

РОЛЬ YB-1 В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА ПОЛИ(АДФ-РИБОЗИЛ)ИРОВАНИЯ, КАТАЛИЗИРУЕМОГО ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗАМИ

©2022 г. Е. Э. АЛЕМАСОВА¹, К. Н. НАУМЕНКО¹,
М. В. СУХАНОВА¹, О. И. ЛАВРИК^{1,2}

¹ *Институт химической биологии и фундаментальной медицины
СО РАН, Новосибирск*

² *Новосибирский государственный университет, Новосибирск*

I. Введение. II. Поли(АДФ-рибозо)полимеразы и поли(АДФ-рибозил)ирование. III. Поли(АДФ-рибозил)ирование и метаболизм PAR. IV. Белок YB-1 как регулятор активности PARP1. V. Роль РНК-связывающих белков в регуляции поли(АДФ-рибозил)ирования. VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Y-бокс-связывающий белок 1 (YB-1) является классическим РНК-связывающим белком, всё больше привлекающим внимание исследователей в качестве потенциального участника поддержания стабильности генома. В белке выделяют три домена: неупорядоченный N-концевой домен, богатый Ala и Pro (A/P-домен, 1–51 аминокислотные остатки), домен холодового шока (CSD, 52–129) и неупорядоченный C-концевой домен (CTD, 130–324), содержащий чередующиеся кластеры положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков [1]. Значительное повышение уровней мРНК и белка YB-1, а также его ядерная локализация наблюдаются в химиорезистентных опухо-

Принятые сокращения: BER – эксцизионная репарация оснований ДНК; CSD – домен холодового шока; CTD – C-концевой домен; IDPR – неупорядоченная последовательность белка; NER – эксцизионная репарация нуклеотидов ДНК; PAR – поли(АДФ-рибоза); PARG – поли(АДФ-рибозо) гликогидролаза; PARP – поли(АДФ-рибозо)полимераза; RBD – РНК-связывающий домен; RBP – РНК-связывающий белок; YB-1 – Y-бокс-связывающий белок 1.

Адрес для корреспонденции: lavrik@niboch.nsc.ru, Лаврик Ольга Ивановна.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 19-14-00107 (для ОИЛ и КНН) и №20-14-00086 (для ЕЭА и МВС).

левых клетках, в силу чего этот белок был предложен в качестве молекулярного маркера диагностики и возможной мишени терапии онкологических заболеваний [1–3].

Изначально белок YB-1 привлек наше внимание как потенциальный участник клеточного ответа на повреждение ДНК по нескольким причинам. Во-первых, ранее было показано, что YB-1 в норме имеет цитоплазматическую локализацию, но может переходить в ядро в условиях генотоксического воздействия на клетки [4]. В некоторых случаях его транслокация была связана с образованием укороченной ядерной формы белка – YB-1(1–219) [5–7], обладающей большим, по сравнению с полноразмерной формой, сродством к ДНК, и меньшим – к РНК [6]. Во-вторых, YB-1 проявляет повышенное сродство к повреждённой ДНК по сравнению с неповреждённой [8]. Наконец, было установлено, что YB-1 способен физически взаимодействовать с рядом белков репарации ДНК, модулируя их активность [8–13]. Начав проводить исследования в этой области, мы дополнили этот ряд потенциальных взаимодействий YB-1 с белками репарации, а именно с ДНК-гликозилазой Neil1 [14, 15], фактором эксцизионной репарации нуклеотидов ХРС [16], апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазой 1 (APE1), поли(АДФ-рибозо)полимеразами 1 и 2 (PARP1 и PARP2), и сделали ряд важных наблюдений, касающихся способности YB-1 регулировать активность ключевых факторов и ферментов репарации оснований ДНК, таких как APE1 и PARP1 [15, 17]. Нами были подтверждены и количественно охарактеризованы непосредственные белок-белковые взаимодействия YB-1 с отдельными участниками пути эксцизионной репарации оснований ДНК, в том числе, впервые показано физическое взаимодействие YB-1 с PARP1 и PARP2 [14]. Следует отметить, что до начала наших исследований роли белка YB-1 в процессе поли(АДФ-рибозил)ирования, единственным фактом, указывающим на возможную взаимосвязь функций YB-1 и PARP1 в клетке, была идентификация YB-1 среди белков, связывающих поли(АДФ-рибозу) (PAR), протеомными методами [18].

Синтез РНК-подобного полимера PAR, катализируемый ферментами PARP1 и PARP2 при возникновении разрывов в ДНК [19], является одним из наиболее ранних событий, происходящих в ходе клеточного ответа на повреждение ДНК (~ 100 мс) [20]. Считается, что более, чем 90% всей поли(АДФ-рибозы) в клетке, по крайней мере, в ответ на ДНК-повреждающее воздействие, синтезируется PARP1 [21]. В качестве субстрата PARP1 использует НАД⁺, и процесс поли(АДФ-рибозил)ирования представляет собой перенос мономеров АДФ-рибозы на молекулы-акцепторы, как правило, это сама PARP1,

белки, но также и ДНК [22, 23]. При этом образуется ковалентно присоединенная и отрицательно заряженная разветвленная цепь PAR, длина которой может превышать 200 мономеров [24]. Регуляторная функция, выполняемая PAR в ответе клетки на повреждение ДНК, очень многогранна, поэтому идентификация и изучение белков, влияющих на синтез PAR, является важной задачей.

Наши исследования роли YB-1 как белка-регулятора активности PARP1 начались в прошедшем десятилетии в кооперации с лабораториями Льва Павловича Овчинникова (Институт белка РАН, Пушкино) и Патрика Курми (Университет Эври, Франция), что увенчалось открытием новой посттрансляционной модификации YB-1 – его поли(АДФ-рибозил)ирования [25]. Помимо того, что YB-1 оказался очень хорошим акцептором поли(АДФ-рибозы) в реакции транспарилирования белков, было выявлено влияние этого белка и на аутомодификацию самой PARP1. Заинтригованные этим моментом, мы впоследствии провели исследования, которые легли в основу серии работ, посвященных функциональным взаимодействиям YB-1 и PARP1. Полученные данные вместе с подробным обсуждением возможных механизмов этих взаимодействий и их последствий для клетки мы впервые обсуждаем в едином обзоре, посвященном памяти академика Л. П. Овчинникова.

II. ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ И ПОЛИ(АДФ-РИБОЗИЛ)ИРОВАНИЕ

Поли(АДФ-рибозо)полимеразы (PARPs) образуют обширное семейство белков, насчитывающее 17 представителей, содержащих консервативный каталитический домен [26]. На сегодняшний день известно, что в клеточном ответе на повреждение ДНК участвуют только три представителя семейства – PARP1, PARP2 и PARP3 [26]. PARP 1–3 – это ДНК-зависимые ферменты, которые активируются в присутствии поврежденной ДНК. Активируясь на повреждениях ДНК, PARP1 и PARP2 катализируют синтез полимера АДФ-рибозы, тем самым осуществляя собственную ковалентную модификацию – аутополи(АДФ-рибозил)ирование и модификацию других белков-акцепторов – трансполи(АДФ-рибозил)ирование. В отличие от PARP1 и PARP2, PARP3 катализирует реакцию моно(АДФ-рибозил)ирования белков [27]. Мишенями PARPs преимущественно являются белки, участвующие в поддержании структуры хроматина и в метаболизме ДНК. Из трех PARPs, активируемых поврежденной ДНК, PARP1 является наиболее изученным ферментом. PARP1 синтезирует до 90%

всей клеточной поли(АДФ-рибозы) (PAR) в ответ на повреждение ДНК и считается одним из ключевых регуляторов процесса репарации ДНК, а также целого ряда других клеточных процессов: транскрипции [28], формирования веретена деления [29] и формирования ядрышек [30]. Синтезируя PAR и модифицируя белки акцепторы, PARP1 способна изменять локальные свойства нуклеоплазмы [31]. С одной стороны, электростатическое отталкивание между PARилированными белками и нуклеиновыми кислотами приводит к эффективной диссоциации модифицированных белков из их комплексов с ДНК или РНК. С другой стороны, PAR можно рассматривать как сигнальную молекулу, привлекающую белки, которые участвуют в PARP1/PAR-зависимых клеточных процессах. В последнее время опубликовано множество данных, описывающих поли(АДФ-рибозил)ирование белков-мишеней, катализируемое PARP1. На сегодняшний день около 2389 белков были идентифицированы, как мишени поли(АДФ-рибозил)ирования, которые могут не только модифицироваться PAR, но и напрямую взаимодействовать с поли(АДФ-рибозой), синтезируемой PARP1 [18, 32–35]. Первоначально было показано, что предпочтительными мишенями для PARPs являются сами поли(АДФ-рибозо)полимеразы и ДНК-связывающие белки, такие как гистоны и факторы репарации ДНК [36]. Позже, с использованием метода масс-спектрометрического анализа для идентификации белков, ассоциированных с поли(АДФ-рибозой), было обнаружено, что многие РНК-связывающие белки могут быть поли(АДФ-рибозил)ированы или взаимодействовать с поли(АДФ-рибозой) в условиях генотоксического стресса [18, 35, 37].

III. ПОЛИ(АДФ-РИБОЗИЛ)ИРОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ PAR

Поли(АДФ-рибозил)ирование – это обратимая посттрансляционная модификация белков полимерной цепью, состоящей из остатков АДФ-рибозы, осуществляемая поли(АДФ-рибозо)полимеразами (рис. 1А). Остатки АДФ-рибозы в линейном полимере соединены О-гликозидными связями, которые образуются между О-2' атомом рибозы, несущей аденин, и С-1D атомом остатка рибозы следующего мономера. В точках ветвления полимера та же самая связь образуется между О-2D и С-1D атомами двух остатков рибозы [38, 39]. После воздействия реагентов, повреждающих ДНК, период полураспада поли(АДФ-рибозы) составляет менее одной минуты, в то же время в неповрежденных клетках, оно составляет порядка 7,7 часа [40]. При

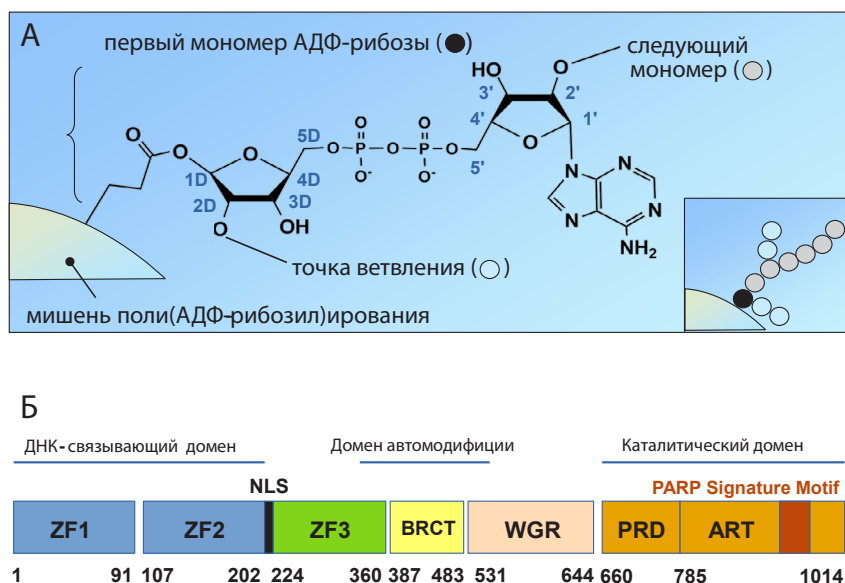


Рис. 1. PARP1 и поли(АДФ-рибоза).

А. Структура мономера поли(АДФ-рибозы) и обозначение связей остатков АДФ-рибозы в линейной цепи полимера и точках ветвления.

Б. Схематическое изображение доменной структуры PARP1.

ZF1–3 – «цинковые пальцы»; BRCT – мотив в домене аутомодификации, сходный с С-терминальным доменом белка-супрессора рака молочной железы 1 (BRCA, breast cancer type 1 susceptibility protein); NLS – сигнал ядерной локализации и сайт расщепления каспазой 3; WGR – консервативный мотив с повышенным содержанием триптофана (W), глицина (G) и аргинина (R); PRD – регуляторный домен PARP1, выполняющий аутоингибиторную функцию; ART – каталитический домен.

возникновении повреждений ДНК резко возрастает не только синтез PAR (за счёт активации PARP1 на повреждениях), но и распад полимера. В клетке деградация PAR преимущественно осуществляется ферментом поли(АДФ-рибозо)гликогидролазой (PARG), которая привлекается к сайтам повреждения ДНК, в том числе, посредством PAR-зависимого механизма [41]. PARG проявляет как экзо-, так и эндогликозидазную активность, гидролизуя О-гликозидные связи между структурными мономерами, что приводит к образованию свободных молекул олиго(АДФ-рибозы) или АДФ-рибозы [42]. Ранее считалось, что поли(АДФ-рибоза) может быть разрушена и по альтернативному пути – с участием фермента (АДФ-рибозил)гидролазы 3

(ARNH3) [43, 44], который подобно PARG проявляет поли(АДФ-рибозо)гликогидролазную активность, гидролизует PAR до мономеров АДФ-рибозы. Однако последние результаты показали, что ARNH3 не может работать равноценно с PARG в реакции расщепления полимера PAR, поскольку не расщепляет разветвленную (branched) структуру PAR [45]. Кроме того, активность фермента ARNH3 по отношению к PAR на 1–2 порядка ниже, чем активность PARG [46]. В то же время PARG не способна катализировать расщепление сложноэфирной или кетоаминной связи между первым мономером АДФ-рибозы и аминокислотой-акцептором (аспартат, глутамат, лизин, аргинин и серин), а ARNH3 может удалять остаток моно(АДФ-рибозы), связанный с серином [46], что особенно важно в процессе АДФ-рибозилирования гистонов. Для удаления АДФ-рибозы с моно(АДФ-рибозил)ированных белков по остаткам аспартата или глутамата существуют специфические моно(АДФ-рибозо)гидролазы [47].

СТРУКТУРА PARP1

PARP1 человека состоит из 1014 аминокислотных остатков, в структуре PARP1 выделяют следующие домены: ДНК-связывающий домен, домен аутомодификации, WGR и каталитический домен (рис. 1Б). Два цинковых пальца (ZF1 и ZF2) принимают участие в распознавании ферментом ДНК-структур, причем ДНК-связывающая активность ZF2 почти в 100 раз выше, чем у ZF1, поэтому ZF2 необходим для быстрой локализации PARP1 на повреждениях ДНК, а ZF1 – для регуляции сродства PARP1 к ДНК [48]. ZF3 опосредует междоменное взаимодействие между N- и C-концевыми частями PARP1, необходимое для ДНК-зависимой активации фермента [49]. В домене аутомодификации сосредоточено большинство сайтов аутополи(АДФ-рибозил)ирования PARP1 [50]. Также здесь находится BRCT-домен, который участвует в образовании белок-белковых контактов [51]. Домен WGR назван согласно существующему консервативному мотиву из аминокислотных остатков триптофана (W), глицина (G), аргинина (R) и является необходимым, хотя его функция не установлена точно [36]. Каталитический домен отвечает за связывание НАД⁺ и АДФ-рибозилтрансферазную активность фермента [19].

Предложенная на сегодняшний день модель аутополи(АДФ-рибозил)ирования PARP1 предполагает конформационные перестройки внутри молекулы белка при взаимодействии с ДНК-субстратом, сопровождающиеся повышением аффинности белка к НАД⁺ и последующим синтезом PAR [52]. Предполагается, что связывание ZF1 и ZF2 с поврежденной ДНК приводит к внутримолекулярному

взаимодействию между каталитическим и ДНК-связывающим доменом. Следует отметить, что из-за наличия автоингибиторного домена (на рисунке PRD) в каталитическом домене, PARP1 обладает низким сродством к молекуле НАД⁺ и при связывании PARP1 с поврежденной ДНК автоингибиторный домен теряет упорядоченную структуру, в результате чего происходит увеличение аффинности PARP1 к НАД⁺, что способствует более эффективному протеканию реакции автополи(АДФ-рибозил)ирования [52].

РОЛЬ PARP1 В РЕПАРАЦИИ ДНК

Формирование поли(АДФ-рибозы) при генотоксическом воздействии послужило основой для изучения функционирования PARPs в процессах репарации ДНК [53]. ДНК организма человека постоянно находится под воздействием повреждающих экзогенных и эндогенных агентов [54]. Сохранение целостности генетической информации обеспечивается системами репарации ДНК. Считается, что в клетках эукариот существует пять основных способов восстановления целостности структуры ДНК: прямая репарация алкилированных оснований, репарация двуцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации (HR) или через негомологичное соединение концов (NHEJ); эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) и эксцизионная репарация оснований (BER), а также коррекция ошибочно встроенных оснований ДНК (MMR) [55]. На сегодняшний день, PARP1 рассматривается как «молекулярный сенсор» разрывов ДНК и универсальный регулятор репарации ДНК [53].

Поврежденные основания и одноцепочечные разрывы ДНК являются основным типом повреждений, которые индуцируют синтез поли(АДФ-рибозы) *in vivo*, что предполагает взаимосвязь между активацией PARP1 и процессом BER и репарацией одноцепочечных разрывов [53]. BER – один из основных путей репарации, направленный на исправление наиболее часто встречающихся повреждений ДНК – AP-сайтов и оснований, подвергшихся модификации (окисление, дезаминирование, алкилирование) [56]. Доказательство участия PARP1 в BER основывается на ряде фактов, полученных в экспериментах с использованием модельных животных (PARP1^{-/-}), клеточных линий (PARP1^{-/-}) и анализе взаимодействия PARP1 с белками и ДНК-интермедиатами процесса BER *in vivo* и *in vitro* [57].

В работах [58–60], методом гомологичной рекомбинации были получены первые линии нокаутных мышей с генотипом (PARP1^{-/-}). Эти мыши были жизнеспособны и фертильны, что свидетельствовало о том, что вклад PARP1 в развитие и дифференцировку тканей мышей

в нормальных условиях незначителен. Однако эти нокаутные мыши проявляли повышенную чувствительность к алкилирующим реагентам: метилнитронитрозогуанидин (MNNG), метил-N-нитрозомочевине (MNU) и метилметансульфонату (MMS), а также γ -облучению, что являлось косвенным доказательством защитной роли PARP1 в условиях генотоксического воздействия. Похожие закономерности были выявлены с использованием клеточных линий PARP1(-/-) [60].

Позже появились прямые доказательства локализации и активации PARP1 на сайтах повреждения ДНК на клеточном уровне. С использованием клеточных линий были исследованы кинетические параметры связывания PARP1 с повреждениями ДНК, индуцированными лазерной микрорадиацией [61]. При таком воздействии возникают различные повреждения ДНК, в частности, одно- и двуцепочечные разрывы ДНК и тиминовые димеры. PARP1 быстро (< 10 с) накапливается локально в сайтах повреждений и временно связывается с поврежденной ДНК и его автополи(АДФ-рибозил)ирование привлекает другие белки репарации, в частности XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein 1), который является одним из основных факторов, регулирующих BER и репарацию одноцепочечных разрывов. Обладая достаточно высоким сродством к неповрежденной ДНК [62], PARP1 может связываться с геномной ДНК и двигаться вдоль неё [63]. Предполагается, что быстрое связывание PARP1 с сайтами повреждения обеспечивается по механизму «monkey-bag»: ассоциация PARP1 с ДНК происходит очень быстро, в то время как диссоциация зависит от формирования тройного комплекса со второй молекулой ДНК, которая должна связаться прежде, чем освободится первая молекула [64]. Следует заметить, что это только один из различных обсуждаемых в литературе механизмов.

Важность синтеза поли(АДФ-рибозы) в качестве сигнальной молекулы для привлечения белков BER к поврежденной ДНК была также показана в работе [65], когда в клеточных линиях с генотипом (PARP1-/-), дефектных по способности синтезировать полимер АДФ-рибозы, значительно снижался уровень локализации XRCC1 в районах повреждения ДНК. Однако существуют данные о том, что репарация повреждений ДНК системой BER может осуществляться как PARP1-зависимым, так и PARP1-независимым путем, а также с участием ближайшего ее гомолога PARP2 [66]. Интересно, что в одной из работ было высказано предположение о том, что репарация одноцепочечных разрывов и поврежденных пуриновых оснований зависит от PARP1, а для репарации поврежденных пиримидиновых оснований PARP1 не требуется [66]. Впрочем, дальнейшего развития эти наблюдения не получили.

Большинство исследований роли PARP1 в репарации ДНК выполнено с использованием клеточных линий или клеточных экстрактов. Основным недостатком использования таких систем – это отсутствие возможности изучения влияния PARP1 на активность ферментов, катализирующих отдельные стадии процесса репарации, поэтому использование систем, реконструированных из рекомбинантных белков, может существенно дополнить информацию, полученную с использованием клеточных линий и экстрактов клеток. С использованием реконструированных систем *in vitro* было показано, что PARP1 эффективно взаимодействует с ДНК-интермедиатами BER, включая ДНК, содержащие апуриновые/апиримидиновые сайты, однонуклеотидные бреши или одноцепочечные разрывы, а также было установлено его взаимодействие с отдельными белками BER [62, 67–72]. Кроме того, в реконструированных системах показано, что PARP1 способен модулировать активность ферментов, катализирующих основные стадии BER, а именно ДНК-полимеразы β , апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1, флэп-эндонуклеазы 1, ДНК-лигазы III [73–78]. В последнее время накапливается все больше данных об участии PARP1 в функционировании систем репарации двухцепочечных разрывов и эксцизионной репарации нуклеотидов (NER) [57, 79]. Поскольку ранее было показано взаимодействие YB-1 с поврежденной ДНК [8] и факторами репарации ДНК [14, 17], а также переход цитоплазматического белка YB-1 в ядро при генотоксическом воздействии на клетки [7], то представляло большой интерес исследовать возможное функциональное взаимодействие YB-1 с PARP1, а также с продуктом катализируемой PARP1 реакции – поли(АДФ-рибозой) как «третьей нуклеиновой кислотой» клетки [80].

РОЛЬ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ PARP1 В МЕХАНИЗМЕ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗИЛ)ИРОВАНИЯ

Одним из важных и не до конца разрешенных вопросов относительно механизма реакции поли(АДФ-рибозил)ирования является организация субъединичной структуры PARP1, участвующей в процессе синтеза поли(АДФ-рибозы), сопровождающегося автомодификацией [81]. Исходя из объемной экспериментальной базы в пользу возможности различных вариантов организации, можно заключить, что PARP1 может функционировать и в форме мономера [82, 83], и в форме димера, состоящего из двух субъединиц [84–87]. Подробное обсуждение обеих гипотез можно найти в обзоре [81]. Некоторые данные предполагают существование мультимерных структур PARP1 [88].

Несмотря на то, что форма (мономер, димер или гетеродимер с другим белком), в которой PARP1 связывается с повреждением ДНК, неизвестна, на основании совокупности имеющихся данных можно предположить следующую модель (рис. 2). Вероятно, сначала происходит связывание с повреждением ДНК только одной молекулы (субъединицы) PARP1 в форме мономера, поскольку:

- укладка доменов PARP1 с формированием активной конформации фермента происходит со стехиометрией 1 : 1 [89];
- при определении констант связывания показан только один сайт с высоким сродством (соответствует повреждению ДНК) [83];
- при наличии одного сайта повреждения наблюдается преимущественно цис-автомодификация PARP1 [19].

Однако, с большой вероятностью на следующем этапе происходит связывание второй субъединицы PARP1 с формированием гомодимера, так как:

- стехиометрия PARP1:ДНК = 2 : 1 оптимальна для ферментативной активности [85];
- начальная скорость автополи(АДФ-рибозил)ирования возрастает согласно кинетике второго порядка от концентрации PARP1 (то есть для эффективной реакции требуется по крайней мере две молекулы PARP1) [84];
- вторая молекула PARP1 связывается с ДНК с большим сродством, чем первая (кооперативность) [90];
- неактивные мутанты PARP1 либо отдельные домены белка при смешивании образуют полностью функциональный фермент, что указывает на структурную возможность образования гомодимера [86].

Можно предположить, что формирование гетеродимеров PARP1 с другими белками происходит либо на втором этапе вместо гомодимера, либо впоследствии одна из субъединиц гомодимера (возможно, временно) замещается другим белком.

Для димера PARP1 потенциально возможны несколько вариантов каталитической активности:

- Интрамолекулярная реакция: каждая субъединица PARP1 катализирует реакцию автомодификации, димер PARP1 симметричен;
- Интермолекулярная реакция: две субъединицы PARP1 катализируют реакцию трансмодификации, димер PARP1 симметричен;
- Интермолекулярная реакция: только одна субъединица PARP1 является каталитически активной, и только одна субъединица связана с повреждением ДНК, димер PARP1 асимметричен (рис. 2).

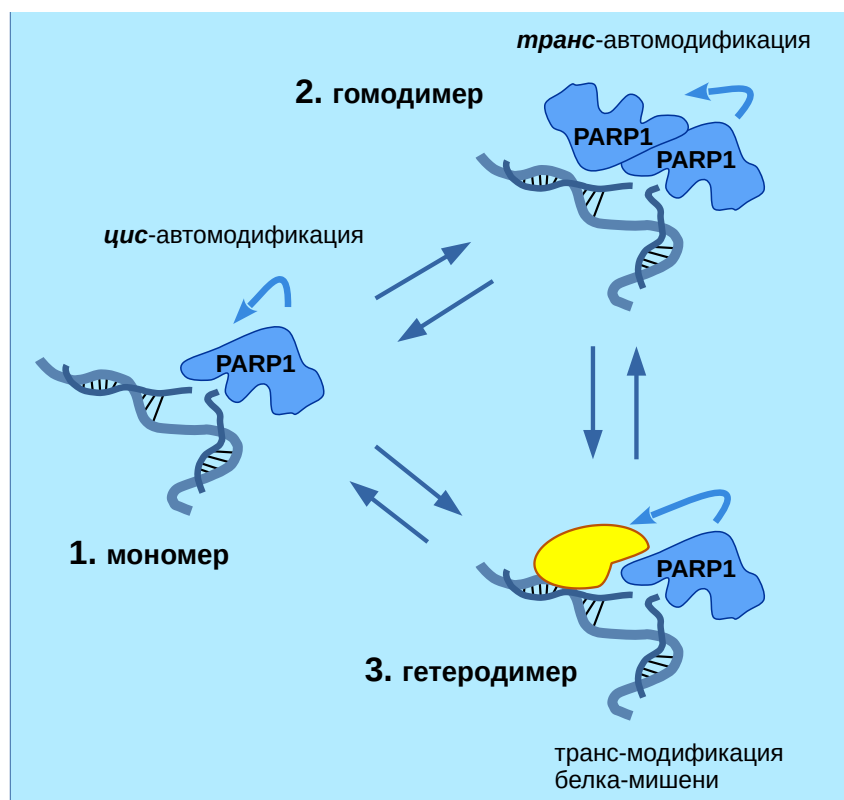


Рис. 2. Формы активного комплекса PARP1 и автомоодификация PARP1.

На рисунке показаны различные варианты формирования активного комплекса PARP1 (1 – мономер, 2 – гомодимер PARP1, 3 – гетеродимер PARP1 с другим белком), а также два способа автомоодификации PARP1 – цис-автомоодификация (внутримолекулярная) и транс-автомоодификация (межмолекулярная).

Если исходить из анализа литературных данных, наиболее вероятным представляется третий вариант, когда в единицу времени в димере PARP1 активна лишь одна субъединица [81]. Можно также с уверенностью утверждать, что для активной молекулы PARP1 вероятны оба способа автомоодификации: как цис-автомоодификация, так и транс-моодификация второй субъединицы гомодимера (что в эксперименте также будет детектироваться как автомоодификация PARP1) [81]. Однако, не исключено, что в ходе реакции может происходить «переключение» активности между протомерами PARP1 с реализацией первых двух вариантов.

Роль аутомодификации PARP1 заключается, во-первых, в генерации большого количества поли(АДФ-рибозы) (в клетке PARP1 является одним из главных катализаторов синтеза и акцепторов PAR [91]). Синтез PAR служит для привлечения к сайту повреждения ДНК PAR-связывающих белков [92], а также организации немембранных компартментов репарации ДНК [31, 93, 94]. Цис-аутомодификация PARP1 необходима для диссоциации фермента из комплекса с ДНК и освобождения сайта повреждения для репарационных машин. Образование гетеродимеров PARP1 с другими белками, не все из которых являются мишенями PARилирования, в ходе реакции, может служить для выполнения других специфических функций. Так, недавно открытый фактор PARилирования гистонов 1 (HPF1) регулирует аутомодификацию PARP1, способствуя преимущественной модификации гистонов [95], а также переключает специфичность поли(АДФ-рибозил)ирования на модификацию остатков серина [96].

IV. БЕЛОК YB-1 КАК РЕГУЛЯТОР АКТИВНОСТИ PARP1

Предположение о том, что модификация PARP1 происходит межмолекулярно в асимметричном димере двух молекул PARP1, согласуется со способностью PARP1 ковалентно модифицировать другие белки. Можно предположить, что PARP1 способен функционировать в виде асимметричного димера в реакции ауто-PARилирования или гетеродимера в реакции транс-PARилирования белков. Асимметрия может обеспечиваться взаимодействием одной из субъединиц (протомеров) с повреждением ДНК, а вторая субъединица в этом комплексе присоединяется через белок-белковые взаимодействия [81]. В таком димере, состоящем из каталитически активной молекулы и белка мишени, PARP1 будет способен дольше оставаться в активном состоянии, так как происходит преимущественная модификация белка-партнера, в том числе и второй субъединицы PARP1. В настоящее время многие ДНК- и РНК-связывающие белки рассматриваются как потенциальные регуляторы активности PARP1. Такие белки могут играть роль партнеров PARP1 и подвергаться транс-PARилированию. Действительно, ряд белков-регуляторов PARP1 обладают способностью привлекаться к сайту повреждения независимо от каталитической активности PARP1 [96]. В настоящем разделе мы рассмотрим возможность формирования гетеродимера PARP1 с белком YB-1 и влияние этого взаимодействия на свойства обоих белков.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ YB-1 И PARP1 В ГЕТЕРОДИМЕРЕ

Образование гетеромерного комплекса белков PARP1 и YB-1 на повреждённой ДНК в отсутствие НАД⁺, то есть независимо от каталитической функции PARP1, было показано с использованием трёх различных способов: методами флуоресцентного титрования [14], задержки в геле и флуоресцентной спектроскопии [97]. Значения эффективной концентрации (EC_{50}), при которой достигается половина максимального ответа системы (то есть увеличения интенсивности флуоресценции белка, несущего флуоресцентную группу, при добавлении белка-партнера), определённые для комплексов YB-1-PARP1 и YB-1(1-219)-PARP1, были высокими – 460 ± 65 и 510 ± 65 нМ, соответственно [14], то есть комплексы нестабильны. Возможно, что эти нестабильные гетеромерные комплексы могут быть стабилизированы, например, ДНК или PAR, синтезируемой в процессе поли(АДФ-рибозил)ирования. Действительно, ДНК оказывает стабилизирующее действие на комплекс YB-1(1-219)-PARP1 ($EC_{50} = 310 \pm 28$ нМ) [14]. EC_{50} для взаимодействий YB-1-YB-1 и YB-1(1-219)-YB-1(1-219) в отсутствие ДНК, измерить не удалось; в присутствии ДНК значения этих величин были определены как 360 ± 42 нМ и 310 ± 37 нМ [98]. Значение EC_{50} для комплекса PARP1-PARP1 составило 130 ± 16 нМ (в присутствии ДНК не измерено) [71]. Согласно литературным данным, сродство YB-1 к двухцепочечной ДНК также является низким ($K_D \sim$ мкМ), однако за счёт мультимеризации этот белок способен конкурировать с другими ДНК-связывающими белками [99]. В то же время PARP1 обладает значительно более высоким сродством к поврежденной ДНК (например, значение K_D для комплекса PARP1 с 30-мерным ДНК-дуплексом, содержащим разрыв, составило 23.4 ± 4.8 нМ [100]). Величины K_D для комплекса PARP1 с двухцепочечным разрывом в ДНК, определённые различными исследователями, варьируют от <3 нМ до 97 нМ [64].

Суммируя вышеизложенное, можно предположить, что в ходе формирования гетеродимера YB-1-PARP1 на ДНК, сначала происходит взаимодействие первой молекулы PARP1 с ДНК (мономер), затем связывание второй молекулы PARP1 (гомодимер) и, наконец, замещение одной из субъединиц димера на молекулу YB-1. В условиях избытка YB-1 и при тенденции этого белка к гомо-олигомеризации, возможно преобладание гетеродимеров YB-1-PARP1 над другими формами комплексов. В целом, следует отметить, что данная модель является упрощённой. Так, методом динамического светорассеяния, было показано, что вероятной формой существования бинарных комплексов PARP1 с другими белками, может быть гетеротетрамер [88].

В гетеродимере с PARP1, YB-1 выступает в качестве мишени трансПАРилирования *in vitro* [25]. Модификация YB-1 резко уменьшает сродство этого белка к ДНК [25]. Следует отметить, что для ковалентной модификации PAR некоторых белков, в частности, p53, необходима способность нековалентно связывать PAR [101]. В случае YB-1 нековалентное взаимодействие с PAR не является строго обязательным, поскольку модификация YB-1 может происходить при одновременном связывании этого белка и PARP1 с поврежденной ДНК. Доказательством этого может служить модификация YB-1 мутантной формой PARP1, E988K, способной катализировать только реакцию моно(АДФ-рибозил)ирования [102]. Тем не менее, нами было установлено нековалентное взаимодействие YB-1 с PAR [14].

Влияние концентрации ДНК

Несмотря на то, что YB-1 обладает невысоким сродством к ДНК ($K_d \sim \mu\text{M}$) [103, 104], он может конкурировать с ДНК-связывающими ядерными белками за счёт способности к мультимеризации в присутствии ДНК [99]. Значения EC_{50} , определённые для комплексов YB-1–YB-1 и YB-1–PARP1 в присутствии повреждённой ДНК (360 и 470 нМ, соответственно), подтверждают, что за счёт гомоолигомеризации YB-1 может конкурировать с PARP1 за связывание с ДНК в гетеродимере YB-1–PARP1 [14]. Поскольку связывание с поврежденной ДНК необходимо для активации PARP1 [19, 83], YB-1 потенциально способен ингибировать активность этого фермента. Действительно, при соотношении концентраций $[\text{YB-1}] : [\text{ДНК}] \sim 10 : 1$ и выше YB-1 ингибирует автомодификацию PARP1 [98].

Для изучения реакции поли(АДФ-рибозил)ирования в режиме реального времени в нашей лаборатории был разработан подход, основанный на флуоресцентной спектроскопии [105]. Метод позволяет осуществлять непрямую детекцию процесса поли(АДФ-рибозил)ирования по изменению анизотропии флуоресценции ДНК-структуры, несущей флуоресцентную группу. ПАРилированные белки диссоциируют из комплекса с ДНК вследствие электростатического отталкивания, при этом наблюдается падение анизотропии флуоресценции до уровня, соответствующего свободной ДНК [91]. Исследование взаимодействий белков YB-1 и PARP1 в условиях ингибирования автомодификации PARP1 ($[\text{YB-1}] : [\text{ДНК}] \sim 10 : 1$) этим методом [97, 102] показало, что в данном случае в ходе реакции ПАРилирования происходит задержка ДНК в комплексе с белками. Причина феномена состоит не в ингибировании каталитической активности PARP1, о чем свидетельствует дальнейшее понижение уровня анизотропии

флуоресценции. Возникновение задержки диссоциации комплексов при повышении концентрации YB-1 в реакционной смеси можно объяснить тем, что YB-1, находящийся в гетеродимере с PARP1, является преимущественной мишенью для PARилирования. При этом аутомодификация PARP1 и, соответственно, его диссоциация из комплекса с ДНК может быть замедлена в силу статистически более частого присоединения поли(АДФ-рибозы) на другой акцептор, находящийся в избытке – YB-1. В этом случае падение анизотропии флуоресценции будет детектироваться начиная с того момента, когда равновесие между связыванием в гетеромерный комплекс новых молекул YB-1 из раствора и диссоциацией модифицированных молекул YB-1 будет смещено в сторону последней в результате истощения пула свободного немодифицированного YB-1. Гипотеза подтверждается поставленным в параллель экспериментом с непосредственной детекцией продуктов реакции [97].

Напротив, в присутствии избытка повреждённой ДНК по отношению к YB-1, этот белок оказывает выраженный стимулирующий эффект на активность PARP1 [98] (возможные механизмы этого феномена будут подробно обсуждаться далее).

Влияние структуры ДНК

Функциональные взаимодействия YB-1 и PARP1 были исследованы с использованием различных структур ДНК, включая модельные ДНК-дуплексы, содержащие разрывы и некоплементарные области различной протяженности, замкнутые двухцепочечные олигонуклеотиды, не содержащие тупых концов, а также на мононуклеосоме [102]. В присутствии ДНК-дуплексов, независимо от структуры, YB-1 стимулировал синтез PAR (до 3–5 раз), что сопровождалось интенсивной модификацией YB-1 и PARP1 [102]. При использовании в качестве кофактора PARP1 однонитевой ДНК, YB-1 подвергался слабой модификации, но не стимулировал активность PARP1 [102]. Возможным объяснением этого факта может служить то, что одноцепочечная ДНК не является эффективным кофактором для активации PARP1, а YB-1, напротив, обладает к ней более высоким сродством, чем к двухцепочечным ДНК-структурам [103], что в совокупности может препятствовать формированию каталитически активных комплексов PARP1. Наконец, YB-1 также стимулировал синтез PAR в контексте мононуклеосомы, однако относительная активность PARP1 в этом случае была меньшей, чем в случае свободной ДНК, которая использована в конструкции нуклеосомы [102], что может быть связано с влиянием гистоновой коры, в особенности, гистонов

H3 и H4, которые также являются важными регуляторами активности PARP1 [100, 106].

УВ-1 КАК СТИМУЛЯТОР АКТИВНОСТИ PARP1

На основании результатов, представленных в предыдущем разделе, возможно предположить существование определенного механизма влияния УВ-1 на общий выход реакции поли(АДФ-рибозил)ирования. PARилирование молекул УВ-1, изначально присутствующих в гетеромерных комплексах с PARP1 и ДНК приводит к их быстрой диссоциации из комплексов с активированным PARP1 и связыванию новых молекул УВ-1, вновь выступающих в качестве эффективных акцепторов модификации. Повторяющиеся циклы связывания, PARилирования и диссоциации модифицированного УВ-1 могут существенно повышать число оборотов реакции синтеза PAR, тем самым, увеличивая его суммарный синтез [102]. Однако, остается не совсем понятным, почему в определенных условиях УВ-1 способен не только служить эффективной мишенью PARилирования, но выраженно стимулировать автомодификацию PARP1 [97, 102], в то время как эти процессы кажутся конкурирующими (действительно, при большом избытке УВ-1 мы наблюдали замедление автомодификации PARP1). УВ-1 стимулирует активность PARP1 в отсутствие ионов Mg^{2+} . Поврежденная ДНК является эффективным кофактором PARP1 только в присутствии дополнительных эффекторов, стимулирующих активность PARP1 [107]. Такими эффекторами служат катионы двухвалентных металлов [107], полиамины [107, 108] и ряд белков (гистоны H1, H3, H4 [107–112], HMGN1 [113] ($pI = 9.6$), DDB2 [114] ($pI = 9.56$) и Sam68 [115] ($pI = 8.73$)) [81]. Можно предположить, что действие перечисленных эффекторов направлено на стабилизацию PARP1 в каталитически активном комплексе с поврежденной ДНК. В случае Sam68 предполагается, что это реализуется через образование тройного комплекса этих белков с ДНК [115]. Но в целом, наиболее вероятным механизмом действия положительно заряженных агентов может быть «экранирование» через их связывание PAR, синтезируемого в ходе автомодификации PARP1. Особенностью белка УВ-1 также является его необычно высокая изоэлектрическая точка ($pI = 9.87$).

Ранее было показано, что ЭДТА препятствует активации PARP1 ионами Mg^{2+} и Ca^{2+} , в то время как полиамины и гистоны могут функционировать независимо от присутствия ЭДТА и стимулировать активность PARP1 на три порядка эффективнее, чем ионы [107]. Мы показали, что, подобно гистонам и полиаминам, белок УВ-1 может выступать в качестве эффективного активатора PARP1,

проявляющего синергизм с действием катионов Mg^{2+} , независимо от присутствия ЭДТА, для чего необходим положительно заряженный неупорядоченный С-концевой домен (STD) YB-1 или его проксимальная часть [97]. Интересно, что отдельно взятый STD домен YB-1 способен стимулировать аутомодификацию PARP1 и даже выступать в качестве мишени PARилирования [102]. Было также проведено сравнение эффектов, оказываемых YB-1, Mg^{2+} , спермином, гистоном H1 и гистоновыми октамерами, на аутомодификацию PARP1 [102].

Таким образом, стимуляция белком YB-1 синтеза PAR может обеспечиваться: 1) способностью YB-1 выступать в качестве эффективного акцептора поли(АДФ-рибозы) и 2) повышением уровня аутомодификации PARP1. Если первый механизм может быть реализован за счет образования тройного комплекса YB-1 и «трансPARилирования» YB-1 в этом комплексе, то для реализации второго механизма может иметь значение нековалентное связывание YB-1 с синтезируемой PAR как положительно заряженного белка, которое будет рассмотрено далее.

*YB-1 стимулирует активность PARP1
в присутствии ингибиторов этого фермента*

PARP1, обеспечивающий регуляцию репарации ДНК, является одной из наиболее перспективных мишеней противоопухолевой терапии [116]. В качестве ингибиторов PARP1 применяются конкурентные аналоги $НАД^+$, такие как 3-аминобензамид [117], а также используемый в клинической практике ингибитор олапариб, тоже обладающий способностью взаимодействовать с центром связывания $НАД^+$ [118]. Также используются лиганды, взаимодействующие с малой бороздкой ДНК – группа веществ, интеркалирующих в ДНК, тем самым, препятствуя активации PARP1, например, бромистый этидий [119]. Проблема развития резистентности клеток опухоли к ингибиторам PARP1 и способы её преодоления активно исследуются [120]. Поскольку YB-1 экспрессирован в опухолях, резистентных к химиотерапевтическому воздействию, то активация PARP1 этим белком может изменять эффективность терапии в случае применения ингибиторов PARP1 [1–3]. Поэтому исследование этого явления безусловно может иметь практическое значение.

Было установлено, что YB-1 способен поддерживать относительно высокие уровни синтеза PAR в реакционных смесях, содержащих низкие концентрации ингибиторов PARP1 – 3-аминобензамида, олапариба и бромистого этидия. Однако, YB-1 не оказывал влияния на активность PARP1 в присутствии высоких концентраций тех же ингибиторов [97]. Данный эффект можно объяснить зависимостью

стимуляции активности PARP1 с помощью YB-1 от синтеза полимера АДФ-рибозы, который блокируется ингибиторами PARP1.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ YB-1 И PARP1, ОПОСРЕДОВАННОЕ PAR

Было предположено, что динамическое взаимодействие PAR-связывающих белков и поли(АДФ-рибозы) играет важную роль в клеточных процессах [92]. PAR-связывающие домены в белках могут быть как структурированными, так и неупорядоченными [92]. Для исследования роли синтезируемой PAR в реакции, катализируемой PARP1, на функциональные взаимодействия белков YB-1 и PARP1, был использован выделенный полимер [14].

Нековалентное связывание YB-1 с PAR и «реактивация» PARP1

Связывание YB-1 с PAR было показано ранее [18] и подтверждено нами (формирование комплексов YB-1–PAR наблюдалось даже в присутствии высокой концентрации ДНК) [14], что позволяет сделать вывод о сопоставимом с ДНК и, возможно, более высоком средстве YB-1 к PAR.

Ранее было предположено, что PAR-связывающие белки могут препятствовать активности PARG, поскольку этому ферменту необходима доступность гидролизуемого полимера [92, 121]. Действительно, мы обнаружили, что добавление YB-1 к модифицированному PARP1 (после реакции автополи(АДФ-рибозил)ирования) выражено ингибирует активность PARG, значительно продлевая время жизни PAR. Следует отметить, что, несмотря на присутствие ДНК в данном случае YB-1 также связывается с PAR, ковалентно присоединённой к PARP1 [14]. В совокупности, этот и предыдущий эксперименты, свидетельствуют о том, что на этапе элонгации большая часть молекул YB-1 диссоциирует из комплексов YB-1–ДНК и YB-1–PARP1–ДНК, связываясь с растущими цепями PAR и образуя сложные ансамбли, в которых YB-1 взаимодействует с PARP1 через комплексообразование с PAR, ковалентно присоединённым к PARP1.

Способность PAR конкурировать с одноцепочечной и двухцепочечной ДНК, а также РНК за связывание YB-1 была показана непосредственно с использованием препарата PAR, очищенной от ДНК [122]. Действительно, PAR является полимером, состоящим из мономеров АДФ-рибозы, то есть «третьей нуклеиновой кислотой», причем имеющей в два раза более высокий отрицательный заряд, чем ДНК и РНК, а также как линейную, так и разветвленную структуру, что создает возможности для такой конкуренции.

Интересный эксперимент по «реактивации» автоРАРилированного и диссоциировавшего с ДНК PARP1 показал, что связывание YB-1 с PAR может стабилизировать каталитически активный комплекс PARP1 с ДНК в ходе элонгации [97]. Модификация YB-1 «реактивированным» PARP1 была достаточно слабой [97], свидетельствуя о том, что для эффективного РАРилирования YB-1 необходимо его присутствие в начальном гетеромерном комплексе с PARP1 и ДНК, либо ограничение синтеза протяженных, в том числе разветвлённых, молекул PAR при автомодификации PARP1. Присутствие YB-1 в реакции как раз может служить препятствием для элонгации PAR в результате связывания с полимером PAR и укорочения его длины [102].

Влияние YB-1 на длину цепей PAR, синтезируемых PARP1

Сравнение размеров цепей поли(АДФ-рибозы), синтезируемых PARP1 в отсутствие кофакторов, в присутствии Mg^{2+} , в присутствии YB-1, а также при комбинации $Mg^{2+} + YB-1$, было произведено с использованием метода атомно-силовой микроскопии [102]. Средний размер молекулы автополи(АДФ-рибозил)ированного PARP1 в отсутствие кофакторов составил ~ 2028 нм²; в случае Mg^{2+} -зависимого синтеза ~ 7500 нм²; в присутствии одного YB-1 ~ 1556 нм²; при комбинации обоих кофакторов ~ 6650 нм². Таким образом, в присутствии YB-1 наблюдалось укорочение синтезируемых полимеров АДФ-рибозы, независимо от того, была ли автомодификация PARP1 Mg^{2+} -зависимой или нет [102]. Если сравнивать YB-1 и Mg^{2+} по влиянию на элонгацию цепей PAR, то можно заключить, что средний размер автомодифицированной молекулы PARP1 на выходе реакции РАРилирования, по меньшей мере, в 4.8 раз меньше в системе, содержащей YB-1 [102]. Используемый в качестве контроля фрагмент YB-1 без С-концевого домена не оказывал существенного влияния на длину синтезируемых полимеров [102].

Представленный результат очень интересен. Это хорошо согласуется с тем, что YB-1 способен ингибировать активность PARP, поскольку как для активности PARP, так и для реакции элонгации PAR, катализируемой PARP1, необходима доступность полимера. Ограничение длины цепей PAR, ковалентно присоединённых к PARP1 в присутствии YB-1 может приводить к тому, что при релокализации из комплексов с ДНК на растущий PAR, молекулы YB-1 тем не менее оказываются в непосредственной близости от активного центра фермента, по-прежнему, выступая в качестве эффективной мишени для модификации.

Остается вопрос, каким образом в таком случае осуществляется стимуляция аутомодификации PARP1 в присутствии YB-1, если полимеры АДФ-рибозы, присоединенные к PARP1, наоборот, становятся короче? Стимуляция, как показывают наши эксперименты, всегда связана с укорочением синтезируемого PAR, то же наблюдалось нами, например, в присутствии репликативного белка A (RPA) [123]. Возможно, что YB-1, связанный с PAR при аутомодификации, тоже может быть PARилирован и диссоциировать из комплекса перед следующим циклом, увеличивая общие обороты синтеза PAR [102]. Одним из возможных вариантов может быть то, что при укорочении длины, может наблюдаться больше точек аутомодификации на PARP1, при этом общая масса ковалентно присоединенной к PARP1 PAR будет больше. Однако на настоящий момент мы не располагаем данными, которые могли бы подтвердить или опровергнуть это предположение. Также вероятно, что стимуляция аутомодификации PARP1 в присутствии YB-1 реализуется посредством иного механизма, чем экранирование отрицательного заряда PAR, присоединенных к PARP1 (возможный механизм мы рассмотрим в следующем разделе).

РОЛЬ YB-1 В РЕГУЛЯЦИИ PARP1 (МОДЕЛЬ)

На основании вышеизложенных результатов исследования функций белка YB-1 в системе PARилирования, катализируемого PARP1, можно предложить следующую упрощенную модель (рис. 3). На первом этапе формируется гетеродимер YB-1-PARP1 на поврежденной ДНК. При этом происходит поли(АДФ-рибозил)ирование обоих белков, причём YB-1 является преимущественной мишенью для модификации. После PARилирования, молекулы YB-1 диссоциируют из комплекса с PARP1 и ДНК и замещаются немодифицированным YB-1. Таким образом, YB-1 как дополнительный белковый акцептор, удаляет PAR – продукт реакции, что приводит к увеличению числа оборотов и стимуляции процесса (рис. 3, панель 1). При достижении полимером PAR на аутомодифицированном PARP1 достаточной длины, взаимодействие YB-1 с PAR преобладает над формированием гетеромерных комплексов YB-1-PARP1 на ДНК (рис. 3, панель 2). Связываясь с молекулами PAR, ковалентно присоединенными к PARP1, YB-1 препятствует элонгации цепей и их деградации ферментом PARP1 (рис. 3, панель 3). Ограничение на длину синтезируемой PAR позволяет приходящим из раствора молекулам YB-1 локализоваться вблизи активного центра PARP1, подвергаться PARилированию, многократно повторяя цикл ассоциации-модификации-диссоциации. Выступая в качестве эффективного акцептора PARилирования, YB-1

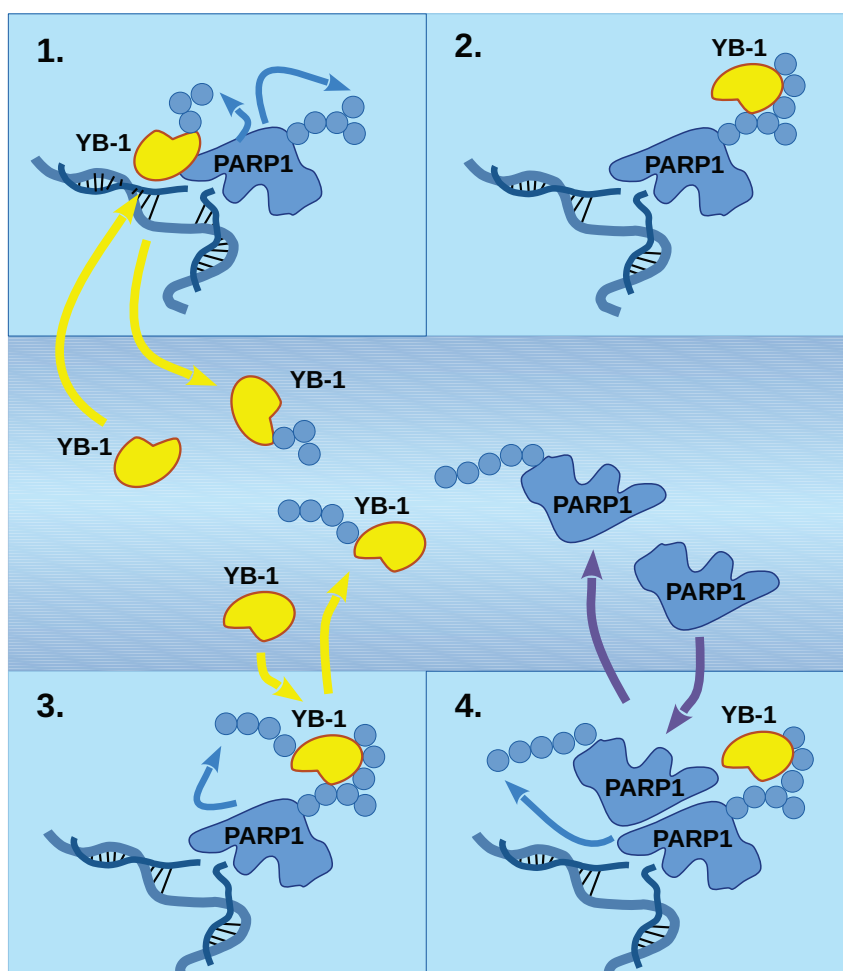


Рис. 3. YB-1 в регуляции активности PARP1: общая схема.

- 1 – формирование гетеродимера YB-1–PARP1 на поврежденной ДНК.
- 2 – связывание молекул YB-1 с PAR. При достижении полимером достаточной длины, взаимодействие с PAR преобладает над формированием гетеромерных комплексов YB-1–PARP1 на ДНК.
- 3 – связываясь с PAR, ковалентно присоединенными к PARP1, YB-1 препятствует элонгации цепей и их деградации ферментом PARG.
- 4 – возможный механизм стимуляции аутомодификации PARP1 белком YB-1.

повышает число оборотов реакции, катализируемой PARP1, и в несколько раз увеличивает выход реакции поли(АДФ-рибозил)ирования.

Наблюдение за процессом поли(АДФ-рибозил)ирования PARP1 и YB-1 в режиме реального времени (см. раздел *Взаимодействия YB-1 и PARP1 в гетеродимере*), позволяет предположить, что в присутствии YB-1 активная молекула PARP1 более продолжительное время остаётся связанной с ДНК, то есть в каталитически активной конформации. Возможно, что при цис-автомодификации PARP1 YB-1, связываясь с растущими цепями PAR, экранирует отрицательный заряд полимера и тем самым способствует «задержке» на ДНК автомодифицированной молекулы PARP1 (см. раздел *Нековалентное связывание YB-1 с PAR и «реактивация» PARP1*). Ограничение на длину синтезируемых молекул PAR, в совокупности со стабилизацией каталитически активного комплекса PARP1 с ДНК могут способствовать связыванию вблизи активного центра PARP1 и транс-модификации различных PAR-связывающих белков, не только YB-1. В частности, можно предположить, что этот механизм лежит в основе стимуляции белком YB-1 автомодификации PARP1, конкретно – транс-автомодификации субъединиц фермента (следует отметить, что экспериментально сложно различить цис- и транс-автомодифицированные молекулы PARP1) (рис. 3, панель 4).

V. РОЛЬ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗИЛ)ИРОВАНИЯ

Процесс поли(АДФ-рибозил)ирования, катализируемый в клетках, в основном, ферментом PARP1, выполняет уникальные регуляторные функции в ходе клеточного ответа на повреждение ДНК. Согласно современным представлениям, синтез РНК-подобного полимера АДФ-рибозы в сайте повреждения ДНК, катализируемый PARP1, локально изменяет физические свойства нуклеоплазмы, способствуя динамичной компарментализации клеточных процессов без участия мембран [31]. Важную роль в этом процессе играют РНК-связывающие белки (RBPs) [31]. Последние привлекают всё большее внимание исследователей как возможные участники поддержания стабильности генома [124].

Большая часть РНК-клетки ассоциирована с RBPs в форме RNP-комплексов (рибонуклеопротеидных), нарушения в формировании которых приводят к различным заболеваниям [125, 126]. Взаимодействие с RBPs необходимо для регуляции метаболизма РНК на всех этапах – от биогенеза до деградации, и РНК-связывающие белки выполняют ключевые функции в таких процессах, как сплайсинг

пре-мРНК [127], полиаденилирование [128], экспорт в цитоплазму [129] и трансляция [130]. Также RBPs участвуют в процессинге некодирующих РНК – микроРНК (miРНК) [131], циклических РНК (circРНК) [132], длинных некодирующих РНК (lncРНК) [133].

На настоящий момент идентифицировано порядка 1500 RBPs [134, 135]. Большинство из них имеют модульное строение, при котором разнообразие распознаваемых последовательностей РНК достигается за счет различных комбинаций всего нескольких основных РНК-связывающих доменов (RBDs) [136, 137].

Отдельные RBDs связывают, как правило, короткие последовательности и обладают низким сродством к РНК, однако, организация поверхности взаимодействия из множественных модулей позволяет достичь высокой аффинности и специфичности к РНК-мишени. Благодаря модульной структуре РНК-связывающих белков, становится возможным распознавание последовательностей, принадлежащих разным молекулам РНК [136]. Помимо классических RBDs, важнейшую роль в распознавании РНК-белками играют неупорядоченные последовательности (IDPRs), которых в РНК-связывающих белках существенно больше, чем в среднем по протеому [137, 138]. Так, около 20% белков млекопитающих, идентифицированных как RBP, содержат более чем 80% неупорядоченных доменов [139]. Неупорядоченные последовательности состоят из повторов аргинина/серина (RS-box), аргинина/глицина (RGG-box), участков, богатых аргинином/лизином или глицином (основные участки R/K и G-богатые домены), и других коротких линейных мотивов (QGSY-богатые домены). Как и классические RBD, участки с неупорядоченной структурой в РНК-связывающих белках организованы в виде модулей, повторяющихся случайным образом в пределах аминокислотной последовательности, и в некоторых случаях могут комбинироваться с глобулярными доменами [137, 139].

Для неупорядоченных последовательностей RBPs помимо способности связывать РНК была показана способность связывать PAR [80]. В системе *in vitro* было установлено, что многие RBPs, содержащие неупорядоченные домены склонны к агрегации с образованием динамических немембранных компартментов: TDP-43 [140, 141], hnRNP A1 [140], FUS (TLS) [31], EWS (EWSR1) [31], TAF15 [31]. Размер таких агрегатов увеличивался с уменьшением концентрации соли (NaCl, 25–300 мМ) и увеличением концентрации рекомбинантного белка. Очищенная PAR, добавленная к такой системе в увеличивающейся концентрации, стимулирует образование белковых агрегатов дозозависимым образом.

На клеточном уровне было показано, что локализация RBPs (например, FUS (TLS) [31], EWS (EWSR1) [31] и TAF15 [31]) в сайтах геномных повреждений индуцируется синтезом PAR. В работе [31] было показано, что сборка мультибелковых комплексов репарации вблизи повреждений ДНК может происходить по механизму фазового разделения, при котором формирование «репаросомного» компартмента способствует также удержанию в непосредственной близости концов разрыва ДНК, одновременно защищая их от гидролиза нуклеазами. Для белка FUS (TLS) механизм образования белковых компартментов был детально исследован в системе *in vitro* методом атомно-силовой микроскопии [93]. Активируясь на поврежденной ДНК, PARP1 синтезирует полимер АДФ-рибозы, ковалентно присоединенный к самой полимеразе, тем самым индуцируя FUS-ассоциированную агрегацию. В результате образуется компартмент, содержащий поли(АДФ-рибозил)ированный PARP1 и поврежденную ДНК. Для объяснения роли эффекта компартментализации была выдвинута гипотеза, что в присутствии PAR происходит агрегация структурно неупорядоченных белков, что способствует привлечению ферментов репарации в компартмент, тем самым увеличивая концентрацию белков-участников в месте повреждения, способствуя эффективному протеканию процесса репарации [94]. Любопытно, что было обнаружено повышенное концентрирование именно поврежденной ДНК в таких компартментах [93].

Компартментализация с участием РНК-связывающих белков, индуцируемая синтезом поли(АДФ-рибозы) в месте повреждения в большинстве работ описывается как основной механизм влияния на активность PARP1 [142, 143]. Информация по альтернативному влиянию РНК-связывающих белков на процесс поли(АДФ-рибозил)ирования очень ограничена. В 2016 году был идентифицирован белок Sam68 (Src-ассоциированный антиген митоза массой 68 кДа) как фактор, регулирующий синтез поли(АДФ-рибозы) в ответ на повреждение ДНК [115]. Sam68 взаимодействует с PARP1 и локализуется в районе сайтов повреждения ДНК независимо от активности PARP1, поскольку обработка клеток ингибитором PARP-PJ-34 – не влияет на взаимодействие Sam68-PARP1-поврежденная ДНК. Этот факт позволяет предположить, что привлечение Sam68 к участкам повреждения ДНК не зависит от синтеза поли(АДФ-рибозы) в месте повреждения [115]. Однако, Sam68 значительно стимулирует активность PARP1 в присутствии поврежденной ДНК, а делеция Sam68, как дефицит или ингибирование PARP1, приводит к нарушению репарации ДНК [115].

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре мы рассмотрели разнообразные функции и потенциальные механизмы участия классического РНК-связывающего белка YB-1 в регуляции активности PARP1 на основе ранее полученных результатов. Особое внимание было направлено на установление механизмов стимуляции процесса поли(АДФ-рибозил)ирования белком YB-1. Во многом этот интерес был обусловлен отсутствием соответствующих примеров в имеющейся литературе [82]. Результаты многочисленных экспериментов, описанных в предыдущих разделах, были опубликованы в серии работ 2015–2020 гг., посвящённых различным аспектам функциональных взаимодействий белков YB-1 и PARP1 [14, 25, 81, 97, 102, 122] однако исследование роли YB-1 в системе PARилирования продолжается. На основании имеющихся данных была предложена следующая модель участия YB-1 в регуляции активности PARP1 (рис. 3).

Детальное понимание путей регуляции PARP1, и особенно, его стимуляции внутриклеточными эффекторами, имеет важнейшее значение для PARP1-направленной терапии и разработки ингибиторов этого важнейшего фермента млекопитающих. Мы полагаем, что механизмы стимуляции PARP1, подобные обнаруженному нами для YB-1, могут иметь место и в случае других РНК (PAR)-связывающих белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eliseeva, I.A., Kim, E.R., Guryanov, S.G., Ovchinnikov, L.P., Lyabin, D.N. (2011) Y-Box-Binding Protein 1 (YB-1) and Its Functions, *Biochemistry (Mosc.)*, **76** (13), 1402–1433. <https://doi.org/10.1134/S0006297911130049>.
2. Dolfini, D., Mantovani, R. (2013) Targeting the Y/CCAAT Box in Cancer: YB-1 (YBX1) or NF-Y? *Cell death and Differentiation*, **20** (5), 676–685. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.13>.
3. Kosnopfel, C., Sinnberg, T., Schittek, B. (2014) Y-Box Binding Protein 1- a Prognostic Marker and Target in Tumour Therapy, *European Journal of Cell Biology*, **93** (1–2), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2013.11.007>.
4. Bader, A.G., Vogt, P.K. (2005) Inhibition of Protein Synthesis by Y Box-Binding Protein 1 Blocks Oncogenic Cell Transformation, *Molecular and Cellular Biology*, **25** (6), 2095–2106. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.6.2095-2106.2005>.
5. Kim, E.R., Selyutina, A.A., Buldakov, I.A., Evdokimova, V., Ovchinnikov, L.P., Sorokin, A.V. (2013) The Proteolytic YB-1 Fragment Interacts with DNA Repair Machinery and Enhances Survival during DNA Damaging Stress, *Cell Cycle*, **12** (24), 3791–3803. <https://doi.org/10.4161/cc.26670>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

6. Tanabe, Y., Nagatoishi, S., Tsumoto, K. (2015) Thermodynamic Characterization of the Interaction between the Human Y-Box Binding Protein YB-1 and Nucleic Acids, *Molecular BioSystems*, **11** (9), 2441–2448. <https://doi.org/10.1039/c5mb00184f>.
7. Sorokin, A.V., Selyutina, A.A., Skabkin, M.A., Guryanov, S.G., Nazimov, I.V., Richard, C., Th'ng, J., Yau, J., Sorensen, P.H.B., Ovchinnikov, L.P., Evdokimova, V. (2005) Proteasome-Mediated Cleavage of the Y-Box-Binding Protein 1 Is Linked to DNA-Damage Stress Response, *The EMBO Journal*, **24** (20), 3602–3612. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600830>.
8. Gaudreault, I., Guay, D., Lebel, M. (2004) YB-1 Promotes Strand Separation in Vitro of Duplex DNA Containing Either Mismatched Bases or Cisplatin Modifications, Exhibits Endonucleolytic Activities and Binds Several DNA Repair Proteins, *Nucleic Acids Research*, **32** (1), 316–327. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh170>.
9. Sengupta, S., Mantha, A.K., Mitra, S., Bhakat, K.K. (2011) Human AP Endonuclease (APE1/Ref-1) and Its Acetylation Regulate YB-1-P300 Recruitment and RNA Polymerase II Loading in the Drug-Induced Activation of Multidrug Resistance Gene MDR1, *Oncogene*, **30** (4), 482–493. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.435>.
10. Das, S., Chattopadhyay, R., Bhakat, K.K., Boldogh, I., Kohno, K., Prasad, R., Wilson, S.H., Hazra, T.K. (2007) Stimulation of NEIL2-Mediated Oxidized Base Excision Repair via YB-1 Interaction during Oxidative Stress, *Journal of Biological Chemistry*, **282** (39), 28474–28484. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704672200>.
11. Marenstein, D.R., Ocampo, M.T., Chan, M.K., Altamirano, A., Basu, A.K., Boorstein, R.J., Cunningham, R.P., Teebor, G.W. (2001) Stimulation of Human Endonuclease III by Y Box-Binding Protein 1 (DNA-Binding Protein B). Interaction between a Base Excision Repair Enzyme and a Transcription Factor, *Journal of Biological Chemistry*, **276** (24), 21242–21249. <https://doi.org/10.1074/jbc.M101594200>.
12. Ise, T., Nagatani, G., Imamura, T., Kato, K., Takano, H., Nomoto, M., Izumi, H., Ohmori, H., Okamoto, T., Ohga, T., Uchiumi, T., Kuwano, M., Kohno, K. (1999) Transcription Factor Y-Box Binding Protein 1 Binds Preferentially to Cisplatin-Modified DNA and Interacts with Proliferating Cell Nuclear Antigen, *Cancer Research*, **59** (2), 342–346.
13. Wu, Y., Wang, K., Li, Z., Liu, Y., Izumi, H., Uramoto, H., Nakayama, Y., Ito, K., Kohno, K. (2014) Y-Box Binding Protein 1 Enhances DNA Topoisomerase 1 Activity and Sensitivity to Camptothecin via Direct Interaction, *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **33** (1). <https://doi.org/10.1186/s13046-014-0112-7>.
14. Alemasova, E.E., Moor, N.A., Naumenko, K.N., Kutuzov, M.M., Sukhanova, M.V., Pestryakov, P.E., Lavrik, O.I. (2016) Y-Box-Binding Protein 1 as a Non-Canonical Factor of Base Excision Repair, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1864** (12), 1631–1640. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.08.012>.
15. Fomina, E.E., Pestryakov, P.E., Kretov, D.A., Zharkov, D.O., Ovchinnikov, L.P., Curmi, P.A., Lavrik, O.I. (2015) Inhibition of Abasic Site Cleavage in Bubble DNA by Multifunctional Protein YB-1, *Journal of Molecular Recognition*, **28** (2), 117–123. <https://doi.org/10.1002/jmr.2435>.
16. Fomina, E.E., Pestryakov, P.E., Maltseva, E.A., Petrusheva, I.O., Kretov, D.A., Ovchinnikov, L.P., Lavrik, O.I. (2015) Y-Box Binding Protein 1 (YB-1) Promotes Detection of DNA Bulky Lesions by XPC-HR23B Factor, *Biochemistry (Mosc.)*, **80** (2), 219–227. <https://doi.org/10.1134/S000629791502008X>.

17. Alemasova, E.E., Naumenko, K.N., Moor, N.A., Lavrik, O.I. (2017) Y-Box-Binding Protein 1 Stimulates Abasic Site Cleavage, *Biochemistry (Mosc.)*, **82** (12), 1521–1528. <https://doi.org/10.1134/S0006297917120112>.
18. Gagné, J.-P., Isabelle, M., Lo, K.S., Bourassa, S., Hendzel, M.J., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Poirier, G.G. (2008) Proteome-Wide Identification of Poly(ADP-Ribose) Binding Proteins and Poly(ADP-Ribose)-Associated Protein Complexes, *Nucleic Acids Research*, **36** (22), 6959–6976. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn771>.
19. Eustermann, S., Wu, W.-F., Langelier, M.-F., Yang, J.-C., Easton, L.E., Riccio, A.A., Pascal, J.M., Neuhaus, D. (2015) Structural Basis of Detection and Signaling of DNA Single-Strand Breaks by Human PARP-1, *Molecular Cell*, **60** (5), 742–754. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.032>.
20. Caron, M.-C., Sharma, A.K., O'Sullivan, J., Myler, L.R., Ferreira, M.T., Rodrigue, A., Coulombe, Y., Ethier, C., Gagné, J.-P., Langelier, M.-F., Pascal, J.M., Finkelstein, I.J., Hendzel, M.J., Poirier, G.G., Masson, J.-Y. (2019) Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Antagonizes DNA Resection at Double-Strand Breaks, *Nature Communications*, **10** (1), 2954. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10741-9>.
21. Kamaletdinova, T., Fanaei-Kahrani, Z., Wang, Z.-Q. (2019) The Enigmatic Function of PARP1: From PARylation Activity to PAR Readers, *Cells*, **8** (12), 1625. <https://doi.org/10.3390/cells8121625>.
22. Talhaoui, I., Lebedeva, N.A., Zarkovic, G., Saint-Pierre, C., Kutuzov, M.M., Sukhanova, M.V., Matkarimov, B.T., Gasparutto, D., Saparbaev, M.K., Lavrik, O.I., Ishchenko, A.A. (2016) Poly(ADP-Ribose) Polymerases Covalently Modify Strand Break Termini in DNA Fragments in Vitro, *Nucleic Acids Research*, **44** (19), 9279–9295. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw675>.
23. Zarkovic, G., Belousova, E.A., Talhaoui, I., Saint-Pierre, C., Kutuzov, M.M., Matkarimov, B.T., Biard, D., Gasparutto, D., Lavrik, O.I., Ishchenko, A.A. (2018) Characterization of DNA ADP-Ribosyltransferase Activities of PARP2 and PARP3: New Insights into DNA ADP-Ribosylation, *Nucleic Acids Research*, **46** (5), 2417–2431. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1318>.
24. Alvarez-Gonzalez, R., Jacobson, M.K. (1987) Characterization of Polymers of Adenosine Diphosphate Ribose Generated in Vitro and in Vivo, *Biochemistry*, **26** (11), 3218–3224. <https://doi.org/10.1021/bi00385a042>.
25. Alemasova, E.E., Pestryakov, P.E., Sukhanova, M.V., Kretov, D.A., Moor, N.A., Curmi, P.A., Ovchinnikov, L.P., Lavrik, O.I. (2015) Poly(ADP-Ribosyl)ation as a New Post-translational Modification of YB-1, *Biochimie*, **119**, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.008>.
26. Schreiber, V., Dantzer, F., Ame, J.-C., de Murcia, G. (2006) Poly(ADP-Ribose): Novel Functions for an Old Molecule, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **7** (7), 517–528. <https://doi.org/10.1038/nrm1963>.
27. Rouleau, M., McDonald, D., Gagné, P., Ouellet, M.-E., Droit, A., Hunter, J.M., Dutertre, S., Prigent, C., Hendzel, M.J., Poirier, G.G. (2007) PARP-3 Associates with Polycomb Group Bodies and with Components of the DNA Damage Repair Machinery, *Journal of Cellular Biochemistry*, **100** (2), 385–401. <https://doi.org/10.1002/jcb.21051>.
28. Beneke, S. (2012) Regulation of Chromatin Structure by Poly(ADP-Ribosyl)ation, *Frontiers in Genetics*, **3**, 169. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00169>.
29. Chang, P., Jacobson, M.K., Mitchison, T.J. (2004) Poly(ADP-Ribose) Is Required for Spindle Assembly and Structure, *Nature*, **432** (7017),

- 645–649. <https://doi.org/10.1038/nature03061>.
30. Boamah, E.K., Kotova, E., Garabedian, M., Jarnik, M., Tulin, A.V. (2012) Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 (PARP-1) Regulates Ribosomal Biogenesis in *Drosophila* Nucleoli, *PLOS Genetics*, **8** (1), e1002442. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002442>.
 31. Altmeyer, M., Neelsen, K.J., Teloni, F., Pozdnyakova, I., Pellegrino, S., Gröfte, M., Rask, M.-B.D., Streicher, W., Jungmichel, S., Nielsen, M.L., Lukas, J. (2015) Liquid Demixing of Intrinsically Disordered Proteins Is Seeded by Poly(ADP-Ribose), *Nature Communications*, **6** (1), 8088. <https://doi.org/10.1038/ncomms9088>.
 32. Vivello, C.A., Wat, R., Agrawal, C., Tee, H.Y., Leung, A.K.L. (2017) ADPriboDB: The Database of ADP-Ribosylated Proteins, *Nucleic Acids Research*, **45** (D1), D204–D209. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw706>.
 33. Tallis, M., Morra, R., Barkauskaite, E., Ahel, I. (2014) Poly(ADP-Ribosyl)ation in Regulation of Chromatin Structure and the DNA Damage Response, *Chromosoma*, **123** (1–2), 79–90. <https://doi.org/10.1007/s00412-013-0442-9>.
 34. Pleschke, J.M., Kleczkowska, H.E., Strohm, M., Althaus, F.R. (2000) Poly(ADP-Ribose) Binds to Specific Domains in DNA Damage Checkpoint Proteins, *Journal of Biological Chemistry*, **275** (52), 40974–40980. <https://doi.org/10.1074/jbc.M006520200>.
 35. Jungmichel, S., Rosenthal, F., Altmeyer, M., Lukas, J., Hottiger, M.O., Nielsen, M.L. (2013) Proteome-Wide Identification of Poly(ADP-Ribosyl)ation Targets in Different Genotoxic Stress Responses, *Molecular Cell*, **52** (2), 272–285. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.026>.
 36. Hassa, P.O., Haenni, S.S., Elser, M., Hottiger, M.O. (2006) Nuclear ADP-Ribosylation Reactions in Mammalian Cells: Where Are We Today and Where Are We Going? *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **70** (3), 789–829. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-05>.
 37. Gagné, J.-P., Pic, É., Isabelle, M., Krietsch, J., Éthier, C., Paquet, É., Kelly, I., Boutin, M., Moon, K.-M., Foster, L.J., Poirier, G.G. (2012) Quantitative Proteomics Profiling of the Poly(ADP-Ribose)-Related Response to Genotoxic Stress, *Nucleic Acids Research*, **40** (16), 7788–7805. <https://doi.org/10.1093/nar/gks486>.
 38. Miwa, M., Saitô, H., Sakura, H., Saikawa, N., Watanabe, F., Matsushima, T., Sugimura, T.A. (1977) ¹³C NMR Study of Poly(Adenosine Diphosphate Ribose) and Its Monomers: Evidence of Alpha-(1" Leads to 2') Ribofuranosyl Ribofuranoside Residue, *Nucleic Acids Research*, **4** (11), 3997–4005. <https://doi.org/10.1093/nar/4.11.3997>.
 39. Miwa, M., Ishihara, M., Takishima, S., Takasuka, N., Maeda, M., Yamazumi, Z., Sugimura, T., Yokoyama, S., Miyazawa, T. (1981) The Branching and Linear Portions of Poly(Adenosine Diphosphate Ribose) Have the Same Alpha(1 Leads to 2) Ribose-Ribose Linkage, *Journal of Biological Chemistry*, **256** (6), 2916–2921.
 40. Alvarez-Gonzalez, R., Althaus, F.R. (1989) Poly(ADP-Ribose) Catabolism in Mammalian Cells Exposed to DNA-Damaging Agents, *Mutation Research*, **218** (2), 67–74. [https://doi.org/10.1016/0921-8777\(89\)90012-8](https://doi.org/10.1016/0921-8777(89)90012-8).
 41. Mortusewicz, O., Fouquerel, E., Amé, J.-C., Leonhardt, H., Schreiber, V. (2011) PARG Is Recruited to DNA Damage Sites through Poly(ADP-Ribose)- and PCNA-Dependent Mechanisms, *Nucleic Acids Research*, **39** (12), 5045–5056. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr099>.
 42. Meyer, R.G., Meyer-Ficca, M.L., Jacobson, E.L., Jacobson, M.K. (2003) Human Poly(ADP-Ribose)

- Glycohydrolase (PARG) Gene and the Common Promoter Sequence It Shares with Inner Mitochondrial Membrane Translocase 23 (TIM23), *Gene*, **314**, 181–190. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(03\)00738-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(03)00738-8).
43. Oka, S., Kato, J., Moss, J. (2006) Identification and Characterization of a Mammalian 39KDa Poly(ADP-Ribose) Glycohydrolase, *Journal of Biological Chemistry*, **281** (2), 705–713. <https://doi.org/10.1074/jbc.M510290200>.
44. Mashimo, M., Moss, J. (2016) Functional Role of ADP-Ribosyl-Acceptor Hydrolase 3 in Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Response to Oxidative Stress, *Current Protein & Peptide Science*, **17** (7), 633–640. <https://doi.org/10.2174/1389203717666160419144603>.
45. Rack, J.G.M., Liu, Q., Zorzini, V., Voorneveld, J., Ariza, A., Honarmand Ebrahimi, K., Reber, J.M., Krassnig, S.C., Ahel, D., van der Marel, G.A., Mangerich, A., McCullagh, J.S.O., Filippov, D.V., Ahel, I. (2021) Mechanistic Insights into the Three Steps of Poly(ADP-Ribosylation) Reversal, *Nature Communications*, **12** (1), 4581. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24723-3>.
46. Fontana, P., Bonfiglio, J.J., Palazzo, L., Bartlett, E., Matic, I., Ahel, I. (2017) Serine ADP-Ribosylation Reversal by the Hydrolase ARH3, *Elife*, **6**, e28533. <https://doi.org/10.7554/eLife.28533>.
47. Jankevicius, G., Hassler, M., Golia, B., Rybin, V., Zacharias, M., Timinszky, G., Ladurner, A.G.A. (2013) Family of Macrodomain Proteins Reverses Cellular Mono-ADP-Ribosylation, *Nature Structural & Molecular Biology*, **20** (4), 508–514. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2523>.
48. Langelier, M.-F., Planck, J.L., Roy, S., Pascal, J.M. (2011) Crystal Structures of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 (PARP-1) Zinc Fingers Bound to DNA: Structural and Functional Insights into DNA-Dependent PARP-1 Activity, *Journal of Biological Chemistry*, **286** (12), 10690–10701. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.202507>.
49. Langelier, M.-F., Servent, K.M., Rogers, E.E., Pascal, J.M. (2008) A Third Zinc-Binding Domain of Human Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Coordinates DNA-Dependent Enzyme Activation, *Journal of Biological Chemistry*, **283** (7), 4105–4114. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708558200>.
50. Desmarais, Y., Ménard, L., Lagueux, J., Poirier, G.G. (1991) Enzymological Properties of Poly(ADP-Ribose) Polymerase: Characterization of Automodification Sites and NADase Activity, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1078** (2), 179–186. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(91\)99007-f](https://doi.org/10.1016/0167-4838(91)99007-f).
51. Bork, P., Hofmann, K., Bucher, P., Neuwald, A.F., Altschul, S.F., Koonin, E.V. (1997) A Superfamily of Conserved Domains in DNA Damage-Responsive Cell Cycle Checkpoint Proteins, *FASEB Journal*, **11** (1), 68–76.
52. Dawicki-McKenna, J.M., Langelier, M.-F., DeNizio, J.E., Riccio, A.A., Cao, C.D., Karch, K.R., McCauley, M., Steffen, J.D., Black, B.E., Pascal, J.M. (2015) PARP-1 Activation Requires Local Unfolding of an Autoinhibitory Domain, *Molecular Cell*, **60** (5), 755–768. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.013>.
53. D'Amours, D., Desnoyers, S., D'Silva, I., Poirier, G.G. (1999) Poly(ADP-Ribosyl)ation Reactions in the Regulation of Nuclear Functions, *Biochemical Journal*, **342** (Pt 2), 249–268.
54. Lindahl, T. (1993) Instability and Decay of the Primary Structure of DNA, *Nature*, **362** (6422), 709–715. <https://doi.org/10.1038/362709a0>.
55. Wood, R.D., Mitchell, M., Sgouros, J., Lindahl, T. (2001) Human DNA Repair Genes, *Science*, **291** (5507), 1284–1289. <https://doi.org/10.1126/science.1056154>.
56. Hegde, M.L., Hazra, T.K., Mitra, S. (2008) Early Steps in the DNA Base Excision/Single-Strand Interruption

- Repair Pathway in Mammalian Cells, *Cell Research*, **18** (1), 27–47. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.8>.
57. Ходырцева, С.Н.; Лаврик, О.И. (2016) Поли(ADP-рибоза)полимераза 1 – ключевой регулятор репарации ДНК, *Молекулярная Биология*, **50** (4), 655–673. <https://doi.org/10.7868/S0026898416040030>.
 58. Masutani, M., Nozaki, T., Nishiyama, E., Shimokawa, T., Tachi, Y., Suzuki, H., Nakagama, H., Wakabayashi, K., Sugimura, T. (1999) Function of Poly(ADP-Ribose) Polymerase in Response to DNA Damage: Gene-Disruption Study in Mice, *Molecular and Cellular Biochemistry*, **193** (1–2), 149–152.
 59. Wang, Z.Q., Auer, B., Stingl, L., Berghammer, H., Haidacher, D., Schweiger, M., Wagner, E.F. (1995) Mice Lacking ADPRT and Poly(ADP-Ribosyl)ation Develop Normally but Are Susceptible to Skin Disease, *Genes & Development*, **9** (5), 509–520. <https://doi.org/10.1101/gad.9.5.509>.
 60. de Murcia, J.M., Niedergang, C., Trucco, C., Ricoul, M., Dutrillaux, B., Mark, M., Oliver, F.J., Masson, M., Dierich, A., LeMeur, M., Walztinger, C., Chambon, P., de Murcia, G. (1997) Requirement of Poly(ADP-Ribose) Polymerase in Recovery from DNA Damage in Mice and in Cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **94** (14), 7303–7307. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.14.7303>.
 61. Mortusewicz, O., Amé, J.-C., Schreiber, V., Leonhardt, H. (2007) Feedback-Regulated Poly(ADP-Ribosyl)ation by PARP-1 Is Required for Rapid Response to DNA Damage in Living Cells, *Nucleic Acids Research*, **35** (22), 7665–7675. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm933>.
 62. Sukhanova, M.V., Abrakhi, S., Joshi, V., Pastre, D., Kutuzov, M.M., Anarbaev, R.O., Curmi, P.A., Hamon, L., Lavrik, O.I. (2016) Single Molecule Detection of PARP1 and PARP2 Interaction with DNA Strand Breaks and Their Poly(ADP-Ribosyl)ation Using High-Resolution AFM Imaging, *Nucleic Acids Research*, **44** (6), e60. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1476>.
 63. Liu, L., Kong, M., Gassman, N.R., Freudenthal, B.D., Prasad, R., Zhen, S., Watkins, S.C., Wilson, S.H., Van Houten, B. (2017) PARP1 Changes from Three-Dimensional DNA Damage Searching to One-Dimensional Diffusion after Auto-PARylation or in the Presence of APE1, *Nucleic Acids Research*, **45** (22), 12834–12847. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1047>.
 64. Rudolph, J., Mahadevan, J., Dyer, P., Luger, K. (2018) Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Searches DNA via a ‘Monkey Bar’ Mechanism, *eLife*, **7**, e37818. <https://doi.org/10.7554/eLife.37818>.
 65. Hanzlikova, H., Gittens, W., Krejciikova, K., Zeng, Z., Caldecott, K.W. (2017) Overlapping Roles for PARP1 and PARP2 in the Recruitment of Endogenous XRCC1 and PNKP into Oxidized Chromatin, *Nucleic Acids Research*, **45** (5), 2546–2557. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1246>.
 66. Reynolds, P., Cooper, S., Lomax, M., O'Neill, P. (2015) Disruption of PARP1 Function Inhibits Base Excision Repair of a Sub-Set of DNA Lesions, *Nucleic Acids Research*, **43** (8), 4028–4038. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv250>.
 67. Lavrik, O.I., Prasad, R., Sobol, R.W., Horton, J.K., Ackerman, E.J., Wilson, S.H. (2001) Photoaffinity Labeling of Mouse Fibroblast Enzymes by a Base Excision Repair Intermediate. Evidence for the Role of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 in DNA Repair, *Journal of Biological Chemistry*, **276** (27), 25541–25548. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102125200>.
 68. Cistulli, C., Lavrik, O.I., Prasad, R., Hou, E., Wilson, S.H. (2004)

- AP Endonuclease and Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Interact with the Same Base Excision Repair Intermediate, *DNA Repair*, **3** (6), 581–591. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2003.09.012>.
69. Khodyreva, S.N., Prasad, R., Ilina, E.S., Sukhanova, M.V., Kutuzov, M.M., Liu, Y., Hou, E.W., Wilson, S.H., Lavrik, O.I. (2010) Apurinic/Apyrimidinic (AP) Site Recognition by the 5'-DRP/AP Lyase in Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 (PARP-1), *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **107** (51), 22090–22095. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009182107>.
70. Kutuzov, M.M., Ilina, E.S., Sukhanova, M.V., Pyshnaya, I.A., Pyshnyi, D.V., Lavrik, O.I., Khodyreva, S.N. (2011) Interaction of Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 with Apurinic/Apyrimidinic Sites within Clustered DNA Damage, *Biochemistry (Mosc.)*, **76** (1), 147–156. <https://doi.org/10.1134/s0006297911010147>.
71. Moor, N.A., Vasil'eva, I.A., Anarbaev, R.O., Antson, A.A., Lavrik, O.I. (2015) Quantitative Characterization of Protein-Protein Complexes Involved in Base Excision DNA Repair, *Nucleic Acids Research*, **43** (12), 6009–6022. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv569>.
72. Sukhanova, M.V., Hamon, L., Kutuzov, M.M., Joshi, V., Abrakhi, S., Dobra, I., Curmi, P.A., Pastre, D., Lavrik, O.I. (2019) A Single-Molecule Atomic Force Microscopy Study of PARP1 and PARP2 Recognition of Base Excision Repair DNA Intermediates, *Journal of Molecular Biology*, **431** (15), 2655–2673. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.028>.
73. Prasad, R., Lavrik, O.I., Kim, S.J., Kedar, P., Yang, X.P., Vande Berg, B.J., Wilson, S.H. (2001) DNA Polymerase Beta -Mediated Long Patch Base Excision Repair. Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Stimulates Strand Displacement DNA Synthesis, *Journal of Biological Chemistry*, **276** (35), 32411–32414. <https://doi.org/10.1074/jbc.C100292200>.
74. Sukhanova, M.V., Khodyreva, S.N., Lebedeva, N.A., Prasad, R., Wilson, S.H., Lavrik, O.I. (2005) Human Base Excision Repair Enzymes Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease1 (APE1), DNA Polymerase Beta and Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1: Interplay between Strand-Displacement DNA Synthesis and Proofreading Exonuclease Activity, *Nucleic Acids Research*, **33** (4), 1222–1229. <https://doi.org/10.1093/nar/gki266>.
75. Sukhanova, M., Khodyreva, S., Lavrik, O. (2010) Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Regulates Activity of DNA Polymerase Beta in Long Patch Base Excision Repair, *Mutation Research*, **685** (1–2), 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.08.009>.
76. Prasad, R., Dyrkheeva, N., Williams, J., Wilson, S.H. (2015) Mammalian Base Excision Repair: Functional Partnership between PARP-1 and APE1 in AP-Site Repair, *PLoS One*, **10** (5), e0124269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124269>.
77. Moor, N.A., Vasil'eva, I.A., Kuznetsov, N.A., Lavrik, O.I. (2020) Human Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1 Is Modified in Vitro by Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 under Control of the Structure of Damaged DNA, *Biochimie*, **168**, 144–155. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.10.011>.
78. Leppard, J.B., Dong, Z., Mackey, Z.B., Tomkinson, A.E. (2003) Physical and Functional Interaction between DNA Ligase IIIalpha and Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 in DNA Single-Strand Break Repair, *Molecular and Cellular Biology*, **23** (16), 5919–5927. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.16.5919-5927.2003>.
79. Maltseva, E.A., Rechkunova, N.I., Sukhanova, M.V., Lavrik, O.I. (2015) Poly(ADP-Ribose) Polyme-

- rase 1 Modulates Interaction of the Nucleotide Excision Repair Factor XPC-RAD23B with DNA via Poly(ADP-Ribosyl)ation, *Journal of Biological Chemistry*, **290** (36), 21811–21820. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.646638>.
80. Aлемасова, Е.Е., Лаврик, О.И. (2017) At the Interface of Three Nucleic Acids: The Role of RNA-Binding Proteins and Poly(ADP-Ribose) in DNA Repair, *Acta Naturae*, **9** (2), 4–16.
81. Алемасова, Е.Е., Лаврик, О.И. (2019) Poly(ADP-Ribosyl)ation by PARP1: Reaction Mechanism and Regulatory Proteins, *Nucleic Acids Research*, **47** (8), 3811–3827. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz120>.
82. Steffen, J.D., McCauley, M.M., Pascal, J.M. (2016) Fluorescent Sensors of PARP-1 Structural Dynamics and Allosteric Regulation in Response to DNA Damage, *Nucleic Acids Research*, **44** (20), 9771–9783. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw710>.
83. Eustermann, S., Videler, H., Yang, J.-C., Cole, P.T., Gruszka, D., Vepintsev, D., Neuhaus, D. (2011) The DNA-Binding Domain of Human PARP-1 Interacts with DNA Single-Strand Breaks as a Monomer through Its Second Zinc Finger, *Journal of Molecular Biology*, **407** (1), 149–170. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.01.034>.
84. Mendoza-Alvarez, H., Alvarez-Gonzalez, R. (1993) Poly(ADP-Ribose) Polymerase Is a Catalytic Dimer and the Automodification Reaction Is Intermolecular, *Journal of Biological Chemistry*, **268** (30), 22575–22580.
85. Bauer, P.I., Buki, K.G., Hakam, A., Kun, E. (1990) Macromolecular Association of ADP-Ribosyltransferase and Its Correlation with Enzymic Activity, *Biochemical Journal*, **270** (1), 17–26.
86. Ali, A.A.E., Timinszky, G., Arribas-Bosacoma, R., Kozłowski, M., Hassa, P.O., Hassler, M., Ladurner, A.G., Pearl, L.H., Oliver, A.W. (2012) The Zinc-Finger Domains of PARP1 Cooperate to Recognize DNA Strand Breaks, *Nature Structural & Molecular Biology*, **19** (7), 685–692. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2335>.
87. Altmeyer, M., Messner, S., Hassa, P.O., Fey, M., Hottiger, M.O. (2009) Molecular Mechanism of Poly(ADP-Ribosyl)ation by PARP1 and Identification of Lysine Residues as ADP-Ribose Acceptor Sites, *Nucleic Acids Research*, **37** (11), 3723–3738. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp229>.
88. Vasil'eva, I.A., Anarbaev, R.O., Moor, N.A., Lavrik, O.I. (2019) Dynamic Light Scattering Study of Base Excision DNA Repair Proteins and Their Complexes, *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, **1867** (3), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2018.10.009>.
89. Langelier, M.-F., Planck, J.L., Roy, S., Pascal, J.M. (2012) Structural Basis for DNA-Dependent Poly(ADP-Ribosyl)ation by Human PARP-1, *Science*, **336** (6082), 728–732. <https://doi.org/10.1126/science.1216338>.
90. Pion, E., Ullmann, G.M., Amé, J.-C., Gérard, D., de Murcia, G., Bombarda, E. (2005) DNA-Induced Dimerization of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Triggers Its Activation, *Biochemistry*, **44** (44), 14670–14681. <https://doi.org/10.1021/bi050755o>.
91. Ogata, N., Ueda, K., Kawaichi, M., Hayaishi, O. (1981) Poly(ADP-Ribose) Synthetase, a Main Acceptor of Poly(ADP-Ribose) in Isolated Nuclei, *Journal of Biological Chemistry*, **256** (9), 4135–4137.
92. Teloni, F., Altmeyer, M. (2016) Readers of Poly(ADP-Ribose): Designed to Be Fit for Purpose, *Nucleic Acids Research*, **44** (3), 993–1006. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1383>.
93. Singatulina, A.S., Hamon, L., Sukhanova, M.V., Desforges, B., Joshi, V., Bouhss, A., Lavrik, O.I., Pastré, D. (2019) PARP-1 Activation Directs FUS to DNA Damage Sites to Form PARG-Reversible Compart-

- ments Enriched in Damaged DNA, *Cell Reports*, **27** (6), 1809–1821. e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.031>.
94. Sukhanova, M.V., Singatulina, A.S., Pastré, D., Lavrik, O.I. (2020) Fused in Sarcoma (FUS) in DNA Repair: Tango with Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 and Compartmentalisation of Damaged DNA, *International Journal of Molecular Sciences*, **21** (19), 7020. <https://doi.org/10.3390/ijms21197020>.
95. Gibbs-Seymour, I., Fontana, P., Rack, J.G.M., Ahel, I. (2016) HPF1/C4orf27 Is a PARP-1-Interacting Protein That Regulates PARP-1 ADP-Ribosylation Activity, *Molecular Cell*, **62** (3), 432–442. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.03.008>.
96. Bonfiglio, J.J., Fontana, P., Zhang, Q., Colby, T., Gibbs-Seymour, I., Atanassov, I., Bartlett, E., Zaja, R., Ahel, I., Matic, I. (2017) Serine ADP-Ribosylation Depends on HPF1, *Molecular Cell*, **65** (5), 932–940. e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.01.003>.
97. Alemasova, E.E., Naumenko, K.N., Kurgina, T.A., Anarbaev, R.O., Lavrik, O.I. (2018) The Multifunctional Protein YB-1 Potentiates PARP1 Activity and Decreases the Efficiency of PARP1 Inhibitors, *Oncotarget*, **9** (34), 23349–23365. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25158>.
98. Алемасова Е.Э. Мультифункциональный Y-бокс-связывающий белок 1: исследование его роли в репарации ДНК. дисс. канд. биол. наук, Новосибирск, 2018. – 158 с. <http://www.dslib.net/bio-ximia/multifunkcionalnyj-y-boks-svjazyvajuwj-belok-1-issledovanie-ego-rol-i-v-reparacii.html>
99. Kretov, D.A., Curmi, P.A., Hamon, L., Abrakhi, S., Desforges, B., Ovchinnikov, L.P., Pastré, D. (2015) MRNA and DNA Selection via Protein Multimerization: YB-1 as a Case Study, *Nucleic Acids Research*, **43** (19), 9457–9473. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv822>.
100. Clark, N.J., Kramer, M., Muthurajan, U.M., Luger, K. (2012) Alternative Modes of Binding of Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 to Free DNA and Nucleosomes, *Journal of Biological Chemistry*, **287** (39), 32430–32439. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.397067>.
101. Fischbach, A., Krüger, A., Hampp, S., Assmann, G., Rank, L., Hufnagel, M., Stöckl, M.T., Fischer, J.M.F., Veith, S., Rossatti, P., Ganz, M., Ferrando-May, E., Hartwig, A., Hauser, K., Wiesmüller, L., Bürkle, A., Mangerich, A. (2018) The C-Terminal Domain of P53 Orchestrates the Interplay between Non-Covalent and Covalent Poly(ADP-Ribosylation) of P53 by PARP1, *Nucleic Acids Research*, **46** (2), 804–822. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1205>.
102. Naumenko, K.N., Sukhanova, M.V., Hamon, L., Kurgina, T.A., Alemasova, E.E., Kutuzov, M.M., Pastré, D., Lavrik, O.I. (2020) Regulation of Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Activity by Y-Box-Binding Protein 1, *Biomolecules*, **10** (9), 1325. <https://doi.org/10.3390/biom10091325>.
103. Izumi, H., Imamura, T., Nagatani, G., Ise, T., Murakami, T., Uramoto, H., Torigoe, T., Ishiguchi, H., Yoshida, Y., Nomoto, M., Okamoto, T., Uchiumi, T., Kuwano, M., Funo, K., Kohno, K. (2001) Y Box-Binding Protein-1 Binds Preferentially to Single-Stranded Nucleic Acids and Exhibits 3'→5' Exonuclease Activity, *Nucleic Acids Research*, **29** (5), 1200–1207.
104. MacDonald, G.H., Itoh-Lindstrom, Y., Ting, J.P. (1995) The Transcriptional Regulatory Protein, YB-1, Promotes Single-Stranded Regions in the DRA Promoter, *Journal of Biological Chemistry*, **270** (8), 3527–3533. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.8.3527>.
105. Kurgina, T.A., Anarbaev, R.O., Sukhanova, M.V., Lavrik, O.I. (2018) A Rapid Fluorescent Method for

- the Real-Time Measurement of Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Activity. *Analytical Biochemistry*, **545**, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.12.033>.
106. Pinnola, A., Naumova, N., Shah, M., Tulin, A.V. (2007) Nucleosomal Core Histones Mediate Dynamic Regulation of Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Protein Binding to Chromatin and Induction of Its Enzymatic Activity, *Journal of Biological Chemistry*, **282** (44), 32511–32519. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705989200>.
 107. Kun, E., Kirsten, E., Mendeleyev, J., Ordahl, C.P. (2004) Regulation of the Enzymatic Catalysis of Poly(ADP-Ribose) Polymerase by DsDNA, Polyamines, Mg²⁺, Ca²⁺, Histones H1 and H3, and ATP, *Biochemistry*, **43** (1), 210–216. <https://doi.org/10.1021/bi0301791>.
 108. Tanaka, Y. (1982) Effect of Polyamines on Two Types of Reaction of Purified Poly(ADP-Ribose) Polymerase, *Journal of Biochemistry*, **91** (6), 2029–2037. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a133896>.
 109. Thomas, C., Ji, Y., Wu, C., Datz, H., Boyle, C., MacLeod, B., Patel, S., Ampofo, M., Currie, M., Harbin, J., Pechenkina, K., Lodhi, N., Johnson, S.J., Tulin, A.V. (2019) Hit and Run versus Long-Term Activation of PARP-1 by Its Different Domains Fine-Tunes Nuclear Processes, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **116** (20), 9941–9946.
 110. Kreimeyer, A., Wielckens, K., Adamietz, P., Hilz, H. (1984) DNA Repair-Associated ADP-Ribosylation in Vivo. Modification of Histone H1 Differs from That of the Principal Acceptor Proteins, *Journal of Biological Chemistry*, **259** (2), 890–896.
 111. Tanaka, Y., Hashida, T., Yoshihara, H., Yoshihara, K. (1979) Bovine Thymus Poly(ADP-Ribose) Polymerase Histone-Dependent and Mg²⁺-Dependent Reaction, *Journal of Biological Chemistry*, **254** (24), 12433–12438.
 112. Alvarez-Gonzalez, R. (1988) 3'-Deoxy-NAD⁺ as a Substrate for Poly(ADP-Ribose) Polymerase and the Reaction Mechanism of Poly(ADP-Ribose) Elongation, *Journal of Biological Chemistry*, **263** (33), 17690–17696.
 113. Masaoka, A., Gassman, N.R., Kedar, P.S., Prasad, R., Hou, E.W., Horton, J.K., Bustin, M., Wilson, S.H. (2012) HMGN1 Protein Regulates Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 (PARP-1) Self-PARylation in Mouse Fibroblasts, *Journal of Biological Chemistry*, **287** (33), 27648–27658. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.370759>.
 114. Robu, M., Shah, R.G., Petittler, N., Brind'Amour, J., Kandan-Kulangara, F., Shah, G.M. (2013) Role of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 in the Removal of UV-Induced DNA Lesions by Nucleotide Excision Repair, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **110** (5), 1658–1663. <https://doi.org/10.1073/pnas.1209507110>.
 115. Sun, X., Fu, K., Hodgson, A., Wier, E.M., Wen, M.G., Kamenyeva, O., Xia, X., Koo, L.Y., Wan, F. (2016) Sam68 Is Required for DNA Damage Responses via Regulating Poly(ADP-Ribosyl)ation, *PLOS Biology*, **14** (9), e1002543. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002543>.
 116. Davar, D., Beumer, J.H., Hamieh, L., Tawbi, H. (2012) Role of PARP Inhibitors in Cancer Biology and Therapy, *Current Medicinal Chemistry*, **19** (23), 3907–3921.
 117. Curtin, N.J., Szabo, C. (2013) Therapeutic Applications of PARP Inhibitors: Anticancer Therapy and Beyond, *Molecular Aspects of Medicine*, **34** (6), 1217–1256. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2013.01.006>.

118. Hopkins, T.A., Shi, Y., Rodriguez, L.E., Solomon, L.R., Donawho, C.K., DiGiammarino, E.L., Panchal, S.C., Wilsbacher, J.L., Gao, W., Olson, A.M., Stolarik, D.F., Osterling, D.J., Johnson, E.F., Maag, D. (2015) Mechanistic Dissection of PARP1 Trapping and the Impact on In Vivo Tolerability and Efficacy of PARP Inhibitors, *Molecular Cancer Research*, **13** (11), 1465–1477. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-15-0191-T>.
119. Kirsanov, K.I., Kotova, E., Makhov, P., Golovine, K., Lesovaya, E.A., Kolenko, V.M., Yakubovskaya, M.G., Tulin, A.V. (2014) Minor Groove Binding Ligands Disrupt PARP-1 Activation Pathways, *Oncotarget*, **5** (2), 428–437.
120. Kim, Y., Kim, A., Sharip, A., Jiang, J., Yang, Q., Xie, Y. (2017) Reverse the Resistance to PARP Inhibitors, *International Journal of Biological Sciences*, **13** (2), 198–208. <https://doi.org/10.7150/ijbs.17240>.
121. Barkauskaite, E., Brassington, A., Tan, E.S., Warwicker, J., Dunstan, M.S., Banos, B., Lafite, P., Ahel, M., Mitchison, T.J., Ahel, I., Leys, D. (2013) Visualization of Poly(ADP-Ribose) Bound to PARG Reveals Inherent Balance between Exo- and Endo-Glycohydrolase Activities, *Nature Communications*, **4** (1), 2164. <https://doi.org/10.1038/ncomms3164>.
122. Alemasova, E.E., Naumenko, K.N., Pestryakov, P.E., Lavrik, O.I. (2017) Production, Purification of the Recombinant Analog of Y-Box-Binding Protein and Its Interaction with Poly(ADP-Ribose), RNA, Single- and Double-Stranded DNAs, *Biopolymers & Cell*, **33** (3), 214–220. <https://doi.org/10.7124/bc.000954>.
123. Maltseva, E.A., Krasikova, Y.S., Sukhanova, M.V., Rechkunova, N.I., Lavrik, O.I. (2018) Replication Protein A as a Modulator of the Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Activity, *DNA Repair*, **72**, 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.09.010>.
124. Dutertre, M., Lambert, S., Carreira, A., Amor-Gu ret, M., Vagner, S. (2014) DNA Damage: RNA-Binding Proteins Protect from near and Far, *Trends in Biochemical Sciences*, **39** (3), 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.01.003>.
125. Lukong, K.E., Chang, K., Khandjian, E.W., Richard, S. (2008) RNA-Binding Proteins in Human Genetic Disease, *Trends in Genetics*, **24** (8), 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.05.004>.
126. Cooper, T.A., Wan, L., Dreyfuss, G. (2009) RNA and Disease, *Cell*, **136** (4), 777–793. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.011>.
127. Braunschweig, U., Guerussov, S., Plocik, A.M., Graveley, B.R., Blencowe, B.J. (2013) Dynamic Integration of Splicing within Gene Regulatory Pathways, *Cell*, **152** (6), 1252–1269. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.034>.
128. Shi, Y., Manley, J.L. (2015) The End of the Message: Multiple Protein-RNA Interactions Define the MRNA Polyadenylation Site, *Genes & Development*, **29** (9), 889–897. <https://doi.org/10.1101/gad.261974.115>.
129. Sloan, K.E., Gleizes, P.-E., Bohnsack, M.T. (2016) Nucleocytoplasmic Transport of RNAs and RNA-Protein Complexes, *Journal of Molecular Biology*, **428** (10 Pt A), 2040–2059. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.023>.
130. Thelen, M.P., Kye, M.J. (2020) The Role of RNA Binding Proteins for Local MRNA Translation: Implications in Neurological Disorders, *Frontiers in Molecular Biosciences*, **6**, 161. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00161>.

131. Ha, M., Kim, V.N. (2014) Regulation of MicroRNA Biogenesis, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **15** (8), 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>.
132. Rinn, J.L. (2014) LncRNAs: Linking RNA to Chromatin, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **6** (8), a018614. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018614>.
133. Lasda, E., Parker, R. (2014) Circular RNAs: Diversity of Form and Function, *RNA*, **20** (12), 1829–1842. <https://doi.org/10.1261/rna.047126.114>.
134. Gerstberger, S., Hafner, M., Tuschl, T. (2014) A Census of Human RNA-Binding Proteins, *Nature Reviews Genetics*, **15** (12), 829–845. <https://doi.org/10.1038/nrg3813>.
135. Neelamraju, Y., Hashemikhabir, S., Janga, S.C. (2015) The Human RBPome: From Genes and Proteins to Human Disease, *Journal of Proteomics*, **127** (Pt A), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.04.031>.
136. Lunde, B.M., Moore, C., Varani, G. (2007) RNA-Binding Proteins: Modular Design for Efficient Function, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **8** (6), 479–490. <https://doi.org/10.1038/nrm2178>.
137. Corley, M., Burns, M.C., Yeo, G.W. (2020) How RNA-Binding Proteins Interact with RNA: Molecules and Mechanisms, *Molecular Cell*, **78** (1), 9–29. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.03.011>.
138. Järvelin, A.I., Noerenberg, M., Davis, I., Castello, A. (2016) The New (Dis)Order in RNA Regulation, *Cell Communication and Signaling*, **14** (1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12964-016-0132-3>.
139. Castello, A., Fischer, B., Eichelbaum, K., Horos, R., Beckmann, B.M., Strein, C., Davey, N.E., Humphreys, D.T., Preiss, T., Steinmetz, L.M., Krijgsveld, J., Hentze, M.W. (2012) Insights into RNA Biology from an Atlas of Mammalian mRNA-Binding Proteins, *Cell*, **149** (6), 1393–1406. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.031>.
140. Duan, Y., Du, A., Gu, J., Duan, G., Wang, C., Gui, X., Ma, Z., Qian, B., Deng, X., Zhang, K., Sun, L., Tian, K., Zhang, Y., Jiang, H., Liu, C., Fang, Y. (2019) PARylation Regulates Stress Granule Dynamics, Phase Separation, and Neurotoxicity of Disease-Related RNA-Binding Proteins, *Cell Research*, **29** (3), 233–247. <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0141-z>.
141. McGurk, L., Gomes, E., Guo, L., Mojsilovic-Petrovic, J., Tran, V., Kalb, R.G., Shorter, J., Bonini, N.M. (2018) Poly(ADP-Ribose) Prevents Pathological Phase Separation of TDP-43 by Promoting Liquid Demixing and Stress Granule Localization, *Molecular Cell*, **71** (5), 703–717.e9. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.07.002>.
142. Aguzzi, A., Altmeyer, M. (2016) Phase Separation: Linking Cellular Compartmentalization to Disease, *Trends in Cell Biology*, **26** (7), 547–558. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.03.004>.
143. Leung, A.K.L. (2020) Poly(ADP-Ribose): A Dynamic Trigger for Biomolecular Condensate Formation, *Trends in Cell Biology*, **30** (5), 370–383. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.02.002>.