

УДК 577.29

НОКАУТ ПО ГЕНУ *PARP1* ПОДАВЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК

© 2023 г. А. Л. Захаренко¹, А. А. Малахова^{1,2,3}, Н. С. Дырхеева^{1,**},
Л. С. Огорокова⁴, С. П. Медведев^{1,2,3}, С. М. Закиян^{1,2,3}, М. Р. Кабилов¹,
А. А. Тупикин¹, академик РАН О. И. Лаврик^{1,*}

Поступило 21.11.2022 г.
После доработки 14.12.2022 г.
Принято к публикации 14.12.2022 г.

Изучено влияние нокаута по гену *PARP1* в клетках НЕК293 на экспрессию генов белков эксцизионной репарации оснований ДНК (base excision repair, BER). Показано, что экспрессия всех дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) BER снижена под действием нокаута. Наиболее сильно изменилась экспрессия гена ДНК-гликозилазы NEIL1, которая считается одним из общих “узлов” для связывания белков BER. Также значительно снижена экспрессия генов вспомогательных субъединиц ДНК-полимераз δ и ϵ . Полученная нами линия клеток с нокаутом по гену *PARP1* представляет собой адекватную клеточную модель для изучения активности процесса BER в отсутствие *PARP1* и тестирования препаратов, направленных на ингибирование процессов репарации. Впервые обнаружено, что при нокауте гена *PARP1* происходит значительное изменение уровня экспрессии белков, ответственных за биогенез рибосом и функционирование протеасомы.

Ключевые слова: *PARP1*, *PARP1* нокаут, ДЭГ, эксцизионная репарация оснований ДНК
DOI: 10.31857/S2686738922600959, **EDN:** UNDXZB

Поли(АДФ-рибозо)полимераза 1 (*PARP1*) – наиболее широко представленный член обширного семейства *PARP*, который присутствует в ядре и в меньшей степени в цитозоле клетки [1]. *PARP1* катализирует синтез полимера поли(АДФ-рибозы) (PAR) с использованием в качестве субстрата НАД⁺. PAR представляет собой разветвленный полимер длиной до 200 звеньев, который переносится на белки-мишени, ковалентно присоединяется к ним в качестве посттрансляционной модификации, в том числе к самой *PARP1* (автопарилирование), а также к ДНК и РНК [2–4]. PAR-илирование – это немедленная реакция клеток на повреждение ДНК, играю-

щая важную роль в поддержании целостности генома и выживании клетки [2, 5]. *PARP1* контролирует множество процессов в клетке путем посттрансляционной модификации белков-мишеней, прямых белок-белковых взаимодействий, с помощью свободного полимера PAR, а также через участие в метаболизме НАД⁺ [2, 6]. Кроме того, *PARP1* вовлечен в процессы деконденсации хроматина [7].

PARP1 – ключевой регулятор процесса эксцизионной репарации оснований (base excision repair, BER), ответственного за устранение повреждений ДНК, не нарушающих структуру ДНК (повреждения или потеря азотистых оснований, одноцепочечные разрывы) [8, 9]. BER обнаружен у всех организмов и устраняет повреждения ДНК как в ядерном, так и в митохондриальном геноме. Ферменты BER образуют временные комплексы разного состава в зависимости от типа повреждения, возникающего в ходе этого динамического процесса, происходящего с переносом поврежденной ДНК от одного комплекса к другому [9]. Доступ к повреждениям ДНК в структуре хроматина и сборка белковых комплексов BER требуют дополнительного уровня регуляции и координации. Эту роль выполняют посттрансляционные модификации, в том числе PAR-илирование. В первую очередь BER инициируется одной из

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение “НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина” Минздрава России, Новосибирск, Россия

⁴ ООО “АкадемДжин”, Новосибирск, Россия

*e-mail: lavrik@niboch.nsc.ru

**e-mail: dyrkheeva.n.s@gmail.com

одиннадцати селективных к повреждению ДНК-гликозилаз [10, 11]. Кроме того, BER также может включать несколько путей, которые реализуются в зависимости от типа повреждения, включая репарацию одноцепочечных разрывов (SSBR), где остов ДНК уже расщеплен, и инцизионную репарацию нуклеотидов (NIR) – второстепенный путь, в котором APE1 инициирует независимую от ДНК-гликозилаз репарацию окисленных оснований [12, 13]. Все эти пути работают одновременно с активацией PARP1 (при возможном участии PARP2), что приводит к ковалентной модификации (PAR-илированию) белков, акцептирующих PAR и к PAR-зависимому рекрутированию основных белков-участников репарации к месту повреждения на ДНК [8, 9].

Клетки и мышцы с нокаутом по гену *PARP1* выживают [14]. Вероятно, это связано с наличием в клетках фермента PARP2 [2]. Мыши с двойным нокаутом по генам *PARP1* и *PARP2* были нежизнеспособны на ранней стадии эмбриогенеза [15]. Однако было показано, что репарация поврежденной ДНК системой BER происходит менее эффективно в клетках и организмах с инактивированным геном *PARP1*, мутации *PARP1* и ингибирование этого фермента вызывают высокую степень геномной нестабильности в клетках [2]. Транскриптомный анализ мышей *Parp1*(–/–) показал, что они были защищены от колита, но эта защита была связана с перепрограммированием транскрипции в толстой кишке [16]. Ингибирование активности PARP делает мышью восприимчивыми к канцерогенным агентам в различных моделях опухолей, но нокаутные мыши не были склонны к развитию опухолей [17]. Ингибирование PARP1 низкомолекулярными аналогами NAD⁺ приводит к подавлению путей эксцизионной репарации нуклеотидов ДНК (NER) и эксцизионной репарации оснований (BER), а также стабилизирует комплекс PARP1-ДНК, что приводит к накоплению двухцепочечных разрывов [18].

В данной работе мы изучили влияние нокаута по гену *PARP1*, полученного с использованием технологии CRISPR/Cas9, на экспрессию генов BER в линии клеток HEK293. Клетки с делецией кодирующих 3–5 экзонов получали, как описано ранее [19]. ПЦР-анализ показал наличие гомозиготной делеции в целевом гене [19]. Для получения суммарной РНК клетки HEK293 дикого типа (WT) и нокаутные по *PARP1* (*PARP1*-KO) растили в шестилуночном планшете до формирования слоя 30–50% плотности (1–2 млн клеток в лунке). Для каждого типа образцов было сделано по четыре повтора. Клетки выращивали в среде DMEM/F12 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) с добавлением 1 × GlutaMAX (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 100 у.е./мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), в присут-

ствии 10% бычьей эмбриональной сыворотки (Биолот, СПб., Россия) в атмосфере 5% CO₂. РНК клеток выделяли с помощью реагента Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) согласно протоколу производителя. Количественный и качественный анализ РНК выполняли с помощью анализатора Bioanalyzer 2100 (Agilent, Santa Clara, California, USA).

Для определения влияния нокаута на экспрессию генов, после выделения мРНК с помощью NEBNext Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module (NEB, США) были приготовлены ДНК-библиотеки кДНК с использованием набора MGIEasy RNA Directional Library Prep Set (MGI Tech Co., Ltd., Китай), и секвенированы со средним покрытием 30 млн. парных прочтений длиной 100 нуклеотидов на секвенаторе MGISEQ-2000, BGI. Данные секвенирования были выровнены на геном человека (сборка hg38, аннотация ensembl v38.93) с помощью программного обеспечения (ПО) STAR-2.7.8. Для подсчета числа прочтений, картированных на гены, использовали опцию *quantModeGeneCounts* в ПО STAR. Матрица данных экспрессии генов была импортирована в R, анализ проводили с помощью пакета DESeq2. Гены с низкой экспрессией (менее 10 прочтений во всех образцах) были удалены из анализа. Для анализа главных компонент использовали VST нормализацию. Дифференциально экспрессируемые гены (ДЭГ) определяли с помощью теста Вальда. Гены считались дифференциально экспрессируемыми при *p*-value 0.01, с поправкой на множественное сравнение. Анализ обогащения сигнальных путей проводили с помощью пакета *fgsea* (*p*-value 0.001) из базы данных KEGG.

В клетках *PARP1*-KO обнаружено более чем 4000 дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) по сравнению с клетками дикого типа (уровень экспрессии 2253 генов повысился и 2079 генов понизился). Анализ обогащения сигнальных путей проводили с помощью пакета *fgsea* в базе данных KEGG. Изменилась экспрессия генов, задействованных в различных путях, в том числе в биогенезе рибосом, в процессинге и презентации антигенов, метаболизме ксенобиотиков и в других процессах, что подтверждает важную роль *PARP1* в функционировании различных процессов и поддержании клеточного гомеостаза (рис. 1). Цель наших многолетних исследований состояла в установлении роли *PARP1/2* в регуляции процесса BER, поэтому нас интересовало влияние *PARP1* нокаута на этот процесс [9]. Результаты проведенного анализа показали, что в клетках *PARP1*-KO был изменен уровень экспрессии десяти генов, кодирующих ферменты и белковые факторы BER (табл. 1).

Как видно из данных табл. 1, уровень экспрессии всех ДЭГ снизился в клетках *PARP1*-КО в той или иной степени по сравнению с клетками HEK293 дикого типа. Наиболее значительно уменьшилась экспрессия ДНК-гликозилазы NEIL1, четвертой субъединицы ДНК-полимеразы ϵ POLE4 и четвертой субъединицы ДНК-полимеразы δ POLD4.

Мы построили сеть белок-белковых взаимодействий (protein-protein interaction, PPI) для ДЭГ (табл. 1) с использованием инструмента Cytoscape 3.7.2 (Институт системной биологии, США). Сеть PPI была построена с минимальной требуемой оценкой взаимодействия 0.7. Мы обнаружили, что FEN1 и NEIL1 являются основными узлами такого взаимодействия (рис. 2). Четыре из ДЭГ являются генами, кодирующими ДНК-гликозилазы (NEIL1, SMUG1, MPG, NEIL3), и четыре – субъединицы ДНК-полимераз (POLE4, POLD2, POLD4, POLB).

Гликозилаза NEIL1 (Nei Like DNA Glycosylase 1) инициирует BER, удаляя поврежденные азотистые основания, главным образом, окисленные пиримидины [21]. Ранее было показано, что NEIL1 физически взаимодействует с PARP1, связываясь своим С-концевым доменом с BRCT-доменом PARP1, и это взаимодействие приводит к подавлению активности NEIL1 независимо от активации PARP1 и синтеза PAR [20]. Авторы этой работы изучили также влияние на активность NEIL1 свободной PAR, ДНК-связывающего, каталитического и BRCT-доменов PARP1 и пришли к выводу, что за этот эффект ответственны именно белок-белковые взаимодействия. PARP1 связывается с аминокислотными остатками 289–390, локализованными в С-концевом домене NEIL1 [20]. Этот регион служит “хабом” для связывания других белков, участвующих в последующих этапах BER, включая FEN1, ДНК-полимеразу β (Pol β), LigIII α и PCNA [22–24]. Наши

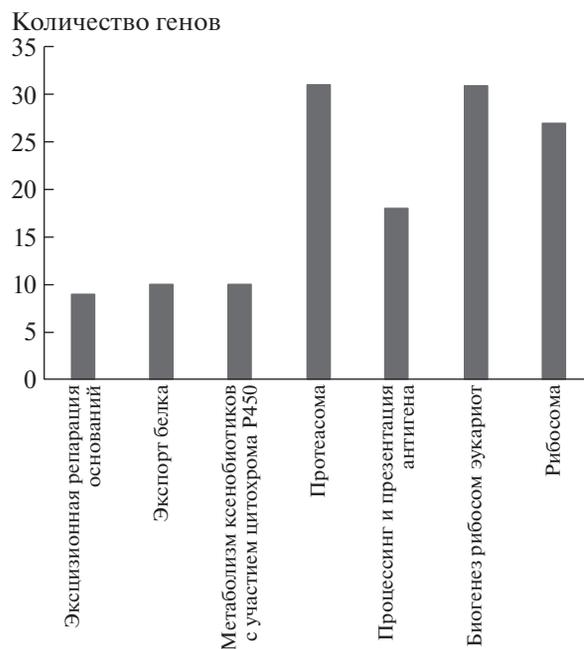


Рис. 1. Сигнальные пути, наиболее сильно изменившиеся под действием нокаута по гену *PARP1* в клетках HEK293 согласно данным базы KEGG.

данные поддерживают идею, высказанную авторами работы [20] о том, что NEIL1 действует как некий общий интерфейс для связывания белков BER.

SMUG1 (Single-Strand-Selective Monofunctional Uracil-DNA Glycosylase 1) – ДНК-гликозилаза, удаляющая урацил из одно- и двухцепочечной ДНК [25, 26]. MPG (N-Methylpurine DNA Glycosylase) – ДНК-гликозилаза, узнающая в ДНК и удаляющая алкилированные и дезаминированные пурины [27]. NEIL3 – ДНК-гликозилаза из семейства Fpg/Nei, имеющая лиазную актив-

Таблица 1. Гены, участвующие в процессе эксцизионной репарации оснований ДНК, изменившие уровень экспрессии в клетках *PARP1*-КО

Название	Transcript.ID	log2FoldChange	p-value	p-adj
PARP1	ENSG00000143799	-4.382	0.0e+00	0.0e+00
NEIL1	ENSG00000140398	-2.04	6.1e-17	5.3e-15
POLE4	ENSG00000115350	-1.559	2.8e-10	7.4e-09
POLD2	ENSG00000106628	-0.736	6.0e-09	1.2e-07
SMUG1	ENSG00000123415	-0.702	1.1e-05	9.9e-05
FEN1	ENSG00000168496	-0.433	2.0e-04	0.001
POLB	ENSG00000070501	-0.566	4.0e-04	0.002
MPG	ENSG00000103152	-0.896	5.9e-04	0.003
NEIL3	ENSG00000109674	-0.535	0.004	0.017
POLD4	ENSG00000175482	-1.766	0.012	0.039

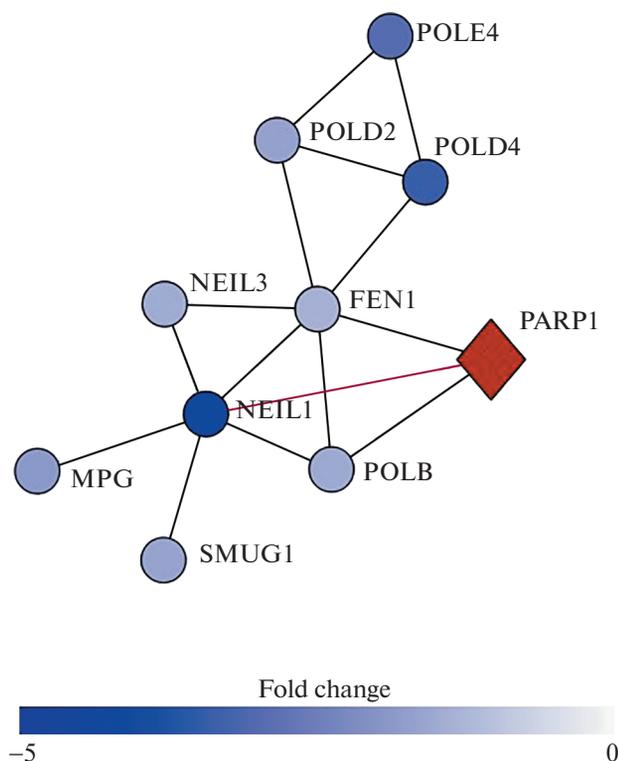


Рис. 2. Сеть белок-белковых взаимодействий PARP1-зависимых генов (синие круги), полученная с помощью инструмента STRING (минимальная требуемая оценка взаимодействия 0.7). Красный ромб – PARP1. Красным выделена связь между PARP1 и NEIL1 [20]. Интенсивность цвета узлов зависит от кратности изменения экспрессии в клетках, нокаутных по PARP1 по сравнению с клетками дикого типа. Визуализировано с помощью Cytoscape v3.7.2.

ность. Пока нет данных о взаимодействии этих гликозилаз, инициирующих BER, с PARP1.

ДНК-полимеразы δ и ϵ – репликативные полимеразы, ДНК-полимераза δ отвечает преимущественно за синтез отстающей цепи, а ДНК-полимераза ϵ – лидирующей цепи [28]. Оба эти фермента также принимают участие в длиннозаплаточном пути BER, когда синтез ДНК ведется с вытеснением цепи [29, 30], но в случае блокирующего повреждения (например, апуринового-апиримидинового сайта в матричной цепи) их способность вести синтез через такие повреждения ограничена. В случае блокировки процессивных репликативных ДНК-полимераз происходит их замена на репаративные ДНК-полимеразы [31]. Вспомогательная субъединица ДНК-полимеразы ϵ POLE4 – это гистоновый шаперон, который в комплексе с субъединицей POLE3 участвует в сборке нуклеосомы благодаря своей способности селективно связываться с гистонами H3-H4 [32, 33]. Субъединицы ДНК-полимеразы δ POLD2 и POLD4 участвуют в образовании репликативной

вилки и стабилизации репликативного комплекса [34].

Интересно, что PAR обнаруживается в нормальных клетках в S-фазе в локусах репликации ДНК, без повышенного уровня повреждений ДНК. Авторы работы [35] показали, что PARP1 является сенсором нелигированных фрагментов Оказаки во время репликации ДНК и способствует их лигированию, при этом ингибирование FEN1 (флэп-эндонуклеаза 1) способствует накоплению PAR.

FEN1 обрабатывает 5'-концы фрагментов Оказаки в репликативном синтезе отстающей цепи ДНК и удаляет выступающие 5'-концы в ходе репарации ДНК. FEN1 ингибирует синтез ДНК с вытеснением цепи на субстрате, содержащем AP-сайт в матрице, катализируемый ДНК-полимеразой δ , и необходима для синтеза с вытеснением цепи на таком же субстрате, катализируемого ДНК-полимеразой β [36]. В этой же работе показано, что ДНК-полимераза β физически взаимодействует с FEN1. Менее эффективная репарация ДНК, наблюдаемая в клеточных экстрактах с дефицитом PARP1, связана со сниженной клеточной экспрессией нескольких факторов, необходимых для длиннозаплаточной BER, включая FEN1 и ДНК-лигазу I [37]. В работе [38] показано, что синтез ДНК через повреждение (AP-сайт) требует замены репликативной ДНК-полимеразы ϵ на репаративные ДНК-полимеразы β и λ . Таким образом, в ходе длиннозаплаточной репарации функции различных ДНК-полимераз могут быть взаимозависимыми и взаимозаменяемыми. ДНК-полимераза β катализирует синтез через повреждение в присутствии ДНК-полимеразы ϵ , но требует наличия коротких брешей перед AP-сайтом. Также показано прямое взаимодействие ДНК-полимеразы β с PARP1 [39]. Вероятно, PARP1 участвует в переключении BER с одной полимеразы на другую, однако механизм влияния PARP1 на активность BER остается не до конца понятным.

В заключение следует сказать, что исследование роли PARP1 в системе BER представляет интерес как *in vitro*, так и *in vivo*. В данной работе нами показано, что уровень экспрессии некоторых генов белков – участников BER в клетках линии HEK293 с нокаутом по гену *PARP1* изменяется, что может влиять на регуляцию активности этого процесса. Полученная нами линия клеток с нокаутом по гену *PARP1* представляет собой адекватную клеточную модель для изучения процессов BER и тестирования препаратов, направленных на ингибирование процессов репарации. Показано, что уровень экспрессии генов нескольких ключевых белков – участников BER снижен в клетках полученной клеточной линии. Также представляет большой интерес обнаруженное

впервые при нокауте гена *PARP1* значительное изменение уровня экспрессии белков, ответственных за биогенез рибосом и функционирование протеасомы.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2020-773).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Karpinska A.* Quantitative analysis of biochemical processes in living cells at a single-molecule level: a case of olaparib–PARP1 (DNA repair protein) interactions. // 2021. *Analyst*. V. 146. № 23. P. 7131–7143.
2. *Ходырева С.Н., Лаврик О.И.* Поли(ADP-рибоза)полимераза 1 – ключевой регулятор репарации ДНК // Молекуляр. биология. 2016. Т. 50. С. 655–673.
3. *Xie N., Zhang L., Gao W., et al.* NAD + metabolism: pathophysiological mechanisms and therapeutic potential. // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020. V. 5. № 1. P. 227.
4. *Suskiewicz M.J., Palazzo L., Hughes R., Ahel I.* Progress and outlook in studying the substrate specificities of PARPs and related enzymes // *FEBS J*. 2021. V. 288. № 7. P. 2131–2142.
5. *Martin-Hernandez K., Rodriguez-Vargas J.M., Schreiber V., et al.* Expanding functions of ADP-ribosylation in the maintenance of genome integrity // *Cell Dev. Biol*. 2017. V. 63 P. 92–101.
6. *Lüscher B., Ahel I., Altmeyer M., et al.* ADP-ribosyltransferases, an update on function and nomenclature // *FEBS J*. 2021. V. 29. <https://doi.org/10.1111/febs.16142>
7. *Luger K., Dechassa M.L., Tremethick D.J.* New insights into nucleosome and chromatin structure: an ordered state or a disordered affair? // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2012. V. 13. № 7. P. 436–447.
8. *Saville K.M., Clark J., Wilk A., Rogers G.D., et al.* NAD+-mediated regulation of mammalian base excision repair // *DNA Repair (Amst)*. 2020. V. 93. P. 102930.
9. *Lavrik O.I.* PARPs' impact on base excision DNA repair // *DNA Repair (Amst)*. 2020. V. 93. P. 102911.
10. *Almeida K.H., Sobol R.W.* A unified view of base excision repair: lesion-dependent protein complexes regulated by post-translational modification // *DNA Repair (Amst)*. 2007. V. 6. № 6. P. 695–711.
11. *Svilar D., Goellner E.M., Almeida K.H., Sobol R.W.* Base excision repair and lesion-dependent subpathways for repair of oxidative DNA damage // *Antioxid. Redox Signal*. 2011. V. 14. P. 2491–2507.
12. *Caldecott K.W.* Mammalian DNA base excision repair: Dancing in the moonlight // *DNA Repair (Amst)*. 2020. V. 93. P. 102921.
13. *Baikun Y., Kanayeva D., Taipakova S., et al.* Role of Base Excision Repair Pathway in the Processing of Complex DNA Damage Generated by Oxidative Stress and Anticancer Drugs // *Front. Cell Dev. Biol*. 2021. V. 22. № 8. P. 617884.
14. *Vodenicharov M.D., Sallmann F.R., Satoh M.S., Poirier G.G.* Base excision repair is efficient in cells lacking poly(ADP-ribose) polymerase 1 // *Nucleic Acids Res*. 2000. V. 28. № 20. P. 3887–3896.
15. *Ménissier de Murcia J., Ricoul M., Tartier L., et al.* Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse // *EMBO J*. 2003. V. 22. № 9. P. 2255–2563.
16. *Larmonier C.B., Shehab K.W., Laubitz D., et al.* Transcriptional Reprogramming and Resistance to Colonic Mucosal Injury in Poly(ADP-ribose) Polymerase 1 (PARP1)-deficient Mice // *J. Biol. Chem*. 2016. V. 291. № 17. P. 8918–8930.
17. *Tong W.M., Cortes U., Wang Z.Q.* Poly(ADP-ribose) polymerase: a guardian angel protecting the genome and suppressing tumorigenesis // *Biochim. Biophys. Acta*. 2001. V. 1552. № 1. P. 27–37.
18. *Murai J., Huang S.N., Das B.B., et al.* Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors // *Cancer Res*. 2012. V. 72. № 21. P. 5588–5599.
19. *Dyrkheeva N.S., Filimonov A.S., Luzina O.A., et al.* New Hybrid Compounds Combining Fragments of Usnic Acid and Thioether Are Inhibitors of Human Enzymes TDP1, TDP2 and PARP1 // *Int. J. Mol. Sci*. 2021. V. 22. № 21. P. 11336.
20. *Noren Hooten N., Fitzpatrick M., Kompaniez K., et al.* Coordination of DNA repair by NEIL1 and PARP-1: a possible link to aging // *Aging (Albany NY)*. 2012. V. 4. № 10. P. 674–685.
21. *Hazra T.K., Izumi T., Boldogh I., et al.* Identification and characterization of a human DNA glycosylase for repair of modified bases in oxidatively damaged DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. V. 99. № 6. P. 3523–3528.
22. *Dou H., Theriot C.A., Das A., et al.* Interaction of the human DNA glycosylase NEIL1 with proliferating cell nuclear antigen. The potential for replication-associated repair of oxidized bases in mammalian genomes // *J. Biol. Chem*. 2008. V. 283. P. 3130–3140.
23. *Hegde M.L., Theriot C.A., Das A., et al.* Physical and functional interaction between human oxidized base-specific DNA glycosylase NEIL1 and flap endonuclease 1 // *J. Biol. Chem*. 2008. V. 283. P. 27028–27037.
24. *Wiederhold L., Leppard J.B., Kedar P., et al.* AP endonuclease-independent DNA base excision repair in human cells // *Molecular cell*. 2004. V. 15. P. 209–220.
25. *Boorstein R.J., Cummings Jr.A., Marenstein D.R., et al.* Definitive identification of mammalian 5-hydroxymethyluracil DNA N-glycosylase activity as SMUG1 // *J. Biol. Chem*. 2001. V. 276. № 45. P. 41991–41997.
26. *Haushalter K.A., Todd Stukenberg M.W., Kirschner M.W., Verdine G.L.* Identification of a new uracil-DNA glycosylase family by expression cloning using synthetic inhibitors // *Curr. Biol*. 1999. V. 9. № 4. P. 174–185.
27. *Chakravarti D., Ibeanu G.C., Tano K., Mitra S.* Cloning and expression in *Escherichia coli* of a human cDNA encoding the DNA repair protein N-methylpurine-DNA glycosylase // *J. Biol. Chem*. 1991. V. 266. № 24. P. 15710–15715. *J. Biol. Chem*. 1991 Aug 25;266(24):15710-5.

28. Kunkel T.A., Burgers P.M. Dividing the workload at a eukaryotic replication fork // *Trends Cell Biol.* 2008. V. 18. № 11. P. 521–527.
29. Hubscher U., Spadari S., Villani G., Maga G. DNA Polymerases: Discovery, Characterization, and Functions in Cellular DNA Transactions // 1st Ed. World Scientific Publishing Co. Singapore. 2010.
30. Dianov G.L., Sleeth K.M., Dianova I.I., Allinson S.L. Repair of abasic sites in DNA // *Mutat. Res.* 2003. V. 531. № 1–2. P. 157–163.
31. Waters L.S., Minesinger B.K., Wiltrout M.E., et al. Eukaryotic translesion polymerases and their roles and regulation in DNA damage tolerance // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2009. V. 73. P. 134–154.
32. Li Y., Pursell Z.F., Linn S. Identification and cloning of two histone fold motif-containing subunits of HeLa DNA polymerase epsilon // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 30. P. 23247–23252.
33. Bellelli R., Belan O., Pye V.E., et al. POLE3-POLE4 Is a Histone H3-H4 Chaperone that Maintains Chromatin Integrity during DNA Replication. *Mol. Cell.* 2018. V. 72. № 1. P. 112–126.e5.
34. Liu L., Mo J., Rodriguez-Belmonte E.M., Lee M.Y. Identification of a fourth subunit of mammalian DNA polymerase delta // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 25. P. 18739–18744.
35. Hanzlikova H., Kalasova I., Demin A.A., et al. The Importance of Poly(ADP-Ribose) Polymerase as a Sensor of Unligated Okazaki Fragments during DNA Replication // *Mol. Cell.* 2018. V. 71. № 2. P. 319–331.e3.
36. Maga G., van Loon B., Crespan E., et al. The block of DNA polymerase delta strand displacement activity by an abasic site can be rescued by the concerted action of DNA polymerase beta and Flap endonuclease 1 // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 21. P. 14267–14275.
37. Sanderson R.J., Lindahl T. Down-regulation of DNA repair synthesis at DNA single-strand interruptions in poly(ADP-ribose) polymerase-1 deficient murine cell extracts // *DNA Repair (Amst).* 2002. V. 1. № 7. P. 547–58.
38. Villani G., Hubscher U., Gironis N., et al. In vitro gap-directed translesion DNA synthesis of an abasic site involving human DNA polymerases epsilon, lambda, and beta // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 37. P. 32094–32104.
39. Моор Н.А., Лаврик О.И. Белок-белковые взаимодействия системы эксцизионной репарации оснований ДНК // *Биохимия.* 2018. Т. 83. В. 4. С. 564–576.

PARP1 GENE KNOCKOUT SUPPRESSES EXPRESSION OF DNA BASE EXCISION REPAIR GENES

A. L. Zakharenko^a, A. A. Malakhova^{a,b,c}, N. S. Dyrkheeva^{a,##}, L. S. Okorokova, S. P. Medvedev^{a,b,c}, S. M. Zakian^{a,b,c}, M. R. Kabilov^a, A. A. Tupikin^a, and Academician of the RAS O. I. Lavrik^{a,#}

^a *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

^b *Federal Research Centre Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

^c *E.N. Meshalkin National medical research center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russian Federation*

^d *AcademGene LLC, Novosibirsk, Russian Federation*

[#]*e-mail: lavrik@niboch.nsc.ru*

^{##}*e-mail: dyrkheeva.n.s@gmail.com*

The effect of *PARP1* knockout in HEK293 cells on the gene expression of DNA base excision repair (BER) proteins was studied. It was shown that the expression of all differentially expressed genes (DEGs) of BER was reduced by knockout. The expression of the DNA glycosylase gene *NEIL1*, which is considered to be one of the common “hubs” for binding BER proteins, has changed the most. The expression of genes of auxiliary subunits of DNA polymerases δ and ϵ is also significantly reduced. The *PARP1* gene knockout cell line obtained is an adequate cell model for studying the activity of the BER process in the absence of *PARP1* and testing drugs aimed at inhibiting repair processes. It has been found for the first time that knockout of the *PARP1* gene results in a significant change in the level of expression of proteins responsible for ribosome biogenesis and the functioning of the proteasome.

Keywords: *PARP1*, *PARP1* knockout, DEG, DNA Base Excision Repair