

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ГОРЯЧИХ ПЯТЕН УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО МУТАГЕНЕЗА, ОБРАЗУЮЩИХСЯ НА ЗАПАЗДЫВАЮЩЕЙ НИТИ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК ГЕНА *supF*

Гребнева Е.А.

Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина  
ул. Р. Люксембург, 72, Донецк, 83114, РФ, e-mail: grebneva@gmail.com  
Поступила в редакцию 13.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0598

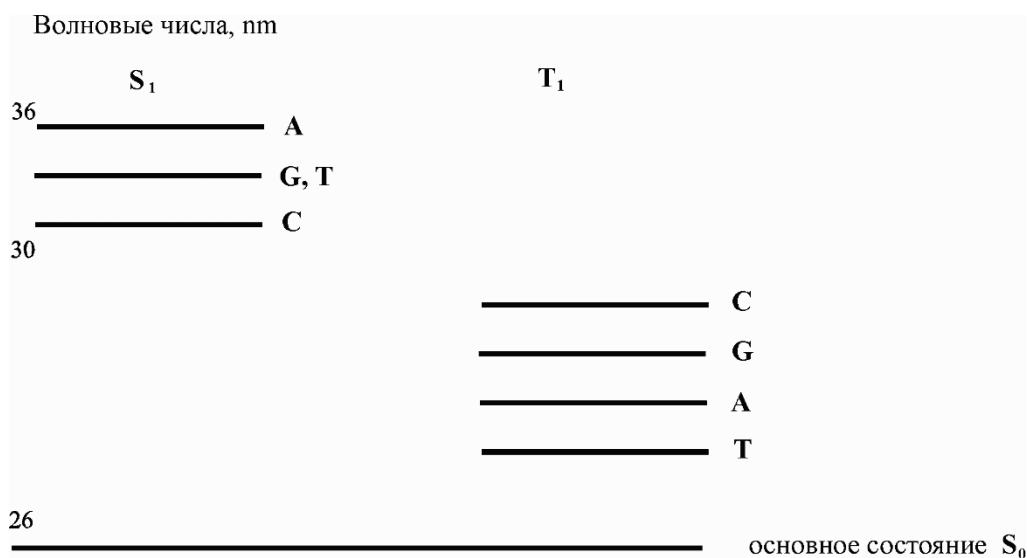
**Аннотация.** В настоящее время не ясен механизм образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза. Мной была разработана полимеразно-таутомерная модель механизма образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза и было показано, что вероятность образования мутаций зависит от процессов распространения энергии возбуждения по молекуле ДНК. В предложенной мной полимеразно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза было показано, что мутации образуются напротив только тех *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, одно или оба основания в которых находятся в редких таутомерных формах. В полимеразно-таутомерной модели механизма образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза мной было показано, что горячими пятнами ультрафиолетового мутагенеза являются те *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, на которые передается больше всего энергии возбуждения. В ряде работ мной были рассчитаны относительные вероятности образования мутаций, образовавшиеся напротив оснований ДНК, входящих в состав *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, появившихся при облучении двухцепочечной ДНК гена *supF*. В данной статье, опираясь на результаты предыдущих расчетов, интерпретируются экспериментальные данные, в которых горячими пятнами ультрафиолетового мутагенеза являются участки ДНК, состоящие из расположенных подряд трех и более пиримидиновых оснований ДНК.  
**Ключевые слова:** УФ-мутагенез, редкие таутомерные формы оснований ДНК, *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, горячие и холодные пятна ультрафиолетового мутагенеза, передача энергии возбуждения по молекуле ДНК, синглетные уровни оснований ДНК, триплетные уровни оснований ДНК.

Облучение молекулы ДНК ультрафиолетовым светом приводит к повреждениям, при этом циклобутановые пиримидиновые димеры составляют около 80% всех повреждений [1,2]. В результате синтеза ДНК [3,4] только 5–10% циклобутановых пиримидиновых димеров [5] приводят к мутациям. Чаще всего образуются мишеные мутации замены оснований, когда мутации появляются напротив циклобутановых пиримидиновых димеров и одно основание ДНК заменяется другим основанием [6]. На некоторых участках ДНК, содержащих пиримидиновые димеры мутации, образуются очень часто [7,8]. Такие участки ДНК называются горячими пятнами ультрафиолетового мутагенеза. На других участках ДНК мутации образуются очень редко или никогда, это – холодные пятна ультрафиолетового мутагенеза [7,8].

Общепринятая полимеразная модель мутагенеза [9] опирается на предположение о том, что причиной мутаций являются случайные ошибки ДНК-полимераз, которые встраивают напротив матричных оснований ДНК такие основания, которые не могут образовывать с матричными основаниями водородные связи. Однако, как показывают многочисленные экспериментальные данные [10,11], напротив матричных оснований даже специализированные ДНК-полимеразы встраивают такие основания, которые способны образовывать с матричными основаниями водородные связи. Кроме того, полимеразная модель [9] и другие модели [12-14] претендуют только на объяснение механизма образования мишеных мутаций замены оснований [15]. Мной были предложены полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза [15-38], опирающиеся на гипотезу Уотсона и Крика [39] о том, что в основе мутагенеза лежит способность оснований ДНК находиться в различных таутомерных формах. Мной был разработан механизм образования редких таутомеров оснований ДНК при облучении двухцепочечной молекулы ДНК ультрафиолетовым светом [16,27]. Для его обоснования были использованы результаты выполненных нами с К. Б. Толпыго нескольких циклов работ, посвященных исследованию свойств возбужденных водородных связей в двухцепочечной молекуле ДНК [31].

Мной были предложены полимеразно-таутомерные модели механизмов образования мишеных мутаций замены оснований [15,26-29,32,33], мишеных инсерций [21,24,28], мишеных делеций [19,22,28] и мишеных комплексных инсерций [23,25,28]. Мной были разработаны механизмы образования немишеных (появляющихся на, так называемых, не поврежденных участках ДНК) мутаций замены оснований, появляющихся сразу после облучения [17,26], и задерживающихся немишеных мутаций [32]. Мной разработаны механизмы образования мишеных [29] и немишеных [32] задерживающихся мутаций замены оснований. Я показала, что 100% мутаций вызываются мутагенами [34] и разработала полимеразно-таутомерную модель риска образования злокачественных опухолей [34,36,37].

В ряде экспериментальных работ пары оснований ДНК, одно из которых находится в редкой таутомерной форме, были найдены в активных центрах ДНК-полимераз [10,11]. Эти данные являются прямым экспериментальным подтверждением идеи Уотсона и Крика [39] и полимеразно-таутомерных моделей [15-38].

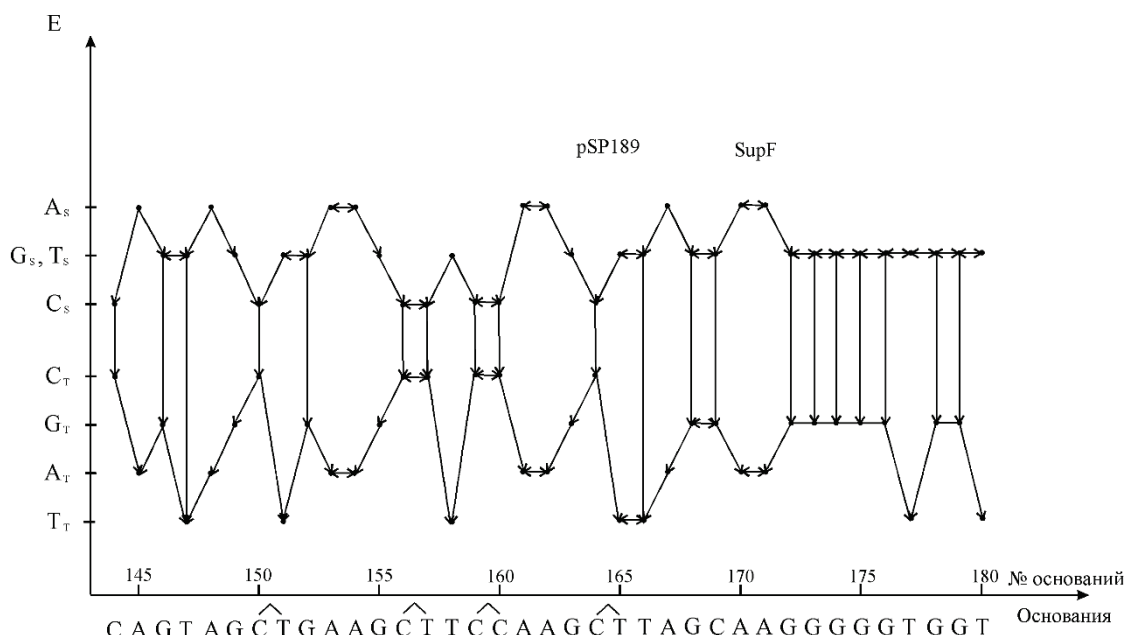


**Рисунок 1.** Диаграмма энергетических уровней различных оснований ДНК [45].  $S_1$  – нижний синглетный уровень,  $T_1$  – нижний триплетный уровень

**Основы полимеразно-таутомерной модели механизма образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза.** В ряде работ мной была разработана полимеразно-таутомерная модель образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза [18,35,38]. В экспериментах [7,8] были найдены мишеные мутации замены оснований. Они образовались напротив циклобутановых пиримидиновых димеров. Оказалось, что напротив одних циклобутановых пиримидиновых димеров мутации появляются очень часто, а напротив других мутации появляются очень редко. В рамках полимеразной парадигмы понять это трудно. Ведь она опирается на гипотезу, что единственной причиной мутаций являются случайные ошибки ферментов, встраивающих основания, то есть ДНК-полимераз [9]. Следовательно, во-первых, надо понять почему одни циклобутановые пиримидиновые димеры вызывают мутации, а другие, казалось бы, точно такие же не вызывают мутаций. Как я показала, к мутациям приводят только те циклобутановые пиримидиновые димеры, одно или оба основания в которых находятся в редких таутомерных формах [15-38]. Причем, основания в одних редких таутомерных формах могут приводить только к мутациям замены оснований [15,26-29,32,33], основания в других редких таутомерных формах могут приводить только к делециям или инсерциям [19,21,22,24], а основания в остальных редких таутомерных формах могут приводить только к задерживающимся мутациям [29,32]. Следовательно, согласно полимеразно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза холодные пятна ультрафиолетового мутагенеза это циклобутановые пиримидиновые димеры, основания которых находятся в канонических таутомерных формах, и, следовательно, напротив них мутации образовываться не могут. А горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза это циклобутановые пиримидиновые димеры, основания которых находятся в редких таутомерных формах и напротив них мутации могут образоваться. Но, конечно, не все циклобутановые пиримидиновые димеры, основания которых находятся в редких таутомерных формах являются горячими пятнами ультрафиолетового мутагенеза. Как показывают эксперименты [7], напротив одних *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров появляется одна или две мутации, а напротив других точно таких же, может образоваться и 19 мишеных мутаций замены оснований [7]. Следовательно, цель полимеразно-таутомерной модели образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза это – объяснить эти различия в вероятностях образования мутаций на различных участках ДНК.

Источником повреждений молекулы ДНК при облучении ее ультрафиолетовым светом являются ультрафиолетовые кванты энергии, которые поглощает молекула ДНК. К образованию циклобутановых пиримидиновых димеров и редких таутомерных форм оснований ДНК приводит тепловая релаксация возбуждения с триплетного уровня энергии [16]. Она вызывает сильные вынужденные колебания и изменения длин водородных связей. Как показывают экспериментальные данные, по молекуле ДНК может распространяться энергия возбуждения [44], в молекулах ДНК возможна триплет-триплетная миграция энергии [40], на участках с неоднородным нуклеотидным составом возможна миграция энергии на 10–15 нуклеотидных пар [41,42].

Следовательно, чем больше энергии возбуждения будет передаваться на данное основание ДНК, тем больше вероятность того, что на данном основании ДНК произойдет мутация [18,35,38]. Для расчета относительной вероятности образования мутаций на данном основании ДНК следует использовать соотношение между энергиями синглетного и триплетного уровней энергии различных оснований ДНК (рис. 1), которые были найдены в работе [45]. Кроме того, следует учитывать, что молекулы цитозина гораздо чаще изменяют свое таутомерное состояние, чем молекулы тимина [46]. Опираясь на эти данные, мной были построены диаграммы, описывающая распространение энергии возбуждения по кодирующей (рис. 2) [18] и запаздывающей (рис. 3, 4)



**Рисунок 2.** Часть участка кодирующей нити ДНК *supF* гена [7]. По оси абсцисс отложены основания и их номера, а по оси ординат – их триплетные и синглетные уровни энергии. Крышечками обозначены *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры [18]

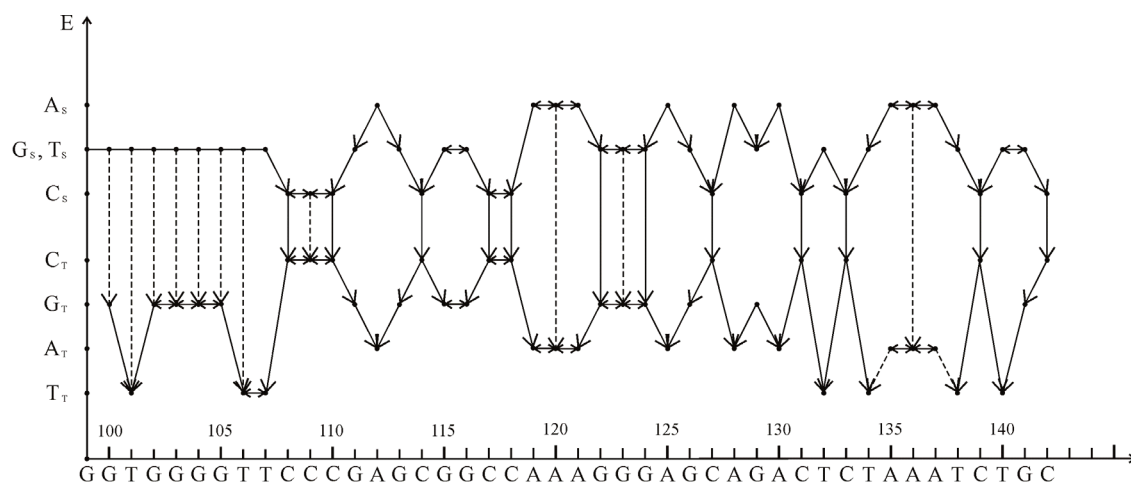
нити ДНК гена *supF* [35,38]. На основе этих диаграмм были рассчитаны относительные вероятности образования мутаций на различных основаниях ДНК [18,35,38]. Сравнение результатов этих расчетов с экспериментальными данными [7,8] показало хорошее соответствие [18,35,38].

**Образование больших горячих пятен ультрафиолетового мутагенеза в кодирующей нити молекулы ДНК *supF* гена.** В работе [7] в результате облучения двухцепочечной молекулы ДНК гена *supF* образовалось 122 мутанта. Для того, чтобы максимум мутаций сохранилось, эксцизионная репарация была подавлена. В работе [7] горячими пятнами называются участки ДНК, содержащие как минимум, 5% всех мутаций. В работе [7] на кодирующей нити ДНК *supF* к горячим пятнам авторы отнесли мутации на участках ДНК  $C_{122}C_{123}C_{124}$  и сайте  $C_{156}$ . На участке  $C_{122}C_{123}C_{124}$  образовалось 25 мутаций, а на сайте  $C_{156}$  появилось 14 мутаций. Интересно, что на сайте  $C_{150}$  не образовалось ни одной мутации. К горячему пятну ультрафиолетового мутагенеза можно отнести также сайт  $C_{164}$ , на котором тоже образовалось 8 мутаций [7].

С точки зрения полимеразно-таутомерной модели и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза, большее количество мутаций будут образовываться напротив тех *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, на которые передается большая энергия возбуждения [18,35,38]. Причем, как правило, эти *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры должны содержать хотя бы одну молекулу цитозина. Как показано в полимеразно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза, только те *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры могут вызывать мутации, в которых одно или оба основания находятся в редких таутомерных формах [15]. Как известно [46], молекулы цитозина на порядок чаще изменяют свои таутомерные состояния, чем молекулы тимина. Посмотрим, соответствуют ли эти выводы экспериментальным фактам.

Как показано в [38], на *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер  $C_{156}T_{157}$  передается  $4,0 E_T^{Tr}$  энергии возбуждения ( $E_T^{Tr}$  – энергия триплетного уровня тимина). На *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер  $C_{159}C_{160}$  передается  $4 E_C^{Tr}$  энергии возбуждения ( $E_C^{Tr}$  – энергия триплетного уровня цитозина). На *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер  $C_{164}T_{165}$  передается  $3,625 E_T^{Tr}$  энергии возбуждения. Для того, чтобы понять, много это энергии возбуждения или мало, сравним эти энергии с той энергией возбуждения, которая может передаваться на холодное пятно ультрафиолетового мутагенеза, а именно, на основания  $C_{150}T_{151}$ , которые могут образовывать *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер  $C_{150}T_{151}$ . Как показано в [38], на *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер  $C_{150}T_{151}$  передается  $2,75 E_T^{Tr}$  энергии возбуждения. Видно, что на *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер  $C_{150}T_{151}$ , который не приводит к мутациям, передается гораздо меньше энергии возбуждения, чем на те *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, которые вызвали много мутаций.

Давайте проанализируем образование мутаций на горячем пятне на участке ДНК  $C_{122}C_{123}C_{124}$ , полученном в работе [7]. Как показано в эксперименте [7], напротив цитозина  $C_{122}$  образовалось 6 мутаций замены оснований, напротив цитозина  $C_{123}$  образовалось 7 мутаций замены оснований и напротив цитозина  $C_{124}$  образовалось 12 мутаций замены оснований. В результате облучения этой молекулы ДНК ультрафиолетовым светом на этом участке ДНК могло образоваться несколько *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, причем возможны разные варианты. Цитозин  $C_{122}$  может входить в *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры  $T_{121}C_{122}$  и  $C_{122}C_{123}$ . Цитозин  $C_{123}$  может входить в *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры  $C_{122}C_{123}$  и  $C_{123}C_{124}$ . Цитозин  $C_{124}$  может входить в *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры  $C_{123}C_{124}$  и  $C_{124}T_{125}$ .



**Рисунок 3.** Участок запаздывающей нити ДНК *supF* гена, на котором в [7] были получены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза. По оси абсцисс отложены основания и их номера, а по оси ординат – их триплетные и синглетные уровни энергии. В скобках указано количество мутаций, образовавшихся напротив данного основания ДНК [35]

Таким образом, хотя на каждую пару оснований может передаваться не очень много энергии возбуждения, но за счет того, что в каждом случае мутации могут образовываться при образовании двух *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, то вероятность образования мутаций повышается. Мы видим, что этим горячим пятном следует назвать участок ДНК T<sub>121</sub>C<sub>122</sub>C<sub>123</sub>C<sub>124</sub>T<sub>125</sub>, так как он должен включать в себя все *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, которые участвуют в образовании этого горячего пятна.

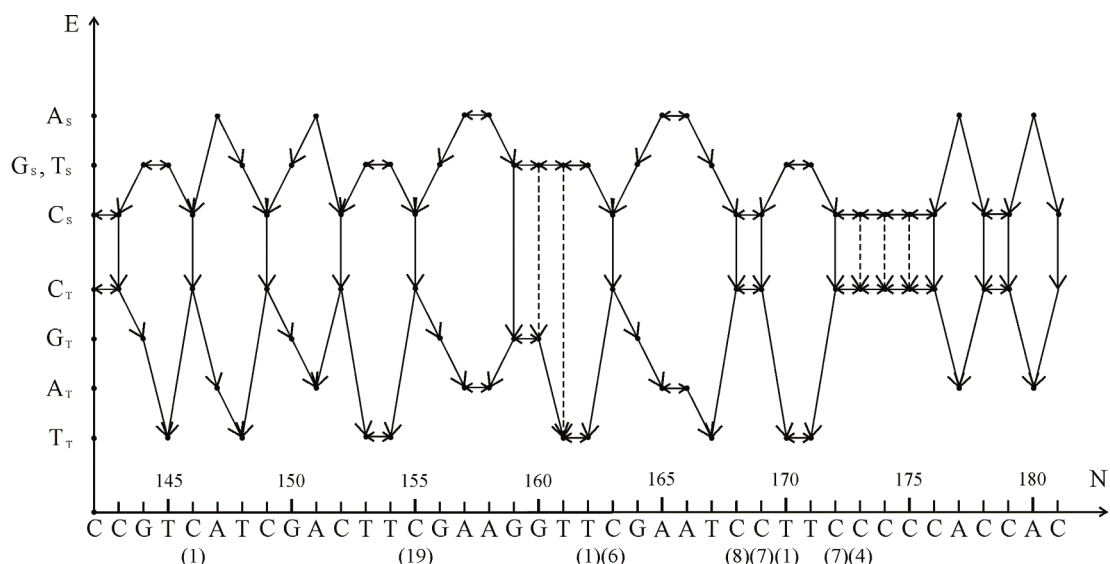
**Образование больших горячих пятен ультрафиолетового мутагенеза в запаздывающей нити молекулы ДНК *supF* гена.** В работе [7] на запаздывающей нити ДНК *supF* к горячим пятнам авторы отнесли мутации на сайте C<sub>155</sub>, так как напротив цитозина C<sub>155</sub> образовалось 16% всех мутаций. Дополнительно к горячим пятнам можно причислить сайт C<sub>108</sub>, напротив которого образовалось 9 мутаций, а также участки T<sub>161</sub>T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> и T<sub>167</sub>C<sub>168</sub>C<sub>169</sub>T<sub>170</sub>T<sub>171</sub>C<sub>172</sub>C<sub>173</sub>, так как напротив T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> образовалось 7 мутаций, а напротив участка C<sub>168</sub>C<sub>169</sub>T<sub>170</sub>T<sub>171</sub>C<sub>172</sub>C<sub>173</sub> образовалось 22 мутации. Посмотрим, почему именно на этих участках ДНК образовалось больше мутаций чем на других участках.

В работах [18,35,38] мной были рассчитаны энергии возбуждения, которые могут передаваться на пары оснований, которые могут образовывать *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры. В работе [35] мной была высказана гипотеза, что, используя значения этих энергий, можно оценить относительные вероятности образования мутаций, появляющихся при образовании *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров.

Посмотрим, почему на участке ДНК T<sub>107</sub>C<sub>108</sub>C<sub>109</sub>C<sub>110</sub> образовалось 11 мутаций, 9 мутаций появилось напротив цитозина C<sub>108</sub> и одна тандемная мутация появилось на против C<sub>109</sub>C<sub>110</sub>. При облучении этого участка ДНК могли образоваться *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры T<sub>107</sub>C<sub>108</sub>, C<sub>108</sub>C<sub>109</sub> и C<sub>109</sub>C<sub>110</sub>. Как показано в [35], на *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер T<sub>107</sub>C<sub>108</sub> передается 4,5 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения (E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> – энергия триплетного уровня тимина). На *цис-син* циклобутановый цитозиновый димер C<sub>108</sub>C<sub>109</sub> передается 4,5 E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения (E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> – энергия триплетного уровня цитозина), а на *цис-син* циклобутановый цитозиновый димер C<sub>109</sub>C<sub>110</sub> передается 4,5 E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения. Другими словами, на это участок ДНК передается много энергии возбуждения.

Посмотрим, почему на участке ДНК T<sub>161</sub>T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> напротив T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> образовалось 7 мутаций. При облучении этого участка ДНК могли образоваться *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры T<sub>161</sub>T<sub>162</sub> и T<sub>162</sub>C<sub>163</sub>. Как показывает эксперимент [7], напротив тимина T<sub>162</sub> образовалась одна мутация, а напротив цитозина C<sub>163</sub> образовалось 6 мутаций. Поскольку напротив тиминных димеров мутации появляются редко, а обычно мутации образуются напротив молекул цитозина, то участок ДНК T<sub>161</sub>T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> безусловно надо отнести к горячему пятну ультрафиолетового мутагенеза. Как показано в [38], на T<sub>161</sub>T<sub>162</sub> и на T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> передается по 4,0 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения. То есть передается достаточно много энергии возбуждения. Чтобы образовались *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры и мутации могут образовываться с высокой вероятностью.

Посмотрим, почему на участке ДНК T<sub>167</sub>C<sub>168</sub>C<sub>169</sub>T<sub>170</sub>T<sub>171</sub>C<sub>172</sub>C<sub>173</sub> образовалось 22 мутации. Как показывает эксперимент [7], напротив цитозина C<sub>168</sub> образовалось 8 мутаций, напротив цитозина C<sub>169</sub> образовалось 7 мутаций и напротив тимина T<sub>170</sub> образовалась 1 мутация, напротив цитозина C<sub>172</sub> образовалось 2 мутации и напротив цитозина C<sub>173</sub> образовалось 4 мутации. Как показано в [38], на T<sub>167</sub>C<sub>168</sub> передается 4,5 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения, на C<sub>168</sub>C<sub>169</sub> передается 5 E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения, на C<sub>169</sub>T<sub>170</sub> передается 4,125 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения, на T<sub>170</sub>T<sub>171</sub> передается 5,75 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения, на T<sub>171</sub>C<sub>172</sub> передается 5,75 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения, на C<sub>172</sub>C<sub>173</sub> передается 3,25 E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения. Для сравнения на T<sub>148</sub>C<sub>149</sub>, C<sub>152</sub>T<sub>153</sub>, T<sub>153</sub>T<sub>154</sub>, передается по 3,25 E<sub>T<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения; на C<sub>174</sub>C<sub>175</sub> и C<sub>175</sub>C<sub>176</sub> передается по 3,25 E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения, а на C<sub>178</sub>C<sub>179</sub> передается по 3,25 E<sub>C<sup>Tr</sup></sub> энергии возбуждения. Как получено в экспериментах [7], напротив этих оснований не



**Рисунок 4.** Часть участка запаздывающей нити ДНК *supF* гена, на котором в [7] были получены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза. По оси абсцисс отложены основания и их номера, а по оси ординат – их триплетные и синглетные уровни энергии. В скобках указано количество мутаций, образовавшихся напротив данного основания ДНК [38]

появились ни одной мутации, кроме того. Рядом с ними находятся молекулы пуринов. Участок ДНК T<sub>167</sub>C<sub>168</sub>C<sub>169</sub>T<sub>170</sub>T<sub>171</sub>C<sub>172</sub>C<sub>173</sub> является горячим пятном ультрафиолетового мутагенеза по нескольким причинам, во-первых, на основания, входящие в этот участок ДНК, передается много энергии, а во-вторых, он состоит из одних пиримидинов, так что вероятность образования мутаций напротив каждого из оснований увеличивается.

**Выводы.** В экспериментах [7] были найдены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза (участки ДНК, на которых образовалось много мутаций) полученные при облучении молекулы ДНК *supF* гена, кодирующего супрессорную транспортную РНК. При облучении молекулы ДНК ультрафиолетовым светом чаще всего образуются циклобутановые пиримидиновые димеры. В [7] были найдены, так называемые, мишеные мутации замены оснований, образующиеся напротив *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров. В экспериментах [7] было найдено 122 мутанта молекулы ДНК *supF* гена. Так много мутантов было найдено потому, что в этих экспериментах была подавлена эксцизионная репарация, отвечающая за удаление циклобутановых димеров. В работе [7] горячими пятнами называются участки ДНК, содержащие как минимум, 5% всех мутаций. На кодирующей нити молекулы ДНК *supF* гена были найдены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза: участок ДНК C<sub>122</sub>C<sub>123</sub>C<sub>124</sub> и сайты C<sub>156</sub> и C<sub>164</sub>. На запаздывающей нити молекулы ДНК *supF* гена в работе [7] были найдены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза: сайты C<sub>155</sub> и C<sub>108</sub>, а также участки ДНК T<sub>161</sub>T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> и T<sub>167</sub>C<sub>168</sub>C<sub>169</sub>T<sub>170</sub>T<sub>171</sub>C<sub>172</sub>C<sub>173</sub>.

Целью данной работы является интерпретация экспериментальных данных [7], в частности, интерпретация механизма образования больших пятен ультрафиолетового мутагенеза. В рамках общепринятой полимеразной парадигмы мутагенеза не удастся объяснить механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза. Мной предложена альтернативная, полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза и в ее рамках разработана полимеразно-таутомерная модель механизма образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза. В предыдущих работах мной было показано, что к мишенным мутациям замены оснований приводят те *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, основания которых находятся в определенных редких таутомерных формах. Полимеразно-таутомерная модель механизма образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза основана на гипотезе о том, что мутации чаще образуются при образовании тех *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, на которые передается больше всего энергии возбуждения. Используя, полученные мной в предыдущих работах, энергии возбуждения, которые предаются на основания молекулы ДНК *supF* гена, были изучены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза молекулы ДНК *supF* гена.

Сравнение энергии возбуждения, которые предаются на *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, которые приводят к большому количеству мутаций и которые не вызывают мутаций, показано, что чем больше энергия возбуждения, которая передается на данный *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер, тем больше мутаций вызывает данный димер. Показано, что горячими пятнами следует назвать участки ДНК T<sub>121</sub>C<sub>122</sub>C<sub>123</sub>C<sub>124</sub>T<sub>125</sub>, C<sub>164</sub>T<sub>165</sub>, T<sub>154</sub>C<sub>155</sub>, T<sub>107</sub>C<sub>108</sub>, T<sub>162</sub>C<sub>163</sub>, T<sub>161</sub>T<sub>162</sub>C<sub>163</sub> и T<sub>167</sub>C<sub>168</sub>C<sub>169</sub>T<sub>170</sub>T<sub>171</sub>C<sub>172</sub>C<sub>173</sub>, так как они должны включать в себя все *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, которые участвуют в образовании этих горячих пятен. Оказалось, что на больших участках ДНК, содержащих соседние пиримидиновые основания, даже если на данные пиримидиновые основания передается среднее количество энергии возбуждения, мутации образуются часто. Причиной является то, что так как одна и та же мутация может образовываться при образовании двух *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, то вероятность образования мутаций повышается.

**Список литературы / References:**

1. Banyasz A., Vayá I., Changenet-Barret P., Gustavsson T., Douki T., Markovitsi D. Base pairing enhances fluorescence and favors cyclobutane dimer formation induced upon absorption of UVA radiation by DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, vol. 133, no. 14, pp. 5163-5165.
2. Besaratinia A., Yoon J.I., Schroeder C., Bradforth S.E., Cockburn M., Pfeifer G.P. Wavelength dependence of ultraviolet radiation-induced DNA damage as determined by laser irradiation suggests that cyclobutane pyrimidine dimers are the principal DNA lesions produced by terrestrial sunlight. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 2011, vol. 25, no. 9, pp. 3079-3091.
3. Hendel A., Ziv O., Gueranger Q., Geacintov N., Livneh Z. Reduced efficiency and increased mutagenicity of translesion DNA synthesis across a TT cyclobutane pyrimidine dimer, but not a TT 6-4 photoproduct, in human cells lacking DNA polymerase  $\eta$ . *DNA Repair*, 2008, vol. 7, no. 10, pp. 1636-1646.
4. Vasquez-Del C.R., Silverstein T.D., Lone S., Johnson R.E., Prakash L., Prakash S., Aggarwal A.K. Role of human DNA polymerase  $\kappa$  in extension opposite from a *cis-syn* thymine dimer. *Journal of Molecular Biology*, 2011, vol. 408, no. 2, pp. 252-261.
5. Lawrence C.W., Banerjee S.K., Borden A., LeClerc J.E. T-T cyclobutane dimers are misinstructive, rather than non-instructive, mutagenic lesions. *Molecular and General Genetics*, 1990, vol. 222, no. 1, pp. 166-169.
6. Santiago M.J., Alejandro-Durán A., Ruiz-Rubio M. Analysis of UV-induced mutation spectra in *Escherichia coli* by DNA polymerase  $\eta$  from *Arabidopsis thaliana*. *Mutation Research*, 2006, vol. 601, no. 1-2, pp. 51-60.
7. 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. *Journal of Molecular Biology*, 1994, vol. 236, no. 2, pp. 491-502.
8. Canella K.A., Seidman M.M. Mutation spectra in supF: approaches to elucidating sequence context effects. *Mutation Research*, 2000, vol. 450, no. 1-2, pp. 61-73.
9. Taylor J.-S. New structural and mechanistic insight into the A-rule and the instructional and non-instructional behavior of DNA photoproducts and other lesions. *Mutation Research*, 2002, vol. 510, no. 1, pp. 55-70.
10. Bebenek K., Pedersen L.C., Kunkel T.A. Replication infidelity via a mismatch with Watson-Crick geometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, vol. 108, no. 5, pp. 1862-1867.
11. Wang W., Hellinga H.W., Beese L.S. Structural evidence for the rare tautomer hypothesis of spontaneous mutagenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, vol. 108, no. 43, pp. 17644-17648.
12. 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 фототаутомеризации в модельных парах оснований ДНК. *Биополимеры и клетка*, 1997, т. 13, № 4, с. 261-268 [Danilov V.I., Mikhaleva O.V., Slysarchuk O.N., Stewart J.J., Alderfer J.L. On a new mechanism of mutations induced by UV light. Theoretical study of two-proton phototautomerization in model DNA base pairs. *Biopolymers and Kletka*, vol. 13, no. 4, pp. 261-268 (In Russ.)].
13. Podolyan Y., Gorb L., Leszczynski J. *Ab initio* study of the prototropic tautomerism of cytosine and guanine and their contribution to spontaneous point mutations. *International Journal of Molecular Sciences*, 2003, vol. 4, no. 7, pp. 410-421.
14. Danilov V.I., Anisimov V.M., Kurita N., Hovorun D.M. MP2 and DFT studies of the DNA rare base pairs: the molecular mechanism of spontaneous substitution mutations conditioned by tautomerism of bases. *Chemical Physics Letters*, 2005, vol. 412, no. 4-6, pp. 285-293.
15. Grebneva H.A. Nature and possible mechanisms formation of potential mutations arising at emerging of thymine dimers after irradiation of double-stranded DNA by ultraviolet light. *Journal of Molecule Structure*, 2003, vol. 645, pp. 133-143.
16. Grebneva H.A. A model for targeted substitution mutagenesis during SOS replication of double-stranded DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2006, vol. 47, no. 9, pp. 733-745.
17. Гребнева Е.А. Три источника потенциальных немиссенных ультрафиолетовых мутаций. Сборник трудов VI Всеукраинской научно-технической конференции. Актуальные вопросы теоретической и прикладной биофизики, физики и химии. Украина, г. Севастополь, 26-30 апреля 2010, с. 15-18 [Grebneva E.A. *Three sources of potential untargeted ultraviolet mutations*. Proceedings of the VI All-Ukrainian Scientific and Technical Conference. Topical issues of theoretical and applied biophysics, physics and chemistry. Ukraine, Sevastopol, April 26-30, 2010, pp. 15-18 (In Russ.)].
18. Гребнева Е.А. Природа и механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза. Доклады НАН Украины, 2012, № 10, с. 181-187. [Grebneva E.A. Nature and mechanisms of formation of hot and cold spots of ultraviolet mutagenesis. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2012, no. 10, p. 181-187. (In Russ.)].
19. Гребнева Е.А. Механизм образования делеций при синтезе ДНК, содержащей *cis-syn* циклобутановые цитозинового димеры. Материалы VIII Международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии», Севастополь, 23-27 апреля 2012, с. 88-90 [Grebneva E.A. *The mechanism of deletion formation during the synthesis of DNA containing cis-syn cyclobutane cytosine dimers*. Proceedings of the

VIII International Scientific and Technical Conference “Actual Issues of Biological Physics and Chemistry”, Sevastopol, April 23-27, 2012, pp. 88-90 (In Russ.).

20. Гребнева Е.А. Механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетовых мишенных мутаций замены оснований. Материалы IX Международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии», Севастополь, 23-27 апреля 2013, с. 18-20 [Grebneva E.A. *Mechanisms of formation of hot and cold spots of ultraviolet targeted base substitution mutations*. Proceedings of the IX International Scientific and Technical Conference "Actual Issues of Biological Physics and Chemistry", Sevastopol, April 23-27, 2013, pp. 18-20 (In Russ.)].

21. Гребнева Е.А. Механизмы мишенных мутаций сдвига рамки считывания – появление инсерций при склонном к ошибкам или SOS синтезе молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминового димеры. *Молекулярная биология*, 2014, т. 48, № 4, с. 531-542 [Grebneva H.A. Mechanisms of targeted frameshift mutations – insertion formation under error-prone or SOS synthesis of DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Molecular Biology (Moscow)*, 2014, vol. 48, no. 4, pp. 457-467 (In Russ.)].

22. Grebneva H.A. A polymerase – tautomeric model for targeted frameshift mutations: deletions formation during error-prone or SOS replication of double-stranded DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Journal of Photonic Materials and Technology*, 2015, vol. 1, no. 2, pp. 19-26.

23. Гребнева Е.А. Механизмы образования мишенных сложных инсерций при синтезе молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминового димеры. *Доклады НАН Украины*, 2015, № 5, с. 145-154 [Grebneva E.A. Mechanisms for the formation of targeted complex insertions during the synthesis of a DNA molecule containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2015, no. 5, pp. 145-154 (In Russ.)].

24. Гребнева Е.А. Механизмы образования мишенных инсерций при склонном к ошибкам или SOS-синтезе ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминового димеры. Материалы X Международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии». Севастополь 17-21 августа 2015, с. 70-74 [Grebneva E.A. *Mechanisms of formation of targeted insertions during error-prone or SOS synthesis of DNA containing cis-syn cyclobutane thymine dimers*. Proceedings of the X International Scientific and Technical Conference “Actual Issues of Biological Physics and Chemistry. Sevastopol August 17-21, 2015, pp. 70-74 (In Russ.)].

25. Гребнева Е.А. Полимеразно-таутомерная модель механизма образования мишенных сложных инсерций при синтезе ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминового димеры. Материалы XI Международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии» в 2 томах, Севастопольский государственный университет, т. 1, 298 с., Украина, Севастополь 25-29 апреля 2016, с. 156-160 [Grebneva E.A. *Polymerase-tautomeric model of the mechanism of formation of targeted complex insertions during the synthesis of DNA containing cis-syn cyclobutane thymine dimers*. Proceedings of the XI International Scientific and Technical Conference "Actual Issues of Biological Physics and Chemistry" in 2 volumes, Sevastopol State University, vol. 1, 298 p., Ukraine, Sevastopol April 25-29, 2016, pp. 156-160 (In Russ.)].

26. Grebneva H.A. A polymerase-tautomeric model for radiation-induced bystander effects: a model for untargeted substitution mutagenesis during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA containing thymine and adenine in rare tautomeric forms. *International Journal of Molecular Biology: Open Access*, 2017, vol. 2, no. 2, pp. 1-14.

27. Grebneva H.A. A Polymerase-tautomeric model for targeted substitution mutations formation during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA, containing *cis-syn* cyclobutane cytosine dimers. *International Journal of Molecular Biology: Open Access*, 2016, vol. I, no. 1, pp. 1-16.

28. Grebneva H.A. *Polymerase-tautomeric model for ultraviolet mutagenesis: targeted base substitution and frameshift mutations caused by cis-syn cyclobutane thymine dimers*. Germany, LAP LAMBERT Academic Publishing, 2017, 132 p.

29. Grebneva H.A. A polymerase-tautomeric model for radiation-induced genomic instability: targeted delayed substitution mutations during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA, containing *cis-syn* cyclobutane cytosine dimers. *International Journal of Molecular Biology: Open Access*, 2018, vol. 3, pp. 125-141.

30. Grebneva H.A. Paradigm change in mutagenesis: polymerase-tautomeric models for targeted, delayed and untargeted ultraviolet mutagenesis during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA, containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *International Journal of Molecular Biology: Open Access*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 1-15.

31. Гребнева Е.А. Теория тепловой релаксации энергии возбуждения водородных связей в ДНК. Ее вклад в ультрафиолетовый мутагенез. Saarbrucken, Germany. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019, 345 с. [Grebneva E.A. *Theory of thermal relaxation of the excitation energy of hydrogen bonds in DNA. Its contribution to ultraviolet mutagenesis*. Saarbrucken, Germany. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019, 345 p. (In Russ.)].

32. Grebneva H.A. Polymerase-tautomeric model for untargeted delayed base substitution mutations formation during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA containing thymine and adenine in some rare tautomeric forms. *Journal of Oncology Research*, 2019, vol. 1, no. 2, pp. 24-37.

33. Grebneva H.A. Polymerase-tautomeric models for *A-rule* during error-prone and SOS synthesis of DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers or thymines and adenines in some rare tautomeric forms. *Trends in Cell & Molecular Biology*, 2019, vol. 14, pp. 51-68.

34. Grebneva H.A. 2020. Polymerase-tautomeric cancer risk model: the formation of 100% mutations is due to exposure to mutagens. *Trends in Cell & Molecular Biology*, 2020, vol. 15, pp. 13-28.

35. Гребнева Е.А. Метод предсказания относительных вероятностей образования *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров и редких таутомерных форм оснований ДНК на любых сайтах двунитевой ДНК. *Физика*

и техника высоких давлений, 2021, т. 31, № 3, с. 88-103 [Grebneva H.A. Method for calculating the relative probabilities of the formation of *cis-syn* cyclobutane pyrimidine dimers and rare tautomeric forms of DNA bases at any sites of double-stranded DNA. *Fizika and Tekhnika Visokih Davleniy*, 2021, vol. 31, no. 3, pp. 88-103 (In Russ.)].

36. Гребнева Е.А. Процент мутаций, образующихся под воздействием мутагенов. *Физика и техника высоких давлений*, 2022, т. 32, № 1, с. 101-113. [Grebneva E.A. The percentage of mutations that are formed under the influence of mutagens. *Fizika and Tekhnika Visokih Davleniy*, 2022, vol. 32, no. 1, pp. 101-113 (In Russ.)].

37. Гребнева Е.А. Полимеразно-таутомерная модель риска образования злокачественных опухолей. *Физика и техника высоких давлений*, 2022, т. 32, № 4, с. 99-104 [Grebneva E.A. Polymerase-tautomeric model of the risk of malignant tumor formation. *Fizika and Tekhnika Visokih Davleniy*, 2022, vol. 32, no. 4, pp. 99-104 (In Russ.)].

38. Гребнева Е.А. Модель образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза на участке двухцепочечной ДНК *supF* гена. *Физика и техника высоких давлений*, 2023, т. 33, № 2, с. 101-111. [Grebneva E.A. A model for the formation of hot and cold spots of ultraviolet mutagenesis in the double-stranded DNA region of the *supF* gene. *Fizika and Tekhnika Visokih Davleniy*, 2023, vol. 33, no. 2, pp. 101-111 (In Russ.)].

39. Watson J.D., Crick F.H.C. The structure of DNA. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1953, vol. 18, pp. 123-131.

40. Hauswirth W., Daniels M. Excited states of the nucleic acids: polymeric forms. *Photochemistry and Photobiology of Nucleic Acids*, 1976, vol. 1, pp. 109-167.

41. Galley W.C. On the triplet states of polynucleotide-acridine complexes. I. triplet energy delocalization in the 9-aminiaacridine-DNA complex. *Biopolymers*, 1968, vol. 6, pp. 1279-1296.

42. Rahn R., Shulman R., Longworth J. Phosphorescence and electron-spin resonance studies of the UV-excited triplet state of DNA. *The Journal of Chemical Physics*, 1966, vol. 45, pp. 2955-2965.

43. Векшин Н.Л. *Фотоника биологических структур*. Пушchino: Институт биологической физики АН СССР, 1988, 51 с. [Vekshin N.L. *Photonics of biological structures*. Pushchino: Institute of Biological Physics of the Academy of Sciences of the USSR, 1988, 51 p. (In Russ.)].

44. Векшин Н.Л. *Перенос возбуждения в макромолекулах*. Итоги науки и техники. Серия Радиационная химия. Фотохимия, т. 7. М.: ВИНТИ, 1989, 164 с. [Vekshin N.L. *Transfer of excitation in macromolecules*. Results of science and technology. Series Radiation Chemistry. Photochemistry, vol. 7. M.: VINITI, 1989, 164 p. (In Russ.)].

45. Lamola A.A., Gamane T. Sensitized photodimerization of thymine in DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1967, vol. 58, no. 2, pp. 443-446.

46. Novak M.J., Lapinski L., Kwiatkowski J.S., Leszczynski J. Molecular structure and infrared spectra of the DNA bases and their derivatives: theory and experiment. *Computational chemistry: reviews of current trends*. J. Leszczynski Ed., Wold Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, River Edge, NJ, 1997, vol. 2, pp. 140-182.

47. Friedberg E.C., Walker G.C., Siede W. *DNA repair and mutagenesis*. Washington: ASM Press, DC 1995.

48. Friedberg E.C., Walker G.C., Siede W., Wood R.D., Schultz R.A., Ellenberger T. *DNA repair and mutagenesis*. part 3. ASM Press, 2006.

49. Lockshin R.A., Zakeri Z. (eds.). *When cells die II: A comprehensive evaluation of apoptosis and programmed cell death*. John Wiley & Sons, 2004, 572 p.

## INTERPRETATION OF HOT SPOTS OF ULTRAVIOLET MUTAGENESIS FORMED ON A LAGGING STRAND OF DOUBLE-STRANDED DNA OF THE *supF* GENE

Grebneva H.A.

Donetsk Institute of Physics and Technology named after A.A. Galkina  
R. Luxembourg st., 72, Donetsk, 83114, Russia, e-mail: grebneva@gmail.com

Received 13.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbp.2023.0598

**Abstract.** At present, the mechanism of formation of hot and cold spots of ultraviolet mutagenesis is not clear. I developed a polymerase-tautomeric model of the mechanism of formation of hot and cold spots of ultraviolet mutagenesis and showed that the probability of mutation formation depends on the processes of propagation of excitation energy along the DNA molecule. In my proposed polymerase-tautomeric model of ultraviolet mutagenesis, it was shown that mutations are formed opposite only those *cis-syn* cyclobutane pyrimidine dimers, one or both of which are in rare tautomeric forms. In the polymerase-tautomeric model of the mechanism of formation of hot and cold spots of ultraviolet mutagenesis, I have shown that the hot spots of ultraviolet mutagenesis are those *cis-syn* cyclobutane pyrimidine dimers to which the most excitation energy is transferred. In a number of works, I calculated the relative probabilities of mutations formed opposite the DNA bases that are part of the *cis-syn* cyclobutane pyrimidine dimers that appeared upon irradiation of double-stranded DNA of the *supF* gene. In this article, based on the results of previous calculations, I interpret experimental data in which hot spots of ultraviolet mutagenesis are DNA regions consisting of three or more pyrimidine DNA bases arranged in a row.

**Key words:** UV mutagenesis, rare tautomeric forms of DNA bases, *cis-syn* cyclobutane pyrimidine dimers, hot and cold spots of ultraviolet mutagenesis, excitation energy transfer along the DNA molecule, singlet levels of DNA bases, triplet levels of DNA bases.