

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Украинцев Александр Андреевич

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
об основных результатах научно-
квалификационной работы

Роль белков PARP в структурно-функциональной организации нуклеосом

Направление подготовки

1.4. Химические науки

Специальность

1.4.9. Биоорганическая химия

Работа выполнена в Лаборатории биоорганической химии ферментов ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Научный руководитель: **Ольга Ивановна Лаврик**, академик РАН, доктор химических наук, профессор, зав. лаборатории биоорганической химии ферментов ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

1. Общая характеристика работы

1.1. Актуальность исследования

АДФ-рибозилирование – одна из посттрансляционных модификаций, происходящих в клетке, обеспечивающая функционирование многих клеточных процессов, таких как репарация, репликация, транскрипция, регуляция клеточного цикла, апоптоз. Катализируют эту реакцию преимущественно белки семейства ARTD – ADP-ribosyltransferase diphtheria toxin-like. Исторически первым названием этого семейства белков было поли(АДФ-рибоза)полимеразы с сокращением PARP. Поскольку новая номенклатура белков ARTD еще не активно используется в литературе, в данной работы мы будем придерживаться устоявшихся названий белков PARP. У млекопитающих данное семейство насчитывает 17 представителей, у которых имеется общий консервативный каталитический домен. Лишь для одного фермента - PARP13, на сегодняшний день отсутствуют данные о каталитической активности. Остальные белки этого семейства при реализации своей каталитической функции осуществляют перенос одной или нескольких мономеров АДФ-рибозы с использованием в качестве субстрата NAD^+ на молекулы-мишени, включая: гистоны, ДНК, различные ферменты систем репарации и сами белки PARP [1 – 4]. Особый интерес вызывают первых три представителя этого семейства – PARP1, PARP2 и PARP3, которые в основном локализованы в ядре и являются ДНК-зависимыми белками, т.е. для активации их каталитической функции необходимо взаимодействие этих ферментов с молекулой ДНК [5, 6]. Хотя эти три белка относятся к одному семейству, они отличаются по своему строению (рисунок 1), структуре продукта каталитической реакции, и принимают участие в различных клеточных процессах.

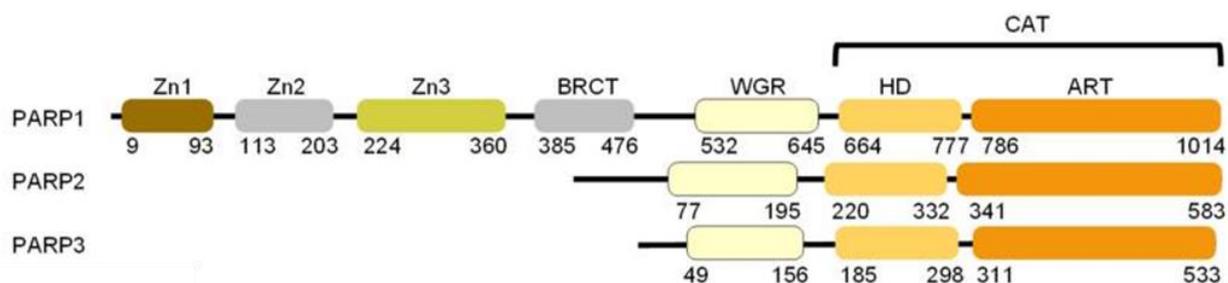


Рисунок 1. Схематическая доменная организация белков PARP1, PARP2 и PARP3 с номерами аминокислот, указывающие границы доменов, соответствующие записям Uniprot P09874, Q9UGN5 и Q9Y6F1 [7].

Несмотря на то, что первый представитель семейства – белок поли(АДФ-рибоза)полимераза 1, PARP1, был открыт более 60 лет назад, функции и механизм действия белков PARP всё ещё активно изучаются. PARP1 обладает массой 116 кДа и состоит из 6 доменов: трёх цинковых пальцев Zn1, Zn2, Zn3 [8, 9]; домена BRCT, опосредует белок-белковые контакты и содержит сайты аутопарилирования [10]; домен WGR – названный по входящим в его состав аминокислотным остаткам триптофана (W), глицина (G), аргинина (R), играет важную роль в ДНК-зависимой активации PARP1, поскольку делеция этого домена приводит к образованию неактивной формы фермента [11]; домен CAT – каталитический домен, является наиболее консервативным среди представителей семейства ARTD и состоит из спирального субдомена (HD) и субдомена АДФ-рибозилтрансферазы (ART) [12, 13]. Было обнаружено, что домены Zn1, Zn2, Zn3, BRCT и WGR участвуют во взаимодействии с ДНК [10, 14 – 17]. Аутоингибиторный HD мотив в каталитическом домене участвует в регуляции сродства белка к NAD^+ . Свободный фермент PARP1 обладает низким сродством к молекуле NAD^+ , однако при связывании с поврежденной ДНК, в каталитическом домене фермента происходят конформационные перестройки, аутоингибиторный субдомен теряет упорядоченную структуру, в результате чего происходит более эффективное связывание NAD^+ в каталитическом домене и это ускоряет протекание реакции поли(АДФ-рибозил)ирования [18]. Домен ART обеспечивает (АДФ-рибозил)трансферазную активность фермента [19].

PARP2 и PARP3 наиболее близкие гомологи PARP1 и имеют массу 62 кДа и 60 кДа соответственно [20, 21]. Они не содержат в своей структуре доменов Zn1, Zn2, Zn3 и BRCT, а связывание с ДНК происходит через домен WGR [22, 23]. Помимо этого, N-концевой участок PARP2 обладает ДНК-связывающей активностью с одноцепочечными разрывами в ДНК и способствует активации PARP2 [24].

PARP1, PARP2 и PARP3 являются ключевыми белками в процессах распознавания повреждений в ДНК [22, 25]. В ответ на повреждение молекулы ДНК PARP1 катализирует реакцию поли(АДФ-рибозил)ирования, ПАРилирования – синтез полимера, мономером которого является АДФ-рибоза (рисунок 2) [26]. Звенья АДФ-рибозы в линейном полимере

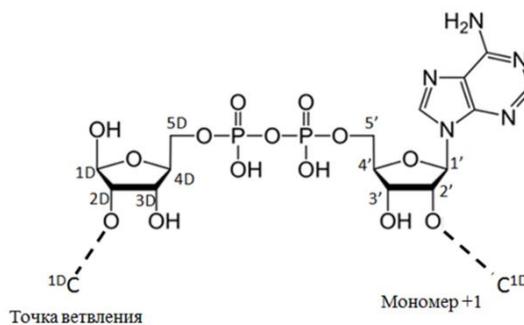


Рисунок 2. Структура мономера АДФ-рибозы.

соединены гликозидными связями, которые образуются между O-2' атомом рибозы, несущей аденин, и C-1D атомом остатка рибозы следующего мономера. В точках ветвления та же самая связь образуется между O-2D и C-1D атомами двух остатков рибозы [27, 28]. Из-за некоторых различий в структуре каталитического домена, белок PARP2 также катализирует реакцию ПАРилирования и синтезирует более разветвлённый полимер АДФ-рибозы [26], тогда как PARP3 способен переносить на молекулу-акцептор лишь один остаток АДФ-рибозы, катализируя процесс моно(АДФ-рибозил)ирования, МАРилирования [23, 29, 30].

Белок PARP1 распознаёт и активируется в присутствии одно- [19, 31 – 33] и двуцепочечных [34 – 36] повреждений ДНК. Белок PARP2 активируется такими повреждениями, как: одонитевые разрывы, одно- и дунуклеотидные брешы и flap-структурами [24, 32, 33]. Наименее изученным белком является PARP3. Известно, что он способен моно(АДФ-рибозил)ировать молекулу ДНК по 5`-P в одноцепочечных разрывах [37], а также принимает участие в репарации двуцепочечных разрывов в процессе негомولوجичного соединения концов [38, 39]. Множество работ по изучению свойств и функций ДНК-зависимых белков PARP были проведены *in vitro* с использованием модельных ДНК-субстратов, тогда как в клетке молекула ДНК компактизована в высокоорганизованный нуклеопротеидный комплекс – хроматин, базовой единицей которого является нуклеосома.

Нуклеосома содержит ядро, состоящее из четырёх гистоновых димеров: два H2A-H2B и два H3-H4, образующего “катушку”, на которую намотана ДНК длиной 147 пн в 1,67 оборота [40] (рисунок 3). Диаметр нуклеосомного диска составляет 11 нм, а толщина 5,7 нм [41]. Исследование ДНК-зависимых белков PARP как в экспериментах *in vivo*, так и *in vitro* с использованием нуклеосомных субстратов, позволили выявить ранее неизвестные функции этих белков в клетке.

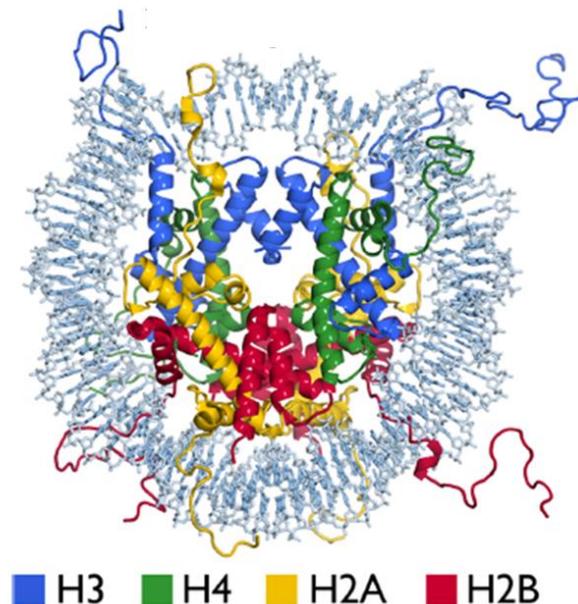


Рисунок 3. Схематическое изображение строения нуклеосомы (PDB ID: 1KX5) [40]

Нуклеосомная организация может создавать препятствия для взаимодействия между ферментами систем репарации и повреждениями ДНК [42, 43]. Есть данные, что реакция ПАРилирования приводит к деконденсации хроматина [44]. Вероятно, это облегчает доступ ферментов репарации к месту повреждения ДНК. Показано, что PARP1 способен связываться с нуклеосомой в области диады и конкурировать с гистоном H1, уплотняя хроматин [45 – 47]. В условиях ПАРилирования PARP1 способен модифицировать гистон H1, тем самым вызывая его диссоциацию, что ведёт к деконденсации хроматина. С другой стороны, в исследованиях на нуклеосомных препаратах без линкерных участков, PARP1 оказывал влияние на стабильность нуклеосомного комплекса [48]. Авторы продемонстрировали, что взаимодействие PARP1 с нуклеосомой приводит к значительному увеличению расстояния между соседствующими частями спирали ДНК-дуплекса нуклеосомной ДНК. Эта частичная дестабилизация всей структуры нуклеосомы происходит без видимой потери гистонов. Добавление к системе NAD^+ , приводит к обратной конденсации структуры нуклеосомы. Недавние исследования обнаружили белок, участвующий в процессе ПАРилирования гистонов – HRF1 [49, 50]. В присутствии HRF1, PARP1 способен модифицировать поли(АДФ-рибозой) гистоны ядра нуклеосомы, что приводит к релаксации хроматина [51, 52]. Кроме того, было выяснено, что PARP1 участвует в регуляции репликации [53], транскрипции [45, 54], поддержании целостности

мембран клеток [55] и апоптозе [56, 57]. Также PARP1 принимает активное участие в регуляции различных митотических функций, а именно: функции centrosom [58], митотические и постмитотические контрольные точки сборки веретена [59], участвует в поддержании целостности структуры теломер [60].

Как и PARP1, PARP2 в комплексе с HPF1 способен АДФ-рибозилировать коровые гистоны [61]. Однако в отсутствие HPF1 такой активности у него обнаружено не было. В недавнем исследовании появилось предположение, что PARP2 участвует в репарации двуцепочечных разрывов в нуклеосомном контексте, связывая две нуклеосомы по тупым концам линкерной ДНК [62]. Также показано участие PARP2 в митозе, мейозе I и дифференцировке гаплоидных гамет [63, 64].

При изучении функций PARP3 на нуклеосомных субстратах, было обнаружено, что он является pick-сенсором и, работая в паре с PARP1, ускоряет репарацию ДНК [65]. В этой же работе показана способность PARP3 моно(АДФ-рибозил)ировать гистон H2B по остатку Glu2 в ответ на одноцепочечное повреждение в мононуклеосоме. Отмечается участие PARP3 в эпигенетической регуляции транскрипции, взаимодействуя с белками группы Polysomb [66], а также в стабилизации митотического веретена и поддержании целостности структуры теломер [67].

Множество работ говорит об исключительной важности ДНК-зависимых белков PARP1, PARP2 и PARP3 в хроматин-ассоциированных клеточных процессах. На сегодняшний день отсутствует детальная информация о механизмах взаимодействия ДНК-зависимых белков PARP с нуклеосомой и об их влиянии на её структуру. Используя такой мощный инструмент, как атомно-силовая микроскопия (АСМ), можно изучить различные параметры биологических одиночных молекул и комплексов. Такие данные необходимы для понимания механизмов, таких как: регуляция экспрессии генов, транскрипция, репликация и репарация ДНК.

Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния PARP1, PARP2 и PARP3 на структуру нуклеосомы.

В ходе выполнения научно-исследовательской работы необходимо было решить следующие **задачи**:

- 1) Получение модельных нуклеосомных субстратов;
- 2) Отработка протокола детекции нуклеосомных препаратов различных типов и белок-нуклеосомных комплексов с помощью атомно-силового микроскопа;

- 3) Исследование локализации PARP1, PARP2, PARP3 на модельных нуклеосомах;
- 4) Анализ эффекта связывания белков PARP1, PARP2, PARP3 на структуру нуклеосомного комплекса.

Научная новизна и практическая значимость работы: в работе впервые с помощью атомно-силовой микроскопии были исследованы комплексы ДНК-зависимых белков PARP1, PARP2 и PARP3, что позволило получить новые данные, дополняющие существующие в литературе представления о функциях этих белков в хроматин-ассоциированных процессах.

Была создана и отработана система на основе атомно-силовой микроскопии, позволяющая регистрировать комплексы белков PARP с модельными нуклеосомными субстратами и изучать влияние этих белков на структуру нуклеосом. С помощью данной системы было изучено взаимодействие PARP1, PARP2 и PARP3 с модельными нуклеосомными субстратами. Это позволило уточнить механизм взаимодействия белков PARP с нуклеосомой. В частности, впервые визуализирован сайт связывания белков PARP2 и PARP3 с нуклеосомой.

Впервые продемонстрировано влияние на степень уплотнения и стабильность нуклеосомного комплекса белка PARP3.

PARP1, PARP2 и PARP3 рассматриваются как основные регуляторы процессов репарации клетки, что делает их перспективными мишенями для противораковой терапии. На сегодняшний день в клинической практике активно применяются ингибиторы PARP1 в терапии раковых заболеваний. Понимание функционирования механизмов, в которых принимают активное участие три белка PARP, поможет выявить новые потенциальные мишени как в противоопухолевой терапии, так и в лечении наследственных заболеваний. Кроме того, изучение влияния белков PARP на структуру модельных молекул “хроматина” позволит выявить ранее неизвестные функции этих белков в клетке.

Личный вклад автора: Автором проводилось выделение и очистка рекомбинантного белка PARP1; получение, выделение и очистка всех компонентов реакционных смесей, используемых в АСМ-исследованиях. Автором отработаны протоколы сканирования АСМ различных нуклеосомных субстратов. Обработка и интерпретация всех экспериментальных результатов была проведена лично автором.

Методы исследования: для выделения и очистки белков использовали ионообменную и аффинную хроматографии; для получения модельных нуклеосомных ДНК-конструкций использовали ПЦР с уникальными праймерами; для очистки модельных нуклеосомных ДНК-конструкций использовали метод гель-электрофореза с последующим

выделением продукта из геля; для анализа реконструированных моноклеосом использовали метод электрофореза в нативном полиакриламидном геле; для изучения структурных характеристик нуклеосомных субстратов использовали атомно-силовую микроскопию в воздушной среде. Обработку АСМ изображений проводили с помощью программы Gwyddion 2.65, анализ параметров молекул осуществляли при помощи программного обеспечения ImageJ 1.53e, обработку данных проводили в программе SigmaPlot 11.0.

2. Содержание работы

2.1. Подготовка к сканированию биологических молекул методом атомно-силовой микроскопии

Подготовка изучаемого объекта *in vitro*, пригодного для использования в АСМ, является нетривиальной задачей. Выбор подложки, подбор химических модификаторов поверхности, очистка растворителей – базовые действия для работы с АСМ в исследованиях биологических объектов.

2.1.1. Выбор материала поверхности для иммобилизации биологических молекул

Одним из элементов в методе АСМ, оказывающий значительное влияние на качество получаемых изображений, является сканируемая подложка для нанесения исследуемых объектов. В научно-исследовательской практике применяют разные поверхности материалов для иммобилизации биологических молекул: предметные стёкла [68], слюда (минерал мусковит) [69 – 71], золотые подложки [72], силиконовые подложки [73], высокоориентированный пиролитический графит (ВОПГ) [74], сапфир [75] и другие. Наиболее распространёнными поверхностями, применяемыми для изучения биологических объектов, являются слюда и ВОПГ. Главное преимущество ВОПГ – атомарно-гладкая поверхность. Существенный недостаток поверхности ВОПГ – гидрофобность, что приводит к нарушению строения биологических молекул на поверхности ВОПГ [76, 77]. Решить данную проблему позволяет модификация поверхности ВОПГ: 1) в парах пентиламина под действием тлеющего разряда [78] или 2) модификатором поверхности – GM (N,N'-(декан-1,10-диил)бис(тетраглицинамид)дигидрохлорид), разработанный Клиновым Д. В. и сотрудниками [79]. Из-за трудностей в модификации поверхности ВОПГ, данный вид подложки использовался лишь в некоторых случаях (см. пункт 2.1.3.). Основным материалом подложки была выбрана слюда, т.к. обладает рядом неоспоримых преимуществ: 1) коммерчески доступна; 2) свежесколотая поверхность слюды является чистой (без необходимости в дополнительной стадии очистки поверхности), ровной, с средней шероховатостью поверхности $R_a = 0,071$ нм [75]; 3) получение свежесколотой ровной поверхности не требует специализированных приборов (например, микротом) и осуществляется за счёт клейкой ленты; 4) поверхность слюды образована силанольными группами ($---Si-OH$) [80], что формирует отрицательный заряд и позволяет использовать катионы для иммобилизации ДНК/ДНК-белковых комплексов или модифицировать поверхность различными соединениями по силанольным группам (см. п. 2.1.2.).

2.1.2. Выбор реагента для иммобилизации биологических молекул на поверхности слюды

Кристаллическая решётка слюды содержит в своём составе ионы калия [80], которые при контакте с атмосферой воздуха образуют карбонат калия, обладающий высокой ионной силой [81], что может приводить к затруднению сорбции молекулы ДНК, или последующей десорбции с поверхности слюды [82]. Помимо этого, высокая ионная сила может приводить к денатурации белков. При нанесении белка PARP1 на свежесколотую поверхность слюды наблюдалась потеря его глобулярной структуры (рисунок 4).

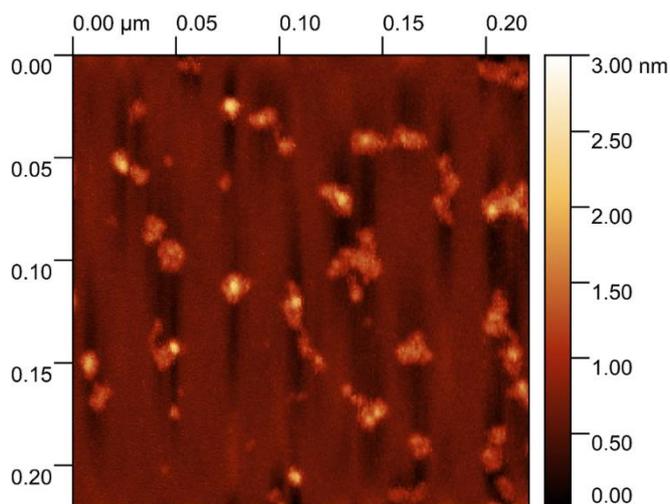


Рисунок 4. АСМ-изображение белка PARP1 нанесённого на свежесколотую поверхность слюды.

Существует три основных подхода для устранения влияния ионов калия и иммобилизации биологических молекул: 1) использование многовалентных ионов металлов; 2) использование поликатионов; 3) использование химических модификаторов силанольных групп. В настоящей работе использовались все три метода. Каждый подход обладает своими преимуществами и недостатками в зависимости от объекта исследования.

Использование солей магния является наиболее распространённым методом иммобилизации ДНК/ДНК-белковых комплексов на слюдяные подложки. Кроме того, ион магния необходим для активации ферментативной активности ДНК-зависимых белков PARP [83]. Таким образом, магний выполняет в нашей системе две функции – иммобилизует объекты на поверхности и является необходимым ионом для PARP1, PARP2 и PARP3. При сканировании нуклеосомных препаратов, иммобилизованных ионами магния, на поверхности слюды отсутствовали характерные объекты. Это может быть связано или со слабой способностью ионов магния сорбировать нуклеосомы на слюде [84, 85], или со способностью ионов магния агрегировать нуклеосомные частицы между собой, что затрудняет поиск данных объектов на поверхности слюды [69, 86], или с совокупностью

этих двух факторов. По литературным данным, хорошей альтернативой ионам магния являются ионы никеля. Обладая меньшим атомным радиусом, ион никеля лучше взаимодействует с кристаллической решёткой слюды, что способствует иммобилизации биологических молекул [69, 84, 85]. Кроме того, ионы никеля не влияют на структуру ДНК и ДНК-белковых комплексов [87]. В данной работе ионы никеля использовались для изучения полинуклеосомных субстратов (см пункт 2.3.). Существенным недостатком использование ионов металлов в АСМ-исследованиях является сорбция кристаллов соли. Данное ограничение удаётся преодолеть предварительной фильтрацией буферных растворов и промыванием поверхности слюды водой после иммобилизации.

Другой подход заключается в использовании поликатионов – спермин, спермидин, путресцин, поли-L-лизин (PLL) и другие. Использование данных соединений в реакционных смесях приводит к агрегации биологических компонентов в растворе, в частности – нуклеосом [88]. Этот существенный недостаток возможно преодолеть предварительной обработкой поверхности слюды поликатионом, после чего наносить реакционную смесь на модифицированную поверхность для осаждения исследуемых объектов. В нашей работе мы использовали PLL для изучения нуклеосом и комплексов нуклеосом с белками PARP1, PARP2 и PARP3 (см. пункт 2.2.). PLL обладает хорошей способностью к иммобилизации нуклеосом, обеспечивает хорошее качество получаемых изображений и не вызывает структурных изменений в ДНК/ДНК-белковых комплексах [71, 87, 89].

Третий подход заключается в химической модификации поверхности слюды по силанольным группам. Одним из первых методов химической модификации является обработка аминопропилтриэтоксисиланом (APTES) с ковалентным присоединением аминопропилсилана через образование силоксановых связей [90]. В результате поверхность слюды приобретает стабильный положительный заряд из-за ковалентно присоединённых аминогрупп на поверхности слюды. Такая модификация способствует кинетическому захвату ДНК из раствора с последующей фиксацией на поверхности слюды в нативной конформации [91]. Этот факт позволяет утверждать, что при исследованиях на модифицированных аminosиланами подложках визуализируется ДНК или ДНК-белковый комплекс в том состоянии, в котором молекула находилась в растворе. Кроме того, аминогруппы можно дополнительно модифицировать, для придания альтернативных свойств поверхности и способов фиксации биологических молекул [92; 93]. Модификация поверхности APTES является достаточно трудоёмкой и может в воде вызывать олигополимеризацию молекул силана, что приводит к многослойной модификации и потере атомарной гладкости поверхности слюды [85]. Для преодоления этого ограничения,

Любченко Ю. Л. с коллегами разработал метод силанизации поверхности слюды при помощи 1-(3-аминопропил)силатрана (APS) [94; 95]. Молекулы силатрана способны предотвращать образование крупных полимерных кластеров на поверхности благодаря низкой скорости гидролиза и молекулярному донорно-акцепторному взаимодействию между атомами азота и кремния. Это позволяет надежно и воспроизводимо функционализировать слюду. В рамках данной работы нами был синтезирован APS согласно опубликованному ранее Любченко Ю. Л. протоколу [95]. Модификация слюды под действием APS позволила визуализировать молекулы ДНК, нуклеосомы и комплексы нуклеосом с белками PARP1, PARP2 и PARP3 (см. пункт 2.2.).

Любая обработка поверхности слюды различными органическими соединениями может приводить к потере её атомарной гладкости. Под действием ионов металлов потеря атомарной гладкости поверхности связана с кристаллизацией соли и может быть устранена даже после нанесения исследуемых образцов. В свою очередь, модификация PLL или APS может приводить к необратимой потере гладкости слюдяной поверхности и последующему приготовлению свежего скола. Также потеря атомарной гладкости приводит как к созданию дополнительного шума, так и к искажению размеров исследуемых биологических молекул. Мы изучили влияние различных концентраций APS и PLL на слюдяную поверхность (см. Приложение 1-13). Оказалось, что значения параметра средней шероховатости R_a для 0,01% PLL [89] и 0,167 мМ APS [95] составили 33,4 нм и 27,4 нм соответственно. Это свидетельствует о сохранении атомарной гладкости поверхности слюды и большему выравниванию поверхности, по сравнению с необработанной слюдой ($R_a = 71$ нм [75]). Однако, при рассмотрении профиля поверхности, обработанной APS, видны “дырки”,

диаметр которых составляет 30 – 100 нм, глубина 0,1 – 0,5 нм (рисунок 5). В такие полости

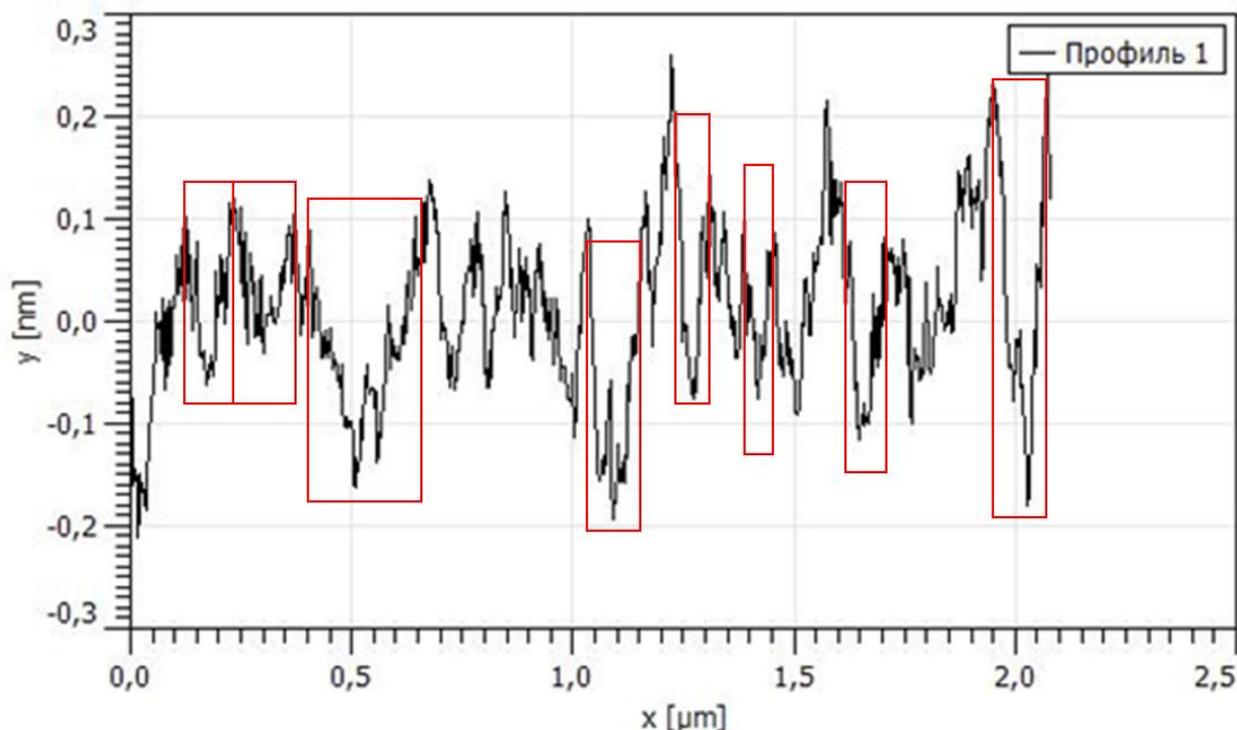


Рисунок 5. Профиль поверхности слюды, модифицированной 0,167 мМ APS (см. Приложение 5). Красными рамками указаны "дырки" в поверхности модифицированной слюды.

могут попадать нуклеосомы, что может приводить к искажению реальных размеров молекул и затруднит интерпретацию полученных данных. В работе [96] при сканировании в полуконтактном режиме АСМ средняя высота нуклеосомы составила ~4 нм. Таким образом, модификация APS может привести к уменьшению высоты нуклеосомы на ~2,5-12,5 % или больше. В свою очередь, поверхность, модифицированная PLL, демонстрирует более равномерный профиль поверхности. PLL как и APS образует полости на поверхности, однако их глубина как правило составляет менее 0,1 нм (см. Приложение 9). Обработка поверхности PLL или APS в других концентрациях увеличивает значение параметра шероховатости.

При уменьшении концентрации APS поверхность неравномерно покрывалась модификатором – поверхность приобретала характерную “пятнистую” или “зернистую” структуру. Разбавление APS в 625 раз приводило к значительному уменьшению степени модификации поверхности слюды, и средняя шероховатость соответствовала значению необработанной слюдяной подложки. При увеличении концентрации APS поверхность также приобретала “зернистую” структуру, что может указывать на неспецифическое взаимодействие молекулы APS с уже модифицированной поверхностью, аналогично

APTES [85]. Для PLL увеличение концентрации также приводило к менее однородной “зернистой” поверхности.

Таким образом, мы использовали следующие модификаторы слюдяных подложек: Ni^{2+} [5 мМ], APS [0,167 мМ] [95] и PLL 0,01% [89].

2.1.3. Очистка растворителей для приготовления реакционных смесей

Качество реакционных смесей зависит от чистоты всех компонентов, включая растворители. При работе с биологическими образцами существенный вклад обеспечивает качество воды. Также критически важным растворителем является этиловый спирт, т.к. используется для переосаждения и очистки ДНК.

Органические примеси в реакционных смесях, способны сорбироваться на сканируемой поверхности. Это может создавать дополнительные шумы в процессе сканирования и влиять на правильность интерпретации полученных результатов. Особенно критично присутствие органических примесей при иммобилизации биологических объектов на графитовых подложках. В результате совместной работы с Клиновым Д. В. (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА им. Ю. М. Лопухина, г. Москва) было обнаружено, что наш препарат ДНК (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск) содержал концентрацию органических примесей, мешающую обнаружению целевых молекул, при сканировании на модифицированном ВОПГ (рисунок 6 А). При этом сканирование препарата ДНК на слюде подтверждало наличие целевых молекул (рисунок 6 Б). Неоднородность фона может свидетельствовать о сорбции органических примесей на поверхности слюды.

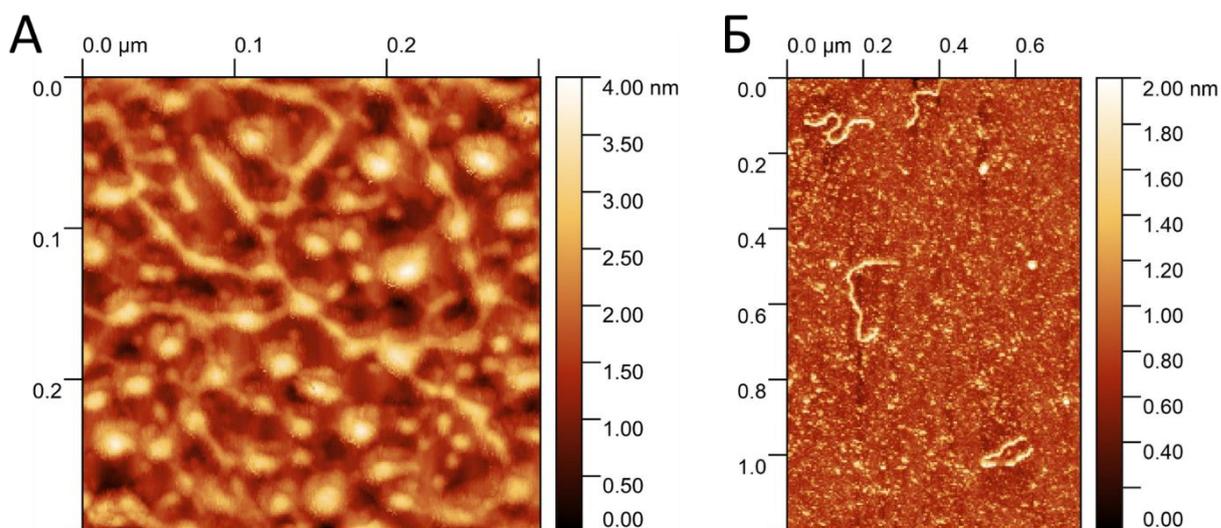


Рисунок 6. Препарат ДНК длиной 1200 п.н. с одноцепочечным разрывом в 600-ом положении нанесённый на поверхность: А – модифицированного графита; Б – слюды в присутствии ионов Mg^{2+} .

Для выявления органических примесей в растворителях можно использовать немодифицированную поверхность ВОПГ. При высушивании 0,3мкл воды – дистиллированной (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН), бидистиллированной (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН) и mQ (ЛСБ ИХБФМ СО РАН), все образцы оставляли на поверхности ВОПГ “острова” ламеллярной структуры (рисунок 7) [97], при этом вода mQ формировала слои органических плёнок (рисунок 8). При нанесении 0,3 мкл перегнанного этилового спирта (~92%) на поверхность ВОПГ, наблюдалось образование объёмных многослойных ламеллярных структур высотой до 17 нм (рисунок 9). Для дальнейшего выполнения работы растворители очищали от органических примесей. Чистую для АСМ воду получали перегонкой раствора 0,2% KMnO_4 . Чистый для АСМ этиловый спирт получали перегонкой из смеси этилового спирта с активированным углем – на литр этанола брали 100 грамм активированного угля. Далее образцы анализировали с помощью АСМ. В полученных дистиллятах отсутствовали примеси органических соединений, а поверхность ВОПГ не содержала плёнок органических соединений ламеллярной структуры (рисунок 10).

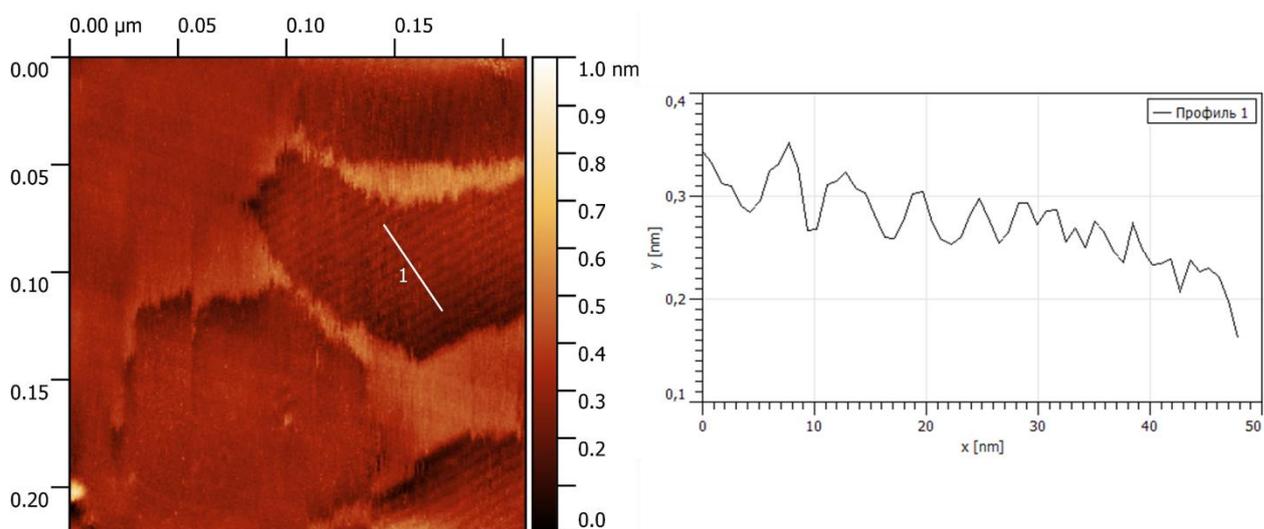


Рисунок 7. Плёнки органических соединений ламеллярной структуры с профилем по высоте, после высушивания 0,3 мкл H_2O бидистиллированной на поверхности ВОПГ.

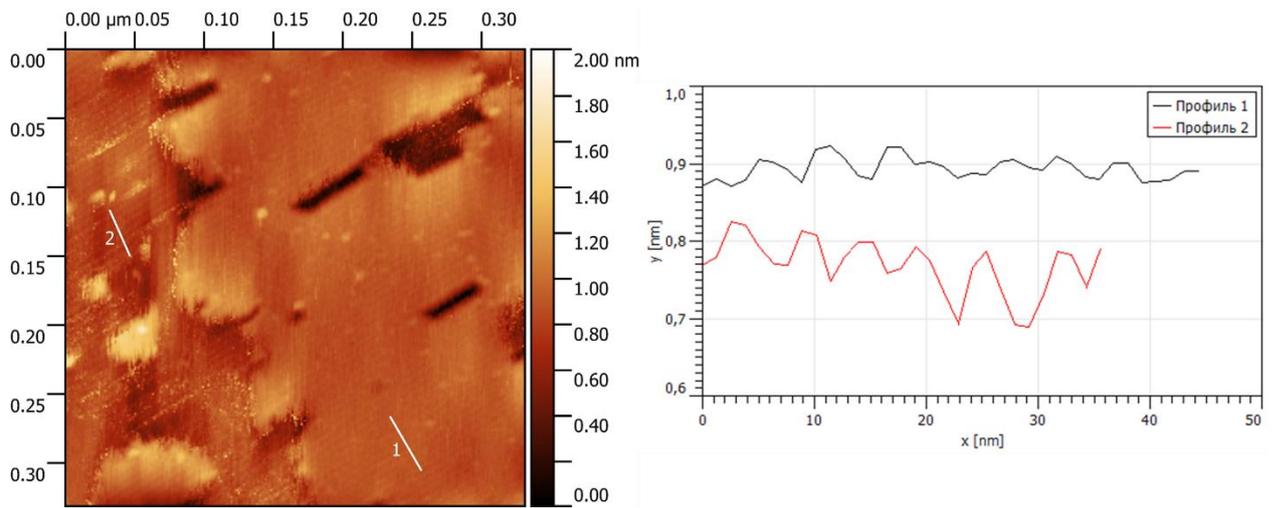


Рисунок 8. Слои органических плёнок ламеллярной структуры с профилем по высоте, после высушивания 0,3 мкл H_2O тQ на поверхности ВОПГ.

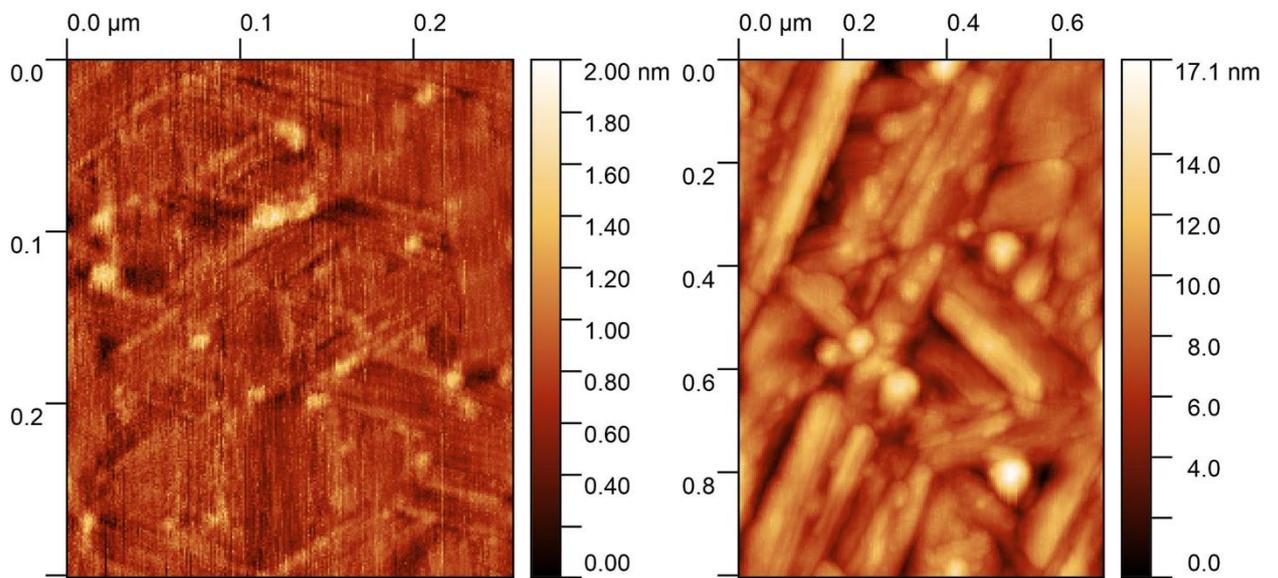


Рисунок 9. Многослойные органические ламеллярные структуры, после высушивания 0,3 мкл EtOH перегнанного ~92% на поверхности ВОПГ.

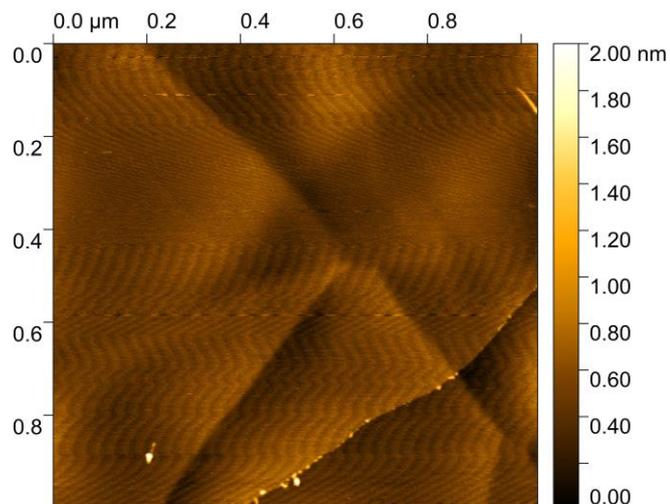


Рисунок 10. Поверхность ВОПГ после высушивания 0,3 мкл дистиллятов H_2O / EtOH.

2.2. Изучение влияния белков PARP1, PARP2, PARP3 на структуру нуклеосом

2.2.1. Реконструирование нуклеосомных частиц

Для использования нуклеосом, как объектов исследования в АСМ, необходимо однозначно распознавать нуклеосомные частицы от иных объектов. Как правило, для этих целей используют нуклеосомы с линкерными ДНК различной длины [98, 99]. В работе использовалась модельная ДНК, содержащая нуклеосом-позиционирующую последовательность ДНК Widom «Clone 603» длиной 147 п.н. [100], окружённая двумя линкерными областями длиной 79 и 120 п.н. (рисунок 11 А). Данная конструкция получена методом ПЦР из плазмидного вектора pGEM-3z/603 (AddGene, Уотертаун, Массачусетс, США) с уникальными праймерами. При проведении ПЦР использовалась следующая программа: 3 мин при 94°C; 30 циклов по 30 с при 94°C, 20 с при 65°C и 1 мин при 72°C; с завершающей стадией на 3 мин при 72°C. После амплификации реакционную смесь разгоняли в нативном 4% ПААГ, фрагмент геля содержащий целевой продукт вырезали и выделяли из геля по протоколу [101].

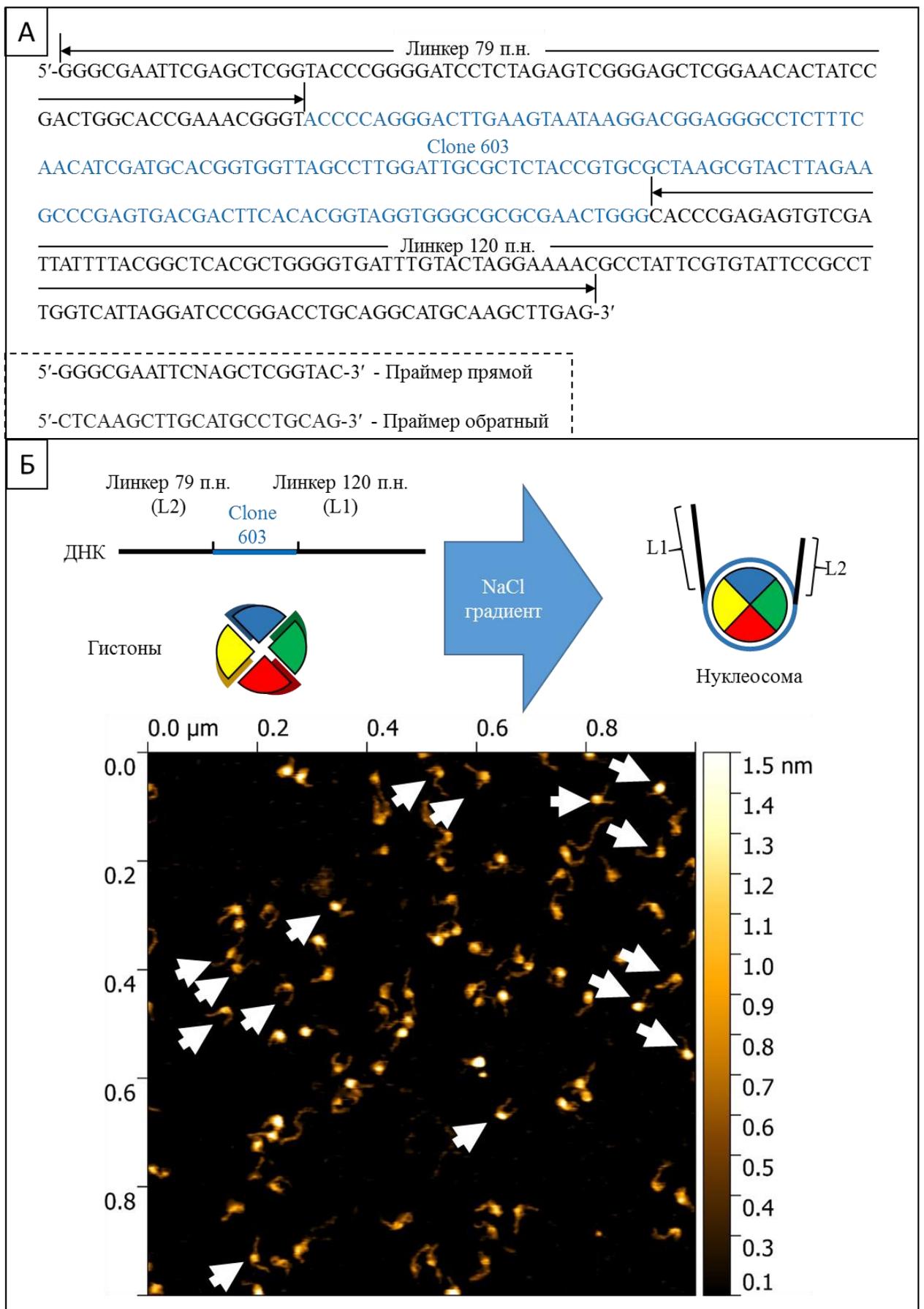


Рисунок 11. А - ДНК-сиквенс использующийся в работе для реконструирования модельных мононуклеосом в АСМ-исследованиях. Б - схематическое изображение процесса реконструирования нуклеосом *in vitro* с АСМ-изображением полученного препарата (белыми стрелками обозначены нуклеосомы).

Сборку нуклеосом осуществляли согласно ранее описанному протоколу [102]. Вкратце, на первом этапе подбирается соотношение ДНК к гистоновым октамерам: методом аналитического титрования препарата гистонов, полученного хроматографическим выделением из эритроцитов *G.gallus* [103] и любезно предоставленного Кутузовым М. М. (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН), относительно фиксированного количества ДНК в низкосолевым буфере. На втором этапе реакцию смесь, содержащую подобранное соотношение ДНК к гистонам, помещали в диализные ячейки и снижали концентрацию NaCl в градиенте от 2 М до 0,02 М. Далее полученный препарат анализировали методом АСМ на слюдяных подложках, модифицированных APS или PLL (рисунок 11 Б).

2.2.2. Получение комплексов нуклеосома-PARP1/2/3 и их сканирование АСМ.

Рекомбинантные белки PARP1, PARP2 и PARP3 были получены, как указано в работах [37, 104]. Белок PARP1 был выделен из биомассы, любезно предоставленной Кутузовым М. М. (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН), PARP2 был любезно предоставлен Кутузовым М. М. (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН), PARP3 был любезно предоставлен Белоусовой Е. А. (ЛБХФ ИХБФМ СО РАН).

Реакционная смесь состояла из 10 нМ реконструированной нуклеосомы, нуклеосомного буфера (20 мМ NaCl, 0,2 мМ EDTA, 1,6 мМ CHAPS, 10 мМ Tris-HCl pH 7,5 и 5 мМ β-меркаптоэтанола) и одного из PARP в концентрации: 10 нМ (PARP1), 35 нМ (PARP2) или 66 нМ (PARP3). Реакционную смесь инкубировали в течение 15 мин при 37 °С. Затем образцы разбавляли в десять раз нуклеосомным буфером и немедленно наносили на поверхность слюды модифицированную APS или PLL. Через 2 минуты осаждения поверхность слюды промывали три раза 1 мл воды и высушивали в слабом потоке аргона. Образцы хранили в эксикаторе до получения изображения.

Снимки АСМ были получены при сканировании образцов на воздухе. В работе использовались кантилеверы (зонды) NSG30_SS (NT-MDT, Зеленоград, Россия) с резонансной частотой наконечника 240-440 кГц и характерным радиусом кривизны 2 нм. Типичный размер сканируемой области составлял 2×2 мкм² с 1024 пиксель/строка или 4×4 мкм² с 2048 пиксель/строка. Скорость сканирования была равна 1 и 0,5 Гц соответственно.

2.2.3. Локализация белков PARP1, PARP2, PARP3 в комплексах нуклеосома-PARP

В ходе выполнения научно-исследовательской работы были определены сайты связывания каждого белка PARP с нашим модельным нуклеосомным препаратом. Для

анализа были выбраны только изображения комплексов PARP с нуклеосомой. В соответствии с расположением белков PARP полученные АСМ-снимки были разделены на две категории: 1) PARP расположен близко к ядру NCP; 2) PARP расположен в линкерной области ДНК. На рисунке 12 показаны типичные изображения нуклеосом в комплексе с PARP. При накоплении данных мы обнаружили, что каждый из трех PARP связывается вблизи ядра нуклеосомы: в 153 из 200 комплексов для PARP1, в 148 из 200 комплексов для PARP2 и в 158 из 200 комплексов для PARP3.

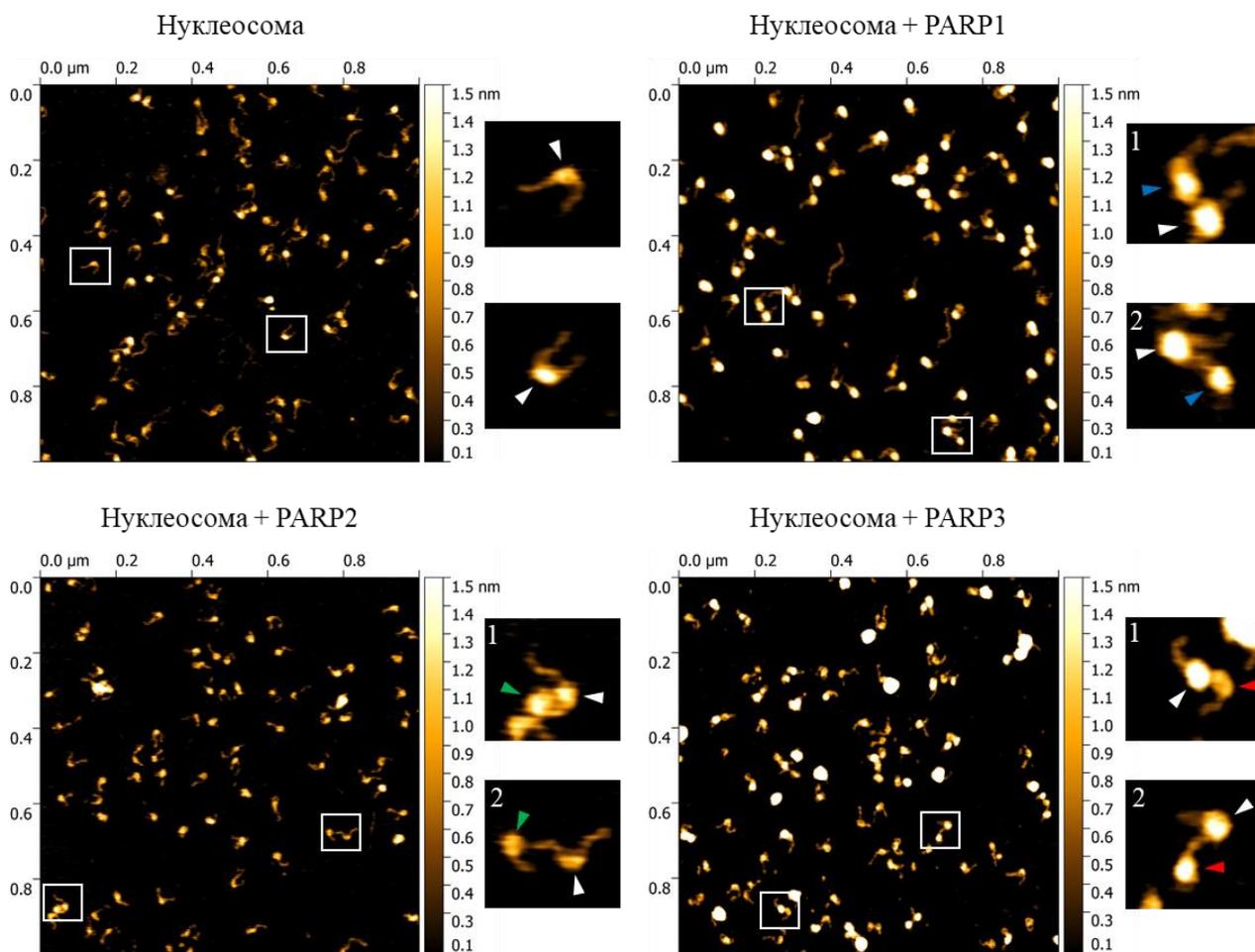


Рисунок 12. Типичные АСМ-изображения нуклеосом и комплексов нуклеосома-PARP. Ядра нуклеосом обозначены белыми стрелками. Белки PARP1, PARP2, PARP3 отмечены синей, зелёной и красной стрелками соответственно. 1- PARP, расположенный близко к ядру нуклеосомы. 2 – PARP, расположенный в линкерной области ДНК.

Ранее в нашей лаборатории было изучено взаимодействие белков PARP1, PARP2, PARP3 с модельной нуклеосомой, не содержащей линкеров [105, 106]. По результатам этих работ было выдвинуто предположение, что PARP1 взаимодействует в основном с нуклеосомной ДНК по тупым концам, а PARP2 и PARP3 взаимодействуют с ядром нуклеосомы через белок-белковые контакты. Методом АСМ мы визуализировали комплексы нуклеосома-PARP. Оказалось, что белок PARP1 действительно способен локализоваться на ДНК-линкере. Наши результаты согласуются с ранее опубликованными данными: PARP1 проявляет повышенное сродство к модельным нуклеосомным субстратам

при удлинении линкерной ДНК [107]; PARP1 взаимодействует с нуклеосомой в области входа-выхода линкерной ДНК через домены цинковых пальцев и BRCT [10]. Точный механизм взаимодействия белков PARP2 и PARP3 с линкерной ДНК нуклеосомы неизвестен, т.к. PARP2 и PARP3 не содержат известных ДНК-связывающих доменов, как в случае с PARP1, однако можно предположить, что в этом процессе играет домен WGR. В целом, взаимодействие белков PARP с нуклеосомой вероятно способно оказывать влияние на структуру нуклеосомного комплекса.

2.2.4. Изучение структурных изменений в нуклеосоме вызванных белками PARP

Одним из параметров, отражающих степень компактизации ДНК в составе нуклеосомы является угол раскрытия между линкерными ДНК нуклеосомы [71, 108]. Мы определили соответствующий угол для ранее выявленных комплексов нуклеосома-PARP (см пункт 2.2.3.). Нуклеосомы без добавления какого-либо PARP использовались в качестве контроля. Графическое представление результатов приведено на рисунке 13 Б, В. Средний угол между плечами ДНК в контрольных нуклеосомах составил $120^\circ \pm 5^\circ$. Наш результат согласуется с данными, полученными другой группой [71]. В этой работе авторы выявили две популяции нуклеосом, которые отображали корреляцию между длиной развернутой ДНК и распределением по углу раскрытия. В нашем случае, мы не наблюдали такого распределения. Это несоответствие может быть объяснено различием в нуклеотидных последовательностях используемой ДНК. В нашей работе мы использовали ДНК Widom «Clone 603», которая обладает более слабым средством связывания с ядерными гистонами, в отличии от ДНК Widom «Clone 601» [100], которую использовали Конрад С. Ф. и коллеги в своей работе. Основное различие между этими двумя последовательностями ДНК заключается в прочности ядра нуклеосомы: нуклеосома на основе ДНК Widom «Clone 601» более стабильна и, следовательно, имеет менее лабильные концы ДНК. Вероятно, что наши модельные нуклеосомы на основе ДНК Widom «Clone 603» имеют недостаточные различия в значениях угла раскрытия, чтобы четко различать эти два распределения.

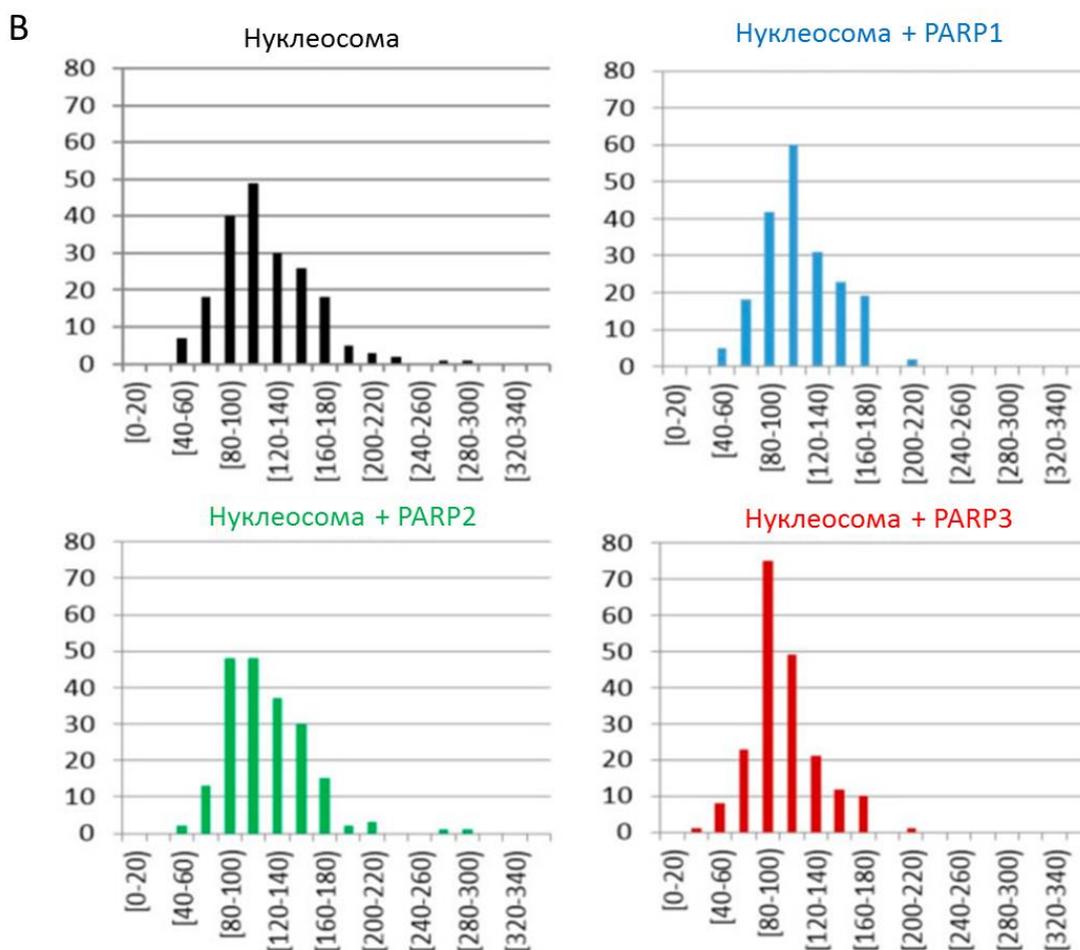
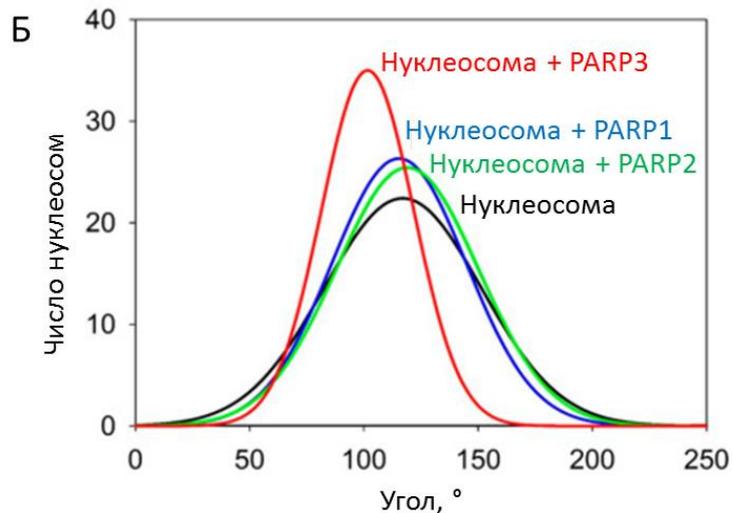
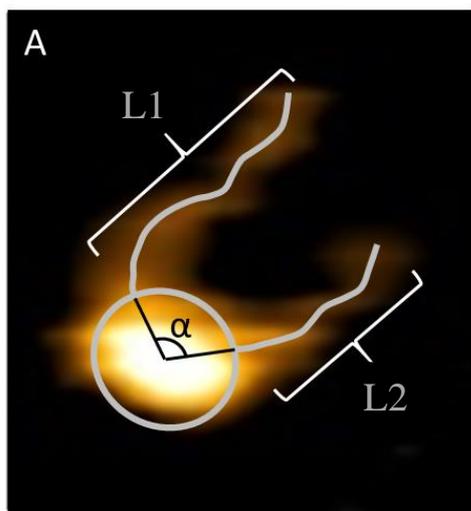


Рисунок 13. Компактизация нуклеосомы в зависимости от присутствия белка PARP. А - Схематическое изображение определяемых параметров NCP. На изображении «L1» и «L2» — длины плеч ДНК, « α » — угол между плечами ДНК. Б - Гауссова интерполяция распределения значений угла « α ». Черная кривая: нуклеосомы, синяя кривая: нуклеосомы в комплексе с PARP1, зеленая кривая: нуклеосомы в комплексе с PARP2, и красная кривая: нуклеосомы в комплексе с PARP3. В - распределение значений угла « α ». Черные столбцы: нуклеосомы, синие столбцы: нуклеосомы в комплексе с PARP1, зеленые столбцы: нуклеосомы в комплексе с PARP2, и красные столбцы: нуклеосомы в комплексе с PARP3.

Связывание PARP1 с нуклеосомой вызвало небольшое сужение распределения угла раскрытия плеч без существенного влияния на уплотнение нуклеосомы ($115^{\circ} \pm 4^{\circ}$). Разница в измеренных значениях угла в нуклеосоме в присутствии и в отсутствие PARP1 не была существенной (даже для p-value 0,9). Как упоминалось выше, PARP1 может связывать нуклеосому вблизи сайта входа–выхода и взаимодействовать с каждым ДНК-линкером. Это взаимодействие может влиять на структурное функционирование хроматина аналогично линкерному гистону H1. Сообщалось, что присутствие H1 сужает распределение по углу раскрытия (что означает стабилизацию нуклеосомы) и не изменяет степень уплотнения [109]. Кроме того, подобно гистону H1, PARP1 уплотняет хроматин, который разрыхляется в условиях парилирования [46]. В работе [110] авторы предполагают, что уплотнение достигается за счет объединения соседних нуклеосом молекулами PARP1, аналогично процессу, наблюдаемому в белковом комплексе группы Polycomb. Этот эффект, вероятно, обусловлен образованием петли, вызванной контактами PARP1–PARP1 [111]. С другой стороны, есть данные о том, что связывание PARP1 с ДНК вблизи сайта входа–выхода в нуклеосоме приводит к дистанцированию двух спиралей ДНК, тем самым дестабилизируя ядро нуклеосомы [48]. Таким образом, PARP1 ослабляет структуру нуклеосомы. Тем не менее, в этом отчете авторы продемонстрировали разделение флуоресцентных меток, расположенных на спиральных ДНК, обволакивающих ядро гистонов, когда PARP1 был связан. Эти данные были получены методом резонансного переноса энергии Форстера, который не различает направления деформации в нуклеосоме; изменения в структуре нуклеосомы могут происходить в одном из двух направлений: радиальном или аксиальном. Поскольку мы не обнаружили существенных изменений в степени уплотнения NCP в присутствии PARP1, изменения, вероятно, происходят в аксиальном направлении. В этом случае влияние не может быть определено исследуемым методом. Мы также не можем исключить, что ранее описанные искажения структуры нуклеосомы, вызванные PARP1, могут влиять только на область ДНК, которая находится в непосредственном контакте с ядром гистонов. В этом контексте геометрия сайта входа-выхода ДНК может оставаться неизменной.

Несмотря на то, что PARP2 проявляет значительно более сильное сродство к нуклеосоме, чем к свободной ДНК [105], PARP2 (так же, как и PARP1) существенно не влияет на уплотнение нуклеосомы. В настоящей работе ни распределение значений угла раскрытия, ни степень уплотнения NCP не были изменены присутствием PARP2 ($121^{\circ} \pm 4^{\circ}$). Принимая во внимание стандартное отклонение, разница в измеренных значениях угла в нуклеосоме в присутствии и в отсутствие PARP2 не была существенной (даже для p-value 0,8).

Между тем, PARP3 оказывал особое влияние на уплотнение ядра нуклеосомы. Мы наблюдали повышенную степень уплотнения нуклеосомы в присутствии PARP3 ($104^{\circ} \pm 4^{\circ}$). Принимая во внимание стандартное отклонение, разница в измеренных значениях угла в нуклеосоме в присутствии и в отсутствие PARP3 была значительной (p-value 0,001). Более того, присутствие PARP3 индуцировало сужение распределения углов раскрытия. В разделе 1 упоминалось, что PARP3 широко распространен в ядре как часть белковых комплексов группы Polysomb. Молекулярная функция группы Polysomb важна для регуляции гомеотических генов и, следовательно, подавляется во время дифференцировки клеток с переходом генов в гетерохроматическое состояние. Таким образом, влияние PARP3 на уплотнение NCP может быть необходимо для регулирования доступа других белков к неповрежденной ДНК посредством регуляции уплотнения ДНК.

В нашей работе мы исследовали изменения в архитектуре NCP при взаимодействии с PARP1, PARP2 или PARP3 в отсутствие NAD^+ . Наблюдаемые эффекты могут быть существенно изменены наличием повреждений в ДНК и NAD^+ . Эти изменения также могут быть важны, особенно из-за различных способностей белков PARP синтезировать различные цепи PAR на молекуле-акцепторе, начиная с переноса одной АДФ-рибозы (как это делает PARP3). Более того, вклад сопутствующих факторов, таких как HPF1, может быть существенным во время (АДФ-рибозил)ирования и последующей реорганизации уплотнения NCP.

Тем не менее, наше исследование моделирует сценарий, при котором ДНК не повреждена, а основная активность белков PARP по переносу АДФ-рибозы слаба. Подводя итог, можно сказать, что PARP3 является новым вероятным игроком в регуляции уплотнения хроматина. Для более детального понимания этого явления необходимо изучить способность PARP3 уплотнять ДНК более высокого порядка.

2.3. Получение модельных хроматин-подобных субстратов

2.3.1. Реконструирование полинуклеосомных молекул

В литературе есть данные по получению и использованию полинуклеосомных субстратов [112 – 114]. В работе использовалась модельная ДНК, содержащая 8 нуклеосом-позиционирующих последовательностей ДНК Widom «Clone 603» длиной 147 п.н. [100] разделённые между собой линкерными участками длиной 25 п.н., окружённая двумя линкерными областями длиной 450 и 200 п.н. (рисунок 14 А). Данная конструкция получена методом ПЦР с уникальными праймерами. При проведении ПЦР использовалась следующая программа: 3 мин при 94°C ; 30 циклов по 30 с при 94°C , 30 с при 64°C и 2 мин

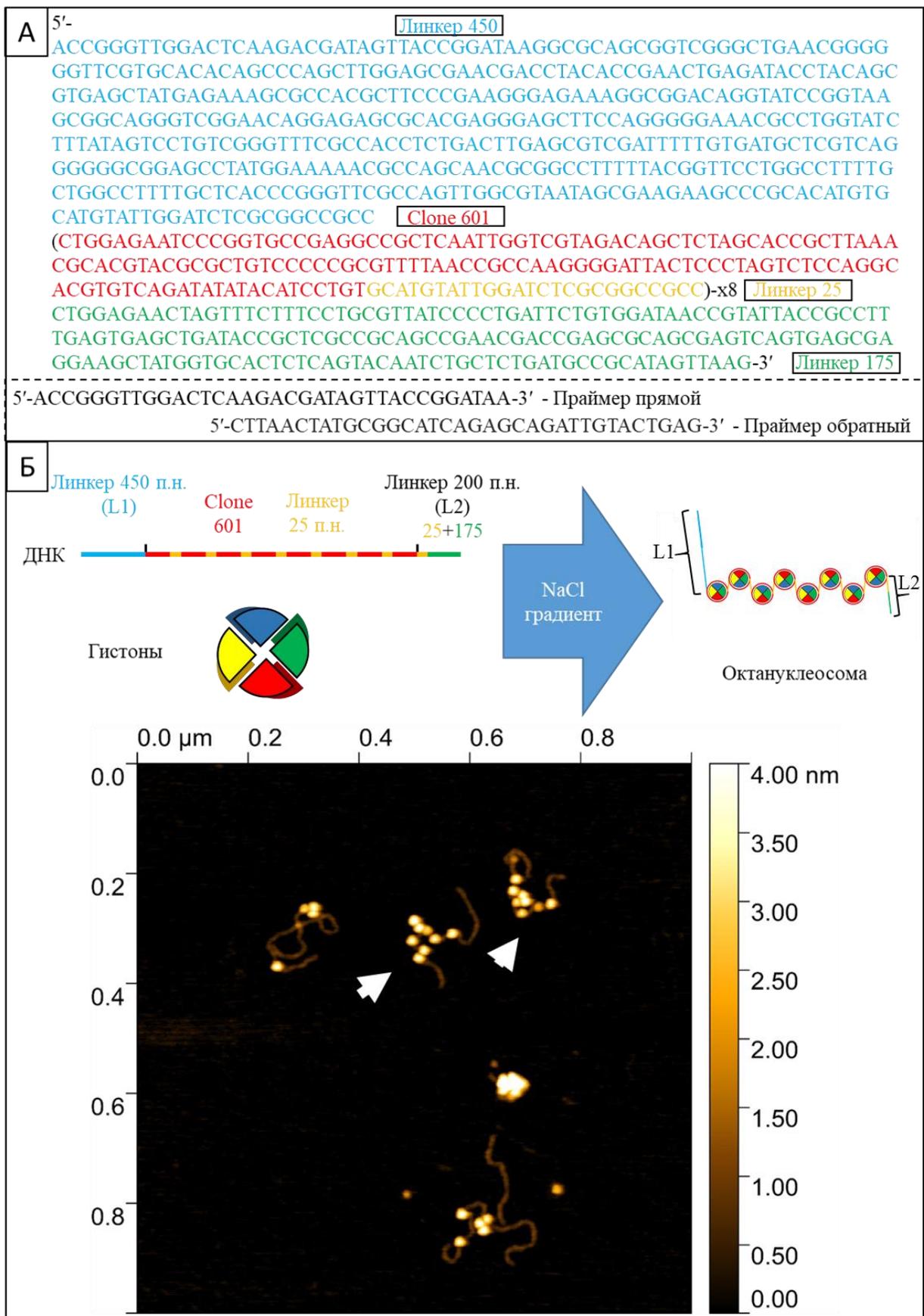


Рисунок 14. А - ДНК-сиквенс используемый в работе для реконструирования модельных октануклеосом в АСМ-исследованиях. Б - схематическое изображение процесса реконструирования нуклеосом *in vitro* с АСМ-изображением полученного препарата (белыми стрелками обозначены октануклеосомы).

при 72°C; с завершающей стадией на 3 мин при 72°C. После амплификации реакционную смесь разделяли в агарозном 1% гель-электрофорезе в буфере TAE (40 mM Трис-ацетат и 1 mM ЭДТА, pH 8.3) с добавлением интеркалирующего красителя бромистого этидия. Целевой продукт вырезали из геля и выделяли с помощью коммерческого набора “Cleanup Standart” (Евроген, Москва, Россия).

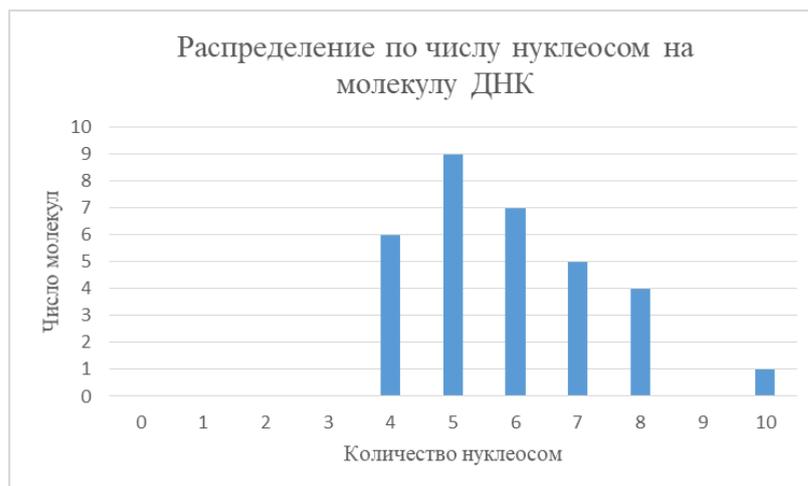
Из-за высокой молярной массы октануклеосомы, аналитическое титрование с целью определения соотношения ДНК к гистонам для получения целевого продукта является затруднительным. В литературе приводится протокол, в котором указывается, что для получения насыщенной полинуклеосомной матрицы необходимо брать мольное соотношение октамеров гистонов к одному сиквенсу «Clone 603» – 0,9; 1; 1,1 [113]. В нашем случае мы использовали коэффициент 1, т.е. на один моль ДНК-матрицы брали 8 моль октамеров гистонов. Процедура диализа ничем не отличалась от ранее описанной (см. пункт 2.2.1.). Далее полученный препарат анализировали методом АСМ на слюдяных подложках. Иммуобилизацию молекул осуществляли при помощи 5 mM соли никеля – NiCl₂ (рисунок 14 Б).

2.3.2. Изучение препарата октануклеосом методом АСМ

Снимки АСМ были получены при сканировании образцов на воздухе. В работе использовались кантилеверы NSG01_DLC (NT-MDT, Зеленоград, Россия) с резонансной частотой наконечника 120-210 кГц и характерным радиусом кривизны 2 нм. Типичный размер сканируемой области составлял 4 × 4 мкм² с 2048 пиксель/строка. Скорость сканирования была равна 0,5 Гц.

После анализа 32-ух молекул оказалось, что препарат не является гомогенным. Это согласуется с результатами работы [113]. Действительно, в нашем случае основная популяция молекул содержала 5 нуклеосом (см. График 1). Такой эффект объясняется как общей длиной ДНК, так и большим количеством нуклеосом-позиционирующих сайтов Widom «Clone 601».

График 1



На данном этапе отработан процесс получения полинуклеосомных конструкций и их визуализация с помощью АСМ. В дальнейшем, для детального изучения влияния белков PARP1, PARP2 и PARP3 на структуру хроматина, будут получены препараты комплексов данных белков с полинуклеосомными субстратами. Анализ морфологического строения комплексов может помочь установить новые регуляторные функции ферментов PARP и потенциальные клеточные процессы, в которых они могут принимать участие.

3. Выводы

1. Показано, что использование ионов Ni^{2+} для полинуклеосомных субстратов; поли-L-лизина или аминопропилсилатрана для модельных монопнуклеосом и комплексов модельных монопнуклеосом с белками PARP1, PARP2, PARP3 позволяет подобрать условия сканирования поверхности слюды с качеством изображений, достаточным для анализа степени компактизации ДНК в составе исследуемого комплекса.
2. Данные АСМ о локализации белков PARP1, PARP2, PARP3 на модельных монопнуклеосомах с линкерными участками длиной 120 и 79 п.н. свидетельствуют о том, что все три белка преимущественно локализуются в месте входа-выхода линкерной ДНК в ядро нуклеосомы.
3. Показано, что PARP3 в отличие от PARP1 и PARP2 стабилизирует и уплотняет ДНК в составе нуклеосомы, что указывает на его потенциальную регуляторную роль в компактизации хроматина.

4. Публикации по теме диссертации

Статьи:

- [1] Kutuzov, M. M., Belousova, E. A., Kurgina, T. A., Ukraintsev, A. A., Vasil'eva, I. A., Khodyreva, S. N., & Lavrik, O. I. (2021). The contribution of PARP1, PARP2 and poly(ADP-ribose) to base excision repair in the nucleosomal context. *Scientific reports*, 11(1), 4849. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84351-1>.
- [2] Ukraintsev, A. A., Belousova, E. A., Kutuzov, M. M., & Lavrik, O. I. (2022). Study of Interaction of the PARP Family DNA-Dependent Proteins with Nucleosomes Containing DNA Intermediates of the Initial Stages of BER Process. *Biochemistry. Biokhimiia*, 87(4), 331–345. <https://doi.org/10.1134/S0006297922040034>.
- [3] Ukraintsev, A., Kutuzov, M., Belousova, E., Joyeau, M., Golyshev, V., Lomzov, A., & Lavrik, O. (2023). PARP3 Affects Nucleosome Compaction Regulation. *International journal of molecular sciences*, 24(10), 9042. <https://doi.org/10.3390/ijms24109042>.
- [4] Ukraintsev, A. A., Kutuzov, M. M., & Lavrik, O. I. (2024). Studying Structure and Functions of Nucleosomes with Atomic Force Microscopy. *Biochemistry. Biokhimiia*, 89(4), 674–687. <https://doi.org/10.1134/S0006297924040072>.

Тезисы конференций:

- [1] Украинцев А. А., Белоусова Е. А., Кутузов М. М., Кургина Т. А., Лаврик О. И. Взаимодействие поли(АДФ-рибоза)полимераз 1, 2 и 3 с ДНК в контексте нуклеосомы. Научная конференция с элементами школы молодых ученых «Biotop 2020: актуальные вопросы современной биологии» 21-24 декабря, г. Новосибирск, Россия, 2020.
- [2] А.А. Украинцев, Е.А. Белоусова, М.М. Кутузов, О.И. Лаврик. Взаимодействие поли(АДФ-рибоза)полимераз 1, 2 и 3 с интермедиатами начальных стадий BER в нуклеосомном контексте. III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ 3–8 октября, Сочи – Дагомыс, Россия, 2021.
- [3] Ukraintsev A.A., Belousova E.A., Kutuzov M.M., Lavrik O.I. Study of interaction of the PARP family DNA-dependent proteins with nucleosomes by atomic force microscopy. BGRS/SB-2022, Novosibirsk, Russia, 2022. DOI: 10.18699/SBB-2022-607.
- [4] Alexander Ukraintsev, Ekaterina Belousova, Mikhail Kutuzov, Olga Lavrik. AFM visualization of PARP1/2/3 complexes with NCP. CSHL Single Biomolecules 30 August - 03 September, New York, USA, 2022.

- [5] Украинцев А.А., Кутузов М.М., Белоусова Е.А., Лаврик О.И. PARP1/2/3 в компактизации нуклеосом. Конференция «Физико-химическая энзимология» 7-9 августа, Новосибирск, Россия, 2023.
- [6] Украинцев А. А., Кутузов М. М., Белоусова Е. А., Лаврик О. И. Влияние поли(ADP-рибоза)полимераз 1, 2 и 3 на структуру нуклеосом. Научная молодежная школа-конференция «BioTop-2023. Достижения молодых ученых ИХБФМ» 30 ноября - 1 декабря, г. Новосибирск, Россия, 2023.
- [7] Украинцев А. А., Кутузов М. М., Белоусова Е. А., Лаврик О. И. Белок семейства ARTD PARP3 уплотняет и стабилизирует нуклеосому. Всероссийская школа-конференция «Современные вызовы структурной и синтетической биологии» 3–7 апреля, Шерегеш, Россия, 2024
- [8] Ukraintsev A., Kutuzov M., Belousova E., Lavrik O. PARP3 is a potential participant in the regulation of chromatin structure. BGRS/SB-2024, Novosibirsk, Russia, 2024. DOI: 10.18699/bgrs2024-11.1-09.

5. Список литературы

- [1] Jeggo P. A. (1998). DNA repair: PARP - another guardian angel?. *Current biology : CB*, 8(2), R49–R51. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(98\)70032-6](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(98)70032-6)
- [2] D'Amours, D., Desnoyers, S., D'Silva, I., & Poirier, G. G. (1999). Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. *The Biochemical journal*, 342 (Pt 2)(Pt 2), 249–268.
- [3] Nguewa, P. A., Fuertes, M. A., Valladares, B., Alonso, C., & Pérez, J. M. (2005). Poly(ADP-ribose) polymerases: homology, structural domains and functions. Novel therapeutical applications. *Progress in biophysics and molecular biology*, 88(1), 143–172. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2004.01.001>
- [4] Kumar, C., Rani, N., Velan Lakshmi, P. T., & Arunachalam, A. (2017). A comprehensive look of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition strategies and future directions for cancer therapy. *Future medicinal chemistry*, 9(1), 37–60. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0113>
- [5] Vyas, S., Chesarone-Cataldo, M., Todorova, T., Huang, Y. H., & Chang, P. (2013). A systematic analysis of the PARP protein family identifies new functions critical for cell physiology. *Nature communications*, 4, 2240. <https://doi.org/10.1038/ncomms3240>
- [6] Wu, H., Lu, A., Yuan, J., Yu, Y., Lv, C., & Lu, J. (2024). Mono-ADP-ribosylation, a MARylationmultifaced modification of protein, DNA and RNA: characterizations, functions and mechanisms. *Cell death discovery*, 10(1), 226. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-01994-5>
- [7] van Beek, L., McClay, É., Patel, S., Schimpl, M., Spagnolo, L., & Maia de Oliveira, T. (2021). PARP Power: A Structural Perspective on PARP1, PARP2, and PARP3 in DNA Damage Repair and Nucleosome Remodelling. *International journal of molecular sciences*, 22(10), 5112. <https://doi.org/10.3390/ijms22105112>
- [8] 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. *The Journal of biological chemistry*, 283(7), 4105–4114. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708558200>
- [9] 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>
- [10] Rudolph, J., Muthurajan, U. M., Palacio, M., Mahadevan, J., Roberts, G., Erbse, A. H., Dyer, P. N., & Luger, K. (2021). The BRCT domain of PARP1 binds intact DNA and mediates intrastrand transfer. *Molecular cell*, 81(24), 4994–5006.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.11.014>

- [11] 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>
- [12] 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>
- [13] Hakmé, A., Wong, H. K., Dantzer, F., & Schreiber, V. (2008). The expanding field of poly(ADP-ribosyl)ation reactions. 'Protein Modifications: Beyond the Usual Suspects' Review Series. *EMBO reports*, 9(11), 1094–1100. <https://doi.org/10.1038/embor.2008.191>
- [14] 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. *The Journal of biological chemistry*, 286(12), 10690–10701. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.202507>
- [15] Eustermann, S., Videler, H., Yang, J. C., Cole, P. T., Gruszka, D., Veprintsev, 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>
- [16] Langelier, M. F., Planck, J. L., Roy, S., & Pascal, J. M. (2012). Structural basis for DNA damage-dependent poly(ADP-ribosyl)ation by human PARP-1. *Science (New York, N.Y.)*, 336(6082), 728–732. <https://doi.org/10.1126/science.1216338>
- [17] 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>
- [18] 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>
- [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] Amé, J. C., Rolli, V., Schreiber, V., Niedergang, C., Apiou, F., Decker, P., Muller, S., Höger, T., Ménissier-de Murcia, J., & de Murcia, G. (1999). PARP-2, A novel mammalian DNA

damage-dependent poly(ADP-ribose) polymerase. *The Journal of biological chemistry*, 274(25), 17860–17868. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.25.17860>

[21] Loseva, O., Jemth, A. S., Bryant, H. E., Schüler, H., Lehtiö, L., Karlberg, T., & Helleday, T. (2010). PARP-3 is a mono-ADP-ribosylase that activates PARP-1 in the absence of DNA. *The Journal of biological chemistry*, 285(11), 8054–8060. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.077834>

[22] Langelier, M. F., Riccio, A. A., & Pascal, J. M. (2014). PARP-2 and PARP-3 are selectively activated by 5' phosphorylated DNA breaks through an allosteric regulatory mechanism shared with PARP-1. *Nucleic acids research*, 42(12), 7762–7775. <https://doi.org/10.1093/nar/gku474>

[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] Riccio, A. A., Cingolani, G., & Pascal, J. M. (2016). PARP-2 domain requirements for DNA damage-dependent activation and localization to sites of DNA damage. *Nucleic acids research*, 44(4), 1691–1702. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1376>

[25] Ray Chaudhuri, A., & Nussenzweig, A. (2017). The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 18(10), 610–621. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.53>

[26] Vyas, S., Matic, I., Uchima, L., Rood, J., Zaja, R., Hay, R. T., Ahel, I., & Chang, P. (2014). Family-wide analysis of poly(ADP-ribose) polymerase activity. *Nature communications*, 5, 4426. <https://doi.org/10.1038/ncomms5426>

[27] Miwa, M., Saitō, H., Sakura, H., Saikawa, N., Watanabe, F., Matsushima, T., & Sugimura, T. (1977). A 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>

[28] Miwa, M., Ishihara, M., Takishima, S., Takasuka, N., Maeda, M., Yamaizumi, 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. *The Journal of biological chemistry*, 256(6), 2916–2921.

[29] Wahlberg, E., Karlberg, T., Kouznetsova, E., Markova, N., Macchiarulo, A., Thorsell, A. G., Pol, E., Frostell, Å., Ekblad, T., Öncü, D., Kull, B., Robertson, G. M., Pellicciari, R., Schüler, H., & Weigelt, J. (2012). Family-wide chemical profiling and structural analysis of PARP and tankyrase inhibitors. *Nature biotechnology*, 30(3), 283–288. <https://doi.org/10.1038/nbt.2121>

- [30] Oplustil O'Connor, L., Rulten, S. L., Cranston, A. N., Odedra, R., Brown, H., Jaspers, J. E., Jones, L., Knights, C., Evers, B., Ting, A., Bradbury, R. H., Pajic, M., Rottenberg, S., Jonkers, J., Rudge, D., Martin, N. M., Caldecott, K. W., Lau, A., & O'Connor, M. J. (2016). The PARP Inhibitor AZD2461 Provides Insights into the Role of PARP3 Inhibition for Both Synthetic Lethality and Tolerability with Chemotherapy in Preclinical Models. *Cancer research*, 76(20), 6084–6094. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-3240>
- [31] 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. *The Journal of biological chemistry*, 276(27), 25541–25548. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102125200>
- [32] Kutuzov, M. M., Khodyreva, S. N., Amé, J. C., Ilina, E. S., Sukhanova, M. V., Schreiber, V., & Lavrik, O. I. (2013). Interaction of PARP-2 with DNA structures mimicking DNA repair intermediates and consequences on activity of base excision repair proteins. *Biochimie*, 95(6), 1208–1215. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.01.007>
- [33] 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>
- [34] Langelier, M. F., & Pascal, J. M. (2013). PARP-1 mechanism for coupling DNA damage detection to poly(ADP-ribose) synthesis. *Current opinion in structural biology*, 23(1), 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2013.01.003>
- [35] Beck, C., Robert, I., Reina-San-Martin, B., Schreiber, V., & Dantzer, F. (2014). Poly(ADP-ribose) polymerases in double-strand break repair: focus on PARP1, PARP2 and PARP3. *Experimental cell research*, 329(1), 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.07.003>

- [36] 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>
- [37] Belousova, E. A., Ishchenko, A. A., & Lavrik, O. I. (2018). Dna is a New Target of Parp3. *Scientific reports*, 8(1), 4176. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22673-3>
- [38] Rulten, S. L., Fisher, A. E., Robert, I., Zuma, M. C., Rouleau, M., Ju, L., Poirier, G., Reina-San-Martin, B., & Caldecott, K. W. (2011). PARP-3 and APLF function together to accelerate nonhomologous end-joining. *Molecular cell*, 41(1), 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.12.006>
- [39] Beck, C., Boehler, C., Guirouilh Barbat, J., Bonnet, M. E., Illuzzi, G., Ronde, P., Gauthier, L. R., Magroun, N., Rajendran, A., Lopez, B. S., Scully, R., Boussin, F. D., Schreiber, V., & Dantzer, F. (2014). PARP3 affects the relative contribution of homologous recombination and nonhomologous end-joining pathways. *Nucleic acids research*, 42(9), 5616–5632. <https://doi.org/10.1093/nar/gku174>
- [40] McGinty, R. K., & Tan, S. (2015). Nucleosome structure and function. *Chemical reviews*, 115(6), 2255–2273. <https://doi.org/10.1021/cr500373h>
- [41] Richmond, T. J., Finch, J. T., Rushton, B., Rhodes, D., & Klug, A. (1984). Structure of the nucleosome core particle at 7 Å resolution. *Nature*, 311(5986), 532–537. <https://doi.org/10.1038/311532a0>
- [42] Nilsen, H., Lindahl, T., & Verreault, A. (2002). DNA base excision repair of uracil residues in reconstituted nucleosome core particles. *The EMBO journal*, 21(21), 5943–5952. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf581>
- [43] Beard, B. C., Wilson, S. H., & Smerdon, M. J. (2003). Suppressed catalytic activity of base excision repair enzymes on rotationally positioned uracil in nucleosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(13), 7465–7470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1330328100>
- [44] Poirier, G. G., de Murcia, G., Jongstra-Bilen, J., Niedergang, C., & Mandel, P. (1982). Poly(ADP-ribosyl)ation of polynucleosomes causes relaxation of chromatin structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(11), 3423–3427. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.11.3423>
- [45] Kim, M. Y., Mauro, S., Gévry, N., Lis, J. T., & Kraus, W. L. (2004). NAD⁺-dependent modulation of chromatin structure and transcription by nucleosome binding properties of PARP-1. *Cell*, 119(6), 803–814. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.002>

- [46] Wacker, D. A., Ruhl, D. D., Balagamwala, E. H., Hope, K. M., Zhang, T., & Kraus, W. L. (2007). The DNA binding and catalytic domains of poly(ADP-ribose) polymerase 1 cooperate in the regulation of chromatin structure and transcription. *Molecular and cellular biology*, 27(21), 7475–7485. <https://doi.org/10.1128/MCB.01314-07>
- [47] 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>
- [48] Sultanov, D. C., Gerasimova, N. S., Kudryashova, K. S., Maluchenko, N. V., Kotova, E. Y., Langelier, M. F., Pascal, J. M., Kirpichnikov, M. P., Feofanov, A. V., & Studitsky, V. M. (2017). Unfolding of core nucleosomes by PARP-1 revealed by spFRET microscopy. *AIMS genetics*, 4(1), 21–31. <https://doi.org/10.3934/genet.2017.1.21>
- [49] 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>
- [50] Suskiewicz, M. J., Zobel, F., Ogden, T. E. H., Fontana, P., Ariza, A., Yang, J. C., Zhu, K., Bracken, L., Hawthorne, W. J., Ahel, D., Neuhaus, D., & Ahel, I. (2020). HPF1 completes the PARP active site for DNA damage-induced ADP-ribosylation. *Nature*, 579(7800), 598–602. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2013-6>
- [51] 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>
- [52] Longarini, E. J., & Matic, I. (2022). The fast-growing business of Serine ADP-ribosylation. *DNA repair*, 118, 103382. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2022.103382>
- [53] Genois, M. M., Gagné, J. P., Yasuhara, T., Jackson, J., Saxena, S., Langelier, M. F., Ahel, I., Bedford, M. T., Pascal, J. M., Vindigni, A., Poirier, G. G., & Zou, L. (2021). CARM1 regulates replication fork speed and stress response by stimulating PARP1. *Molecular cell*, 81(4), 784–800.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.12.010>
- [54] Fu, H., Liu, R., Jia, Z., Li, R., Zhu, F., Zhu, W., Shao, Y., Jin, Y., Xue, Y., Huang, J., Luo, K., Gao, X., Lu, H., & Zhou, Q. (2022). Poly(ADP-ribosylation) of P-TEFb by PARP1 disrupts phase separation to inhibit global transcription after DNA damage. *Nature cell biology*, 24(4), 513–525. <https://doi.org/10.1038/s41556-022-00872-5>

- [55] Mashimo, M., Kita, M., Nobeyama, A., Nomura, A., & Fujii, T. (2022). PARP1 is activated by membrane damage and is involved in membrane repair through poly(ADP-ribosylation). *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms*, 27(4), 305–312. <https://doi.org/10.1111/gtc.12926>
- [56] Mashimo, M., Onishi, M., Uno, A., Tanimichi, A., Nobeyama, A., Mori, M., Yamada, S., Negi, S., Bu, X., Kato, J., Moss, J., Sanada, N., Kizu, R., & Fujii, T. (2021). The 89-kDa PARP1 cleavage fragment serves as a cytoplasmic PAR carrier to induce AIF-mediated apoptosis. *The Journal of biological chemistry*, 296, 100046. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.014479>
- [57] Meza-Sosa, K. F., Miao, R., Navarro, F., Zhang, Z., Zhang, Y., Hu, J. J., Hartford, C. C. R., Li, X. L., Pedraza-Alva, G., Pérez-Martínez, L., Lal, A., Wu, H., & Lieberman, J. (2022). SPARCLE, a p53-induced lncRNA, controls apoptosis after genotoxic stress by promoting PARP-1 cleavage. *Molecular cell*, 82(4), 785–802.e10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.01.001>
- [58] Kanai, M., Tong, W. M., Sugihara, E., Wang, Z. Q., Fukasawa, K., & Miwa, M. (2003). Involvement of poly(ADP-Ribose) polymerase 1 and poly(ADP-Ribosylation) in regulation of centrosome function. *Molecular and cellular biology*, 23(7), 2451–2462. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2451-2462.2003>
- [59] Halappanavar, S. S., & Shah, G. M. (2004). Defective control of mitotic and post-mitotic checkpoints in poly(ADP-ribose) polymerase-1(-/-) fibroblasts after mitotic spindle disruption. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 3(3), 335–342.
- [60] Gomez, M., Wu, J., Schreiber, V., Dunlap, J., Dantzer, F., Wang, Y., & Liu, Y. (2006). PARP1 Is a TRF2-associated poly(ADP-ribose)polymerase and protects eroded telomeres. *Molecular biology of the cell*, 17(4), 1686–1696. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-07-0672>
- [61] 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>
- [62] Gaullier, G., Roberts, G., Muthurajan, U. M., Bowerman, S., Rudolph, J., Mahadevan, J., Jha, A., Rae, P. S., & Luger, K. (2020). Bridging of nucleosome-proximal DNA double-strand breaks by PARP2 enhances its interaction with HPF1. *PloS one*, 15(11), e0240932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240932>

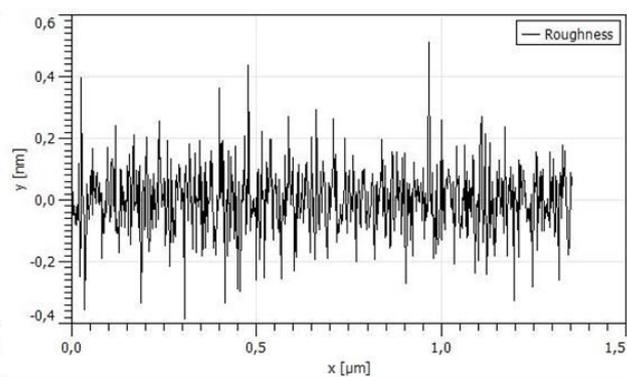
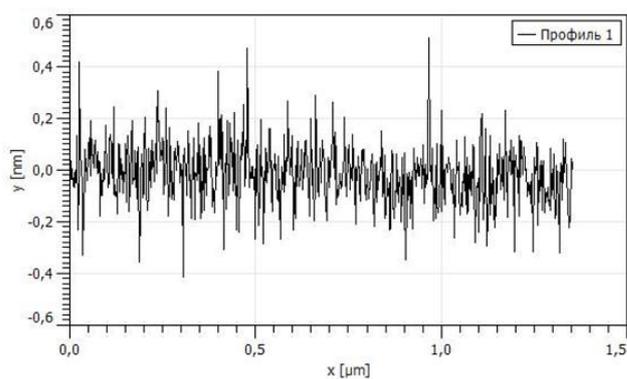
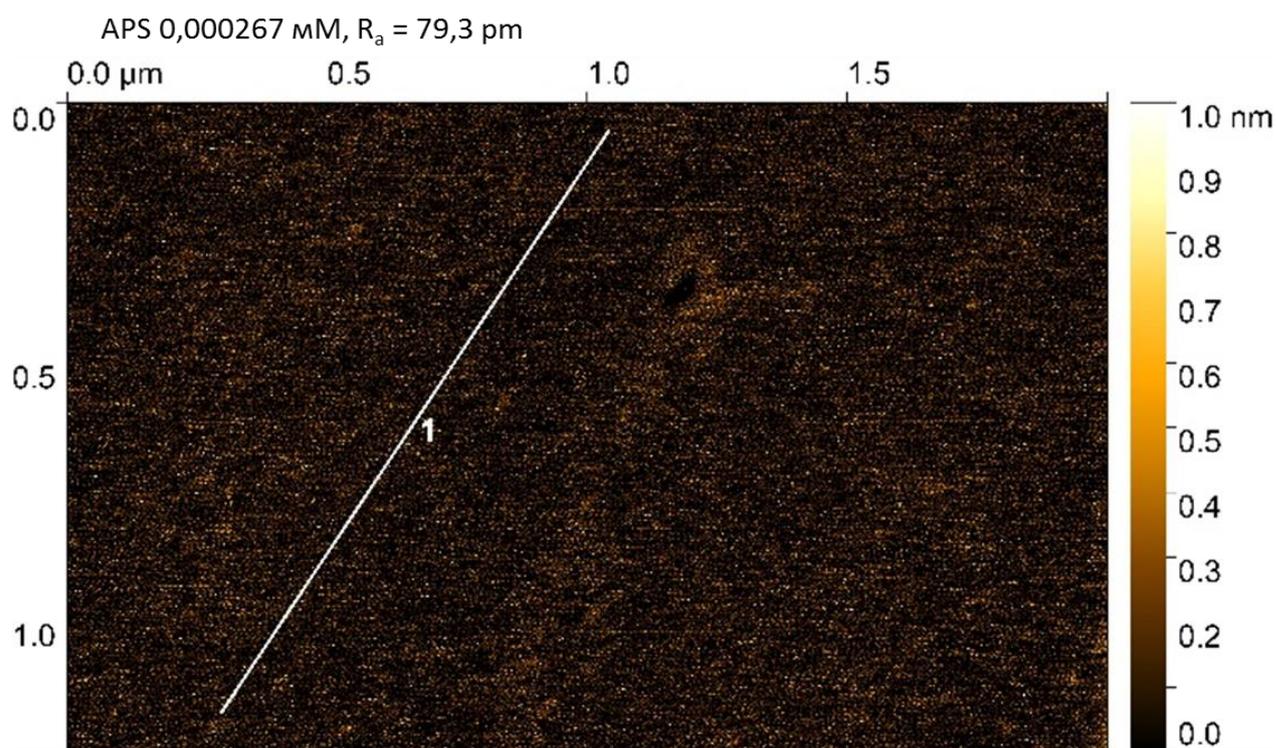
- [63] Ménissier de Murcia, J., Ricoul, M., Tartier, L., Niedergang, C., Huber, A., Dantzer, F., Schreiber, V., Amé, J. C., Dierich, A., LeMeur, M., Sabatier, L., Chambon, P., & de Murcia, G. (2003). Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse. *The EMBO journal*, 22(9), 2255–2263. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg206>
- [64] Dantzer, F., Mark, M., Quenet, D., Scherthan, H., Huber, A., Liebe, B., Monaco, L., Chicheportiche, A., Sassone-Corsi, P., de Murcia, G., & Ménissier-de Murcia, J. (2006). Poly(ADP-ribose) polymerase-2 contributes to the fidelity of male meiosis I and spermiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(40), 14854–14859. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604252103>
- [65] Grundy, G. J., Polo, L. M., Zeng, Z., Rulten, S. L., Hoch, N. C., Paomephan, P., Xu, Y., Sweet, S. M., Thorne, A. W., Oliver, A. W., Matthews, S. J., Pearl, L. H., & Caldecott, K. W. (2016). PARP3 is a sensor of nicked nucleosomes and monoribosylates histone H2B(Glu2). *Nature communications*, 7, 12404. <https://doi.org/10.1038/ncomms12404>
- [66] 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>
- [67] Boehler, C., Gauthier, L. R., Mortusewicz, O., Biard, D. S., Saliou, J. M., Bresson, A., Sanglier-Cianferani, S., Smith, S., Schreiber, V., Boussin, F., & Dantzer, F. (2011). Poly(ADP-ribose) polymerase 3 (PARP3), a newcomer in cellular response to DNA damage and mitotic progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(7), 2783–2788. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016574108>
- [68] Lindsay, S. M., Nagahara, L. A., Thundat, T., Knipping, U., Rill, R. L., Drake, B., Prater, C. B., Weisenhorn, A. L., Gould, S. A., & Hansma, P. K. (1989). STM and AFM images of nucleosome DNA under water. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 7(2), 279–287. <https://doi.org/10.1080/07391102.1989.10507771>
- [69] Liu, Z., Li, Z., Zhou, H., Wei, G., Song, Y., & Wang, L. (2005). Imaging DNA molecules on mica surface by atomic force microscopy in air and in liquid. *Microscopy research and technique*, 66(4), 179–185. <https://doi.org/10.1002/jemt.20156>
- [70] Lyubchenko Y. L. (2014). Nanoscale Nucleosome Dynamics Assessed with Time-lapse AFM. *Biophysical reviews*, 6(2), 181–190. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0121-3>
- [71] Konrad, S. F., Vanderlinden, W., & Lipfert, J. (2022). Quantifying epigenetic modulation of nucleosome breathing by high-throughput AFM imaging. *Biophysical journal*, 121(5), 841–851. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2022.01.014>

- [72] Medalia, O., Englander, J., Guckenberger, R., & Sperling, J. (2001). AFM imaging in solution of protein-DNA complexes formed on DNA anchored to a gold surface. *Ultramicroscopy*, 90(2-3), 103–112. [https://doi.org/10.1016/s0304-3991\(01\)00141-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3991(01)00141-3)
- [73] Cordeiro, A. L., Zschoche, S., Janke, A., Nitschke, M., & Werner, C. (2009). Functionalization of poly(dimethylsiloxane) surfaces with maleic anhydride copolymer films. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 25(3), 1509–1517. <https://doi.org/10.1021/la803054s>
- [74] Protopopova, A. D., Barinov, N. A., Zavyalova, E. G., Kopylov, A. M., Sergienko, V. I., & Klinov, D. V. (2015). Visualization of fibrinogen α C regions and their arrangement during fibrin network formation by high-resolution AFM. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 13(4), 570–579. <https://doi.org/10.1111/jth.12785>
- [75] Rahman, M., Boggs, Z., Neff, D., & Norton, M. (2018). The Sapphire (0001) Surface: A Transparent and Ultraflat Substrate for DNA Nanostructure Imaging. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 34(49), 15014–15020. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01851>
- [76] Rahman, M., Neff, D., Green, N., & Norton, M. L. (2016). DNA Origami Reorganizes upon Interaction with Graphite: Implications for High-Resolution DNA Directed Protein Patterning. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 6(11), 196. <https://doi.org/10.3390/nano6110196>
- [77] Barinov, N. A., Prokhorov, V. V., Dubrovin, E. V., & Klinov, D. V. (2016). AFM visualization at a single-molecule level of denaturated states of proteins on graphite. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 146, 777–784. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.07.014>
- [78] Klinov, D. V., Dubrovin, E. V., & Yaminsky, I. V. (2003, December). Scanning probe microscopy of DNA on mica and graphite. In *AIP Conference Proceedings (Vol. 696, No. 1, pp. 452-456)*. American Institute of Physics.
- [79] Klinov, D. V., Protopopova, A. D., Andrianov, D. S., Litvinov, R. I., & Weisel, J. W. (2020). An Improved Substrate for Superior Imaging of Individual Biomacromolecules with Atomic Force Microscopy. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 196, 111321. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111321>
- [80] Maslova, M.V., Gerasimova, L.G. & Forsling, W. Surface Properties of Cleaved Mica. *Colloid Journal* 66, 322–328 (2004). <https://doi.org/10.1023/B:COLL.0000030843.30563.c9>
- [81] Christenson H.K., Thomson N.H. The nature of the air-cleaved mica surface, *Surface Science Reports*, Volume 71, Issue 2, 2016, Pages 367-390, ISSN 0167-5729, <https://doi.org/10.1016/j.surfrep.2016.03.001>
- [82] Sorel, I., Piétrement, O., Hamon, L., Baconnais, S., Cam, E. L., & Pastré, D. (2006). The EcoRI-DNA complex as a model for investigating protein-DNA interactions by atomic force microscopy. *Biochemistry*, 45(49), 14675–14682. <https://doi.org/10.1021/bi060293u>

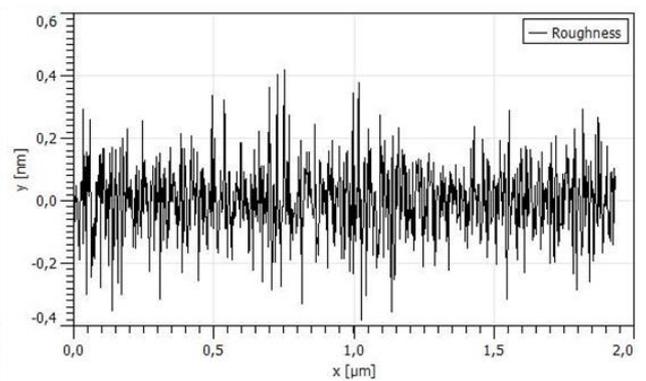
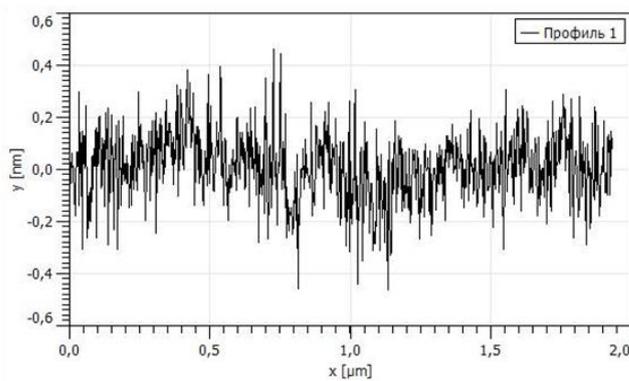
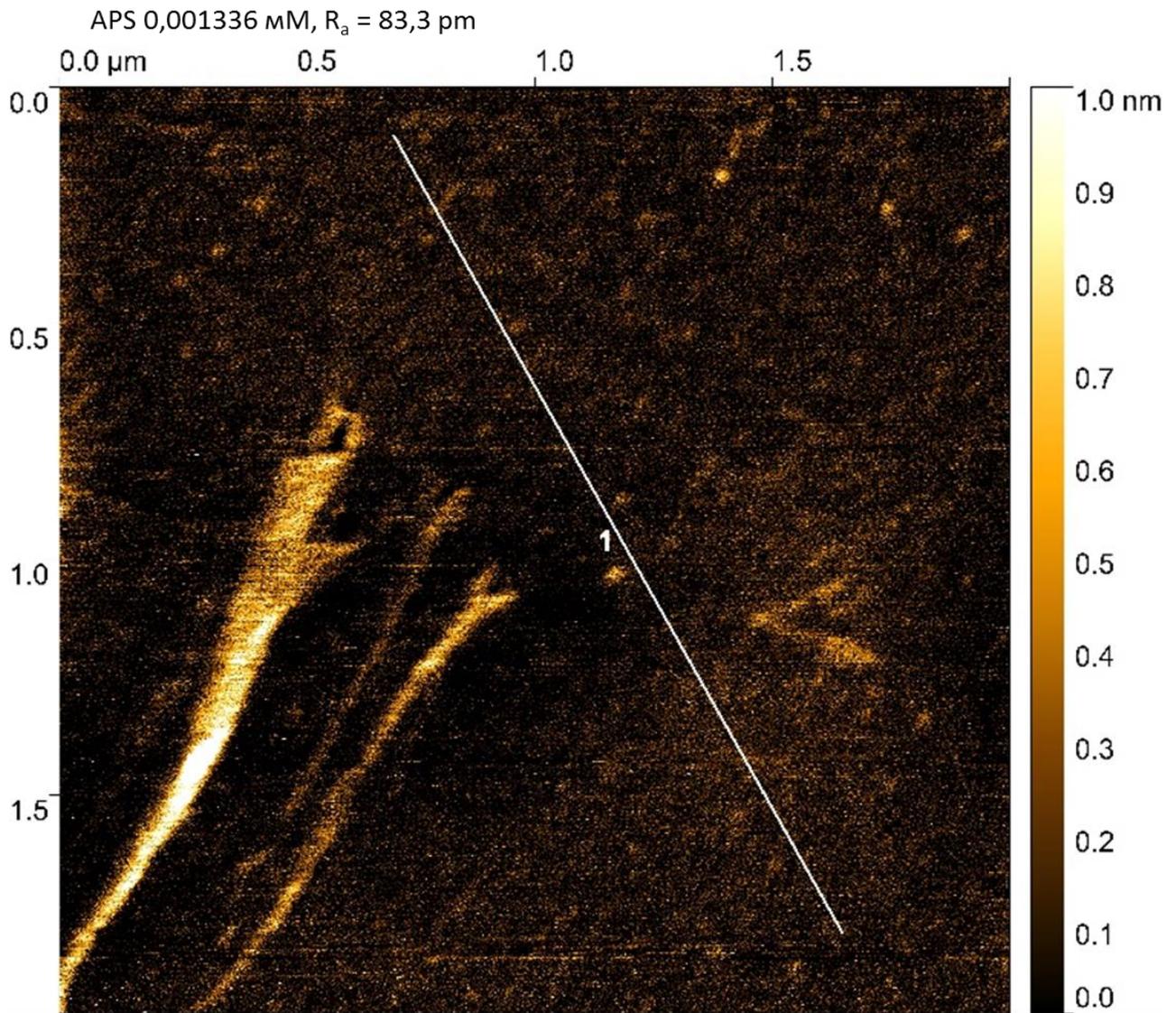
- [83] Kun, E., Kirsten, E., Mendeleyev, J., & Ordahl, C. P. (2004). Regulation of the enzymatic catalysis of poly(ADP-ribose) polymerase by dsDNA, polyamines, Mg²⁺, Ca²⁺, histones H1 and H3, and ATP. *Biochemistry*, 43(1), 210–216. <https://doi.org/10.1021/bi0301791>
- [84] Hansma, H. G., & Laney, D. E. (1996). DNA binding to mica correlates with cationic radius: assay by atomic force microscopy. *Biophysical journal*, 70(4), 1933–1939. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79757-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79757-6)
- [85] Horňáková, V., Příbyl, J., & Skládal, P. (2016). Study of DNA immobilization on mica surface by atomic force microscopy. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 147, 865-871. <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1695-9>
- [86] Conwell, C. C., & Hud, N. V. (2003). MgCl₂ enhances cluster formation by nanoscale toroidal DNA condensates. *Journal of Cluster Science*, 14, 115-122. <https://doi.org/10.1023/A:1024837520146>
- [87] Pyne, A. L., & Hoogenboom, B. W. (2016). Imaging DNA Structure by Atomic Force Microscopy. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1431, 47–60. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3631-1_5
- [88] Fan, Y., Korolev, N., Lyubartsev, A. P., & Nordenskiöld, L. (2013). An advanced coarse-grained nucleosome core particle model for computer simulations of nucleosome-nucleosome interactions under varying ionic conditions. *PloS one*, 8(2), e54228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054228>
- [89] Konrad, S. F., Vanderlinden, W., & Lipfert, J. (2021). A High-throughput Pipeline to Determine DNA and Nucleosome Conformations by AFM Imaging. *Bio-protocol*, 11(19), e4180. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.4180>
- [90] Lyubchenko, Y. L., Gall, A. A., Shlyakhtenko, L. S., Harrington, R. E., Jacobs, B. L., Oden, P. I., & Lindsay, S. M. (1992). Atomic force microscopy imaging of double stranded DNA and RNA. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 10(3), 589–606. <https://doi.org/10.1080/07391102.1992.10508670>
- [91] Valle, F., Favre, M., De Los Rios, P., Rosa, A., & Dietler, G. (2005). Scaling exponents and probability distributions of DNA end-to-end distance. *Physical review letters*, 95(15), 158105. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.95.158105>
- [92] Lindsay, S. M., Lyubchenko, Y. L., Gall, A. S., Shlyakhtenko, L. S., & Harrington, R. E. (1992, May). Imaging DNA molecules chemically bound to a mica surface. In *Scanning Probe Microscopies* (Vol. 1639, pp. 84-90). SPIE.
- [93] Shlyakhtenko, L. S., Gall, A. A., Weimer, J. J., Hawn, D. D., & Lyubchenko, Y. L. (1999). Atomic force microscopy imaging of DNA covalently immobilized on a functionalized mica substrate. *Biophysical journal*, 77(1), 568–576. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76913-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76913-4)

- [94] Shlyakhtenko, L. S., Gall, A. A., Filonov, A., Cerovac, Z., Lushnikov, A., & Lyubchenko, Y. L. (2003). Silatrane-based surface chemistry for immobilization of DNA, protein-DNA complexes and other biological materials. *Ultramicroscopy*, 97(1-4), 279–287. [https://doi.org/10.1016/S0304-3991\(03\)00053-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3991(03)00053-6)
- [95] Shlyakhtenko, L. S., Gall, A. A., & Lyubchenko, Y. L. (2013). Mica functionalization for imaging of DNA and protein-DNA complexes with atomic force microscopy. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 931, 295–312. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-056-4_14
- [96] Martin, L. D., Vesenka, J. P., Henderson, E., & Dobbs, D. L. (1995). Visualization of nucleosomal substructure in native chromatin by atomic force microscopy. *Biochemistry*, 34(14), 4610–4616. <https://doi.org/10.1021/bi00014a014>
- [97] Boi, F. S., Shuai, G., Wen, J., & Wang, S. (2020). Unusual Moiré superlattices in exfoliated μm -thin HOPG lamellae: An angular-diffraction study. *Diamond and Related Materials*, 108, 10792, <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2020.107920>
- [98] Miyagi, A., Ando, T., & Lyubchenko, Y. L. (2011). Dynamics of nucleosomes assessed with time-lapse high-speed atomic force microscopy. *Biochemistry*, 50(37), 7901–7908. <https://doi.org/10.1021/bi200946z>
- [99] Stormberg, T., Filliaux, S., Baughman, H. E. R., Komives, E. A., & Lyubchenko, Y. L. (2021). Transcription factor NF- κ B unravels nucleosomes. *Biochimica et biophysica acta. General subjects*, 1865(9), 129934. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129934>
- [100] Lowary, P. T., & Widom, J. (1998). New DNA sequence rules for high affinity binding to histone octamer and sequence-directed nucleosome positioning. *Journal of molecular biology*, 276(1), 19–42. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1494>
- [101] Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Isolation of DNA Fragments from Polyacrylamide Gels by the Crush and Soak Method. *Cold Spring Harbor protocols*, 2019(2), 10.1101/pdb.prot100479. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot100479>
- [102] Kutuzov, M. M., Kurgina, T. A., Belousova, E. A., Khodyreva, S. N., & Lavrik, O. I. (2019). Optimization of nucleosome assembly from histones and model DNAs and estimation of the reconstitution efficiency. *Biopolymers and Cell*.
- [103] Peterson, C. L., & Hansen, J. C. (2008). Chicken erythrocyte histone octamer preparation. *CSH protocols*, 2008, pdb.prot5112. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5112>
- [104] Amé, J. C., Kalisch, T., Dantzer, F., & Schreiber, V. (2011). Purification of recombinant poly(ADP-ribose) polymerases. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 780, 135–152. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-270-0_9
- [105] Kutuzov, M. M., Belousova, E. A., Kurgina, T. A., Ukraintsev, A. A., Vasil'eva, I. A., Khodyreva, S. N., & Lavrik, O. I. (2021). The contribution of PARP1, PARP2 and poly(ADP-

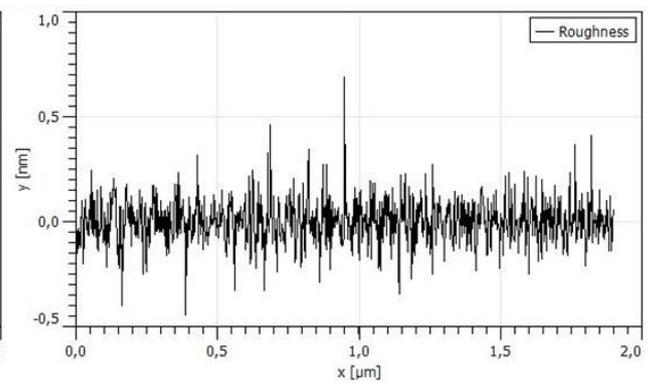
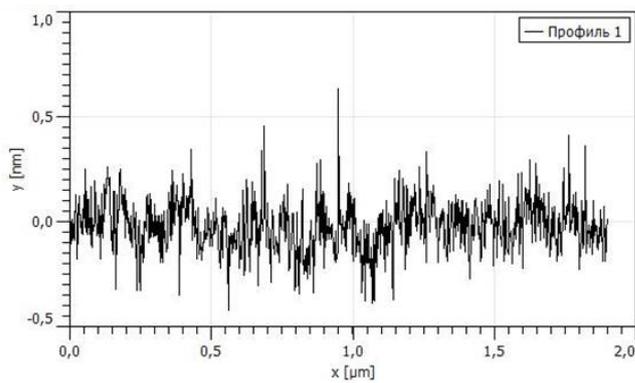
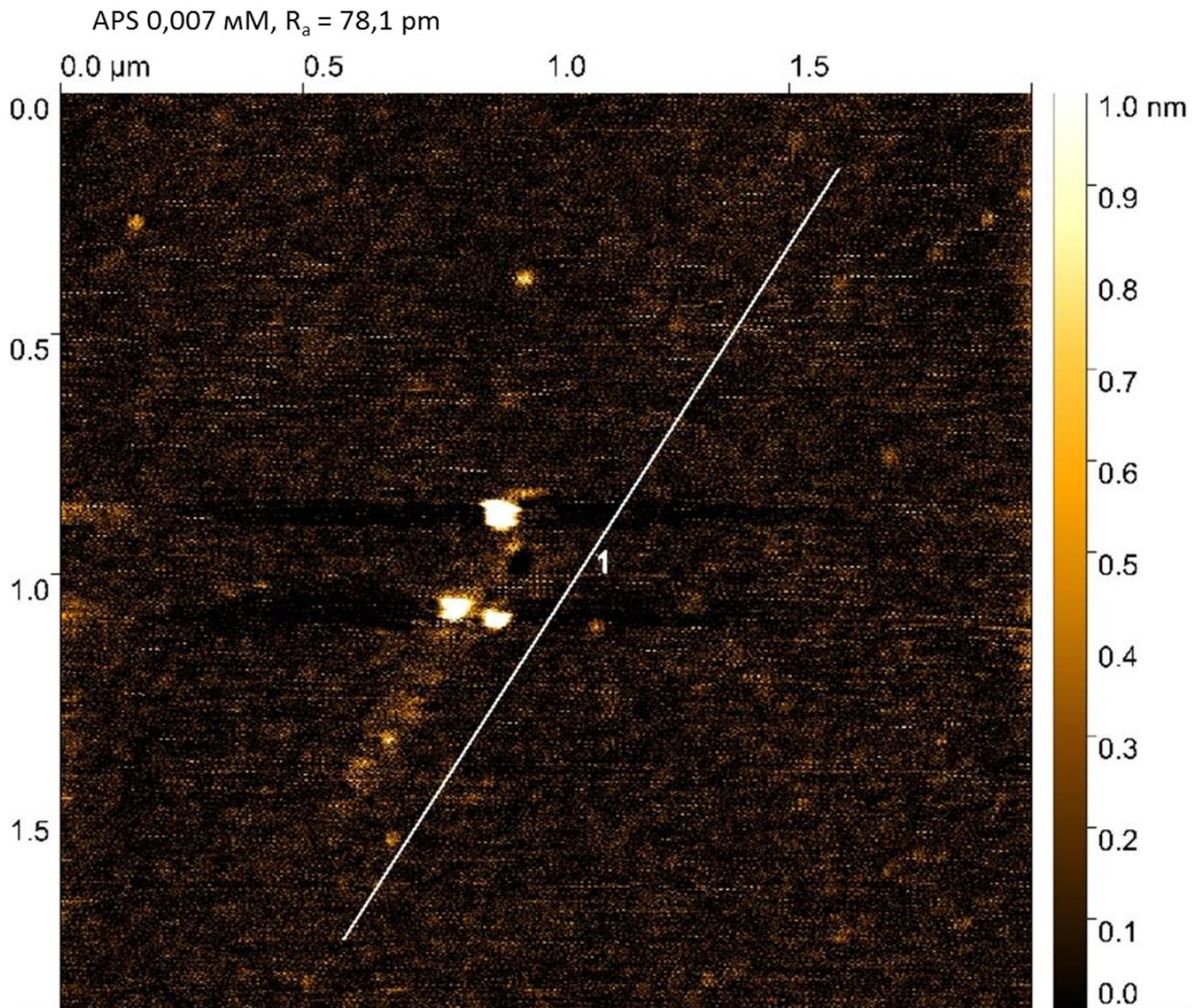
- ribosyl)ation to base excision repair in the nucleosomal context. *Scientific reports*, 11(1), 4849. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84351-1>
- [106] Ukraintsev, A. A., Belousova, E. A., Kutuzov, M. M., & Lavrik, O. I. (2022). Study of Interaction of the PARP Family DNA-Dependent Proteins with Nucleosomes Containing DNA Intermediates of the Initial Stages of BER Process. *Biochemistry. Biokhimiia*, 87(4), 331–345. <https://doi.org/10.1134/S0006297922040034>
- [107] 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. *The Journal of biological chemistry*, 287(39), 32430–32439. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.397067>
- [108] Stumme-Diers, M. P., Banerjee, S., Hashemi, M., Sun, Z., & Lyubchenko, Y. L. (2018). Nanoscale dynamics of centromere nucleosomes and the critical roles of CENP-A. *Nucleic acids research*, 46(1), 94–103. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx933>
- [109] Würtz, M., Aumiller, D., Gundelwein, L., Jung, P., Schütz, C., Lehmann, K., Tóth, K., & Rohr, K. (2019). DNA accessibility of chromosomes quantified by automated image analysis of AFM data. *Scientific reports*, 9(1), 12788. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49163-4>
- [110] Francis, N. J., Kingston, R. E., & Woodcock, C. L. (2004). Chromatin compaction by a polycomb group protein complex. *Science (New York, N.Y.)*, 306(5701), 1574–1577. <https://doi.org/10.1126/science.1100576>
- [111] Bell, N. A. W., Haynes, P. J., Brunner, K., de Oliveira, T. M., Flocco, M. M., Hoogenboom, B. W., & Molloy, J. E. (2021). Single-molecule measurements reveal that PARP1 condenses DNA by loop stabilization. *Science advances*, 7(33), eabf3641. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abf3641>
- [112] Muthurajan, U. M., McBryant, S. J., Lu, X., Hansen, J. C., & Luger, K. (2011). The linker region of macroH2A promotes self-association of nucleosomal arrays. *The Journal of biological chemistry*, 286(27), 23852–23864. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.244871>
- [113] Rogge, R. A., Kalashnikova, A. A., Muthurajan, U. M., Porter-Goff, M. E., Luger, K., & Hansen, J. C. (2013). Assembly of nucleosomal arrays from recombinant core histones and nucleosome positioning DNA. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (79), 50354. <https://doi.org/10.3791/50354>
- [114] McCauley, M. J., Huo, R., Becker, N., Holte, M. N., Muthurajan, U. M., Rouzina, I., Luger, K., Maher, L. J., 3rd, Israeloff, N. E., & Williams, M. C. (2019). Single and double box HMGB proteins differentially destabilize nucleosomes. *Nucleic acids research*, 47(2), 666–678. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1119>



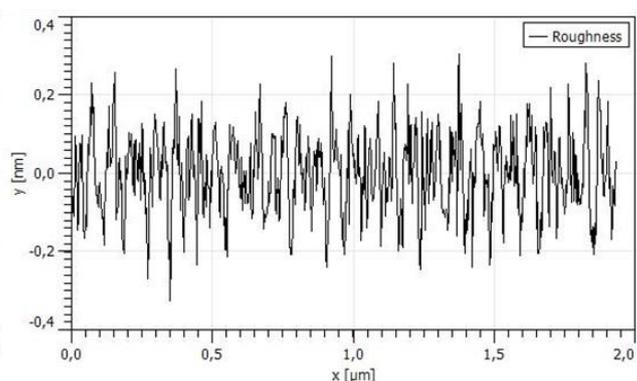
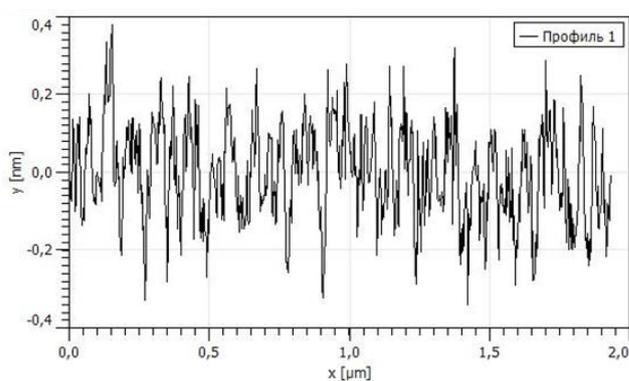
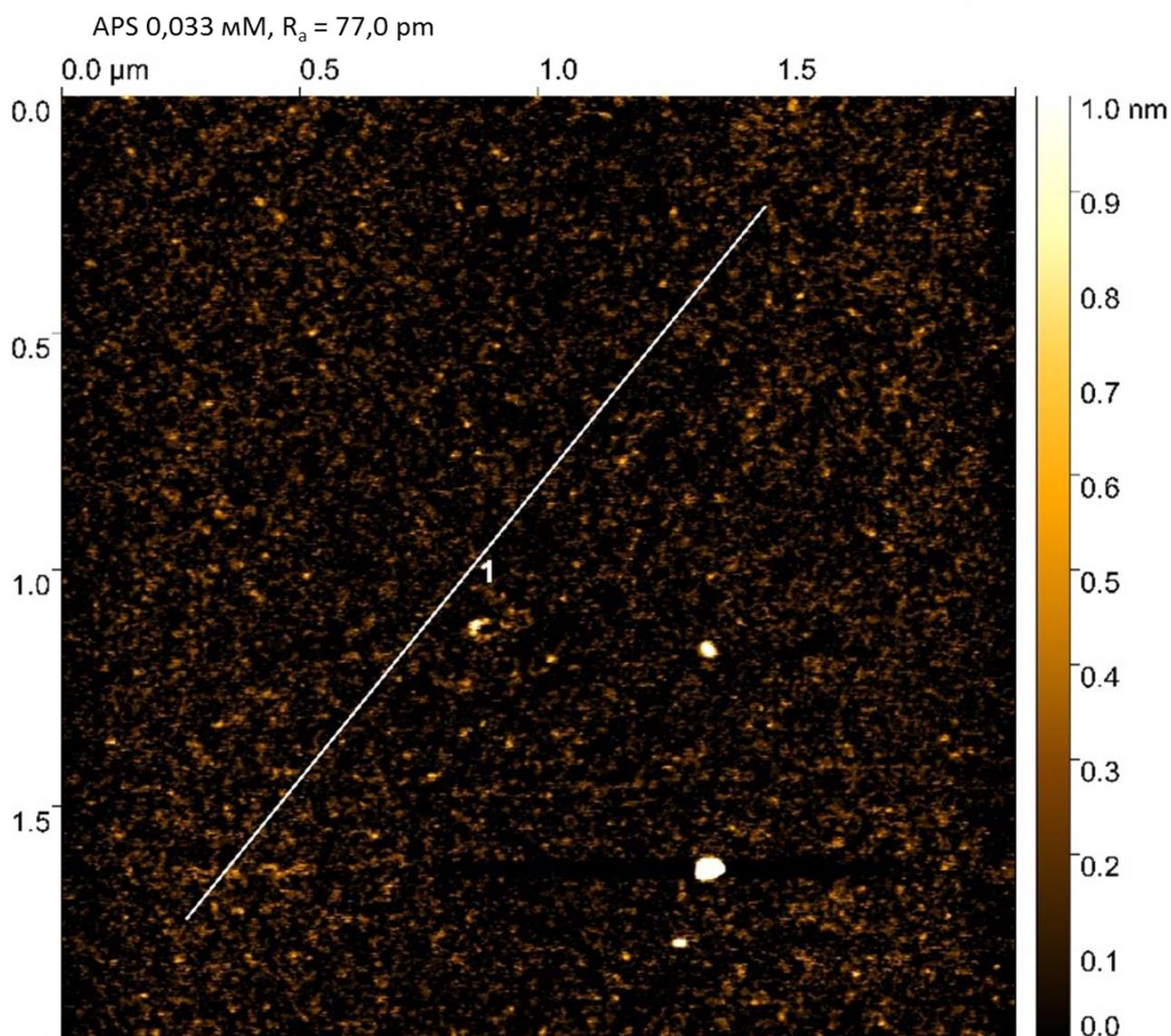
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,000267 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



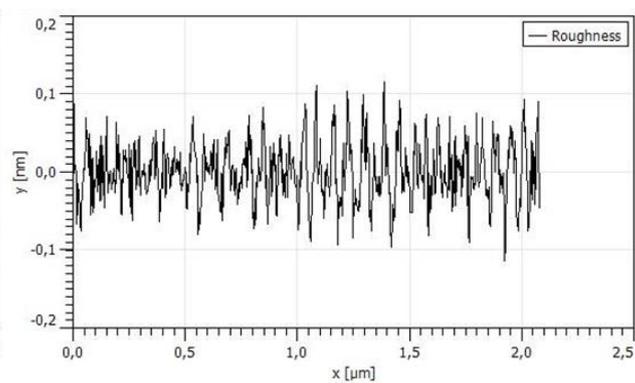
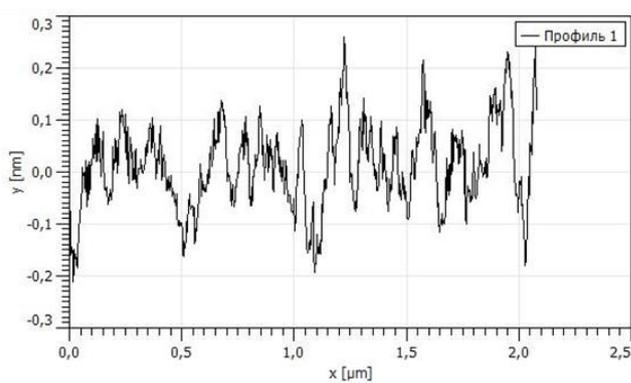
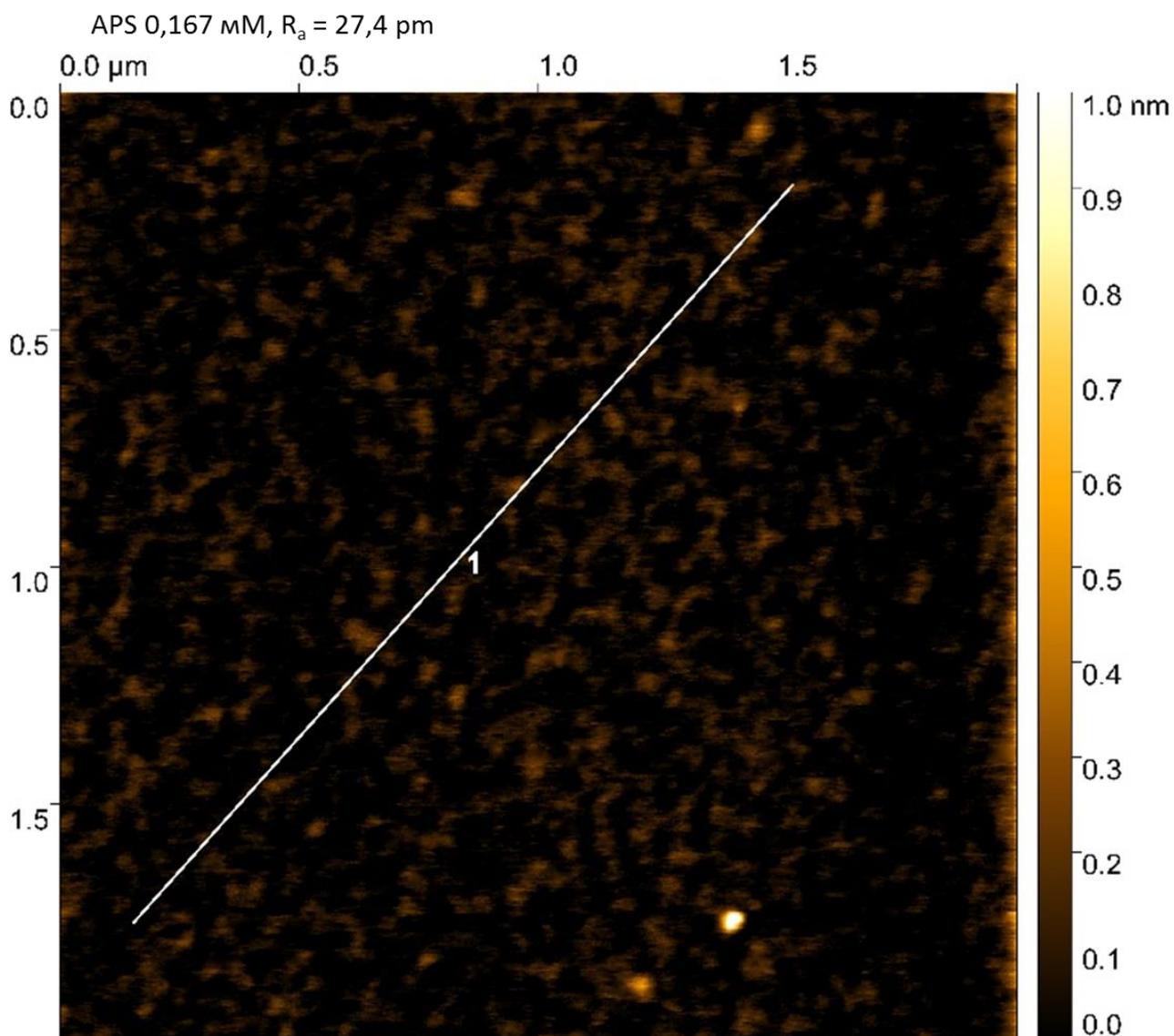
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,001336 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



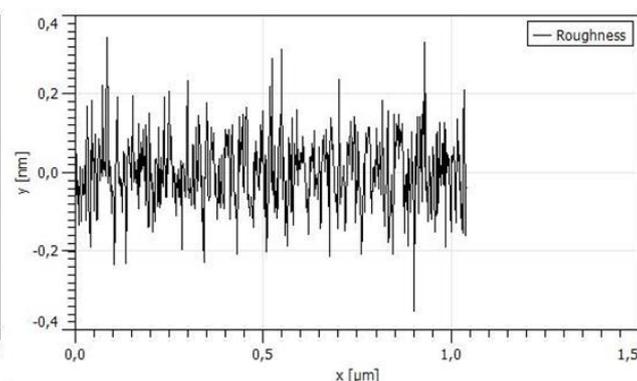
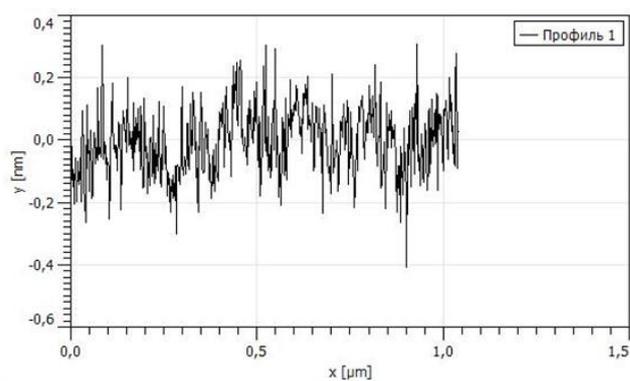
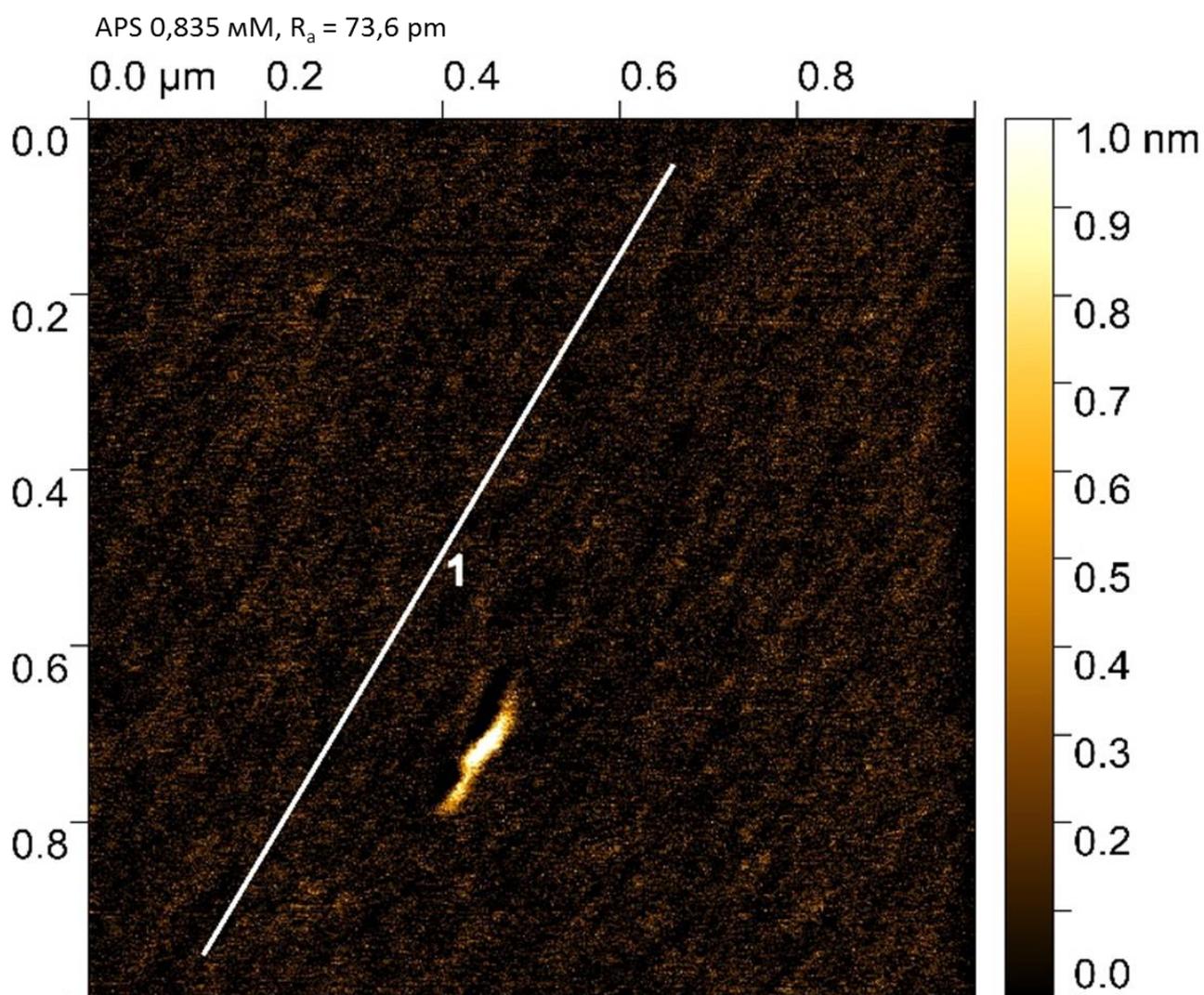
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,007 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



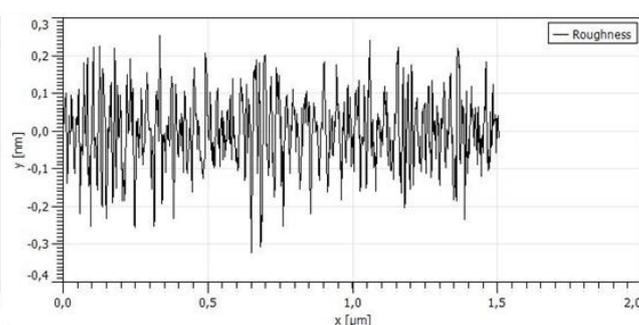
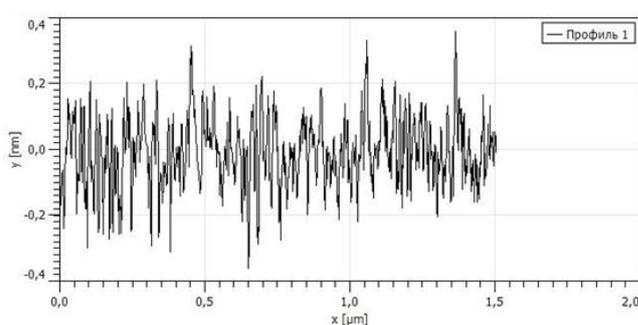
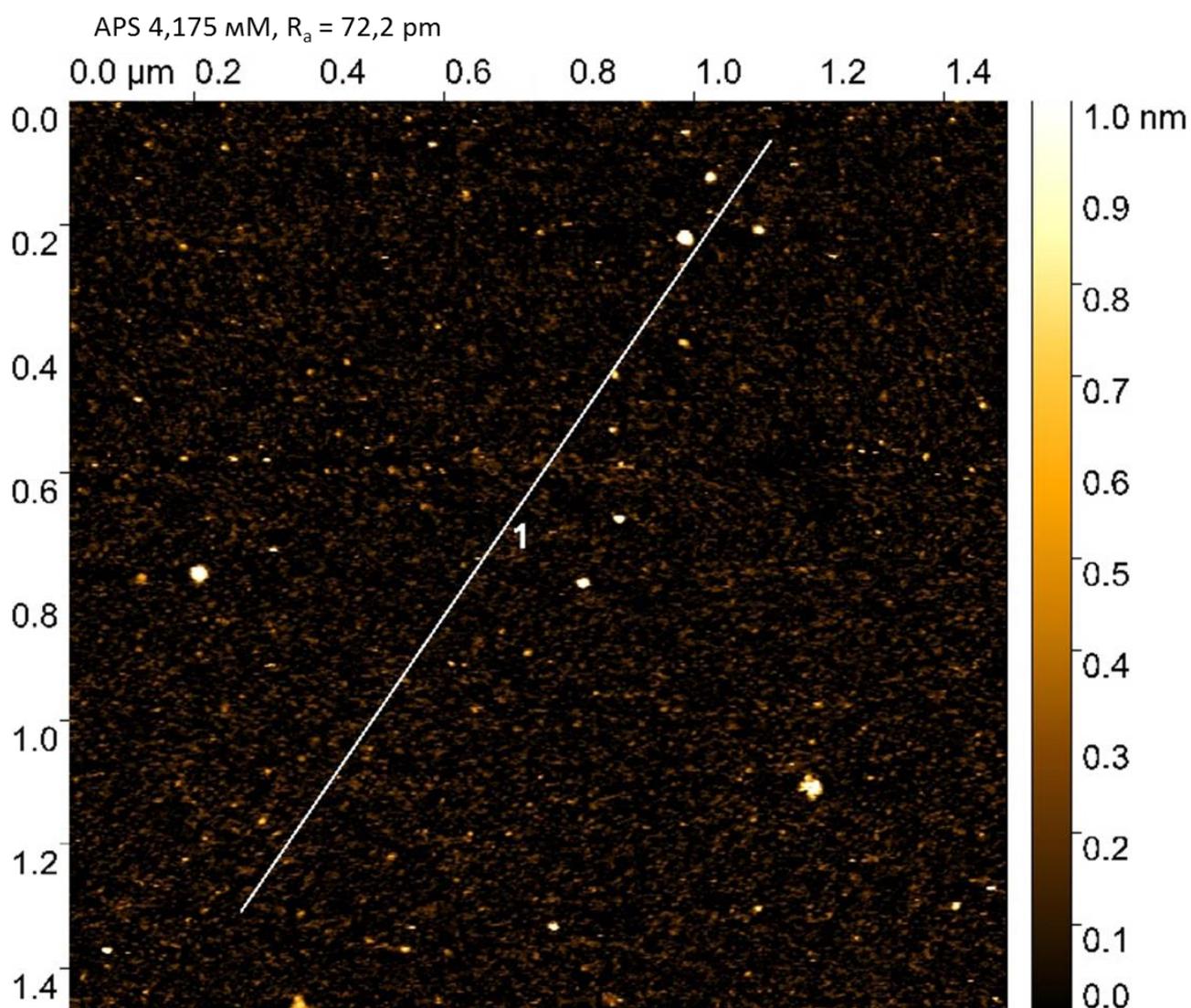
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,033 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



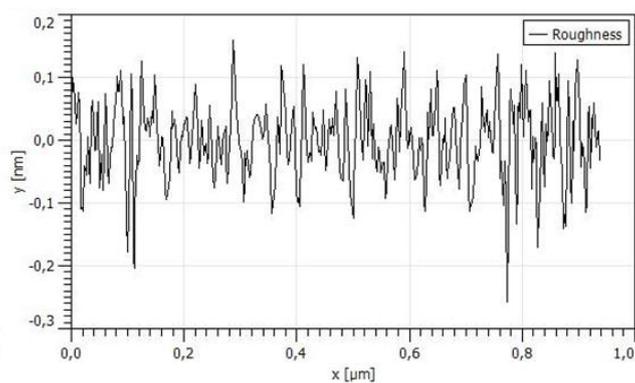
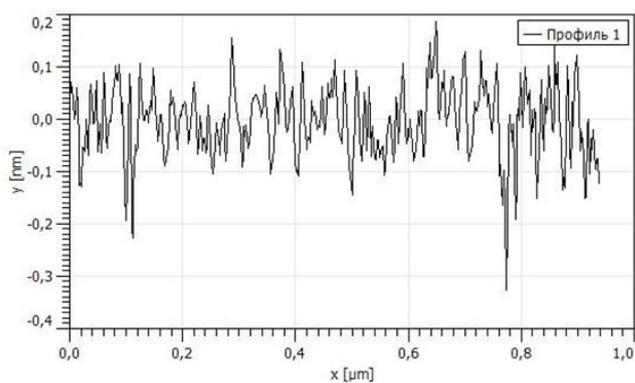
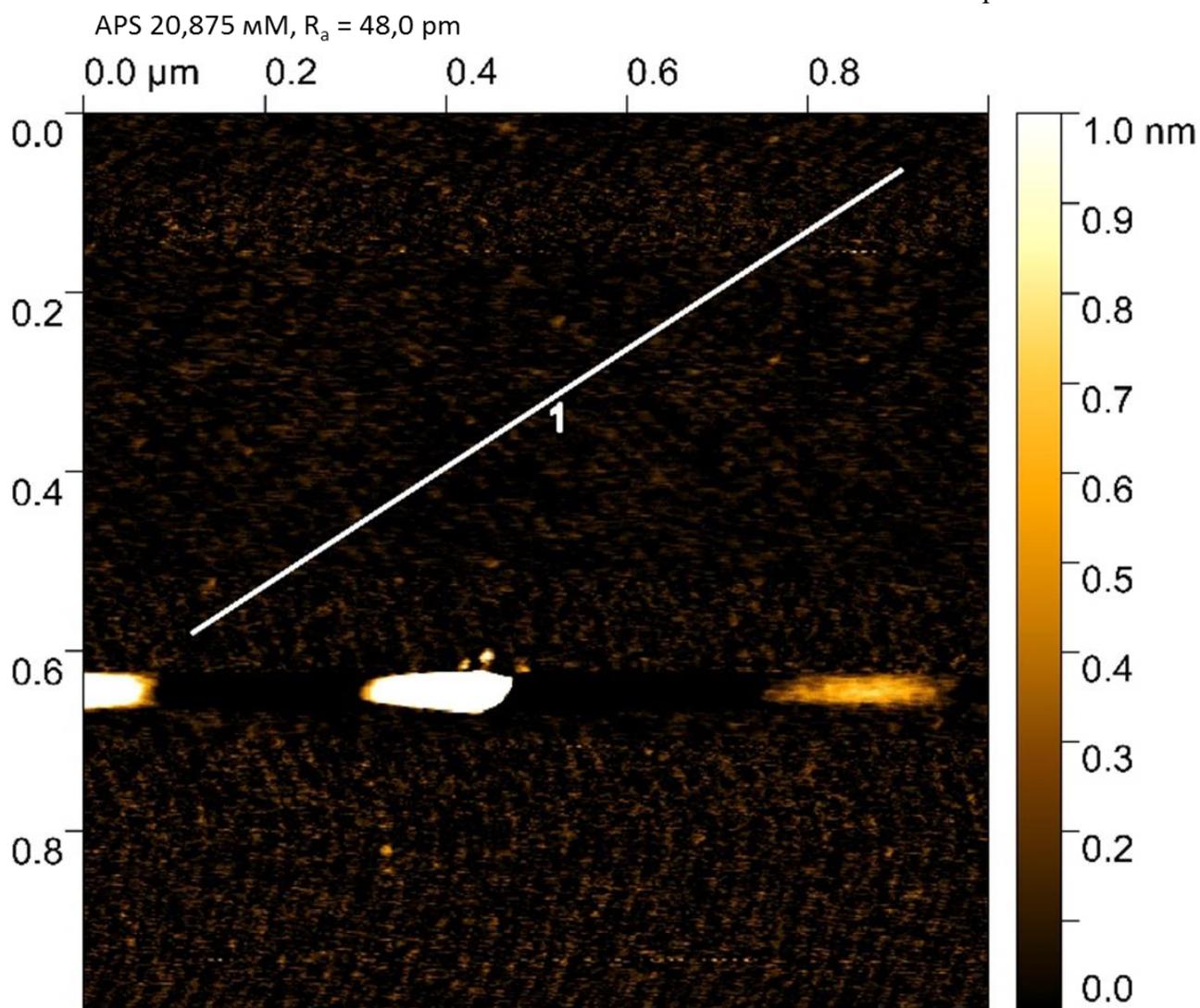
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,167 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



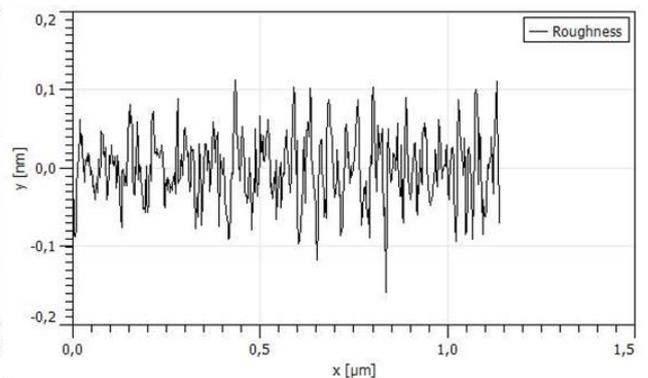
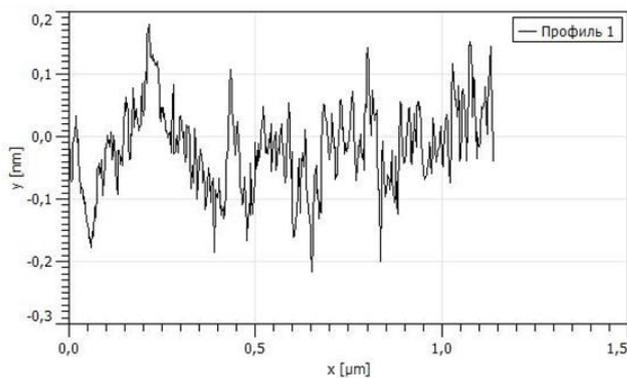
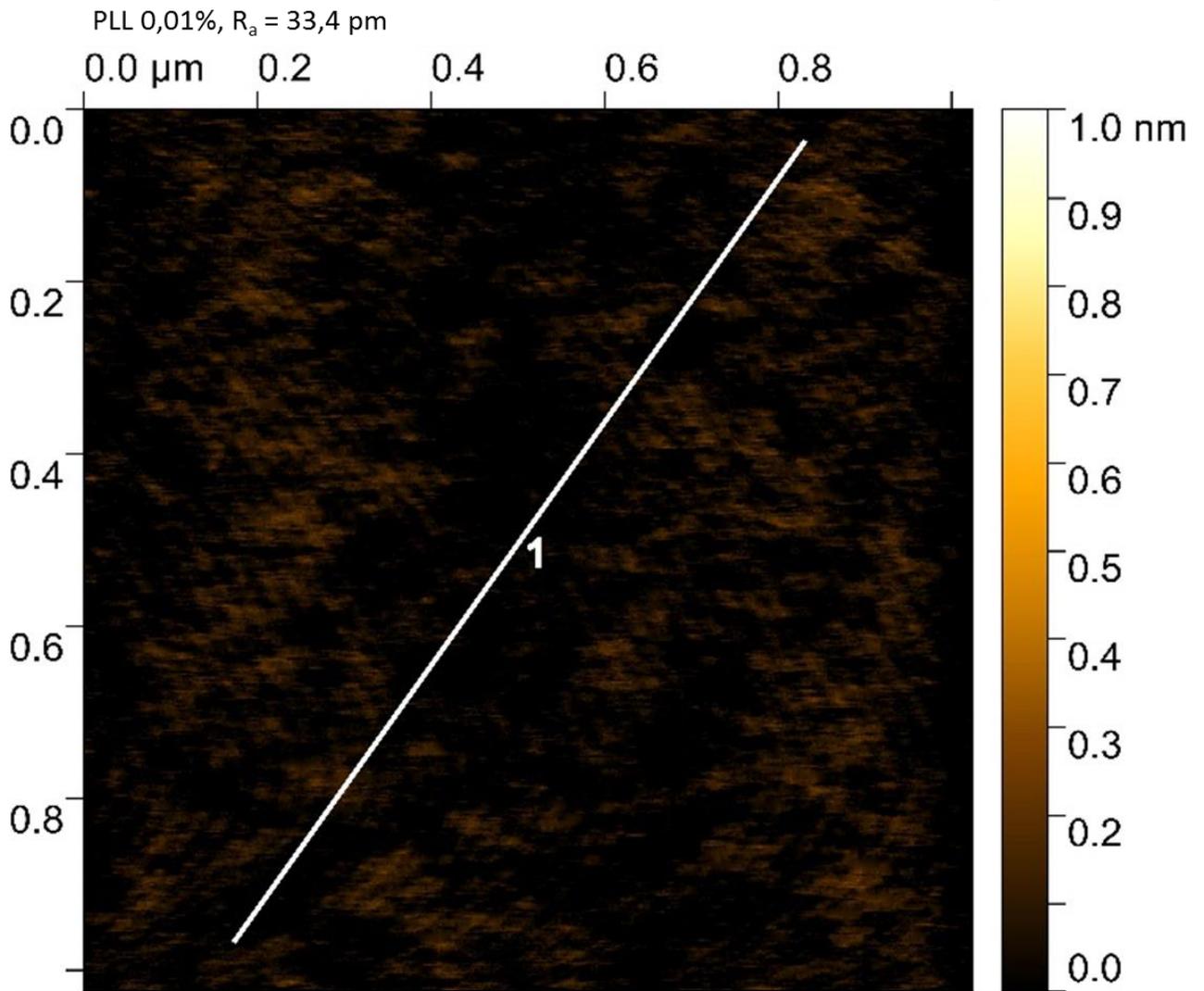
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,835 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



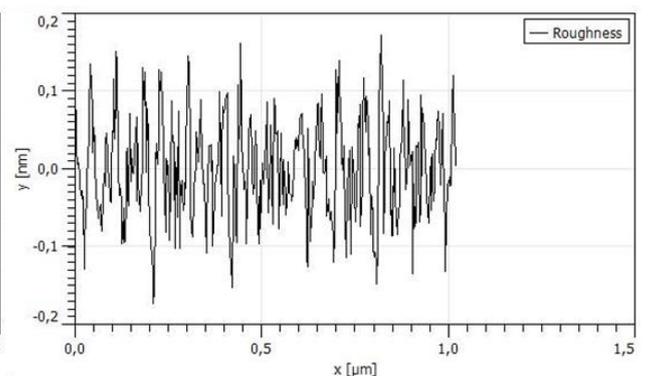
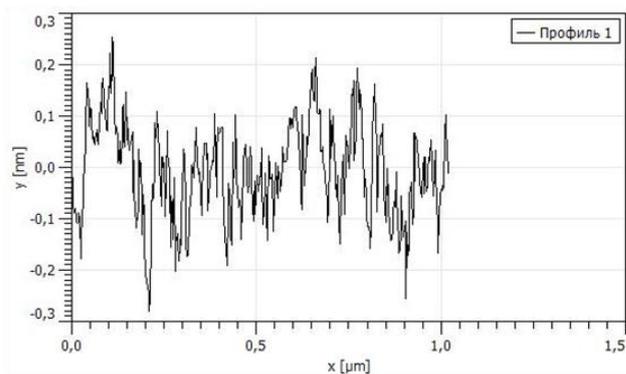
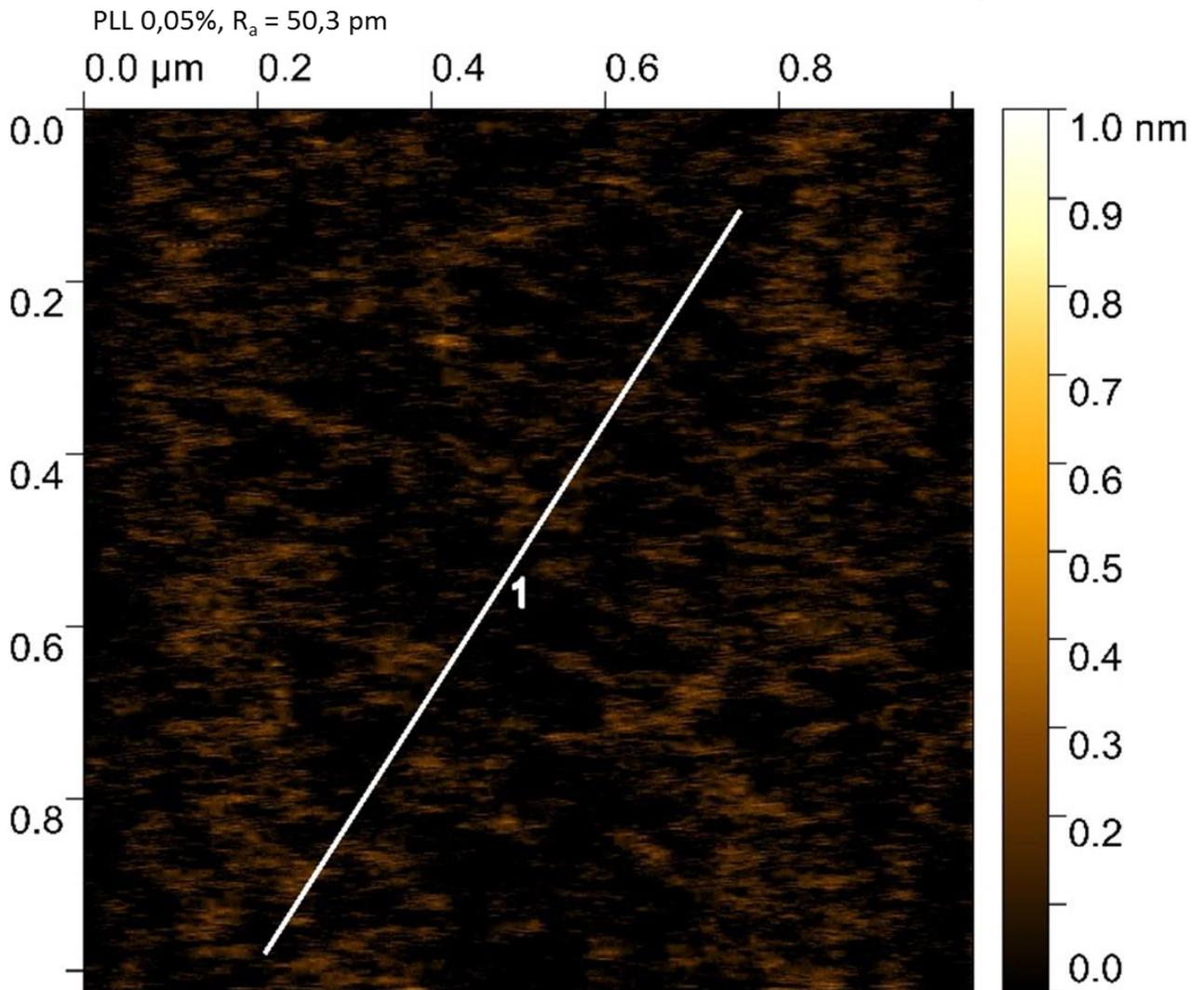
Характеристика поверхности слюды модифицированной 4,175 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



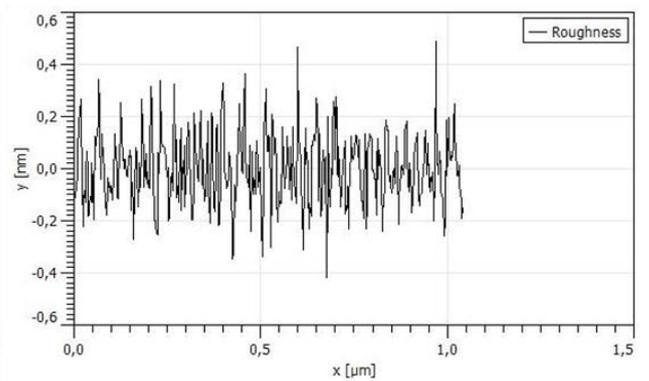
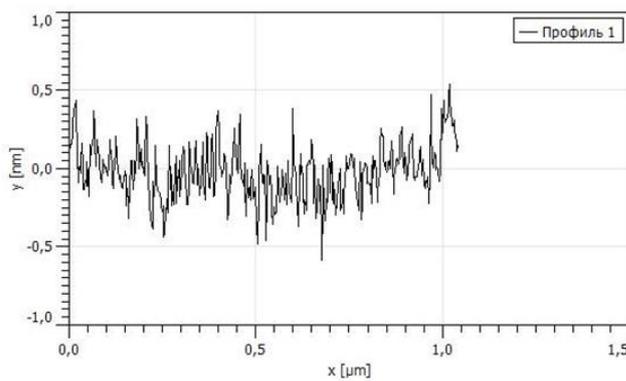
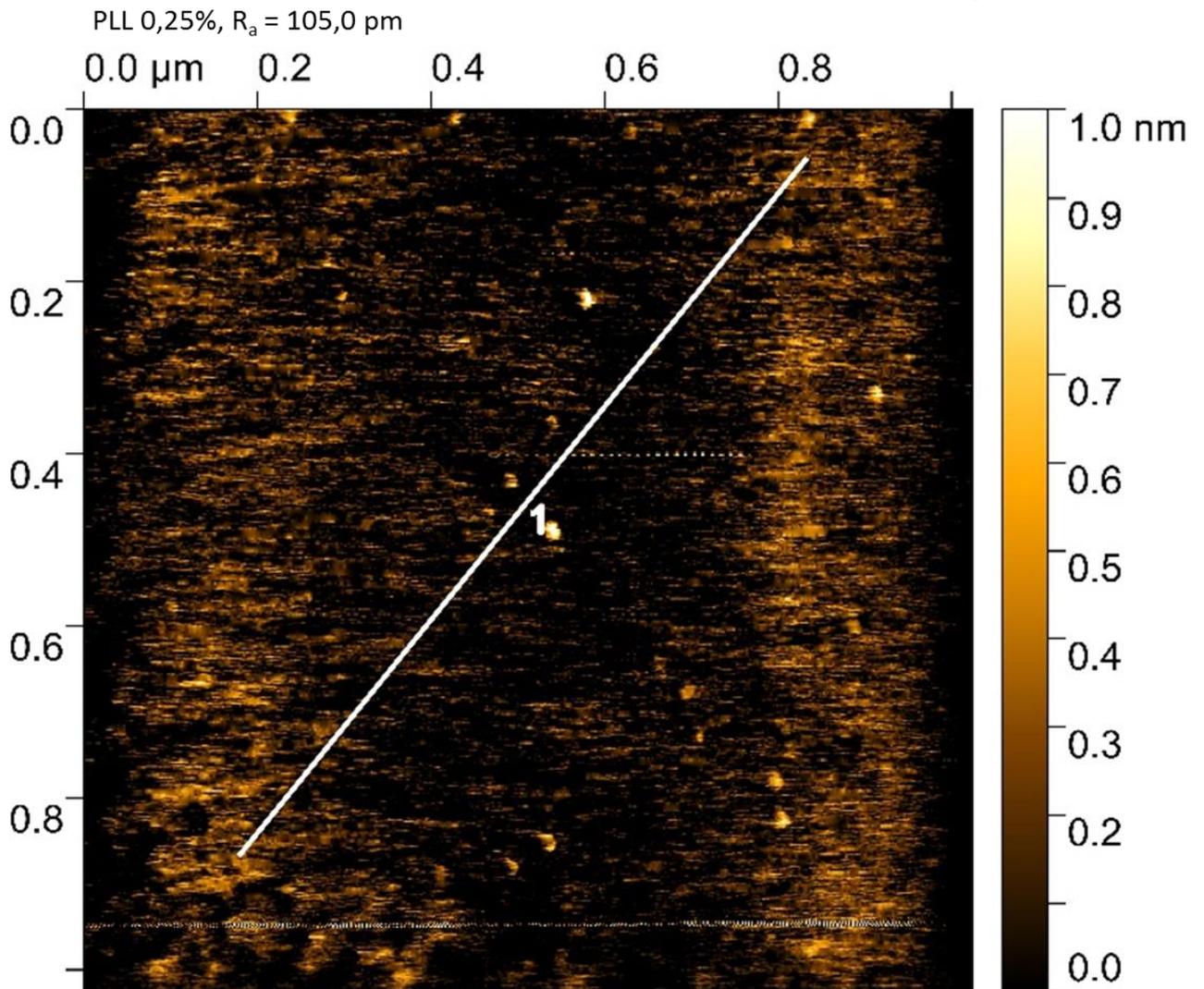
Характеристика поверхности слюды модифицированной 20,875 мМ APS. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



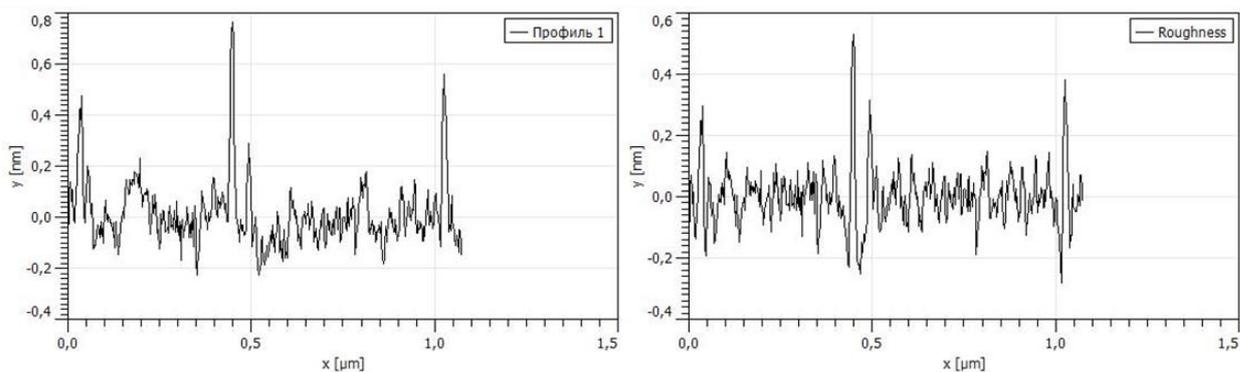
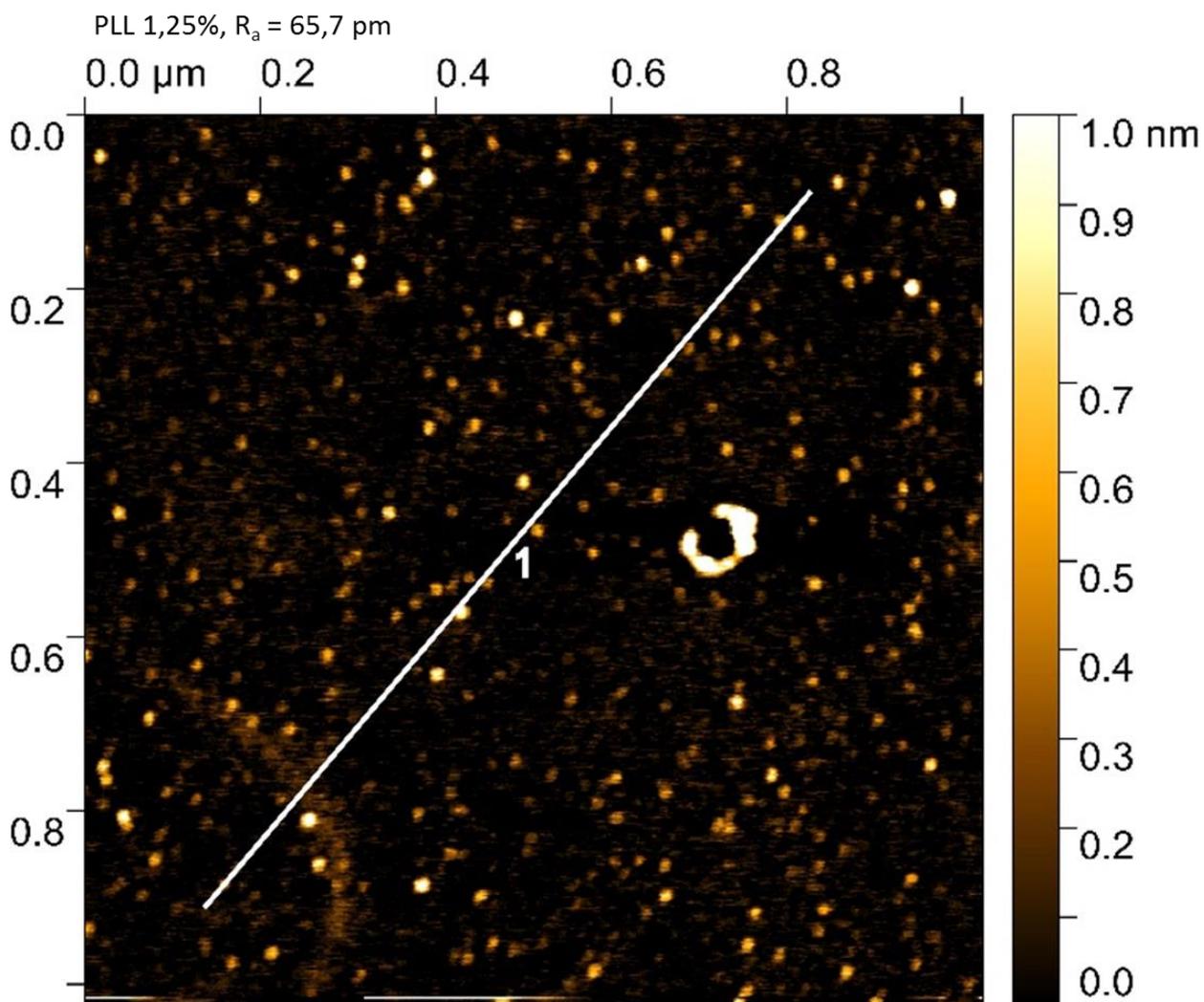
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,01% PLL. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



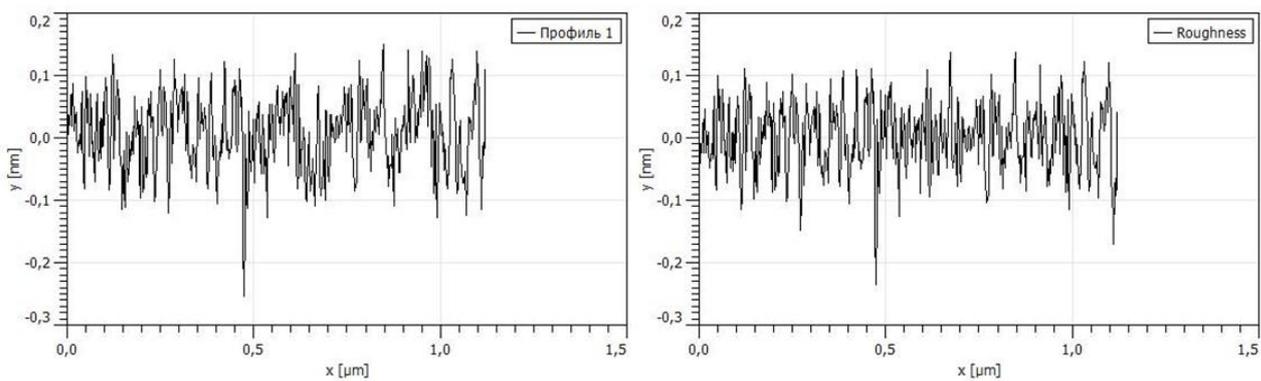
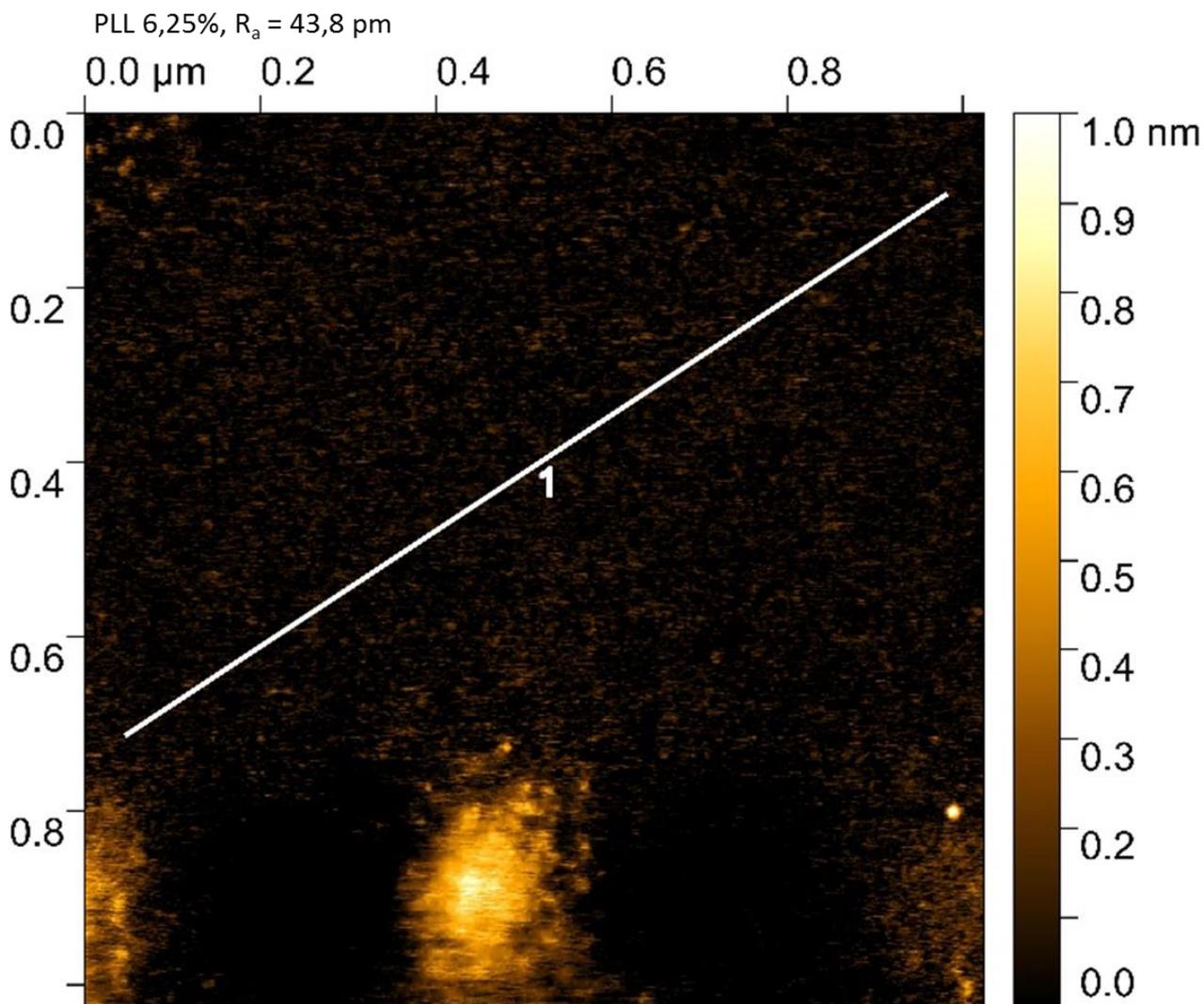
Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,05% PLL. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



Характеристика поверхности слюды модифицированной 0,25% PLL. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



Характеристика поверхности слюды модифицированной 1,25% PLL. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



Характеристика поверхности слюды модифицированной 6,25% PLL. R_a - средняя шероховатость поверхности. Белая линия - по ней построен профиль поверхности (левый график) и профиль шероховатости (правый график)



Отчет о проверке

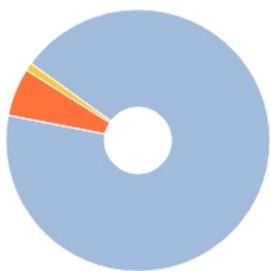
Автор: Украинцев Александр Андреевич

Проверяющий: Мирошниченко Светлана Константиновна

Название документа: Научный доклад Украинцев wr

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ

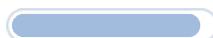
Тариф: FULL



Совпадения:
5,66%



Оригинальность:
93,79%



Цитирования:
0%



Самоцитирования:
0,55%



«Совпадения», «Цитирования», «Самоцитирования», «Оригинальность» являются отдельными показателями, отображаются в процентах и в сумме дают 100%, что соответствует проверенному тексту документа.

- **Совпадения** — фрагменты проверяемого текста, полностью или частично сходные с найденными источниками, за исключением фрагментов, которые система отнесла к цитированию или самоцитированию. Показатель «Совпадения» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к совпадениям, в общем объеме текста.
- **Самоцитирования** — фрагменты проверяемого текста, совпадающие или почти совпадающие с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа. Показатель «Самоцитирования» — это доля фрагментов текста, отнесенных к самоцитированию, в общем объеме текста.
- **Цитирования** — фрагменты проверяемого текста, которые не являются авторскими, но которые система отнесла к корректно оформленным. К цитированиям относятся также шаблонные фразы; библиография; фрагменты текста, найденные модулем поиска «СПС Гарант: нормативно-правовая документация». Показатель «Цитирования» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к цитированию, в общем объеме текста.
- **Текстовое пересечение** — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
- **Источник** — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
- **Оригинальный текст** — фрагменты проверяемого текста, не обнаруженные ни в одном источнике и не отмеченные ни одним из модулей поиска. Показатель «Оригинальность» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к оригинальному тексту, в общем объеме текста.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые совпадения проверяемого документа с проиндексированными в системе источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности совпадений или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

Номер документа: 23

Тип документа: Не указано

Дата проверки: 10.09.2024 13:39:43

Дата корректировки: 10.09.2024 13:49:54

Количество страниц: 42

Символов в тексте: 53281

Слов в тексте: 7179

Число предложений: 785

Комментарий: не указано

ПАРАМЕТРЫ ПРОВЕРКИ

Выполнена проверка с учетом редактирования: Да

Выполнено распознавание текста (OCR): Да

Выполнена проверка с учетом структуры: Нет

Модули поиска: Переводные заимствования (KyEn), Патенты СССР, РФ, СНГ, Переводные заимствования по Интернету (KyRu), СМИ России и СНГ, Коллекция НБУ, Перефразирования по Интернету (EN), Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Шаблонные фразы, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, Медицина, Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Сводная коллекция ЭБС, Перефразирования по Интернету, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Переводные заимствования*, Диссертации НББ, Переводные заимствования (RuEn), Кольцо вузов, Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Библиография, Цитирование, СПС ГАРАНТ: аналитика, Публикации РГБ, Публикации eLIBRARY, Переводные заимствования IEEE, Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика, Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Перефразирования по коллекции IEEE, IEEE, Переводные заимствования по Интернету (KkRu), Переводные заимствования (KkEn), ИПС Адилет, Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования), Кольцо вузов (переводы и перефразирования), Интернет Плюс*, Публикации РГБ (переводы и перефразирования)

🚫 Модули, недоступные в рамках тарифа: Интернет Free

ИСТОЧНИКИ

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Комментарий
[01]	4,99%	0%	Науменко, Константин Николаев... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2023	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[02]	4,33%	0%	Дипломная работа Украинцев А...	11 Июн 2020	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[03]	3,96%	0%	ГЛАВА 7. РОЛЬ УВ-1 В РЕГУЛЯЦИ... http://elibrary.ru	01 Янв 2023	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[04]	3,88%	0%	Александр_Украинцев_Диплом	25 Мая 2020	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[05]	3,53%	0%	Диплом антиплагиат	20 Мая 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[06]	2,63%	2,63%	РОЛЬ БЕЛКА ННР6 В РАЗВОРАЧИ...	18 Июл 2022	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[07]	2,6%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Фев 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[08]	2,55%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Фев 2024	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[09]	2,26%	0%	Науменко, Константин Николаев... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2023	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[10]	2,01%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Фев 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[11]	1,94%	0%	Кургина, Татьяна Андреевна Вли...	19 Фев 2024	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[12]	1,75%	1,75%	Назаров К.Д. диплом магистрату...	20 Мая 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	
[13]	1,65%	0%	Изучение взаимодействия ДНК-... https://elibrary.ru	17 Июл 2022	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[14]	1,55%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	19 Июн 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[15]	1,37%	1,28%	Александр_Украинцев_Диплом	25 Мая 2020	Кольцо вузов	
[16]	1,37%	0%	Дипломная работа Украинцев А...	11 Июн 2020	Кольцо вузов	
[17]	1,24%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachme... https://mdpi-res.com	12 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.

[18]	1,21%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachme... https://mdpi-res.com	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[19]	1,11%	0%	Бережнев Егор1	23 Мая 2023	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[20]	0,98%	0%	https://www.fbras.ru/wp-content/... https://fbras.ru	17 Фев 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[21]	0,93%	0%	ГЛАВА 7. РОЛЬ УВ-1 В РЕГУЛЯЦИ... http://elibrary.ru	01 Янв 2023	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[22]	0,88%	0%	Бережнев Егор1	23 Мая 2023	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[23]	0,87%	0%	Шайтан, Алексей Константинови... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2021	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[24]	0,83%	0%	https://kpfu.ru/staff_files/F_16355... https://kpfu.ru	12 Апр 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[25]	0,77%	0%	Поиск мишеней для госсипола в ... http://elibrary.ru	01 Ноя 2016	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[26]	0,74%	0%	Лаборатория биоорганической х... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[27]	0,65%	0%	БИОСHEM_Vol210122021.pdf https://pureportal.spbu.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[28]	0,62%	0%	Савин, Иннокентий Андреевич ... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2023	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[29]	0,57%	0%	БИОСHEM_Vol203022022.pdf http://rusbiochem.org	23 Дек 2022	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[30]	0,57%	0%	https://kpfu.ru//staff_files/F_16355... https://kpfu.ru	27 Авг 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[31]	0,55%	0,55%	Изучение взаимодействия ДНК-... https://elibrary.ru	17 Июл 2022	Публикации eLIBRARY	
[32]	0,52%	0%	https://science.ncagp.ru/upfiles/p... https://science.ncagp.ru	15 Дек 2023	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[33]	0,47%	0%	Начальные стадии эксцизионно...	22 Окт 2023	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[34]	0,47%	0%	Назаров К.Д. диплом магистрату...	20 Мая 2024	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[35]	0,45%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	06 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[36]	0,45%	0%	Молекулярная биология. Т. 57, Н... https://sciencejournals.ru	23 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[37]	0,44%	0%	https://www.fbras.ru/wp-content/... https://fbras.ru	26 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[38]	0,44%	0%	https://www.fbras.ru/wp-content/... https://fbras.ru	29 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[39]	0,44%	0%	Лаборатория биоорганической х... http://niboch.nsc.ru	11 Апр 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[40]	0,43%	0%	Сивкина, Анастасия Львовна Рол... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2022	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[41]	0,39%	0%	Конференции ИХБФМ СО РАН И... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[42]	0,37%	0%	Учебное пособие Лаврентьева и...	21 Ноя 2016	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[43]	0,37%	0%	https://theses.hal.science/tel-040... https://theses.hal.science	26 Авг 2024	Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[44]	0,35%	0%	alemasova_dissert.pdf http://niboch.nsc.ru	21 Апр 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[45]	0,35%	0%	List of abstracts accepted for publ... https://bgrssb.icgbio.ru	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[46]	0,32%	0%	Информационные события [Инс... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[47]	0,27%	0%	Савин, Иннокентий Андреевич ... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2023	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[48]	0,25%	0%	Дипломная работа_Сайфуллина ...	23 Мая 2022	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[49]	0,23%	0%	Диплом аспиранта Данилин Н.А.	11 Июн 2024	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[50]	0,23%	0%	https://frcftm.ru/wp-content/uplo... https://frcftm.ru	15 Апр 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[51]	0,22%	0%	Performance Prediction of NUMA ... https://ieeexplore.ieee.org	27 Дек 2018	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[52]	0,2%	0%	https://s3.ca-central-1.amazonaw... https://s3.ca-central-1.amazonaws.com	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[53]	0,2%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	26 Авг 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[54]	0,19%	0%	Масс-спектрометрия для анализ... http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[55]	0,19%	0%	Adapting pressure films to measu... https://core.ac.uk	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[56]	0,18%	0%	Оценка влияния источников заг... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[57]	0,17%	0%	https://nauchkor.ru/uploads/docu... https://nauchkor.ru	16 Мая 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[58]	0,17%	0%	In vitro селекция направляющей... https://nauchkor.ru	17 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[59]	0,17%	0%	не указано	13 Янв 2022	Шаблонные фразы	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[60]	0,16%	0%	http://rusbiochem.org/files/uploa... http://rusbiochem.org	23 Окт 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[61]	0,16%	0%	https://pure.spbu.ru/ws/portalfile... https://pure.spbu.ru	16 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[62]	0,15%	0%	ВКР_Бишани	20 Мая 2024	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[63]	0,15%	0%	https://sgpi.ru/user/-488/site/%D0... https://sgpi.ru	03 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[64]	0,14%	0%	Конференции ИХБФМ СО РАН [И... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[65]	0,14%	0%	https://www.spbguv.ru/sveden/f... https://spbguv.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[66]	0,13%	0%	Diagnosing Memory Provisioning i... https://ieeexplore.ieee.org	05 Июн 2014	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[67]	0,12%	0%	Ауыл шаруашылығы малдарын б... http://adilet.zan.kz	21 Янв 2016	ИПС Адилет	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[68]	0,12%	0%	Об утверждении инструкций по ... http://adilet.zan.kz	21 Янв 2016	ИПС Адилет	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[69]	0,11%	0%	Теңіз кемелерін сыныптау және ... http://adilet.zan.kz	04 Окт 2017	ИПС Адилет	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[70]	0,11%	0%	Об утверждении Правил класси... http://adilet.zan.kz	21 Янв 2016	ИПС Адилет	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Отчёт о проверке текста научно-квалификационной работы на
объём заимствования

Украинцев Александр Андреевич

«Роль белков PARP в структурно-функциональной организации нуклеосом»

Оригинальность работы составляет 93.79%, что соответствует требованиям порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на заседании Итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Проверку выполнила секретарь АК – к.б.н. С.К. Мирошниченко