влияющих на характер спаривания оснований, в которой пострепликативные бреши застраиваются de novo. Установлено, что в результате пострепликативной SOS-репарации в зависимости от типов образующихся димеров могут произойти транзиция или гомологичная трансверсия, возникнуть брешь в один нуклеотид (что может дать начало мутации сдвига рамки чтения), может вообще не появиться мутации. Тип димеров определяется таутомерными формами оснований. Сделан общий вывод о том, что исследуемые димеры (циклобутановые или (6—4)-аддукты) являются причиной мишенного мутагенеза. Эти результаты получены при допущении, что при индукции SOS-системы вследствие снижения корректорских функций ослабляется контроль за тем, чтобы основания матрицы находились в канонических таутомерных формах. При этом чтобы встраивались только канонические основания, способные образовывать водородные связи с основаниями матричной ДНК, сохраняются.

Введение. Из всех видов мутагенеза наиболее изученным является мутагенез, вызванный облучением молекулы ДНК ультрафиолетовым (УФ) светом [1]. После УФ-облучения в молекуле ДНК образуются фотопродукты. В большинстве случаев — это циклобутановые пиримидиновые димеры, чаще тиминовые или (6—4)-аддукты [1, 3, 5]. Под словом «димеры» мы будем подразумевать как циклобутановые пиримидиновые димеры, так и (6—4)-аддукты. Фотодимеры обычно удаляются при репарации ДНК [4, 5]. Если не все димеры репарированы, то возможен синтез ДНК и на матрице, содержащей димеры в результате SOS-репликации. Обычно мутации возникают напротив димеров при SOS-репликации или репарации [3, 5—8], такой мутагенез называется мишенным [3, 8—11], иногда же

мутации образуются на небольшом расстоянии от димера [3, 8] — это немитенный мутагенез [3, 8].

Как циклобутановые димеры, так и (6—4)-аддукты вызывают все виды мутаций: замену оснований (транзиции и трансверсии) и сдвиг рамки чтения [1] (делеции и инсерции). Встречаются также сложные типы мутаций. Это такие изменения ДНК, когда один ее участок заменяется участком другой длины и другого нуклеотидного состава [3, 5, 6, 12]. Несмотря на то, что подавляющее большинство димеров — это тиминовые димеры [1], транзиции от пары аденин-тимин (А-Т) в другую пару оснований встречаются редко [1, 3]. Циклобутановые пиримидиновые димеры формируются в десятки раз чаще, чем (6—4)-аддукты [1—3], и, тем не менее, именно последние являются основным источником мутаций [1—3].

Мутации образуются вдоль ДНК неравномерно — большая их часть локализуется в так называ-

емых горячих точках УФ-мутагенеза. На некоторых участках ДНК мутации вообще не возникают — это холодные точки УФ-мутагенеза [2].

Известно также, что вероятность мутирования данной нуклеотидной пары сильно зависит от нуклеотидного состава соседних пар оснований [3] (эффект соседа). Мутации возникают не всегда сразу же после воздействия мутагена. Иногда они появляются после десятков циклов репликаций. Это явление носит название реплицирующихся нестабильностей [13]. По некоторым данным, до половины всех мутаций может проявляться в форме реплицирующихся нестабильностей [3]. Было показано, что мутагенез проходит под генетическим контролем. Некоторые гены (гены-мутаторы) способны увеличивать темпы мутирования. Интересно, что с помощью генов-мутаторов можно повысить вероятность возникновения транзаций в десятки тысяч раз, а мутаций сдвига рамки чтения — не более чем в сотни раз [5].

Модели мутагенеза и их возможности в объяснении УФ-мутагенеза. Молекулярные механизмы репликативного и репарационного мутагенеза предложены Бреслером [14]. Вот что он пишет: «Если окажется, что не существует специальных индуцируемых ошибающихся ДНК-полимераз, то останется принять, что обычная ДНК-полимераза III, которая, по Бриджесу, нужна для мутагенеза, способна делать ошибки в процессе репарации, очевидно, когда она копирует поврежденную неполноценную матрицу. Известно, что в большинстве случаев, оказавшись против циклобутановых димеров, ДНК-полимераза их проскакивает и делает брешь. Можно себе представить, что с определенной вероятностью ДНК-полимераза подставляет против поврежденной точки более или менее произвольное звено и продолжает синтез» [14]. В настоящее время такая точка зрения является общепринятой [9, 15—20]. Предложено лишь несколько ее модификаций, учитывающих тот факт, что в большинстве случаев ДНК-полимераза III *Escherichia coli* напротив тиминовых димеров встраивает аденины [9].

Известно «правило», согласно которому напротив неинструктивных сайтов, где невозможно каноническое спаривание оснований, ДНК-полимераза чаще всего встраивает аденины [15]. Подчеркивается, что «мутации, индуцированные образованием циклобутановых димеров, связаны с ошибочным включением некоплементарных нуклеотидов, а не со случайным некоплементарным встраиванием» [9].

В работах Полтева и соавт. предложен и обоснован молекулярный механизм узнавания полиме-

разами комплементарных пар оснований нуклеиновых кислот [17—19]. На основании этой модели изучены некоторые закономерности спонтанного и индуцированного аналогами оснований мутагенеза [17—19].

Однако имеется ряд экспериментальных фактов, вступающих в противоречие с общепринятой гипотезой [3]. Кроме того, она не может объяснить механизма образования сложных мутаций, физико-химических причин немишенного мутагенеза или реплицирующихся нестабильностей, почему чаще всего мутируют пары гуанин-цитозин, почему (6—4)-аддукты гораздо мутабельнее циклобутановых пиримидиновых димеров и т. д. Это указывает на ограниченность классической модели мутагенеза [14].

Уотсон и Крик предположили, что в основе спонтанного мутагенеза лежит способность оснований ДНК переходить при некоторых условиях в неканонические таутомерные формы, влияющие на характер спаривания оснований [3].

Эта гипотеза вызвала значительный интерес и активно развивалась [3, 21]. Когда основное внимание исследователей переключилось на изучение особенностей репарационных процессов, генетический контроль и смежные проблемы [1], многие продолжали находить гипотезу Уотсона-Крика привлекательной и накапливать данные, ее подтверждающие [3]. Результаты многочисленных экспериментальных и теоретических исследований, проведенных в различных условиях, однозначно свидетельствуют о том, что основания могут переходить из канонических в высокоэнергетические таутомерные состояния с измененными положениями атомов водорода, участвующих в Уотсон-Криковском спаривании оснований [3].

Изучение процессов, происходящих при деэвозбуждении молекулы ДНК, поглотившей УФ-квант [3, 22, 23], показало: если деэвозбуждается триплетный уровень энергии без образования димеров, то устойчивым будет только одно новое таутомерное состояние, в котором атомы водорода двух Н-связей, отвечающих за спаривание оснований, одновременно изменяют свои положения. Наличие двухпротонной фототаутомеризации подтверждают многочисленные экспериментальные и теоретические данные [24]. Более того, экспериментально показано [24], что при УФ-облучении ДНК могут изменяться таутомерные состояния нуклеотидных оснований, причем изменения таутомерных состояний, влияющие на характер спаривания оснований, могут происходить и при образовании димеров [3]. Для пары аденин-тимин найдены получающиеся при этом таутомерные состояния [3], являющиеся

устойчивыми из-за разрывов связей при образовании димеров [25].

Возникает вопрос, могут ли такие изменения структуры ДНК вызывать мутации?

Механизмы репарации ДНК после ее УФ-облучения. УФ-облучение стимулирует не только образование димеров, но и их разрушение, причем этот эффект зависит от длины волны света [1]. На модельной системе — политимидиловой кислоте — установлено, что в стационарном состоянии доля димеров составляет примерно 70 % при длине волны 280 нм и 15 % — при 240 нм [1]. Часть димеров, образовавшихся после облучения светом с длиной волны 280 нм, можно разрушить последующим воздействием лучами с более короткой длиной волны.

Обнаружен также другой тип фоторепарации. Это ферментативная реакция, источником энергии которой служат короткие волны видимого света [1]. Фоторепарация (фотореактивация) высокоспецифична для пиримидиновых димеров и очень эффективна [1].

Кроме фоторепарации, существует так называемая темновая репарация [5]. Ее принято делить на два класса: дорепликативную (происходящую до синтеза ДНК) и пострепликативную [5]. К первой относится эксцизионная репарация.

Эксцизионная и пострепликативная репарации являются многоэтапными процессами, причем каждый из них может идти по нескольким относительно независимым путям, контролируемым разными генами и осуществляемым разными репарационными ферментами [5].

Эксцизионная репарация включает этап опознавания повреждения и надрезания нити ДНК вблизи повреждения, связанный с работой эндонуклеаз, иногда гликозилаз. Второй этап обусловлен удалением повреждения и деградацией ДНК с помощью экзонуклеаз (свободных или ассоциированных с полимеразой). На третьем — возникающие бреши застраиваются с помощью полимераз и на четвертом — происходит восстановление сахарофосфатного остова полинуклеотидлигазой [5].

Пострепликативная (толерантная) репарация устраняет бреши, возникающие во вновь синтезированной ДНК в местах, находящихся напротив повреждений. Этот процесс может осуществляться несколькими путями: рекомбинационным, синтезом ДНК *de novo* при работе модифицированной в результате индукции полимеразы, а также репликативной репарацией [5].

Кроме того, имеется независимый путь репарации — коррекция неправильно спаренных оснований [13]. Он может происходить как до реплика-

ции, так и в момент репликации за счет корректорской функции 3'→5'-экзонуклеазы, возможно, ассоциированной с ДНК-полимеразой [5, 26, 27].

Существует несколько ветвей эксцизионной репарации. При эксцизионной репарации короткими участками образуются бреши в 13 оснований и не возникают мутации. В *E. coli* она контролируется генами *uvr A*, *uvr B*, *uvr C*, *uvr E*, *uvr D*, *pol A* [5].

При репарации длинными участками, называемой эксцизионной, возникают и застраиваются бреши порядка 1000—3000 нуклеотидов. Расширенные бреши в этом случае осуществляется АТР-зависимой экзонуклеазой V (*rec BC*-экзонуклеазой), а брешь для нее расчищает экзонуклеаза VII. Полимеризация осуществляется ДНК-полимеразой III (*pol C*). Необходим также белок, расплетающий нити ДНК [5].

Репарация длинными участками зависит от функции генов *uvr AB*, *rec A*, *rec BC*, *pol C*, *lig* и частично *lex A* (*exr A*). Тот факт, что этот процесс контролируется генами *rec A* и *lex A*, указывает на его индуцибельную природу. Он идет несколькими путями. Все они включают гены *uvr*, но первый идет с *pol A*, третий — с *pol C*, *rec A*, *rec B*, *rec C*, *lex A*, четвертый является *rec F*-зависимым. Такая репарация может вызывать мутации [5]. Репарация короткими участками идет гораздо быстрее таковой длинными участками.

Если в результате эксцизионной репарации в облученной ДНК не все димеры будут удалены и на ней начнется синтез, то произойдет следующее. Синтез ДНК будет протекать нормально на участках генома, свободных от димеров, прерываться на участке ДНК, несущем димер, и через некоторое время восстанавливаться на следующем участке, свободном от повреждений. При этом в ДНК образуются бреши размером 1000—10000 нуклеотидов [1, 5]. Полагают, что репликация ДНК начинается на следующем ДНК-праймере после пиримидинового димера.

Имеются по крайней мере шесть независимых путей пострепликативной репарации. Четыре связаны с процессом рекомбинации и действием гена *rec A*. Первый определяется геном *rec BC*, второй — *lex A*, третий — *uvr D* и четвертый — генами *uvr D*, *exr A*, *rec B* и чувствителен к хлорамфениколу [5]. В то же время процесс заполнения бреши может проходить без рекомбинации — путем синтеза *de novo* [1, 5]. Этот тип пострепликативной репарации характерен для клеток млекопитающих [1, 5]. В результате пострепликативной репарации возникают нити ДНК, свободные от пиримидиновых димеров.

Нити ДНК, свободные от димеров, образуются также в результате процесса, связанного с перемещением индуцированных пиримидиновых димеров в интактные вновь синтезированные нити ДНК. Этот процесс достаточно эффективен. Его скорость пропорциональна скорости синтеза ДНК, составляя примерно 1/2 в пересчете на один димер на цикл репликации ДНК [5].

Существуют и другие *rec A*-зависимые пути пострепликативной репарации: в частности, зависящие от генов *rec F* и *rec E* [5].

Из всех известных типов репарации только некоторые могут приводить к мутациям. В частности, это эксцизионная репарация длинными участками [5, 28, 29], пострепликативная репарация, когда пострепликативные бреши застраиваются в результате синтеза *de novo* [5, 12], и некоторые другие. Рассмотрим условия, при которых репарации становятся мутагенными.

УФ-индуцированный мутагенез. Наиболее хорошо изучен процесс образования мутаций после облучения УФ-светом *E. coli*. В *E. coli* найдены три ДНК-полимеразы. ДНК-полимераза I выполняет несколько функций: 1) полимеризация дезоксирибонуклеотидов и связанные с ней пирофосфоролиз и обмен пирофосфатов; 2) 3' → 5'-экзонуклеазный гидролиз ДНК; 3) 5' → 3'-экзонуклеазный гидролиз ДНК. Структурным геном ДНК-полимеразы I служит *pol A*. ДНК-полимераза II (структурный ген *pol B*) обладает полимеразной и 3' → 5'-экзонуклеазной активностями. ДНК-полимераза III (структурный ген *pol B*) является главной полимеразой, осуществляющей репликацию ДНК, включая синтез фрагментов Оказаки. ДНК-полимераза III имеет ассоциированную 3' → 5'-экзонуклеазную активность и 5' → 3'-экзонуклеазную активность [5].

Индукцибельная репаративная система открыта Вейглем в 1953 году [1, 5] и названа затем *W*-реактивацией. Оказалось, что в результате *W*-реактивации среди выживших фаговых частиц мутации возникали с повышенной частотой. Это явление названо *W*-мутагенезом.

В ряде работ [1, 5] показано, что *W*-мутагенез не связан с эксцизионной репарацией короткими участками и рекомбинацией. В случае УФ-облученного фага *W*-реактивация и *W*-мутагенез полностью зависят от нормального функционирования генов *rec A* и *lex A*. Обнаружено, что *W*-реактивация и *W*-мутагенез генетически разобщены. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что гены *rec A* и *lex A E. coli* координированно контролируют целый ряд индукцибельных функций в клетке, включающих в себя *W*-реактивацию и *W*-мутагенез фагов, а также УФ-индуцированный мутагенез

бактерий. Установлено, что такая мутагенная репарация представляет собой индукцибельную модифицированную репарацию [5].

На основании этих и других фактов выдвинута гипотеза о существовании пострепликативной репарации, в ходе которой возникают мутации. Этот тип репарации получил название SOS-репарации [1, 5]. Упомянутая гипотеза фактически является распространением процессов *W*-реактивации и *W*-мутагенеза, строго экспериментально доказанных для фагового генома, на весь бактериальный геном клетки хозяина. Суть этой гипотезы заключается в том, что существует процесс репарации ДНК, который репрессирован при обычных условиях, но индуцируется при появлении повреждений в ДНК. Для индукции *rec A*, *lex A*-зависимой SOS-репарации наряду с индуцирующим сигналом в виде нарушения синтеза ДНК необходим нормальный синтез белков. Эта гипотеза в качестве необходимого и главного элемента включает представление о том, что при индукции SOS-системы ослабляются требования к матричной ДНК. Показано, что конститутивные полимеразы не обеспечивают синтез ДНК на матрицах, несущих повреждения [30]. Поэтому поврежденный участок ДНК не может быть синтезирован, в результате чего после репликации во вновь синтезированной нити ДНК возникает брешь. В условиях, обеспечивающих проявление индукцибельных функций, наблюдается *rec A*, *lex A*-зависимая повторная инициация синтеза ДНК. Этот процесс проходит в нормальных условиях синтеза белков, т. е. является индукцибельным [5].

Такой синтез может осуществляться либо новой индукцибельной ДНК-полимеразой, либо модифицированной в ходе индукции одной из известных конститутивных полимераз. Экспериментальные данные указывают на то, что ДНК-полимераза III, осуществляющая в основном репликацию ДНК, связана с индукцибельной репарацией, в ходе которой возникают мутации. Показано, что избирательное подавление 3' → 5'-экзонуклеазной активности полимеразы может отвечать за мутагенез в бактериальных клетках и канцерогенез у человека [5].

Дальнейшие исследования подтвердили выдвинутую Виткин гипотезу [1, 5]. Так, было показано [31], что в одном случае появление мутаций зависит от наличия SOS-генов *rec A*, *umu C*, *umu D* и репликации ДНК, в другом — оно обусловлено белками, участвующими в эксцизионной репарации [31] (см. обзор [32]). Оказалось, что система SOS-репарации у *E. coli* регулируется репрессором продукта гена *lex A* и протеазой, продуктом гена

rec A, разрезающим репрессор. Продукт гена *lex A* ведет к кодированию по меньшей мере 15 несцепленных генов. Возникает взаимозависимая система, наличие которой ведет к появлению мутаций [33].

Другая индуцибельная репарация названа адаптивным ответом [34], подавляющим SOS-репарацию. Он устраняет повреждения ДНК, появляющиеся при индуцировании SOS-репарации [35], кроме того, один из генов кодирует фермент, глушащий сигнал для SOS-репарации и прерывающий начало цепи ее реализации [36]. Показано, что SOS-индуцирующим сигналом является накопление одноцепочечной ДНК, возникающих в процессе репликации и активирующих *rec A* [37]. Для процесса SOS-мутационеза в *E. coli* необходимы ферменты, *Rec A* белок, формирование *UmuDC* белкового комплекса, способствующего, по-видимому, осуществлению синтеза ДНК через повреждение на матрице. *UmuDC* комплекс — антагонист *Rec A*-зависимой репликации. Существует обратная связь между рекомбинацией и SOS-процессом [38]. Показано, что белки *UmuD* и *UmuD'* взаимодействуют с ДНК, «одетой» белком *Rec A*, причем эффективность взаимодействия *UmuD'*-*Rec A* резко возрастает в присутствии одноцепочечных участков облученной двухцепочечной ДНК [39].

В [40] предложен механизм репликации ДНК в УФ-облученных клетках *E. coli*. Согласно этому механизму, реплисома после УФ-облучения с помощью *SSB* белка может пройти несколько пиримидиновых димеров без включения нуклеотидов в синтезируемую цепь, далее возобновляя репликацию. Это приводит к образованию одностранных участков ДНК, способных связывать и активировать *Rec A* белок, что индуцирует SOS-систему. В результате *Rec A* белок может вытеснить *SSB* белок. Благодаря чередованию удаления и связывания *SSB* белка с ДНК реплисома получает возможность проходить большое число димеров при репликации после УФ-облучения, используя *Rec A* белок [39].

ДНК-полимераза III является незаменимым ферментом в индуцибельной SOS-репарации и эксцизионной репарации длинными участками [26]. Показано, что при облучении клеток *E. coli*, дефектных по полимеразе III, УФ-мутационез практически подавлен [26]. Основная часть ошибочно включенных нуклеотидов устраняется в процессе репликации ДНК 3' → 5'-экзонуклеазами, входящими в ДНК-полимеразы I и II, или автономной 3' → 5'-экзонуклеазой (субъединицей ϵ ДНК-полимеразы III). Субъединица ϵ не связана ковалентно с ДНК-полимеразой III [26].

Показано, что суперпродукция субъединицы ϵ

резко подавляет УФ- и SOS-мутационез [7]. Наоборот, инактивация субъединицы ϵ , сопровождающаяся подавлением 3' → 5'-экзонуклеазой активности без изменения полимеразной активности холофермента ДНК-полимеразы III *E. coli*, приводит к катастрофе ошибок, вызывающих гибель клеток *E. coli* [26].

Изучение механизма смены полимеразной активности на корректорскую показало, что, например, ДНК-полимераза I диссоциирует из ДНК, после чего она ассоциируется с экзонуклеазным центром той же или другой молекулы [26]. Аналогичный механизм наблюдается у ДНК-полимеразы у эукариотов. При безошибочном синтезе ДНК-полимераза α млекопитающих отделяется от ДНК-праймера, присоединив 10—15 нуклеотидов, а ДНК-полимеразы β диссоциирует после присоединения каждого нуклеотида [26]. После совершения ошибки 3'-ОН-конец праймера выходит из двойной спирали ДНК и вероятность диссоциации ДНК-полимеразы из праймера возрастает. Скорость удлинения праймера уменьшается в 10^3 — 10^6 раз в зависимости от конкретного сочетания неспаренных нуклеотидов. Во время этой паузы ошибочные нуклеотиды могут удаляться 3' → 5'-экзонуклеазами данной ДНК-полимеразы, других ДНК-полимераз или автономными 3' → 5'-экзонуклеазами. Даже бактериальная 3' → 5'-экзонуклеаза (субъединица ϵ из холофермента ДНК-полимеразы III *E. coli*) эффективно исправляет ошибки, сделанные ДНК-полимеразой млекопитающих, несмотря на отсутствие комплекса между этими ферментами. Удалив неспаренный нуклеотид, 3' → 5'-экзонуклеаза вскоре отделяется от ДНК и полимеразный синтез возобновляется [26].

Решающую роль в регуляции соотношения полимеразной и корректорской активности ДНК-полимеразы III *E. coli* играет фактор процессивности — субъединица β . Его молекулы образуют кольцевую перемещающуюся по ДНК подвижную платформу или «скользящую скрепку» с отверстием для двухцепочечной ДНК в центральной части, удерживающую ДНК-полимеразу III на матрице и обеспечивающую высокопроцессивный синтез ДНК [41].

Синтез молекулы ДНК, содержащей димеры. Рассмотрим мутационез при пострепликативной репарации, когда пострепликативные бреши застраиваются в результате синтеза *de novo*. Как было изложено выше, такая репарация приводит к образованию мутаций [1, 5, 12]. Ограничимся механизмами образования транзиций и трансверсий при условии, что формируются только тиминовые димеры.

Пусть в результате облучения УФ-светом в молекуле ДНК образовалось несколько димеров (рис. 1, а) (циклобутановых или (6—4)-аддуктов), таких, что первый содержит оба тимина, находящиеся в канонической таутомерной форме (димер $\hat{T}\hat{T}$, рис. 2, а), второй — один тимин в каноническом, а третий — в редком таутомерном состоянии (димер $\hat{T}\hat{T}_1^*$, рис. 2, б), четвертый димер ($\hat{T}\hat{T}_2^*$), в котором, кроме канонического тимина Т, имеется тимин T_2^* , изменивший свое таутомерное состояние (рис. 2, в), димер $\hat{T}\hat{T}_3^*$ (рис. 2, г), димер $\hat{T}\hat{T}_4^*$ (рис. 2, д) и димер $\hat{T}\hat{T}_5^*$ (рис. 2, е). Анализируя процесс изменения таутомерного состояния после УФ-облучения ДНК [3], легко сделать вывод о том, что изменение таутомерного состояния тиминных, входящих в димеры, происходит вследствие утери или присоединения атомов водорода, отвечающих за образование водородных связей при спаривании оснований. Эти атомы водорода присоединяются или удаляются у комплементарных аденинов, с которыми данные тимины образуют пару и которые, в свою очередь, также меняют свое таутомерное состояние. Следовательно, вторая цепь ДНК оказывается тоже поврежденной. Напротив T_1^* находится редкая таутомерная форма аденина A_1^* (рис. 2, б), а напротив T_3^* — аденин A_3^* (рис. 2, г) и т. д. Напротив димера $\hat{T}\hat{T}$ оба аденина находятся в каноническом таутомерной форме.

Пусть молекула ДНК с такими повреждениями синтезируется. При этом синтез идет нормально напротив участков ДНК, не содержащих димеров, прерываясь на участках, несущих димеры, и опять возобновляясь на участках без повреждений. В результате репликации первой нити ДНК, несущей димеры, напротив димеров образуются бреши размером 1000—10000 нуклеотидов. Вторая цепь ДНК, как показывает эксперимент [1], реплицируется безошибочно (рис. 3). Рассмотрим такой путь пострепликативной репарации, при котором образовавшиеся пострепликативные бреши застраиваются *de novo* [1, 5]. Для того чтобы стал возможен синтез ДНК на матрице, содержащей димеры, необходима индукция SOS-системы [1, 31, 33]. Вследствие этого ДНК-полимераза III модифицируется, и происходит ослабление корректорских функций [7, 26]. Под термином «ДНК-полимераза» мы будем понимать холофермент, включающий ДНК-полимеразу, белки, регулирующие процессивность ДНК-полимеразы, 3'—5'-экзонуклеазу и т. д. [26, 41]. Как показывает эксперимент, в большинстве случаев такая модифицированная

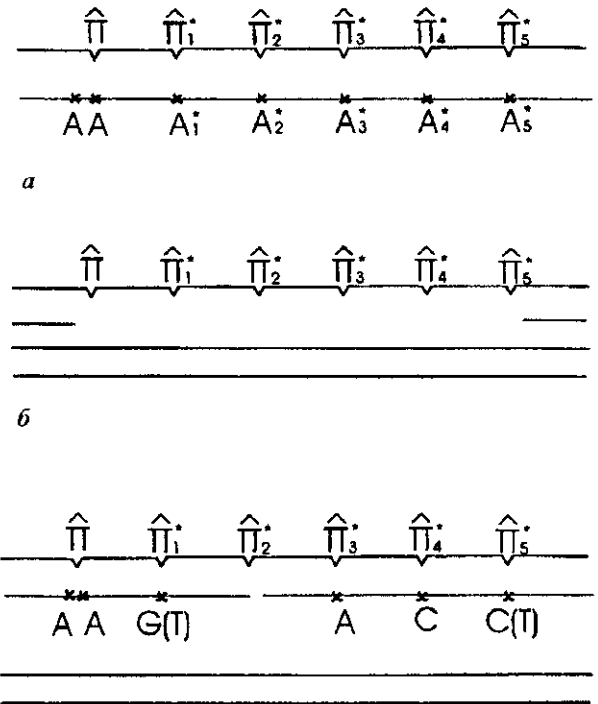


Рис. 1. Пострепликативная SOS-репарация после облучения молекулы ДНК ультрафиолетовым светом: а — участок ДНК, содержащий димеры $\hat{T}\hat{T}_1^*$, $\hat{T}\hat{T}_2^*$, $\hat{T}\hat{T}_3^*$, $\hat{T}\hat{T}_4^*$ и $\hat{T}\hat{T}_5^*$, где молекулы тимина, находящиеся в редких таутомерных формах, соответствуют рис. 2. Они расположены в одной из цепей ДНК. Противоположная цепь ДНК содержит молекулы аденина A_1^* , A_2^* , A_3^* , A_4^* и A_5^* , и A_5^* , находящиеся в редких таутомерных формах и соответствующих рис. 2; б — молекула ДНК, содержащая димеры, синтезируется. Напротив димеров образовалась пострепликативная брешь; в — пострепликативная брешь застраивается модифицированной ДНК-полимеразой. Изображена наиболее вероятная получившаяся цепь ДНК

ДНК-полимераза напротив тиминных димеров встраивает аденины [9]. Однако иногда некоторый конкретный димер приводит к мутациям. Например, в [10] было показано, что один из димеров всегда вызывал транзиции.

Проанализируем, как будет происходить застройка пострепликативных брешей, содержащих димеры $\hat{T}\hat{T}$, $\hat{T}\hat{T}_1^*$, $\hat{T}\hat{T}_2^*$, $\hat{T}\hat{T}_3^*$, $\hat{T}\hat{T}_4^*$ и $\hat{T}\hat{T}_5^*$, (рис. 1, б), модифицированной ДНК-полимеразой.

Чтобы понять, как работает модифицированная ДНК-полимераза, напомним сначала принципы функционирования обычной ДНК-полимеразы, ведущей безошибочный синтез. Известно, что для *E. coli* полимеразная активность ассоциирована с 3' → 5' и 5' → 3'-экзонуклеазными активностями,

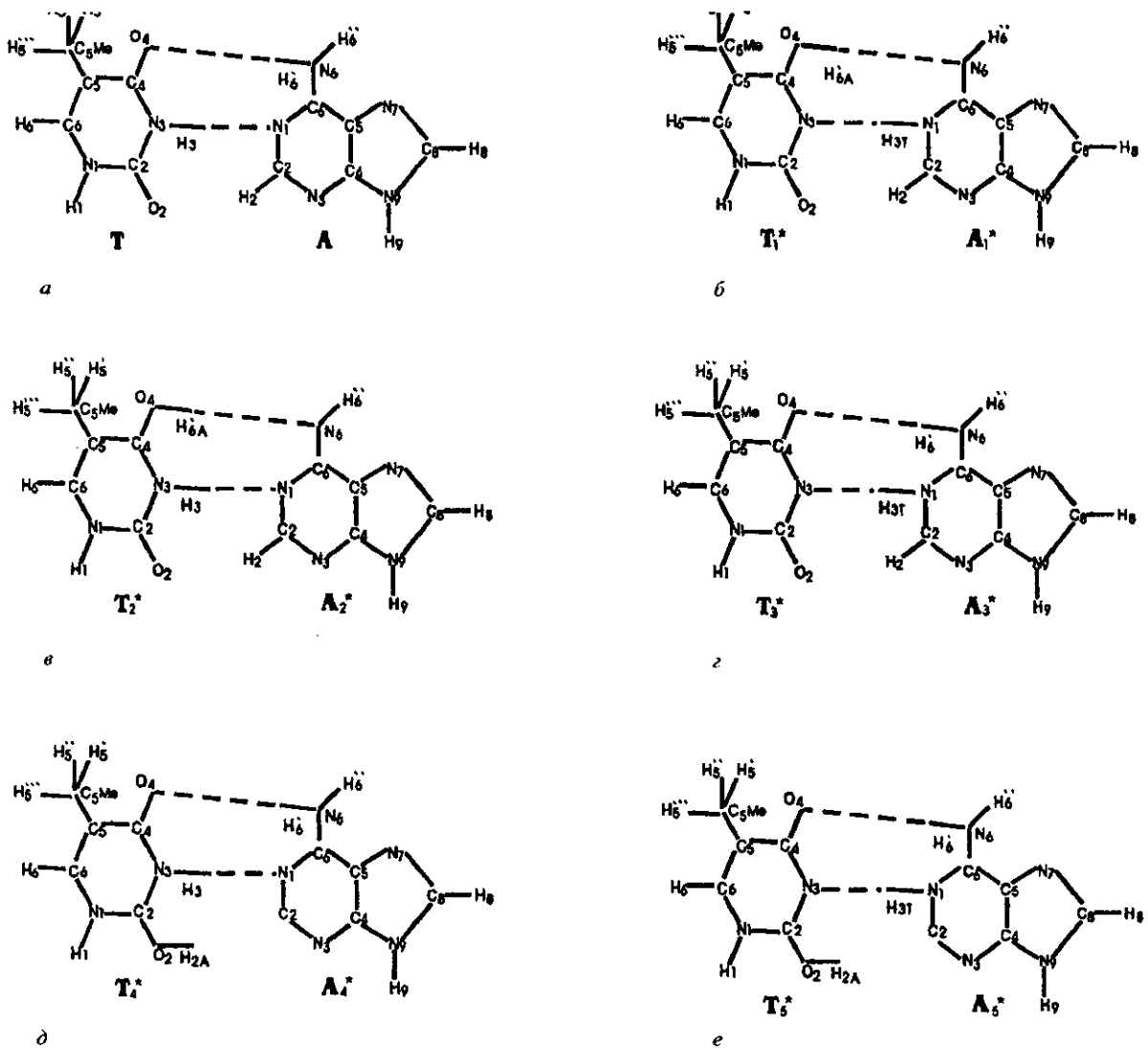


Рис. 2. Молекулы тимина (Т) и аденина (А): а — каноническая пара аденин-тимин; б—е — тимин (Т^{*}) и аденин (А^{*}), находящиеся в редких таутомерных формах, влияющих на характер спаривания, возникших при образовании тиминовых димеров при УФ-облучении ДНК

известны условия, при которых ДНК-полимеразы способны вести безошибочный синтез, известно также, что подавление 3' → 5'-экзонуклеазной активности приводит к образованию мутаций. Есть сведения о том, что 3' → 5'-экзонуклеаза участвует в коррекции неправильно спаренных оснований [1, 5, 7, 26, 41].

По отношению к структурно-инвариантным атомным группам, связывающимся в гликозидном и негликозидном желобе, ДНК-полимераза, ведущая безошибочный синтез, осуществляет контроль за тем, чтобы образовывались только Уотсон-Кри-

ковские пурин-пиримидиновые или пиримидин-пуриновые пары и чтобы основания ДНК-матрицы и встраиваемые основания образовывали между собой Уотсон-Криковские водородные связи. По некоторым данным, структурными инвариантами правильных нуклеотидных пар являются атомы — акцепторы водорода Н-связи в гликозидном (N3 пуринов и O2-пиримидинов) и негликозидном желобах (С8-Н8 пуринов и С6-Н6 пиримидинов), а также атомные группировки сахарофосфатного остова [17—19]. Рентгеноструктурные исследования комплекса ДНК-полимеразы β с ферментом ДНК-

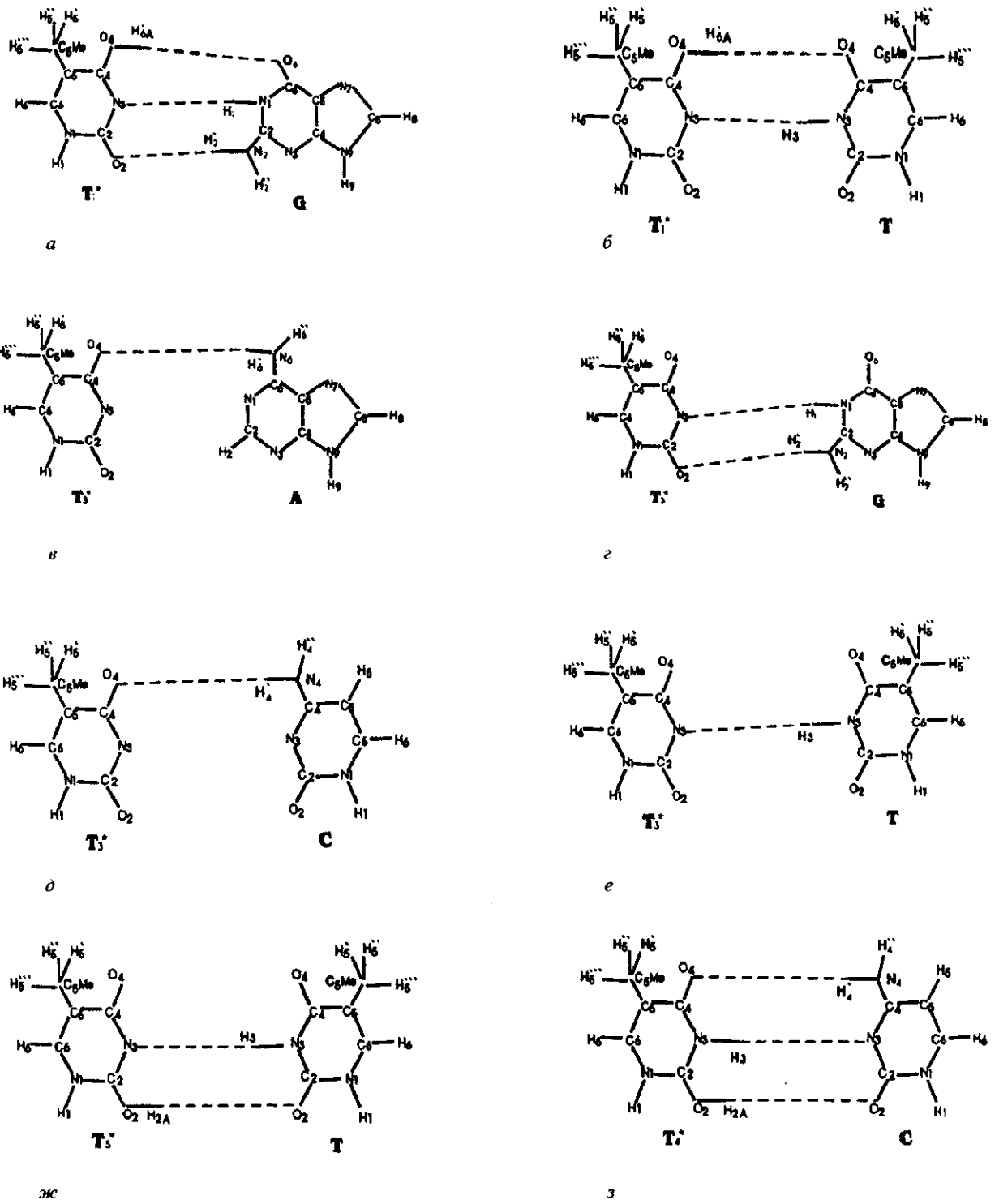


Рис. 3. Возможные варианты образования пар между тиминами T_1^+ ($i=1+5$) и каноническими основаниями ДНК

матрицы праймера и дидезоксианалогом включающегося нуклеотидтрифосфата показали наличие Н-связей между группами ОН и NH аминокислотных остатков полимеразы и атомами N3 и O2 образующейся комплементарной пары [19].

Известно, что при индукции SOS-системы происходит ослабление требований к матричной ДНК так, что ДНК-полимераза становится способной вести синтез на ДНК, содержащей димеры [7, 26]. Поэтому вполне естественно предположить, что такое ослабление контроля за структурой матричной ДНК может выражаться и в индифферентности к различным таутомерным формам оснований матричной ДНК. Но требования к встраиваемым основаниям при этом не снижаются, т. е. встраиваются только основания, находящиеся в канонических таутомерных формах. Предположим, что в остальном контроль у модифицированной в результате индукции SOS-системы ДНК-полимеразы осуществляется так же, как и у немодифицированной ДНК-полимеразы. Это предположение является более мягким по сравнению с общепринятой гипотезой. Проанализируем, к каким следствиям оно может привести.

Возможные молекулярные механизмы образования мутаций замены оснований при пострепликативной SOS-репарации двухцепочечной ДНК. Пусть пострепликативная брешь застраивается модифицированной ДНК-полимеразой (рис. 1, в). Возможные варианты образования пар представлены на рис. 3. Напротив T_1^* (рис. 2, б) может быть встроено гуанин (рис. 3, а) или тимин (рис. 3, б), находящиеся в канонических таутомерных формах. В первом случае возникнет транзиция А-Т → G-С. Во втором — гомологичная трансверсия А-Т → Т-А. Трансверсия может возникнуть, если дополнительно ослаблены, подавлены или потеряны корректорские функции, отвечающие за то, чтобы образовывались только пары пурин-пиримидин. На такую возможность указывает существование, например, мутаторного гена *mutT* *E. coli*. В штаммах *mutT* специфически резко возрастает частота возникновения А-Т → G-С-трансверсий. Большинство имеющих данные указывают на то, что продукт гена *mutT* действует в комплексе с полимеразой III в репликационной вилке [5].

Напротив T_2^* ДНК-полимераза не может встроить ни одного основания так, чтобы образовались водородные связи. Поэтому предположим, что может возникнуть брешь в один нуклеотид. Согласно модели [42], такое повреждение способно привести к делециям или инсерциям (вставкам), т. е. мутациям сдвига рамки чтения.

Тимин T_3^* (рис. 2, г) может образовать одну

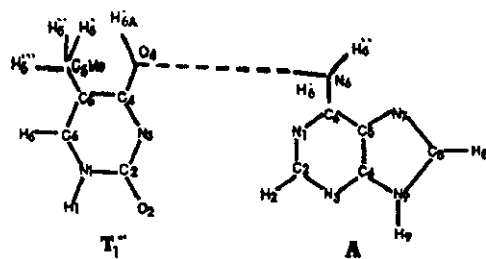
водородную связь с аденином (рис. 3, в), две — с гуанином (рис. 3, з), одну — с цитозином (рис. 3, д) и одну — с тиминном (рис. 3, е). Следовательно, мутация может не образоваться, может возникнуть транзиция А-Т → G-С, трансверсия А-Т → C-G или гомологичная трансверсия А-Т → Т-А.

Тимин T_4^* может или не привести к мутации, или вызвать трансверсию А-Т → C-G (рис. 4, з).

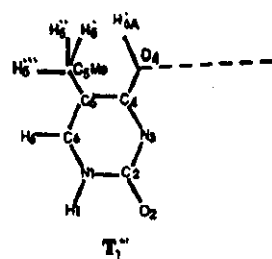
Тимин T_5^* (рис. 2, е) может образовать две водородные связи с цитозином (рис. 3, з) и две водородные связи с тиминном (рис. 3, и). Соответственно образуется или трансверсия А-Т → C-G, или гомологичная трансверсия А-Т → Т-А.

Нельзя исключить и вероятности того, что атомы водорода $H_{6A'}$ в T_1^* и T_2^* и H_{2A} в T_5^* изменяют свое положение так, что сможет образоваться по одной Н-связи между T_1^* и А (рис. 4, а) и между T_1^* и С (рис. 4, б), а между T_2^* и А (рис. 4, в) и T_2^* и С (рис. 4, з) смогут образоваться по две Н-связи. T_4^* сможет образовать Н-связь с А (рис. 4, д), а T_5^* — с А (рис. 4, е) и G (рис. 4, ж). Если это произойдет, то T_1^* или не вызовет мутации, или вызовет трансверсию А → С, T_2^* , или не приведет к мутации, или появится трансверсия А → С. T_4^* не вызовет мутации, а T_5^* или не приведет к мутации, или появится транзиция А → G. Интересно было бы исследовать, насколько вероятно появление изоформ T_1^* , T_2^* , T_4^* , и T_5^* , входящих в состав димеров.

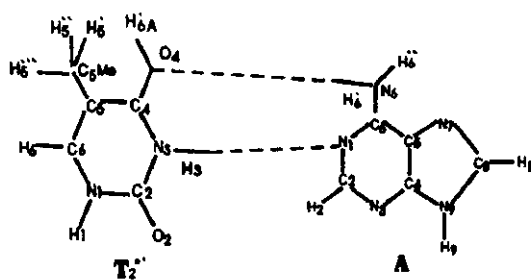
Интерпретация некоторых экспериментальных данных на основании предлагаемой модели УФ-мутагенеза. Существуют экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что именно основания, находящиеся в редких таутомерных формах, являются источником мутаций. Так, в [6] изучено влияние индукции SOS-системы на вероятность образования мутаций. Исследовали фаг, содержащий единственный *trans-syn* Т-Т циклобутановый димер в уникальном сайте. Этот фаг в отличие от аналога с *cis-syn* димером способен реплицироваться с эффективностью 14 % без индукции SOS-системы клеток *E. coli*. Оказалось, что репликация ДНК, содержащей этот димер, в значительной степени безошибочна. Образовывались исключительно делеции одного из тиминнов. При индукции SOS-системы частота мутаций увеличилась почти в 3 раза и, кроме делеций, появились также другие мутации на месте димера и поблизости от него. При этом эффективность репликации фага увеличилась до 29 %. В [9] изучена SOS-зависимая мутагенность фрагмента ДНК, содержащего в одном и том же положении либо *cis-syn* или *trans-syn* Т-Т циклобутановые димеры, либо их производные, в которых 5'- или 3'-остаток тимина пре-



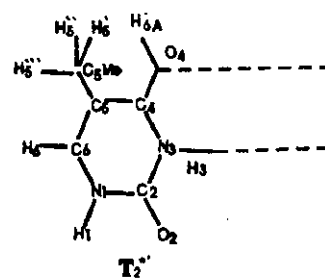
a



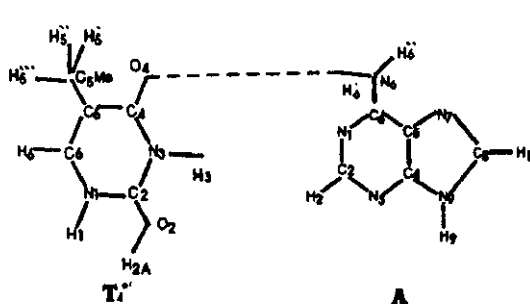
b



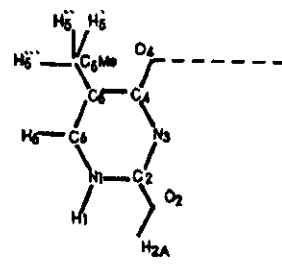
c



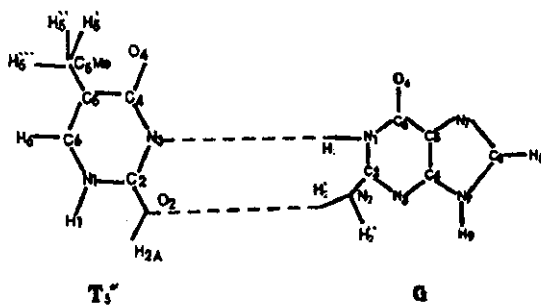
z



d

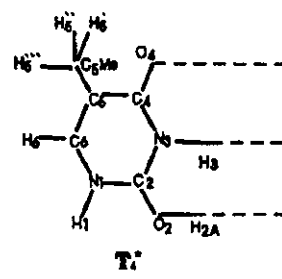


e



T_5''

A



T_4''

вращен в участок без основания. Оказалось, что для каждого из изомеров один из остатков тимина является высокоошибочным. Причем в высокоошибочном участке 80 % мутаций составляют трансверсии $T \rightarrow A$ и 20 % — транзиции $T \rightarrow C$. В [10] на основе фага M13 сконструирован одностранный вектор, содержащий специфически локализованный фотопродукт УФ-света, тимин-тимин пиримидин-пиримидон (6—4) в виде двух изомеров. Одностранный вектор использован для выявления частоты и точности репликации ДНК после одного из изомеров в клетках *E. coli uvr AC*. Оказалось, что при отсутствии в клетке SOS-индукции вектор с (6—4)-аддуктом реплицировался редко, мутации возникали с очень малой частотой. В клетках с SOS-индукцией частота мутаций возрастает в 30—11 раз в зависимости от структуры изомера. Частота ошибок репликации вследствие присутствия одного из изомеров в клетках с SOS-индукцией высокая (91 %), это были, в основном, транзиции $T \rightarrow C$. В [43] с помощью ¹H-ЯМР-спектроскопии исследована структура ошибочно спаренной пары C-A в дуплексе d(CAGCGGC)d(GCCACTG). Оказалось, что он стабилизируется только одной водородной связью.

Посмотрим, как эти экспериментальные результаты согласуются с предложенной выше моделью образования мутаций. Во-первых, эксперимент указывает на то, что при индукции SOS-системы резко возрастает частота мутаций. В [6] показано, что напротив одного из димеров даже в отсутствие SOS-индукции образовывались бреши в один нуклеотид. Почему же бреши возникали только напротив определенного тимина? Чем он отличается от других?

С позиций предложенной модели можно дать такое объяснение. Искомый тимин, входящий в состав димера, очевидно, находится в редкой таутомерной форме, соответствующей тимину T_2^* (рис. 2, в), т. е. напротив него невозможно встроить ни одного из оснований в канонических таутомерных формах так, чтобы между ними образовались водородные связи.

Далее, как объяснить тот факт, что для каждого из изомеров только один из остатков является высокоошибочным? Почему в одном случае это трансверсии $T \rightarrow A$, в другом — транзиции $T \rightarrow C$? Предложенная модель так объясняет эти результаты. Основания, вызывающие мутации, находятся в редких таутомерных формах. Наиболее вероятно, что в первом случае это тимин T_5^* (рис. 2, е), поскольку именно он вызывает трансверсии, в частности, гомологичные трансверсии (рис. 3). Во втором случае это может быть тимин T_1^* , так как

для него наиболее вероятным является образование транзиции $T \rightarrow C$ (рис. 3). Это же основание (T_1^*), по-видимому, есть причиной образования транзиций $T \rightarrow C$ в [10]. В работе [43] обнаружена пара C-A, связанная одной водородной связью. Но цитозин и аденин, находящиеся в канонических таутомерных формах, не могут образовывать водородных связей. Следовательно, одно из оснований должно находиться в редкой таутомерной форме. Другая возможность связана с тем, что может образовываться не-Уотсон-Криковская пара. Например, аденин может находиться в *syn*-ориентации [17—19, 44].

Заметим, что результаты работы [9] косвенно подтверждают модель спонтанных полураскрытых состояний ДНК, предложенную Говоруном [45]. Эта модель предсказывает метастабильное полураскрытое состояние Уотсон-Криковской пары аденин-тимин, когда основания соединены двумя водородными связями $N_3-H_3...N_1$ и $C_2-H_2...O_2$, где N_1 , C_2 , H_2 — атомы аденина, а O_2 , N_3 , H_3 — тимина [45]. В [3] показано, что это полураскрытое метастабильное состояние при УФ-облучении ДНК может приводить к таутомерному состоянию тимина T_5^* , входящего в тиминный димер, соответствующему представленному на рис. 2, е. Как показано выше, только этот таутомер вызывает исключительно трансверсии. Если метастабильные полураскрытые состояния, предложенные в [45], не реализуются, то соответственно крайне маловероятно, что образуется димер с тиминном T_5^* (рис. 2, е).

Предложенная модель позволяет также объяснить и другие особенности УФ-мутагенеза.

Так, оставалось непонятным, почему, несмотря на то, что тиминные димеры — наиболее частый вид фотоповреждений, редко возникают мутации от А-Т к другой паре оснований [1]. Вероятно, тот факт, что тиминные димеры формируются в десятки раз чаще, чем цитозинные, связан, в частности, с большей склонностью пар А-Т по сравнению с парами G-C образовывать долгоживущие полураскрытые состояния [45, 46]. А значительно более частое мутирование оснований гуанина и цитозина по сравнению с тиминном объясняется тем, что из всех канонических оснований наибольшую склонность изменять свое таутомерное состояние имеют именно гуанин и цитозин [47, 48]. Для аденина и тимина она гораздо ниже [47, 48]. Согласно предлагаемой модели, именно способность нуклеотидных оснований изменять свое таутомерное состояние является главной причиной мутагенеза под действием УФ-облучения.

Можно объяснить на качественном уровне, почему именно (6—4)-аддукты являются основным

источником мутаций, хотя их образуется на порядок меньше, чем циклобутановых димеров [2—6].

При образовании циклобутановых пиримидиновых димеров триплетное возбуждение локализовано на двойной связи 5—6, в результате чего она очень ослабляется и рвется [21]. При образовании (6—4)-аддуктов затрагиваются как связь 5—6 в одном основании, так и связь 3—4 в другом основании: согласно результатам, приведенным в [21], связь 3—4 тоже ослабляется как в первом триплетном, так и в первом синглетном возбужденных состояниях. Как видно из рис. 2, а, связь 3—4 соединяет атомы азота и углерода, а последний соединен с атомом, участвующим в образовании водородной связи между основаниями, находящимися в разных цепях ДНК. Предложенная модель дает ключ к пониманию того, почему (6—4)-аддукты гораздо более мутабельны, чем циклобутановые димеры. При их образовании должно чаще меняться таутомерное состояние, связанное с атомами водорода, участвующими в спаривании оснований.

Выводы. На качественном уровне проанализирована пострепликативная SOS-репарация ДНК, содержащей тиминовые димеры (циклобутановые или (6—4)-аддукты), одно или оба основания которых находятся в редких таутомерных формах.

Установлено, что димеры, в которых одно или оба основания находятся в редких таутомерных формах, являются причиной мишенного мутагенеза и могут приводить к транзициям, трансверсиям или брешам в один нуклеотид.

Показано, что связь между типом первичного повреждения ДНК и видом образующихся мутаций не всегда однозначна. Так, один вид димеров ($\hat{T}\hat{T}_1^*$) может вызвать транзицию А-Т → Г-С или гомологичную трансверсию А-Т → Т-А. Другие димеры ($\hat{T}\hat{T}_2^*$) могут вызвать только брешь в один нуклеотид, что, в свою очередь, может стать первым этапом образования мутаций сдвига рамки считывания (делеций или инсерций). Третий вид димеров ($\hat{T}\hat{T}_3^*$) может вызвать транзицию А-Т → Г-С, трансверсию А-Т → С-Г, гомологичную трансверсию А-Т → Т-А или не привести к мутации вообще. Четвертый тип димеров ($\hat{T}\hat{T}_4^*$) может не вызвать мутации или же привести к трансверсии А-Т → С-Г. Наконец, пятый вид димеров $\hat{T}\hat{T}_5^*$ может вызвать трансверсию А-Т → С-Г или гомологичную трансверсию А-Т → Т-А. Если оба основания в димере находятся в редких таутомерных формах, соответствующих $\hat{T}_1, \hat{T}_2, \hat{T}_3, \hat{T}_4$ или \hat{T}_5 , то могут образоваться тандемные мутации.

Эти закономерности справедливы при следующих предположениях относительно пострепликативной SOS-репарации:

1) ослабляется контроль за тем, чтобы основания матричной ДНК находились в канонических таутомерных формах и образовывались только пурин-пиримидиновые, но не пурин-пуриновые или пиримидин-пиримидиновые пары.

2) сохраняется контроль инвариантных групп по гликозидному и негликозидному желобу, а также проверка на возможность образования водородных связей между основаниями матричной ДНК и встраиваемыми основаниями.

3) встраиваются только основания в канонических таутомерных формах.

H. A. Grebneva

The molecular mechanisms derivation of mutation bases alteration after a postreplication SOS-reparation an DNA containing thymine dimers

Summary

Molecular mechanisms of mutation of bases alteration after the postreplication SOS-reparation of DNA containing thymine dimers. The postreplication SOS-reparation at which the postreplicative gaps are built up de novo is analyzed. The DNA molecule, containing in one of its chains thymine dimers with nucleotide bases in rare tautomeric forms, which can influence the character of base pairing, is considered. Depending on the type of the dimers formed the postreplication SOS-reparation may lead to 1) transition or homologous transversion; 2) appearance of one-nucleotide gap, causing a shift mutation of a reading frame; or 3) absence of mutation at all. It has been concluded that the dimers studied (cyclic butane or 6—4 adducts) cause the targeted mutagenesis. The assumption has been made that the SOS-system induction, decreasing proof-reading functions (in comparison with polymerase) weakens the control over the matrix DNA bases to be in the canonical tautomeric forms.

О. А. Гребнёва

Молекулярні механізми утворення мутацій заміни основ при постреплікативній SOS-репарації дволанцюгової ДНК, яка містить тимінові димери

Резюме

Аналізується постреплікативна SOS-репарація ДНК, яка містить в одному зі своїх ланцюгів тимінові димери з нуклеотидними основами в рідкісних таутомерних формах, що впливають на характер спарювання основ, у якій постреплікативні проломи забудовуються de novo. Встановлено, що в результаті постреплікативної SOS-репарації в залежності від типів утворюваних димерів можуть відбутися транзиція або гомологічна трансверсія, виникнути пролом в один нуклеотид (що може дати початок мутації зсуву рамки читання), може зовсім не з'явитися мутація. Тип димерів визначається таутомерними формами основ. Зроблено загальний висновок стосовно того, що досліджувані димери (циклобутанові або (6—4)-аддукти) є причиною мішенного мутагенезу. Ці результати отримано при допущенні, що за індукції SOS-системи внаслідок зниження коректорських функцій по-

слаблостью контроль за тим, щоб основи матриці знаходилися в канонічних таутомерних формах. При цьому контроль інваріантних атомних груп по глікозидному і неглікозидному борозенках та вимога, щоб вбудовувалися лише основи, здатні утворювати водневі зв'язки з основами матричної ДНК, зберігаються.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза.—М.: Мир, 1978.—463 с.
2. Parris C. N., Levy D. D., Jessee J., Seidman M. M. Proximal and distal effects of sequence context on ultraviolet mutational hotspots in a shuttle vector replicated in xeroderma cells // J. Mol. Biol.—1994.—236, N 2.—P. 491—502.
3. Гребнева Е. А. Природа и возможные механизмы образования потенциальных мутаций, возникающих при появлении тиминовых димеров после облучения двухцепочечной ДНК ультрафиолетовым светом // Биополимеры и клетка.—2002.—18, № 3 (в печати).
4. Гродзинский Д. М. Радиобиология.—Киев: Либ?дь, 2000.
5. Тарасов В. А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза.—М.: Наука, 1982.—226 с.
6. Benerjee S. K., Borden A., Christensen R. B., LeClerc J. E., Lawrence C. W. SOS-dependent replication past a single trans-syn T-T cyclobutane dimer gives a different mutation spectrum and increased error rate compared with replication past this lesion in uninduced cell // J. Bacteriol.—1990.—172, N 4.—P. 2105—2112.
7. Jonczyk P., Pijalkowska I., Ciesla Z. Overproduction of the subunit of DNA polymerase III counteracts the SOS-mutagenic response of *Escherichia coli* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—85, N 23.—P. 2124—2127.
8. Hagen U. Biochemical aspects of radiation biology // Experientia.—1989.—45.—P. 7—12.
9. Lawrence C. W., Banerjee S. K., Borden A., LeClerc J. E. T-T cyclobutane dimers are mis-instructive rather than non-instructive, mutagenic lesions // Mol. and Gen. Genet.—1990.—222, N 1.—P. 166—169.
10. LeClerc J. E., Borden A., Lawrence C. W. The thymine-thymine pyrimidine-pyrimidine (6-4) ultraviolet light photoproduct is highly mutagenic and specifically induces 3'-thymine-cytosine transitions in *Escherichia coli* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1991.—88, N 21.—P. 9685—9686.
11. Taylor J.-S., Garrett D. S., Brockie I. R., Svoboda D. L., Telsler J. H¹-NMR assignment and melting temperature study of cis-syn and trans-syn thymine dimer containing duplexes of d(CGTATTATGC) d(GCATAATACG) // Biochemistry.—1990.—29, N 37.—P. 8858—8866.
12. Levine J. G., Schaaper R. M., De Marini D. M. Complex frameshift mutations mediated by plasmid pkm 101: Mutational mechanisms deduced from mutation spectra in *Salmonella* // Genetics.—1994.—136, N 3.—P. 731—746.
13. Куренная О. Н., Чернова О. Ю., Тарасов В. А. Индукция реплицирующей нестабильности в делящихся дрожжах *Schizosaccharomyces pombe* при действии разных типов мутагенов // Генетика.—1982.—18, № 3.—С. 409—412.
14. Бреслер С. Е. О решенных и нерешенных проблемах мутагенеза и репарации Повреждение и репарация ДНК.—Пушино: Науч. центр биол. исследований АН СССР в Пушине, 1980.—С. 16—26.
15. Bernard S. S. «A rule» of mutagen specificity: a consequence of DNA polymerase by pass of non-instructional lesions? // Bio Essays.—1991.—13, N 2.—P. 79—84.
16. Завигельский Г. Б. Фотохимия нуклеиновых кислот // Молекуляр. механизмы биол. действия оптического измерения.—М.: Наука, 1988.—С. 5—22.
17. Полтев В. И., Шулюпина Н. В., Брусков В. И. Молекулярные механизмы правильности биосинтеза нуклеиновых кислот. Теоретическое изучение узнавания ДНК-полимеразы комплементарных пар оснований // Молекуляр. биология.—1995.—29, № 5.—С. 1011—1022.
18. Полтев В. И., Шулюпина Н. В., Брусков В. И. Молекулярные механизмы правильности биосинтеза нуклеиновых кислот. Компьютерное изучение роли полимераз в образовании неправильных пар модифицированными основаниями // Молекуляр. биология.—1996.—30, № 6.—С. 1284—1298.
19. Полтев В. И., Шулюпина Н. В., Брусков В. И. Молекулярные механизмы правильности биосинтеза нуклеиновых кислот. Сравнение результатов компьютерного моделирования с экспериментальными данными // Молекуляр. биология.—1998.—32, № 2.—С. 268—276.
20. Полтев В. И., Брусков В. И., Шулюпина Н. В., Рейн Р., Шибата М., Орстейн Р. Л., Миллер Дж. Генотоксическая модификация оснований нуклеиновых кислот и ее биологические последствия. Обзор и перспективы экспериментальных и расчетно-теоретических исследований // Молекуляр. биология.—1993.—27, № 4.—С. 734—757.
21. Данилов В. И., Квенцель Г. Ф. Электронные представления в теории точечных мутаций.—Киев: Наук. думка, 1971.—82 с.
22. Clementi E., Corongiu G., Detrich J., Chin S., Domingo J. Parallelism in study in DNA pairs as an example // Int. J. Quant. Chem.: Quantum Chem. Symp.—18.—1984.—P. 601—618.
23. Гребнева Е. А. Облучение ДНК ультрафиолетовым светом: потенциальные изменения и мутации // Молекуляр. биология.—1994.—28, № 4.—С. 805—812.
24. Данилов В. И., Михалева О. В., Слюсарчук О. Н., Стюарт Дж. Дж., Альдерфер Дж. Л. О новом механизме мутаций, индуцируемых УФ-светом. Теоретическое изучение двухпротонной фототаутомерии в модельных парах оснований ДНК // Биополимеры и клетка.—1997.—13, № 4.—С. 261—268.
25. Raghunathan G., Kieber-Emmons T., Rein R., Alderfer J. L. Conformation features of DNA containing a cis-syn photodimer // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1990.—7, N 4.—P. 899—913.
26. Крутяков В. М. Рациональная регуляция ДНК-полимеразного мутагенеза и автономные 3' → 5'-экзонуклеазы // Молекуляр. биология.—1998.—32, № 2.—С. 229—232.
27. Primo S., Jurg K. Marker effects of G to transversions on intragenic recombination and mismatch repair in *Schizosaccharomyces pombe* // Genetics.—1993.—133, N 4.—P. 825—835.
28. Radnedge L., Pinney R. J. Post-UV survival and mutagenesis in DNA repair — proficient and deficient strains of *Escherichia coli* K-12 grown in 5-azacytidine to inhibit DNA cytosine methylation: evidence for mutagenic excision repair // J. Pharm. and Pharmacol.—1993.—45, N 3.—P. 192—197.
29. Cohen-Fix O., Livneh Z. In vitro UV mutagenesis associated with nucleotide excision repair gaps in *Escherichia coli* // J. Biol. Chem.—1994.—269, N 7.—P. 4953—4958.
30. Cohen-Fix O., Livneh Z. Biochemical analysis of UV mutagenesis in *Escherichia coli* by using a cell-free reaction coupled to a bioassay: identification of DNA repair — dependent, replication — in dependent pathway // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1992.—89, N 8.—P. 3300—3304.
31. Walker G. C. SOS-regulated proteins in translesion DNA synthesis and mutagenesis // Trends Biochem. Sci.—1995.—20, N 10.—P. 416—420.
32. Корнберг А. Синтез ДНК.—М.: Мир, 1977.—360 с.

33. Huisman O., D'Ari D. An inducible DNA replication cell division coupling mechanism in *E. coli* // *Nature*.—1981.—290.—P. 797—799.
34. Cairns J., Robins P., Sedgwick B., Talmud P. The inducible repair of alkylated DNA // *Proc. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.*—1981.—26.—P. 237—244.
35. Defair M., Jeggo P., Samson L., Schendel P. F. Effect of the adaptive response on the induction of the SOS pathway in *E. coli* K-12 // *Mol. and Gen. Genet.*—1980.—177, N 4.—P. 653—659.
36. de Oliveira C. R., Laval J., Boiteul S. Induction of SOS and adaptive responses by alkylating agents in *E. coli* mutants in 3-methyladenine — DNA glycosylase activities // *Mutat. Res.*—1986.—183.—P. 11—20.
37. Sommer S., Leitao A., Bernardi A., Bailone A., Devoret R. Introduction of UV-damaged replication into a recipient cell is not a sufficient condition to produce as SOS-inducing signal // *Mutat. Res. DNA Repair Repts.*—1991.—254, N 2.—P. 107—117.
38. Sommer S., Bailone A., Devoret R. The appearance of the Umu DC protein complex in *Escherichia coli* switches repair from homologous recombination to SOS mutagenesis // *Mol. Microbiol.*—1993.—10, N 5.—P. 963—971.
39. Frank E. G., Woodgate R., Hauser J., Livine A. S. Role of Rec A protein in inducible mutagenesis in *Escherichia coli* // *J. Biomol. Struct. and Dyn.*—1993.—10, N 6.—P. 49.
40. Trovcevic Z., Petranovic M., Brcic-Kostic K., Petranovic D., Lers N., Salaj-Smic E. A possible interaction of single-stranded binding protein and Rec A protein during post-ultraviolet DNA synthesis // *Biochimie.*—1991.—73, N 4.—P. 515—517.
41. Михайлов В. С. ДНК-полимеразы эукариот // *Молекуляр. биология.*—1999.—33, № 4.—С. 567—580.
42. Streisinger G., Okada J., Emerich J., Newton J., Tsugida A., Terragi E., Inouye M. Frameshift mutations and the genetic code // *Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol.*—1966.—31.—P. 77—89.
43. Boulard J., Cognet J. A. H., Gabarro-Arpa J., Le Bret M., Sowers L. C., Fazakerley G. J. The pH dependent configurations of the C-A mispair in DNA // *Nucl. Acids Res.*—1992.—20, N 8.—P. 1933—1941.
44. Topal M. D., Fresco J. R. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations // *Nature.*—1976.—263.—P. 285—289.
45. Говорун Д. М. Структурно-динамічна модель спонтанних напіврозкритих станів ДНК // *Биополимеры и клетки.*—1997.—13, № 1.—С. 39—45.
46. Франк-Каменецкий М. Д. Флуктуационная подвижность ДНК // *Молекуляр. биология.*—1983.—17, № 3.—С. 639—652.
47. Kwiatkowski J. S., Person W. B. The tautomerism of the nucleic acid bases revisited: from non-interacting to interacting bases // *Theor. Biochem. and Mol. Biophys.* / Eds D. L. Beveridge. R. Lavery.—New York: Adenine press, 1990.—P. 153—171.
48. Novak M. J., Les A., Adamowicz L. Application of ab-initio quantum mechanical calculations to assign matrix-isolation IR spectra of oxypyrimidines // *Trends Phys. Chem.*—1994.—4.—P. 137—168.

УДК 575.24; 576.851.48
Надійшла до редакції 15.11.99