

УДК 577.213:575.224.47

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МУТАГЕНЕЗА В mCpG-САЙТАХ ПРИ РЕПЛИКАЦИИ И РЕПАРАЦИИ

© 2023 г. Е. С. Шилкин^а, Д. В. Петрова^{б, в, *}, Д. О. Жарков^{б, в, *,}, А. В. Макарова^{а, **}

^аИнститут молекулярной генетики, Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, 123182 Россия

^бИнститут химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

^вНовосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: dzharkov@niboch.nsc.ru

**e-mail: amakarova-img@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.12.2022 г.

После доработки 06.02.2023 г.

Принята к публикации 08.02.2023 г.

5-Метил-2'-дезоксцитидин (mC) в составе CpG-сайтов играет ключевую роль в эпигенетической регуляции работы генов, механизмах дифференцировки клеток и канцерогенезе. Несмотря на важность mC для нормального функционирования клетки, CpG-динуклеотиды являются горячими точками мутагенеза. mC дезаминируется с образованием Т, вызывая транзиции С→Т. Однако в последние годы появляются отдельные исследования о влиянии эпигенетических модификаций С на точность и эффективность работы ДНК-полимераз и ферментов эксцизионной репарации. В настоящем обзоре обобщены данные, указывающие на существование независимых от дезаминирования механизмов мутагенеза в CpG-сайтах.

Ключевые слова: 5-метил-2'-дезоксцитидин, CpG-сайты, ДНК-полимеразы, повреждения ДНК, репарация

DOI: 10.31857/S0026898423040195, **EDN:** QLYEPA

ВВЕДЕНИЕ

Одной из наиболее распространенных модификаций ДНК в клетках высших эукариот является эпигенетическое метилирование основания С по С5-положению с образованием 5-метил-2'-дезоксцитидина (5-метил-С, mC). Эпигенетическая модификация mC играет ключевую роль в регуляции транскрипции генов, подавлении мобильных элементов, геномном импринтинге, инактивации X-хромосомы и компактизации хроматина [1–3]. Цитозин-ДНК-метилтрансферазы позвоночных специфичны к последовательности CpG, что обеспечивает преимущественное метилирование CpG-динуклеотидов [4]. В геноме человека метилировано >75% CpG-сайтов [3, 5].

Сокращения: ДНКП – ДНК-полимераза; mC – 5-метил-2'-дезоксцитидин, hmC – 5-гидроксиметил-2'-дезоксцитидин, fC – 5-формил-2'-дезоксцитидин, caC – 5-карбоксил-2'-дезоксцитидин, 8-охоG – 8-оксо-2'-дезоксигуанозин, ЦПД – *цис-син*-циклобутановые пиримидиновые димеры, ЭРО – эксцизионная репарация оснований, ЭРН – эксцизионная репарация нуклеотидов, КНО – коррекция неспаренных оснований (мисматчей), TDG – тимин-ДНК-гликозилаза.

Прочность С–С-связи обуславливает высокую химическую стабильность модификации и затрудняет прямое удаление метильной группы. Активное деметилирование в клетках млекопитающих инициируют ТЕТ-диоксигеназы (TET, ten-eleven translocation), последовательно окисляющие mC до 5-гидроксиметил-2'-дезоксцитидина (hmC), 5-формил-2'-дезоксцитидина (fC) и 5-карбоксил-2'-дезоксцитидина (caC) [6–8]. Последние два производных (fC и caC) узнает тимин-ДНК-гликозилаза (TDG), запуская процесс эксцизионной репарации оснований (ЭРО), восстанавливающий исходное неметилированное состояние С [9–11]. Окисленные формы mC менее распространены: у человека метилированы ~4% всех С, тогда как содержание hmC варьирует от ~0.1% (клетки крови и почек) до 1.5% (нейроны головного мозга) [12], а содержание fC и caC оценивается в ~0.0001% от общего числа С [13]. Тем не менее, hmC также принимает участие в эпигенетической регуляции экспрессии генов. Показана роль hmC в дифференцировке стволовых клеток и связь hmC с канцерогенезом [14–16]. Биологическая роль fC и caC менее изучена,

хотя описаны белки, специфично узнающие эти модификации [17, 18].

Несмотря на важность модификаций С для нормального функционирования клетки, СрG-динуклеотиды являются горячими точками мутагенеза. При спонтанном и/или энзиматически индуцированном дезаминировании С образуется dU, а при дезаминировании мС – Т, что приводит к формированию мисматчей dU:G и Т:G и последующей фиксации транзиций С→Т [19, 20]. Вследствие меньшей химической стабильности мС дезаминируется чаще, чем С. Кроме того, репарация мисматчей Т:G менее эффективна, чем dU:G [19, 20]. Показано также, что метилирование С повышает вероятность повреждения ДНК, увеличивая мутагенный потенциал СрG-динуклеотидов. В частности, соседний или комплементарный мС G чаще окисляется с образованием 8-охоG [21] и образует аддукты с канцерогенными соединениями, такими как бенз[а]пирен, афлатоксин В1 и N-гидрокси-2-аминофлуорен [22, 23]. Под действием ультрафиолетового (УФ) излучения мС формирует ряд промутагенных продуктов [24, 25]. Кроме того, некоторые ДНК-синтезирующие ферменты чувствительны к модификации С в ДНК. Например, метилирование С в 2 раза снижает эффективность включения комплементарного dGMP и в 5 раз повышает частоту включения некомплементарного dAMP обратной транскриптазой вируса птичьего миеобластома. При этом фермент включает следующий нуклеотид после образования некомплементарной пары А:мС в 3 раза эффективнее, чем после пары А:С [26].

В ходе репликации геномной ДНК, репарации повреждений и транслезионного (от translesion – “через повреждение”) синтеза ДНК-полимеразы (ДНКП) сталкиваются с матричным мС и его окисленными производными. В последние годы появились данные о влиянии эпигенетических модификаций С на точность и эффективность работы ДНКП, а также данные, указывающие на существование независимых от дезаминирования механизмов мутагенеза в СрG-сайтах, связанных с работой ДНКП и ферментов репарации. В настоящем обзоре обобщены данные о возможной роли ДНКП и ферментов репарации в мутагенезе в СрG-сайтах.

ВЛИЯНИЕ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ ЦИТОЗИНА НА РЕПЛИКАЦИЮ

Ключевыми ферментами, осуществляющими точную репликацию геномной эукариотической ДНК, являются ДНКП В-семейства – Pol ε и Pol δ. Высокая точность этих ферментов обусловлена корректирующей 3'-5'-экзонуклеазной активностью, удаляющей некомплементарные нуклеотиды в ходе синтеза ДНК. Мутации в экзонуклеаз-

ном домене каталитических субъединиц *POLE* (Pol ε) и *POLD1* (Pol δ) вызывают гипермутаторный фенотип, характеризующийся частотой мутаций свыше 1 на 10⁴ [27–29]. Мутационные подписи, оставляемые такими вариантами *POLE*^{exo-mut} (часто это замены Р286R и V411L) в клетках злокачественных опухолей, характеризуются транзициями ТCG→TTG (>20%), трансверсиями ТCT→TAT (>20%) и TTT→TGT (~7%); вариантами *POLD1*^{exo-mut} – ТCT→TAT [30–32]. Несмотря на множество работ, в которых гипермутаторные варианты Pol ε и Pol δ изучали в том числе на мышинных и дрожжевых модельных системах (см. подробные обзоры [33, 34]), точные механизмы индуцируемого мутагенеза неясны.

Если бы транзиции СрG→ТрG были следствием исключительно спонтанного дезаминирования мС, то ожидаемые частоты мутаций в СрG-сайтах не увеличивались бы существенно в *POLE*^{exo-mut} опухолях. Однако по данным полногеномного анализа опухолей *POLE*^{exo-mut} клетки существенно обогащены ТCG→TTG мутациями, что проявляется в мутационной подписи SBS10b (<https://cancer.sanger.ac.uk/signatures/sbs/sbs10b/> [31, 35]). “Горячие точки” мутагенеза в *POLE*^{exo-mut} опухолях обнаружены в СрG-сайтах высокометилированных областей генов-онкосупрессоров *APC* и *TP53* [32]. Частота мутаций в таких опухолях коррелирует с уровнем метилирования [35, 36]. Таким образом, транзиции СрG→ТрG в *POLE*^{exo-mut} опухолях чаще происходят в сайтах, содержащих мС. Кроме того, мутации в *POLE*^{exo-mut} опухолях неравномерно распределены относительно направления репликации ДНК: наблюдается обогащение на ведущей цепи, синтезируемой Pol ε [35, 37]. Сравнительный биоинформатический анализ областей геномов с разной активностью системы коррекции неспаренных оснований (КНО) также показал, что КНО не влияет на распределение транзиций СрG→ТрG в геномной ДНК [36, 38]. Таким образом, мутационная подпись ТCG→TTG в *POLE*^{exo-mut} опухолях, вероятно, обусловлена ошибочным включением dAMP напротив матричного мС вариантами Pol ε с нарушенной экзонуклеазной активностью (рис. 1).

Точность и эффективность синтеза Pol ε дикого типа и варианта Pol ε^{exo-} на ДНК с мС в настоящий момент не исследована. Однако показано, что родственная ДНКП семейства В из *Thermococcus kodakarensis* с инактивированным экзонуклеазным доменом (KOD^{exo-}) включает следующий нуклеотид после образования некомплементарной пары А:мС, эффективнее, чем после А:С. Замена G498M (ДНК-связывающий домен) дополнительно повышает эффективность удлинения мисматча А:мС вариантом KOD^{exo-}. Извест-

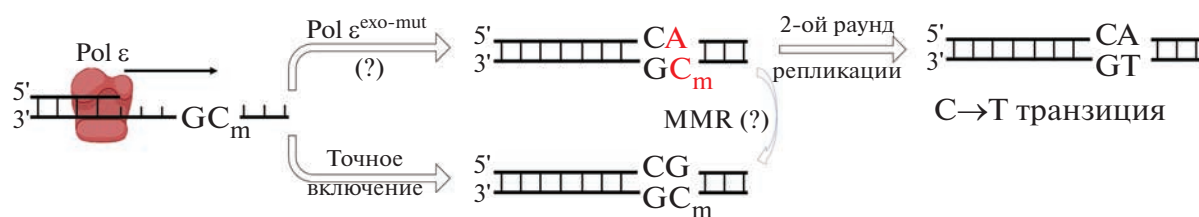


Рис. 1. Возможная схема Pol ε-ассоциированного мутагенеза в CpG-сайтах. Нарушение коррекционной активности у Pol ε^{exo-mut} вариантов повышает частоту ошибочного включения dAMP напротив mC. Если мисматч A:mC избегает репарации, то в следующем раунде репликации фиксируется транзición CpG→TpG.

но также, что метилирование С снижает эффективность включения комплементарного dGMP ДНКП *T. kodakaraensis* в 1.3–2 раза [39, 40]. При этом одиночная замена G245D в экзонуклеазном домене варианта KOD^{exo} еще больше подавляет включение комплементарного dGMP напротив mC по сравнению с С [41]. Полученные данные подтверждают, что мутации экзонуклеазного домена ДНКП В-семейства могут избирательно снижать точность копирования mC (табл. 1).

Известно, что скорость репликации метилированных участков генома ниже, чем немодифицированных [42]. Это может объясняться как замедлением работы ДНК-хеликазы [42], так и незначительным снижением эффективности синтеза напротив mC вследствие высокой термодинамической стабильности метилированных ДНК-дуплетов [42–44]. Активность Pol δ человека протестирована на ДНК с mC, hmC, fC и caC [45]. В реакциях удлинения праймера Pol δ включала только комплементарный dGMP напротив немодифицированного и модифицированных С с примерно одинаковой эффективностью, но де-

тальные параметры реакции не были определены. Однако Pol δ человека образует более стабильный комплекс Pol δ : (m)C:dGTP в случае матричного mC за счет снижения константы скорости диссоциации тройного комплекса [46]. Показано также, что метилирование С в 1.5–2.5 раза увеличивает задержку ДНКП В-семейства фага phi29 в позициях +2, +3 и +6 от метилированного сайта [47] и незначительно снижает эффективность репликации напротив mC Pol α *Drosophila melanogaster* [26]. При этом включение следующего нуклеотида после G:mC и G:C пар KOD^{exo} происходит с примерно равной эффективностью либо с небольшим предпочтением метилированного С [26, 41]. Можно предположить, что метилирование замедляет транслокацию фермента после включения dGMP или при включении dNMP в позициях +2...+6.

Репликация мтДНК обеспечивается Pol γ семейства А [53]. В настоящий момент остается открытым вопрос о том, имеет ли место эпигенетическая регуляция с участием mC в мтДНК высших эукариот. Однако постепенно накапливаются сви-

Таблица 1. Включение dGMP и dAMP напротив эпигенетически модифицированного С ДНКП разных семейств

Семейство	Включение dGMP	Включение dAMP относительно dGMP	Мутагенез в CpG
В	mC↓ (KOD ^{exo} [39–41], *Pol α <i>D. melanogaster</i> [26]), mC, hmC, fC, caC не влияют (*Pol δ [45])	НД	TCG→TTG (Pol ε [30–32, 36, 37])
Х	mC, hmC, fC не влияют (Pol β [48, 49]), caC↓ (Pol β [48]) mC и hmC не влияют (*Pol λ [49])	mC↑ (Pol β [48])	НД
А	mC↓ зависит от последовательности, fC↓, caC↓ (KF Pol I [45, 50, 51]), hmC не влияет (KF Pol I)	mC↑, fC↑ (KF ^{exo} Pol I [45, 50])	НД
Υ	mC в ЦПД не влияет (*Pol η [52]) mC и hmC не влияют (*Pol κ, *Pol η [49]) mC↓, hmC↓ (Pol ι [49])	mC в ЦПД не влияет (*Pol η [52])	TCG→TTG CCG→TTG (Pol η)
АЕР	mC и hmC не влияют (*PrimPol [49])	НД	НД

* Данные на основе реакции удлинения праймера, кинетические параметры не определяли.

Примечание. ↓ и ↑ – снижение и повышение эффективности включения напротив модифицированного С соответственно; НД – нет данных.

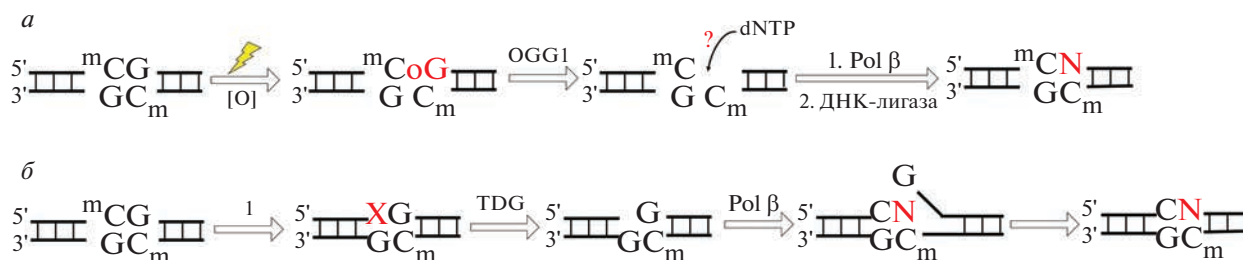


Рис. 2. Возможная схема мутагенеза при ЭРО в CpG-контексте. *а* – При удалении поврежденного основания G в CpG-сайтах mC служит матрицей для синтеза ДНК. Снижение точности синтеза Pol β напротив mC по сравнению с C может приводить к мутации. *б* – Дезаминирование или ТЕТ-опосредованное окисление mC (стадия 1) приводит к формированию T, fC или caC соответственно (обозначено X). При дальнейшей ЭРО по длиннозаплаточному пути Pol β сталкивается с mC в качестве матрицы.

детельства того, что mC и hmC присутствуют в митохондриальном геноме, хотя и на более низком уровне, чем в ядерной ДНК [54–57]. Сегодня из ДНКП А-семейства на биохимическом уровне частично охарактеризован только фрагмент Кленова (KF) Pol I *E. coli*. Показано, что KF включает dGMP напротив fC и caC с меньшей эффективностью [45, 50], но hmC не влияет на эффективность включения dGMP [45, 51]. Эффективность включения dGMP напротив mC зависит от контекста нуклеотидной последовательности, но в большинстве случаев незначительно снижена (~30%) [50]. Важно отметить, что вариант KF^{exo-} с инактивированным 3'–5'-экзонуклеазным доменом включает некомплементарный dAMP напротив mC и fC в 1.5–2 раза чаще, чем напротив немодифицированного C, хотя частота ошибок остается на уровне 10⁻⁴ [50].

ТОЧНОСТЬ СИНТЕЗА ДНК, СОДЕРЖАЩЕЙ mC, ПРИ РЕПАРАЦИИ

Помимо репликации, копирование ДНК при наличии mC в матричной цепи происходит при репаративном синтезе ДНК. Особый интерес представляет репарация при повреждении основания G в метилированных CpG-динуклеотидах, поскольку в этом случае первый же шаг репаративного синтеза происходит с включением dGMP напротив mC. Метилирование C умеренно повышает вероятность окисления G в CpG-контексте с образованием 8-охоG [21], а картирование 8-охоG в геноме с нуклеотидным разрешением показывает значительное обогащение этим повреждением CpG-сайтов [58]. Помимо спонтанного повреждения, модифицированные основания G могут появляться в ДНК при включении метаболитов некоторых противоопухолевых средств, например, 6-тиогуанина, а затем подвергаться репарации [59]. Репарация 8-охоG осуществляется с помощью ЭРО и в CpG-контексте (рис. 2*а*) имеет свои особенности. Метилирова-

ние соседнего или комплементарного с 8-охоG C снижает эффективность работы ДНК-гликозилаз [60, 61], а дезаминирование с образованием T(8-охоG)/CG-динуклеотида ингибирует как репарацию мисматча T/G, так и окисленного производного гуанина [61, 62]. Нарушения в работе ДНК-гликозилаз, участвующих в репарации 8-охоG, повышают частоту трансверсий C→A в контекстах TCG и CCG [30, 63]. Предполагалось, что 3'→5'-экзонуклеазная активность АП-эндонуклеазы APEX1 может приводить к удалению соседнего с поврежденным G остатка mC, что привело бы к увеличению размера заполняемой бреши с возможным изменением специфичности репаративного синтеза [60, 61]. Однако сравнительный анализ удаления 3'-концевых остатков показывает, что mC представляет собой наихудший возможный субстрат для такой активности APEX1 и, по-видимому, этот вариант репарации не реализуется [64].

Кроме того, ЭРО отвечает за репарацию окисленных производных mC (fC и caC) в ходе активного деметилирования и репарации мисматчей hmdU:G, образующихся вследствие дезаминирования hmC [9–11]. Ключевая роль здесь принадлежит ДНК-гликозилазе TDG и адапторному белку XRCC1, который координирует сборку мультисубъединичного комплекса, включающего основные компоненты ЭРО – одну или несколько ДНК-гликозилаз, АП-эндонуклеазу, ДНКП и ДНК-лигазы [65, 66]. Если модификации C оказывают влияние на точность и эффективность работы белков системы ЭРО, то это может вносить вклад в CpG-ассоциированный мутагенез. При активном деметилировании в ходе репаративного синтеза первый нуклеотид включается напротив G в ДНК-матрице, а mC предоставляет матрицу для возможного включения второго нуклеотида, если репарация идет по длиннозаплаточному пути, в котором может участвовать как основная репаративная ДНКП Pol β, так и репликативные Pol δ и Pol ε (рис. 2*б*) [67]. Примечательно, что за-

метная часть репарации при активном деметилировании протекает именно по длиннозаплаточному пути [68–71].

Pol β семейства X является ключевым ферментом синтеза ДНК в ходе ЭРО. Pol λ X-семейства и Pol ι Y-семейства могут, предположительно, в ряде случаев замещать Pol β [72–74]. Анализ стационарной и однооборотной кинетик показал одинаковую эффективность включения dGMP Pol β напротив C, mC, hmC и fC [48]. Частота включения некомплементарного dAMP также не зависела от метильной и гидроксиметильной групп C. Однако активность Pol β (включение dGMP и dAMP) напротив саС была подавлена [48]. Рентгеноструктурный анализ показал, что крупная отрицательно заряженная карбоксильная группа саС вызывает сдвиг сахарофосфатного остова ДНК-матрицы (рис. 3). Этот энергетически невыгодный сдвиг частично компенсируется стабилизацией карбоксильной группы остатком Lys280 белка (рис. 3).

Показано также, что mC и hmC не влияют значительно на эффективность и точность Pol β и Pol λ в реакциях удлинения праймера, однако для детекции незначительных изменений требуются более детальные кинетические исследования [49].

Точность репарации зависит не только от точности работы Pol β , но и от “передачи” продукта включения ДНК-лигазе (LigI или LigIII α) и дальнейшего успешного лигирования. Известно, что при ошибках Pol β ДНК-лигаза не способна эффективно соединять концы разрыва и оставляет AMP на 5'-конце (абортное лигирование) [76–78]. После включения dGMP белком Pol β напротив окисленных производных mC абортное лигирование не наблюдается, хотя ДНК-лигазы менее эффективно “сшивают” такие продукты [79]. Известно, что LigI и LigIII α в присутствии Pol β способны “игнорировать” одонуклеотидную брешь, содержащую матричный C, и напрямую лигируют 3' - и 5'-концы (самолигирование), что теоретически может приводить к формированию одонуклеотидных делеций [78]. Предварительные эксперименты показали, что окисленные производные mC не оказывают влияния на выход продукта самолигирования, хотя требуются дополнительные исследования кинетики этого процесса [79].

ВЛИЯНИЕ mC НА ТОЧНОСТЬ ТРАНСЛЕЗИОННОГО СИНТЕЗА

Транслезионные ДНКП семейства Y – Pol η , Pol ι , Pol κ , эффективно включают нуклеотидные субстраты напротив широкого спектра поврежденных ДНК, но характеризуются низкой точностью копирования неповрежденной ДНК [80]. Эксперименты по удлинению праймера показали, что

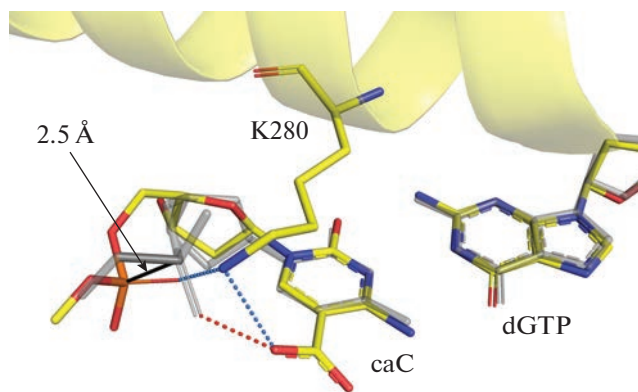


Рис. 3. Структура тройного комплекса Pol β человека с матричным саС и входящим dGTP (PDB ID 6N2S) [48]. Атомы C показаны желтым, O – красным, N – синим, P – оранжевым. Серым цветом показана референсная структура комплекса Pol β : C:dGTP (PDB ID 4UB4) [75]. Синим пунктиром обозначены Н-связи Lys280 с карбоксильной группой саС и атомом О фосфата матрицы, красным – потенциальное столкновение карбоксильной группы саС с фосфатным остовом. Сдвиг остова показан черной линией. Рисунок подготовлен в программе PyMol.

Pol η и Pol κ эффективно “проходят” mC и hmC, и модификации цитозина не влияют на частоту ошибочного включения dAMP. В то же время, у другой ДНКП Y-семейства – Pol ι – снижена эффективность включения dGMP напротив mC, однако точность фермента существенно не изменяется [47].

Поскольку метилирование C повышает вероятность образования некоторых типов повреждений в ДНК, можно предположить, что транслезионные и репаративные ДНКП могут вовлекаться в мутагенез CpG-сайтов.

Цис-син-циклобутановые пиримидиновые димеры (ЦПД) – наиболее распространенное повреждение, индуцированное УФ-излучением. Метилирование повышает коэффициент поглощения C при длине волны 290 нм, что приводит к повышению частоты образования ЦПД в метилированных CpG-сайтах [25, 81]. Потеря ароматичности основания C в составе ЦПД повышает скорость спонтанного дезаминирования поврежденных C, причем эффективность этой реакции сильно зависит от нуклеотидного контекста: (T $\wedge$ C)G дезаминируется в 50 раз быстрее (C $\wedge$ C)G [24, 82]. Более того, 3'-G ускоряет дезаминирование: димеры (T $\wedge$ C)G в 20 раз менее стабильны, чем (T $\wedge$ C)A [24, 82]. Мутационная подпись УФ-индуцированных замен характеризуется одиночными и двойными транзициями: TCG $\rightarrow$ TTG и CCG $\rightarrow$ TTG [83]. Однако метилированные ЦПД в 1.5–4 раза более устойчивы к дезаминированию [82].

Pol η является ключевой ДНКП, ведущей точный и эффективный синтез напротив ЦПД [84].

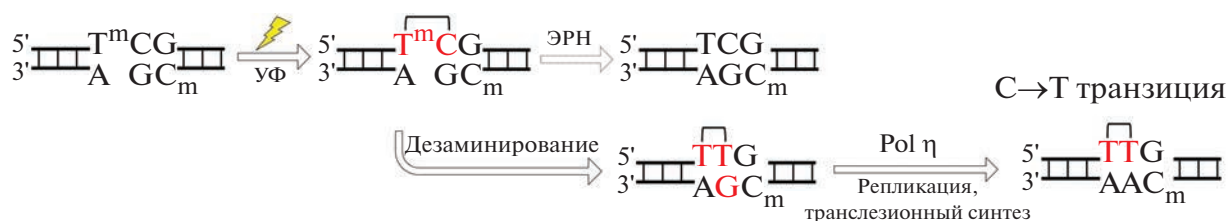


Рис. 4. Схема УФ-индуцированного мутагенеза в mCrG-сайтах, ассоциированного с Pol η. ЭРН – эксцизионная репарация нуклеотидов.

Pol η безошибочно проходит димеры T^mC *in vitro*, и точность фермента не зависит от статуса метилирования C [52]. На мышинной модели *in vivo* показано, что частота мутаций C→T в контексте последовательности TCG в клетках кожи при УФ-облучении зависит от Pol η [85]. Предполагается, что повышенная чувствительность TmCG-последовательностей к УФ-излучению ускоряет образование ЦПД и последующее дезаминирование mC. Точное копирование продукта дезаминирования T^mTG Pol η с включением AA закрепляет замену C→T (рис. 4). С другой стороны, корреляция между уровнем метилирования и частотой УФ-индуцированных мутаций в опухолях кожи не показана: максимальная частота мутаций наблюдается в регионах со средним уровнем метилирования [36]. Однако метилированные области в активно транскрибируемых генах (телах генов) могут эффективнее репарироваться системой эксцизионной репарации нуклеотидов (ЭРН), что снижает частоту мутаций [36]. Отсутствие корреляции между уровнем мутагенеза и метилированием может быть связано и с невозможностью различить mC и hmC в данных бисульфитного секвенирования, тогда некоторая часть сильно метилированных областей будет содержать hmC, который препятствует образованию ЦПД [86]. Кроме того, в гетерохроматиновых регионах с сильным метилированием УФ-индуцированные мутации могут встречаться реже по причине плотной упаковки нуклеосом, защищающей от воздействия УФ. Чувствительность к УФ в значительной степени зависит от доступности пиримидиновых оснований: повернутые внутрь нуклеосомы основания формируют ЦПД значительно реже [87, 88].

8-охоG – наиболее распространенное повреждение, индуцируемое окислительным стрессом [89]. Метилирование C повышает частоту окисления соседнего G [21]. Влияние эпигенетических модификаций C на транслезионную активность ДНКП семейства Y напротив 8-охоG не изучали. Репаративные ДНКП X-семейства Pol β и Pol λ также обладают транслезионной активностью [71, 78]. Показано, что mC влияет на транслезионную активность Pol β при синтезе напротив соседнего 8-охоG: наличие метилирования увеличивает частоту включения некомплементарных

dTMP и dGMP [90]. Такие ошибочные включения должны приводить к увеличению частоты мутаций G→C и G→A. Действительно, мутации первого типа наблюдали в клетках НЕК293Н при окислительном стрессе, индуцированном хроматом калия [90].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Немногочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что эпигенетические модификации C в ряде случаев могут влиять на эффективность и точность синтеза ДНКП разных семейств и работу ЭРО *in vitro* и в ряде случаев *in vivo*. Однако имеющиеся данные пока не позволяют нарисовать полную картину механизмов мутагенеза, ассоциированного с эпигенетическими модификациями C.

Значимость вклада альтернативных путей мутагенеза в общий уровень мутагенеза по mCrG-сайтам зависит от множества факторов: воздействия ДНК-повреждающих факторов (окислительного стресса, УФ, канцерогенных соединений), эффективности систем репарации, дефектов экзонуклеазной активности репликативных ДНКП. В ряде случаев этот вклад может быть значительным. В частности, частота мутаций CrG→TrG в опухолях, не содержащих дефекты в Pol ε, в 5 раз выше средней частоты мутаций в геноме: 7.4×10^{-6} против 1.5×10^{-6} (вклад дезаминирования составляет примерно 6 мутаций на 10^6 п.н.) В *POLE*^{exo-mut} опухолях частота мутаций CrG→TrG достигает $\sim 1.6 \times 10^{-3}$ против базовой $\sim 2.5 \times 10^{-4}$, и вклад Pol ε составляет ~ 1300 мутаций на 10^6 п.н. [35]. Значимость других механизмов еще предстоит оценить. Необходимы не только *in vitro* исследования широкого круга ДНКП и ферментов ЭРО с использованием ДНК-субстратов разной последовательности и ДНК-субстратов, содержащих повреждения ДНК, но также эксперименты *in vivo* и полномасштабный биоинформатический анализ баз данных.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда 22-24-20156 (ЕСШ). Анализ мутагенеза в ходе репарации ДНК выполнен при поддерж-

ке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № 121031300056-8).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jones P.A. (2012) Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat. Rev. Genet.* **13**, 484–492.
2. Szulwach K.E., Jin P. (2014) Integrating DNA methylation dynamics into a framework for understanding epigenetic codes. *BioEssays*. **36**, 107–117.
3. Smith Z.D., Meissner A. (2013) DNA methylation: roles in mammalian development. *Nat. Rev. Genet.* **14**, 204–220.
4. Lyko F. (2018) The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation. *Nat. Rev. Genet.* **19**, 81–92.
5. Stevens M., Cheng J.B., Li D., Xie M., Hong C., Maire C.L., Ligon K.L., Hirst M., Marra M.A., Costello J.F., Wang T. (2013) Estimating absolute methylation levels at single-CpG resolution from methylation enrichment and restriction enzyme sequencing methods. *Genome Res.* **23**, 1541–1553.
6. Wu X., Zhang Y. (2017) TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond. *Nat. Rev. Genet.* **18**, 517–534.
7. Klungland A., Robertson A.B. (2017) Oxidized C5-methyl cytosine bases in DNA: 5-hydroxymethylcytosine; 5-formylcytosine; and 5-carboxycytosine. *Free Radic. Biol. Med.* **107**, 62–68.
8. Branco M.R., Ficz G., Reik W. (2012) Uncovering the role of 5-hydroxymethylcytosine in the epigenome. *Nat. Rev. Genet.* **13**, 7–13.
9. He Y.-F., Li B.-Z., Li Z., Liu P., Wang Y., Tang Q., Ding J., Jia Y., Chen Z., Li L., Sun Y., Li X., Dai Q., Song C.-X., Zhang K., He C., Xu G.-L. (2011) Tet-mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA. *Science*. **333**, 1303–1307.
10. Weber A.R., Krawczyk C., Robertson A.B., Kuśnierczyk A., Vågbo C.B., Schuermann D., Klungland A., Schär P. (2016) Biochemical reconstitution of TET1–TDG–BER-dependent active DNA demethylation reveals a highly coordinated mechanism. *Nat. Commun.* **7**, 10806.
11. Kohli R.M., Zhang Y. (2013) TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature*. **502**, 472–479.
12. Tomkova M., McClellan M., Kriaucionis S., Schuster-Boeckler B. (2016) 5-hydroxymethylcytosine marks regions with reduced mutation frequency in human DNA. *Elife*. **5**, 1–23.
13. Bachman M., Uribe-Lewis S., Yang X., Burgess H.E., Iurlaro M., Reik W., Murrell A., Balasubramanian S. (2015) 5-Formylcytosine can be a stable DNA modification in mammals. *Nat. Chem. Biol.* **11**, 555–557.
14. Ito S., Dalessio A.C., Taranova O., Hong K., Sowers L.C., Zhang Y. (2010) Role of tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature*. **466**, 1129–1133.
15. Dawlaty M.M., Breiling A., Le T., Barrasa M.I., Raddatz G., Gao Q., Powell B.E., Cheng A.W., Faull K.F., Lyko F., Jaenisch R. (2014) Loss of tet enzymes compromises proper differentiation of embryonic stem cells. *Dev. Cell*. **29**, 102–111.
16. Hahn M.A., Qiu R., Wu X., Li A.X., Zhang H., Wang J., Jui J., Jin S.G., Jiang Y., Pfeifer G.P., Lu Q. (2013) Dynamics of 5-hydroxymethylcytosine and chromatin marks in mammalian neurogenesis. *Cell Rep.* **3**, 291–300.
17. Spruijt C.G., Gnerlich F., Smits A.H., Pfaffeneder T., Jansen P.W.T.C., Bauer C., Münzel M., Wagner M., Müller M., Khan F., Eberl H.C., Mensinga A., Brinkman A.B., Lephikova K., Müller U., Walter J., Boelens R., van Ingen H., Leonhardt H., Carell T., Vermeulen M. (2013) Dynamic readers for 5-(hydroxy)methylcytosine and its oxidized derivatives. *Cell*. **152**, 1146–1159.
18. Iurlaro M., Ficz G., Oxley D., Raiber E., Bachman M., Booth M.J., Andrews S., Balasubramanian S., Reik W. (2013) A screen for hydroxymethylcytosine and formylcytosine binding proteins suggests functions in transcription and chromatin regulation. *Genome Biol.* **14**, R119.
19. Pfeifer G.P. (2006) Mutagenesis at methylated CpG sequences. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **301**, 259–281.
20. Waters T.R., Swann P.F. (2000) Thymine-DNA glycosylase and G to A transition mutations at CpG sites. *Mutat. Res. Mutat. Res.* **462**, 137–147.
21. Kawai K., Wata Y., Hara M., Tojo S., Majima T. (2002) Regulation of one-electron oxidation rate of guanine by base pairing with cytosine derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 3586–3590.
22. Hu W., Feng Z., Tang M. (2003) Preferential carcinogen–DNA adduct formation at codons 12 and 14 in the human *K-ras* gene and their possible mechanisms. *Biochemistry*. **42**, 10012–10023.
23. Denissenko M.F., Chen J.X., Tang M.-S., Pfeifer G.P. (1997) Cytosine methylation determines hot spots of DNA damage in the human *P53* gene (benzo[a]pyrene5-methylcytosine). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **94**, 3893–3898.
24. Lee D.H., Pfeifer G.P. (2003) Deamination of 5-methylcytosines within cyclobutane pyrimidine dimers is an important component of UVB mutagenesis. *J. Biol. Chem.* **278**, 10314–10321.
25. Rochette P.J., Lacoste S., Therrien J.P., Bastien N., Brash D.E., Drouin R. (2009) Influence of cytosine methylation on ultraviolet-induced cyclobutane pyrimidine dimer formation in genomic DNA. *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **665**, 7–13.
26. Shen J.-C., Creighton S., Jones P.A., Goodman M.F. (1992) A comparison of the fidelity of copying 5-methylcytosine and cytosine at a defined DNA template site. *Nucl. Acids Res.* **20**, 5119–5125.
27. Shinbrot E., Henninger E.E., Weinhold N., Covington K.R., Göksenin A.Y., Schultz N., Chao H., Doddapaneni H., Muzny D.M., Gibbs R.A., Sander C., Pursell Z.F., Wheeler D.A. (2014) Exonuclease mutations in DNA

- polymerase epsilon reveal replication strand specific mutation patterns and human origins of replication. *Genome Res.* **24**, 1740–1750.
28. Shlien A., Campbell B.B., de Borja R., Alexandrov L.B., Merico D., Wedge D., Van Loo P., Tarpey P.S., Coup-land P., Behjati S., Pollett A., Lipman T., Heidari A., Deshmukh S., Avitzur N., Meier B., Gerstung M., Hong Y., Merino D.M., Ramakrishna M., Remke M., Arnold R., Panigrahi G.B., Thakkar N.P., Hodel K.P., Henninger E.E., Göksenin A.Y., Bakry D., Charames G.S., Druker H., Lerner-Ellis J., Mistry M., Dvir R., Grant R., Elhasid R., Farah R., Taylor G.P., Nathan P.C., Alexander S., Ben-Shachar S., Ling S.C., Gallinger S., Constantini S., Dirks P., Huang A., Scherer S.W., Grundy R.G., Durno C., Aronson M., Gartner A., Meyn M.S., Taylor M.D., Pursell Z.F., Pearson C.E., Malkin D., Futreal P.A., Stratton M.R., Bouffet E., Hawkins C., Campbell P.J., Tabori U., Biallelic Mismatch Repair Deficiency Consortium (2015) Combined hereditary and somatic mutations of replication error repair genes result in rapid onset of ultra-hypermutated cancers. *Nat. Genet.* **47**, 257–262.
 29. Nebot-Bral L., Brandao D., Verlingue L., Rouleau E., Caron O., Despras E., El-Dakdouki Y., Champiat S., Aoufouchi S., Leary A., Marabelle A., Malka D., Chapt N., Kannouche P.L. (2017) Hypermutated tumours in the era of immunotherapy: the paradigm of personalised medicine. *Eur. J. Cancer.* **84**, 290–303.
 30. Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C., Aparicio S.A.J.R., Behjati S., Biankin A.V., Bignell G.R., Bolli N., Borg A., Borresen-Dale A.-L., Boyault S., Burkhardt B., Butler A.P., Caldas C., Davies H.R., Desmedt C., Eils R., Eyfjörd J.E., Foekens J.A., Greaves M., Hosoda F., Hutter B., Illic T., Imbeaud S., Imielinski M., Jäger N., Jones D.T.W., Jones D., Knappskog S., Kool M., Lakhani S.R., López-Otín C., Martin S., Munshi N.C., Nakamura H., Northcott P.A., Pajic M., Papaemmanuil E., Paradiso A., Pearson J.V., Puente X.S., Raine K., Ramakrishna M., Richardson A.L., Richter J., Rosenstiel P., Schlesner M., Schumacher T.N., Span P.N., Teague J.W., Totoki Y., Tutt A.N.J., Valdés-Mas R., van Buuren M.M., van 't Veer L., Vincent-Salomon A., Waddell N., Yates L.R., Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative, ICGC Breast Cancer Consortium, ICGC MML-Seq Consortium, ICGC PedBrain, Zucman-Rossi J., Futreal P.A., McDermott U., Lichter P., Meyerson M., Grimmond S.M., Siebert R., Campo E., Shibata T., Pfister S.M., Campbell P.J., Stratton M.R. (2013) Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* **500**, 415–421.
 31. Alexandrov L.B., Kim J., Haradhvala N.J., Huang M.N., Tian Ng A.W., Wu Y., Boot A., Covington K.R., Gordenin D.A., Bergstrom E.N., Islam S.M.A., Lopez-Bigas N., Klimczak L.J., McPherson J.R., Morganella S., Sabarinathan R., Wheeler D.A., Mustonen V., Getz G., Rozen S.G., Stratton M.R. (2020) The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature.* **578**, 94–101.
 32. Mertz T.M., Baranovskiy A.G., Wang J., Tahirov T.H., Shcherbakova P.V. (2017) Nucleotide selectivity defect and mutator phenotype conferred by a colon cancer-associated DNA polymerase δ mutation in human cells. *Oncogene.* **36**, 4427–4433.
 33. Barbari S.R., Shcherbakova P.V. (2017) Replicative DNA polymerase defects in human cancers: consequences, mechanisms, and implications for therapy. *DNA Repair (Amst.).* **56**, 16–25.
 34. Rayner E., Van Gool I.C., Palles C., Kearsley S.E., Bosse T., Tomlinson I., Church D.N. (2016) A panoply of errors: polymerase proofreading domain mutations in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* **16**, 71–81.
 35. Tomkova M., McClellan M., Kriaucionis S., Schuster-Böckler B. (2018) DNA replication and associated repair pathways are involved in the mutagenesis of methylated cytosine. *DNA Repair (Amst.).* **62**, 1–7.
 36. Poulos R.C., Olivier J., Wong J.W.H. (2017) The interaction between cytosine methylation and processes of DNA replication and repair shape the mutational landscape of cancer genomes. *Nucl. Acids Res.* **45**, 7786–7795.
 37. Tomkova M., Tomek J., Kriaucionis S., Schuster-Böckler B. (2018) Mutational signature distribution varies with DNA replication timing and strand asymmetry. *Genome Biol.* **19**, 1–12.
 38. Supek F., Lehner B. (2015) Differential DNA mismatch repair underlies mutation rate variation across the human genome. *Nature.* **521**, 81–84.
 39. Huber C., von Watzdorf J., Marx A. (2016) 5-methylcytosine-sensitive variants of *Thermococcus kodakaraensis* DNA polymerase. *Nucl. Acids Res.* **44**, 9881–9890.
 40. von Watzdorf J., Leitner K., Marx A. (2016) Modified nucleotides for discrimination between cytosine and the epigenetic marker 5-methylcytosine. *Angew. Chemie Int. Ed.* **55**, 3229–3232.
 41. Aschenbrenner J., Drum M., Topal H., Wieland M., Marx A. (2014) Direct sensing of 5-methylcytosine by polymerase chain reaction. *Angew. Chemie Int. Ed.* **53**, 8154–8158.
 42. Rausch C., Zhang P., Casas-Delucchi C.S., Daiß J.L., Engel C., Coster G., Hastert F.D., Weber P., Cardoso M.C. (2021) Cytosine base modifications regulate DNA duplex stability and metabolism. *Nucl. Acids Res.* **49**, 12870–12894.
 43. Lebedev Y., Akopyants N., Azhikina T., Shevchenko Y., Potapov V., Stecenko D., Berg D., Sverdlov E. (1996) Oligonucleotides containing 2-aminoadenine and 5-methylcytosine are more effective as primers for PCR amplification than their nonmodified counterparts. *Genet. Anal. Biomol. Eng.* **13**, 15–21.
 44. Rodríguez López C.M., Lloyd A.J., Leonard K., Wilkinson M.J. (2012) Differential effect of three base modifications on DNA thermostability revealed by high resolution melting. *Anal. Chem.* **84**, 7336–7342.
 45. Shibutani T., Ito S., Toda M., Kanao R., Collins L.B., Shibata M., Urabe M., Koseki H., Masuda Y., Swenberg J.A., Masutani C., Hanaoka F., Iwai S., Kuraoka I. (2015) Guanine-5-carboxylcytosine base pairs mimic mismatches during DNA replication. *Sci. Rep.* **4**, 5220.
 46. Lee J.Y., Park J.W. (2022) Modified cytosines versus cytosine in a DNA polymerase: retrieving thermodynamic and kinetic constants at the single molecule level. *Analyst.* **147**, 341–348.
 47. Flusberg B.A., Webster D.R., Lee J.H., Travers K.J., Olivares E.C., Clark T.A., Korlach J., Turner S.W.

- (2010) Direct detection of DNA methylation during single-molecule, real-time sequencing. *Nat. Methods*. **7**, 461–465.
48. Howard M.J., Foley K.G., Shock D.D., Batra V.K., Wilson S.H. (2019) Molecular basis for the faithful replication of 5-methylcytosine and its oxidized forms by DNA polymerase β . *J. Biol. Chem.* **294**, 7194–7201.
49. Шилкин Е.С., Петрова Д.В., Полтораченко В.А., Болдинова Е.О., Жарков Д.О., Макарова А.В. (2021) Матричные свойства 5-метил-2'-дезокситидина и 5-гидроксиметил-2'-дезокситидина в реакциях с транслезионными и репаративными ДНК-полимеразами человека. *Молекуляр. биология*. **55**, 305–311.
50. Karino N. (2001) Synthesis and properties of oligonucleotides containing 5-formyl-2'-deoxycytidine: *in vitro* DNA polymerase reactions on DNA templates containing 5-formyl-2'-deoxycytidine. *Nucl. Acids Res.* **29**, 2456–2463.
51. Münzel M., Lischke U., Stathis D., Pfaffeneder T., Gnerlich F.A., Deiml C.A., Koch S.C., Karaghiosoff K., Carell T. (2011) Improved synthesis and mutagenicity of oligonucleotides containing 5-hydroxymethylcytosine, 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Chem. – A Eur. J.* **17**, 13782–13788.
52. Song Q., Sherrer S.M., Suo Z., Taylor J.-S. (2012) Preparation of site-specific T=mCG *cis-syn* cyclobutane dimer-containing template and its error-free bypass by yeast and human polymerase η . *J. Biol. Chem.* **287**, 8021–8028.
53. Wanrooij S., Falkenberg M. (2010) The human mitochondrial replication fork in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.* **1797**, 1378–1388.
54. Shock L.S., Thakkar P.V., Peterson E.J., Moran R.G., Taylor S.M. (2011) DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **108**, 3630–3635.
55. Matsuda S., Yasukawa T., Sakaguchi Y., Ichiyanagi K., Unoki M., Gotoh K., Fukuda K., Sasaki H., Suzuki T., Kang D. (2018) Accurate estimation of 5-methylcytosine in mammalian mitochondrial DNA. *Sci. Rep.* **8**, 5801.
56. Lopes A.F.C. (2020) Mitochondrial metabolism and DNA methylation: a review of the interaction between two genomes. *Clin. Epigenetics*. **12**, 182.
57. Stocco A., Coppedè F. (2021) Mitochondrial DNA methylation and human diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 4594.
58. Fang Y., Zou P. (2020) Genome-wide mapping of oxidative DNA damage via engineering of 8-oxoguanine DNA glycosylase. *Biochemistry*. **59**, 85–89.
59. Wang H., Wang Y. (2009) 6-Thioguanine perturbs cytosine methylation at the CpG dinucleotide site by DNA methyltransferases *in vitro* and acts as a DNA demethylating agent *in vivo*. *Biochemistry*. **48**, 2290–2299.
60. Kasymov R.D., Grin I.R., Endutkin A.V., Smirnov S.L., Ishchenko A.A., Saparbaev M.K., Zharkov D.O. (2013) Excision of 8-oxoguanine from methylated CpG dinucleotides by human 8-oxoguanine DNA glycosylase. *FEBS Lett.* **587**, 3129–3134.
61. Sassa A., Çağlayan M., Dyrkheeva N.S., Beard W.A., Wilson S.H. (2014) Base excision repair of tandem modifications in a methylated CpG dinucleotide. *J. Biol. Chem.* **289**, 13996–14008.
62. Lai Y., Jiang Z., Zhou J., Osemota E., Liu Y. (2016) AP endonuclease 1 prevents the extension of a T/G mismatch by DNA polymerase β to prevent mutations in CpGs during base excision repair. *DNA Repair (Amst.)*. **43**, 89–97.
63. Viel A., Bruselles A., Meccia E., Fornasari M., Quaià M., Canzonieri V., Policicchio E., Urso E.D., Agostini M., Genuardi M., Lucci-Cordisco E., Venesio T., Martayan A., Diodoro M.G., Sanchez-Mete L., Stigliano V., Mazzei F., Grasso F., Giuliani A., Baiocchi M., Maestro R., Giannini G., Tartaglia M., Alexandrov L.B., Bignami M. (2017) A specific mutational signature associated with DNA 8-oxoguanine persistence in MUTYH-defective colorectal cancer. *EBioMedicine*. **20**, 39–49.
64. Ендуткин А.В., Яценко Д.Д., Жарков Д.О. (2022) Влияние метилирования ДНК на 3'→5'-экзонуклеазную активность основной апурин-апири-мидиновой эндонуклеазы человека APEX1. *Биохимия*. **87**, 3–15.
65. Liu X., Xu B., Yang J., He L., Zhang Z., Cheng X., Yu H., Liu X., Jin T., Peng Y., Huang Y., Xia L., Wang Y., Wu J., Wu X., Liu S., Shan L., Yang X., Sun L., Liang J., Zhang Y., Shang Y. (2021) UHRF2 commissions the completion of DNA demethylation through allosteric activation by 5hmC and K33-linked ubiquitination of XRCC1. *Mol. Cell*. **81**, 2960–2974. e7.
66. Steinacher R., Barekati Z., Botev P., Kuśnierczyk A., Slupphaug G., Schär P. (2019) SUMOylation coordinates BERosome assembly in active DNA demethylation during cell differentiation. *EMBO J.* **38**, 1–18.
67. Fortini P., Dogliotti E. (2007) Base damage and single-strand break repair: mechanisms and functional significance of short- and long-patch repair subpathways. *DNA Repair (Amst.)*. **6**, 398–409.
68. Barreto G., Schäfer A., Marhold J., Stach D., Swaminathan S.K., Handa V., Döderlein G., Maltry N., Wu W., Lyko F., Niehrs C. (2007) Gadd45a promotes epigenetic gene activation by repair-mediated DNA demethylation. *Nature*. **445**, 671–675.
69. Santos F., Peat J., Burgess H., Rada C., Reik W., Dean W. (2013) Active demethylation in mouse zygotes involves cytosine deamination and base excision repair. *Epigenetics Chromatin*. **6**, 39.
70. Grin I., Ishchenko A.A. (2016) An interplay of the base excision repair and mismatch repair pathways in active DNA demethylation. *Nucl. Acids Res.* **44**, 3713–3727.
71. Wang D., Wu W., Callen E., Pavani R., Zolnerowich N., Kodali S., Zong D., Wong N., Noriega S., Nathan W.J., Matos-Rodrigues G., Chari R., Kruhlak M.J., Livak F., Ward M., Caldecott K., Di Stefano B., Nussenzweig A. (2022) Active DNA demethylation promotes cell fate specification and the DNA damage response. *Science*. **378**, 983–989.
72. Petta T.B., Nakajima S., Zlatanou A., Despras E., Couve-Privat S., Ishchenko A., Sarasin A., Yasui A., Kannouche P. (2008) Human DNA polymerase ι protects cells against oxidative stress. *EMBO J.* **27**, 2883–2895.

73. Beard W.A., Wilson S.H. (2019) DNA polymerase beta and other gap-filling enzymes in mammalian base excision repair. *Enzymes*. **45**, 1–26.
74. Markkanen E. (2017) Not breathing is not an option: how to deal with oxidative DNA damage. *DNA Repair (Amst.)*. **59**, 82–105.
75. Freudenthal B.D., Beard W.A., Perera L., Shock D.D., Kim T., Schlick T., Wilson S.H. (2015) Uncovering the polymerase-induced cytotoxicity of an oxidized nucleotide. *Nature*. **517**, 635–639.
76. Çağlayan M., Wilson S.H. (2017) Role of DNA polymerase β oxidized nucleotide insertion in DNA ligation failure. *J. Radiat. Res.* **58**, 603–607.
77. Çağlayan M., Horton J.K., Dai D.-P., Stefanick D.F., Wilson S.H. (2017) Oxidized nucleotide insertion by pol β confounds ligation during base excision repair. *Nat. Commun.* **8**, 14045.
78. Çağlayan M. (2020) The ligation of pol β mismatch insertion products governs the formation of promutagenic base excision DNA repair intermediates. *Nucl. Acids Res.* **48**, 3708–3721.
79. Çağlayan M. (2020) Pol β gap filling, DNA ligation and substrate-product channeling during base excision repair opposite oxidized 5-methylcytosine modifications. *DNA Repair (Amst.)*. **95**, 102945.
80. Vaisman A., Woodgate R. (2017) Translesion DNA polymerases in eukaryotes: what makes them tick? *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **52**, 274–303.
81. Mitchell D.L. (2007) Effects of cytosine methylation on pyrimidine dimer formation in DNA. *Photochem. Photobiol.* **71**, 162.
82. Cannistraro V.J., Taylor J.-S. (2009) Acceleration of 5-methylcytosine deamination in cyclobutane dimers by G and its implications for UV-induced C-to-T mutation hotspots. *J. Mol. Biol.* **392**, 1145–1157.
83. Brash D.E. (2015) UV signature mutations. *Photochem. Photobiol.* **91**, 15–26.
84. Masutani C., Kusumoto R., Iwai S., Hanaoka F. (2000) Mechanisms of accurate translesion synthesis by human DNA polymerase h. *EMBO J.* **19**, 3100–3109.
85. Ikehata H., Chang Y., Yokoi M., Yamamoto M., Hanaoka F. (2014) Remarkable induction of UV-signature mutations at the 3'-cytosine of dipyrimidine sites except at 5'-TCG-3' in the UVB-exposed skin epidermis of xeroderma pigmentosum variant model mice. *DNA Repair (Amst.)*. **22**, 112–122.
86. Kim S.I., Jin S.G., Pfeifer G.P. (2013) Formation of cyclobutane pyrimidine dimers at dipyrimidines containing 5-hydroxymethylcytosine. *Photochem. Photobiol. Sci.* **12**, 1409–1415.
87. Song Q., Cannistraro V.J., Taylor J.S. (2011) Rotational position of a 5-methylcytosine-containing cyclobutane pyrimidine dimer in a nucleosome greatly affects its deamination rate. *J. Biol. Chem.* **286**, 6329–6335.
88. Cannistraro V.J., Pondugula S., Song Q., Taylor J. (2015) Rapid deamination of cyclobutane pyrimidine dimer photoproducts at TCG sites in a translationally and rotationally positioned nucleosome *in vivo*. *J. Biol. Chem.* **290**, 26597–26609.
89. van Loon B., Markkanen E., Hübscher U. (2010) Oxygen as a friend and enemy: how to combat the mutational potential of 8-oxo-guanine. *DNA Repair (Amst.)*. **9**, 604–616.
90. Jiang Z., Lai Y., Beaver J.M., Tsegay P.S., Zhao M., Horton J.K., Zamora M., Rein H.L., Miralles F., Shaver M., Hutcheson J.D., Agoulnik I., Wilson S.H., Liu Y. (2020) Oxidative DNA damage modulates DNA methylation pattern in human breast cancer 1 (BRCA1) gene via the crosstalk between DNA polymerase β and a *de novo* DNA methyltransferase. *Cells*. **9**, 225.

Alternative Mechanisms of Mutagenesis at mCpG Sites during Replication and Repair

E. S. Shilkin¹, D. V. Petrova^{2, 3}, D. O. Zharkov^{2, 3, *}, and A. V. Makarova^{1, **}

¹Institute of Molecular Genetics, National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, 123182 Russia

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

³Novosibirsk State University, Novosibirsk, 63009 Russia

*e-mail: dzharkov@niboch.nsc.ru

**e-mail: amakarova-img@yandex.ru

5-Methyl-2'-deoxycytidine (mC) at CpG sites plays a key role in the epigenetic gene function regulation, cell differentiation and carcinogenesis. Despite the importance of mC for normal cell function, CpG dinucleotides are known as mutagenesis hotspots. mC is deaminated with the formation of T, causing C→T transitions. However, several recent studies demonstrated the effect of epigenetic modifications of C on the fidelity and efficiency of DNA polymerases and excision repair enzymes. This review summarizes the known data indicating the existence of mutagenesis mechanisms independent of deamination at CpG sites.

Keywords: 5-methyl-2'-deoxycytidine, CpG sites, DNA polymerases, DNA damage, repair