

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ С ДЕФЕКТАМИ В СИСТЕМЕ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ

А. Н. Бугай<sup>1</sup>, М. А. Васильева, Е. А. Красавин, А. Ю. Пархоменко

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Построена математическая модель УФ-индуцированного мутационного процесса в бактериальных клетках *Escherichia coli*, несущих дефекты в генах *uvrA* и *polA*. Модель детально описывает кинетику элементарных реакций в системе эксцизионной репарации. Проведен расчет числа ошибок, возникающих в результате translesion-синтеза в клетках дикого типа и в клетках указанных мутантов. Предсказан эффект временной модуляции количества одностречевой ДНК в ходе пострепликативной репарации. Проведено сравнение эффективности работы различных систем репарации.

A mathematical model of the UV-induced mutation process in *Escherichia coli* bacteria cells with defects in *uvrA* and *polA* genes has been developed. The model describes in detail the reaction kinetics for excision repair system. The number of mismatches as results from translesion-synthesis is calculated for both wild-type and mutant cells. An effect of temporal modulation for amount of single-stranded DNA during post-replication repair is predicted. A comparison of repair system efficiency is conducted.

PACS: 87.18.Cf; 82.39.Rt; 87.53.-j

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из ключевых проблем математического моделирования в области радиобиологии является предсказание генетического действия излучений с различными характеристиками. При этом важная роль отводится изучению систем репарации полученных физико-химических повреждений. В случае невозможности безошибочно устранить возникшие повреждения происходит накопление ошибок, проявляющихся в виде мутаций, или гибель клеток.

Действие на бактерии *Escherichia coli* (*E. coli*) ультрафиолетового (УФ) излучения экспериментально хорошо изучено (рис. 1), что позволяет осуществить детальное математическое описание всех этапов индуцированного мутационного процесса с целью выявления новых закономерностей.

---

<sup>1</sup>E-mail: bugay@jinr.ru

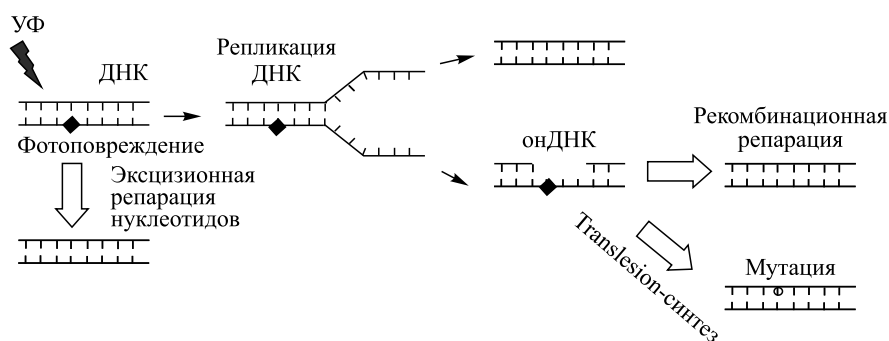


Рис. 1. Схема ключевых путей репарации УФП в бактериальных клетках

Воздействие УФ-излучения приводит к формированию в молекуле ДНК первичных УФ-повреждений (УФП), среди которых основными являются пиримидиновые димеры [1]. Основная роль эксцизионной репарации нуклеотидов (ЭРН) [2] состоит в поиске, распознавании и удалении первичных фотоповреждений в отсутствие фотореактивации. Установлено, что при нормальном функционировании ЭРН у микроорганизмов до начала репликации ДНК удаляется до 80 % имеющихся повреждений, из клеток высших организмов — до 70 %. Поэтому основное внимание в данной работе будет уделено именно эксцизионной репарации. В клетках *E. coli* специальные белки, кодируемые семейством *uvr*-генов, находят и вырезают участок однонитевой ДНК (онДНК) длиной 12 нуклеотидов, содержащий УФП, с образованием бреши. Затем образовавшаяся брешь восстанавливается ДНК-полимеразой I и ДНК-лигазой.

Если в цепи ДНК возникает так много повреждений, что в ходе эксцизионной репарации клетка не может их полностью устранить, то в процессе репликации ДНК в дочерних нитях на месте повреждений, имеющихся в материнской нити, образуются бреши из однонитевой ДНК [3]. Часть их может быть восстановлена в ходе процессов пострепликативной репарации. Одним из таких механизмов репарации брешей у бактериальных клеток является рекомбинационный обмен между сестринскими дуплексами (рекомбинационная репарация) [4], ключевой регулятор которого белок RecA. Образуя протеазную конформацию RecA\* при связывании с онДНК, данный белок также приводит к расщеплению белка-репрессора LexA, который осуществляет запуск индуцибельной SOS-репарации [5]. Продукты генов *umuD* и *umuC* в ходе сложной системы взаимодействий образуют полимеразный комплекс Pol V, способный вести синтез ДНК по поврежденной матрице ценой возникновения ошибок (translesion-синтез (TLS)) [6], реализуя, таким образом, мутагенный путь пострепликативной репарации. Отметим, что SOS-индукция генов *uvrA*, *uvrB* и *uvrD* стимулирует также и работу системы эксцизионной репарации.

Хотя в последние годы достигнут определенный прогресс в создании математических моделей SOS-ответа [7–10], детального моделирования системы ЭРН и ее влияния на мутагенез еще не было выполнено. Целью данного исследования являются формулировка и анализ модели, описывающей влияние дефектов в системе ЭРН на интенсивность TLS в бактериальных клетках и, как следствие, на выход мутаций.

## 1. ФОРМУЛИРОВКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

**1.1. Репликация ДНК.** Согласно устоявшимся представлениям [3], одностранные бреши образуются при встрече репликативного комплекса с поврежденным участком ДНК. Таким образом, необходимо детальное изучение репликативной кинетики, чтобы вычислить последовательность молекулярных событий в ходе обнаружения и устранения повреждений ДНК.

Репликация кольцевой хромосомы *E. coli* является двунаправленной. Две репликативные вилки начинают движение в противоположных направлениях от специфической точки в ДНК (область начала репликации) вдоль хромосомы с одинаковыми скоростями до тех пор, пока они не встретятся в точке окончания репликации. При столкновении репликативной вилки с каким-либо препятствием происходит ее остановка или коллапс (разрушение), длящийся до тех пор, пока репарационные системы не восстановят движение вилки. Существует несколько путей, при которых репликация может быть заблокирована. Во-первых, при столкновении репликативной вилки с УФП репликативный комплекс может возобновить свое движение, оставляя участок онДНК на дочерней нити [3]. Во-вторых, подобная ситуация может возникнуть, когда белковый комплекс связан с УФП. Предполагается, что белковый блок устраняется системой рекомбинационной репарации. В-третьих, когда на матричной цепи встречается одностранный разрыв ДНК, это приводит к коллапсу репликативной вилки [4]. В этом случае восстановление также происходит путем рекомбинационной репарации с участием белков RecBC и RecA. Все три указанных случая приводят к образованию онДНК.

Кинетические уравнения репликации ДНК в присутствии дефектов можно записать в следующей форме [11]:

$$\frac{df}{dt} = 2v_0\rho, \quad (1)$$

$$\frac{d\rho}{dt} = I(1-f) - \frac{v_0\rho \sum_i n_i}{L(1-f)} + \sum_i \frac{\rho_i}{\tau_i} - \frac{v_0\rho(2\rho + \sum_i \rho_i)}{1-f}, \quad (2)$$

$$\frac{d\rho_i}{dt} = \frac{v_0\rho n_i}{L(1-f)} - \frac{\rho_i}{\tau_i} - \frac{v_0\rho\rho_i}{1-f}, \quad (3)$$

где  $f(t)$  — доля реплицированной ДНК;  $v_0$  — скорость движения репликативной вилки в необлученной ДНК;  $\rho(t)$  — локальная плотность репликативных вилок;  $I(t)$  — скорость образования репликативной вилки (скорость нуклеации). Следует заметить, что в случае прокариот (но не в случае эукариот) последняя величина может быть принята константой  $I = I_0$ . В высших организмах зависимость от времени нуклеация происходит неравномерно вдоль хромосомы, так что одновременно существует большое количество находящихся в движении репликативных вилок.

Количество заблокированных репликативных вилок задается плотностью  $\rho_i(t)$  с учетом повреждений и различных типов белковых комплексов. Предполагается, что распределение повреждений вдоль хромосомы является равномерным после облучения и остается таким в ходе репарации [7]. Таким образом, плотности повреждений в формулах (1)–(3) задаются долями  $n_i/(L(1-f))$  в зависимости от соответствующих концентраций  $n_i$   $i$ -го комплекса, где  $L$  — длина генома *E. coli*. Характерное время от остановки до возобновления репликации обозначается  $\tau_i$ .

Доля ДНК, прошедшей репликацию, в случае отсутствия повреждений может быть рассчитана в явном виде:

$$f = 1 - \exp(-v_0 I_0 t^2). \quad (4)$$

Скорость образования онДНК может быть рассчитана как сумма пропущенных оснований  $s$  до момента, пока остановившаяся репликативная вилка не возобновит движение. Таким образом, суммарная скорость  $V_s^{(+)}$  образования пробелов онДНК пропорциональна числу  $L\rho_i$  остановившихся репликативных вилок:

$$V_s^{(+)} = \sum_i v_i L\rho_i, \quad (5)$$

где  $v_i = L_g/\tau_i$  — эффективная скорость образования онДНК при наличии повреждения типа  $i$ ;  $L_g$  — средняя длина брешы.

**1.2. Эксцизионная репарация.** ЭРН является одним из самых универсальных путей репарации ДНК. Механизм ЭРН представляет собой распознавание и проверку первичного повреждения, вырезание фрагмента онДНК, содержащей поврежденное основание, и ресинтез образовавшихся брешей (рис. 2). В *E. coli* три экзонуклеазные субъединицы, UvrA-, UvrB-, UvrC- и UvrD-геликаза, участвуют в этих этапах.

В растворе UvrA образует димер, который связывается с поврежденной матрицей ДНК. UvrB взаимодействует с димером UvrA<sub>2</sub>, образуя комплекс UvrA<sub>2</sub>B. Этот комплекс изменяет АТФазную активность и непосредственно распознает поврежденную ДНК. После связывания с ДНК комплекс UvrA<sub>2</sub>B-ДНК подвергается конформационным изменениям. Повреждение остается в тесном контакте с UvrA, а потом оно передается UvrB. Затем UvrA<sub>2</sub> диссоциирует из комплекса. Образуется стабильный UvrB-DNA-комплекс. UvrC связывается с этим комплексом и образует преинцизионный комплекс, катализирующий надрезы 3' и 5', которые находятся на расстоянии примерно 12 пар нуклеотидов друг от друга. После инцизии геликаза UvrD связывается с комплексом и начинает раскручивать образовавшийся фрагмент в 12 нуклеотидов до его удаления и затем диссоциирует из комплекса. Наконец, ДНК-полимераза PolI, основным компонентом которой является белок PolA, заполняет возникшие разрывы онДНК, при этом белок UvrB диссоциирует. Репаративный синтез завершает ДНК-лигаза, которая соединяет концы разрыва.

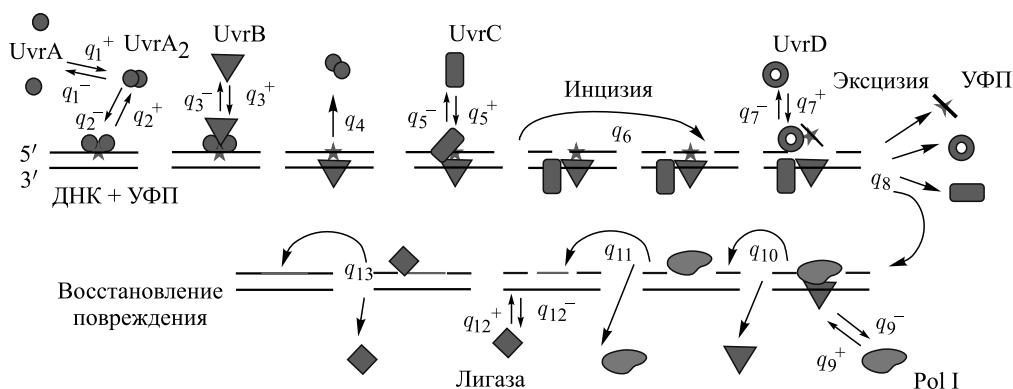


Рис. 2. Схема реакций при работе системы эксцизионной репарации

Количественное описание рассмотренных выше событий может быть представлено в виде схемы реакций, приведенной на рис. 2. В соответствии с ней мы можем написать уравнения для концентраций белков, следуя стандартным правилам химической кинетики.

Когда репликативная вилка встречается повреждение или комплекс ЭРН, происходит диссоциация комплекса в момент времени  $\theta_i$  и дальнейшее образование онДНК. Для того чтобы рассчитать выход онДНК, мы должны учитывать только те комплексы, которые находятся впереди движущейся репликативной вилки. Соответствующая скорость диссоциации  $V_i^{\text{dis}}$  для  $i$ -го комплекса может быть рассчитана как

$$V_i^{\text{dis}} = \delta_i \rho_i, \quad (6)$$

где  $\delta_i = L/\theta_i$ ,  $\theta_i$  — фактическое время диссоциации комплекса, которое должно быть ниже, чем время возобновления движения репликативной вилки  $\theta_i \leq \tau_i$ .

Тогда для молекулярных комплексов, образующихся на ДНК, имеем

$$\frac{dn_1}{dt} = -q_2^+ n_1 x_2 + q_2^- n_2 - \delta_1 \rho_1, \quad (7)$$

$$\frac{dn_2}{dt} = q_2^+ x_2 n_1 - q_2^- x_2 - q_3^+ n_2 x_3 + q_3^- n_3 - \delta_2 \rho_2, \quad (8)$$

$$\frac{dn_3}{dt} = q_3^+ n_2 x_3 - (q_3^- + q_4) n_3 - \delta_3 \rho_3, \quad (9)$$

$$\frac{dn_4}{dt} = q_4 n_3 - q_5^+ n_4 x_4 + q_5^- n_5 - \delta_4 \rho_4, \quad (10)$$

$$\frac{dn_5}{dt} = q_5^+ n_4 x_4 - q_5^- n_5 - q_6 n_5 - \delta_5 \rho_5, \quad (11)$$

$$\frac{dn_6}{dt} = q_6 n_5 - q_7^+ n_6 x_5 + q_7^- n_7 - \delta_6 \rho_6, \quad (12)$$

$$\frac{dn_7}{dt} = q_7^+ n_6 x_5 - q_7^- n_7 - q_8 n_7 - \delta_7 \rho_7, \quad (13)$$

$$\frac{dn_8}{dt} = q_8 n_7 - q_9^+ n_8 x_6 + q_9^- n_9 - \delta_8 \rho_8, \quad (14)$$

$$\frac{dn_9}{dt} = q_9^+ n_8 x_6 - q_9^- n_9 - q_{10} n_9 - \delta_9 \rho_9, \quad (15)$$

$$\frac{dn_{10}}{dt} = q_{10} n_9 - q_{11} n_{10} - \delta_{10} \rho_{10}, \quad (16)$$

$$\frac{dn_{11}}{dt} = q_{11} n_{10} - q_{12}^+ n_{11} x_7 + q_{12}^- n_{12} - \delta_{11} \rho_{11}, \quad (17)$$

$$\frac{dn_{12}}{dt} = q_{12}^+ n_{11} x_7 - q_{12}^- n_{12} - q_{13} n_{12} - \delta_{12} \rho_{12}, \quad (18)$$

где  $n_1$  — число УФП, свободных от белковых комплексов;  $n_2$ – $n_{12}$  обозначают концентрации комплексов UvrA<sub>2</sub>–ДНК, UvrA<sub>2</sub>B–ДНК, UvrB–ДНК, UvrB–UvrC–DNA, UvrB–UvrC–ДНК с инцизией, UvrD–UvrB–UvrC–ДНК, UvrB–онДНК, UvrB–онДНК–PolA, PolA–онДНК, ДНК с разрывом, лигаза–ДНК соответственно (см. рис. 2).

Уравнения для основных белков, задействованных в системе ЭРН, имеют вид

$$\frac{dx_1}{dt} = \frac{\sigma_5}{1 + (r_1/K_5)^{h_5}} - \gamma_d x_1 - q_1^+ x_1^2 + q_1^- x_2, \quad (19)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = -\gamma_d x_2 + q_1^+ x_1^2 - q_1^- x_2 - q_2^+ n_1 x_2 + q_2^- n_2 + (\delta_2 \rho_2 + \delta_3 \rho_3), \quad (20)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = \frac{\sigma_6}{1 + (r_1/K_6)^{h_6}} - \gamma_d x_3 - q_3^+ x_3 n_2 + q_3^- n_3 + q_{10} n_9 + \sum_{i=3}^9 \delta_i \rho_i, \quad (21)$$

$$\frac{dx_4}{dt} = \sigma_7 - \gamma_d x_4 - q_5^+ x_4 x_{10} + q_5^- n_5 + q_8 n_7 + \sum_{i=6}^8 \delta_i \rho_i, \quad (22)$$

$$\frac{dx_5}{dt} = \frac{\sigma_8}{1 + (r_1/K_7)^{h_7}} - \gamma_d x_5 + q_7^+ x_5 n_6 - q_7^- n_7 + q_8 n_7 + \delta_7 \rho_7, \quad (23)$$

$$\frac{dx_6}{dt} = \sigma_9 - \gamma_d x_6 - q_9^+ x_6 n_8 + q_9^- n_9 + q_{11} n_{10} + \sum_{i=9}^{10} \delta_i \rho_i, \quad (24)$$

$$\frac{dx_7}{dt} = \sigma_{10} - \gamma_d x_7 - q_{12}^+ x_7 n_{11} + q_{12}^- n_{12} + q_{13} n_{12} + \delta_{12} \rho_{12}, \quad (25)$$

где  $x_1$ – $x_7$  обозначают концентрации белков UvrA, UvrA<sub>2</sub>, UvrB, UvrC, UvrD, PolA и ДНК-лигазы соответственно,  $\gamma_d$  — коэффициент скорости неспецифической деградации, коэффициенты  $\sigma_i$  определяют скорости синтеза белков. Здесь нами было учтено, что скорость синтеза белков UvrA, UvrB, и UvrD изменяется в ходе SOS-индукции, т. е. зависит от концентрации белка репрессора LexA, обозначенной функцией  $r_1$ .

Возможность выделения комплексов и стадий ЭРН позволяет нам сравнить различные бактериальные клетки, дефектные по генам ЭРН. В принципе их можно разделить на два основных класса. Первый класс не способен устранить первичное повреждение ДНК, а второй не может восстановить образовавшиеся пробелы в дочерней нити ДНК. В данной работе, в качестве примеров этих двух классов, мы рассмотрим клетки, несущие мутации в генах *uvrA* и *polA*.

**1.3. LexA–RecA-система.** Белок LexA является репрессором около 40 генов SOS-системы, включая его собственный. Репрессия может быть снята путем его протеолитического расщепления белковым RecA\*-филаментом. Последний образуется при связывании белка RecA с онДНК (одна молекула RecA на 3–4 нуклеотида). Базовое математическое описание процессов расщепления белка LexA и активации RecA-белка проведено в работах [7, 10], где регуляция синтеза белка LexA описывается при помощи уравнения Хилла. Последние исследования [12] показывают, что расщепление LexA-белка должно быть описано как типичная ферментативная реакция на основе уравнения Михаэлиса–Ментена.

В целях последующего определения числа мутаций общее количество  $s$  образовавшихся брешей онДНК, доступных для связывания с RecA, следует разделить на две части  $s = s_1 + s_2$ . Первый тип субстрата  $s_1$  содержит УФП напротив бреши, а второй  $s_2$  его не содержит. Соответствующие уравнения с учетом (5) примут вид

$$\frac{ds_1}{dt} = \frac{L_f}{L_g} \sum_{i=1}^7 v_i \rho_i - k_1^+ s_1 r_2 + k_1^- r_3, \quad (26)$$

$$\frac{ds_2}{dt} = \frac{L_f}{L_g} \sum_{i=8}^{12} v_i \rho_i - k_1^+ s_2 r_2 + k_1^- r_5, \quad (27)$$

где  $r_2$  — концентрация свободного белка RecA,  $r_3, r_5$  обозначают концентрации соответствующих типов RecA\*-филаментов.

RecA\*-филамент распадается, главным образом, в результате пострепликативной репарации онДНК. Первый тип репарации — безошибочная гомологичная рекомбинация, работающая только на онДНК без УФП. Второй тип — translesion-синтез, который более субстрат-толерантен, чем рекомбинация [4], но это достигается за счет менее точного синтеза, приводящего к мутациям. Следуя [7], мы пренебрегаем многокомпонентностью механизма гомологичной рекомбинации, рассматривая его как процесс первого порядка по белку RecA\* с коэффициентом скорости  $v_R$ .

Регуляция протеазы RecA\* также осуществляется белками RecX и DinI, принадлежащими SOS-регулону. Белок DinI связывается с RecA\*-филаментом, обеспечивая кэп, который предотвращает расщепление белка UmuD и, следовательно, подавляет образование UmuD<sub>2</sub>C-комплекса. Это вызывает подавление SOS-мутагенеза. Действие белка RecX заключается в предотвращении роста RecA\*-филамента с ограничением максимального уровня индуцированного сигнала. Принимая во внимание дополнительные регуляторы, по сравнению с предыдущими работами мы должны отличать скорость спонтанной диссоциации белка RecA из белкового филамента от скорости диссоциации в процессе дестабилизации филамента в присутствии белка RecX. В соответствии с этим мы ввели четыре типа RecA\*-филаментов ( $r_3$ – $r_6$ ), различающихся наличием связи с DinI ( $r_4$  и  $r_6$ ) и типом бреши онДНК ( $r_3$  и  $r_4$  содержат УФП,  $r_5$  и  $r_6$  не содержат УФП).

С учетом вышеперечисленных замечаний уравнения для LexA–RecA-регуляции (см. схему реакций на рис. 3) запишем в виде

$$\frac{dr_1}{dt} = \frac{\sigma_1}{1 + (r_1/K_1)^{h_1}} - \gamma_d r_1 - \frac{k_2(r_3 + r_4 + r_5 + r_6)r_1}{K_m + r_1 + r_3 + r_4 + r_5 + r_6}, \quad (28)$$

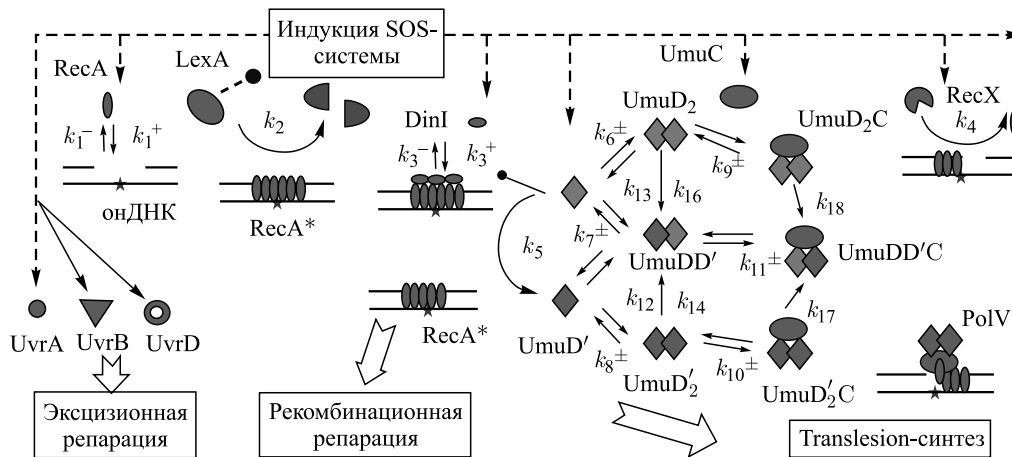


Рис. 3. Схема реакций в ходе SOS-регуляции и translesion-синтеза

$$\frac{dr_2}{dt} = \frac{\sigma_2}{1 + (r_1/K_2)^{h_2}} - \gamma dr_2 + k_4(r_3 + r_5)r_8 - k_1^+(s_1 + s_2)r_2 + (k_1^- + v_R)(r_3 + r_4 + r_5 + r_6) + v_T(p_3 + p_4 + p_5 + p_6), \quad (29)$$

$$\frac{dr_3}{dt} = k_1^+ s_1 r_2 - (k_1^- + v_R)r_3 - k_3^+ r_5 r_3 + k_3^- r_4 - k_4 r_3 r_8 - v_T p_3, \quad (30)$$

$$\frac{dr_4}{dt} = k_3^+ r_3 r_7 - (k_3^- + v_R)r_4 - v_T p_4, \quad (31)$$

$$\frac{dr_5}{dt} = k_1^+ s_2 r_2 - (k_1^- + v_R)r_5 - k_3^+ r_5 r_7 + k_3^- r_6 - k_4 r_5 r_8 - v_T p_5, \quad (32)$$

$$\frac{dr_6}{dt} = k_3^+ r_5 r_7 - (k_3^- + v_R)r_6 - v_T p_6, \quad (33)$$

$$\frac{dr_7}{dt} = \frac{\sigma_3}{1 + (r_1/K_3)^{h_3}} - k_3^+(r_3 + r_5)r_7 + (k_3^- + v_R)(r_4 + r_6) + v_T(p_4 + p_6) - \gamma dr_7, \quad (34)$$

$$\frac{dr_8}{dt} = \frac{\sigma_4}{1 + (r_1/K_4)^{h_4}} - \gamma dr_8, \quad (35)$$

где  $v_T$  — коэффициент скорости translesion-синтеза, а величины  $p_3$ – $p_6$  соответствуют числу комплексов PolV, связанных с RecA\*-филаментами указанных выше типов.

**1.4. Translesion-синтез и мутагенез.** Оперон *umuDC* экспрессируется в довольно поздней стадии SOS-ответа (на  $\sim 40$ -й минуте), но представляет его самую важную часть. Схема регуляции Umu-белков приведена на рис. 3. RecA\*-протеаза способна расщеплять UmuD-белок, переводя его в активную форму UmuD'. В растворе белки UmuD и UmuD' образуют гомодимеры UmuD<sub>2</sub> и UmuD'<sub>2</sub> и гетеродимер UmuDD'. Кроме того, гомодимеры могут обмениваться субъединицами. Оба белка подвержены специфической деградации: Lon-протеаза разрушает белок UmuD, а ClpXP-протеаза разрушает его активную форму.

Все три типа димеров взаимодействуют с белком UmuC. В результате соответствующих реакций образуются три белковых комплекса: UmuD<sub>2</sub>C, UmuDD'C и UmuD'<sub>2</sub>C. Комплекс UmuD<sub>2</sub>C участвует в регуляции клеточного цикла, а UmuDD'C играет роль ингибитора SOS-мутагенеза, подавляя активность UmuD'<sub>2</sub>. Комплекс UmuD'<sub>2</sub>C играет центральную роль в TLS. Тем не менее комплекс UmuD'<sub>2</sub>C–RecA\* АТФ, а не только UmuD'<sub>2</sub>C, представляет собой активное ядро Pol V [13]. Очевидно, это обеспечивает положение TLS на поврежденной матрице ДНК с RecA\*-филаментом. Многокомпонентный комплекс PolV-mut также включает в себя SSB-белок и субъединицы ДНК-полимеразы III.

Уравнения, описывающие кинетику взаимодействий указанных белков согласно схеме на рис. 3, имеют вид

$$\frac{du_1}{dt} = \frac{\sigma_{11}}{1 + (r_1/K_8)^{h_8}} - \gamma_1 u_1 - k_5 u_2 (r_3 + r_5) - k_6^+ u_1^2 + k_6^- u_3 - k_7^+ u_1 u_4 + k_7^- u_5 - k_{12} u_1 u_6 - k_{17}^- u_1 u_9, \quad (36)$$

$$\frac{du_2}{dt} = \frac{\sigma_{12}}{1 + (r_1/K_9)^{h_9}} - \gamma_2 u_2 - (k_9^+ u_3 + k_{10}^+ u_6 + k_{11}^+ u_5) u_2 + k_9^- u_7 + k_{11}^- u_8 + k_{10}^- u_9, \quad (37)$$



$$\frac{du_3}{dt} = k_6^+ u_1^2 - k_6^- u_3 - k_9^+ u_2 u_3 + k_9^- u_7 - \gamma_3 u_3 - k_{13} u_3 u_4 - k_{14} u_3 u_6 - k_{15} u_3 (r_3 + r_5), \quad (38)$$

$$\frac{du_4}{dt} = k_5 u_2 (r_3 + r_5) - k_7^+ u_4 u_1 + k_7^- u_5 - \gamma_4 u_4 - k_8^+ u_4^2 + k_8^- u_6 - k_{13} u_4 u_3 - k_{18} u_4 u_7, \quad (39)$$

$$\frac{du_5}{dt} = k_7^+ u_4 u_1 - k_7^- u_5 - \gamma_5 u_5 - k_{11}^+ u_5 u_2 + k_{11}^- u_8 + k_{12} u_1 u_6 + k_{13} u_4 u_3 + k_{14} u_3 u_6 - k_{15} u_5 (r_3 + r_5), \quad (40)$$

$$\frac{du_6}{dt} = k_8^+ u_4^2 - k_8^- u_6 - \gamma_6 u_6 - k_{10}^+ u_6 u_2 + k_{10}^- u_9 - k_{12} u_1 u_6 - k_{14} u_3 u_6 + k_{15} u_5 (r_3 + r_5) + k_{16} u_3 (r_3 + r_5), \quad (41)$$

$$\frac{du_7}{dt} = k_9^+ u_3 u_2 - k_9^- u_7 - \gamma_7 u_7 - k_{18} u_4 u_7, \quad (42)$$

$$\frac{du_8}{dt} = k_{11}^+ u_5 u_2 - k_{11}^- u_8 - \gamma_8 u_8 + k_{17} u_1 u_9 + k_{18} u_4 u_7, \quad (43)$$

$$\frac{du_9}{dt} = k_{10}^+ u_6 u_2 - k_{10}^- u_9 - \gamma_9 u_9 - k_{17} u_1 u_9, \quad (44)$$

где  $u_1$ – $u_9$  обозначают концентрации белков UmuD, UmuC, UmuD<sub>2</sub>, UmuD', UmuDD', UmuD'<sub>2</sub>, UmuD<sub>2</sub>C, UmuDD'C, UmuD'<sub>2</sub>C соответственно,  $\gamma_1$ – $\gamma_9$  — коэффициенты скорости специфической деградации.

Рассмотрим теперь последовательно процесс возникновения мутаций. Для активации UmuD'<sub>2</sub>C-комплекс сначала связывается с RecA\*-протеазой, содержащей одонитевую пробел ДНК, а затем он начинает репаративный синтез со скоростью  $v_T$ . Известно, что UmuD'<sub>2</sub>C быстро связывается с RecA\* [14], поэтому количество Pol V на RecA\*-филаменте  $i$ -го типа определяется в соответствии с уравнением Михаэлиса–Ментена:

$$p_i = \frac{u_9 r_i}{K_p + r_3 + r_4 + r_5 + r_6}, \quad i = 3, \dots, 6. \quad (45)$$

Известно, что Pol V может вести синтез и на поврежденных (содержащих УФП), и на неповрежденных участках онДНК [15]. Расчет вероятности возникновения неправильной подстановки оснований на различных УФП в ходе SOS-репарации проведем, следуя [10]. Пусть  $m_n$  — вероятность ошибочной подстановки нуклеотида полимеразой Pol V на участках ДНК, которые не содержат УФП, и  $m_u$  — вероятность неправильной подстановки нуклеотида напротив УФП. Тогда вероятность возникновения ошибки при синтезе на поврежденной онДНК:

$$m_d = \frac{2m_u + (L_g - 2)m_n}{L_g}.$$

Используя вероятности неправильной подстановки основания на двух различных матрицах онДНК, можно рассчитать общее количество ошибок  $N_{\text{mut}}$ , образующихся в любое время  $t$  и при любом флюенсе энергии УФ-излучения:

$$N_{\text{mut}} = m_d \int_0^t v_T (p_3 + p_4) dt' + m_n \int_0^t v_T (p_5 + p_6) dt', \quad (46)$$

где числа событий TLS на поврежденных и неповрежденных матрицах, задаваемые первым и вторым слагаемыми соответственно, рассчитываются согласно уравнениям репаративного синтеза с учетом выражения (45).

Сформулированная модель позволяет рассчитать кинетику репликации, число повреждений ДНК, концентрации белков и уровень индуцированного мутагенеза.

**1.5. Параметры модели.** Все уравнения и параметры модели обезразмериваются таким образом, что внутриклеточные концентрации задаются в числе молекул на клетку, а интервалы времени в минутах. Уровень повреждений задается в их числе на полную длину бактериальной хромосомы, составляющую  $L = 4,72 \cdot 10^6$  пар оснований.

Параметр  $I_0$  может быть вычислен через время  $T_0$  репликации *E. coli* в нормальных условиях. Полагая  $f = 1/2$  и  $t = T_0/2$  в (4), получим  $I_0 = 4 \log 2 / (v_0 T_0^2) = 1,6 \cdot 10^8 \text{ мин}^{-1}$ , где  $T_0 = 40 \text{ мин}$ ,  $v_0 = 5,4 \cdot 10^5 \text{ мин}^{-1}$ . Для оценки остальных параметров репликации положим  $\tau_i = \tau$ ,  $\theta_1 = \theta_d$  (блок на УФП),  $\theta_2 = \theta_3 = \dots = \theta_7 = \theta_c$  (блок на комплексе с неудаленным УФП) и  $\theta_8 = \theta_9 = \dots = \theta_{12} = \theta_g$  (блок на онДНК). Фитированием расчетных кривых по известным данным репликации ДНК в клетках дикого типа и мутантных штаммах получим  $\tau = 1,11$ ,  $\theta_d = 0,634$ ,  $\theta_c = 0,138$ ,  $\theta_g = 0,222$ . Величины скоростей репарации и вероятностей неправильной подстановки нуклеотидов известны из литературы:  $v_R = 0,24 \text{ мин}^{-1}$  [7],  $v_T = 17,4$  [40]  $\text{мин}^{-1}$ ,  $m_u = 0,12$  [10],

Значения коэффициентов в реакциях взаимодействий белков

Коэффициент	Значение	Ссылка	Коэффициент	Значение	Ссылка	Коэффициент	Значение	Ссылка
$q_1^+$	0,0049	[27]	$k_5$	0,00011	[37]	$\gamma_7$	0,022	[10]
$q_1^-$	0,0149	[27]	$k_6^+$	0,00016	[37]	$\gamma_8$	0,0154	[10]
$q_2^+$	4	[28]	$k_6^-$	$9,6 \cdot 10^{-7}$	[37]	$\gamma_9$	0,012	[10]
$q_2^-$	0,022	[28]	$k_7^+$	0,0004	[37]	$\gamma_d$	0,0116	[7]
$q_3^+$	0,06	[29]	$k_7^-$	1,25	[37]	$K_p$	156	[14]
$q_3^-$	0,016	[29]	$k_8^+$	0,00019	[37]	$K_m$	540	[12]
$q_4$	0,96	[30]	$k_8^-$	$1,2 \cdot 10^{-6}$	[37]	$K_1$	12	[7]
$q_5^+$	0,0037	[31]	$k_9^+$	0,00032	[10]	$K_2$	1,2	[7]
$q_5^-$	0,19	[31]	$k_9^-$	$1,9 \cdot 10^{-6}$	[37]	$K_3$	20,34	[19]
$q_6$	0,08	[31]	$k_{10}^+$	0,00016	[10]	$K_4$	1,2	[20]
$q_7^+$	$4 \cdot 10^{-4}$	[32]	$k_{10}^-$	$0,9 \cdot 10^{-6}$	[37]	$K_5$	20,34	[2]
$q_7^-$	0,05	[32]	$k_{11}^+$	0,00022	[10]	$K_6$	12,37	[2]
$q_8$	2,5	[32]	$k_{11}^-$	$1,3 \cdot 10^{-6}$	[37]	$K_7$	84	[38]
$q_9^+$	1,44	[33]	$k_{12}$	0,0002	[37]	$K_8$	0,12	[39]
$q_9^-$	166	[33]	$k_{13}$	0,0002	[37]	$K_9$	0,12	[39]
$q_{10}$	23	[33]	$k_{14}$	0,0001	[37]	$h_1$	1,8	—
$q_{11}$	20	[23]	$k_{15}$	0,00007	[37]	$h_2$	1,7	—
$q_{12}^+$	0,065	[24]	$k_{16}$	0,0001	[37]	$h_3$	1	—
$q_{12}^-$	1,4	[24]	$k_{17}$	0,000016	[37]	$h_4$	1,7	—
$q_{13}$	20	[24]	$k_{18}$	0,000016	[37]	$h_5$	1	—
$k_1^+$	$6 \cdot 10^{-4}$	[34]	$\gamma_1$	0,035	[10]	$h_6$	1,6	—
$k_1^-$	0,235	[7]	$\gamma_2$	0,023	[10]	$h_7$	2	—
$k_2$	4,2	[12]	$\gamma_3$	0,015	[10]	$h_8$	1	—
$k_3^+$	0,001	[35]	$\gamma_4$	0,017	[10]	$h_9$	2	—
$k_3^-$	0,529	[35]	$\gamma_5$	0,011	[10]			
$k_4$	0,00138	[36]	$\gamma_6$	0,012	[10]			

$m_n = 3 \cdot 10^{-3}$  [15]. Коэффициенты скорости синтеза белков  $\sigma_1$ – $\sigma_{12}$  рассчитывались согласно условиям равновесия в предположении, что соответствующие производные в уравнениях равны нулю при  $t = 0$ . Значения остальных параметров в реакциях белков сведены в таблицу.

Зависимость числа УФП от флюенса энергии УФ-излучения  $\Psi$  (в Дж·м<sup>-2</sup>) в момент сразу после облучения  $t = 0$  имеет вид  $n_1(0) = 60\Psi$  [3]. Начальные значения концентрации белков следующие:  $r_1(0) = 1300$  [16] и  $r_2(0) = 1300$  [17] для клеток дикого типа,  $r_1(0) = 870$  [16] и  $r_2(0) = 1500$  [17] для мутантных клеток  $uvrA^-$ ,  $r_1(0) = 1300$  и  $r_2(0) = 4745$  [18] для мутантных клеток  $polA^-$ ,  $r_7(0) = 500$  [19],  $r_8(0) = 50$  [20],  $x_1(0) = 50$ ,  $x_2(0) = 500$ ,  $x_3(0) = 250$ ,  $x_4(0) = 400$  [21],  $x_5(0) = 3000$  [22],  $x_6(0) = 400$  [23],  $x_7(0) = 2000$  [24],  $u_1(0) = 100$ ,  $u_2(0) = 15$  [25],  $u_3(0) = 40$ ,  $u_7(0) = 40$ , где учтено  $u_1(0) + 2u_3(0) = 180$  [26]. Для остальных функций начальные значения равны нулю.

## 2. РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования модели с помощью численного моделирования системы уравнений (1)–(3), (7)–(46) рассчитаны кинетика повреждений ДНК, концентраций ключевых белковых комплексов и динамика возникновения индуцированных мутаций в ходе ответа клетки на УФ-излучение.

Чтобы прояснить стратегии, используемые бактериями для удаления повреждений ДНК в случае нарушения работы ЭРН, с клетками дикого типа сравнивались два мутантных штамма, дефектных по генам ЭРН. В случае  $uvrA^-$ -мутантных клеток необходимо положить  $q_2^\pm = 0$ , таким образом блокируя всю цепь событий ЭРН из-за неспособности клеток распознавать УФП. В случае  $polA^-$ -мутантных клеток  $q_9^\pm = 0$ , т. е. короткий разрыв после удаления повреждения остается незаполненным ДНК-полимеразой I. Расчет кинетики репликации ДНК согласуется с известными данными как для клеток дикого типа, так и для  $uvrA^-$ -дефицитных клеток. Для завершения раунда репликации в  $uvrA^-$ -дефицитных клетках требуется гораздо больше времени из-за увеличения числа остановленных репликативных вилок на неотрепарированных повреждениях. В  $polA^-$ -мутантных клетках также наблюдается задержка синтеза ДНК, что может быть объяснено увеличением числа пробелов матричной цепи, которые блокируют репликацию. Данные результаты ясно показывают важность систем дорепликативной репарации.

Вычисленные концентрации белков UvrA и UvrB согласуются с экспериментальными данными [21] и [41] (рис. 4). Вследствие SOS-зависимости синтеза данных белков их уровень увеличивается примерно в 2,5 и 8 раз соответственно при флюенсе энергии УФ-излучения 10 Дж·м<sup>-2</sup>. Данный факт отражает недостаточность равновесных клеточных концентраций белков, осуществляющих первичное распознавание УФП.

Количество онДНК, образовавшейся в нормальных и репарационно-дефицитных клетках, варьирует в зависимости от уровня повреждений, достигая порога примерно в 6000 нуклеотидов (рис. 5, а–в). В клетках дикого типа при нормальном функционировании пострепликативной репарации этот уровень достигается через 50–100 мин. В  $polA^-$ -мутантных клетках ДНК деградирует сильнее, и репарационный процесс длится дольше — до 200 мин. Очевидно, это связано с задержкой восстановления неустраненных в ходе ЭРН брешей длиной 12 нуклеотидов и их последующей деградации экзонуклеазой. В  $uvrA^-$ -клетках деградация онДНК самая сильная и остается стойкой до 6 ч. Эти изменения коррелируют с выживаемостью соответствующих генотипов [5] и рассчитанной

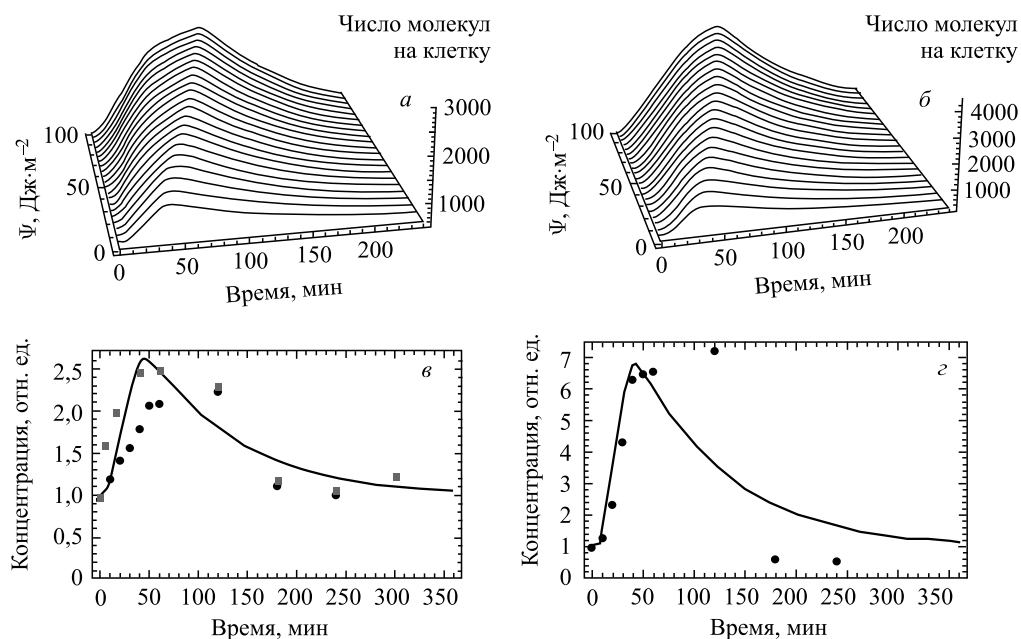


Рис. 4. Динамика концентраций белков UvrA (а) и UvrB (б) в зависимости от времени и флюенса УФ. Сравнение с экспериментальными данными из [21] (темные точки) и [41] (светлые точки) приведено для флюенса  $10 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$  для UvrA (а) и UvrB (б)

частотой мутаций. Для клеток дикого типа рассчитанные уровни LexA и RecA хорошо соответствуют известным экспериментальным данным [16], как и в предыдущих работах авторов [7, 10]. Индукция белков LexA и RecA в *uvrA*<sup>-</sup>-клетках сильнее в 1,5 раза по сравнению со случаем клеток дикого типа и также согласуется с экспериментальными результатами [16, 17]. Данные наблюдений по динамике белков LexA и RecA в *polA*<sup>-</sup>-мутантных клетках отсутствуют, однако соответствующая высокая концентрация RecA коррелирует с повышенным уровнем деградации ДНК. Абсолютные значения индукции RecA отражают интенсивность рекомбинационной репарации. Несмотря на сходство относительной индукции RecA в клетках дикого типа и *polA*<sup>-</sup>-клетках, в последнем случае абсолютный уровень RecA достигает  $100\,000$  молекул на клетку. Это говорит о том, что в *polA*<sup>-</sup>-клетках осуществляется преимущественно рекомбинационная репарация.

Концентрации UmuD<sub>2</sub>C-комплексов, отражающих уровень TLS, представлены на рис. 5, г–е. Соответствующие кривые коррелируют с уровнями онДНК для рассмотренных генотипов. Типичные максимумы концентраций достигаются примерно на 40–50-й минутах, как и наблюдается в экспериментах. Существует начальная задержка в 20 мин, когда комплекс практически отсутствует. Таким образом, у клетки есть некоторое время, чтобы восстановить повреждение безошибочным способом. Эта задержка исчезает, когда белок DinI отсутствует, что вызывает раннее начало TLS и увеличение уровня выхода мутаций согласно [19].

Наконец, количество неправильных замен оснований, отражающих частоту мутации в рамках данной модели, представлено на рис. 6. Как и следовало ожидать, уровень индуцированных мутаций низок в клетках дикого типа, несколько выше в *polA*<sup>-</sup>-клетках и

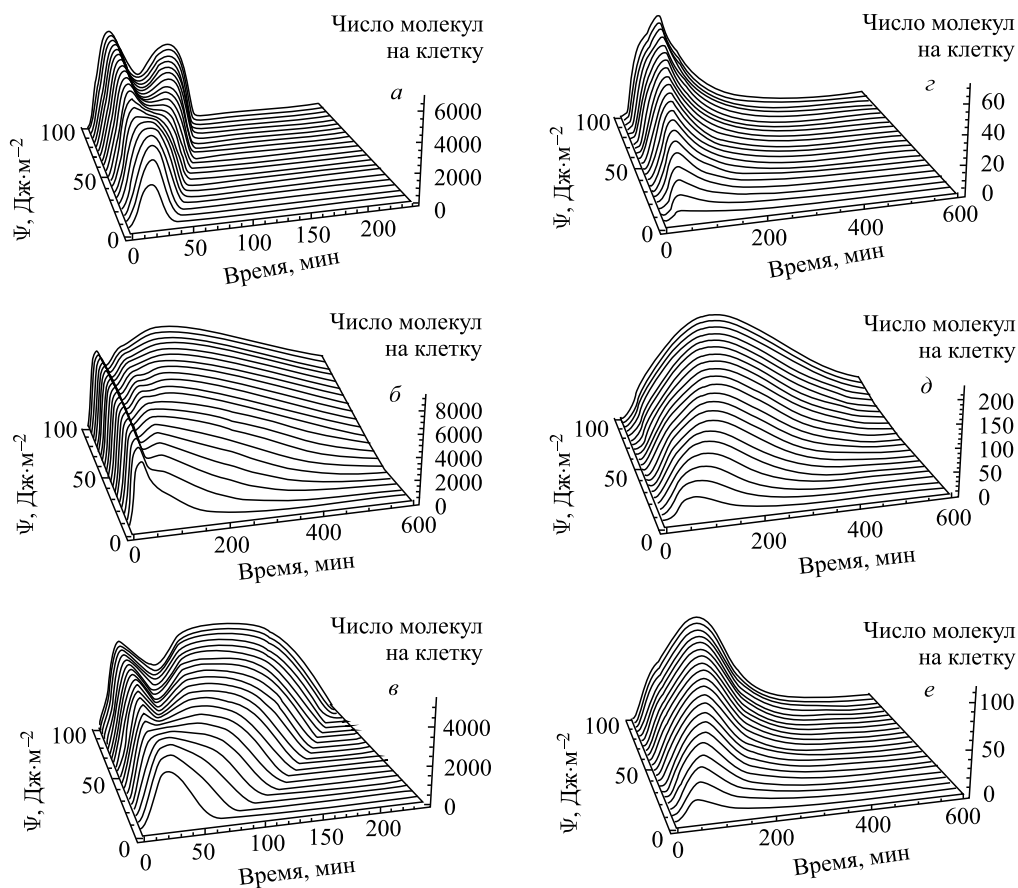


Рис. 5. Динамика концентрации онДНК в случае: клеток дикого типа (а), *uvrA*<sup>-</sup>-мутантов (б) и *polA*<sup>-</sup>-мутантов (в). Приведена также соответствующая динамика концентрации комплекса UmuD<sub>2</sub>C в случае: клеток дикого типа (г), *uvrA*<sup>-</sup>-мутантов (д) и *polA*<sup>-</sup>-мутантов (е)

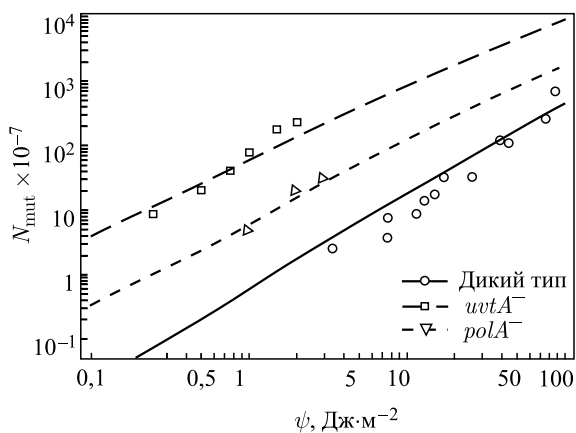


Рис. 6. Частота индуцированных мутаций в зависимости от флюенса энергии УФ-излучения для различных штаммов, имеющих дефекты в системе эксцизионной репарации. Использованы экспериментальные данные из работ [42] и [43]

очень высок в  $uvrA^-$ -клетках. Все расчетные результаты отлично соответствуют экспериментальным наблюдениям. Таким образом, разработанная модель позволяет правильно предсказывать уровень индуцированного мутагенеза, рассматривая всю цепочку событий, начиная с первичного УФ-повреждения и включая ключевые пути репарации поврежденных ДНК.

### 3. ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящая математическая модель сформулирована как результат обобщения современных данных системной биологии, причем из литературных источников по соответствующим экспериментам было внедрено значительное число параметров для описания схем репарационных сетей. Таким образом, полученные количественные результаты косвенно отражают непротиворечивость современного уровня понимания механизмов репарации ДНК и мутагенеза.

Рассмотрим детальнее эффективность работы систем репарации в бактериальных клетках. Проведем расчет характерного времени удаления УФП с помощью ЭРН в зависимости от начального уровня повреждений, т. е. флюенса энергии УФ-излучения в клетках дикого типа (рис. 7, *a*). В условиях умеренных флюенсов энергии УФ-излучения УФП удаляются примерно через 40–120 мин, как это и наблюдается *in vivo* [21]. При высоких флюенсах эффективность ЭРН падает. Очевидно, SOS-зависимость белков ЭРН уже не обеспечивает повышение уровня репаративных белков при высоких значениях ДНК-повреждений. Дефект в системе ЭРН, восстанавливающей первичные повреждения ДНК, приводит к повышению индукции вторичных систем репарации (рекомбинации и TLS), как и следовало ожидать. Мы рассмотрели два основных класса мутантных клеток ЭРН, не способных распознать первичное повреждение ДНК ( $uvrA^-$ ) и не способных восстановить брешь онДНК ( $polA^-$ ), полученную в ходе работы UvrD-геликазы. Можно задать вопросом, как происходит выбор между вторичными системами репарации, а также какова их относительная эффективность. Чтобы ответить на этот вопрос, мы сравнили эффективность работы вторичных репаративных систем путем расчета отношения количества онДНК, восстановленной в ходе TLS, к количеству онДНК,

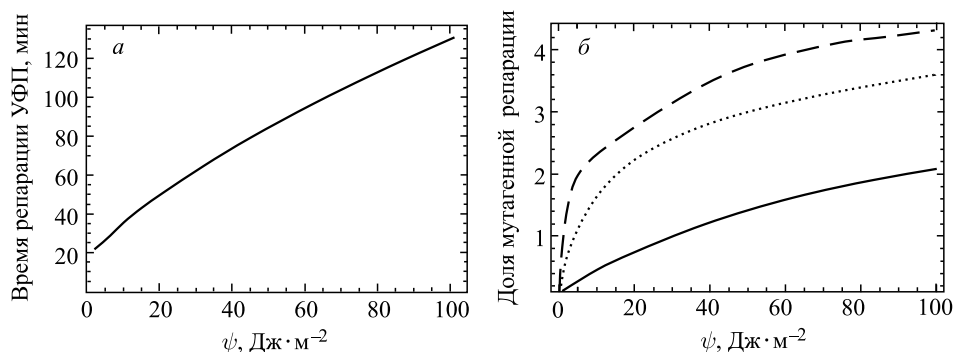


Рис. 7. Эффективность работы бактериальных систем репарации: *a*) зависимость характерного времени удаления УФП посредством ЭРН от флюенса энергии УФ-излучения в клетках дикого типа; *b*) количество онДНК, восстановленной с помощью TLS, по отношению к онДНК, восстановленной гомологичной рекомбинацией, для клеток дикого типа (сплошная линия),  $uvrA^-$ -мутантов (штриховая) и  $polA^-$ -мутантов (пунктирная)

восстановленной путем гомологичной рекомбинации, при заданном времени и флюенсе энергии УФ-излучения (рис. 7, б). Такое сравнение в количественной форме проведено впервые. Как и ожидалось, рекомбинация доминирует при небольших флюенсах энергии УФ-излучения. В клетках дикого типа доля TLS начинает расти лишь с  $30 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$ , достигая примерно двукратного превышения в количестве восстановленной ДНК. В мутантах по ЭРН равные эффективности достигаются уже с  $1\text{--}4 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$ . Отметим также, что равное соотношение эффективности достигается приблизительно через 60 мин для любого рассмотренного типа клеток. Этот факт указывает на точное согласование по времени систем репарации клеток. Другой важный результат заключается в том, что система TLS не может быть эффективнее рекомбинации больше чем в четыре раза, независимо от дефекта в системе ЭРН. Таким образом, оказывается, что клетка ограничена в своей способности восстанавливать повреждения ошибочным способом.

Результаты модели поднимают несколько вопросов о кинетике ключевых белков. Ранние эксперименты по *uvr*-генам говорят о 10-кратном увеличении синтеза белка UvrA [2]. Равновесные концентрации некоторых белков считались значительно более низкими: 20 молекул UvrA, 10 молекул UvrC [2]. Однако в более поздних результатах [21, 41] соответствующие уровни составляют 1000 молекул UvrA и 400 молекул UvrC. Можно предположить, что данное различие объясняется либо развитием техники эксперимента, либо изменчивостью генотипа. Последний факт подтверждается поведением модели, когда при более низких конститутивных уровнях этих белков не заметно каких-либо качественных изменений при более высокой индукции UvrA-белка.

Еще один вопрос, который требует особого внимания, это поведение уровня онДНК, являющегося индуцирующим сигналом SOS-ответа. Наша модель демонстрирует появление локальных минимумов уровней онДНК (рис. 5). Возможно, что это явление указывает на момент, когда безошибочная репарация переходит в репарацию с ошибками. Максимумы в индуцирующем сигнале возникают, когда эффективность TLS примерно в два раза выше, чем эффективность рекомбинации. Чтобы дополнительно проверить этот эффект, были проведены вычисления для случая нарушения работы TLS. Модуляция уровня онДНК в этом случае исчезает. Это предположение коррелирует с экспериментом [44], где наблюдалась временная модуляция активности SOS-генов. Причем было показано, что модуляция находится под контролем *umuDC*-оперона, как и в нашей модели, однако эффект имел стохастическую природу и исчезал при усреднении по клеточной популяции [9]. Но в нашем случае рассматривается усредненная клеточная популяция. Можно предположить, что данная модуляция уровня онДНК отражает переключение между безошибочным и ошибочным путями репарации ДНК. Отметим, что ключевой белок LexA не испытывает существенных признаков модуляции. Таким образом, следует обратиться к экспериментальной проверке в целях выяснения природы обнаруженных явлений. Измерение уровня деградации ДНК при УФ-излучении проводилось достаточно давно [45], причем этих данных явно недостаточно для выявления эффекта. В качестве альтернативы следует измерить кинетику RecA-белка в его протеазной форме RecA\*, т. е. связанного с онДНК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данного исследования была разработана математическая модель УФ-индуцированного мутагенеза в клетках бактерий *E. coli*, воспроизводящая цепочку ключевых молекулярных событий от начального фотоповреждения до возникновения точечных му-

таций в соответствии с актуальными представлениями системной биологии. Стало возможным выявить закономерности влияния дефектов в различных генах на репарацию повреждений, причем впервые произведен расчет выхода мутаций для конкретных дефектных генотипов.

Основное внимание в работе уделено математическому описанию системы ЭРН, включая динамику репаративных комплексов. Это позволяет рассмотреть репарационно-дефицитные клетки *E. coli*, в которых один или несколько путей репарации отсутствуют. Здесь мы показали эту возможность на примере мутантных клеток *uvrA*<sup>-</sup> и *polA*<sup>-</sup>. В этих клетках наблюдаются повышенные уровни деградации ДНК и частоты индуцированных мутаций. Впервые был произведен теоретический расчет концентраций всех белков, задействованных в системе ЭРН, а также частоты индуцированных мутаций, получено хорошее согласие с имеющимися экспериментальными данными.

В настоящей работе впервые было проведено сравнение относительной эффективности рекомбинации и TLS. Оказывается, что TLS может быть не более чем в четыре раза эффективнее гомологичной рекомбинации. Модель предсказывает эффект временной модуляции уровня онДНК как в клетках дикого типа, так и в *uvrA*<sup>-</sup>- и *polA*<sup>-</sup>-мутантах. Можно предположить, что это явление отражает момент перехода между безошибочной и репарацией ДНК с ошибками. Этот эффект можно проверить экспериментально путем измерения уровня онДНК или уровня белка RecA\*.

Таким образом, полученные результаты могут быть использованы для описания реакции бактериальных клеток на излучения с различными характеристиками и другие факторы внешней среды. Возможно дальнейшее развитие данных модельных представлений для описания процессов репликации, репарации и индуцированного мутационного процесса в клетках более сложных организмов — эукариот, в том числе млекопитающих и человека.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cadet J. et al. Photochemistry of Nucleic Acids in Cells // J. Photochem. Photobiol. B. 1992. V. 15. P. 277.
2. Van Houten B. Nucleotide Excision Repair in *Escherichia coli* // Microbiol. Rev. 1990. V. 54. P. 18.
3. Rupp W. D., Howard-Flanders P. Discontinuities in the DNA Synthesized in an Excision-Defective Strain of *Escherichia coli* Following Ultraviolet Irradiation // J. Mol. Biol. 1968. V. 31. P. 291.
4. Kuzminov A. Recombinational Repair of DNA Damage in *Escherichia coli* and Bacteriophage  $\lambda$  // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1999. V. 63. P. 751.
5. Witkin E. M. Ultraviolet Mutagenesis and Inducible DNA Repair in *Escherichia coli* // Bacteriol. Rev. 1976. V. 40. P. 869.
6. Wang Z. Translesion Synthesis by the UmuC Family of DNA Polymerase // Mutat. Res. 2001. V. 486. P. 59.
7. Aksenov S. V. Dynamics of the Inducing Signal for the SOS Regulatory System in *Escherichia coli* after Ultraviolet Irradiation // Math. Biosci. 1999. V. 157. P. 269.
8. Krishna S., Maslov S., Sneppen K. UV-Induced Mutagenesis in *Escherichia coli* SOS Response: A Quantitative Model // PLoS Comp. Biol. 2007. V. 3. P. e41.
9. Ni M. et al. Simulating the Temporal Modulation of Inducible DNA Damage Response in *Escherichia coli* // Biophys. J. 2007. V. 93. P. 62–73.



10. Белов О. В., Красавин Е. А., Пархоменко А. Ю. Динамика SOS-ответа в бактериальных клетках *Escherichia coli* при ультрафиолетовом облучении // Письма в ЭЧАЯ. 2009. Т. 6, № 3(152). С. 418–439.
11. Gauthier M. G., Herrick J., Bechhoefer J. Defects and DNA Replication // Phys. Rev. Lett. 2010. V. 104. P. 218104.
12. Giese K. C., Michalowski C. B., Little J. W. RecA-Dependent Cleavage of LexA Dimers // J. Mol. Biol. 2008. V. 377. P. 148–161.
13. Jiang Q. et al. The Active Form of DNA Polymerase V Is UmuD<sub>2</sub>C RecA\* ATP // Nature. 2009. V. 460. P. 359–363.
14. Bruck I. et al. Purification of a Soluble UmuD<sub>2</sub>C Complex from *Escherichia coli*. Cooperative Binding of UmuD<sub>2</sub>C to Single-Stranded DNA // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 10767–10774.
15. Tang M. et al. Roles of *E. coli* DNA Polymerases IV and V in Lesion-Targeted and Untargeted Mutagenesis // Lett. Nat. 2000. V. 404. P. 1014–1018.
16. Sassanfar M., Roberts J. W. Nature of the SOS-Inducing Signal in *E. coli*. The Involvement of DNA Replication // J. Mol. Biol. 1990. V. 212. P. 79–96.
17. Salles B., Paoletti C. Control of UV Induction of RecA Protein // Proc. of Nat. Acad. Sci. USA. 1983. V. 80. P. 65–69.
18. O'Reilly E. K., Kreuzer K. N. Isolation of SOS Constitutive Mutants of *Escherichia coli* // J. Bacteriol. 2004. V. 186. P. 7149–7160.
19. Yasuda T. et al. Inhibition of *Escherichia coli* RecA Coprotease Activities by DinI // EMBO J. 1998. V. 17. P. 3207–3216.
20. Stohl E. A. et al. *Escherichia coli* RecX Inhibits RecA Recombinase and Coprotease Activities *in vitro* and *in vivo* // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 2278–2285.
21. Lin C. G., Kovalsky O., Grossman L. DNA Damage-Dependent Recruitment of Nucleotide Excision Repair and Transcription Proteins to *Escherichia coli* Inner Membranes // Nucleic Acids Res. 1997. V. 25. P. 3151–3158.
22. Petit M. A. et al. PcrA Is an Essential DNA Helicase of *Bacillus Subtilis* Fulfilling Functions both in Repair and Rolling-Circle Replication // Mol. Microbiol. 1998. V. 29. P. 261–273.
23. Kornberg T., Kornberg A. The Enzymes. V. 10. New York: Acad. Press, 1974.
24. Lehman I. R. The Enzymes. V. 14. New York: Acad. Press, 1974.
25. Goodman M. F., Woodgate R. The Biochemical Basis and *in vivo* Regulation of SOS-Induced Mutagenesis Promoted by *Escherichia coli* DNA Polymerase V (UmuD<sub>2</sub>C) // Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol. 2000. V. 65. P. 31–40.
26. Woodgate R., Ennis D. G. Levels of Chromosomally Encoded Umu Proteins and Requirements for *in vivo* UmuD Cleavage // Mol. Gen. Genet. 1991. V. 229. P. 10–16.
27. Oh E. Y. et al. ATPase Activity of the UvrA and UvrAB Protein Complexes of the *Escherichia coli* UvrABC Endonuclease // Nucleic Acids Res. 1989. V. 17. P. 4145–4159.
28. Mazur S. J., Grossman L. Dimerization of *Escherichia coli* UvrA and Its Binding to Undamaged and Ultraviolet Light Damaged DNA // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 4432–4443.
29. Orren D. K., Sancar A. Formation and Enzymatic Properties of the UvrB.DNA Complex // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 15796–15803.
30. Orren D. K. et al. Post-Incision Steps of Nucleotide Excision Repair in *Escherichia coli* // J. Biol. Chem. 1992. V. 267. P. 780–788.
31. Orren D. K., Sancar A. The (A)BC Excinuclease of *Escherichia coli* Has Only the UvrB and UvrC Subunits in the Incision Complex // Proc. of Nat. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. P. 5237–5241.
32. Mechanic L. E., Frankel B. A., Matson S. W. // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 38337–38346.

33. Bryant F.R., Johnson K.A., Benkovic S.J. Elementary Steps in the DNA Polymerase I Reaction Pathway // *Biochemistry*. 1983. V.22. P.3537–3546.
34. Lavery P.E., Kowalczykowski S.C. Biochemical Basis of the Constitutive Repressor Cleavage Activity of RecA730 Protein. A Comparison to RecA441 and RecA803 Proteins // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 20648–20658.
35. Lusetti S.L. et al. The DinI Protein Stabilizes RecA Protein Filaments // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 30037–30046.
36. Drees J.C. et al. A RecA Filament Capping Mechanism for RecX Protein // *Mol. Cell.* 2004. V. 15. P. 789–798.
37. Ollivierre J.N., Sikora J.L., Beuning P.J. Dimer Exchange and Cleavage Specificity of the DNA Damage Response Protein UmuD // *Biochimica et Biophysica Acta.* 2013. V. 1834. P. 611–620.
38. Viswanathan M., Lovett S.T. Exonuclease X of *Escherichia coli*. A Novel 3′–5′ DNase and DnaQ Superfamily Member Involved in DNA Repair // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 30094–30100.
39. Kitagawa Y. et al. Structural Analysis of the umu Operon Required for Inducible Mutagenesis in *Escherichia coli* // *Proc. of Nat. Acad. Sci. USA.* 1985. V. 82. P. 4336–4340.
40. Fujii S., Fuchs R.P. Defining the Position of the Switches between Replicative and Bypass DNA Polymerases // *EMBO J.* 2004. V. 23. P. 4342–4352.
41. Pruteanu M., Baker T.A. Controlled Degradation by ClpXP Protease Tunes the Levels of the Excision Repair Protein UvrA to the Extent of DNA Damage // *Mol. Microbiol.* 2009. V. 71. P. 912–924.
42. Kato T., Rothman R.H., Clark A.J. Analysis of the Role of Recombination and Repair in Mutagenesis of *Escherichia coli* by UV Irradiation // *Genetics.* 1974. V. 87. P. 1–18.
43. Bates H. et al. Spontaneous and UV-Induced Mutations in *Escherichia coli* K-12 Strains with Altered or Absent DNA Polymerase I // *J. Bacteriol.* 1989. V. 171. P. 2480–2484.
44. Friedman N. et al. Precise Temporal Modulation in the Response of the SOS DNA Repair Network in Individual Bacteria // *PloS Biol.* 2005. V. 3. P. 238.
45. Tang M., Ross M. Single-Strand Breakage of DNA in UV-Irradiated *uvrA*, *uvrB*, and *uvrC* Mutants of *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.* 1985. V. 161. P. 933–938.