

7. Васильева-Вашакмадзе Н.С. О внутренней взаимосвязи между аллостерическим, мезомерным и индуктивным эффектами. *Матер. док. V съезда Биофизиков России*, Ростов-на-Дону, 2015, т. 1, с. 72. [Vasilieva-Vashakmadze N.S. The intrinsic relationship between allosteric, mesomeric and inductive effects. *Rep. Mater. V Congress of Russian Biophysicists*. Rostov-na-Dony, 2015, vol. 1, p.72. (In Russ.)]

8. Vasilieva-Vashakmadze N.S., Toidze P.L., Khachatryan I., Gakhokidze R.A., Archvadze K. To computer model for some biological hypothesis. *Report for Enlarged Session of the Seminar Mathem.*, Tbilisi, 2013, p. 23.

9. Мак-Вини Р., Сатклиф Б. *Квантовая механика молекул*. М: Мир, 1990, 381 с. [McWeeny R., Satcliffe B. *Molecular quantum mechanics*. М: Mir, 1990, 381p. (In Russ.)]

### ПОЛИМЕРАЗНО-ТАУТОМЕРНАЯ МОДЕЛЬ МЕХАНИЗМА ОБРАЗОВАНИЯ МИШЕННЫХ СЛОЖНЫХ ИНСЕРЦИЙ ПРИ СИНТЕЗЕ ДНК, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦИС-СИН ЦИКЛОБУТАНОВЫЕ ТИМИНОВЫЕ ДИМЕРЫ

Гребнева Е.А.

Донецкий физико-технический институт  
ул. Р. Люксембург, 72, г. Донецк, 83114, Украина  
e-mail: grebneva@gmail.com

**Аннотация.** В настоящее время не вполне ясен механизм образования сложных мутаций сдвига рамки считывания, вызванных циклобутановыми пиримидиновыми димерами. Сложные мутации сдвига рамки считывания это мутации сдвига рамки, рядом с которыми находятся мутации замены оснований. Автор предложила и развивает полимеразно-таутомерную модель ультрафиолетового мутагенеза. Предлагается модель механизма образования мишеных сложных инсерций, вызванных *цис-син* циклобутановыми тиминными димерами. Рассмотрен склонный к ошибкам или SOS-синтез двунитевой ДНК, содержащей в одной из своих нитей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры  $TT_1^*$ ,  $TT_2^*$  и  $TT_5^*$ . *Цис-син* циклобутановые тиминные димеры  $TT_1^*$ ,  $TT_2^*$  и  $TT_5^*$  содержат основания ДНК в редких таутомерных формах. *Цис-син* циклобутановый тиминный димер  $TT_2^*$  приводит к появлению мутации сдвига рамки считывания, то есть к вставке одного или нескольких нуклеотидов. А *цис-син* циклобутановые тиминные димеры  $TT_1^*$  и  $TT_5^*$  приводят к появлению мутаций замены оснований. Таким образом, вследствие образования инсерции участок ДНК удлиняется, а вследствие образования нескольких мутаций замены оснований изменяется его нуклеотидный состав. В результате участок ДНК определенной длины и определенного нуклеотидного состава заменяется участком другой длины и другого нуклеотидного состава. Появляется мишенная сложная мутация.

**Ключевые слова:** ультрафиолетовый мутагенез; полимеразно-таутомерная модель; мишенные сложные мутации; мишенные сложные инсерции; склонная к ошибкам репликация; SOS-репликация; редкие таутомерные формы оснований ДНК; *цис-син* циклобутановые тиминные димеры.

### POLYMERASE-TAUTOMERIC MODEL FOR MECHANISM OF TARGETED COMPLEX INSERTIONS FORMATION UNDER SYNTHESIS OF DNA CONTAINING CIS-SYN CYCLOBUTANE THYMINE DIMERS

Grebneva H.A.

Donetsk Physical and Technical Institute  
R. Luxemburg St., 72, Donetsk, 83114, Ukraine  
e-mail: grebneva@gmail.com

**Abstract.** Now the mechanism of complex mutations formation that is called cyclobutane pyrimidine dimers has not been yet explained. Complex frameshifts are frameshifts with an adjacent base substitution. The author has proposed and developed polymerase-tautomeric model of ultraviolet mutagenesis. The mechanism of targeted complex insertions formation that is called *cis-syn* cyclobutane thymine dimers is proposed. It is considered error-prone or SOS-synthesis of double-stranded DNA containing in one of its strands *cis-syn* cyclobutane thymine dimers  $TT_1^*$ ,  $TT_2$  and  $TT_5^*$ . *Cis-syn* cyclobutane thymine dimers  $TT_1^*$ ,  $TT_2$  and  $TT_5^*$  have DNA bases in rare tautomeric forms. *Cis-syn* cyclobutane thymine dimers  $TT_2^*$  leads to a frameshift mutations, that is to insert one or more nucleotides. *Cis-syn* cyclobutane thymine dimers  $TT_1^*$  and  $TT_5^*$  cause substitution mutations formation. Thus, due to the formation of DNA insertion portion is extended and due to the formation of several base substitution mutations changing its nucleotide composition. As a result of the DNA portion of a certain length and nucleotide composition of a certain portion is replaced by a different length and a different nucleotide composition. Targeted complex mutation is appeared.

**Key words:** ultraviolet mutagenesis; polymerase-tautomeric model; targeted complex mutations; targeted complex insertions; error-prone replication; SOS replication; rare tautomeric forms of DNA bases; *cis-syn* thymine cyclobutane dimers.

Облучение молекулы ДНК ультрафиолетовым светом приводит к появлению фотопродуктов, чаще всего образуются *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, в которых ориентация оснований относительно сахаро-фосфатного остова не изменяется. Они вызывают мутации замены оснований [1], сдвига рамки чтения [1, 2] и сложные мутации [3]. Когда мутации образуются напротив циклобутановых пиримидиновых димеров, такой мутагенез называется мишенным [4, 5]. Сложными мутациями называются такие мутации, когда участок ДНК

определенной длины и определенного нуклеотидного состава заменяется участком другой длины и другого состава [3]. Сложные мутации сдвига рамки считывания это мутации сдвига рамки, рядом с которыми находятся мутации замены оснований [3]. Новый участок может быть большей длины, чем первоначальный, тогда образовалась сложная инсерция. Если появился участок меньшей длины, то это – сложная делеция.

Мной была предложена и разрабатывается полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза [6-16]. Было показано, что при образовании *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров может изменяться таутомерное состояние входящих в них оснований [6, 7]. Возможно образование пяти новых редких таутомерных состояний тимина и аденина [7] и семи - гуанина и цитозина [6]. Показано, что они устойчивы, когда основания в редких таутомерных формах входят в состав *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров [7, 9]. Это происходит потому, что нить ДНК, содержащая циклобутановые димеры, искривляется, и водородные связи между основаниями рвутся [17]. Кроме того, редкие таутомерные состояния будут стабильными во время синтеза ДНК, когда нить ДНК некоторое время находится в однострессовой форме, и некоторое время контактирует с молекулами воды [7, 9]. На рисунке 1 изображены возможные редкие таутомерные формы тимина и аденина. Оказалось, что часть таких *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров с основаниями в определенных редких таутомерных формах  $T_1^*$ ,  $T_4^*$  и  $T_5^*$  может приводить только к мутациям замены оснований [8, 9]. Были разработаны механизмы образования инсерций, вызванных *цис-син* циклобутановыми тиминовыми [10] и цитозиновыми [11] димерами и мишенными делециями, вызванных *цис-син* циклобутановыми тиминовыми димерами [14]. Их источником являются *цис-син* циклобутановые тиминового димеры, содержащие основания в определенных редких таутомерных формах  $T_2^*$ . Причем напротив этих оснований невозможно встроить ни одно из канонических оснований ДНК так, что бы между ними образовались водородные связи. Предложены механизмы образования немишенными мутаций замены оснований [12], мутаций образующихся на, так называемых не поврежденных участках ДНК. Изучена природа и разработаны механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза [13], мишенными сложными мутациями [15] и мишенными задерживающимися мутациями [16]. В данной работе предлагаются механизмы образования мишенными сложными инсерций, источником которых являются *цис-син* циклобутановые тиминового димеры.

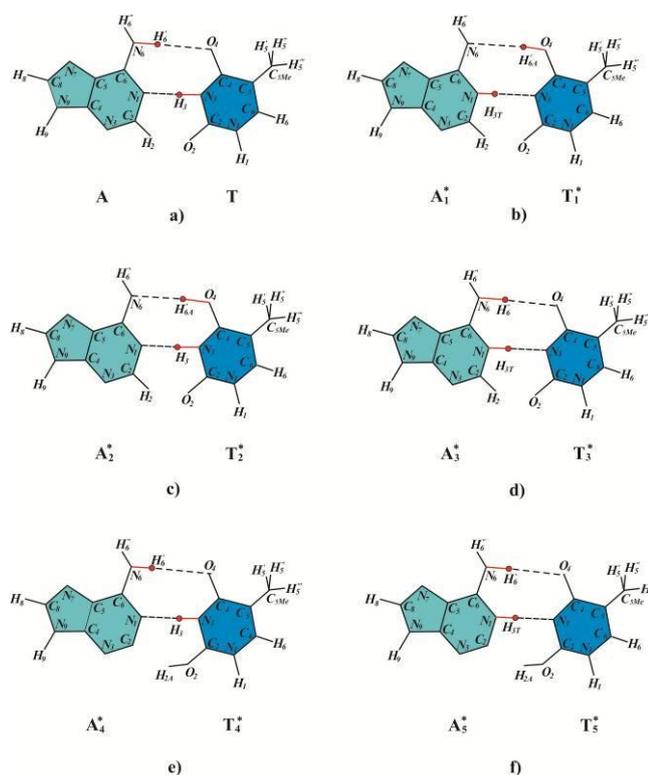


Рисунок 1 – Редкие таутомерные состояния тимина и аденина. а) Уотсон-Криковская пара аденин – тимин, б) – з) возможные редкие таутомерные состояния тимина и аденина, появляющиеся после облучения молекулы ДНК ультрафиолетовым светом

**Образование сложных мутаций при склонном к ошибкам или SOS синтезе молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминового димеры, когда длина участка ДНК увеличивается на несколько нуклеотидов.** Если циклобутановые пиримидиновые димеры не будут устранены в процессах репарации, то они могут приводить к мишенным мутациям при склонной к ошибкам или SOS-репликации, репарации или транскрипции. Мутации образуются, если в синтез ДНК вовлекаются модифицированные с помощью механизма скользящей скрепки или специализированные ДНК-полимеразы [9]. Как показал анализ работы различных ДНК-полимераз, специализированные и модифицированные ДНК-полимеразы встраивают



модифицированные или специализированные ДНК-полимеразы оставляют напротив тимина  $T_2^*$  брешь в один нуклеотид (см. рис. 2а). Например, ДНК-полимераза IV напротив потерянного основания оставляет брешь в один нуклеотид, что приводит к делеции в один нуклеотид [18].

Тиминовый димер  $TT_2^*$  может вызывать мишенную инсерцию [10, 11], другими словами, приводит к вставке одного или нескольких нуклеотидов. Напротив *цис-син* циклобутанового димера  $TT_2^*$  появится брешь в один нуклеотид. Брешь образуется напротив тимина  $T_2^*$ , как это изображено на рисунке 2б. Конец нити ДНК может сползти, тем более что недалеко от *цис-син* циклобутанового тиминового димера  $TT_2^*$  есть еще циклобутановые димеры, поскольку напротив таких димеров цепь искривляется [17], и водородные связи между основаниями, находящимися в противоположных нитях ДНК, рвутся (см. рис. 2в). Так как события происходят на однородном участке ДНК, то конец нити может соединиться водородными связями с соседним участком так, что появится большая петля (см. рис. 2г). Появившаяся новая большая брешь обычно застраивается с помощью конститутивных ДНК-полимераз (см. рис. 2д), что и приведет к вставке нескольких нуклеотидов, образуется мишенная инсерция. При застройке этой бреши будет встроено четыре нуклеотида. Один из них встраивается напротив тимина  $T_2^*$ , который входит в *цис-син* циклобутановый тиминовый димер  $TT_2^*$ , напротив которого была брешь в один нуклеотид. Следовательно, дополнительно встроено три нуклеотида, образовалась инсерция в три нуклеотида. Таким образом, участок ДНК, состоящий из 18 нуклеотидов  $ATTGTTTTTTTTTATTGT$ , заменяется участками ДНК, состоящими из 21 нуклеотида  $ATA(G)GTTTTTTTTTTC(A)TATG(A)GT$ .

При образовании мишенных мутаций замены оснований один и тот же *цис-син* циклобутановый тиминовый димер может приводить к нескольким различным мутациям, транзициям или трансверсиям [9]. По этой причине, на одном и том же участке ДНК, при увеличении длины участка ДНК на три нуклеотида, могут появиться различные мишенные сложные мутации. Участок ДНК, состоящий из 18 нуклеотидов  $ATTGTTTTTTTTTATTGT$ , может превратиться в 8 различных участков ДНК, длиной в 21 нуклеотид, а именно, в участки ДНК  $ATAGTTTTTTTTTCTATGGT$ , или  $ATAGTTTTTTTTTATATGGT$ , или  $ATAGTTTTTTTTTCTATAGT$ , или  $ATAGTTTTTTTTTATATAGT$ , или  $ATGGTTTTTTTTTCTATGGT$ , или  $ATGGTTTTTTTTTATATGGT$ , или  $ATGGTTTTTTTTTCTATAGT$ , или  $ATGGTTTTTTTTTATATAGT$ .

**Выводы.** В рамках развиваемой автором полимеразно – таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза предлагается модель механизма образования мишенных сложных инсерций, вызванных *цис-син* циклобутановыми тиминовыми димерами. Рассмотрен склонный к ошибкам или SOS-синтез двунитевой ДНК, содержащей в одной из своих нитей *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры  $TT_1^*$ ,  $TT_2^*$  и  $TT_5^*$ .

Мишенные сложные мутации, вызванные *цис-син* циклобутановыми тиминовыми димерами, появляются, когда на данном участке ДНК имеется участок с однородным нуклеотидным составом и, кроме того, образуется несколько *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров. Причем обязательно образуется хотя бы один *цис-син* циклобутановый тиминовый димер  $TT_2^*$ , и, обязательно появляются один или несколько *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров  $TT_1^*$  или  $TT_5^*$ .

*Цис-син* циклобутановый тиминовый димер  $TT_2^*$  приводит к появлению мутации сдвига рамки считывания, например, к инсерции, то есть к вставке одного или нескольких нуклеотидов. А *цис-син* циклобутановые тиминовые димеры  $TT_1^*$  и  $TT_5^*$  приводят к появлению мутаций замены оснований. Таким образом, вследствие образования инсерции участок ДНК удлиняется, а вследствие образования нескольких мутаций замены оснований изменяется его нуклеотидный состав. В результате участок ДНК определенной длины и определенного нуклеотидного состава заменяется участком другой длины и другого нуклеотидного состава. Появляется сложная мутация. А поскольку и инсерция и мутации замены оснований появились напротив *цис-син* циклобутановых тиминовых димеров, то все они относятся к мишенному типу. Следовательно, и сложная мутация относится к мишенным мутациям.

В английском языке сложная мутация называется complex mutation. Что в буквальном переводе означает комплексная мутация. Это название, по моему мнению, великолепно отражает суть явления. Действительно, как показано в данной работе, комплексная мутация появляется тогда и только тогда, когда на данном участке ДНК появляется несколько мутаций, причем одна из них обязательно мутация сдвига рамки считывания, а остальные обязательно мутации замены оснований.

Таким образом, полимеразно-таутомерная модель ультрафиолетового мутагенеза способна объяснить механизмы образования потенциальных мутаций, мишенных мутаций замены оснований, мишенных мутаций сдвига рамки считывания, инсерций и делеций, мишенных сложных мутаций, мишенных задерживающихся мутаций, немисшенных мутаций замены оснований и, механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза.

#### Список литературы / References:

1. Wang C.-I., Taylor J.-S. In vitro evidence that UV-induced frameshift and substitution mutations at T tracts are the result of misalignment-mediated replication past a specific thymine dimer. *Biochemistry*, 1992, vol. 31, pp. 3671-3681.
2. Abdulovic A.L., Jinks-Robertson S. The *in vivo* characterization of translesion synthesis across UV-induced lesions in *Saccharomyces cerevisiae*: insights into Pol  $\zeta$ - and Pol  $\eta$ -dependent frameshift mutagenesis. *Genetics*, 2006, vol. 172, pp. 1487-1498.

3. Levine J.G., Schaaper R.M., DeMarini D.M. Complex frameshift mutations mediated by plasmid pKM101: mutational mechanisms deduced from 4-aminobiphenyl-induced mutation spectra in *Salmonella*. *Genetics*, 1994, vol. 136, pp. 731-746.
4. Horsfall M.J., Borden A., Lawrence C.W. Mutagenic properties of the T-C cyclobutane dimer. *J. Bacteriol.*, 1997, vol. 179, pp. 2835-2839.
5. Kunz B.A., Glickman B.W. The role of pyrimidine dimers as premutagenic lesions: a study of targeted vs. untargeted mutagenesis in the lacI gene of *Escherichia coli*. *Genetics*, 1984, vol. 106, pp. 347-364.
6. Гребнева Е.А. Механизмы образования потенциальных мутаций при формировании цитозинового димера в результате облучения двухцепочечной ДНК ультрафиолетовым светом. *Доклады НАН Украины*, 2001, № 7, с. 165-169. [Grebneva H.A. Mechanisms of formation of potential mutations under cytosine dimers formation in result irradiation double-stranded DNA by ultraviolet light. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2001, no. 7, pp. 165-169. (In Russ.)]
7. 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. *J. Mol. Struct.*, 2003, vol. 645, pp. 133-143.
8. Гребнева Е.А. Мишенный мутагенез, вызванный цитозиновыми димерами и механизм образования мутаций замены оснований при SOS-репликации после облучения двухцепочечной ДНК ультрафиолетовым светом. *Доклады НАН Украины*, 2001, № 8, с. 183-189. [Grebneva H.A. Targeted mutagenesis caused by cytosine dimers and mechanism substitution mutation formation under SOS-replication after irradiation double-stranded DNA by ultraviolet light. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2001, no. 8, pp. 183-189. (In Russ.)]
9. Grebneva H.A. One of mechanisms of targeted substitution mutations formation at SOS-replication of double-stranded DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2006, vol. 47, pp. 733-745.
10. Гребнева Е.А. Механизмы мишенных мутаций сдвига рамки считывания – появление инсерций при склонном к ошибкам или SOS синтезе молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры. *Молекулярная биология*, 2014, т. 48, 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. *Mol. Biol. (Mosk.)*, 2014, vol. 48, no. 4, pp. 457-467. (In Russ.)]
11. Гребнева Е.А. Механизм образования мишенных инсерций при синтезе молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые цитозинового димеры. *Доклады НАН Украины*, 2014, № 11, с. 156-164. [Grebneva H.A. Mechanisms targeted insertions formation under synthesis of DNA molecule containing *cis-syn* cyclobutane cytosine dimers. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2014, no. 11, pp. 156-164. (In Russ.)]
12. Гребнева Е.А. Три источника немишенных мутаций замены оснований, образующихся после облучения молекулы ДНК ультрафиолетовым светом димеры. *Доклады НАН Украины*, 2013, № 1, с. 143-150. [Grebneva H.A. Three sources of untargeted base-substitution mutations upon UV irradiation of DNA molecule. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2013, no. 1, pp. 143-150. (In Russ.)]
13. Гребнева Е.А. Природа и механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза. *Доклады НАН Украины*, 2012, № 10, с. 181-187. [Grebneva H.A. The nature and mechanisms of hot and cold spots for UV mutagenesis formation. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2012, no. 10, pp. 181-187. (In Russ.)]
14. 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. *J. Phot. Mat. Techn.*, 2015, vol. 1, pp. 19-26.
15. Гребнева Е.А. Механизмы образования мишенных сложных инсерций при синтезе молекулы ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры. *Доклады НАН Украины*, 2015, № 5, с. 145-154. [Grebneva H.A. Mechanisms of targeted complex insertions formation under synthesis of DNA molecule containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2015, no. 5, pp. 145-154. (In Russ.)]
16. Гребнева Е.А. Полимеразно-таутомерная модель механизма образования мишенных задерживающихся мутаций замены оснований при синтезе ДНК, содержащей *цис-син* циклобутановые тиминные димеры. *Доклады НАН Украины*, 2016, № 5. [Grebneva H.A. Polymerase-tautomeric model for mechanism of targeted delayed substitution mutations formation under synthesis of DNA containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. *Dopovidi NAN Ukraine*, 2016, no. 5. (In Russ.)]
17. Raghunathan G., Kieber-Emmons T., Rein R., Alderfer J.L. Conformation features of DNA containing a *cis-syn* photodimer. *J. Biomol. Struct. Dynam.*, 1990, vol. 7, pp. 899-913.
18. Shibutani S., Takeshita M., Grollman A.P. Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxoG. *Nature*, 1991, vol. 349, pp. 431-434.