

Природа и возможные механизмы образования потенциальных мутаций, возникающих при появлении тиминовых димеров после облучения двухцепочечной ДНК ультрафиолетовым светом

Е. А. Гребнева

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

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

Предполагаются механизмы мутагенеза, вызванного УФ-облучением. Предполагается, что основными повреждениями, приводящими к транзициям, трансверсиям, мутациям сдвига рамки считывания и сложным мутациям, являются изменения таутомерного состояния нуклеотидных оснований, нарушающие характер их спаривания. Обосновываются механизмы образования таких таутомерных форм. Сильное возбуждение колебаний при безызлучательном девозбуждении ДНК, поглотившей УФ-квант с триплетного электронного уровня энергии, приводит к изменению длин водородных (H) связей как в парах оснований, образующих димеры типа циклобутановых пиримидиновых димеров, так и в парах оснований, не являющихся их частью. Показано, что мутационными являются те димеры, в которых произошло изменение таутомерного состояния оснований. В этом состоит одно из главных отличий предлагаемой модели от общепринятой, где полагается, что с точки зрения мутагенности все димеры одинаковы, а ДНК-полимераза иногда ошибается, случайно встраивая некомплементарные основания.

Основные проблемы УФ-мутагенеза. Облучение молекулы ДНК ультрафиолетом (УФ) индуцирует в ней некоторые физико-химические изменения [1–14]. Эти изменения могут устраняться УФ-облучением меньшей частоты или ферментами репарации [1, 2]. Если этого не произошло, то первичные изменения ДНК, называемые потенциальными изменениями или потенциальными мутациями [1], в процессах репликации или репарации могут превращаться в мутации. Их природа и механизмы образования в настоящее время не вполне ясны. Хорошо известно, однако, что основным видом повреждений после УФ-облучения ДНК является формирование пиримидиновых циклобутановых димеров и (6–4)-аддуктов, образованных с помощью двух ковалентных связей (пиримидиновые циклобутановые димеры) [2–6] или с помощью

одной водородной связи между положениями 6 и 4 соседних пиримидинов ((6–4)-аддукты) [7–14]. Установлено, что (6–4)-аддукты значительно более мутагенны, чем циклобутановые димеры [8].

Фотоповреждения распределяются вдоль ДНК неравномерно. На некоторых ее участках они образуются очень часто, это так называемые «горячие» точки мутагенеза, а на других участках, т. е. в «холодных» точках мутагенеза, они никогда не возникают [11–14]. Более того, с помощью единственной замены основания, удаленного от «горячей» точки на десятки нуклеотидов, можно превратить «горячую» точку в «холодную» и наоборот [13, 14]. Причина этого явления пока не выяснена [14]. Также не вполне ясен «эффект соседа», т. е. зависимость вероятности мутирования данного нуклеотидного основания от нуклеотидного состава ближайшего окружения [15, 16].

Циклобутановые димеры и (6–4)-аддукты вызывают транзиции, трансверсии, мутации сдвига

рамки считывания и сложные мутации, когда один участок ДНК заменяется на другой с иными нуклеотидным составом и длиной [1, 2, 17—21]. Обычно мутации появляются после SOS-репликации или репарации [1, 2, 17, 21—27]. Несмотря на наличие серьезных достижений в исследовании механизмов образования трансверсий [28] или мутаций сдвига рамки считывания [29, 30], тем не менее, непонятно, почему в одних случаях появляются мутации сдвига рамки, а в других, например, транзиции. Это, очевидно, связано с тем, что не существует общепринятого мнения о том, какие именно повреждения ДНК приводят к мутациям, и непонятно, как именно эти повреждения превращаются в мутации при репликации и особенно при репарации.

Кроме того, остается неизвестной природа реплицирующихся нестабильностей, когда мутации появляются через десятки циклов репликации после воздействия мутагена [1]. Непонятна также работа генов-мутаторов, в частности, почему частота образования транзиций может возрастать в десятки тысяч, а мутаций сдвига рамки не более, чем в сотни раз [17, 30]. Перечень подобных проблем можно продолжить.

Чаще всего мутации появляются на местах димеров (под словом «димер» ниже подразумеваются как циклобутановые димеры, так и (6—4)-аддукты). Это так называемый мишенный мутагенез [19, 22, 23, 31, 32]. Иногда мутации появляются в небольшой окрестности от димера [21, 33—35]. Такой мутагенез называется немишенным. Наличие немишенного мутагенеза указывает на существование в структуре ДНК потенциально мутагенных повреждений, отличных от димеров, которые физико-химическими экспериментами, как правило, не регистрируются. Природа их остается непонятной [27]. Известно лишь, что только 3—5 % от общего числа димеров приводит к мутациям [31]. Общепринятая теория мишенного мутагенеза предполагает, что мутации этого типа вызваны случайным некомплементарным синтезом [36]. Однако из того факта, что в большинстве случаев напротив тиминных димеров ДНК-полимераза встраивает аденины [31], был сделан вывод, что мутации, индуцированные образованием циклобутановых димеров, вызваны ошибочным включением некомплементарных нуклеотидов [31]. Другими словами, считается, что все димеры одинаковые, а ДНК-полимераза иногда ошибается, встраивая по закону случая некомплементарные нуклеотиды напротив некоторых димеров.

Недостатки общепринятой теории. Существует ряд давно и надежно установленных экспери-

ментальных фактов, с которыми общепринятая гипотеза [36] не согласуется. Если образование мутаций связано со случайными ошибками, то это означает, что, во-первых, мутации должны образовываться напротив всех димеров приблизительно с одинаковой вероятностью, причем различные типы мутаций должны образовываться с одинаковой частотой. То же касается и различных типов мутаций в различных организмах. Однако реальная ситуация принципиально отличается от описанной выше. Она, в частности, была обобщена в классической монографии Ауэрбах [2]. Оказалось, что хотя образование тиминных димеров — наиболее частый вид фотоповреждений ДНК, мутации редко бывают в виде транзиций или трансверсий от А-Т к другой паре оснований. Так, например, Дрейк [32, 38] исследовал УФ-индуцированные мутации в области гII фага Т4. Около половины из них оказались транзициями от пары G-C к паре А-Т, а остальные — сдвигом рамки считывания. Результат был одинаковым как при облучении фага *in vitro*, так и в клетке хозяине. Это в равной степени относится и к фагу, который перед облучением сенсibilизировали ацетофеном [30]. В этих условиях большинство фотоповреждений составляют тиминные димеры. У дрожжей, например, нет преобладания того или другого вида транзиций [39]. У сальмонеллы большинство мутаций — это транзиции G-C → А-Т, а также очень много tandemных мутаций CC → TT [40]. На основании этих фактов сделан вывод о том, что фотоповреждения ДНК, отличные от пиримидиновых димеров, вызывают образование того же типа мутаций и в том же количестве, что и димеры [2]. О недостатках общепринятых подходов свидетельствуют также некоторые закономерности функционирования генов-мутаторов [17]. Например, ген *mutD* вызывает все виды транзиций, трансверсий и мутации сдвига рамки считывания. Частота транзиций увеличивается в 30000—60000 раз, гомологичных трансверсий — в 600—3000 раз, а гетерологичных трансверсий — в 150—650 раз. В то же время ген *mutS* вызывает только транзиции и мутации сдвига рамки, причем частота образования мутации сдвига рамки возрастает лишь в 2—5 раз. Таким образом, классическая гипотеза о случайных ошибках ДНК-полимеразы противоречит всем этим фактам. Это неизбежно стимулирует новые подходы к изучению проблем УФ-мутагенеза.

Гипотеза Уотсона и Крика — возможный ключ к пониманию природы УФ-мутагенеза. В одной из самых известных статей в истории науки — работе Уотсона и Крика [41], высказана идея о том, что в основе явления спонтанного мутагене-

за лежит свойство нуклеотидных оснований изменять свое таутомерное состояние, влияющее на характер спаривания оснований. Вскоре Левдин предположил, что изменения таутомерных состояний могут происходить и в спаренных основаниях ДНК [42]. В результате этого гипотеза Уотсона и Крика получила «второе дыхание» [43], и в дальнейшем участие редких таутомерных форм в мутагенезе обсуждалось неоднократно [43—58, 89—96]. Так, роль таутомерных переходов в мутагенности аналогов оснований является уже почти общепризнанной [44, 95]. Также часто обсуждается вопрос о важной роли редких таутомерных форм в спонтанном [46] и тепловом мутагенезе [47]. Предполагается важное значение протонирования атомов, участвующих в образовании водородных связей, для механизмов мутагенности алкилированных оснований [48].

Ряд работ посвящен влиянию гидратации на таутомерное равновесие оснований [49—51]. Исследованы различные таутомерные формы димеров цитозина и Уотсон-Криковской пары гуанин-цитозин [52]. Большое количество работ посвящено изучению различных таутомерных состояний как оснований ДНК и других модельных молекул [41—96]. В настоящее время экспериментально зафиксированы методом ИК спектроскопии в низкотемпературной матрице инертного газа [59] и в вакууме [60] редкие таутомерные формы цитозина. В работах [61, 62] редкие таутомерные формы цитозина и гуанина обнаружены в результате ИК-исследований в низкотемпературной газовой матрице, а в [63] они были исследованы для аденина.

Авторами [64] показано, что после воздействия УФ-света на цитозин, изолированный в низкотемпературной аргоновой матрице, он переходит из основной таутомерной формы в редкие, причем их соотношение зависит от интенсивности облучения. В [65] исследовали природу дефектных состояний в кристаллах оснований нуклеиновых кислот, облученных УФ-светом, методом термостимулированной люминесценции. Сделан вывод о наличии редких таутомерных форм цитозина в изученных кристаллах.

В ряде экспериментальных работ обнаружена и исследована двухпротонная фототаутомерия [55, 66—71]. Это явление неоднократно изучалось теоретически на модельных системах пар оснований ДНК [72] и на самих молекулах ДНК [73, 74]. Изучена таутомерия оснований нуклеиновых кислот при участии протонов у атомов азота и кислорода как экспериментально, так и теоретически [77], а в [78] показано, что таутомерное состояние этих молекул может изменяться при участии кар-

бопротонов — наиболее вероятными при этом оказались илидные превращения. Экспериментальные работы надежно подтверждены квантово-химическими расчетами высокого уровня сложности [45, 49—52, 60, 72—74, 77—87, 92—96, 101].

Все эти многочисленные экспериментальные и теоретические результаты однозначно свидетельствуют о том, что основания нуклеиновых кислот могут находиться в редких таутомерных формах [41—96], более того, могут происходить и двухпротонные переходы в спаренных основаниях ДНК [55, 66—71]. Следует отметить, что переходы протона вдоль Н-связей являются очень распространенным явлением: они наблюдаются в кислотах и основаниях, в кристаллах, белках, молекулярных мембранах, ферментах и других системах [97].

Опираясь на гипотезу Уотсона и Крика, мы исходим из того, что в основе явления мутагенеза лежит экспериментально зафиксированное свойство оснований при определенных условиях, а именно — под воздействием УФ-света [64, 66—74] переходить из канонической в редкие таутомерные формы.

Механизмы таутомерных превращений оснований ДНК при облучении ДНК УФ-светом. Судьба поглощенного ДНК УФ-кванта существенным образом зависит, с одной стороны, от нуклеотидного состава соседних пар оснований, а с другой, — от соотношения нижайших синглетного (короткоживущего) и триплетного (долгоживущего) уровней энергии различных оснований [98]. Хорошо известно [99], что наиболее вероятным процессом релаксации синглетного электронного уровня является излучение энергии. Ясно, что никаких повреждений в молекуле ДНК при этом произойти не может. Для триплетного уровня наиболее вероятным процессом релаксации является превращение энергии в энергию колебаний соседних атомов [99]. Характерно, что именно при безызлучательном девозбуждении и происходит образование потенциальных мутаций [59, 89, 90]. Поэтому интересные и важные результаты работы [72] лучше бы моделировали определенный этап образования потенциальных мутаций, если бы были выполнены не для синглетного, а для триплетного состояния.

Хорошо известно, что после облучения ДНК УФ-светом энергия в конечном счете локализуется на одном из оснований, приводя к возбуждению электронно-колебательных состояний [100]. Отвлечемся пока от безусловно важных процессов распространения энергии вдоль ДНК [98], полагая, что все процессы распространения энергии окончены и УФ-квант локализован на одном из оснований. В ряде работ для пар оснований и на модель-

ных системах показано, что в первом возбужденном состоянии высоты потенциальных барьеров переноса протонов вдоль Н-связей существенно понижаются [72, 101, 102]. Например, для Н-связанного димера 7-азаиндола барьеры понижаются приблизительно в 1,5 раза [72]. Такое изменение протонного потенциала происходит за время примерно 10^{-16} с и в этом потенциале с некоторой вероятностью атом водорода может оказаться в возбужденном состоянии [103]. Возможны три канала релаксации электронно-колебательных состояний. Во-первых, это дробная передача энергии на соседнее основание с излучением части энергии. Эти процессы подробно рассмотрены в [98]. Они имеют большое влияние на вероятность мутирования данного нуклеотидного основания и являются основой для объяснения «эффекта соседа» и механизма образования «горячих» и «холодных» точек УФ-мутагенеза. Мы на них останавливаться не будем. Два других канала девозбуждения — это излучение энергии и безызлучательная релаксация. Если энергия излучится, то система просто вернется в основное состояние и молекула ДНК останется неповрежденной. Рассмотрим немного подробнее, какие процессы могут происходить в молекуле ДНК, поглотившей квант УФ-энергии, при ее безызлучательном девозбуждении.

Известно [104, 105], что в молекуле ДНК безызлучательное девозбуждение происходит в небольшом объеме 3—5 пар оснований. Это приводит к сильному «локальному разогреву» и как результат — к возбуждению нормальных колебаний оснований. За время порядка нескольких периодов этих колебаний (их периоды $\sim 10^{-14}$ — 10^{-12} с [106—109]) колебательная система перейдет в равновесие. Колебания атомов оснований вызовут изменения расстояний между спаренными основаниями, другими словами, длин Н-связей. В [58] рассчитаны вероятности изменения длин Н-связей R на расстояния от 0,01 до 0,05 нм при нескольких «мгновенных температурах» локального разогрева. В [107, 110] рассчитаны формы потенциальных кривых для протонов всех трех водородных связей Уотсон-Криковской пары гуанин-цитозин для нескольких длин водородных связей. Оказалось, что при уменьшении длины Н-связи на 0,02 нм от равновесного положения протонный потенциал превращается в одноямный. По мере же удлинения Н-связи второй минимум становится все более явным. Динамика изменения формы протонного потенциала для широкого спектра изменения длины Н-связи дана в [111]. Кривые рассчитывали для системы $(\text{H}_2\text{O})_2$, имеющей параметры Н-связи, хорошо моделирующие водородные связи в парах оснований [111].

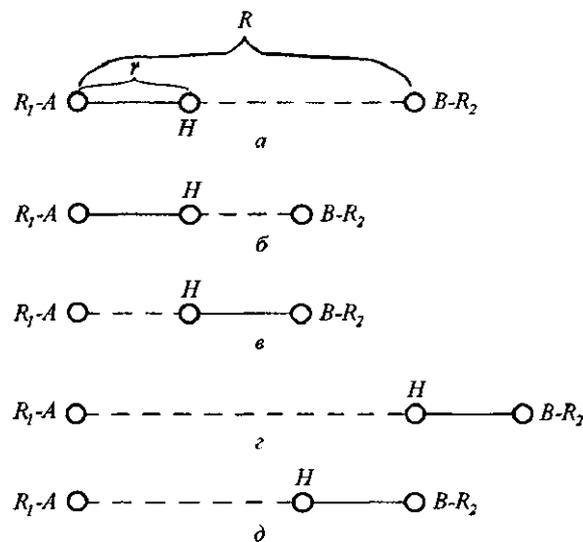


Рис. 1. Схематическое изображение Н-связи между молекулами R_1-A и $B-R_2$: а — r -длина валентной связи между А и атомом водорода Н (R — длина водородной связи); б — молекулы, связанные водородной связью сближены так, что атом водорода находится почти в центре между ними; в — атом Н образовал такую же сильную связь с $B-R_2$, как и с R_1-A ; г — водородная связь удлинчилась, Н оказался валентно связанным с $B-R_2$; д — длина Н-связи нормализовалась, атом водорода теперь связан прочной валентной связью с молекулой $B-R_2$.

Водородные связи типа тех, что образуются между основаниями ДНК, обладают следующим свойством. Атом водорода образует прочную валентную связь (r) с одним из атомов — партнеров по Н-связи, а с другим — довольно слабую связь (рис. 1, а). При изменении R Н-связи длина r практически не изменяется. Зато расстояние от водорода до второго атома ($R - r$) меняется существенно [112, 113]. Пусть длина R уменьшилась так, что атом водорода оказался почти в центре Н-связи. Для этого достаточно изменения R на 0,04—0,05 нм (рис. 1, б). В этом случае он образует сильную связь с обоими атомами (рис. 1, в). Поэтому, когда Н-связь начнет удлиняться, атом водорода может остаться и в новом положении (рис. 1, д). Если атомы водорода, участвующие в образовании Н-связей, будут возбуждены [103], то увеличится их эффективный радиус (на $\sim 0,01$ нм) и это еще больше увеличит вероятность того, что атом водорода останется у партнера по Н-связи. Это возможно, поскольку время жизни триплетного состояния $\sim 10^{-6}$ с [99], а время жизни возбужденной Н-связи — $\sim 4 \cdot 10^{-9}$ с [114, 115], в то время как характерные периоды атомных колебаний составляют $\sim 10^{-14}$ — 10^{-12} с [106—109]. Таким образом, за все

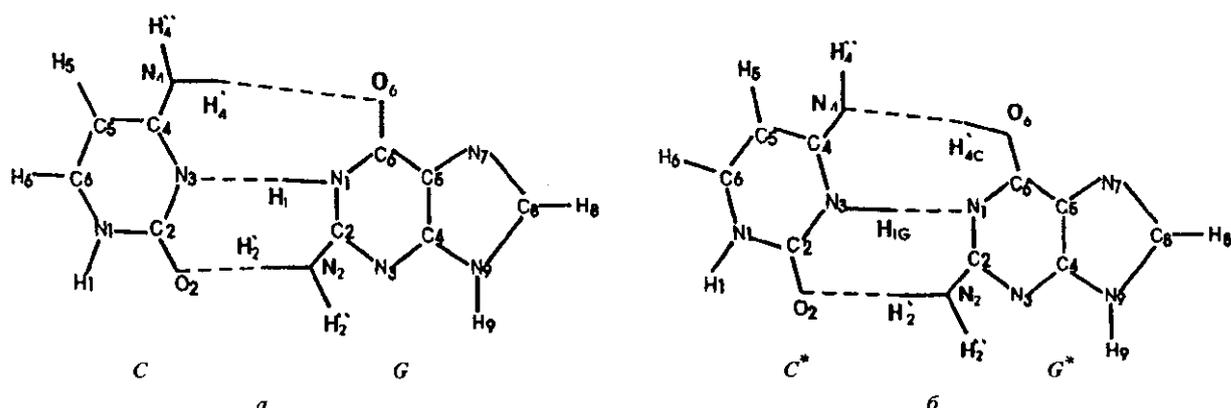


Рис. 2. Пара гуанин-цитозин: *a* — классическая Уотсон-Криковская пара; *b* — устойчивое состояние, когда гуанин и цитозин находятся в редких таутомерных формах

время, пока будут происходить изменения длин Н-связей, атом водорода будет «размазан» приблизительно на 0,01 нм вдоль длины Н-связи. Во-вторых, как было показано в [72], в возбужденном состоянии потенциальные барьеры могут снижаться и, в-третьих, в ряде случаев новое положение протонов может оказаться стабильным или даже энергетически более выгодным, чем первоначальное [72, 74].

Возможные потенциальные мутации после УФ-облучения ДНК. Выше описан процесс изменения таутомерного состояния двух молекул, связанных одной Н-связью. Рассмотрим теперь, какие именно изменения структуры ДНК, влияющие на характер спаривания оснований, могут произойти в этом случае. В ряде работ [55, 66—74] обнаружена возможность двухпротонной фототаутомеризации. В [74] показано, что из всех возможных новых таутомеров, связанных с изменением положений атомов водорода, участвующих в спаривании оснований для пары гуанин-цитозин (рис. 2, *a*), стабильным будет только то, при котором атомы водорода первой и второй водородной связи (рис. 2, *b*) одновременно перешли к своим партнерам по Н-связям.

По-видимому, аналогичная картина имеет место и для пары аденин-тимин (рис. 3, *a*, *b*). Показано, что именно эти два редких таутомера являются причиной большинства случаев немишенного мутагенеза и вызывают транзиции или гомологичные трансверсии [116].

При поглощении энергии Н-связанным димером энергия возбуждения, как правило, концентрируется на одной из молекул, вторая же молекула остается в основном состоянии [72]. Возбуждение,

однако, может быть коллективной собственностью двух находящихся рядом (в одной цепи) оснований. Если основания одинаковые, например, тимин и тимин, то такое возбужденное образование называется эксимером, а если разные — то эксиплексом [104, 105]. Ясно, что именно безызлучательное девозбуждение является основным механизмом образования димеров, вызывая колебания оснований вдоль цепи ДНК.

Возвращаясь к механизму изменения таутомерного состояния молекул, описанному выше для одной Н-связи, легко увидеть, что он может иметь место и при образовании циклобутановых димеров и аддуктов, так как источник повреждений один и тот же — вынужденные колебания при безызлучательной релаксации энергии УФ-кванта. Следовательно, существует принципиальная возможность того, что при образовании димеров произойдет изменение положения одного или нескольких атомов водорода, участвующих в образовании Н-связей между цепями ДНК. Поскольку при образовании димеров в одной из цепей ДНК водородные связи, спаривающие основания [117], рвутся, то все новые положения атомов водорода будут устойчивыми. Для выяснения того, какие же именно новые таутомеры при этом могут образовываться, обратимся к работе [118], где построена структурно-динамическая модель полураскрытых состояний ДНК. Весьма вероятно, что процесс изменения таутомерного состояния проходит в два этапа. На первом образуются предсказанные в [118] метастабильные полураскрытые состояния ДНК.

Рассмотрим возможные новые таутомерные состояния Уотсон-Криковской пары аденин-тимин, которые могут изменять характер спаривания. Из-

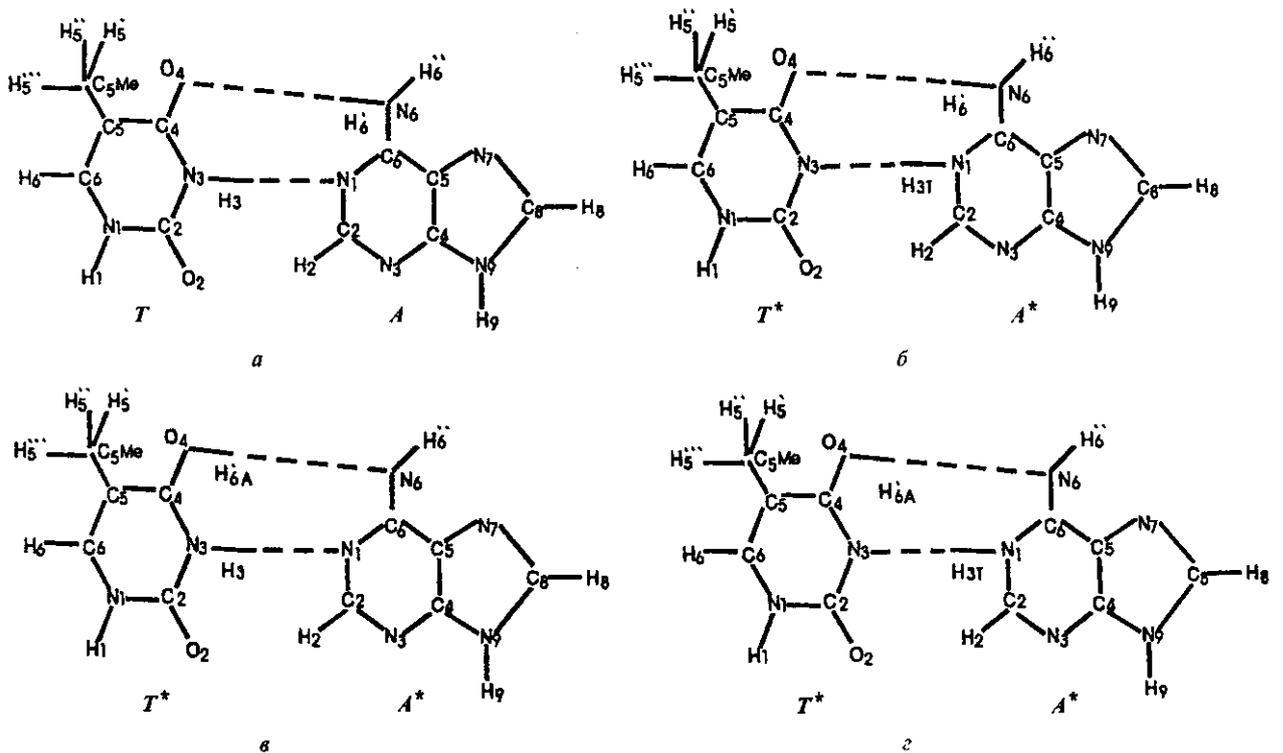


Рис. 3. Возможные таутомерные состояния пары аденин-тимин при УФ-облучении ДНК, полученные без учета образования полураскрытых состояний в ДНК: *a* — классическая Уотсон-Криковская пара аденин-тимин; *b* — редкое таутомерное состояние, когда атом водорода H_3 тимина принадлежит аденину; *v* — редкое таутомерное состояние, когда атом водорода H_6 аденина соединен с тиминном; *z* — редкое таутомерное состояние, когда атом водорода H_3 тимина принадлежит аденину, а H_6' аденина — тимину

вестно, что вероятность изменения таутомерного состояния для гуанина и цитозина значительно выше, чем для тимина и аденина [81, 119]. Это может объяснить тот факт, что транзиции G-C → A-T встречаются гораздо чаще, чем транзиции A-T → G-C [2, 37, 38]. Однако транзиции и трансверсии от A-T к другой паре оснований — тоже достаточно распространенное явление [39]. С другой стороны, экспериментально показано, что вероятность образования полураскрытых состояний на участках ДНК с повышенным содержанием пар аденин-тимин существенно выше, чем на участках с повышенным содержанием пар гуанин-цитозин (см. [120, 121] и приведенную там библиографию). Это согласуется с тем, что чаще всего образуются тиминовые димеры [2].

Для определенности рассмотрим всевозможные таутомерные состояния пары аденин-тимин, которые могут влиять на характер спаривания оснований, находящихся в разных цепях ДНК. По мнению автора, именно такие таутомерные состояния и ответственны за мутагенез. Согласно [118], для

пары аденин-тимин есть несколько полураскрытых состояний. Как хорошо известно, время жизни полураскрытых состояний в ДНК $\sim 10^{-6}$ с [120, 121], поэтому процессы, описанные выше для изменения таутомерного состояния, имеющего значительно меньшие времена жизни, могут произойти за время существования полураскрытых состояний. На рис. 4, *a*, изображено низкоэнергетическое виртуальное консервативное полураскрытое состояние. У него есть несколько возможностей для реализации таутомерного состояния, затрагивающего атомы водорода, участвующие в спаривании оснований. На рис. 4, *b*, изображен вариант, когда атом H_6' перешел от аденина к тимину. Атом H_3 может перейти от тимина к аденину (рис. 4, *v*) и с высокой вероятностью атом H_6' может перейти от аденина к тимину, а H_3 — от тимина к аденину, т. е. может произойти двухпротонный переход (рис. 4, *z*). Высокоэнергетическое виртуальное полураскрытое состояние (рис. 5, *a*) дает только одну возможность — переход атома водорода H_3 от тимина к аденину (рис. 5, *b*). Следует еще учесть

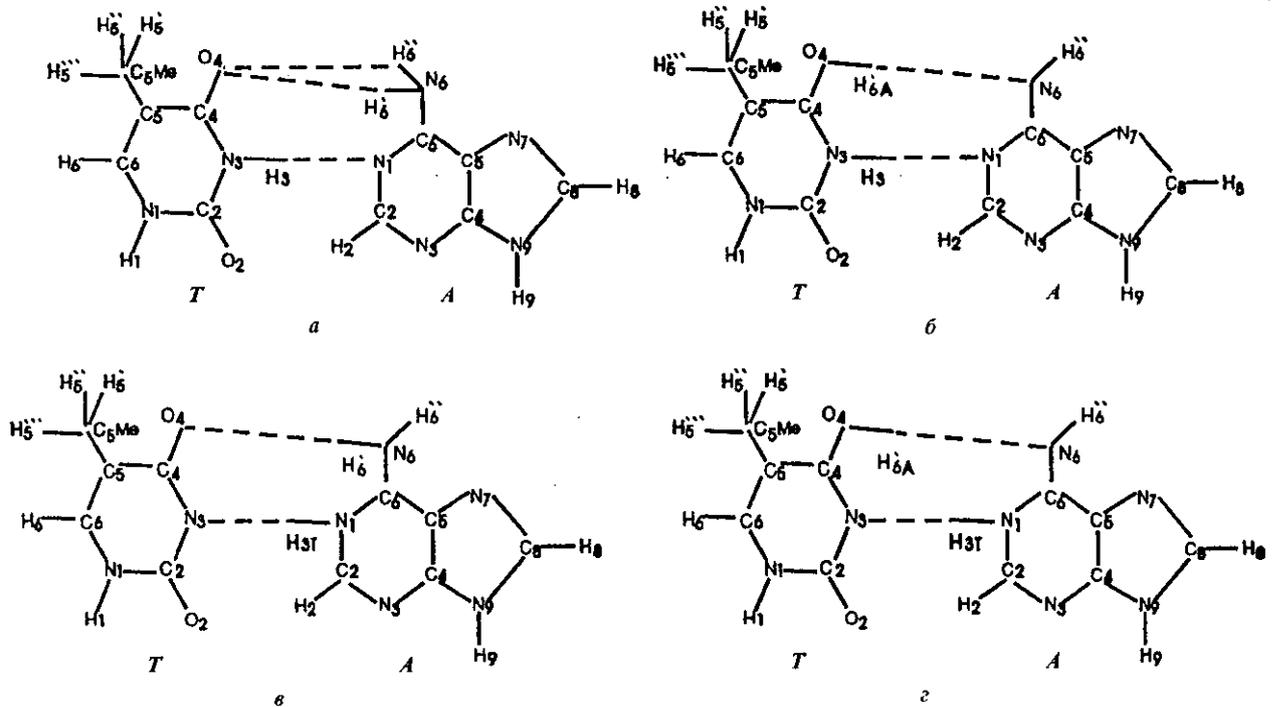


Рис. 4. Низкоэнергетическое виртуальное консервативное состояние пары аденин-тимин [118]: *a* — Уотсон-Криковская пара; *б* — редкое таутомерное состояние, когда атом H_6' валентно связан не с N_6 аденина, а с O_4 тимина; *в* — редкое таутомерное состояние, когда атом H_3 валентно связан не с N_3 тимина, а с N_1 аденина; *г* — редкое таутомерное состояние, когда атом H_6' валентно связан не с N_6 аденина, а с O_4 тимина, а H_3 не с N_3 тимина, а с N_1 аденина

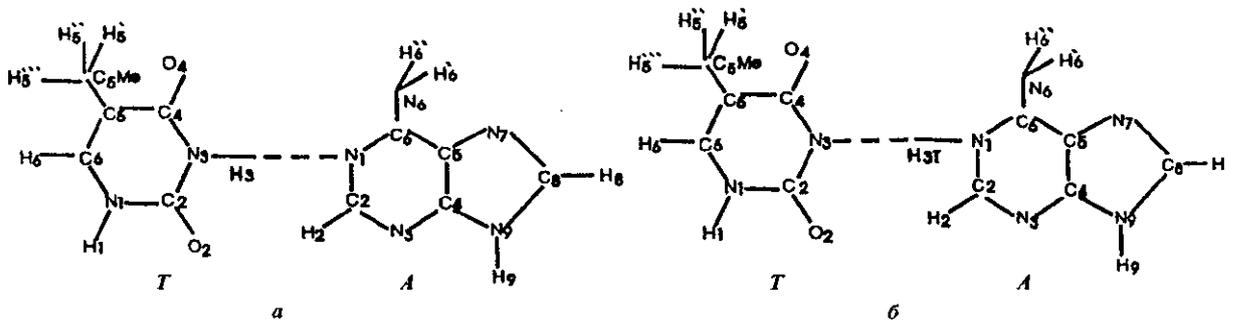


Рис. 5. Высокоэнергетическое виртуальное полураскрытое состояние [118]: *a* — Уотсон-Криковская пара аденин-тимин; *б* — редкое таутомерное состояние пары аденин-тимин, когда атом H_3 соединен валентной связью не с атомом N_3 тимина, а с N_1 аденина

возможную роль метастабильного полураскрытого состояния (рис. 6, *a*). Это состояние дает принципиально новые возможности. Атом водорода H_3 может перейти от тимина к аденину (рис. 6, *б*), атом H_2 может перейти от аденина к тимину (рис. 6, *в*) и может произойти одновременный переход атомов H_3 и H_2 к своим партнерам по Н-связям. Другими словами, атом H_3 перейдет от тимина к аденину, а атом H_2 — от аденина к тимину (рис. 6,

г). Если эти изменения произошли в парах оснований цепочки ДНК, образовавших димеры, то такие изменения будут стабильными из-за разрыва водородных связей [117]. Если же пара оснований, находящихся в редких таутомерных формах, как описано выше, не является частью димера, то основания вернуться в свои исходные таутомерные состояния, за исключением конфигурации атомов водорода, изображенных на рис. 3, *г*. Как показано

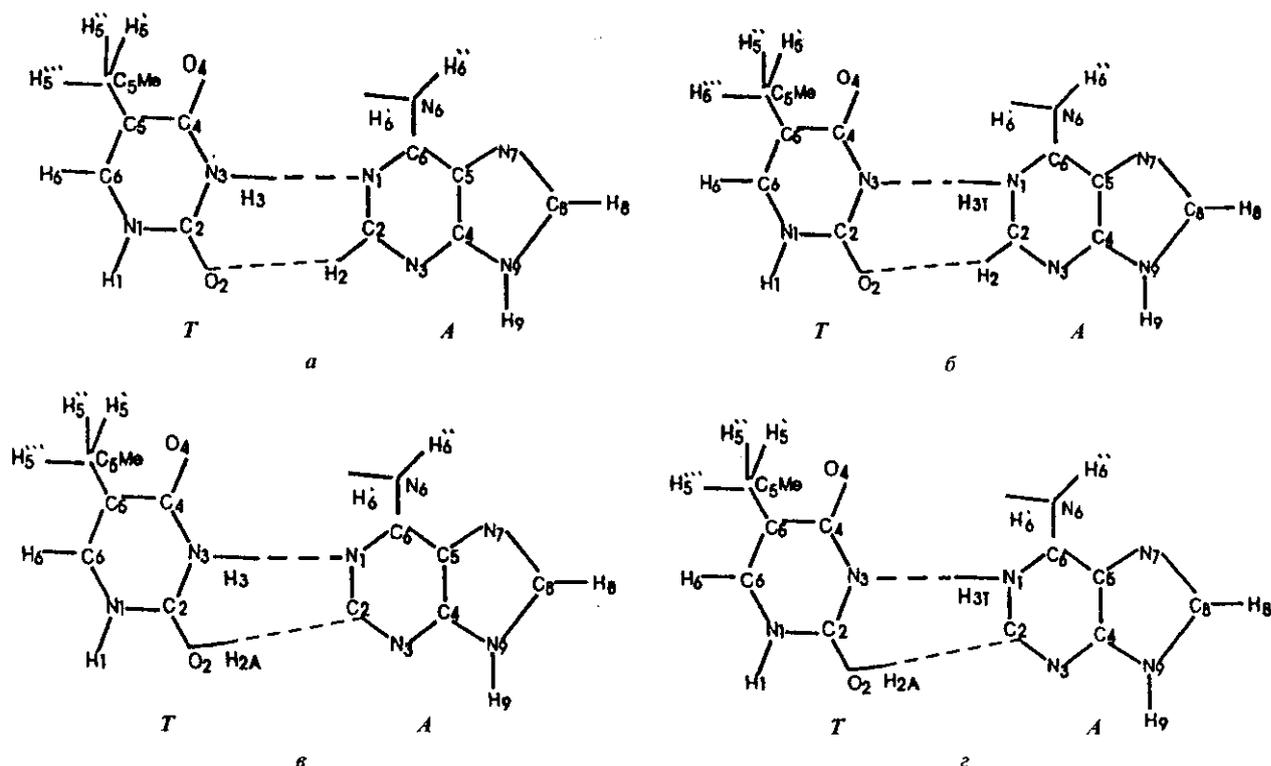


Рис. 6. Местабильное полуоткрытое состояние пары аденин-тимин: *a* — метастабильное полуоткрытое состояние пары аденин-тимин в обычной таутомерной форме; *б* — редкое таутомерное состояние, когда атом H_3 валентно связан не с N_3 тимина, а с N_1 аденина; *в* — редкое таутомерное состояние, когда атом H_2 валентно связан не с C_2 аденина, а с O_2 тимина; *г* — редкое таутомерное состояние, когда атом H_3 валентно связан не с N_3 тимина, а с N_1 аденина, а атом H_2 валентно связан не с C_2 аденина, а C_2 тимина

в [74], такое состояние останется стабильным. На рис. 7 изображены новые возможные таутомерные состояния молекул тимина и аденина, возникшие при образовании димеров после облучения ДНК УФ-светом. Водородные связи при этом разорваны из-за того, что тимины являются частью димеров [117]. В [122] показано, что это может быть причиной мишеных мутаций замены оснований и сдвига рамки считывания. Сравнение данных рис. 3 и 7 демонстрирует, что учет этапа метастабильного полуоткрытого состояния (рис. 6) при изменении таутомерного состояния оснований приводит к появлению двух новых таутомерных состояний. В [116] показано, что состояние, изображенное на рис. 3, *г*, может быть причиной немисшенного мутагенеза.

Таким образом, мутагенез под действием УФ-облучения — это сложный многоступенчатый процесс. Можно условно выделить несколько его этапов. Первый — это процесс поглощения кванта энергии и миграции по молекуле ДНК до его

локализации на одном из оснований. Этот этап ответствен за «эффект соседа» и образование «горячих» и «холодных» точек УФ-мутагенеза [98, 123]. Второй этап — это процесс девозбуждения ДНК, поглотившей УФ-квант. На нем решается, произойдет или нет потенциально мутагенное повреждение молекулы ДНК [58]. Третий этап — это процессы репликации, репарации ДНК. На этом этапе потенциальная мутация или удаляется, или же превращается в транзицию, трансверсию, мутацию сдвига рамки считывания или сложную мутацию [91, 116, 122]. В дальнейшем образовавшиеся мутации могут привести к гибели, раку, наследственным болезням, снижению иммунитета или к возникновению новых свойств организма или даже к образованию новых видов в процессе эволюции [26, 124–128]. Каждый из этих этапов имеет свои характерные времена жизни, сильно влияющие на характер протекающих при этом процессов. Поэтому в процессе превращения потенциальных изменений в мутации могут иметь значение ошибки в

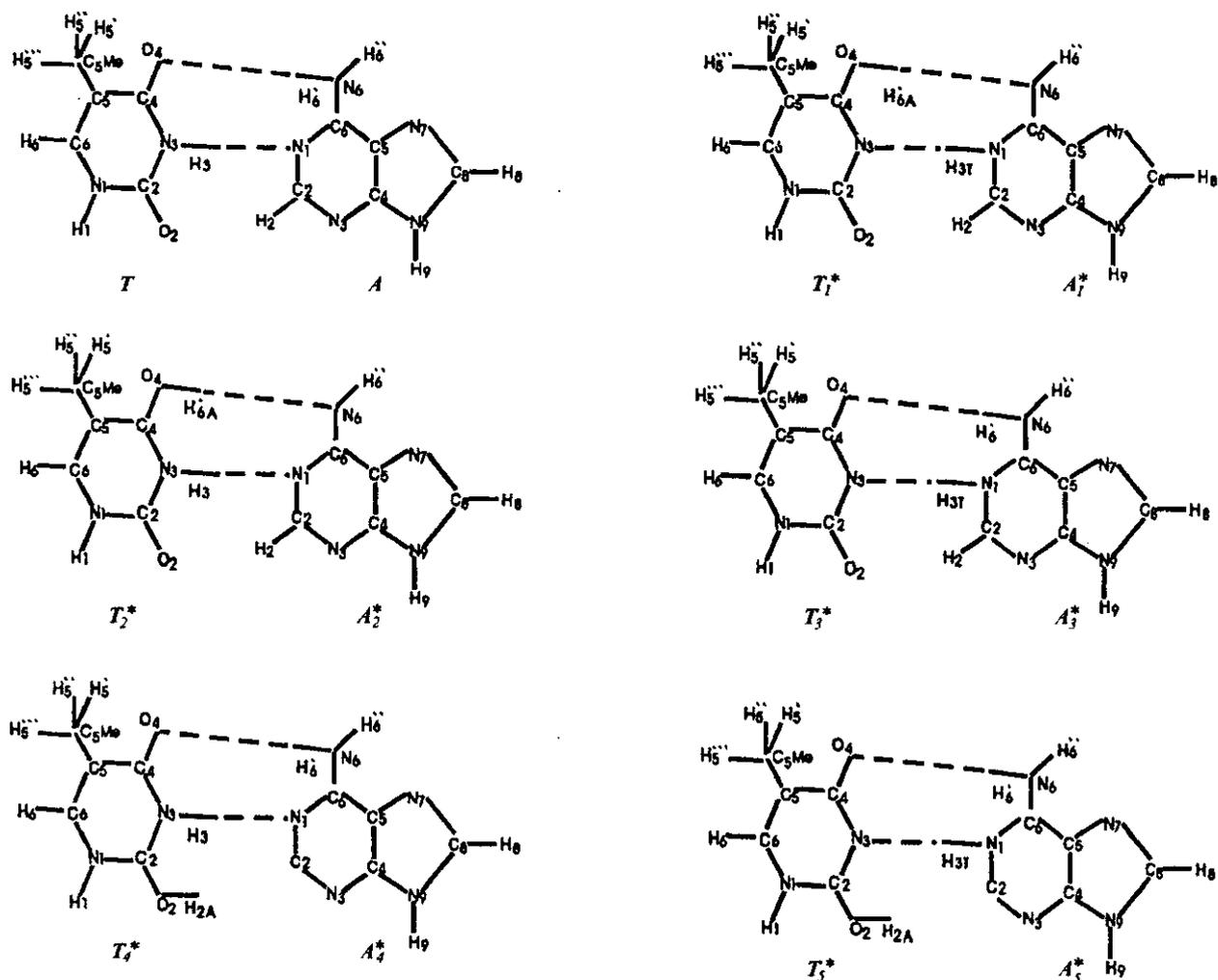


Рис. 7. Возможные новые таутомерные состояния тимина и аденина, позволяющие в результате образования тиминных димеров после облучения молекулы ДНК УФ-светом

работе полимераз [129], особенности ферментативных систем, влияние генов-мутаторов и пр. Но на этапе образования потенциальных мутаций они, скорее всего, не играют никакой роли. Время работы ферментов, а уж тем более при SOS-репликации и SOS-репарации, при которых потенциальные изменения превращаются в мутации, — это минуты, часы. Так, например, показано, что удаление брешей репарационными механизмами происходит с полувременами 2; 15 и 160 мин [130]. В неделящихся клетках кролика восстановление поврежденной ДНК до обычного размера хромосомы может занимать почти месяц [131]. Кинетика репарации поврежденных оснований может происходить с та-

кой же скоростью, как и репарация брешей [132, 133]. Аналогичные времена жизни получены для дрожжей [131]. Характерные времена процессов, важных при образовании потенциальных мутаций, — это всегда доли секунды. По этой же причине крайне маловероятно, что волны типа солитонов [56] могут приводить к дефектам во время работы ферментов при синтезе ДНК. Однако это вовсе не означает, что такие квазичастицы не могут влиять на мутационный процесс. Их роль может быть значительна на этапе от момента поглощения энергии молекулой ДНК до образования потенциально мутагенного повреждения [98, 121].

Выводы. Современная теория УФ-мутагенеза не может исчерпывающе объяснить многие явления, в том числе причину образования «горячих» и «холодных» точек, природу потенциальных мутаций, репарационный, немишеный мутагенез, реплицирующиеся нестабильности и другие процессы. Общепринятая теория полагает, что все димеры одинаковы, а ДНК-полимераза иногда ошибается, спорадически встраивая напротив димеров некомплементарные основания. Однако такой подход противоречит целому ряду экспериментальных фактов.

Наиболее продуктивный путь выхода из сложившейся ситуации — дальнейшее развитие гипотезы Уотсона и Крика о том, что в основе мутагенеза лежит способность оснований менять свое таутомерное состояние. Обзор экспериментальных и теоретических данных свидетельствует о том, что редкие таутомерные формы нуклеотидных оснований, в том числе двухпротонная фототаутомерия, — это надежно установленный факт. Более того, показано, что таутомерные изменения могут происходить при безызлучательном девозбуждении ДНК, поглотившей УФ-квант с триплетных уровней энергии вследствие сильных вынужденных колебаний. Такие колебания приводят к изменению длин Н-связей. При этом инициируются два типа повреждений. Во-первых, может произойти двухпротонная фототаутомерия, затрагивающая атомы водорода первой и второй Н-связей в парах гуанин-цитозин и аденин-тимин. Такое состояние оказывается устойчивым и приводит к немишенному мутагенезу. Во-вторых, изменение таутомерного состояния может произойти при образовании димеров, являющихся основным видом фотоповреждений, напротив которых чаще всего образуются мутации. Отталкиваясь от модели спонтанных полураскрытых состояний ДНК, предложенной Говоруном [118], удалось получить возможные таутомерные состояния Уотсон-Криковской пары для пары аденин-тимин, влияющие на характер связывания цепей ДНК. Поскольку при образовании димеров водородные связи между цепями рвутся, все новые редкие таутомерные формы оказываются устойчивыми.

H. A. Grebneva

The nature and possible mechanisms of potential mutations formation due to the appearance of tyminе dimers after irradiating two-stranded DNA by ultra-violet light

Summary

Mutagenesis caused by UV radiation has been proposed. The main damages resulting in transitions, transversions, frameshift mutations and complex mutations are supposed to be the changes in

tautomeric state of the bases affecting their pairing. A model of derivating these rare tautomeric base forms is proposed and grounded for the UV-irradiated DNA. Strong generation of oscillations at thermal deexcitation of DNA, absorbing UV-quantum from the triplet electron energy level, causes the changes in length of hydrogen bonds between the bases. Such changes can occur in the base pairs forming dimers of the cyclobutane pyrimidine type, as well as in the pairs of bases which are not a part of the dimer. We consider the dimers as mutations only when tautomeric state of the bases is changed. It is one of the basic differences between the model proposed and that generally used, according to which all the dimers are supposed to be identical and only DNA-polymerase is sometimes mistaken, including uncomplementary bases into DNA randomly.

O. A. Grebneva

Природа та можливі механізми утворення потенційних мутаций, що виникають за появи тимінових димерів після опромінення дволанцюгової ДНК ультрафіолетовим світлом

Резюме

Пропонуються механізми мутагенезу, викликаного УФ-опроміненням. Припускається, що основними пошкодженнями, що призводять до транзицій, трансверсій, мутацій зсуву рамки зчитування та до складних мутацій, є зміни таутомерного стану нуклеотидних основ, які порушують характер їхнього спаровання. Сильне збудження коливаний при безвипромінювальному дезбудженні ДНК, яка поглинула УФ-квант з триплетного електронного рівня енергії, спричинює зміни довжин водневих (Н) зв'язків між основами. Такі зміни можуть відбуватися як у парах основ, утворюючих димери, так і в парах основ, які не є їхньою частиною. Скоріш за все, мутаційними є лише ті димери, в яких змінився таутомерний стан основ. У цьому ж полягає одна з головних відмінностей пропонованої моделі від загальноприйнятої, де припускається, що з точки зору мутагенності всі димери однакові, а тільки ДНК-полімераза іноді помиляється, випадково вбудовуючи некомплементарні основи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дубинин Н. П. Потенциальные изменения в ДНК и мутации.—М.: Наука, 1978.—246 с.
2. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза.—М.: Мир, 1978.—463 с.
3. Setlow R. B. Photoproducts in DNA irradiated in vivo // Photochem. and Photobiol.—1968.—7.—P. 643—649.
4. Kusewitt D. F., Budge C. L., Ley R. D. Reduced frequency of UVR-induced mutations in mammalian cell with endonuclease V-inhanced pyrimidine dimer repair // Photochem. and Photobiol.—1993.—57, Suppl.—P. 56.
5. Armstrong J. D., Kunz B. A. Photoreactivation implicated cyclobutane dimers as the major promutagenic UVB lesions in yeast // Mutat. Res. Fund and Mol. Mech. Mutagen.—1992.—268, N 1.—P. 83—94.
6. Kim Jong-Ki, Alderfer J. L. Conformational variations of the cis-syn cyclobutane type photodimers in DNA and RNA // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1992.—9, N 4.—P. 705—718.
7. Pfeifer G. P., Drouin R., Riggs A. D., Holmquist G. P. Adduct at nucleotide resolution: Detection of pyrimidine (6—4) pyrimidone photoproducts by ligation-mediated polymerase chain reaction // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1991.—88, N 4.—P. 1374—1378.
8. Lawrence C. W. Accuracy of replication past the T-C (6—4) adduct // J. Mol. Biol.—1994.—235, N 2.—P. 465—471.
9. Gale J. M., Smerdon M. J. UV-induced (6—4) photoproducts are distributed differently than cyclobutane dimers in nucleo-

- somes // Photochem. and Photobiol.—1990.—51, N 4.—P. 411—417.
10. Hejmacli V., Stevenson C., Kumar S., Davies R., Jeremy H. Alkali-labile photolesions mapping to purine sites in ultraviolet-irradiated DNA // Photochem. and Photobiol.—1994.—59, N 2.—P. 197—203.
 11. Bruch D., Haseltine W. UV-induced mutation hotspots occur at DNA damage hotspots // Nature.—1982.—298.—P. 189—192.
 12. Soge E. Distribution and repair in photolesions in DNA: genetic consequences and the role of sequence context // Photochem. and Photobiol.—1993.—57, N 1.—P. 163—174.
 13. Seidman M. M., Levy D. D., Parris C. N. The problem of sequence context effects of UV mutagenesis // Photochem. and Photobiol.—1994.—59, Spec. Issue.—P. 5.
 14. Parris C. N., Levy D. D., Jesse 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.
 15. Becker M. M., Wang Z. Origin of ultraviolet damage in DNA // J. Mol. Biol.—1989.—210, N 3.—P. 429—438.
 16. Lipinski J. Effect of the base sequence in DNA double proton transfer in the guanine-cytosine and adenine-thymine pairs // Chem. Phys. Lett.—1988.—145, N 3.—P. 227—231.
 17. Тарасов В. А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза.—М.: Наука, 1982.—226 с.
 18. Levine J. G., Schaaper R. M., De Marini D. M. Complex frameshift mutations mediated by plasmid pkm 101: Mutational mechanisms deduced mutation spectra in *Salmonella* // Genetics.—1994.—136, N 3.—P. 731—746.
 19. Taylor J.-S., Garrett D. S., Brockie I. R., Svoboda D. L., Telsner J. H. 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.
 20. Королев В. Г. Моделирование радиационных повреждений генетического материала // Радиационный мутагенез и его роль в эволюции и селекции.—М.: Наука, 1987.—С. 52—66.
 21. 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.
 22. Horsfall M. J., Lawrence C. W. Accuracy of the replication past the T-C adduct // J. Mol. Biol.—1994.—235, N 2.—P. 465—471.
 23. Armstrong J. D., Kunz B. A. Site and strand specificity of UVB mutagenesis in the *SUP4-o* gene of yeast // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1990.—87, N 22.—P. 9005—9009.
 24. Spivak G., Hanawalt P. C. Repair of replicated DNA in an active gene in UV irradiated CHO cells // Environ and Mol. Mutagen.—1990.—15, Suppl. N 17.—P. 56.
 25. 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.
 26. Taylor J.-S. DNA, sunlight and skin cancer: 15th IUPAC Symp. Photochem. (Prague. 17—22 July, 1994) // Pure and Appl. Chem.—1995.—67, N 1.—P. 183—190.
 27. Hagen U. Biochemical aspects of radiation biology // Experientia.—1989.—45.—P. 7—12.
 28. Topal M. D., Fresco J. R. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations // Nature.—1976.—263.—P. 285—289.
 29. Streisinger G., Okada J., Emerich J., Newton J., Tsugida A., Terragi E., Inouye M. Frameship mutations and the genetic code // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.—1966.—31.—P. 77—89.
 30. Strand M., Prolla T. A., Liskay R. M., Petes T. D. Destabilization of tracts of simple repair // Nature.—1993.—365.—P. 274—276.
 31. Lawrence C. W., Banerjee S. K., Borden A., LeClerc J. E. T-T cyclobutane dimers are misinstructive rather than non-instructive, mutagenic lesions // Mol. and Gen. Genet.—1990.—222, N 1.—P. 166—169.
 32. 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-to-cytosine transitions in *Escherichia coli* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1991.—88, N 21.—P. 9685—9686.
 33. Hutchinson F. Chemical changes induces in DNA by ionizing radiation // Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.—1985.—32.—P. 115—154.
 34. Lawrence C. W., Christensen R. B. The mechanism of untargeted mutagenesis in UV-irradiated yeast // Mol. and Gen. Genet.—1982.—186.—P. 1—9.
 35. Lawrence C. W., LeClerc J. E., Christensen J. R., Christensen R. B., Tata P. V., Benerjee S. K. Laci sequence changes and the mechanisms of UV mutagenesis in *E. coli* // Radiat. Res.—1987.—2.—P. 538—543.
 36. Бреслер С. Е. О решенных и нерешенных проблемах мутагенеза и репарации // Повреждение и репарация ДНК.—Пушкино: Изд-во Науч. центра биол. исследований АН СССР в Пушкине, 1980.—204 с.
 37. Drake J. W. Ultraviolet mutagenesis in bacteriophage T4. Irradiation of extracellular phage particles // J. Bacteriol.—1966.—91.—P. 1775—1780.
 38. Meistrich M. L., Drake J. W. Mutagenic effects of thymine dimers in bacteriophage T4 // J. Mol. Biol.—1972.—66.—P. 107—114.
 39. Sora S., Panzeri L., Magni G. E. Molecular specificity of 2-aminopurine in *Saccharomyces cerevisiae* // Mutat. Res.—1973.—20.—P. 207—213.
 40. Demarini D. M., Shelton M. L., Stankowski L. F. Mutation spectra in *Salmonella* of sunlight, white fluorescent light, and light from tanning salon beds: Induction of tandem mutations and role of DNA repair // Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. Mutagen.—1995.—327, N 1—2.—P. 131—149.
 41. Watson J. D., Crick F. H. C. The structure of DNA // Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol.—1953.—18.—P. 123—131.
 42. Lowdin P.-O. Proton tunneling in DNA and its biological replications // Rev. Mod. Phys.—1969.—35, N 3.—P. 724—733.
 43. Данилов В. И., Квенцель Г. Ф. Электронные представления в теории точечных мутаций.—Киев: Наук. думка, 1971.—83 с.
 44. Katritzky A. R., Baykut G., Rachual S., Szafran M., Caster K. C., Eyley J. The tautomeric equilibria of thio analogues of nucleic acid bases. 1. 2-Thiouracil: background preparation of model compounds, and gas-phase proton affinities // J. Chem. Soc. Perkin Trans. Pt 2.—1989.—N 10.—P. 1499—1506.
 45. Katritzky A. R., Szafran M. The tautomeric equilibria of thio analogues of nucleic acid bases. 2. AM1 and *ab initio* calculations of 2-thiouracil and its methyl derivatives // J. Chem. Soc. Perkin Trans. Pt 2.—1989.—N 10.—P. 1507.
 46. Blake R. D., Hess S. T., Nicolson-Tuell J. The influence of neighbour stacking energies on the rate and pattern of spontaneous point mutations in DNA // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1991.—8, N 6.—P. a19.
 47. Knicker M. C., Drake J. W. Heat down the transversion pathway // J. Bacteriol.—1990.—172, N 6.—P. 3037—3039.

48. *Dunean R. H., Davies G. S.* Mechanistic clues to the mutagenicity of alkylated DNA bases // *J. Theor. Biol.*—1989.—140, N 3.—P. 345—354.
49. *Poltev V. I., Tepluchin A. V., Kwiatkowski J. S.* Monte Carlo simulation of the guanine-uracil pairs with guanine in two tautomeric forms: contribution of water bridging to relative stability of mispairs // *J. Biomol. Struct. and Dyn.*—1992.—9, N 4.—P. 747—757.
50. *Полтев В. И., Гонзалес Э. Х., Теплухин А. В.* О возможной роли редких таутомеров оснований ДНК в мутагенезе. Изучение влияния гидратации на таутомерное равновесие методом Монте-Карло // *Молекуляр. биология.*—1995.—29, № 2.—С. 365—375.
51. *Полтев В. И., Гонзалес Э. Х., Теплухин А. В., Маленков Г. Г.* О механизме таутомерных превращений нуклеиновых кислот в условиях ограниченного доступа к ним молекул воды // *Молекуляр. биология.*—1995.—29, № 2.—С. 376—382.
52. *Czerminski R., Kwiatkowski J. S., Person W. B., Czczepaniak K.* Quantum-mechanical studies of the structures of cytosine dimers and guanine-cytosine pairs // *J. Mol. Struct.*—1989.—198.—P. 297—305.
53. *Brown T., Hunter W. N., Leonard G. A.* Mismatches in DNA duplexes // *Chem. Brit.*—1993.—29, N 6.—P. 484—488.
54. *Florian J., Hrouda V., Hobra P.* Proton transfer in the adenine-thymine base pair // *J. Amer. Chem. Soc.*—1994.—116.—P. 1457—1460.
55. *Taylor C. A., El-Bayoumi M. A., Kasha M.* Excited state two-proton tautomerism in hydrogen-bonded N-heterocyclic base pairs // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1969.—63.—P. 253—260.
56. *Говорун А. М., Мішук П. Р., Харченко В. М.* Нові молекулярні механізми генотоксичної дії ультрафіолетового опромінення на нуклеїнової кислоти // *Доп. НАН України.*—1999.—№ 10.—С. 186—190.
57. *Полтев В. И., Брусков В. И., Шулюпина Н. В.* 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.
58. *Гребнева Е. А.* Облучение ДНК ультрафиолетовым светом: потенциальные изменения и мутации // *Молекуляр. биология.*—1994.—28, № 4.—С. 805—812.
59. *Радченко Е. Д., Плохотниченко А. М., Шеина Г. Г., Благой Ю. П.* ИК-спектры цитозина и его производных в аргоновой матрице при низкой температуре // *Биофизика.*—1983.—28, № 4.—С. 559—563.
60. *Суходуб Л. Ф., Аксенов С. А., Болдескул А. И.* Масс-спектрометрическое и квантово-механическое исследование димерных ассоциатов нуклеотидов // *Биофизика.*—1995.—40, № 3.—С. 506—512.
61. *Sheina G. G., Radchenko E. D., Stepanian S. G.* Prototropic tautomerism of nucleic acid purine bases // *Stud. biophys.*—1986.—114, N 1.—P. 123—131.
62. *Sheina G. G., Stepanian S. G., Radchenko E. D., Blagoi Yu. P.* IR spectra of guanine and hypoxanthine isolated molecules // *J. Mol. Struct.*—1987.—158.—P. 275—292.
63. *Радченко Е. Д., Плохотниченко А. М., Шеина Г. Г., Благой Ю. П.* ИК и электронно-колебательные спектры аденина и его производных в матрице аргона // *Биофизика.*—1989.—29, № 4.—С. 553—559.
64. *Novak M. J., Lapinski L., Fulara J.* Matrix isolation studies of cytosine: The separation of the infrared spectra of cytosine tautomers // *Spectrochim. acta.*—1989.—45A, N 2.—P. 229—242.
65. *Остапенко Н. И., Скрышевский Ю. А., Кадацук А. К., Рубин Ю. В.* Природа дефектных состояний в кристаллах оснований нуклеиновых кислот // *Биополимеры и клетка.*—1990.—6, № 3.—С. 65—69.
66. *Ingham K. C., El-Bayoumi M. A.* Photoinduced double-proton transfer in a model hydrogen-bonded base pair. Effects of temperature and deuterium substitution // *J. Amer. Chem. Soc.*—1974.—96.—P. 1674—1682.
67. *Hetherington III W. M., Micheels R. H., Eisenthal K. B.* Picosecond dynamics of double proton transfer in 7-azaindole dimers // *Chem. Phys. Lett.*—1979.—66.—P. 230—233.
68. *Tokumura K., Watanabe Y., Iton M.* Deuterium isotope effects of excited state and ground-state double-transfer processes of the 7-azaindole H-bonded dimer in 3-methylpentane // *J. Phys. Chem.*—1986.—90.—P. 2362—2366.
69. *Tokumura K., Watanabe Y., Udagava M.* Photochemistry of transient tautomer of 7-azaindole H-bond dimer studied by two-step laser excitation fluorescence measurements // *J. Amer. Chem. Soc.*—1987.—109.—P. 1346—1350.
70. *Chou P. T., Wei C. Y., Chang C. P.* 7-azaindole-assisted actam-lactim tautomerization via excited state double proton transfer // *J. Amer. Chem. Soc.*—1995.—117.—P. 7259—7260.
71. *Chou P. T., Wei C. Y., Chang C. P.* Structure and thermodynamics of 7-azaindole hydrogen-bonded complexes // *J. Phys. Chem.*—1995.—99.—P. 11994—12000.
72. *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 фототаутомории в модельных парах оснований ДНК // *Биополимеры и клетка.*—1997.—13, № 4.—С. 261—268.
73. *Young Shik Kong, Mu Shik-Yhon, Lowdin P.-O.* Studies on proton transfers in water clusters DNA base pairs // *Int. J. Quant. Chem.: Quant. Biol. Symp.*—1987.—14.—P. 189—209.
74. *Clementi E., Corongiu G., Detrich J., Chin S., Domingo J.* Parallelism in study in DNA pairs as an example // *Int. J. Quant. Chem.: Quant. Chem. Symp.*—1984.—18.—P. 601—618.
75. *Пивоваров В. Б., Рева И. Д.* Изучение иминоформы 1-метил аденина в криоматрице аргона и в растворах методом ИК-спектроскопии // *Биофизика.*—1995.—12, № 7.—С. 1027—1031.
76. *Сухоруков Б. И., Гуковская И. С., Сухоручкина Л. Д., Лавренова Г. И.* Оптические свойства и молекулярное строение нуклеиновых кислот и их компонентов. V. Спектрофотометрическое определение термодинамических параметров протеолитических реакций цитозина и его N- и O-производных // *Биофизика.*—1972.—17, № 1.—С. 5—11.
77. *Болдескул А. И., Суходуб Л. Ф.* К вопросу о таутомории оснований нуклеиновых кислот // *Биополимеры и клетка.*—1997.—13, № 3.—С. 185—190.
78. *Говорун Д. М.* Прототропна таутоморія азотистих основ: новий погляд на стару проблему // *Биополимеры и клетка.*—1997.—13, № 3.—С. 191—196.
79. *Sukhodub L. F., Aksenov S. A., Boldeskul A. T.* Mass spectrometric and quantumchemical investigation of dimeric nucleotide associates // *Biophysics.*—1995.—40, N 3.—P. 487—493.
80. *Mirek J., Sygula A.* MNDO study of the tautomers of nucleic bases // *J. Mol. Struct.*—1987.—86.—P. 275—292.
81. *Kwiatkowski J. S., Person W. B.* The tautomerism of the nucleic acid bases revisited from non-interacting to intacting bases // *Theor. Biochem. and Biophys. / Eds D. L. Beveridge, R. Lavery.*—New York: Adenine press, 1990.—P. 153—171.
82. *Говорун Д. М., Кондратьюк І. В., Желтовський М. В.*

- Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія ксантину: розрахунок методом AM1 // Біополімери і клітка.—1994.—10, № 6.—С. 52—60.
83. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія гіпоксантину: розрахунок методом AM1 у вакуумному наближенні // Біополімери і клітка.—1995.—11, № 1.—С. 30—35.
 84. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія імідазолу та піримідину // Біополімери і клітка.—1995.—11, № 6.—С. 41—44.
 85. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія пурину // Біополімери і клітка.—1995.—11, № 6.—С. 45—50.
 86. Говорун Д. М., Кондратюк І. В. Квантовохімічні розрахунки свідчать: прототропна таутомерія канонічних нуклеотидних основ має молекулярно-цвітеріонний характер. 1. Піримідини // Біополімери і клітка.—1996.—12, № 1.—С. 42—48.
 87. Говорун Д. М., Кондратюк І. В. Квантовохімічні розрахунки свідчать: прототропна таутомерія канонічних нуклеотидних основ має молекулярно-цвітеріонний характер. 2. Пурини // Біополімери і клітка.—1996.—12, № 1.—С. 49—52.
 88. Пивоваров В. Б., Рева І. Д., Степаньян С. Г., Шеина Г. Г., Благой Ю. П. Изучение имино-формы 1-метиладенина в криоматрице аргона и в растворах методом ИК-спектроскопии // Биофизика.—1995.—40, № 6.—С. 1178—1188.
 89. Гребнева Е. А. Возможный механизм образования редких таутомерных форм нуклеотидных оснований при УФ облучении ДНК // Укр. физ. журн.—1992.—37, № 11.—С. 1636—1642.
 90. Гребнева Е. А. Тепловое электронное девозбуждение как механизм двухпротонных переходов в ДНК // Доклады НАН Украины.—1994.—№ 2.—С. 73—75.
 91. Гребнева Е. А. Роль водородных связей в процессах образования генных мутаций // Журн. хим. физики.—1993.—12, № 7.—С. 1024—1031.
 92. Gorb L., Leszczynski J. Intramolecular proton transfer in mono- and dihydrated tautomers of guanine: an *ab initio* post Hartree-Fock study // J/ Amer. Chem. Soc.—1998.—120, N 20.—P. 5024—5032.
 93. Gorb L., Podolyan Y., Leszczynski J. A theoretical investigation of tautomeric equilibria and proton transfer in isolated and monohydrated cytosine and isocytosine molecules // J. Mol. Struct. (Theochem).—1999.—487.—P. 47—55.
 94. Smedarchina Z., Siebrand W., Fernandez-Ramos A., Gorb L., Leszczynski J. A direct-dynamics study of proton transfer through water bridges in guanine and 7-azaindole // J. Chem. Phys.—2000.—112, N 2.—P. 566—573.
 95. Podolyan Y., Gorb L., Leszczynski J. Protonation of nucleic acid bases. A comprehensive post-Hartree-Fock study of the energetics and proton affinities // J. Phys. Chem.—2000.—104, N 31.—P. 7346—7352.
 96. Степанюгіт А. В., Коломісць І. М., Потягайло А. Л., Тригубенко С. А., Богдан Т. В., Самійленко С. П. Вплив метилювання та взаємодій з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів. Гіпоксантин і ксантин // Біополімери і клітка.—2001.—17, № 1.—С. 43—60.
 97. Zundel G. Hydrogen bonds with large proton polarizability and proton transfer processes in electrochemistry and biology // Adv. Chem. Phys.—2000.—111.—P. 217.
 98. Гребнева Е. А. Один из механизмов образования потенциальных транзаций при ультрафиолетовом облучении ДНК // Физика и техника высоких давлений.—1996.—6, № 3.—С. 141—151.
 99. Бартлроп Дж., Коул Дж. Возбужденные состояния в органической химии.—М.: Мир, 1978.—446 с.
 100. Мосса И. Б. Радиогенетические эффекты в клетках эукариот // Радиационный мутагенез и его роль в эволюции и селекции.—М.: Наука, 1987.—С. 73—83.
 101. Catalan J., Perez P. Photoinduced double proton transfer in a model hydrogen bonded base pairs. Theor. study // J. Theor. Biol.—1979.—81.—P. 213—221.
 102. Rein R., Harris F. E. Studies of hydrogen-bonded systems. II Tunneling and tautomeric equilibria in the N-H...N hydrogen bond of the guanine-cytosine base pair // J. Chem. Phys.—1965.—42, N 6.—P. 2177—2180.
 103. Ольховская Ж. П., Толпыго К. Б. Изменение состояния водородной связи при оптическом возбуждении спаренных оснований нуклеиновых кислот // Укр. физ. журн.—1970.—15, № 9.—С. 1453—1458.
 104. Векишин Н. Л. Фотоника биологических структур.—Пушчино, 1988.—51 с.
 105. Векишин Н. Л. Перенос возбуждения в макромолекулах.—М.: ВИНТИ, 1989.—164 с. (Итоги науки и техники. Сер. Радиационная химия. Фотохимия; Т. 7)
 106. Гребнева Е. А., Толпыго К. Б. Влияние водородных связей между спаренными основаниями ДНК на колебания их боковых групп // Укр. физ. журн.—1989.—34.—С. 832—838.
 107. Tolpygo K. B., Grebneva H. A. Effect of the state of h-b-1 hydrogen bond of the character of some atom vibrations in guanine-cytosine pair of the DNA molecule // Int. J. Quant. Chem.—1996.—57.—P. 219—227.
 108. Гребнева Е. А., Толпыго К. Б. Кристаллические и локальные колебания в поли (дГ)—поли (дЦ), взаимодействующие с водородной связью h-b-1 // Журн. физ. химии.—1997.—71, № 5.—С. 932—937.
 109. Grebneva H. A., Tolpygo K. B. Crystalline and local vibrations of paired bases in poly (dG)-poly (dC) interacting with the h-b-1 hydrogen bond // Int. J. Quant. Chem.—1997.—62.—P. 115—124.
 110. Гребнева Е. А., Толпыго К. Б. Электростатическое взаимодействие, протонный потенциал и свойства водородных связей в системе гуанин-цитозин // Укр. физ. журн.—1988.—33, № 10.—С. 1456—1462.
 111. Гребнева Е. А. Протонные потенциалы для широкого спектра изменения длины водородной связи в димере воды // Журн. структур. химии.—1997.—38, № 3.—С. 422—430.
 112. Соколов Н. Д. Водородная связь // Успехи физ. наук.—1955.—57, № 2.—С. 205—278.
 113. Водородная связь / Под ред. Н. Д. Соколова, В. М. Чулановского.—М.: Наука, 1964.—340 с.
 114. Grebneva H. A., Tolpygo K. B. The heat deexcitation of hydrogen bond protons in paired bases of DNA molecules // Stud. biophys.—1990.—135, N 2.—P. 115—120.
 115. Гребнева Е. А., Толпыго К. Б. Тепловые переходы в молекуле ДНК. Времена жизни возбужденной h-b-1 водородной связи в спаренных основаниях гуанин-цитозин // Биофизика.—1990.—34, № 3.—С. 395—398.
 116. Гребнева Е. А., Иванов М. О. Возможные молекулярные механизмы образования мутаций немшенного типа при SOS-репликации двухцепочной ДНК // Біополімери і клітка.—2001.—17, № 5.—С. 388—395.
 117. Raghunathan G., Kieber-Emmons T., Rein R., Alderfer J. L. Conformation features of DNA containing a sis-syn photodimer // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1990.—7, N 4.—P. 899—913.

118. *Говорун Д. М.* Структурно-динамічна модель спонтанних напіврозкритих станів ДНК // *Биополимеры и клетка.*—1997.—13, № 1.—Р. 39—45.
119. *Novak M. J., Les A., Adamowicz L.* Application of *ab initio* quantum mechanical calculations to assign matrix-isolation IR spectra of oxopyrimidines // *Trends Phys. Chem.*—1994.—4.—Р. 137—168.
120. *Франк-Каменецкий М. Д.* Флуктуационная подвижность ДНК // *Молекуляр. биология.*—1983.—17, № 3.—С. 639—652.
121. *Волков С. Н.* Приоткрытое состояние двойной спирали ДНК // *Молекуляр. биология.*—1995.—29, № 5.—С. 1086—1094.
122. *Гребнева Е. А.* Молекулярные механизмы образования мутаций замены оснований при пострепликативной SOS-репарации двухцепочечной ДНК, содержащей тиминовые димеры // *Биополімери і клітина.*—2001.—17, № 6.—С. 487—500.
123. *Гребнева О. А.* Природа та механизм утворення гарячих крапок ультрафіолетового мутагенезу // Тези доповідей II з'їзду Укр. біофіз. тов-ва (29 червня—3 липня 1998, Харків).—Харків, 1998.—234 с.
124. *Stoler A. B.* Genes and cancer // *Brit. Med. Bull.*—1991.—47, N 1.—Р. 64—75.
125. *Дубинин Н. П.* Новое в современной генетике.—М.: Наука, 1986.—206 с.
126. *Хесин Р. Б.* Непостоянство генома.—М.: Наука, 1984.—472 с.
127. *Бочков Н. П., Чеботарев А. И.* Наследственность человека и мутагены внешней среды.—М.: Медицина, 1989.—270 с.
128. *Кордюм В. А.* И тогда я сел писать эту книгу (не совсем обычные представления о генетике человека).—Киев: Укр. отд-ние Всемир. лаб., 1993.—248 с.
129. *Полтев В. И., Шулюпина Н. В., Брусков В. И.* Молекулярные механизмы неправильности биосинтеза нуклеиновых кислот. Теоретическое изучение узнавания ДНК-полимеразами комплементарных пар оснований // *Молекуляр. биология.*—1995.—29, № 5.—С. 1011—1022.
130. *Dikomey E., Franzke J.* Three classes of DNA strand breaks induced by X-irradiations and internal-rays // *Int. J. Radiat. Biol.*—1986.—50.—Р. 893—908.
131. *Lett J. T., Cox A. B., Bertold D. S.* Cellular and tissue responses of heavy ions: basic considerations // *Radiat. Environ. Biophys.*—1986.—25.—Р. 1—12.
132. *Hagen U.* Current aspects on the radiation-induced base damage in DNA // *Radiat. Environ. Biophys.*—1986.—25.—Р. 261—271.
133. *Teoule R.* Radiation-induced DNA damage and its repair // *Int. J. Radiat. Biol.*—1987.—51.—Р. 573—589.

УДК 575.24.576.831.48
Надійшла до редакції 19.12.2000