

## **PARP3 является потенциальным участником процесса регуляции структуры хроматина**

Украинцев А.\*, Кутузов М., Белоусова Е., Лаврик О.

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

\* alan.ukraintsev@gmail.com

**Ключевые слова:** нуклеосома; PARP1; PARP2; PARP3; АСМ

**Мотивация и цель:** В клетке ДНК находится в составе высокоорганизованного белок-нуклеинового комплекса – хроматина. Первым уровнем упаковки ДНК в составе хроматина является нуклеосома – комплекс, в котором ДНК обернута вокруг гистонов. ДНК-зависимые белки семейства ARTD – PARP1, PARP2, PARP3, принимают активное участие во многих клеточных процессах, связанных с хранением и передачей наследственной информации. Однако накоплено мало данных о природе взаимодействия белков PARP1/2/3 с нуклеосомой. Целью работы является изучить влияние этих трех белков на структуру нуклеосомы с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ).

**Методы и алгоритмы:** Модельная нуклеосома была реконструирована согласно [1] и состояла из ДНК длиной 346 п.н., содержащей нуклеосом-позиционирующую последовательность Clone 603 длиной 147 п. н. и два линкерных участка длиной 120 и 79 п. н., и октамерного комплекса гистонов – H2A, H2B, H3, H4.

В АСМ-исследованиях использовались слюдяные подложки. Для иммобилизации биологических образцов поверхность слюды модифицировали аминопропил силатраном. Сканирование модифицированной поверхности слюды с иммобилизованным препаратом проводили в режиме TappingMode на микроскопе Scanning Probe Microscope (Multimode 8, Veeco-Brucer, США). Обработку изображений и измерение геометрических параметров проводили с использованием программного обеспечения Gwyddion (v. 2.58) и ImageJ (v. 1.53e).

**Результаты:** Установлено, что белки PARP1/2/3 взаимодействуют с используемым в работе нуклеосомным субстратом. Оказалось, что все три белка взаимодействуют с модельной нуклеосомой в области входа-выхода линкерной ДНК из нуклеосомного диска. Обнаружено, что белок PARP3 уплотняет нуклеосому и при этом стабилизирует ее структуру. С белками PARP1/2 существенного влияния на компактизацию нуклеосомы обнаружено не было [2].

**Выводы:** Полученные результаты демонстрируют различные эффекты связывания белков PARP1/2/3 с модельным нуклеосомным субстратом. Новые данные о влиянии белка PARP3 на геометрию нуклеосомы позволяют предположить наличие функциональной активности в регуляции структуры хроматина этого белка.

**Финансирование:** Исследование поддержано РНФ (№ 22-74-10059).

# PARP3 is a potential participant in the regulation of chromatin structure

Ukrainitsev A.\*, Kutuzov M., Belousova E., Lavrik O.

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

\* alan.ukraitsev@gmail.com

**Key words:** nucleosome; PARP1; PARP2; PARP3; AFM

**Motivation and Aim:** In a cell, DNA is contained in a highly organized protein-nucleic acid complex – chromatin. The first level of DNA packaging within chromatin is the nucleosome, a complex in which DNA is wrapped around histones. DNA-dependent proteins of the ARTD family – PARP1, PARP2, PARP3 – are actively involved in many cellular processes associated with the storage and transmission of hereditary information. However, little data has been accumulated on the nature of the interaction of the PARP1/2/3 proteins with the nucleosome. The goal of the work is to study the effect of these three proteins on the structure of the nucleosome using atomic force microscopy (AFM).

**Methods and Algorithms:** The model nucleosome was reconstitution according to [1] and consisted of DNA 346 bp long, containing the Clone 603 nucleosome positioning sequence 147 bp long and two linker regions 120 and 79 bp long, and an octamer histone complex – H2A, H2B, H3, H4.

Mica substrates were used in AFM studies. To immobilize biological samples, the mica surface was modified with aminopropyl silatrane. Scanning of the modified mica surface with the immobilized substance was carried out in TappingMode mode on a Scanning Probe Microscope (Multimode 8, Veeco-Bruker, USA). Image processing and measurement of geometric parameters were carried out using Gwyddion (v. 2.58) and ImageJ (v. 1.53e) software.

**Results:** It was established that PARP1/2/3 proteins interact with the nucleosomal substrate used in the work. It turned out that all three proteins interact with the model nucleosome in the region linker DNA entry-exit site of the nucleosome disk. Moreover, it was discovered that the PARP3 protein compacts the nucleosome and at the same time stabilizes its structure. No significant effect on nucleosome compaction was found with PARP1/2 proteins [2].

**Conclusion:** The results obtained demonstrate the different effects of binding of PARP1/2/3 proteins to a model nucleosomal substrate. New data on the influence of the PARP3 protein on nucleosome geometry suggest the presence of functional activity in the regulation of the chromatin structure of this protein.

**Funding:** The study is supported RSF (No. 22-74-10059).

## *Список литературы/References*

1. Kutuzov M.M., Kurgina T.A., Belousova E.A., Khodyreva S.N., Lavrik O.I. Optimization of nucleosome assembly from histones and model DNAs and estimation of the reconstitution efficiency. *Biopolym Cell*. 2019;35:91-98
2. Ukrainitsev A., Kutuzov M., Belousova E., Joyeau M., Golyshev V., Lomzov A., Lavrik O. PARP3 Affects Nucleosome Compaction Regulation. *Int J Mol Sci*. 2023;24(10):9042. doi 10.3390/ijms24109042