

## Влияние PARP-2 на структуру нуклеосом

Научный руководитель – Малюченко Наталия Валериевна

*Лыс Александра Александровна*

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

*E-mail: lys-alex-bio-msu@yandex.ru*

Фермент поли(АДФ-рибоза)полимераза-2 (PARP-2) является ядерным белком, участвующим в процессе регуляции репарации ДНК, осуществляя поли(АДФ)рибозилирование - обратимую посттрансляционную ковалентную модификацию белков гомополимерной цепью из АДФ-рибозы, где в качестве субстрата выступает  $NAD^+$  [1]. Изучение функций PARP-2 представляет большой интерес. Известно, что дефицит PARP-2 вызывает повышенную чувствительность к ионизирующему излучению [2], поэтому PARP-2 может стать перспективной мишенью для таргетной терапии онкологических заболеваний.

Для изучения действия PARP-2 были сконструированы и получены мононуклеосомы с флуоресцентными метками  $Cy3/Cy5$ , обеспечивавшими эффективный Фёрстеровский резонансный перенос энергии (FRET) [3]. Метки вводили вблизи входа ДНК в нуклеосому, в центральную часть нуклеосомы, вблизи выхода ДНК из нуклеосомы. Исследование проводили с использованием двухлинкерных нуклеосом (с двумя линкерными участками длиной 20 п.н.) и коровых нуклеосом (без линкеров). Анализ структуры комплексов нуклеосом с PARP-2 проводили методом FRET-микроскопии одиночных частиц (spFRET-микроскопии). Образование комплексов нуклеосом с PARP-2 дополнительно исследовали методом анализа изменений электрофоретической подвижности в геле (EMSA).

Методом spFRET-микроскопии было показано, что структурные перестройки в крайних областях нуклеосом наблюдаются уже при 25 нМ PARP-2. Структура центральной части двухлинкерных нуклеосом изменяется при 50 нМ PARP-2, а коровых - при 100 нМ фермента, что указывает на большую стабильность структуры коровых нуклеосом. Методом EMSA обнаружена способность PARP-2 образовывать комплексы с нуклеосомами различной стехиометрии и выявлено влияние на эту способность двухвалентных ионов. Исследования методами spFRET-микроскопии и EMSA показали, что активация с помощью  $NAD^+$  поли(АДФ)рибозилирования в комплексах нуклеосом с PARP-2 приводит к диссоциации этих комплексов и восстановлению исходной структуры нуклеосом, зависящей от наличия или отсутствия линкерной ДНК.

Полученные результаты демонстрируют, что PARP-2 оказывает существенный реорганизующий эффект на укладку ДНК в коровой области нуклеосомы, а линкеры оказывают влияние на стабильность нуклеосом; действие  $NAD^+$  оказывает обратимое действие на PARP-2-зависимые нуклеосомные перестройки.

### Источники и литература

- 1) Gerasimova N. et al. Complexes of nucleosomal nanoparticles with proteins: spFRET microscopy study of olaparib and PARP-1 binding to core nucleosomes // Microscopy and imaging science: practical approaches to applied research and education. Ed. A. Méndez-Vilas, Formatex Research Center. 2017. p. 55-61.
- 2) Langelier, et al. PARP-2 and PARP-3 are selectively activated by 5' phosphorylated DNA breaks through an allosteric regulatory mechanism shared with PARP-1 // Nucleic Acids Research. 2014; 42, p.7762–7775.

- 3) Valieva M.E., et al. Large-Scale ATP-Independent Nucleosome Unfolding by a Histone Chaperone // Nature Structural and Molecular Biology. 2016; 23, p.1111-1116.