

# МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ СПОНТАННИХ ТА ІНДУКОВАНИХ ТОЧКОВИХ МУТАЦІЙ ТА ЇХ ЗНАЧЕННЯ ДЛЯ РОЗРОБКИ ЗАСОБІВ ЛІКУВАННЯ ОНКОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

**Броварець Ольга Олександрівна**

Д.ф.-м.н., с.н.с., провідний науковий співробітник відділу молекулярної та квантової біофізики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

e-mail: o.o.brovarets@imbg.org.ua; o.o.brovarets@gmail.com

Інтригуюча тема виникнення спонтанних та індукованих аналогами нуклеотидних основ точкових мутацій бентежить розум дослідників протягом кількох десятиліть, змушуючи думати, що неправильні пари основ ДНК є їхнім першоджерелом (*Brookhaven Symp. Biol.*, 1959, 12, 63). Проте фізико-хімічні механізми цих біологічно важливих процесів нині так і не встановлено.

Дж. Вотсон та Фр. Крик припустили, що мутагенні таутомери основ ДНК можуть спричиняти виникнення спонтанних точкових мутацій (*Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1953, 18, 123). Проте, шляхи їхнього утворення в парах основ ДНК залишаються незрозумілими.

На противагу цьому підходу, інші дослідники вважають, що спонтанні точкові мутації виникають внаслідок утворення неправильних пар основ ДНК у основній, канонічній таутомерній формі – так звані вобл або зміщені пари основ аденін·цитозин (A·C) та гуанін·тимін (G·T) (*Int. J. Quantum. Chem.*, 1983, 23, 1295). Однак, механізми їхньої адаптації до ензиматично-компетентних розмірів у жорсткій, слабо деформованій кишені впізнавання високоточної ДНК-полімерази залишаються незрозумілими.

Окреслення повної множини неправильних пар основ ДНК, причетних до виникнення спонтанних точкових мутацій, та шляхів набуття ними ензиматично-компетентної конформації у кишені впізнавання високоточної реплікативної ДНК-полімерази у її закритій конформації є центральним питанням у теорії цих біологічно важливих процесів (*Int. J. Quantum. Chem.*, 1983, 23, 1295).

У цьому дослідженні вперше доведено, що загальноприйнятий механізм подвійного перенесення протонів вздовж сусідніх міжмолекулярних Н-зв'язків у Вотсон-Криківських (*Rev. Mod. Phys.*, 1963, 35, 724) та воблівських (*Chem. Phys. Lett.*, 2008, 457, 232) парах основ, а також у білково-нуклеїнових контактах (*Angew. Chem. Int. Ed.*, 1990, 29, 36) не може бути джерелом утворення мутагенних таутомерів основ ДНК через динамічну нестійкість фінальних таутомеризованих комплексів, що містять мутагенні таутомери (*J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2014, 32, 127; *J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2014, 32, 1474; *J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2015, 33, 2716; *J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2012, 29, 1101; *J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2015, 33, 674).

Вперше окреслено повний набір 12 неправильних пар основ ДНК, які є першопричиною виникнення транзицій і трансверсій, детермінуючи як помилки включення, так і помилки реплікації: A·C\*/C\*·A, G\*·T/T·G\*, G·A<sub>syn</sub>, A\*·G\*<sub>syn</sub>, A\*·A<sub>syn</sub>, G·G\*<sub>syn</sub>, C·T/T·C, C·C\* і T·T\*. Саме ці неправильні пари, які доволі легко набувають ензиматично-компетентної конформації у кишені впізнавання високоточної реплікативної ДНК-полімерази у процесі термічних флуктуацій, повинні експериментально спостерігатися у закритій конформації останньої.

Вперше запропоновано новий теоретичний підхід до з'ясування мікроструктурних механізмів зародження помилок включення та реплікації, що виникають при біосинтезі ДНК. Вперше встановлено, використовуючи квантово-хімічні розрахунки (MP2/DFT) та квантову теорію "Атомів у молекулах", внутрішньоприаманну властивість пуриново·піримідинових (A·T, G·C, G·T і A·C), пуриново·пуринових (A·A, A·G і G·G) та піримідиново·піримідинових (C·C, C·T і T·T) неправильних пар основ ДНК здійснювати вобл↔Вотсон-Крик (WC) таутомерні перетворення послідовним внутрішньопарним перенесенням протонів, що є вирішальним для розуміння мікроструктурних механізмів спонтанних транзицій та трансверсій (*Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, 17, 15103; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, 17, 21381; *RCS Adv.*, 2015, 5, 66318; *RCS Adv.*, 2015, 5, 99594; *J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2015, 33, 2297; *J. Biomol. Struct. & Dynam.*, 2015, 33, 2710). Виявлено, що ці процеси таутомеризації реалізуються через високостабільні, високополярні та цвітеріонні перехідні стани типу (протонована основа)-(депротонована основа). Ці взаємоперетворення супроводжуються суттєвою перебудовою неправильних пар основ з Вотсон-Криківською геометрією у місметчі, зміщені в бік мінорної та мажорної борозенок ДНК і навпаки. Більше того, встановлено, що ці реакції таутомеризації відбуваються недисоціативно та супроводжуються послідовною зміною унікальних патернів міжмолекулярних специфічних взаємодій вздовж внутрішньої координати реакції таутомеризації.

Встановлено, що усі довгі пуриново-пуринові неправильні пари основ ДНК здатні набувати ензиматично-компетентних конформацій шляхом конформаційних перетворень:  $A^* \cdot A(WC) \rightarrow A^* \cdot A_{syn}(TF)$ ,  $G \cdot A(WC) \rightarrow G \cdot A_{syn}$ ,  $A^* \cdot G^*(WC) \rightarrow A^* \cdot G^*_{syn}$  та  $G \cdot G^*(WC) \rightarrow G \cdot G^*_{syn}$  (*Ukr. J. Phys.*, 2015, 60, 748), що зрештою гарантує їхню хімічну інкорпорацію у структуру подвійної спіралі ДНК, що синтезується (TF – Топал-Фреско, *syn* – *син*-орієнтація основи відносно цукрово-фосфатного залишку).

Представлені результати є важливими для розуміння структурних механізмів спонтанних транзицій і трансверсій, оскільки вони дозволяють, з одного боку, пояснити джерело виникнення мутагенних таутомерів перед реплікацією ДНК, а з іншого – встановити, у який спосіб неправильні пуриново-піримідинові, пуриново-пуринові та піримідиново-піримідинові воєл пари адаптуються до ензиматично-компетентних розмірів у центрі впізнавання високоточної ДНК-полімерази.

Отримані результати дозволяють пояснити низку біологічних експериментів, представлених у літературі, які залишалися без належного теоретичного обґрунтування:

- Отримані чисельні оцінки частот виникнення точкових мутацій задовільно узгоджуються з експериментальними даними:  $(10^{-3} \div 10^{-4}) G \cdot T/T \cdot G \gg A \cdot C/C \cdot A \gg C \cdot T/T \cdot C > A \cdot A > G \cdot A/A \cdot G \gg G \cdot G \approx C \cdot C$  ( $10^{-6}$ ) (*Nucl. Acids Res.*, 1992, 20, 4567).

- Встановлені  $A \cdot C(w) \leftrightarrow A \cdot C^*(WC)$  та  $G \cdot T(w) \leftrightarrow G^* \cdot T(WC)$  воєл(w)  $\leftrightarrow$  Вотсон-Крик(WC) перетворення через послідовне перенесення протонів дозволяють зрозуміти шляхи набуття неправильними воєл парами  $A \cdot C(w)/G \cdot T(w)$  Вотсон-Криківської геометрії у складі активного центру високоточної реплікативної ДНК-полімерази або дуплексу ДНК для інтерпретації кристалографічних (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, 108, 1862; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2011, 108, 17644–17648) та ЯМР (*Nature*, 2015, 519, 315) експериментів.

- Запропонований підхід дозволяє з'ясувати структурні механізми мутацій, індукованих класичними мутагенами (2-амінопурин, галоген-похідні урацилу, аналоги цитозину), для яких теоретичні результати гарно узгоджуються з експериментальними даними. Механізми дії цих мутагенів пов'язані безпосередньо зі зниженням прямого бар'єру воєл  $\leftrightarrow$  Вотсон-Крик реакції таутомеризації або/та із зростанням заселеності таутомеризованих станів за участю мутагенів (*RSC Adv.*, 2016, 6, 99546).

Встановлена нами нова властивість канонічних пар основ ДНК  $A \cdot T(WC)$  і  $G \cdot C(WC)$  перетворюватися у воєлівські неправильні пари за участю мутагенних таутомерів дозволяє зрозуміти природу варіабельності геному та значно розширює можливості для раціонального дизайну мутагенів спрямованої дії, які можуть бути корисними для синтетичної біології та біотехнології (*RSC Adv.*, 2015, 5, 99594).

Коротко йдеться про значення отриманих результатів для розробки засобів лікування онкологічних захворювань.

Авторка щиро вдячна науковому консультанту проф. Д.М. Говоруку за постановку задачі та плідне обговорення отриманих результатів.

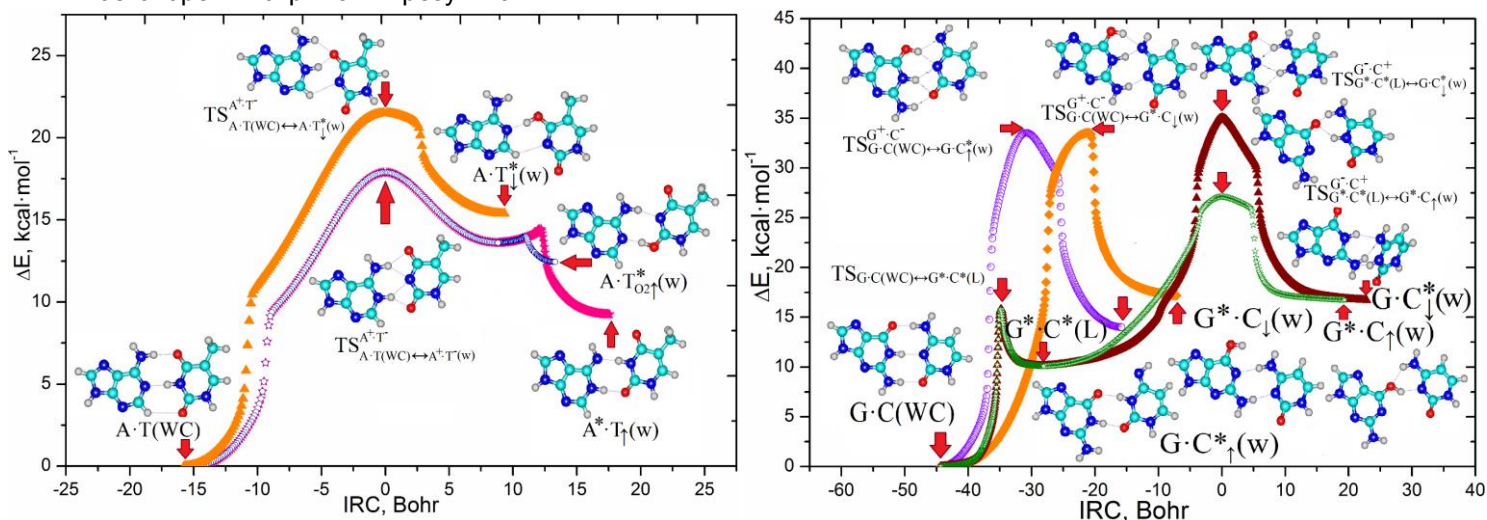


Рисунок. Новий фізико-хімічний механізм мутагенної таутомеризації Вотсон-Криківських пар основ ДНК  $A \cdot T(WC)$  (ліворуч) та  $G \cdot C(WC)$  (праворуч).