

ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН

Директор – академик Овчинников Л. П.

Показано, что в бесклеточной системе из зародышей пшеницы в процессе трансляции мРНК люциферазы формируются полисомы, имеющие форму плотно упакованных двойных рядов рибосом. Обнаружено, что такие полисомы способны многократно прочитывать свою мРНК без привлечения рибосом из пула свободных монорибосом. Это наблюдение дает экспериментальное подтверждение модели «трансляции по кругу», согласно которой терминировавшая рибосома реиницирует на той же полисоме (академик А. С. Спирин, тел. (4967) 73-0669).

Установлен механизм авторегуляции синтеза YB-1. Показано, что YB-1 ингибирует трансляцию своей мРНК на одном из ранних этапов инициации, специфически связываясь с ней в 3' нетранслируемой области и вытесняя поли(А)-связывающий белок с перекрывающегося аденин-богатого участка (академик Л.П. Овчинников).

Идентифицирован фермент, вызывающий переход многофункционального белка p50/YB-1 из цитоплазмы в клеточное ядро в условиях генотоксического стресса клеток млекопитающих. Переход происходит под действием 20S протеасомы, которая отщепляет от YB-1 С-концевой фрагмент с сигналом цитоплазматического удержания в реакции не зависящей от АТФ и убиквитинилирования белка-мишени (академик Л.П. Овчинников).

Определены и уточнены структуры регуляторных комплексов рибосомного белка L1 из *Thermus thermophilus* с 38 и 36 нуклеотидными фрагментами матричной РНК с разрешением 2,6 и 2,1 Å, соответственно. Проведено сравнение полученных структур с определенными ранее структурами комплексов архейных гомологов белка L1 с фрагментами рибосомной и матричной РНК. Показано, что во всех случаях в специфическом узнавании РНК-мишени участвует только первый домен белка L1, тогда как второй домен обеспечивает повышенное сродство к рРНК и регуляцию синтеза с использованием механизма конкуренции. Модель бактериального комплекса была встроена в модель рибосомы *Escherichia coli*, что позволило локализовать ряд дополнительных контактов этого белка с 23S рРНК со спиралью 68 и петлей между спиральями 21 и 22 23S рРНК (д.б.н., проф. М. Б. Гарбер, д.б.н., проф. С. В. Никонов).

Показано, что в упаковках α -спиралей типа «лоб-в-лоб» в межспиральных полярных взаимодействиях участвуют, в основном, длинные боковые цепи, которые образуют солевые мостики или ионные пары, а в упаковках типа «бок-о-бок» доля таких пар намного меньше, но значительно возрастает число межспиральных водородных связей между короткими боковыми цепями (д.х.н. А. В. Ефимов).

Разработан способ клонирования и экспрессии генов *in vitro* в виде молекулярных колоний, а также скрининга молекулярных колоний по функции кодируемого белка. Метод молекулярных колоний – это метод размножения нуклеиновых кислот (РНК или ДНК) в слое геля. При этом потомство каждой молекулы образует колонию, а не распространяется по реакционному объему. Каждая колония состоит из множества (порядка миллиарда) копий родительской молекулы (то есть, является молекулярным клоном). Впервые в виде молекулярных колоний осуществлено клонирование генов, а также их экспрессия (транскрипция и трансляция). Осуществлен прямой скрининг молекулярных колоний, продуцирующих зеленый флуоресцирующий белок. Разработанный метод позволяет осуществлять вне клетки все генно-инженерные операции. В частности, он может быть использован, в качестве альтернативы фаговому дисплею, для скрининга специфических одноцепочечных антител, каталитических антител и других искусственных белков или пептидов. Преимуществами внеклеточного клонирования являются простота скрининга, гомогенность продукта экспрессии, отсутствие давления естественного (клеточного или вирусного) отбора и возможность синтеза белков и полипептидов, содержащих неприродные аминокислоты (чл.-корр. А. Б. Четверин).

Разработан метод детекции ДНК-колоний при помощи гибридизации на мембране с флуоресцентным зондом. Ранее такую гибридизацию проводили, используя радиоактивный зонд. Переход на флуоресцентные зонды делает метод анализа более технологичным и легче адаптируемым к клиническим лабораториям. Новый метод позволил повысить специфичность обнаружения остаточной болезни при лейкозе путем использования двух флуоресцентных зондов разного цвета, по одному для каждого из двух компонентов химерной РНК-мишени (маркера остаточной болезни). Если одна и та же колония гибридизуется с обоими зондами, то она содержит именно химерную ДНК (чл.-корр. А. Б. Четверин).

Основные публикации:

Книги:

Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами с решениями. М.: Книжный Дом Университет, 2005, 456 с. + 32 с. илл.

Статьи:

Барышникова Е.Н., Мельник Б.С., Семисотнов Г.В., Бычкова В.Е. Изучение кинетики сворачивания/разворачивания апомиоглобина. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 1008-1016.

Барышникова Е.Н., Шарапов М.Г., Каипаров И.А., Ильина Н.Б., Бычкова В.Е. Изучение стабильности апомиоглобина в зависимости от мочевины и температуры при двух значениях рН. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 330-335.

Басова Л.В., Тиктопуло Е.И., Бычкова В.Е. Влияние модельных фосфолипидных мембран на структуру холомиоглобина: конформационные изменения при рН 6.2. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 120-128.

Бражников Е.В., Ефимов А.В. Анализ взаимодействий спрятанных полярных боковых цепей в β -белках. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 879-886.

Бураков А.В., Коваленко О.В., Потехина Е.С., Надеждина Е.С., Зиновкина Л.А. Для сборки *in vivo* микротрубочек на центросоме интерфазных клеток необходима активность протеинкиназы LOSK (SLK). // Доклады Академии наук. 2005. Т. 403. С. 1-3.

Гарбузинский С.А., Финкельштейн А.В., Галзитская О.В. К вопросу о предсказании ядер сворачивания в глобулярных белках. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 1032-1041.

Коммер А.А., Дашкова И.Г., Есинов Р.С., Мирошников А.И. и Спирин А.С. Получение функциональноактивного проинсулина человека в бесклеточной системе трансляции. // Доклады Академии наук. 2005. Т. 401. С. 1-5.

Мельник, Б.С., Гарбузинский, С.А., Лобанов, М.Ю., Галзитская, О.В. Различия между белковыми структурами, определенными с помощью рентгеноструктурного анализа и ядерного магнитного резонанса. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 113-122.

Свадьбина И.В., Матвиенко Н.Н., Железная Л.А., Матвиенко Н.И. Определение оснований метилируемых метилазами VsoK1A и VsoK1B в сайтах 5'-СТСТТС-3'/5'-GAAGAG-3'. // Биохимия. 2005. Т. 70. С. 1363-1366.

Спирин А.С. Происхождение, возможные формы существования и размеры первозданных особей. // Палеонтологический журнал. 2005. Т. 39. С. 364-371.

Спирин А.С. Андрей Николаевич Белозерский и становление молекулярной биологии. К 100-летию со дня рождения академика А.Н. Белозерского. // Вестник Российской академии наук. 2005. Т. 75. С. 742-750.

Спирин А.С. Мир РНК и его эволюция (к 100-летию со дня рождения А.Н. Белозерского. // Мол. биол. 2005. Т. 39. С. 550-556.

Финкельштейн А.В., Иванков Д.Н., Галзитская О.В. Предсказание скоростей и ядер сворачивания глобулярных белков на основе теории их самоорганизации. // Усп. биол. химии. 2005. Т. 45. С. 33-36.

Baryshnikova E.N., Melnik B.S., Finkelstein A.V., Semisotnov G.V., Bychkova V.E. Three-state protein folding: experimental determination of free-energy profile. // *Protein Sci.*, 2005. **14**, 2658-2667.

Chetverin, A. B., Kopein, D.S., Chetverina, H. V., Demidenko, A. A., and Ugarov, V. I. Viral RNA-directed RNA polymerases use diverse mechanisms to promote recombination between RNA molecules. // *J. Biol. Chem.* 2005. **280**, 8748-8755.

Finkelstein A.V. Protein folding: Thermodynamic and kinetic aspects. // In: "Structure, Dynamics and Function of Biological Macromolecules and Assemblies", NATO Science Series: Life And Behavioral Sciences, (J.D.Puglishi, ed.), 2005, **364**: 12-27.

Galzitskaya O.V., Garbuzynskiy S.O., Finkelstein A.V. Theoretical study of protein folding: outlining folding nuclei and estimation of protein folding rates. // *Journal of Physics: Condensed Matter.* 2005. **17**, S1539-S1551.

Garbuzynskiy S.O., Melnik B.S., Lobanov M. Yu., Finkelstein A.V., Galzitskaya O.V. Comparison of X-ray and NMR structures: is there a systematic difference in residue contacts between X-ray- and NMR-resolved protein structures? // *Proteins*, 2005. **60**, 139-147.

Gongadze G., Korepanov A., Stolboushkina E., Zelinskaya N., Korobeinikova A., Ruzanov M., Eliseev B., Nikonov O., Nikonov S., Garber M. and Lim V. The crucial role of conserved intermolecular H-bonds inaccessible to the solvent in formation and stabilization of the TL5-5S rRNA complex. // *J. Biol. Chem.*, 2005. **280**:16151-16156.

Gudkov A.T., Ozerova M.V., Shiryayev V.M., Spirin A.S. 5'-polyA Sequence as an Effective Leader for Translation in Eukaryotic Cell-Free Systems // *Biotechnology and Bioengineering*, 2005. **91**, 468-473

Hansson S., Singh R., Gudkov A.T., Liljas A., Logan D.T. Structural Insights into Fusidic Acid Resistance and Sensitivity in EF-G. // *J. Mol. Biol.* 2005. **348**, 939-949

Hansson S., Singh R., Gudkov A.T., Liljas A., Logan D.T. Crystal structure of a mutant elongation factor G trapped with a GTP analogue. // *FEBS Lett.* 2005. **579**, 4492-4497

Klyachko, N. L., Shchedrina, V. A., Efimov, A. V., Kazakov, S. V., Gazaryan, I. G. 5, Kristal, B. S., Brown, A. M. pH-Dependent substrate preference of pig heart lipoamide dehydrogenase varies with oligomeric state: response to mitochondrial matrix acidification. // *J. Biol. Chem.*, 2005. **280**, 16106-16114

Morozova O.B., Hore P.J., Bychkova V.E., Sagdeev R.Z., Yurkovskaya A.V. Time-resolved CIDNP study of non-native states of bovine and human α -lactalbumins. // *J. Phys. Chem.* 2005. **B, 109**, 5912-5918.

Nevskaya N., Tishchenko S., Gabdoulkhakov A., Nikonova E., Nikonov O., Nikulin A., Platonova O., Garber M., Nikonov S. and Piendl W. Ribosomal protein L1 recognizes the same specific structural motif in its target sites on the autoregulatory mRNA and 23S rRNA. // *Nucleic Acid Res.*, 2005. **33**: 478-485.

Nikulin A., Stolboushkina E., Perederina A., Vassilieva I., Blaesi U., Moll I., Kachalova G., Vassilyev D., Yokoyama S., Garber M. and Nikonov S. The crystal structure of *Pseudomonas aeruginosa* Hfq protein. // *Acta Cryst.* 2005. **D61**: 141-146.

Potekhin S.A. & Khusainova R.S. Spin-Dependent Absorption of Water molecules. // *Biophys. Chem.* 2005. **118**, 84-87.

Samatov, T. R., Chetverina, H. V., and Chetverin, A. B. Expressible molecular colonies. // *Nucleic Acids Res.* 2005. **33**, 145.

Skabkina, O.V., Lyabin, D.N., Skabkin, M.A., and Ovchinnikov, L.P. YB-1 autoregulates translation of its own mRNA at or prior to the step of 40S ribosomal subunit joining. // *Mol. Cell. Biol.*, 2005. **25**, 3317-3323.

Sorokin, A.V., Selyutina, A.A., Skabkin, M.A., Guryanov, S.G., Nazimov, I.V., Richard, Ch., Th'ng, J., Yau, J, Sorensen, P.H.B., Ovchinnikov, L.P., and Evdokimova, V. Proteasome-mediated cleavage of the Y-box binding protein 1 is linked to DNA-damage stress response. // *EMBO J.*, 2005. **24**, 3602-3612.

Опубликовано 41 статья, в том числе 23 – в зарубежных изданиях.

Директор Института белка РАН
академик Овчинников Л. П.