

## ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН

Директор – академик Овчинников Л. П.

Обнаружен новый механизм инициации трансляции, доля которого в общем биосинтезе белка в клетках высших организмов значительно превышает долю классического механизма инициации (акад. *Спирин А.С.*).

Подробно исследовано влияние 5'НТО на трансляцию некэпированных мРНК в эукариотической бесклеточной системе. Обнаружен и охарактеризован эффект ускорения белкового синтеза в процессе трансляции. Показано, что эффект определяется структурой 5'НТО. Предложена модель альтернативных путей инициации трансляции у эукариот (акад. *Спирин А.С.*).

Показано, что двурядные «циркулярные» полисомы, сформированные в бесклеточной системе, продолжают трансляцию своей мРНК в присутствии избытка свободной гомологичной мРНК. Это подтверждает существование процесса «трансляции по кругу» в таких полисомах и свидетельствуют в пользу модели их циркулярной организации (акад. *Спирин А.С.*).

Домен I рибосомного белка L1 (регулятора собственного синтеза) получен в изолированном состоянии. Показано, что этот домен связывается специфически с мишенями для белка L1 на рибосомной и матричной РНК, а его структура идентична таковой в составе целого белка и не меняется при связывании РНК (д.б.н. *Гарбер М.Б.*, д.б.н. *Никонов С.В.*).

Определена структура гамма-субъединицы архейного фактора инициации трансляции 2 (aIF2) *Sulfolobus solfataricus* в свободном и связанном с нуклеотидами состоянии. Предложена оригинальная модель связывания aIF2 с инициаторной тРНК, объясняющая все известные экспериментальные данные. Получены кристаллы гетеротримерного aIF2 (д.б.н. *Гарбер М.Б.*, д.б.н. *Никонов С.В.*).

Показано, что популяция клеток рака молочной железы человека, резистентных к лекарствам и экспрессирующих разные гены множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) характеризуется повышенным содержанием мРНК YB-1 и повышенной долей клеток с ядерной локализацией белка YB-1. Подавление синтеза YB-1 под действием малых интерферирующих РНК оказывало влияние на экспрессию целого ряда генов МЛУ. Эти данные позволили предложить комплексный тест на МЛУ (акад. *Овчинников Л.П.*).

Показано, что удаление сигнала цитоплазматического удержания из молекулы белка YB-1 происходит преимущественно под действием  $\beta$ 1-субъединицы коровой 20S протеасомы (каспазоподобной активности). За специфичность узнавания и расщепления YB-1 протеасомой отвечает PEST регион YB-1, включающий аминокислотные остатки 205-230 (акад. *Овчинников Л.П.*).

Показано, что YB-1 стимулирует трансляцию, иницирующуюся на сайте внутреннего входа рибосом (IRES) вируса энцефаломиокардита (EMCV), только в присутствии полипиримидин-связывающего белка (РТВ). При этом YB-1 стимулирует связывание РТВ с IRES EMCV (акад. *Овчинников Л.П.*).

Показано, что повышение концентрации YB-1 в клетках опухоли кишечника за счет его синтеза с плазмиды повышало экспрессию гена гликопронеина Р и сообщало клеткам селективное преимущество при росте на среде с лекарственным препаратом винбластином (акад. *Овчинников Л.П.*).

Люциферазу светлячка синтезировали в бесклеточной системе трансляции при разной скорости элонгации полипептидной цепи. Обнаружено, что удельная активность синтезируемого фермента, характеризующая эффективность его котрансляционного сворачивания, уменьшается при замедлении синтеза (д.б.н. *Колб В. А.*).

Показано, что из трех 5S рРНК-связывающих рибосомных белков *Escherichia coli* два белка, L5 и L18, необходимы для выживания клеток. Без третьего белка, L25, который

относится к семейству связывающихся с 5S рРНК шоковых белков СТС, клетки выживают, но растут вдвое медленнее родительских, а их рибосомы работают менее эффективно (к.б.н. *Гонгадзе Г.М.*).

Показано, что в физиологических условиях в присутствии ГДФ eEF1A2 из мышц кролика имеет хорошо развитую глобулярную структуру, а eEF1A1 из печени кролика - частично неструктурирован. Это приводит к тому, что белок eEF1A2 плавится при более высокой температуре, чем eEF1A1. Также обнаружено значительно более сильное взаимодействие eEF1A1 с тРНК и калмодулином по сравнению с eEF1A2 (д.б.н. *Сердюк И. Н.*).

Обнаружено, что в результате ограниченного протеолиза трипсином у рибосомного белка S1 из *T. thermophilus* образуется стабильный высокомолекулярный фрагмент с молекулярной массой 49 кДа, который сохраняет РНК-связывающие свойства и способен взаимодействовать с 30S рибосомной субчастицей (д.б.н. *Сердюк И. Н.*).

Определена пространственная структура одной из химер на основе кругового пермутанта SH3-домена спектрина методом ЯМР. Получены стабильные кристаллы еще одной химеры, позволяющие определить ее пространственную структуру с разрешением 2.0 Å (к.ф.-м.н. *Филимонов В. В.*)

Разработан новый геномный метод в идентификации метилированных сайтов CCWGG (д.б.н. *Матвиенко Н. И.*).

Охарактеризованы узнающие и ДНК-связывающие свойства эндонуклеазы F-TfII, кодируемой бактериофагом T5. Эта эндонуклеаза способна образовывать сверхпрочные комплексы как с нативным ДНК-субстратом, так и с продуктом гидролиза (ДНК с внесенным одноцепочечным разрывом). Выдвинута гипотеза о механизме функционирования данного фермента (к.б.н. *Ксензенко В.Н.*).

Впервые показано, что структурная организация филаментов жгутиков архей является более разнообразной, чем считалось до сих пор, и филаменты некоторых архей организованы по бактериальному типу, т.е. собираются из единственного типа белка, а не многокомпонентны как в других случаях (д.б.н. *Федоров О.В.*).

Обнаружены две новые изоформы белка динактина-1, зависящего от динеина основного регулятора внутриклеточного транспорта. Показано, что эти изоформы обладают функциональными отличиями и альтернативно экспрессируются в тканях млекопитающих (д.б.н. *Надеждина Е.С.*).

Получены дополнительные доказательства того, что подвижность митохондрий в клетках зависит от их взаимодействия с виментиновыми промежуточными филаментами, регулируемого протеинкиназой С (к.б.н. *Минин А.А.*).

В пространственной структуре белков обнаружен отпечаток многочастичных Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий между ковалентными связями и окружающими их атомами (д.ф.-м.н. *Финкельштейн А.В.*).

Создан алгоритм и сервер для предсказания числа и положения границ доменов по аминокислотной последовательности. Показано, что белки класса  $\alpha/\beta$ , по сравнению с равными по размеру белками других классов, - самые компактные и самые медленно сворачивающиеся (д.ф.-м.н. *Галзитская О.В.*).

Обнаружен новый структурный мотив с уникальной укладкой полипептидной цепи, названный ф-мотивом, и построено два новых структурных дерева белков, в которых ф-мотив является корневой структурой (д.х.н. *Ефимов А.В.*).

Длительная пшеничной системе трансляции (SECF) 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 белков CRFR (corticotropin releasing factor receptor) и V2R (human vasopressin 2 receptor). Добавление детергентов в реакционную смесь

препятствует агрегации и обеспечивает накопление синтезируемого белка в растворимой и активной форме (акад. *Спирин А.С.*).

Создана диагностическая процедура для выявления минимальной остаточной болезни при лейкозах, ассоциированных с хромосомными транслокациями и синтезом химерных мРНК (член-корр. *Четверин А. Б.*).

Разработаны и изготовлены макет калориметра и специализированные оптические ячейки, способные работать при давлениях до 6000 атмосфер (д.ф.-м.н. *С.А. Потехин*).

### **Основные публикации**

*Alekhina O.M., Vassilenko K.S., Spirin A.S.* Translation of non-capped mRNAs in a eukaryotic cell-free system: acceleration of initiation rate in the course of polysome formation. *Nucleic Acids Res.* (2007) 35, 6547-6559.

*Brodsky I.B., Burakov A.V., Nadezhdina E.S.* Microtubules' interaction with cell cortex is required for their radial organization, but not for centrosome positioning. *Cell Motil. Cytoskeleton.* (2007) 64, 407-417.

*Chetverin, A. B., Samatov, T. R., and Chetverina, H. V.* Gene cloning and expression in molecular colonies. In: "Cell-free protein synthesis - Methods and Protocols" (*A.S. Spirin and J.R. Swartz*, eds.). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, (Weinheim), 2007.

*Cheung Y.N., Maag D., Mitchell S.F., Fekete C.A., Algire M.A., Takacs J.E., Shirokikh N., Pestova T., Lorsch J.R., Hinnebusch A.G.* Dissociation of eIF1 from the 40S ribosomal subunit is a key step in start codon selection *in vivo*. *Genes Dev.* (2007) 21, 1217-1230.

*Dovidchenko N.V., Lobanov M.Yu., Galzitskaya O.V.* Prediction of number and position of domain boundaries in multi-domain proteins by use of amino acid sequence alone. *Curr. Protein Pept. Sci.*, (2007) 8, 189-195.

*Finkelstein A.V., Ivankov D.N., Garbuzynskiy S.O., Galzitskaya O.V.* Understanding the folding rates and folding nuclei of globular proteins. *Curr. Protein Pept. Sci.* (2007) 8, 521-536

*Finkelstein A.V., Ivankov D.N., Garbuzynskiy S.O., Galzitskaya O.V.* Protein structure and its folding rate. In: *Mathematical Modelling of Biosystems* (*R. Mondaini, P. M. Pardalos*, eds.). Heidelberg: Springer Verlag, pp. 273-301, 2007.

*Galzitskaya O.V., Garbuzynskiy S.O., Lobanov M.Yu.* Expected packing density allows predicting both amyloidogenic and disordered regions in protein chain. *Journal of Physics: Condensed Matter*, (2007) 19, 285225.

*Gráczér É., Varga A., Hajdú I, Melnik B, Szilágyi A., Semisotnov G., Závodszy P., Vas M.* Rates of unfolding, rather than refolding, determine thermal stabilities of thermophilic, mesophilic and psychrotrophic 3-isopropylmalate dehydrogenases. *Biochemistry*, (2007) 46, 11536-11549.

*Ibryashkina E.M., Zakharova M.V., Baskunov V.B., Bogdanova E.S., Nagornykh M.O., Den'mukhamedov M.M., Melnik B.S., Kolinski A., Gront D., Feder M., Solonin A.S., Bujnicki J.M.* Type II restriction endonuclease R.Eco29kI is a member of the GIY-YIG nuclease superfamily. *BMC Struct Biol.*, (2007) 12, 7- 48.

*Ikeda, F., Hecker, C.M., Rozenknop, A., Nordmeier, R.D., Rogov, V., Hofmann, K., Akira, S., Dotsch, V., & Dikic, I.* Involvement of the ubiquitin-like domain of TBK1/IKK-i kinases in regulation of IFN-inducible genes. *EMBO J.*, (2007) 26, 3451-3462

*Korepanov, A., Gongadze, G., Garber, M., Court, D.L. and Bubunenko, M.* Importance of the 5S rRNA-binding ribosomal proteins for cell viability and translation in *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* (2007) 366, 1199-1208.

*Kovalevskiy O.V., Lebedev A.A., Surin A.K., Solonin A.S., Antson A.A.* Crystal structure of *Bacillus cereus* HlyIIR, a transcriptional regulator of the gene for pore-forming toxin hemolysin II. *J. Mol. Biol.* (2007) 365, 825-834.

*Kovtun A.A., Shirokikh N.E., Gudkov A.T., Spirin A.S.* The leader sequence of tobacco mosaic virus RNA devoid of Watson-Crick secondary structure possesses a cooperatively melted. *Biochem Biophys Res Commun.* (2007) 358, 368-372.

Nikonov, O., Stolboushkina, O., Nikulin, A., Hasenöhrl, D., Bläsi, U., Manstein, D., Fedorov, R., Garber, M. and Nikonov, S. New insights into the interactions of the translation initiation factor 2 from Archaea with guanine nucleotides and initiator tRNA. *J. Mol. Biol.*, (2007) 373, 328-336.

Rudenko N.V., Sinagina L.L., Arzhanov M.A., Ksenzenko V.N., Ivashina T.V., Morenkov O.S., Shaloiko L.A., Vinokurov L.M. Barnase-barstar high affinity interaction phenomenon as the base for the heterogenous bioluminescence pseudorabies virus' immunoassay. *J. Biochem. Biophys. Methods*, (2007) 70, 605-611

Rodikova E.A., Kovalevskiy O.V., Mayorov S.G., Budarina Z.I., Marchenkov V.V., Melnik B.S., Leech A.P., Nikitin D.V., Shlyapnikov M.G., Solonin A.S. Two HlyIIIR dimers bind to a long perfect inverted repeat in the operator of the hemolysin II gene from *Bacillus cereus*. *FEBS Lett.*, (2007) 581, 1190-1196.

Savitski M.M., Kjeldsen F., Nielsen M.L., Garbuzynskiy S.O., Galzitskaya O.V., Surin A.K., Zubarev R.A. Backbone carbonyl group basicities are related to gas-phase fragmentation of peptides and protein folding. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, (2007) 46, 1481-1484.

A.S. Spirin and J.R. Swartz. Cell-free protein synthesis systems: historical landmarks, classification and general methods. In: "Cell-free protein synthesis - Methods and Protocols", (A.S. Spirin and J.R. Swartz, eds.). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, (Weinheim), 2007, pp. 1-34.

V.A. Shirokov, A.A. Kommer, V.A. Kolb, A.S. Spirin. Continuous-exchange protein-synthesizing systems. In: "Methods in molecular biology", vol. 375. "In vitro transcription and translation protocols", (Guido Grandi, ed.). Humana Press Inc., (Totowa, New Jersey), 2007, pp. 19-55.

Tishchenko, S., Nikonova, E., Kljashorny, V., Kostareva, O., Nevskaya, N., Piendl, W., Davydova, N., Streltsov, V., Garber, M. and Nikonov, S. Domain I of ribosomal protein L1 is sufficient for specific RNA binding. *Nucleic Acids Research*, (2007) 35, 7389-7395.

А.В.Ефимов. Механизм отбора поворотных изомеров боковых цепей в  $\alpha$ -спиралях. *Биохимия*, (2007) 72, 223-227.

Безносков С.Н., Пятибратов М.Г., Федоров О.В. О мультикомпонентности жгутиков *Halobacterium salinarum*. *Микробиология*, (2007) 76, 494-501

Бункин А.Ф., Нурматов А.А., Першин С.М., Хусаинова Р.С., Потехин С.А. Четырехфотонная лазерная спектроскопия водных растворов биополимеров в микроволновом диапазоне. *Квантовая электроника*, (2007) 37, 76-81.

Вайман А.В., Генс Г.П., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Сорокин А.В., Гурьянов С.Г., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. Исследование роли белка УВ-1 в лекарственной устойчивости опухолей молочной железы. *Молекулярная медицина*, (2007) 1, 31-37.

Вайман А.В., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Сорокин А.В., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. Возникновение лекарственной устойчивости в популяции клеток опухоли кишечника под влиянием многофункционального белка УВ-1. *Бюллетень эксп. биол. и мед.* (2007) 143, 442-445.

Жаппарова О.Н., Бураков А.В., Надеждина Е.С. Центросома нуклеирует микротрубочки, но утрачивает способность их заякоривать после ингибирования динеин-динактоинового комплекса. *Биохимия*, (2007) 72, 1233-1240.

Каргатов А.М., Ефимов А.В. Поворотные изомеры боковых цепей в  $\alpha$ - $\alpha$ -спиральках и механизм их отбора. *Мол. биол.*, (2007) 41, 876-884.

Николаева Т.И., Тиктопуло Е.И., Ильясова Е.Н., Кузнецова С.М. Упаковка коллагеновых фибрилл. *Биофизика*, (2007) 52, 899-911.

Николаева Т.И., Тиктопуло Е.И., Полозов Р.В., Рочев Ю.А. Термодинамические характеристики коллагеновых фибрилл, реконструированных *in vitro* при разных температурах и концентрациях. *Биофизика*, (2007) 52, 261-7.

Никонова, Е., Волчков, С., Кляшторный, В., Тищенко, С., Костарева, О., Невская, Н., Никонов, О., Габдулхаков, А., Никулин, А., Давыдова, Н., Стрельцов, В., Гарбер, М.,

*Никонов, С.* Кристаллические структуры мутантных форм рибосомного белка L1. Мол. биол., (2007) 41: 688–96.

*Новосильная А.В., Тимченко А.А., Тиктопуло Е.И., Сердюк И. Н., Негруцкий Б.С., Ельская А.В.* Характеристика физических свойств изоформ фактора элонгации трансляции eEF1A. Биополимеры и клетка, (2007) 23, 386-391

*Светлов М. С., Колб В.А., Спириин А.С.* Сворачивание полипептидной цепи светлячковой люциферазы с иммобилизованным С-концом. Мол. биол., (2007) 41, 96-102.

*Селиванова О.М., Федорова Ю.Ю. и Сердюк И.Н.* Протеолиз рибосомного белка S1 из *Escherichia coli* и *Thermus thermophilus* приводит к образованию двух разных фрагментов. Биохимия, (2007) 72, 1506-1514

*Сердюк И.Н.* Структурированные белки и белки с внутренней неупорядоченностью, Мол. биол., (2007) 41, 297-313

*Сорокин А.В., Ким Е.Р., Овчинников Л.П.* Ядерно-цитоплазматический транспорт белков. Успехи биологической химии (2007) 47, 89-128.

*Сорокин А.В., Ким Е.Р., Овчинников Л.П.* Ядерно-цитоплазматический транспорт белков. Биохимия, (2007) 72, 13.

*Спириин А.С.* Ab ovo usque ad mala. Биохимия, (2007) 72, 1587-1597.

*Спириин А.С.* Когда, где и в каких условиях мог возникнуть и эволюционировать мир РНК? Палеонтологический журнал, (2007) 5, 1-9.

*Четверин А.Б., Четверина Е. В.* Научные и практические приложения молекулярных колоний. Мол. биол., (2007) 41, 284-296.

*Четверина Е.В., Кравченко А.В., Фалалева М. В., Четверин А.Б.* Экспресс-гибридизация молекулярных колоний с флуоресцентными зондами. Биоорг. химия. (2007) 33, 456-463.

Опубликовано 56 статей, в том числе 27 – в зарубежных изданиях.