

УДК 577.29, 577.22, 575.113.12

Функционирование кода поли(ADP-рибозил)ирования

Н. В. Малюченко^{1*}, Д. О. Кошкина¹, А. В. Феофанов^{1,2}, В. М. Студитский^{1,3},
М. П. Кирпичников^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119234 Россия

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия

³Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, 19111-2497 USA

*E-mail: mal_nat@mail.ru

Поступила в редакцию 16.07.2020

Принята к печати 09.10.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11089

РЕФЕРАТ Поли(ADP-рибозил)ирование играет важнейшую роль в клеточном метаболизме. Ковалентное поли(ADP-рибозил)ирование влияет на работу белков, вовлеченных в репарацию повреждений ДНК, регуляцию структуры хроматина, экспрессию генов, процессинг РНК, биогенез рибосом и трансляцию белка. Нековалентные поли-ADP-рибоза-зависимые взаимодействия определяют такие реакции клеток на стресс и вирусное вторжение, как воспаление, иммунный ответ и гормональная сигнализация. В обзоре рассмотрено, каким образом молекулы поли-ADP-рибозы (PAR), состоящие из однотипных мономеров, могут избирательно участвовать в различных клеточных процессах, реализуя так называемый «PAR-код». Обсуждается способность PAR формировать посредством жидкофазного разделения биомолекулярные функциональные кластеры, что способствует быстрому пространственному разделению биохимических процессов и эффективному привлечению необходимых компонентов. Уровень PAR в клетках строго контролируется совокупностью регуляторных белков. Нарушение метаболизма PAR сопряжено с развитием патологических процессов, приводящих к опухолевым, сердечно-сосудистым и нейродегенеративным заболеваниям. Фармакологическая коррекция уровня PAR может стать перспективным подходом к лечению различных дисфункций.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА поли-ADP-рибоза, PARP, PARG, PAR-код, NAD⁺, фазовое разделение.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ADPR – ADP-рибоза; ADPR_o – ADP-рибозные остатки; PAR – поли(ADP-рибоза); PARG – поли(ADP-рибоза)гликогидролаза; PARP – поли(ADP-рибоза)полимераза.

ВВЕДЕНИЕ

О существовании третьей нуклеиновой кислоты – поли(ADP-рибозы) (PAR), известно уже более полувека. В отличие от ДНК и РНК PAR имеет довольно простую структуру, состоящую из повторяющихся мономеров ADP-рибозы (ADPR), и не кодирует информацию о белках и РНК (рис. 1) [1]. Однако участие PAR в метаболизме клеток и их гибели, а также строго регулируемый синтез, обмен и деградация PAR указывают на исключительно важную роль этой нуклеиновой кислоты в клетке [2–4]. Как правило, PAR ковалентно присоединяется к белкам, меняя их активность, поэтому поли(ADP-рибозил)ирование часто рассматривают как посттрансляционную модификацию белков [3, 4]. Известно, что такая ковалентная модификация регулирует работу белков, вовлеченных в ряд ключевых ядерных и цитоплазматических активностей, таких, как репарация по-

вреждений ДНК, регуляция структуры хроматина, экспрессия генов, процессинг РНК, биогенез рибосом и трансляция [4–7]. Кроме того, существуют PAR-опосредованные нековалентные взаимодействия, обусловленные наличием PAR-узнающих доменов у ряда белков. Нековалентные взаимодействия PAR играют важную роль в событиях, определяющих различные формы реакции клеток на вторжение вируса и стресс, такие, как воспаление, гормональная сигнализация и иммунный ответ [2, 8–11]. Накоплены многочисленные свидетельства участия PAR в патологических процессах. Например, показано, что β-амилоид-опосредованный окислительный стресс при болезни Альцгеймера сопровождается повышенным содержанием PAR, PAR взаимодействует также с α-синуклеином, ускоряющим формирование токсичных фибрилл при болезни Паркинсона [12]. Существование связи между PAR

и процессами, происходящими при развитии опухолей, показано во многих исследованиях [13–17]. Еще в 1979 году впервые установили, что ингибирование поли(ADP-рибозил)ирования аналогами никотинамида повышает чувствительность раковых клеток к цитотоксическим повреждениям [18]. На сегодняшний момент более 200 подобных соединений проходят доклинические и клинические исследования в качестве противоопухолевых средств, а четыре ингибитора PARP уже применяются в клинике [15, 19–22]. PAR участвует в процессе перепрограммирования клеток: интенсивное поли(ADP-рибозил)ирование обнаружено в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках, а ингибирование синтеза PAR уменьшает способность соматических клеток, обработанных набором факторов Яманаки (с-Myc, Sox2, Oct4), к дедифференцировке [23–25]. Эти наблюдения, а также тот факт, что PAR-синтезирующий фермент – PARP-1, рекрутирует белок KLF4 для активации экспрессии теломеразы и индукции плюрипотентности стволовых клеток, могут указывать на то, что нарушения в системе регуляции PAR могут вызвать формирование более агрессивного фенотипа опухолевых стволовых клеток. Серьезного внимания заслуживают работы по исследованию влияния поли(ADP-рибозил)ирования на продолжительность жизни [26–28] и развитие прогерии (синдромы преждевременного старения – Вернера [29] и Кокейна [30]). Интересно, что окислительное повреждение клетки вызывает активацию PARP-1, которое в свою очередь способствует сердечной и сосудистой дисфункции в различных патофизиологических условиях [31, 32]. Фармакологическое ингибирование PAR рассматривается в качестве перспективного подхода к коррекции неонкологических заболеваний, к которым относятся ишемический инсульт, острый панкреатит, септический шок, астма и острое повреждение легких [19, 31–34].

В целом, уровень PAR в клетках строго контролируется ферментами и поддерживается на невысоком уровне за счет тонко настроенного баланса активностей поли(ADP-рибоза)полимераз (PARP) и поли(ADP-рибоза)гликогидролаз (PARG). Определенные стрессовые стимулы могут приводить к быстрому увеличению уровня PAR и запуску PAR-зависимых процессов.

Каким образом молекулы PAR, состоящие из однотипных мономеров ADP-рибозы, могут выполнять столь разнообразные функции? Как работает так называемый PAR-код? В настоящем обзоре рассмотрены механизмы работы PAR-кода, зависящие от длины и ветвления полимеров, обсуждаются белки, принимающие участие в создании, редактировании и функционировании этого кода.

БЕЛКИ, СИНТЕЗИРУЮЩИЕ PAR

Поли(ADP-рибозил)ирование начинается с присоединения первого остатка ADP-рибозы к белкам-акцепторам (как правило, по остаткам глутамата, аспартата, лизина, аспарагина, серина и цистеина) с помощью ферментов PARP. Эти уникальные гликозилтрансферазы катализируют реакцию переноса ADP-рибозильных остатков (ADP_{Ro}), донором которых служит NAD⁺, на доступные группы белков и последующее наращивание цепи за счет образования гликозидных связей (1''-2', реже 1'''-2'') между рибозильными группами мономеров ADP-рибозы. При этом образуется полимер, прикрепленный к белку ковалентной связью (рис. 1), содержащий от двух до нескольких сот звеньев мономера [35–37]. В качестве акцепторов PAR-цепей может выступать целый ряд ассоциированных с хроматином белков, включая коровые и линкерные гистоны, топоизомеразы, ДНК-лигазы, ДНК-полимеразы и PARP [5].

Белки, синтезирующие PAR, часто называют PAR-писателями (PAR-writers). PARP – основные ферменты, формирующие структурное разнообразие PAR – основу PAR-кода. Катализировать ADP-рибозилирование способны также бактериальные ADP-рибозилтрансферазы (ADPRT, например, холерный и дифтерийный токсины) и члены разных семейств белков дрожжей и животных, такие, как аргинин-специфичные эктоферменты (ARTC) и сиртуины (SIRT).

Семейство PARP человека объединяет 17 известных белков, которые различаются длиной полипептидной цепи, структурой некаталитических доменов, способностью модифицировать акцепторные белки, а также уровнем экспрессии и распределением в клетке [2, 4, 5, 13, 38, 39]. Всех членов данного семейства отличает наличие достаточно консервативной С-концевой аминокислотной последовательности, содержащей каталитический центр – характерный признак PARP (PARP signature). Большинство PARP (PARP-3, 4, 6–8, 10–12, 14–16) моно-ADP-рибозилируют белки и только четыре PARP (PARP-1, 2, 5a, 5b) способны к поли(ADP-рибозил)ированию. Высокая эволюционная консервативность первичных структур каталитического центра PARP показывает, что функции этих ферментов чрезвычайно важны для клетки и организма в целом. Уникальное свойство каталитического кармана PARP – наличие домена складки ART, ключевой мотив которого триада гистидин-тирозин-глутамат (HYE) в PARP-1–4, 5a и 5b или триада гистидин-тирозин-гидрофобная аминокислота (HYФ) – в PARP 6–8, 10–12, 14–16 [36]. В обеих триадах (HYE и HYФ) консервативный гистидин образует водородную связь с 2-ОН-рибозой аденозина

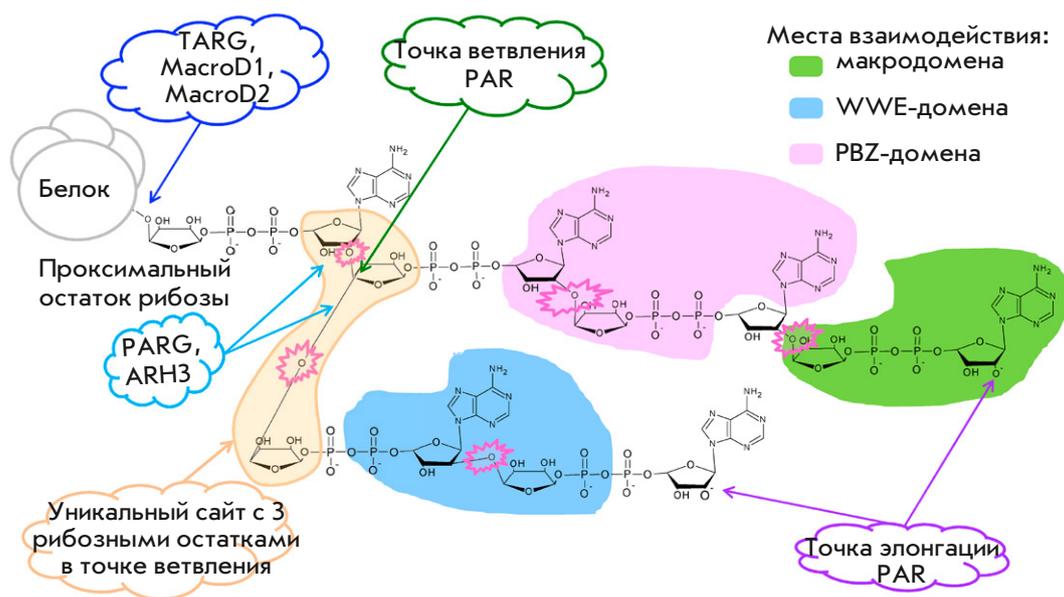


Рис. 1. Структура PAR на поверхности белковой глобулы и сайты взаимодействия. Показаны точки элонгации и ветвления остатков ADP-рибозы. Розовым зубчатым контуром выделены O-гликозидные связи соседних ADP-рибозных остатков. Голубыми и синими стрелками отмечены сайты гидролиза PAR различными белками. Желтый контур – уникальный сайт в точке ветвления, содержащий три остатка рибозы. Зеленым, розовым и голубым контурами выделены области взаимодействия белков, содержащих различные PAR-связывающие домены. Зеленый контур – область связывания макродоменов, предпочтительно взаимодействующих с концевой ADPR. Розовый контур – область взаимодействия доменов PBZ, способных одновременно связываться с аденинами в двух соседних ADP-рибозных единицах PAR. Голубой контур – область взаимодействия домена WWE, распознающего изо-ADP-рибозу, содержащую специфическую 2', 1'-O-гликозидную связь

Таблица 1. Подсемейства PARP

Подсемейства PARP	Представители подсемейств и их особенности
ДНК-зависимые PARP	Активируются при повреждении ДНК благодаря наличию ДНК-связывающих доменов. Главный представитель – PARP-1 (ARTD1), имеет три ДНК-связывающих домена (так называемые цинковые пальцы) для распознавания повреждений. Другие члены этой группы – PARP-2 (ARTD2) и PARP-3 (ARTD3).
Танкиразы	Содержат повторы анкириновых доменов и высокоспецифичные мотивы SAM (Sterile alpha motif), ответственные за белок-белковые взаимодействия. Представители: танкираза-1 (PARP-5a, ARTD5) и танкираза-2 (PARP-5b, ARTD6).
СССН PARP	Содержат домен цинкового пальца с мотивами СССРН типа CX ₇₋₁₁ CX ₃₋₉ CX ₃ H, который участвует во взаимодействиях с РНК. Содержат общий WWE-домен. Представители: TTPARP (PARP-7, ARTD7), PARP-12 (ARTD12) и PARP-13 (ARTD13).
Макро-PARP	Обладают макродоменами. Опосредуют ассоциацию поли- (и, возможно, моно-) ADP-рибозилированных белков. Представители: BAL1 (PARP-9, ARTD9), BAL2 (PARP-14, ARTD8) и BAL3 (PARP-15, ARTD7).
Другие PARP	PARP-белки, не включенные в перечисленные подсемейства. Представители: PARP-4 (ARTD4), PARP-6 (ARTD17), PARP-8 (ARTD16), PARP-10 (ARTD10), PARP-11 (ARTD11) и PARP-16 (ARTD15).

NAD⁺, а консервативные остатки тирозина – π-π-стэкинг-взаимодействия с остатком никотинамида NAD⁺. Вероятно, различие в последнем аминокислотном остатке в триадах определяет способность к поли(ADP-рибозил)ированию [40] или моно-ADP-рибозилированию [41]. В настоящий момент семейство PARP по структурно-функциональным особенностям сгруппировано в пять подсемейств (табл. 1).

Основную часть синтеза PAR выполняют PARP-1 и PARP-2 (соответственно 75–95% и 5–15%) в ответ на повреждения ДНК [42–44]. Исследования *in vivo*

и на культурах клеток показали, что уменьшение содержания PARP-1 или PARP-2 приводит к повышенной чувствительности клеток к действию ионизирующего излучения, окислительного стресса и алкилирующих агентов [45].

БЕЛКИ, ГИДРОЛИЗИРУЮЩИЕ PAR-ПОЛИМЕРЫ

В клетке происходит активный синтез и гидролиз PAR-полимеров [6, 46]. За удаление ковалентно связанной с белками ADPR и возможную модуляцию PAR-кода отвечают ADP-рибозилгидролаза

3 (ARH3), гликогидролазы PAR (PARG), TARG/С6orf130, MacroD1 и MacroD2 и семейство гидролаз NUDIX [2, 3, 6, 41], за которыми закрепилось общее название PAR-стиратели (PAR-erasers). Многие из этих ферментов содержат мотив складки макромолекулы, который позволяет им взаимодействовать с ADP-рибозилированными субстратами. Дегградация PAR происходит в два этапа: полимерная цепь сначала расщепляется до единичных ADP_R, а затем гидролизу подвергается присоединенный к белку проксимальный остаток (рис. 1). Гидролазы PARG и ARH3 эффективно расщепляют уникальные 2'-1"-гликозидные рибозо-рибозные связи и высвобождают свободные фрагменты ADP_R, но при этом оставляют присоединенную к акцепторному белку проксимальную ADP_R [47]. Несколько ферментов – TARG, MacroD1 и MacroD2 – гидролизуют эфирную связь между оставшейся рибозой и акцепторными аминокислотами белка, окончательно удаляя ADP_R. Сложная система функционирования гидролаз, которая изменяет локальную концентрацию и длину PAR (т.е. модулирует PAR-код), дополняется еще и тонкой регуляцией специфичности распознавания ADP_R в комплексе с различными аминокислотными остатками, в частности: ARH1 с Arg, ARH3 с Ser, а MacroD1, MacroD2 и TARG1 с Glu и Asp [3].

Белки, контролирующие дегградацию PAR, считаются привлекательными мишенями для таргетной терапии [6]. Первой группой соединений, модулирующих активность PARG, были интеркаляторы ДНК, способные образовывать комплекс с PAR и тем самым защищать от гидролиза PARG [48]. Интеркаляторы влияют на активность PARG не посредством прямого взаимодействия с ферментом, а путем ограничения его доступа к субстрату. Позже обнаружили полифенольные соединения, встречающиеся в природе, такие, как танины, которые непосредственно ингибируют активность PARG [49]. В частности показано, что галлотанин ингибирует PARG и запускает синтетическую летальность в BRCA2-дефицитных опухолях [50]. В настоящий момент исследовано и описано несколько классов ингибиторов PARG: ADP-HPD, родаминовые ингибиторы, PDD00017273. Разрабатываются также подходы, направленные на стабилизацию мРНК PARG РНК-связывающими белками (HuR) [6, 51–53].

БЕЛКИ, РАСПОЗНАЮЩИЕ СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ PAR

За последнее десятилетие были найдены белки, содержащие в своем составе модули, способные распознавать («считывать») PAR-структуры, связывая отличающиеся формы ADP_R-полимеров, и функционировать в качестве так называемых «PAR-

читателей» (PAR-readers) [3, 39, 54–56]. Сотни типов белков прямо или косвенно взаимодействуют с PAR, что может вызывать субклеточное перераспределение белков и тем самым влиять на многие клеточные процессы. Структуры PAR-связывающих модулей белков варьируют от хорошо организованных доменов до неупорядоченных структур (табл. 2).

ПРИНЦИПЫ РАБОТЫ PAR-КОДА

Таким образом, в клетке существует сложная система синтеза, функционирования и дегградации PAR, регулирующая функции белков с помощью «кода», создаваемого структурой PAR. PAR-код формируется как длиной, так и характером ветвления полимера PAR. Каким образом работает PAR-код?

Длина PAR

Показано, что при определенных условиях PAR может быть токсичным для клеток [9]. Снижение экспрессии PARG, приводящее к накоплению PAR в клетке, вызывает усиление гибели клеток под действием повреждающих агентов как *in vitro*, так и *in vivo*, а мыши с нокаутом PARG погибают на 3.5 день эмбрионального развития [80]. Ранее PAR-опосредованную цитотоксичность объясняли «суицидальной» гипотезой, заключающейся в энергетическом кризисе клетки, вызванном PARP-зависимым истощением запасов NAD⁺ [81, 82]. Поскольку для синтеза молекулы NAD⁺ используются четыре молекулы ATP, предполагалось, что активная работа PARP может истощать запасы макроэргических молекул, вызывать подавление клеточных энергозависимых процессов, таких, как гликолиз и митохондриальное дыхание, и, в конечном итоге, вызывать гибель клетки [83]. Однако установлено, что сами PAR-полимеры могут быть токсичными для клеток, а степень цитотоксичности, как показано на примере корковых нейронов [81], возрастает с увеличением длины полимерной цепи и имеет дозозависимый характер (рис. 2). При этом внутриклеточное введение анти-PAR-антител существенно снижает цитотоксичность. Механизмы цитотоксичности высокомолекулярных PAR изучаются. Установлено, что в ответ на обработку изолированных митохондрий очищенной PAR из мембран митохондрий высвобождается апоптозиндуцирующий фактор (AIF) [84]. Данный процесс происходит и в клетках, вызывая в них транслокацию AIF в ядро и инициацию клеточной гибели по механизму каспаза-независимого апоптоза. Этот вид программируемой клеточной гибели, вызванный гиперактивацией синтеза PAR, получил название партанатоз (parthanatos). Активация партанатоза может происходить при сильном повреждении ДНК в результате воздействия алкилирующих

Таблица 2. PAR-узнающие модули

Модуль	Описание	Механизм узнавания	Представитель	Функция	Ссылка
PBM	~20 а.о. [HKR] xx[AIQVY][KR] ₂ [AILV] [FILPV] (где x –любая аминокислота)	Связывание опосредуется электростатическими взаимодействиями между отрицательно заряженными группами в составе PAR и положительно заряженной PBM-консенсусной последовательностью, может достигать высокого родства со значениями констант диссоциации (K_d) комплексов в субмикромольном или наномольном диапазонах. Взаимодействия усиливаются при tandemном расположении PBM-модулей внутри одного белка	H1, H2A, H2B, H3, H4, p21, p53, XRCC1, XPA, MSH6, ERCC6, ATM, MRE11, ДНК-ПКcs, KU70, ДНК-лигаза 3, NF-kB, TERT, DEK, CAD, CENP-A, CENP-B, ламин A/C, BUB3, hCAP-D2, HK1, HKDC1, G3BP1, hnRNPA1, hnRNPK, hnRNPH, hnRNPG, hnRNPM, iNOS hnRNPA2B1, hnRNPC1C2, AURKAIP1, RECQL5, WRN, TOP1	PBM-модули присутствуют во многих белках, участвующих в ответе на повреждения ДНК, в репликации, транскрипции, а также в структурных перестройках хроматина	[54, 55, 57–59]
Макро- домены	Эволюционно консервативные структурные модули из ~130–190 а.о., которые складываются в характерную глобулярную сэндвич-складку, состоящую из β -листа из шести цепей, окруженного пятью α -спиралями. Обнаруживаются в белках с различными клеточными функциями. MacroD-мотив: Nx(6)GG[V/L/I]D и G[V/I/A][Y/F]G	Распознают концевые остатки ADP-рибозы. Значения K_d лежат в микромолярном диапазоне. ADPR-связывающие сайты расположены во внутренней полости макродомена	Макродомены широко распространены во всех царствах природы, включая эукариот и архей. Семейства: MacroH2A, MacroD, Macro2, ALC1, PARG, SUD-M. Белки: GDAP2, TARG1 (сborf130), PARP-9, PARP-14, PARP-15	Регулирующее влияние на: меж- и внутриклеточную передачу сигналов, транскрипцию, репарацию ДНК, поддержание геномной стабильности, динамику теломер, дифференцировку и пролиферацию, гибель клеток. Макродомены ряда белков обладают каталитической активностью. PARG использует макродомен для связывания и гидролиза PAR. MacroD и Sborf130 вовлечены в деацетилирование O-ацетил-ADP-рибозы (метаболит сиртуин-опосредованного деацетилирования Lys). Каталитически активные макродомены вирусов семейства Coronaviridae, Togaviridae и Hepreviridae противодействуют врожденному иммунному ответу, мешая PARP-опосредованной противовирусной защите	[60–64]
PBZ	~30 а.о. C2H2-тип: [K/R] xxCx[F/Y] GxxCxbbxxxxHxxx[F/Y] xH	У PBZ отсутствует вторичная структура, и распознавание субстрата достигается за счет водородных связей. Предполагают, что один модуль PBZ содержит два сайта связывания, которые одновременно распознают аденины в двух соседних ADPRo в составе PAR, что является отличительной особенностью взаимодействия PBZ	APLF, CHFR и SNM1A	Сигнализация о повреждениях ДНК. APLF способствует удержанию специфических субъединиц NHEJ в репарации двухцепочечных повреждений ДНК и стимулирует скорость NHEJ-репарации. CHFR участвует в регуляции начала митоза	[55, 65, 66]
WWE	~80–100 а.о. Шесть антипараллельных β -тяжей домена WWE образуют половину структуры бочонка с α -спиралью в его центральной части	Взаимодействие происходит через фосфатные группы на каждой стороне изо-ADP-рибозы, связывающиеся с положительно заряженным краем домена WWE, и сопровождается проникновением ароматического кольца аденина в связующий карман. Характерна высокая аффинность ($K_d \sim 370$ нМ) и специфичность связывания	RNF146/Iduna	RNF146 представляет собой убиквитинлигазу E3, которая специфически распознает белковые субстраты, конъюгированные с PAR, и направляет их на протеасомную деградацию	[67, 68]
FHA/ BRCT	~80–100 а.о.	Фосфатсвязывающие карманы взаимодействуют с остатками ADP- или изо-ADP-рибозы	APTX, PNKP, XRCC1, NBS1, BARD1, ДНК-лигаза 4	Сигнализация повреждений и репарация ДНК	[69]

Модуль	Описание	Механизм узнавания	Представитель	Функция	Ссылка
RRM	~60--80 а.о.	Каноничная структура RRM состоит из четырех анти-параллельных β-цепей и двух α-спиралей, расположенных на одной стороне β-листа. RRM-домен характеризуется наличием 6 или 8 а.о. консенсусов, в которых экспонируется ароматический остаток, образующий π-π-стекинг с основаниями РНК	Семейства: BRUNO, CPEB, DAZ, EIF, ELAVL, ENOX, G3BP, HNRP, IGF2BP, MSI, PABPC, PPARGC, PTBP, RALY, RAVER, RBM, RBMS, RBMY1, SAF, SF3B, SFRS, SNRP, U2AF. Белки: ASF/SF2, NONO, SPEN, SR140, SRRP35, SSB, SYNCRIP, TARDBP, THOC4, RBMX, TAF15, PARP-10, PARP-14	Метаболизм РНК, сигнализация повреждений и репарация ДНК. Мишени: гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины, белки, участвующие в регуляции альтернативного сплайсинга белковых компонентов малых ядерных рибонуклеопротеидов и белков, регулирующих стабильность и трансляцию РНК	[70–72]
SR и KR богатые мотивы	Вариабельные	Предположительно, электростатические взаимодействия	ASF/SF2, dMi-2	Экспрессия генов, метаболизм РНК	[54]
ОВ-складка	~70–150 а.о. Связывание олигонуклеотидов / олигосахаридов	Взаимодействия с остатками изо-ADP-рибозы	SSB1, BRCA2	Сигнализация повреждений и репарация ДНК	[73]
Домены PIN	~130–150 а.о.	Предположительно, электростатические взаимодействия	EXO1	Сигнализация повреждений и репарация	[74]
RG/ RGG-повторы	Tri-RGG: RGG(X ₀₋₄)RGG(X ₀₋₄) RGG Di-RGG RGG(X ₀₋₄) RGG Tri-RG RG(X ₀₋₄)RG(X ₀₋₄) RG Di-RG RG(X ₀₋₄) RG	Предположительно, электростатические взаимодействия. Кроме того, между RGG-повторами часто встречаются ароматические остатки, которые способствуют гидрофобным взаимодействиям с азотистыми основаниями	Tri-RGG: FUS/TLS, EWS/EWSR1, TAF15, нуклеолин, фибрилларин, SERBP1, hnRNP U, hnRNP A1, LSM14/ Scd6, CHTOP, GAR1, MLL4. Di-RGG: Sam68, RPS2, hnRNP K, SYNCRIP, BRWD3, PSF, FMRP, SPRN, RasiP1 NSD1, Aven, hnRNPUL1. Tri-RG: MRE11/A, Sm-D1/D3, KDM4E, PABP1, CIRBP, ING5, SHANK1, BAZ1A, MBD2, DDX5, DDX5, TDRD3, ILF3, 53BP1, Coilin, DHX9. Di-RG: ADAM20, E2F-1, E2F-1, Gemin 5, HMGA1, DGCR14, PDGFRB, FXR2; SRSF1, ABL2, SETD5, CPSF, BRD4, MBP, MBNL1, TGFbR, NFKBIL1, RBBP6	Связывание различных вторичных структур РНК (G-квадруплексы, гуаниновые тетрады). Биогенез мяРНК. Альтернативный сплайсинг, репрессия трансляции (LSM14A/Scd6). Сигналинг ДНК-повреждений. Апоптоз. Фолдинг G-квадруплексов. Сборка стрессовых гранул и формирование белковых конденсатов	[75–79]

агентов, а также при окислительном стрессе, гипоксии, гипогликемии или воспалении.

В зависимости от длины PAR может взаимодействовать с разными регуляторными белками (рис. 2). Белок-супрессор p53 человека нековалентно взаимодействует с PAR и имеет три потенциальных сайта связывания [56]. PAR длиной более 50 ADPРо способен к высокоаффинному взаимодействию с p53, а PAR длиной 38–50 и 5–38 ADPРо связывается с p53 соответственно умеренно и слабо [85]. При этом PAR из 16 и 55 ADPРо формируют один и три типа комплексов с белком p53 с константами диссоциации 250 и 130 нМ соответственно [85].

Другой пример белка, взаимодействующего с PAR, – фактор эксцизионной репарации нуклеотидов (ХРА). ХРА содержит домен типа цинковые пальцы, участвует в распознавании поврежденного участка ДНК и во взаимодействии с другими компонентами системы репарации. ХРА не связывается с короткими PAR (16 ADPРо), но формирует комплекс в соотношении 1 : 1 с молекулами PAR длиной 55 ADPРо ($K_d \sim 370$ нМ) [85]. В С-концевой части белка ХРА идентифицирован PAR-связывающий сайт, перекрывающийся с областью взаимодействия с фактором ТФИИИ, который принимает участие в инициации транскрипции [86], а вместе с белками репарационного комплек-

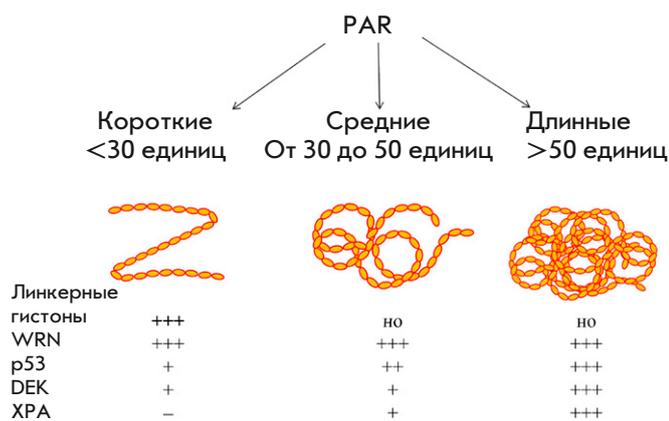


Рис. 2. Длина PAR влияет на связывание с PAR-связывающими белками. Количество крестиков качественно характеризует относительную силу взаимодействия конкретного белка с PAR-цепями различной длины: +++ – высокая, ++ – средняя, + – низкая, – – не взаимодействует, но – не определялось

са участвует в эксцизионной репарации нуклеотидов [56]. Возможно, таким образом взаимодействие с PAR может регулировать активность ХРА в процессе эксцизионной репарации нуклеотидов.

Взаимодействие онкобелка DEK с PAR также оказалось зависящим от длины полимера. DEK вовлечен в различные внутриклеточные события: репликацию [87, 88] и репарацию ДНК [89], процессинг РНК [90], а также в регуляцию транскрипции [91–93]. Показано, что высокие уровни DEK поддерживают иммортализацию клеток, подавляют старение и апоптоз [94, 95]. DEK также связан с несколькими аутоиммунными расстройствами [96]. Ряд функций DEK регулируются либо непосредственным поли(ADP-рибозил)ированием, либо нековалентным взаимодействием с PAR. Картирование PAR-связывающих участков DEK показало, что район 195–222 а.о. DEK эффективно связывается с PAR, а два других участка DEK взаимодействуют более слабо [97]. Цепи PAR длиной более 57 ADP_{Ro} образуют комплексы с DEK с $K_d \sim 60$ нМ. PAR длиной 34–54 ADP_{Ro} с умеренной эффективностью взаимодействует с DEK, в случае более коротких полимеров взаимодействие ослабевает. Поли(ADP-рибозил)ирование нарушает способность DEK связывать ДНК через домен SAP, а нековалентные взаимодействия с PAR-полимерами очень слабо ингибируют взаимодействие DEK с ДНК [89].

Некоторые белки, напротив, эффективно взаимодействуют с короткими полимерами PAR (рис. 2). Так, показано [97], что гистон H1 активно связывается с полимерами длиной 15–19 ADP_{Ro}. Нековалентные взаимодействия PAR с гистоном H1 реализуются через C-концевой домен белка, обогащенный остатками лизина [98]. При этом PAR и ДНК конкурируют за связывание с гистоном H1.

Предполагается, что PAR может вытеснять гистон H1 из хроматина, сохраняя его в непосредственной близости от разрыва цепи и реализуя тем самым «челночный гистоновый механизм» [99].

Отметим, что линкерные и коровые гистоны могут не только участвовать в нековалентных взаимодействиях с PAR, но и подвергаться ковалентному поли(ADP-рибозил)ированию при активации PARP. Установлено, что PARP-1 и PARP-2 модифицируют C- и N-концы гистонов H1 и H2B соответственно, вызывая тем самым релаксацию структуры хроматина и облегчая доступ белков репарации к месту повреждения [100–103].

Фактор WRN одинаково эффективно связывается как с короткими полимерами PAR (10–50 ADP_{Ro}), так и с длинными (> 50 ADP_{Ro}) [104]. Взаимодействие с PAR прямо влияет на функционирование фактора WRN [104], участвующего в таких аспектах метаболизма ДНК, как репликация, репарация и поддержание длины теломер [105, 106]. Мутация в гене WRN вызывает наследственную болезнь Вернера, при которой наблюдаются преждевременное старение и высокая вероятность образования опухолей [106], что можно объяснить высокой восприимчивостью к генотоксическому стрессу на клеточном уровне. Показано, что PAR может конкурировать с ДНК за связывание с N-концевым участком фактора WRN, в котором локализуется как ДНК-связывающий домен, так и РВМ-домен [104]. PAR в концентрации 10 мкМ ингибирует хеликазную, а при > 50 мкМ и экзонуклеазную активность WRN. Такие эффекты могут быть вызваны конформационными изменениями WRN при связывании с PAR, приводящими к аллостерическому ингибированию фермента.

Почему различные белки предпочитают PAR разной длины? Молекулярные основы узнавания PAR не установлены. Возможно, что полимеры PAR в зависимости от их длины и ветвления формируют различные вторичные структуры (рис. 2). Молекулярное моделирование показывает, что PAR длиной пять ADP_{Ro} имеют компактную неупорядоченную структуру, а ADP_{Ro} длиной 25 и более остатков PAR могут формировать несколько глобулярных субдоменов, соединенных развернутыми участками [107]. Методом кругового дихроизма показано, что полимеры PAR (~ 32 ADP_{Ro}) способны принимать спиральные конформации в присутствии 0.1 мМ спермина, 0.5 мМ CaCl₂, 0.5 мМ MgCl₂, >3 М NaCl или при pH > 5 [38].

Ветвление PAR

Хотя ветвящиеся цепи PAR были выявлены около 40 лет назад [108], их биологические функции и взаимодействия с другими компонентами ядра клетки до сих пор остаются предметом обсуждений. Образование

ветвящихся цепей PAR связано с работой PARP-1 и PARP-2 [40, 109–111]. Уникальность ветвления заключается в том, что три остатка ADP-рибозы становятся связанными друг с другом (рис. 1), а известные белковые модули связывания PAR умеют распознавать либо один, либо два остатка [3]. Таким образом, несколько PAR-связывающих доменов должны быть скоординированы вместе, чтобы взаимодействовать с разветвленным сайтом PAR. Действительно, показано, что белок APLF, обладающий двумя тандемными PBZ-мотивами, способен к такому связыванию, а потеря второго PBZ переключала распознавание APLF с разветвленных PAR на линейные. APLF действует как гистоновый шаперон, который предпочтительно связывается с тетрамером H3/H4 и способствует высвобождению гистонов для релаксации структуры хроматина [66, 112]. Разветвленные цепи PAR обеспечивают привлечение APLF для восстановления повреждений ДНК, а в клетках с дефицитом PARP-2 нарушается кинетика рекрутирования APLF к участкам повреждения ДНК. Другие кандидаты на взаимодействие с разветвленными сайтами PAR – белки семейства PARP, многие из которых содержат тандемы PAR-распознающих доменов [4, 38]. Установлено, что PARP-2 взаимодействует с PAR за счет своего N-концевого участка, так называемого NTR, не обладающего определенной структурой [43, 113]. NTR PARP-2 обладает гомологией с SAP-доменами других белков, участвующих в организации хроматина и репарации ДНК, таких, как Ku70 и APE1 [44, 113, 114]. Удаление NTR приводило к нарушению взаимодействия PARP-2 с PAR и потере его ферментатив-

ной активности [109]. Поскольку PARP-2 связывается с PAR, то возникает вопрос – играет ли это связывание существенную роль в привлечении PARP-2 к повреждениям в клетке? Обобщая данные различных лабораторий, можно предположить следующую картину: PARP-1 первым ($T_{1/2} \sim 1.6$ с) приходит к месту повреждения [7, 110, 111, 115–118] и синтезирует первые цепочки PAR (рис. 3). PARP-2 приходит позже (через ~ 30 с), накапливается в районе места повреждения ДНК (~ 2 мин) и синтезирует вторичные PAR преимущественно разветвленного типа [109]. Обработка клеток олапарибом (ингибитор PARP) приводит к отмене рекрутирования PARP-2, а в клетках с дефицитом PARP-1 привлечение PARP-2 к месту повреждения происходит с низкой эффективностью [42]. Эти результаты показывают, что PARP-2 распознает синтезированную PARP-1 PAR, которая опосредует привлечение PARP-2 к повреждениям в ДНК. При этом для PARP-1 характерно кратковременное, а для PARP-2 длительное накопление в зоне повреждения [118].

Не исключено также, что функциями разветвленной PAR являются привлечение уникальных белков и создание высокомолекулярных конденсатов, специализирующихся на реализации определенных процессов в клетке.

Участие PAR в формировании субклеточных жидкофазных структур

Многие субклеточные компартменты не ограничены мембранами. Они образуются путем разделения жидких фаз и позволяют клетке пространственно ограни-

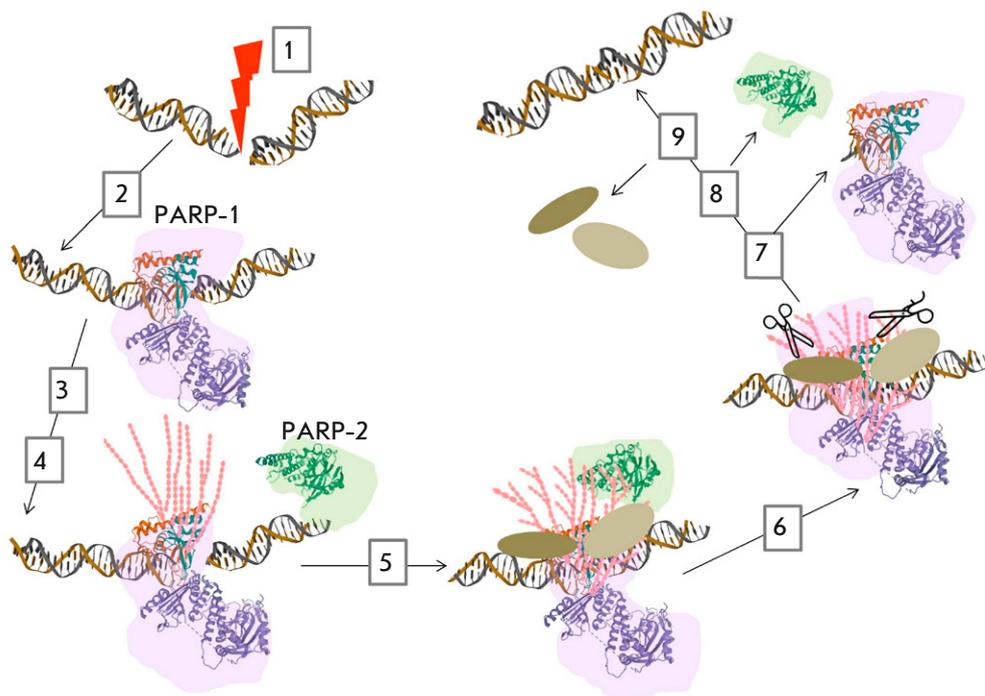


Рис. 3. Схема совместной работы PARP-1 и PARP-2 при репарации поврежденной ДНК. 1) повреждение ДНК; 2) PARP-1 первым ($T_{1/2} \sim 1.6$ с) связывается в месте повреждения; 3) PARP-1 синтезирует цепочки PAR; 4) рекрутирование (через ~ 30 с) и накопление (в течение ~ 2 мин) PARP-2 в районе повреждения ДНК; 5) синтез PARP-2 вторичных цепей PAR и привлечение факторов репарации (PAR-распознающих белков); 6) деградация полимеров PAR гидролазами; 7) диссоциация PARP-1 и 8) PARP-2; 9) репарация ДНК и диссоциация факторов репарации

чивать биохимические процессы [119, 120]. Примерами немембранных органелл (биомолекулярных конденсатов), образованных в процессе фазовых переходов макромолекулярных комплексов, являются ядрышко, ядерные тельца, тельца Кахалья, ДНК-фокусы (foci), тельца PML и стрессовые гранулы. Важнейшую роль в формировании таких конденсатов играют полимеры нуклеиновых кислот и белков, имеющие домены с неупорядоченной структурой, или, как их традиционно называют, «домены низкой сложности» (low complexity domains). Такие домены характеризуются тенденцией к энергетически выгодной конденсации за счет формирования слабых, но мультивалентных взаимодействий между полимерами [110, 121–123]. Одноцепочечные нуклеиновые кислоты представляют собой идеальный мультивалентный каркас для формирования многочисленных связей с неупорядоченными белковыми доменами и образования биомолекулярных конденсатов [124, 125]. В настоящее время появляется все больше свидетельств важной роли PAR в инициации формирования таких конденсатов (рис. 4) [3]. PAR обладает достаточно простой структурой из повторяющихся мономеров, характеризующейся большой площадью связывающей поверхности, которая может распознаваться различными белками. Адениновые основания PAR находятся в антиконформации, что делает их доступными для возможного взаимодействия с другими молекулами [126]. Кроме того, для PAR характерна активная кинетика синтеза и деградации, что позволяет PAR служить временным каркасом для инициации молекулярных конденсатов, а затем разрушения этих структур, что обеспечивает быстрые фазовые переходы «по требованию» (в ответ на изменения микроокружения). Несколько научных групп показали, что PAR индуцирует регулируемое

образование молекулярных конденсатов путем рекрутирования белков, содержащих домены с неупорядоченной структурой [38, 59, 127, 128]. Возможно, что длина, ветвление и концентрация PAR влияют на формирование таких молекулярных конденсатов через изменение площади каркаса, доступного для связывания белков. Электростатическое взаимодействие между PAR и белками, имеющее решающее значение для разделения фаз, может быть нарушено внесением отрицательного заряда в белки (например, путем их регуляторного фосфорилирования) [75].

Показано, что PAR участвует в организации жидкофазных немембранных органелл, таких, как ядрышко, стрессовые гранулы и фокусы ДНК (центры повреждения ДНК) [3, 38, 129]. Описан механизм формирования немембранных репарационных компартментов, опосредованный взаимодействием неупорядоченных доменов FUS с PAR [127]. Такие компартменты способствуют достижению высокой эффективности процесса репарации за счет локального концентрирования белков репарации и изоляции поврежденной ДНК от неповрежденной [75, 127, 130].

Другие жидкофазные немембранные компартменты, связанные с PAR – рибонуклеопротеиновые структуры – стрессовые гранулы и Р-тельца (рис. 4). Эти образования участвуют в метаболизме РНК, включая контроль стабильности и трансляции мРНК [131]. Поли(ADP-рибозил)ирование служит важным регулятором динамики рибонуклеопротеиновых структур. При длительном стрессе и чрезмерной активации синтеза PAR образование рибонуклеопротеиновых комплексов приобретает патологический характер, приводя к формированию нерастворимых агрегатов.

Механизм фазового перехода с участием PAR обеспечивает создание временных транскрипцион-

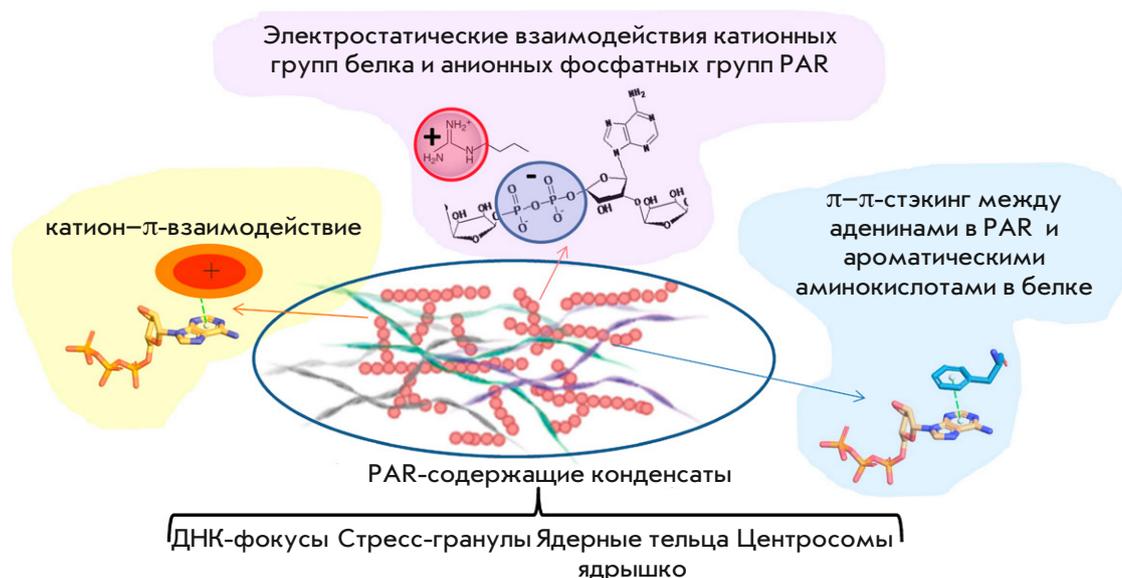


Рис. 4. PAR-зависимые биомолекулярные конденсаты, образующиеся посредством фазового расслоения, и взаимодействия PAR-белок, стабилизирующие эти конденсаты

ных комплексов на экспрессируемых генах за счет С-концевого домена (CTD) РНК-полимеразы II, который содержит домен с неупорядоченной структурой, способный к мультивалентным взаимодействиям [132–134]. Фосфорилирование CTD высвобождает РНК-полимеразу II из таких транскрипционных комплексов. Известно, что PARP-1 локализуется вблизи промоторов экспрессируемых генов, его активность стимулирует посттрансляционные модификации, способствующие транскрипции, а также вытесняет гистон H1, повышая тем самым доступность промоторов ДНК [135, 136]. Таким образом, образование временных конденсатов транскрипционных комплексов способствует локальному формированию активной транскрипционной среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из механизмов адаптации и запуска необходимых процессов в клетке в ответ на различные стрессовые стимулы является синтез PAR – полимерных структур различной длины, подобных нуклеиновым кислотам. Несмотря на то что последовательность PAR не кодирует информацию как ДНК или РНК, тем не менее, длина и структура полимеров PAR формируют PAR-код, который распознается множеством белков, участвующих в процессах репарации, транскрипции и организации структуры хроматина. Уровень PAR в клетках непостоянен, он строго контролируется ферментами, синтезирующими, распоз-

нающими и гидролизующими PAR. Жидкофазные биомолекулярные компартменты, в которых PAR выступает в качестве каркаса, на котором конденсируются белки, имеющие домены с неупорядоченной структурой, и их партнеры собираются для повышения эффективности определенных биохимических процессов, например, транскрипции, репарации, биогенеза РНК, а затем оперативно разбираются после гидролиза PAR. Нарушение метаболизма PAR сопряжено с развитием патологических процессов в организме, приводящих к опухолевым, сердечно-сосудистым и нейродегенеративным заболеваниям, а также к преждевременному старению. Поэтому белки, модулирующие PAR-код, считаются важными мишенями для таргетной терапии. Действительно, несколько ингибиторов PARP уже успешно применяют в качестве противоопухолевых средств, а другие разрабатываются и проходят тестирование. Не менее перспективными мишенями представляются ферменты, гидролизующие PAR. Рассматриваются также возможности применения соединений, контролирующих уровень PAR, в терапии неонкологических заболеваний. ●

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-54-33045).

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Chambon P, Weill J.D., Mandel P. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1963. V. 11. P. 39–43.
- Gupte R., Liu Z., Kraus W.L. // Genes Dev. 2017. V. 31. № 2. P. 101–126.
- Luscher B., Butepage M., Ecker L., Krieg S., Verheugd P., Shilton B.H. // Chem. Rev. 2018. V. 118. № 3. P. 1092–1136.
- Kraus W.L. // Genes Dev. 2020. V. 34. № 5–6. P. 251–253.
- Sutcu H.H., Matta E., Ishchenko A.A. // J. Mol. Biol. 2020. V. 432. P. 1769–1791.
- O'Sullivan J., Tedim Ferreira M., Gagne J.P., Sharma A.K., Hendzel M.J., Masson J.Y., Poirier G.G. // Nat. Commun. 2019. V. 10. № 1. P. 1182.
- Liu C., Vyas A., Kassab M.A., Singh A.K., Yu X. // Nucl. Acids Res. 2017. V. 45. № 14. P. 8129–8141.
- Kim M.Y., Zhang T., Kraus W.L. // Genes Dev. 2005. V. 19. № 17. P. 1951–1967.
- Luo X., Kraus W.L. // Genes Dev. 2012. V. 26. P. 417–432.
- Vyas S., Chang P. // Nat. Rev. Cancer. 2014. V. 14. № 7. P. 502–509.
- Kashima L., Idogawa M., Mita H., Shitashige M., Yamada T., Ogi K., Suzuki H., Toyota M., Ariga H., Sasaki Y. // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. № 16. P. 12975–12984.
- Kim S., Kwon S.H., Kam T.I., Panicker N., Karuppagounder S.S., Lee S., Lee J.H., Kim W.R., Kook M., Foss C.A., et al. // Neuron. 2019. V. 103. № 4. P. 627–641 e627.
- Marti J.M., Fernandez-Cortes M., Serrano-Saenz S., Zamudio-Martinez E., Delgado-Bellido D., Garcia-Diaz A., Oliver F.J. // Cancers (Basel). 2020. V. 12. № 3. P. 739–765.
- Grimaldi G., Catara G., Palazzo L., Corteggio A., Valente C., Corda D. // Biochem. Pharmacol. 2019. V. 167. P. 64–75.
- Nilov D., Maluchenko N., Kurgina T., Pushkarev S., Lys A., Kutuzov M., Gerasimova N., Feofanov A., Svedas V., Lavrik O., Studitsky V.M. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 6. P. E2159.
- Malyuchenko N.V., Kotova E.Y., Kulaeva O.I., Kirpichnikov M.P., Studitskiy V.M. // Acta Naturae. 2015. V. 7. № 3. P. 27–37.
- Masutani M., Fujimori H. // Mol. Aspects Med. 2013. V. 34. № 6. P. 1202–1216.
- Terada M., Fujiki H., Marks P.A., Sugimura T. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. № 12. P. 6411–6414.
- Min A., Im S.A. // Cancers (Basel). 2020. V. 12. № 2. P. 394–410.
- Patel M., Nowsheen S., Maraboyina S., Xia F. // Cell Biosci. 2020. V. 10. P. 35.
- Nilov D.K., Tararov V.I., Kulikov A.V., Zakharenko A.L., Gushchina I.V., Mikhailov S.N., Lavrik O.I., Švedas V.K. // Acta Naturae. 2016. V. 8. № 2. P. 108–115.
- Sherstyuk Y.V., Ivanisenko N.V., Zakharenko A.L., Sukhanova M.V., Peshkov R.Y., Eltsov I.V., Kutuzov M.M., Kurgina T.A., Belousova E.A., Ivanisenko V.A., et al. // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 21. № 1. P. 214–239.
- Liu Z K.W. // Mol. Cell. 2017. V. 65. № 4. P. 589–603 e589.
- Yoo Y.D., Huang C.T., Zhang X., Lavaute T.M., Zhang S.C. // Stem Cells. 2011. V. 29. № 12. P. 1975–1982.
- Chiou S.H., Jiang B.H., Yu Y.L., Chou S.J., Tsai P.H., Chang W.C., Chen L.K., Chen L.H., Chien Y., Chiou G.Y. // J. Exp. Med. 2013. V. 210. № 1. P. 85–98.

26. Shilovsky G.A., Shram S.I., Morgunova G.V., Khokhlov A.N. // *Biochemistry (Moscow)*. 2017. V. 82. № 11. P. 1391.
27. Burkle A., Diefenbach J., Brabeck C., Beneke S. // *Pharmacol. Res.* 2005. V. 52. № 1. P. 93–99.
28. Muiras M.L., Muller M., Schachter F., Burkle A. // *J. Mol. Med. (Berlin)*. 1998. V. 76. № 5. P. 346–354.
29. Deschenes F., Massip L., Garand C., Lebel M. // *Hum. Mol. Genet.* 2005. V. 14. № 21. P. 3293–3308.
30. Thorslund T., von Kobbe C., Harrigan J.A., Indig F.E., Christiansen M., Stevnsner T., Bohr V.A. // *Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 25. № 17. P. 7625–7636.
31. Henning R.J., Bourgeois M., Harbison R.D. // *Cardiovasc. Toxicol.* 2018. V. 18. № 6. P. 493–506.
32. Cao S., Sun Y., Wang W., Wang B., Zhang Q., Pan C., Yuan Q., Xu F., Wei S., Chen Y. // *J. Cell. Mol. Med.* 2019. V. 23. № 10. P. 6897–6906.
33. Rao P.D., Sankrityayan H., Srivastava A., Kulkarni Y.A., Mulay S.R., Gaikwad A.B. // *Drug Discov. Today*. 2020. V. 25. № 7. P. 1253–1261.
34. Berger N.A., Besson V.C., Boulares A.H., Burkle A., Chiarugi A., Clark R.S., Curtin N.J., Cuzzocrea S., Dawson T.M., Dawson V.L., et al. // *B. J. Pharmacol.* 2018. V. 175. № 2. P. 192–222.
35. D'Amours D., Desnoyers S., D'Silva I., Poirier G.G. // *Biochem. J.* 1999. V. 342. P. 249–268.
36. Hottiger M.O., Hassa P.O., Luscher B., Schuler H., Koch-Nolte F. // *Trends Biochem. Sci.* 2010. V. 35. № 4. P. 208–219.
37. Burkle A. // *FEBS J.* 2005. V. 272. № 18. P. 4576–4589.
38. Leung A.K.L. // *Trends Cell Biol.* 2020. V. 30. № 5. P. 370–383.
39. Karlberg T., Langelier M.F., Pascal J.M., Schuler H. // *Mol. Aspects Med.* 2013. V. 34. № 6. P. 1088–1108.
40. Rolli V., O'Farrell M., Menissier de Murcia J., de Murcia G. // *Biochemistry*. 1997. V. 36. № 40. P. 12147–12154.
41. Vyas S., Matic I., Uchima L., Rood J., Zaja R., Hay R.T., Ahel I., Chang P. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 4426.
42. Shieh W.M., Ame J.C., Wilson M.V., Wang Z.Q., Koh D.W., Jacobson M.K., Jacobson E.L. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. № 46. P. 30069–30072.
43. Ame J.C., Rolli V., Schreiber V., Niedergang C., Apiou F., Decker P., Höger T., de Murcia J.M., de Murcia G. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 25. P. 17860–17868.
44. Huber A., Bai P., de Murcia J.M., de Murcia G. // *DNA Repair (Amst.)*. 2004. V. 3. № 8–9. P. 1103–1108.
45. Menissier de Murcia J., Ricoul M., Tartier L., Niedergang C., Huber A., Dantzer F., Schreiber V., Amé J.C., Dierich A., LeMeur M., et al. // *EMBO J.* 2003. V. 22. № 9. P. 2255–2263.
46. Tulin A.S., Spradling A. // *Science*. 2003. V. 299. P. 560–562.
47. Slade D.D.M., Barkauskaite E., Weston R., Lafite P., Dixon N., Ahel M., Leys D., Ahel I. // *Nature*. 2011. V. 477. P. 616–620.
48. Tavassoli M., Tavassoli M.H., Shall S. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1985. V. 827. № 3. P. 228–234.
49. Tsai Y.J., Abe H., Maruta H., Hatano T., Nishina H., Sakagami H., Okuda T., Tanuma S. // *Biochem. Int.* 1991. V. 24. № 5. P. 889–897.
50. Fathers C., Drayton R.M., Solovieva S., Bryant H.E. // *Cell Cycle*. 2012. V. 11. № 5. P. 990–997.
51. Gravells P., Neale J., Grant E., Nathubhai A., Smith K.M., James D.I., Bryant H.E. // *DNA Repair (Amst.)*. 2018. V. 61. P. 25–36.
52. Chand S.N., Zarei M., Schiewer M.J., Kamath A.R., Romeo C., Lal S., Cozzitorto J.A., Nevler A., Scolaro L., Londin E., et al. // *Cancer Res.* 2017. V. 77. № 18. P. 5011–5025.
53. Slama J.T., Aboul-Ela N., Jacobson M.K. // *J. Med. Chem.* 1995. V. 38. № 21. P. 4332–4336.
54. Teloni F., Altmeyer M. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 3. P. 993–1006.
55. Krietsch J., Rouleau M., Pic E., Ethier C., Dawson T.M., Dawson V.L., Masson J.Y., Poirier G.G., Gagné J.P. // *Mol. Aspects Med.* 2013. V. 34. № 6. P. 1066–1087.
56. Pleschke J.M.K., Kleczkowska H.E., Strohm M., Althaus F.R. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 40974–40980.
57. Zhou Z.D., Chan C.H., Xiao Z.C., Tan E.K. // *Cell Adh. Migr.* 2011. V. 5. № 6. P. 463–471.
58. Kamaletdinova T., Fanaei-Kahrani Z., Wang Z.Q. // *Cells*. 2019. V. 8. № 12. P. 1625–1645.
59. Duan Y., Du A., Gu J., Duan G., Wang C., Gui X., Ma Z., Qian B., Deng X., Zhang K., et al. // *Cell Res.* 2019. V. 29. № 3. P. 233–247.
60. Žaja R., Mikoč M.A., Barkauskaite E., Ahel I. // *Biomolecules*. 2013. V. 3. № 1. P. 1–17.
61. Chen D.V., Vollmar M., Rossi M.N., Phillips C., Kraehenbuehl R., Slade D., Mehrotra P.V., von Delft F., Crosthwaite S.K., Gileadi O., Denu J.M., Ahel I. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. P. 13261–13271.
62. Alhammad Y.M.O., Fehr A.R. // *Viruses*. 2020. V. 12. № 4. P. 384–396.
63. Grunewald M.E., Chen Y., Kuny C., Maejima T., Lease R., Ferraris D., Aikawa M., Sullivan C.S., Perlman S., Fehr A.R. // *PLoS Pathog.* 2019. V. 15. № 5. P. e1007756.
64. Rack J.G., Perina D., Ahel I. // *Annu. Rev. Biochem.* 2016. V. 85. P. 431–454.
65. Ahel I., Ahel D., Matsusaka T., Clark A.J., Pines J., Boulton S.J., West S.C. // *Nature*. 2008. V. 451. P. 81–85.
66. Li G.Y., McCulloch R.D., Fenton A.L., Cheung M., Meng L., Ikura M., Koch C.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. № 20. P. 9129–9134.
67. Wang Z.M., Michaud G.A., Cheng Z., Zhang Y., Hinds T.R., Fan E., Cong F., Xu W. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. P. 235–240.
68. Kang H.C.L., Lee Y.I., Shin J.H., Andrabi S.A., Chi Z., Gagne J.P., Lee Y., Ko H.S., Lee B.D., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. P. 14103–14108.
69. Li M., Lu L.X., Yang C.Y., Wang S., Yu X. // *Genes Dev.* 2013. V. 27. № 16. P. 1752–1768.
70. Vyas S., Chesarone-Cataldo M., Todorova T., Huang Y.H., Chang P. // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. P. 2240.
71. Bock F.J., Todorova T.T., Chang P. // *Mol. Cell*. 2015. V. 58. № 6. P. 959–969.
72. Messias A.C., Sattler M. // *Acc. Chem. Res.* 2004. V. 37. № 5. P. 279–287.
73. Zhang F., Chen Y., Li M., Yu X. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111. № 20. P. 7278–7283.
74. Zhang F., Shi J., Chen S.H., Bian C., Yu X. // *Nucl. Acids Res.* 2015. V. 43. № 22. P. 10782–10794.
75. Altmeyer M., Neelsen K.J., Teloni F., Pozdnyakova I., Pellegrino S., Grofte M., Rask M.B.D., Streicher W., Jungmichel S., Nielsen M.L., et al. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 8088.
76. Chong P.A., Vernon R.M., Forman-Kay J.D. // *J. Mol. Biol.* 2018. V. 430. № 23. P. 4650–4665.
77. Thandapani P., O'Connor T.R., Bailey T.L., Richard S. // *Mol. Cell*. 2013. V. 50. P. 613–623.
78. Masuzawa T., Oyoshi T. // *ACS Omega*. 2020. V. 5. № 10. P. 5202–5208.
79. Ozdilek B.A., Thompson V.F., Ahmed N.S., White C.I., Batey R.T., Schwartz J.C. // *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 45. № 13. P. 7984–7996.
80. Koh D.W., Lawler A.M., Poitras M.F., Sasaki M., Wattler S., Nehls M.C., Stöger T., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. № 51. P. 17699–17704.
81. Andrabi S.A., Umanah G.K., Chang C., Stevens D.A., Karuppagounder S.S., Gagne J.P., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111. № 28.

- P. 10209–10214.
82. Berger N.A., Sims J.L., Catino D.M., Berger S.J. // *Princess Takamatsu Symp.* 1983. V. 13. P. 219–226.
 83. Chiarugi A. // *Trends Pharmacol. Sci.* 2002. V. 23. № 3. P. 122–129.
 84. Yu S.W., Andrabi S.A., Wang H., Kim N.S., Poirier G.G., Dawson T.M., Dawson T.D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. № 48. P. 18314–18319.
 85. Fahrner J., Kranaster R., Altmeyer M., Marx A., Burkle A. // *Nucl. Acids Res.* 2007. V. 35. № 21. P. e143.
 86. Buratowski S. // *Cell.* 1994. V. 77. № 1. P. 1–3.
 87. Alexiadis V., Waldmann T., Andersen J., Mann M., Knippers R., Gruss C. // *Genes Dev.* 2000. V. 14. № 11. P. 1308–1312.
 88. Ganz M., Vogel C., Czada C., Jorke V., Gwosch E.C., Kleiner R., Mach A.P., Zancchi F.C., Diaspro A., Kappes F., et al. // *PLoS One.* 2019. V. 14. № 8. P. e0213130.
 89. Kappes F., Fahrner J., Khodadoust M.S., Tabbert A., Strasser C., Mor-Vaknin N., Moreno-Villanueva M., Bürkle A., Markovitz D.M., Ferrando-May E. // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. № 10. P. 3245–3257.
 90. Soares L.M., Zanier K., Mackereth C., Sattler M., Valcarcel J. // *Science.* 2006. V. 312. № 5782. P. 1961–1965.
 91. Campillos M., Garcia M.A., Valdivieso F., Vazquez J. // *Nucl. Acids Res.* 2003. V. 31. № 5. P. 1571–1575.
 92. Gamble M.J., Fisher R.P. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2007. V. 14. № 6. P. 548–555.
 93. Sanden C., Jarvstrat L., Lennartsson A., Brattas P.L., Nilsson B., Gullberg U. // *Mol. Cancer.* 2014. V. 13. P. 215.
 94. Wise-Draper T.M., Allen H.V., Jones E.E., Habash K.B., Matsuo H., Wells S.I. // *Mol. Cell. Biol.* 2006. V. 26. № 20. P. 7506–7519.
 95. Broxmeyer H.E., Mor-Vaknin N., Kappes F., Legendre M., Saha A.K., Ou X., O'Leary H., Capitano M., Cooper S., Markovitz D.M. // *Stem Cells.* 2013. V. 31. № 8. P. 1447–1453.
 96. Mor-Vaknin N., Rivas M., Legendre M., Mohan S., Yuanfan Y., Mau T., Johnson A., Huang B., Zhao L., Kimura Y., et al. // *Arthritis Rheumatol.* 2018. V. 70. № 4. P. 594–605.
 97. Fahrner J., Popp O., Malanga M., Beneke S., Markovitz D.M., Ferrando-May E., Bürkle A., Kappes F. // *Biochemistry.* 2010. V. 49. № 33. P. 7119–7130.
 98. Malanga M., Atorino L., Tramontano F., Farina B., Quesada P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1399. № 2–3. P. 154–160.
 99. Althaus F.R. // *J. Cell. Sci.* 1992. V. 102 (Pt 4). P. 663–670.
 100. Thomas C., Ji Y., Wu C., Datz H., Boyle C., MacLeod B., Patel S., Ampofo M., Currie M., Harbin J., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019. V. 116. № 20. P. 9941–9946.
 101. 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. // *AIMS Genet.* 2017. V. 4. № 1. P. 21–31.
 102. Maluchenko N.V., Sultanov D.S., Kotova E.Y., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M., Feofanov A.V. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2019. V. 489. № 1. P. 377–379.
 103. Maluchenko N.V., Kulaeva O.I., Kotova E., Chupyrkina A.A., Nikitin D.V., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M. // *Mol. Biol. (Moscow).* 2015. V. 49. № 1. P. 1–15.
 104. Popp O., Veith S., Fahrner J., Bohr V.A., Burkle A., Mangerich A. // *ACS Chem. Biol.* 2013. V. 8. № 1. P. 179–188.
 105. Lebel M., Monnat R.J., Jr. // *Ageing Res. Rev.* 2018. V. 41. P. 82–97.
 106. Orlovetskie N., Serruya R., Abboud-Jarrous G., Jarrous N. // *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* 2017. V. 1867. № 1. P. 42–48.
 107. D'Annessa I., Coletta A., Desideri A. // *Biopolymers.* 2014. V. 101. № 1. P. 78–86.
 108. Miwa M., Saikawa N., Yamaizumi Z., Nishimura S., Sugimura T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979. V. 76. № 2. P. 595–599.
 109. Chen Q., Kassab M.A., Dantzer F., Yu X. // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 3233.
 110. Alemasova E.E., Lavrik O.I. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 8. P. 3811–3827.
 111. Sukhanova M.V., Abrakhi S., Joshi V., Pastre D., Kutuzov M.M., Anarbaev R.O., Curmi P.A., Hamon L., Lavrik O.I. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 6. P. e60.
 112. Mehrotra P.V., Ahel D., Ryan D.P., Weston R., Wiechens N., Kraehenbuehl R., Hughes T.O., Ahel I. // *Mol. Cell.* 2011. V. 41. № 1. P. 46–55.
 113. Riccio A.A., Cingolani G., Pascal J.M. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 4. P. 1691–1702.
 114. Aravind L., Koonin E.V. // *Trends Biochem. Sci.* 2000. V. 25. № 3. P. 112–114.
 115. Ali A.A., Timinszky G., Arribas-Bosacoma R., Kozlowski M., Hassa P.O., Hassler M., Ladurner A.G., Pearl L.H., Oliver A.W. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012. V. 19. № 7. P. 685–692.
 116. Haince J.F., McDonald D., Rodrigue A., Dery U., Masson J.Y., Hendzel M.J., Poirier G.G. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 1197–1208.
 117. Langelier M.F., Planck J.L., Roy S., Pascal J.M. // *Science.* 2012. V. 336. P. 728–732.
 118. Mortusewicz O., Ame J.C., Schreiber V., Leonhardt H. // *Nucl. Acids Res.* 2007. V. 35. № 22. P. 7665–7675.
 119. Zhang H., Ji X., Li P., Liu C., Lou J., Wang Z., Wen W., Xiao Y., Zhang M., Zhu X. // *Sci. China Life Sci.* 2020. V. 63. № 7. P. 953–985.
 120. Gao X.M., Zhang Z.H. // *Yi Chuan.* 2020. V. 42. № 1. P. 45–56.
 121. Banani S.F., Rice A.M., Peeples W.B., Lin Y., Jain S., Parker R., Rosen M.K. // *Cell.* 2016. V. 166. № 3. P. 651–663.
 122. Li P., Banjade S., Cheng H.C., Kim S., Chen B., Guo L., Llaguno M., Hollingsworth J.V., King D.S., Banani S.F., et al. // *Nature.* 2012. V. 483. № 7389. P. 336–340.
 123. Nakashima K.K., Vibhute M.A., Spruijt E. // *Front Mol. Biosci.* 2019. V. 6. P. 21.
 124. Yamamoto T., Yamazaki T., Hirose T. // *Soft Matter.* 2020. V. 16. № 19. P. 4692–4698.
 125. Kohata K., Miyoshi D. // *Biophys. Rev.* 2020. V. 12. № 19. P. 669–676.
 126. Schultheisz H.L., Szymczyna B.R., Williamson J.R. // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. № 40. P. 14571–14578.
 127. Singatulina A.S., Hamon L., Sukhanova M.V., Desforges B., Joshi V., Bouhss A., Lavrik O.I., Pastré D. // *Cell Rep.* 2019. V. 27. № 6. P. 1809–1821 e1805.
 128. McGurk L., Gomes E., Guo L., Mojsilovic-Petrovic J., Tran V., Kalb R.G., Shorter J., Bonini N.M. // *Mol. Cell.* 2018. V. 71. № 5. P. 703–717 e709.
 129. Leung A.K. // *J. Cell. Biol.* 2014. V. 205. № 5. P. 613–619.
 130. Mastrocola A.S., Kim S.H., Trinh A.T., Rodenkirch L.A., Tibbetts R.S. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. № 34. P. 24731–24741.
 131. Balagopal V., Parker R. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2009. V. 21. № 3. P. 403–408.
 132. Boehning M., Dugast-Darzacq C., Rankovic M., Hansen A.S., Yu T., Marie-Nelly H., McSwiggen D.T., Kokic G., Dailey G.M., Cramer P., et al. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2018. V. 25. № 9. P. 833–840.
 133. Lu H., Liu R., Zhou Q. // *Transcription.* 2019. V. 10. № 3. P. 157–163.
 134. Portz B., Shorter J. // *Trends Biochem. Sci.* 2020. V. 45. № 1. P. 1–3.
 135. Krishnakumar R., Kraus W.L. // *Mol. Cell.* 2010. V. 39. № 5. P. 736–749.
 136. Nalabothula N., Al-jumaily T., Eteleeb A.M., Flight R.M., Xiaorong S., Moseley H., Rouchka E.C., Fondufe-Mittendorf Y.N. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 8. P. e0135410.