

## ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН

Директор – академик Овчинников Л. П.

Показано, что эффективная инициация трансляции эукариотических мРНК может происходить без кэп-структуры, IRES-последовательности и направленного последовательного АТР-зависимого сканирования. Так же как и у прокариот, прямое связывание малых рибосомальных субъединиц с цепью мРНК, их диффузионное скольжение по мРНК и специфическая фиксация на инициаторных кодонах являются характерными чертами эукариотической инициации (академик *Спирин А.С.*).

Непрерывная пшеничная система трансляции (CECF) оптимизирована для синтеза мембранных белков. Показано, что конструкция мРНК с кэп-независимой лидерной последовательностью (5'-НТО) из мРНК обелина и 3'-НТО ВТМ обеспечивает высокую (до 1 мг/мл) эффективность синтеза белка ЕТВ (endothelin В receptor). Добавление детергентов в реакционную смесь препятствует агрегации и обеспечивает накопление синтезируемого белка в растворенной форме (академик *Спирин А.С.*).

Проведен сравнительный анализ полисом, образующихся в бесклеточных системах, транслирующих мРНК, с различными комбинациями 5'- и 3'-НТО. Показано, что формирование двурядных «циркулярных» полисом происходит в отсутствие любой из НТО, или даже обеих НТО. Высказано предположение, что в формировании двурядных «циркулярных» полисом ключевую роль играет взаимодействие рибосом между собой. Сделано предположение, что реинициация в таких полисомах происходит без узнавания 5'-конца мРНК и сканирования 5'-НТО (академик *Спирин А.С.*).

Показано, что ни увеличение содержания мРНК *УВ-1*, ни значительное повышение количества клеток с ядерной локализацией *УВ-1* не являются обязательными признаками множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) раковых клеток. Однако содержание мРНК *MDR1*, *MRP1*, *BCRP* и *LRP*, кодирующих белки МЛУ, коррелирует с содержанием мРНК *УВ-1* (академик *Овчинников Л.П.*).

Показано, что подавление репрессорной активности *УВ-1* в трансляции в результате его фосфорилирования Akt киназой при активации клеток по PI3K-Akt сигнальному пути сопровождается снижением ассоциации *УВ-1* со специфическим набором мРНК, вовлеченных в процесс роста клеток и онкогенез. Фосфорилирование *УВ-1* Akt киназой нарушает ассоциацию *УВ-1* с кэпированным концом мРНК и подавляет его способность репрессировать кэп-зависимую трансляцию мРНК *in vitro* (академик *Овчинников Л.П.*).

Разработан метод, позволяющий избирательно защищать определенные молекулы РНК от экзонуклеазы, которая полностью разрушает все остальные молекулы РНК, что позволяет исключить артефакты обратной транскрипции; метод применим к исследованию рекомбинации между определенными видами молекул в сложных смесях РНК, в том числе, внутри живых клеток (чл.-корр. РАН *Четверин А. Б.*).

Разработан метод обнаружения молекулярных колоний по мере их роста в геле (в реальном времени) с помощью флуоресценции (чл.-корр. РАН *Четверин А. Б.*).

Разработана и применена для анализа клинических образцов полная диагностическая процедура, предназначенная для обнаружения остаточной болезни в образцах крови и костного мозга больных острым миелоидным лейкозом, ассоциированным с хромосомной транслокацией t(8;21) (чл.-корр. РАН *Четверин А. Б.*).

Разработан новый геномный метод в идентификации метилированных сайтов CCWGG (где W-A или T), что позволяет идентифицировать в геноме положение метилированных сайтов (д.б.н. *Матвиенко Н.И.*).

Показано, что клетки *E. coli* не выживают в отсутствие рибосомных белков S11 и S21, в то время как отсутствие рибосомного белка S15 (считающегося ключевым для сборки «платформы» малой рибосомной субчастицы) не приводит к гибели клеток (д.б.н. *Гарбер М. Б.*).

Проведены исследования равновесных и кинетических процессов многостадийной денатурации и ренатурации димерного двухдоменного белка - изопротил-

малатдегидрогеназы (IPMDH) из *Thermus thermophilis*. Оказалось, что мономеры IPMDH димеризуются задолго до полного своего сворачивания (д.ф.-м.н. Семисотнов Г.В.).

Получены мутантные формы рибосомного белка L1 и определены их пространственные структуры. Показано, что невозможность образования стабильного комплекса между мутантным белком и РНК обусловлена нескомпенсированной потерей одной-двух межмолекулярных водородных связей (д.б.н. Никонов С. В.).

Получены мутантные белки С62W и R59E р50 субъединицы NF–кВ. Показано, что замена С62W значительно снижает ДНК-связывающую активность белка, а замена R59E приводит к полной утрате специфического связывания. Замены не влияют на стабильность и димеризационные свойства белка, что позволяет рассматривать полученные мутанты как потенциальные ингибиторы NF–кВ зависимой транскрипции (д.б.н. Сердюк И.Н.).

Показано, что основная роль в формировании крюка жгутика *Halobacterium salinarum* принадлежит В2-флагеллину, тогда как В1 и В3-флагеллины могут отвечать за соединение элементов структуры жгутика между собой (д.б.н. Федоров О.В.).

Оценка потенциалов многочастичных Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий показала, что их вклад во взаимодействие между ковалентными связями велико, и игнорировать его (как это делается в настоящее время) нельзя (д.ф.-м.н. Финкельштейн А. В.).

Обнаружена зависимость конформации боковых цепей в белках от способа упаковки  $\alpha$ -спиралей и от расположения боковых цепей на  $\alpha$ -спиралях (д.х.н. Ефимов А.В.).

Разработан единый метод предсказания как амилоидогенных, так и развернутых участков в белковой цепи (д.ф.-м.н. Галзитская О.В.).

В результате исследования 13 мутантных форм апомиоглобина, с заменами гидрофобных аминокислотных остатков, охарактеризован интермедиат сворачивания, а также определено ядро сворачивания этого белка на стадии, лимитирующей скорость сворачивания белка (д.ф.-м.н. Бычкова В.Е.).

Сравнение белков из термофильных и мезофильных организмов показало, что первые имеют более плотно упакованную опушку (внешние остатки, доступные растворителю), чем вторые, а плотность упаковки внутренности белка (остатков, недоступных растворителю) одинакова в обоих случаях (д.ф.-м.н. Галзитская О.В.).

Обнаружено, что фактор элонгации EF-G с заменами на F90I и F90A имеет наибольшую резистентность (>500, чем EF-G дикого типа) среди всех известных его мутантных форм к специфичному ингибитору фактора – фусидовой кислоте. Полученные данные позволяют полагать, что остаток F90 является критичным для необратимого связывания EF-G на рибосоме в присутствии фусидовой кислоты (д.х.н. Гудков А. Т.).

Показано, что для прочного связывания GroEL с отрицательно заряженными денатурированными белками необходимо не меньше чем 5 мМ двухвалентных катионов. Однако, при высоких (> 300мМ) ионных силах прочный комплекс GroEL с отрицательно заряженными денатурированными белками образуется и в отсутствие двухвалентных катионов. Положительно заряженные денатурированные белки взаимодействуют с GroEL независимо от наличия двухвалентных катионов как при низких, так и высоких ионных силах раствора (д.ф.-м.н. Семисотнов Г.В.).

Найдено, что протеинкиназа LOSK участвует в регуляции поляризации клеток (их аппарата Гольджи) при движении по субстрату (д.б.н. Надеждина Е.С.).

Продемонстрировано, что стрессовые РНП-гранулы и их отдельные компоненты перемещаются по цитоплазме с помощью зависимо от микротрубочек активного транспорта (д.б.н. Надеждина Е.С.).

Показано, что подвижность митохондрий регулируется протеинкиназой С, и эта регуляция касается взаимодействия митохондрий с виментиновыми промежуточными филаментами (к.б.н. Минин А.А.).

Продемонстрировано, что у края клеток локализованы специфические (вероятно, белковые) факторы, прекращающие рост микротрубочек. Если рост микротрубочек не прекращается, их система утрачивает радиальность, но centrosoma сохраняет центральное расположение в цитоплазме (д.б.н. Надеждина Е.С.).

Выдвинута основанная на экспериментальных данных рабочая гипотеза о том, что динеин может насильственно отделять новообразованные микротрубочки от centrosомы, которые после этого закориваются на структурах, непосредственно прилежащих к centrosоме. Это – новая функция динеина в клетках (д.б.н. *Надеждина Е.С.*).

Установлен и проверен на компьютерной модели принцип формирования радиальной системы микротрубочек в интерфазных животных клетках, заключающийся в компарментализации микротрубочки-стабилизирующей активности (д.б.н. *Надеждина Е.С.*).

### **Основные публикации:**

*Вайман А.В., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Сорокин А.В., Гурьянов С.Г., Заботина Т.Н., Мечетнер Е.Б., Овчинников Л.П., Ставровская А.А.* Содержание и локализация белка YB-1 в опухолевых клетках с множественной лекарственной устойчивостью. Биохимия. 2006. т. 71, 190-200.

*Галзитская О.В.* Идентификация бета-агрегационных сайтов в белковой цепи. Мол. биол. 2006. т. 40, 839-843.

*Галзитская О.В., Гарбузинский С.А., Лобанов М.Ю.* Поиск амилоидогенных участков в белковой цепи. Мол. биол. 2006. т. 40, 910-918.

*Галзитская О.В., Гарбузинский С.А., Лобанов М.Ю.* Предсказание нативно-развернутых участков в белковой цепи. Мол. биол. 2006. т. 40, 341-348.

*Галзитская О.В., Довидченко Н.В., Лобанов М.Ю., Гарбузинский С.А.* Предсказание границ доменов на основе статистики встречаемости аминокислотных остатков. Мол. биол. 2006. т. 40, 111-121.

*Иванов П.А., Надеждина Е.С.* Стресс-гранулы: РНП-содержащие цитоплазматические тельца, возникающие в ответ на стресс. Мол. биол. 2006. т. 40, 937-944.

*Ковтун А. А., Минченко А. Г., Гудков А. Т.* Мутационный анализ функциональной роли аминокислотных остатков в четвертом домене фактора элонгации G. Мол. биол. 2006. т. 40, 1-7.

*Кравченко А.В., Четверина Е.В., Четверин А.Б.* Сохранность нуклеиновых кислот в гуанидинтиоцианатных лизатах цельной крови. Биоорг. химия. 2006. т. 32, 609-614.

*Кулик А.В., Некрасова О.Е., Минин А.А.* Фибриллярный актин регулирует подвижность митохондрий. Биологические мембраны. 2006. т. 23, 42-51.

*Марченко Н.Ю., Марченков В.В., Кайшева А.Л., Каипаров И.А., Котова Н.В., Калиман П.А., Семисотнов Г.В.* Аффинная хроматография шаперонина GroEL на основе денатурированных белков: роль электростатических взаимодействий в регуляции сродства GroEL к белковым субстратам. Биохимия. 2006. т. 71, 1668-1676.

*Марченков В.В., Марченко Н.Ю., Марченкова С.Ю., Семисотнов Г.В.* Молекулярные шаперонины прокариотических и эукариотических клеток. Успехи биологической химии. 2006. т. 46, 279-302.

*Потехин С. А., Коррадин Д.-П., Каява А. В.* Конструирование самособирающихся  $\alpha$ -суперспиральных нанофибрилл полипептидной природы как основы для упорядоченного размещения функциональных групп. Нанотехника. 2006. т. 2(6), 76-81.

*Сердюк И. Н. и Евсеева О. Н.* Новые возможности аналитического ультрацентрифугирования для анализа гидродинамических свойств белков. Успехи биологической химии. 2006. т. 46, 349-372.

*Скабкин М.А., Лябин Д.Н., Овчинников Л.П.* Неспецифическое и специфическое взаимодействие Y-бокс-связывающего белка 1 (YB-1) с мРНК и посттранскрипционная регуляция белкового синтеза в животных клетках. Мол. биол. 2006. т. 40, 620-633.

*Тимченко М.А., Рыбалкина Е.Ю., Ломакин А.Ю., Евлаков К.И., Сердюк И.Н., Ивановская М.Г.* Модифицированные ДНК-дуплексы селективно и необратимо связываются с фактором транскрипции NF- $\kappa$ B в лизатах опухолевых клеток человека. Биохимия. 2006. т. 71, 561-569.

Тищенко С., Никонова Е., Невская Н., Никонов О., Гарбер М., Никонов С. Структурные исследования РНК-белковых взаимодействий в комплексах рибосомного белка L1 с рибосомной и матричной РНК. Мол. биол. 2006. т. 40, 650-657.

Финкельштейн А. Как построить белок: В поисках решения молекулярной головоломки. Наука и Жизнь. 2006. №1, 5-9.

Шпильман А.А., Надеждина Е.С. Стохастическая компьютерная модель динамики клеточных микротрубочек. Биофизика. 2006. т. 51, 880-884.

Agalarov S.Ch., Kalinichenko A.A, Kommer A., Spirin A.S. Ribosomal protein S1 induces a conformational change of the 30S ribosomal subunit. FEBS Letters, 2006. 580, 6797-6799.

Bubunenko M., Korepanov A., Court D.L., Jagannathan I., Dickinson D., Chaudhuri B.R., Garber M.B. and Culver G.M. 30S ribosomal subunits can be assembled in vivo without primary binding ribosomal protein S15. RNA, 2006. 12, 1229-1239.

Evdokimova, V., Ovchinnikov, L.P. and Sorensen, P.H.B. Y-box Binding Protein 1: Providing a New Angle on Translational Regulation. Cell Cycle, 2006. 5, 1143-1147.

Evdokimova, V., Ruzanov, P., Anglesio, M.S., Sorokin, A.V., Ovchinnikov, L.P., Buckley, J., Triche, T.J., Sonenberg, N., Sorensen, P.H. Akt-Mediated YB-1 Phosphorylation Activates Translation of Silent mRNA Species. Mol. Cell. Biol., 2006. 26, 277-292.

Galzitskaya O.V., Garbuzynskiy S.O., Lobanov M.Y. FoldUnfold: web server for the prediction of disordered regions in protein chain. Bioinformatics, 2006. 22, 2948-2949.

Galzitskaya O.V., Garbuzynskiy S.O., Lobanov M.Y. Is it possible to predict amyloidogenic regions from sequence alone? J. Bioinformatics and Computational Biology, 2006. 4, 373-388.

Koglin, A., Mofid, M.R., Löhr, F., Schäfer, B., Rogov, V.V., Blim, M.M., Mittag, T., Marahiel, M.A., Bernhard, F. & Dötsch, V. Conformational switches modulate protein interactions in peptide antibiotic synthetases. Science, 2006. 312, 273-276.

Lomakin I. B., Shirokikh N.E., Yusupov M.M., Hellen C.U. and Pestova T.V. The fidelity of translation initiation: reciprocal activities of eIF1, IF3 and YciH. EMBO J., 2006. 25, 196-210.

Metlitskaya A., Kazakov T., Kommer A., Pavlova O., Praetorius-Ibba M., Ibba M., Krasheninnikov I., Kolb V., Khmel I., Severinov K. Aspartyl-tRNA Synthetase Is the Target of Peptide Nucleotide Antibiotic Microcin C. J. Biol. Chem., 2006. 281, 18033-18042.

Minin A. A., Kulik A. V., Gyoeva F. K., Ying Li, Goshima G., Gelfand V. I. Regulation of mitochondria distribution by RhoA and formins. J. Cell Sci., 2006. 119, 659-670.

Nevszkaya N., Tishchenko S., Volchkov S., Kljashtorny V., Nikonova E., Nikonov O., Nikulin A., Köhrer C., Piendl W., Zimmermann R., Stockley P., Garber M., and Nikonov S. New insights into the interaction of ribosomal protein L1 with RNA. J. Mol. Biol., 2006. 355, 747-759.

Rogov, V.V., Rogova, N.Y., Bernhard, F., Koglin, A., Löhr, F. & Dötsch, V. A new structural domain in the Escherichia coli RcsC hybrid sensor kinase connects histidine kinase and phosphoreceiver domains. J. Mol. Biol., 2006. 364, 68-79.

Samatov, T. R., Chetverina, H. V., and Chetverin, A. B. Real-time monitoring of DNA colonies growing in a polyacrylamide gel. Anal. Biochem., 2006. 356, 300-302.

Shcherbakov D., Dontsova M., Tribus M., Garber M., Piendl M. Stability of the 'L12 stalk' in ribosomes from mesophilic and (hyper)thermophilic Archaea and Bacteria. Nucleic Acids Research, 2006. 34, 5800-5814.

Svetlov M.S., Kommer A., Kolb V.A., Spirin A.S. Effective cotranslational folding of firefly luciferase without chaperones of Hsp70 family. Protein Science, 2006. 15, 242-247.

Zheleznyaya L.A., Kopein D.S., Rogulin E.A., Gubanov S.I., Matvienko N.I. Significant enhancement of fluorescence on hybridization of a molecular beacon to the target DNA in the presence of a site-specific DNA nickase. Analit. Biochem., 2006. 348, 123-126.

Опубликовано 49 статей, в том числе 25 - в зарубежных изданиях.

Директор Института белка РАН  
академик Овчинников Л. П.