

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 57.088.1

## СВЯЗЫВАНИЕ PARP1 С РАЗРЫВАМИ И ШПИЛЬКАМИ НА ДНК ИЗМЕНЯЕТ СТРУКТУРУ НУКЛЕОСОМ

Н.В. Малюченко<sup>1,\*</sup>, Е.Ю. Котова<sup>2</sup>, М.П. Кирпичников<sup>1,3</sup>, В.М. Студитский<sup>1,2</sup>,  
А.В. Феофанов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

<sup>2</sup>Cancer Epigenetics Team, Fox Chase Cancer Center, Cottman Avenue 333, Philadelphia, PA 19111, USA;

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10  
\*e-mail: mal\_nat@mail.ru

Поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP1) участвует в процессах репарации, репликации, транскрипции ДНК, регуляции клеточного цикла и апоптоза. Участие PARP1 в репарации определяется способностью фермента к взаимодействиям с различными дефектами и неканоническими структурами ДНК с последующим полиАДФ-рибозилированием белков, находящихся рядом. Ранее на примере моонуклеосом, имеющих один выступающий конец ДНК, моделирующий двуцепочечный разрыв ДНК вблизи кор-нуклеосом, нами была обнаружена способность PARP1 вызывать структурные перестройки в нуклеосомах в отсутствие НАД<sup>+</sup>. В настоящей работе мы показали, что PARP1 вызывает подобные структурные перестройки в нуклеосомах как в случае нуклеосом с концами ДНК, отстоящими от коровой области на 20 п.н., так и в случае модификации этих концов шпильками. Во всех исследованных вариантах нуклеосом PARP1 вызывает изменение укладки ДНК на октамере гистонов, сопровождающееся увеличением расстояния между соседними витками ДНК. Эти PARP1-опосредованные изменения в структуре нуклеосом предположительно способствуют деконденсации хроматина и облегчают доступ ферментов репарации к повреждениям ДНК.

**Ключевые слова:** поли(АДФ-рибоза)полимераза 1, нуклеосома, флуоресценция, перенос энергии, микроскопия, шпильки ДНК

Поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP1) – второй по представленности в ядре белок после гистонов [1], который относится к семейству поли(АДФ-рибозил)-трансфераз [2]. PARP1 состоит из шести основных доменов, которые соединены между собой гибкими линкерами [3, 4]. PARP1 участвует в репарации ДНК, поскольку входящие в его состав так называемые цинковые пальцы распознают и связывают различные повреждения ДНК: одно- и двуцепочечные разрывы, апуриновые сайты и неканонические структуры ДНК, такие как шпильки и крестообразные структуры [5, 6]. PARP1 первым из белков рекрутируется к месту повреждения ДНК [7, 8]. Взаимодействие с ДНК приводит к конформационным изменениям доменов PARP1, вызывая активацию фермента и НАД<sup>+</sup>-зависимое поли(АДФ-рибозил)ирование белков.

Установлено, что активация PARP1 способствует деконденсации хроматина в месте разрыва и облегчает доступ ферментов репарации к повреждениям ДНК. При этом поли(АДФ-рибозил)ированные аминокислотные остатки привлекают факторы, воздействующие на структуру хроматина и участвующие в репарации [6]. Недавно появились данные о нуклеосом-ремоделирующем действии PARP1, которое не связано с его ферментативной активностью. В частности, было обнаружено, что образование комплекса PARP1 с нуклеосомой в отсутствие НАД<sup>+</sup> обратимо меняет укладку ДНК на октамере гистонов, значительно увеличивая расстояние между соседними витками ДНК [9]. Установлено, что связывание PARP1 с нуклеосомами в отсутствие НАД<sup>+</sup> облегчает взаимодействие пионерных транскрипционных

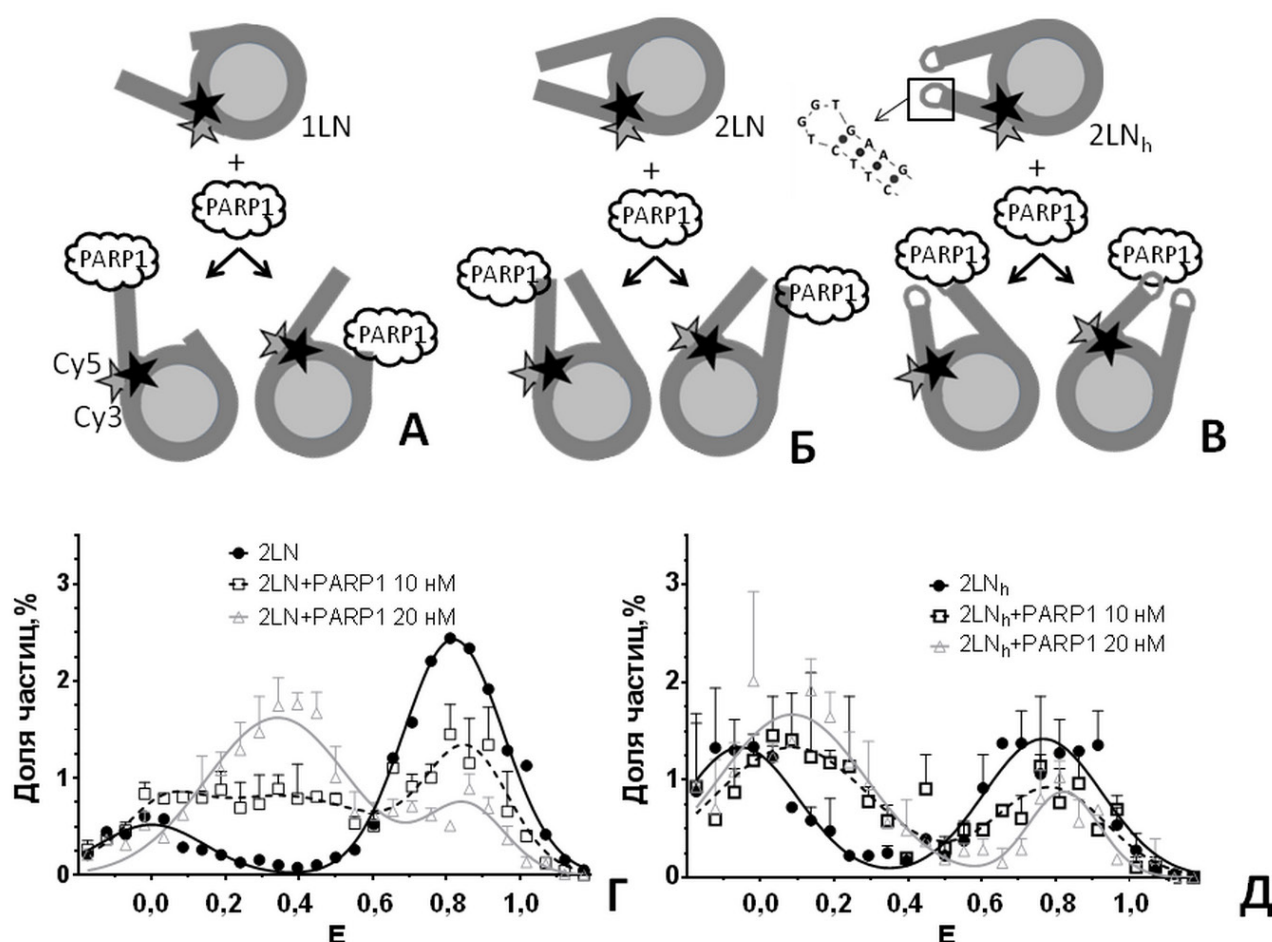
факторов с сайтами нуклеосомной ДНК, которые в обычном состоянии экранированы октамером гистонов [10]. Поскольку управление структурными перестройками нуклеосомы является одним из основных механизмов регуляции ядерных процессов транскрипции, репликации и репарации ДНК, новая нуклеосом-ремоделирующая активность PARP1, не зависящая от поли(АДФ-рибозил)ирования, требует детального исследования.

Ранее PARP1-индуцированные структурные изменения нуклеосом были обнаружены нами при изучении моонуклеосом с одним выступающим (линкерным) участком ДНК [9]. Эти изменения наблюдались при высокой концентрации PARP1 (100 нМ) и могли быть вызваны связыванием фермента с концом ДНК на границе коровой области нуклеосомы (рисунок, А). В настоящей работе особенности ремоделирующего действия PARP1 исследованы на примере моонуклеосом с двумя участками лин-

керной ДНК длиной 20 п.н. со шпильками на обоих концах ДНК и без них (рисунок, Б, В). Исследования конформации нуклеосом проводили методом флуоресцентной микроскопии одиночных комплексов на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии (single particle Förster Resonance Energy Transfer microscopy, далее — spFRET-микроскопия), для чего в нуклеосомную ДНК вводили две флуоресцентные метки (рисунок, А), образующие донор-акцепторную пару и позволяющие выявлять изменение укладки соседних витков ДНК на октамере гистонов, как это показано ранее [9, 11, 12].

### Материалы и методы

В работе использовали: Taq-ДНК-полимеразу, наборы для очистки ПЦР-фрагментов (ПЦР — полимеразная цепная реакция) и экстракции ДНК из геля (Евроген, РФ); ферменты



**Рисунок.** Влияние PARP1 на структуру нуклеосом. А–В — схематическое изображение структур моонуклеосом 1LN, 2LN и 2LN<sub>h</sub>, отличающихся длиной линкерных участков ДНК и наличием/отсутствием шпилек на концах ДНК, а также предполагаемых комплексов этих нуклеосом с PARP1. Звездочками отмечено положение флуоресцентных меток Cy3 и Cy5. Г, Д — частотные распределения нуклеосом 2LN (Г) и 2LN<sub>h</sub> (Д) и их комплексов с PARP1 по величине эффективности FRET (Е), измеренные методом spFRET-микроскопии. Представлены средние ± стандартные ошибки среднего значения рассчитанных величин

рестрикции, T7-экзонуклеазу и ДНК-лигазу фага T4 (New England Biolabs, США).

Флуоресцентно-меченые ДНК-матрицы длиной 187 п.н. с нуклеосом-позиционирующей последовательностью s603 получали при помощи ПЦР с использованием следующих праймеров, меченных флуорофорами Cy3 и Cy5 (Lumiprobe, РФ):

2LN\_P\_forward 5'-CAAGCGACACCGGCAC TGGGCCCCGGTTCGCGC[Cy3-dT]CCCCGCCTT CCGTGTGTTGTCTCTCTCGGGCGT-3';  
2LN\_P\_reverse GAACCATGATGGGCACTGGG TACCCAGGGACTTGAAGTAATAAGGACGG AGGGCCTCTTCAACATCGATGCACGG[Cy5-dT]GGTTAG-3.

Использование данной пары праймеров обеспечивало введение флуоресцентных меток Cy3 и Cy5 соответственно в положения 33 и 111 п.н. от начала ДНК (13 и 91 п.н. относительно входа ДНК в нуклеосому).

Очищенный ПЦР-продукт обрабатывали TspR1-рестриктазой (3 ч, 65°C), очищали и лигировали с образующим шпильчатую структуру и содержащим TspR1-сайт олигонуклеотидом GCTGAGCTTCTGGTGAAGCTCAGCGGCACT GGG (12 ч, 16°C). Продукт очищали и нелигированные фрагменты удаляли с помощью T7-экзонуклеазы в течение часа при 25°C. Каждый этап обработки ферментами сопровождался очисткой получившихся продуктов и их проверкой электрофорезом в 8%-ном полиакриламидном геле (ПААГ) с 8 М мочевиной. В результате получали матрицу со шпильками на концах ДНК, которую использовали для сборки нуклеосом. Альтернативно использовали аналогичную ДНК без маскированных концов. Для сборки нуклеосом использовали хроматин без гистона H1, который выделяли из эритроцитов цыплят, как описано ранее [13]. Нуклеосомы собирали на ДНК-матрицах с помощью ступенчатого диализа против раствора NaCl в уменьшающейся концентрации при 4°C по протоколу, описанному ранее [13]. Далее моонуклеосомы очищали от избытка донорного хроматина и неспецифических продуктов реакции с помощью препаративного электрофореза в 4%-ном ПААГ, в буфере 10 mM HEPES-NaOH (Sigma-Aldrich, США, pH 8,0); 0,2 mM ЭДТА. Перед нанесением проб на гель проводили префорез (150 В, 1,5 ч, 4°C). Анализ нуклеосом в геле выполняли на приборе Turboon Trio (GE Healthcare, США). По полученному изображению вырезалась целевая полоса ПААГ с моонуклеосомами и измельчалась. Нуклеосомы элюировали из геля буфером, содержащим 10 mM HEPES-NaOH (pH 8,0), 0,2 mM ЭДТА, 200 мкг/мл бычьего сывороточного

альбумина, и хранили при 4°C. Человеческий рекомбинантный PARP1 экспрессировали в *E. coli*, очищали по методике, описанной ранее [14] и хранили при -80°C.

Измерение и анализ одиночных нуклеосом, а также их комплексов с PARP1 проводили в растворе, содержащем 150 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub> и 1 mM β-меркаптоэтанол, по методике, описанной ранее [15, 16].

Измерения проводили при помощи конфокального микроскопа LSM710-Confocor 3 (Carl Zeiss, Германия) в силиконовых лунках на покровном стекле, используя водо-иммерсионный объектив с 40-кратным увеличением С-Апроchromat (числовая апертура - 1,2). Комплексы формировали, инкубируя нуклеосомы (1 нМ) с PARP1 (10 или 20 нМ) в течение 25 мин при 22°C.

Измеренные величины интенсивности флуоресценции Cy3 и Cy5 ( $I_3$  и  $I_5$ ) в составе одиночных нуклеосом корректировали на величину фона и пересчитывали в коэффициент близости ( $E$ ), используя уравнение

$$E = (I_5 - 0,19 \times I_3) / (I_5 + 0,81 \times I_3),$$

где коэффициенты 0,19 и 0,81 обеспечивают учет частичного перекрытия спектров флуоресценции Cy3 и Cy5 в области 635–800 нм [15, 16]. Коэффициент близости  $E$  — это аналог эффективности FRET без учета поправок на квантовые выходы флуорофоров и отличия в чувствительности прибора в областях испускания флуоресценции Cy3 и Cy5. Результаты расчетов представляли в виде гистограмм распределения нуклеосом и их комплексов с PARP1 по величине  $E$ . Данные были получены в нескольких независимых экспериментах, а размеры выборок составляли не менее 3000 нуклеосом. Представленные на гистограммах зависимости описывали в виде суперпозиции нескольких нормальных распределений (полос Гауссовой формы), соответствующих различным структурным состояниям нуклеосом, и определяли долю нуклеосом в каждом из этих состояний.

### Результаты и их обсуждение

Для изучения структурных перестроек в коровой области нуклеосом при их взаимодействии с PARP1 были сконструированы моонуклеосомы 2LN, октамер гистонов в которых получали из хроматина эритроцитов цыплят, а в основу ДНК-матрицы положена нуклеосом-позиционирующая последовательность 603 длиной 147 п.н. Эта последовательность была дополнена с обеих сторон участками линкерной ДНК длиной по 20 п.н. (рисунк, Б). В нуклеосомах 2LN оба конца ДНК (потенциальные сайты связывания PARP1 [5, 6]) расположены на зна-



чительном расстоянии от кор-нуклеосом, в отличие от ранее исследованных нуклеосом 1LN (рисунок, А), в которых один конец ДНК находился непосредственно у границы кор-нуклеосомы, а другой — на расстоянии 20 п.н. от нее [9]. Еще в одном варианте моонуклеосом (2LN<sub>h</sub>, рисунок, В) на концы линкерной ДНК были введены короткие шпильки, которые, как полагают, способны модулировать образование комплексов с PARP1 [5, 6]. Во всех типах нуклеосом донор-акцепторная пара флуорофоров находилась в одном и том же участке кор-нуклеосом.

Исследования, проведенные методом spFRET-микроскопии, показали, что 2LN и 2LN<sub>h</sub> представлены в растворе двумя субпопуляциями, которым соответствуют два нормальных (гауссовых) распределения по величине  $E$  с максимумами в области высоких и низких значений  $E$  (рисунок, Г, Д). Основная субпопуляция 2LN ( $83 \pm 3\%$  нуклеосом, максимум  $E = 0,83 \pm 0,02$ ) соответствует интактным нуклеосомам с плотной укладкой нуклеосомной ДНК на октамере гистонов, а минорная субпопуляция 2LN ( $17 \pm 4\%$  нуклеосом,  $E = 0,02 \pm 0,01$ ) соответствует нуклеосомам с нарушенной укладкой нуклеосомной ДНК [9]. Соответствующие субпопуляции 2LN<sub>h</sub> характеризуются максимумами с  $E = 0,77 \pm 0,03$  и  $0,01 \pm 0,01$ , а доли нуклеосом в них составляют соответственно  $57 \pm 7$  и  $43 \pm 6\%$  (рисунок, Д). Субпопуляция с низкими значениями  $E$  возникает в исследуемых образцах из-за потери гистонов и дестабилизации структуры нуклеосомной ДНК в разбавленных растворах, а также вследствие так называемого «дыхания» нуклеосом, то есть временного спонтанного отворачивания небольшого участка ДНК от октамера гистонов в области входа ДНК в нуклеосому [17]. Первый фактор, по-видимому, является основной причиной большей субпопуляции 2LN<sub>h</sub> с  $E = 0,01$  по сравнению с 2LN: дополнительные очистки после лигирования шпилек приводят к значительному уменьшению концентрации 2LN<sub>h</sub> по сравнению с исходными 2LN.

Обнаружено, что PARP1, образуя комплексы с 2LN, вызывает концентрационно-зависимые структурные изменения в коровой области нуклеосом, которые регистрируются методом spFRET-микроскопии как появление новой субпопуляции нуклеосом с максимумом нормального распределения с  $E = 0,35 \pm 0,04$  (рисунок, Г). Доля таких комплексов составляет  $32 \pm 7\%$  при 10 нМ фермента и возрастает до  $64 \pm 6\%$  при 20 нМ PARP1.

Не менее эффективно PARP1 образует комплексы и изменяет структуру 2LN<sub>h</sub> (рисунок,

Д). Комплексы PARP1 с 2LN<sub>h</sub> имеют максимум распределения по величине  $E$ , равный  $E = 0,23 \pm 0,03$ , а их доля составляет  $33 \pm 5$  и  $41 \pm 5\%$  соответственно при 10 и 20 нМ фермента.

Уменьшение величины  $E$  в комплексах свидетельствует об изменении укладки ДНК на октамере гистонов, сопровождающемся увеличением расстояния между соседними витками ДНК. Отметим, что для 2LN и 2LN<sub>h</sub> ремоделирующее действие PARP1 наблюдается в наномолярном диапазоне концентраций фермента.

Ранее было установлено, что PARP1 с высокой аффинностью взаимодействует с концами нуклеосомной ДНК, которые распознает как двуцепочечные разрывы [18]. Поэтому наиболее вероятные типы образующихся комплексов PARP1 с 1LN и 2LN могут формироваться именно с участием концов ДНК, как показано на рисунке (А, Б). Не исключено, что обнаруженные нами ранее структурные изменения в 1LN [9] могли быть вызваны связыванием PARP1 с коротким концом ДНК в непосредственной близости от коровой области нуклеосомы (рисунок, А). Однако новые данные, представленные на рисунке (Г), свидетельствуют, что и в случае 2LN, где оба конца ДНК отстоят от коровой области на 20 п.н., PARP1 значительно изменяет укладку ДНК на октамере гистонов.

PARP1 является представителем группы белков, способных связываться со шпилькообразными структурами ДНК [19]. В согласии с этими данными результаты наших экспериментов показывают, что введение шпилек по концам ДНК на расстоянии 20 п.н. от коровой области не ослабляет взаимодействия нуклеосом с PARP1. Шпильки, наиболее вероятно, выступают в 2LN<sub>h</sub> сайтами связывания PARP1 (рисунок, В), а образование комплекса сопровождается структурными изменениями в коровой области нуклеосом.

Для всех исследованных типов нуклеосом (1LN, 2LN и 2LN<sub>h</sub>) характер PARP1-индуцированных структурных изменений схож: значительное увеличение расстояния между соседними витками ДНК в коровой области, не связанное с поли(АДФ-рибоз)илированием. Можно предположить, что PARP1-опосредованные изменения в структуре нуклеосом способствуют деконденсации хроматина и облегчают доступ ферментам репарации к повреждениям ДНК.

Отметим, что в работе [20] было показано, что тринуклеосомы с закрытыми концами ДНК взаимодействуют с PARP1 не менее эффективно, чем нуклеосомы с экспонированными конца-

ми ДНК. Этот факт указывает на возможное существование дополнительного сайта связывания PARP1 с нуклеосомами, отличного от концов нуклеосомной ДНК, взаимодействие с которым может давать вклад в наблюдаемые нами структурные перестройки. Проверка этой гипотезы требует проведения дополнительных исследований, но в любом случае PARP1-индуцированные структурные изменения в нуклеосомах могут иметь прямое отношение к сигнальной и регуляторной функциям фермента. В пользу этого вывода свидетельствуют дан-

ные работы [10], в которой продемонстрирована ключевая роль PARP1 в регуляции транскрипции Sox2-зависимых генов, контролирующих состояние плюропотентности клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-54-33045). Исследование выполнено без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ludwig A., Behnke B., Holtlund J., Hilz H. Immunoquantitation and size determination of intrinsic poly(ADP-ribose) polymerase from acid precipitates. An analysis of the in vivo status in mammalian species and in lower eukaryotes // *J. Biol. Chem.* 1988. Vol. 263. N 15. P. 6993–6999.
2. Ame J.C., Spenlehauer C., de Murcia G. The PARP superfamily // *BioEssays*. 2004. Vol. 26. N 8. P. 882–893.
3. Langelier M.F., Planck J.L., Roy S., Pascal J.M. Structural basis for DNA damage-dependent poly(ADP-ribosylation) by human PARP-1 // *Science*. 2012. Vol. 336. N 6082. P. 728–732.
4. Langelier M.F., Eisemann T., Riccio A.A., Pascal J.M. PARP family enzymes: regulation and catalysis of the poly(ADP-ribose) posttranslational modification // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2018. Vol. 53. P. 187–198.
5. Pion E., Ullmann G.M., Amé J.C., Gérard D., de Murcia G., Bombarda E. DNA-induced dimerization of poly(ADP-ribose) polymerase-1 triggers its activation // *Biochemistry*. 2005. Vol. 44. N 44. P. 14670–14681.
6. Pascal J.M. The comings and goings of PARP-1 in response to DNA damage // *DNA Repair (Amst.)*. 2018. Vol. 71. P. 177–182.
7. Haince J.F., McDonald D., Rodrigue A., Dery U., Masson J.Y., Hendzel M.J., Poirier G.G. PARP1-dependent kinetics of recruitment of MRE11 and NBS1 proteins to multiple DNA damage sites // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. N 2. P. 1197–1208.
8. Liu C., Vyas A., Kassab M.A., Singh A.K., Yu X. The role of poly ADP-ribosylation in the first wave of DNA damage response // *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45. N 14. P. 8129–8141.
9. Sultanov D.C., Gerasimova N.S., Kudryashova K.S., Maluchenko N.V., Kotova E.Y., Langelier M.F., Pascal J.M., Kirpichnikov M.P., Feofanov A.V., Studitsky V.M. Unfolding of core nucleosomes by PARP-1 revealed by spFRET microscopy // *AIMS Genet.* 2017. Vol. 4. N 1. P. 21–31.
10. Liu Z., Kraus K.W. Catalytic-independent functions of PARP-1 determine Sox2 pioneer activity at intractable genomic loci // *Mol. Cell.* 2017. Vol. 65. N 4. P. 589–603.
11. Valieva M.E., Armeev G.A., Kudryashova K.S., Gerasimova N.S., Shaytan A.K., Kulaeva O.I., McCullough L.L., Formosa T., Georgiev P.G., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M., Feofanov A.V. Large-scale ATP-independent nucleosome unfolding by a histone chaperone // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016. Vol. 23. N 12. P. 1111–1116.
12. Valieva M.E., Gerasimova N.S., Kudryashova K.S., Kozlova, A.L., Kirpichnikov M.P., Hu Q., Botuyan M.V., Mer G., Feofanov A.V., Studitsky V.M. Stabilization of nucleosomes by histone tails and by FACT revealed by spFRET microscopy // *Cancers*. 2017. Vol. 9. N 1: 3.
13. Gaykalova D.A., Kulaeva O.I., Bondarenko V.A., Studitsky V.M. Preparation and analysis of uniquely positioned mononucleosomes // *Chromatin Protocols*, vol. 523. *Methods Mol. Biol.* / Eds. S. Chellappan. N.Y.: Humana Press, 2009. P. 109–123.
14. Langelier M.F., Steffen J., Riccio A.A., McCauley M., Pascal J.M. Purification of DNA damage-dependent PARPs from *E. coli* for structural and biochemical analysis // *Poly(ADP-ribose) polymerase*, vol. 1608. *Methods Mol. Biol.* / Eds. A. Tulin. N.Y.: Humana Press, 2017. P. 431–444.
15. Kudryashova K.S., Nikitin D.V., Chertkov O.V., Gerasimova N.S., Valeva M.E., Studitsky V.M., Feofanov A.V. Development of fluorescently labeled mononucleosomes for the investigation of transcription mechanisms by single complex microscopy // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2015. Vol. 70. N 4. P. 189–193.
16. Kudryashova K.S., Chertkov O.V., Nikitin D.V., Pestov N.A., Kulaeva O.I., Efremenko A.V.,

Solonin A.S., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M., Feofanov A.V. Preparation of mononucleosomal templates for analysis of transcription with RNA polymerase using spFRET // *Chromatin Protocols*, vol 1288. Methods Mol. Biol. / Eds. S. Chellappan. N.Y.: Humana Press, 2015. P. 395–412.

17. Polach K.J., Widom J. Mechanism of protein access to specific DNA sequences in chromatin: a dynamic equilibrium model for gene regulation // *J. Mol. Biol.* 1995. Vol. 254. N 2. P. 130–149.

18. Clark N.J., Kramer M., Muthurajan U.M., Luger K. Alternative modes of binding of poly(ADP-ribose) polymerase 1 to free DNA and

nucleosomes // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287. N 39. P. 32430–32439.

19. Potaman V.N., Shlyakhtenko L.S., Oussatcheva E.A., Lyubchenko Y.L., Soldatenkov V.A. Specific binding of poly(ADP-ribose) polymerase-1 to cruciform hairpins // *J. Mol. Biol.* 2005. Vol. 348. N 3. P. 609–661.

20. Muthurajan U.M., Hepler M.R., Hieb A.R., Clark N.J., Kramer M., Yao T., Luger K. Automodification switches PARP-1 function from chromatin architectural protein to histone chaperone // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2014. Vol. 111. N 35. P. 12752–12757.

Поступила в редакцию 07.05.2019 г.

После доработки 22.06.2019 г.

Принята в печать 02.07.2019 г.

## RESEARCH ARTICLE

### PARP1 BINDING TO DNA BREAKS AND HAIRPINS ALTERS NUCLEOSOME STRUCTURE

N.V. Malyuchenko<sup>1,\*</sup>, E.Yu. Kotova<sup>2</sup>, M.P. Kirpichnikov<sup>1,3</sup>, V.M. Studitsky<sup>1,2</sup>, A.V. Feofanov<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Bioengineering Department, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

<sup>2</sup>Cancer Epigenetics Team, Fox Chase Cancer Center, Cottman Avenue 333, Philadelphia, PA 19111, USA;

<sup>3</sup>Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, 117997, Moscow, Russia

\*e-mail: mal\_nat@mail.ru

Poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP1) is involved in the processes of DNA repair, replication, transcription, cell cycle regulation and apoptosis. Participation of PARP 1 in DNA repair is determined by the ability of the enzyme to interact with various defects and non-canonical structures of DNA with consequent polyADP-ribosylation of neighboring proteins. Earlier for mononucleosomes containing a DNA end recapitulating double-strand DNA break near the nucleosome, we found that PARP1 induces nucleosome structural changes in the absence of NAD<sup>+</sup>. In the present work we report that PARP1 induces similar structural changes in nucleosomes containing either DNA ends extending from the core by 20 b.p. or containing hairpins at the DNA ends. In all the cases PARP1 caused changes in DNA wrapping on the surface of the histone octamer that are accompanied by an increase in the distance between adjacent DNA gyres. These PARP1-mediated changes in the nucleosome structure presumably contribute to chromatin decondensation and facilitate access of repair enzymes to damaged DNA.

**Keywords:** *poly(ADP-ribose)polymerase 1, nucleosome, fluorescence, energy transfer, microscopy, DNA hairpins*

#### Сведения об авторах

Малюченко Наталия Валериевна — канд. биол. наук, доцент кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-00-05; e-mail: mal\_nat@mail.ru

Котова Елена Юрьевна — научный сотрудник отдела эпигенетики рака ракового центра Фокс Чейз, Филадельфия, США. Тел.: +1-215-7405; e-mail: elena.kotova@fccc.edu

*Кирпичников Михаил Петрович* — акад. РАН, проф., докт. биол. наук, зав. кафедрой биоинженерии и декан биологического факультета МГУ, зав. отделом биоинженерии ИБХ РАН. Тел.: 8-495-939-27-76; e-mail: [kirpichnikov@inbox.ru](mailto:kirpichnikov@inbox.ru)

*Студитский Василий Михайлович* — докт. биол. наук, гл. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ и отдела эпигенетики рака ракового центра Фокс Чейз, Филадельфия, США Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: [vasily.studitsky@fccc.edu](mailto:vasily.studitsky@fccc.edu)

*Феофанов Алексей Валерьевич* — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ, руководитель лаборатории оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул ИБХ РАН. Тел. +7-495-939-57-38; e-mail: [avfeofanov@yandex.ru](mailto:avfeofanov@yandex.ru)