

ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН

Директор – академик Овчинников Л. П.

Направление 46 «Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов»

Обнаружен альтернативный, ранее не описанный, механизм кэп-независимой инициации трансляции эукариотических мРНК, имеющих неструктурированные 5'-нетранслируемые лидеры без IRES-подобных модулей. Этот путь инициации может иметь большое физиологическое значение для целого ряда функционально важных мРНК млекопитающих, включая человека (акад. *А.С. Спирин*).

Обнаружено, что замедление синтеза люциферазы приводит к снижению удельной активности (эффективности котрансляционного сворачивания) синтезируемого фермента, в то время как удельная активность зелёного флуоресцентного белка не зависит от скорости его синтеза (д.б.н. *В.А. Колб*).

Разработана методика электронно-микроскопической визуализации биотиновой метки в полисомах с использованием Nanogold-стрептавидина. С помощью методики показано, что 3'-конец мРНК в эукариотических плотно-нагруженных двурядных (предположительно, кольцевых) полисомах обнаруживается в торце двойного ряда, а не произвольно по его длине (акад. *А.С. Спирин*, д.б.н. *В.Д. Васильев*).

Проведена оценка скорости сканирования 5'НТО области мРНК рибосомами при инициации трансляции в эукариотической системе. Показано, что продолжительность этапа инициации коррелирует с длиной 5'НТО (акад. *А.С. Спирин*).

Показано, что белок YB-1 *in vitro* взаимодействует с димерным $\alpha\beta$ -тубулином и тубулином, полимеризованным в микротрубочки. YB-1 ускоряет полимеризацию тубулина в микротрубочки и, при насыщении мРНК белком YB-1, способствует ассоциации мРНК с микротрубочками (акад. *Л.П. Овчинников*).

Показано специфическое взаимодействие фрагмента поли(А) с регуляторным фрагментом мРНК YB-1 в присутствии белков экстракта ретикулоцитов кролика, что свидетельствует в пользу опосредованной белками 3'-концевой циклизации мРНК YB-1 и объясняет негативный эффект поли(А) хвоста на трансляцию мРНК YB-1 (акад. *Л.П. Овчинников*).

Показано, что в клетках млекопитающих белок YB-1 подвергается протеасомной фрагментации под воздействием препаратов, вызывающих ДНК-повреждающий стресс. Получены генетические конструкции, позволяющие синтезировать в клетках млекопитающих мутантные формы белка YB-1, устойчивые к действию 20S протеасомы (акад. *Л.П. Овчинников*).

Показано, что белок YB-1 защищает мРНК от деаденилирования *in vitro* под действием деаденилазы PARN. Защитное действие YB-1 обеспечивается первой половиной его С-концевого домена. YB-1 усиливает стабилизирующее действие поли(А)-связывающего белка PABP и способствует его посадке на поли(А) хвост мРНК (акад. *Л.П. Овчинников*).

Проведена дополнительная проверка ранее предложенного нами комплексного теста на множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) и метастатическую активность раковых клеток молочной железы. Показано, что внутриклеточное распределение белка YB-1 и содержание мРНК *YB-1* в тканях опухолей молочной железы в совокупности могут быть прогностическими признаками на множественную лекарственную устойчивость и на метастазирование опухолей (акад. *Л.П. Овчинников*).

Показано, что в функциональных тестах «законные» матрицы Q β -репликазы проявляют себя подобно кольцевым молекулам. Это свойство отличает их от «незаконных» матриц и помогает объяснить способность матрицы и комплементарной ей растущей цепи оставаться неспаренными в процессе репликации, что является непременным условием экспоненциального размножения РНК (член-корр. *А.Б. Четверин*).

Изучены продукты рекомбинации РНК, размноженных в отсутствие селективного давления. Показано, что спектр рекомбинантных последовательностей резко отличается от

наблюдавшегося ранее, когда рекомбинантные РНК размножали с помощью Q β -репликазы (член-корр. *А.Б. Четверин*).

Показано, что структурная организация нитей жгутиков архей является более разнообразной, чем считалось до сих пор, а спиральность филаментов *H. marismortui* обеспечивается при помощи механизмов, отличных от используемых другими галофильными археонами (д.б.н. *О.В. Федоров*).

Проведен комбинированный анализ структурных и РНК-связывающих свойств интактного двухдоменного рибосомного белка L1 и его изолированного домена I. Показано, что домен II затрудняет узнавание мРНК интактным бактериальным белком L1 (д.б.н. *М.Б. Гарбер*, д.б.н. *С.В. Никонов*).

Показано, что одновременные изменения в 23S и 5S рРНК-связывающих областях рибосомного белка L25 *E.coli* исключают образование стабильного комплекса с данными РНК *in vitro* (к.б.н. *Г.М. Гонгадзе*, д.б.н. *М.Б. Гарбер*).

Показана перспективность использования химерных белков на основе SH3 домена спектрина для экспериментального изучения термодинамики сворачивания белков и белок-пептидных взаимодействий и получены важные структурные и термодинамические данные (к.ф.-м.н. *В.В. Филимонов*).

Направление 49 «Клеточная биология. Теоретические основы клеточных технологий»

Установлено, что в молекуле белка промежуточных филаментов виментина имеется участок, ответственный за непосредственное взаимодействие с митохондриями, причем это взаимодействие ограничивает подвижность митохондрий в клетках. Данный результат существенно расширяет представления о транспорте митохондрий по клеткам и может быть использован в поиске фармакологических мишеней для цитостатиков новых поколений (д.б.н. *Е.С. Надеждина*, к.б.н. *А.А. Минин*).

Обнаружено, что избыток эмбриональной сыворотки в среде культивирования клеток приводит к разрушению радиальной системы микротрубочек в интерфазе и к нарастанию числа аномальных митозов (д.б.н. *Е.С. Надеждина*).

Направление 50 «Биофизика. Радиобиология. Математические модели в биологии. Биоинформатика».

Создана база данных по белкам с экспериментально изученной кинетикой сворачивания (к.ф.-м.н. *Н.Д. Иванов*)

Впервые показано, что медленная фаза кинетического процесса ренатурации двухдоменного гомодимерного белка - изопропилмалатдегидрогеназы - отражает одновременное формирование нативной структуры доменов и межсубъединичных контактов, хотя образование неактивного димера происходит задолго до формирования нативной структуры белка (д.ф.-м.н. *Г.В. Семисотнов*).

Впервые построен энергетический ландшафт процесса сворачивания большого белка, карбоангидразы Б; этот процесс проходит через формирование двух промежуточных состояний (д.ф.-м.н. *Г.В. Семисотнов*, к.ф.-м.н. *Б.С. Мельник*).

Проведен анализ литературных данных о роли молекулярных шаперонов в различных патологиях организма человека. Выявлена взаимосвязь содержания шаперонов в различных тканях организма человека с рядом иммуногенных и склеротических заболеваний (д.ф.-м.н. *Г.В. Семисотнов*).

Показано, что формирование единственной SS связи в белке PsbO системы фотосинтеза шпината приводит к существенной стабилизации его структуры и резкому уменьшению его содержания в «тельцах включения» при экспрессии в *E. coli* (д.ф.-м.н. *Г.В. Семисотнов*).

Исследование кинетики сворачивания мутантных апомиоглобинов с заменами неконсервативных остатков Ile28 и Phe33 на Ala показало, что эти остатки входят в ядро сворачивания апомиоглобина в переходе из промежуточного в нативное состояние, как и ранее исследованные Leu76, Leu61 и Met55 (д.ф.-м.н. *В.Е. Бычкова*).

Впервые показано, что число сформированных белковой цепью контактов (для всех физически разумных способов определения таковых) однозначно связано с размером погруженной в глобулу поверхностью белковой цепи (к.ф.-м.н. *Н.Д. Иванов*).

Показано, что шкала атом-атомных контактов, полученная из статистики белковых структур и уже используемая для предсказания неструктурированных участков, может быть применена как для предсказания петлевых участков по их аминокислотной последовательности, так и для предсказания остатков, защищенных от водородно-дейтериевого обмена (д.ф.-м.н. *О.В. Галзитская*).

Впервые показано, что положение «корневых структурных мотивов» в пространственных структурах белков в значительной мере соответствует положению ядер сворачивания (к.ф.-м.н. *С.А.Гарбузинский*).

Установлена связь размера и формы белка со скоростью его сворачивания и разворачивания (чл.-корр. *А.В. Финкельштейн*, д.ф.-м.н. *О.В. Галзитская*).

В α/β -белках обнаружен новый структурный мотив с уникальной укладкой полипептидной цепи и изучены особенности его строения и свойства. Он состоит из известных бета-альфа-бета-единицы и Psi-мотива и представляет собой уникальную комбинацию этих мотивов. Построено новое структурное дерево β -белков, содержащих $\alpha\beta\text{Cd}$ -единицы. (д.х.н. *А.В.Ефимов*).

Впервые показана принципиальная возможность влияния спинового состояния молекул воды на биологически важные процессы (д.ф.-м.н. *С.А. Потехин*).

Направление 51 «Биотехнология»

Найдены условия контролируемой деградации РНК с помощью полинуклеотидфосфорилазы *Thermus thermophilus*. Это позволяет выделять определенные виды РНК из сложных смесей, а также получать заданные фрагменты РНК. Кроме того, это может существенно понизить неспецифический фон при молекулярной диагностике за счет обогащения определяемой РНК-мишени в анализируемом образце (чл.-корр. *А.Б. Четверин*).

Модификация 3'-конца мРНК биотином использована для проверки возможной защиты мРНК и продления активности бесклеточной системы трансляции из зародышей пшеницы. Существенного влияния модификации мРНК на скорость и длительность работы системы трансляции не обнаружено (акад. *А.С. Спирин*).

Сконструирован микрочип, несущий кДНК зонды для оценки содержания мРНК *YB-1* и мРНК ряда дополнительных маркеров пролиферации и множественной лекарственной устойчивости. Предварительные исследования подтвердили перспективность использования созданного микрочипа для анализа содержания мРНК *YB-1* в тканях раковых больных. Таким образом, создан инструмент для прямого экспериментального исследования функций *YB-1*, выполняемых этим белком в ядре или в цитоплазме, пригодный для экспериментального управления этими функциями (акад. *Л.П.Овчинников*).

Основные публикации

Basova L.V., Tiktopulo E.I., Kutyshenko V.P., Mauk A.G., and Bychkova V.E. Phospholipid Membranes Affect Tertiary Structure of the Soluble Cytochrome b5 Heme Binding Domain. *BBA - Biomembranes* (2008) 1778, 1015-1026.

Burakov A., Kovalenko O., Semenova I., Zhapparova O., Nadezhdina E., Rodionov V. Cytoplasmic dynein is involved in the retention of microtubules at the centrosome in interphase cells. *Traffic* (2008) 9, 472-480.

Burakov A., Zhapparova O., Kovalenko O., Zinovkina L., Potekhina E., Shanina N., Weiss D., Kuznetsov S., Nadezhdina E. Ste20-related Protein Kinase LOSK (SLK) Controls Microtubule Radial Array in Interphase. *Mol. Biol. Cell* (2008) 19, 1952-1961.

Chernov K., Mechulam A., Popova N., Pastre D., Nadezhdina E., Skabkina O., Shanina N., Vasiliev V., Tarrade A., Melki J., Joshi V., Bacconnais S., Toma F., Ovchinnikov L., Curmi P. YB-

- 1 promotes microtubule assembly in vitro through interaction with tubulin and microtubules. BMC Biochem. (2008) 9, 23
- Chernov K.G., Curmi P.A., Hamon L., Mechulam A., Ovchinnikov L.P., Pastre D.* Atomic force microscopy reveals binding of mRNA to microtubules mediated by two major mRNP proteins YB-1 and PABP. FEBS Letters (2008) 582, 2875-2881.
- Chetverin, A. B., Chetverina, H. V.* Molecular colony technique: a new tool for biomedical research and clinical practice. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. (2008) 82, 219-255.
- Falaleeva M.V., Chetverina H.V., Ugarov V.I., Uzlova E.A., Chetverin A.B.* Factors influencing RNA degradation by *Thermus thermophilus* polynucleotide phosphorylase. FEBS J. (2008) 275, 2214-2226.
- Galzitskaya O.V., Reifsnnyder D.C., Bogatyreva N.S., Ivankov D.N., Garbuzynskiy S.O.* More compact protein globules exhibit slower folding rates. Proteins (2008), 70:329-332.
- Garbuzynskiy S.O., Kondratova M.S.* Structural features of protein folding nuclei. FEBS Letters. (2008) 582, 768-772.
- Koglin A., Löhr F., Bernhard F., Rogov V.V., Frueh D.P., Strieter E.R., Mofid M.R., Güntert P., Wagner G., Walsh C.T., Marahiel M.A., & Dötsch V.* Structural basis for the selectivity of the external thioesterase of the surfactin synthetase. Nature (2008) 454, 907-911.
- Kopeina G.S., Afonina Zh.A., Gromova K.V., Shirokov V.A., Vasiliev V.D., Spirin A.S.* Stepwise formation of eukaryotic double-row polyribosomes and circular translation of polysomal mRNA. Nucl. Acids Res. (2008) 36, 2476-2488.
- Melnik B.S., Marchenkov V.V., Evdokimov S.R., Samatova E.N., Kotova N.V.* Multy-state protein: Determination of carbonic anhydrase free-energy landscape. Biochem. Biophys. Res. Commun. (2008) 369, 701-706.
- Potekhin S.A., Senin A.A., Abdurakhmanov N.N., Khusainova R.S.* High pressure effect on the main transition from the ripple gel P'_{β} phase to the liquid crystal (L_{α}) phase in dipalmitoylphosphatidylcholine. Microcalorimetric study. Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes. (2008) 1778, 2588-2593.
- Shirokikh N.E., Spirin A.S.* Poly(A) leader of eukaryotic mRNA bypasses the dependence of translation on initiation factors. Proc Natl Acad Sci U S A. (2008) 105, 10738-10743.
- Stolboushkina E., Nikonov S., Nikulin A., Bläsi U., Manstein D.J., Fedorov R., Garber M., Nikonov O.* Crystal structure of the intact archaeal translation initiation factor 2 demonstrates very high conformational flexibility in the alpha- and beta-subunits. J Mol Biol. (2008) 382, 680-691
- Tishchenko S., Kljashtorny V., Kostareva O., Nevskaya N., Nikulin A., Gulak P., Piendl W., Garber M. and Nikonov S.* Domain II of *Thermus thermophilus* protein L1 hinders recognition of its mRNA. J. Mol. Biol. (2008) 383, 301-305.
- Ugarov V.I., Chetverin A.B.* Functional circularity of legitimate Q β replicase templates. J. Mol. Biol. (2008) 379, 414-427.
- A.B.Ефимов* Структурные деревья белков, содержащие фи-мотивы. Биохимия. (2008) 73, 29-35
- Богатырева Н.С., Иванков Д.Н.* Взаимосвязь между площадью доступной растворителю поверхности белка и числом нативных контактов в его структуре. Мол. биол. (2008) 6, 1048-1055.
- Гонгадзе Г.М., Корепанов А.П., Коробейникова А.В., Гарбер М.Б.* Бактериальные 5S рРНК-связывающие белки семейства СТС. Успехи биол. химии (2008) 48, 105-132
- Дерюшева Е. И., Галзитская О. В., Сердюк И. Н.* Предсказание коротких петель в белках с внутренней неупорядоченностью. Мол. биол. (2008) 42, 1067-1078.
- Дюйсекина А.Е., Долгих Д.А., Саматова (Барышникова) Е.Н., Тиктопуло Е.И., Балобанов В.А., Бычкова В.Е.* Равновесное рН-зависимое разворачивание апомиоглобина: замены в консервативных позициях Trp14, Met131 и неконсервативной Val17. Биохимия (2008) 73, 863-873.
- Коробейникова А.В., Гонгадзе Г.М., Корепанов А.П., Елисеев Б.Д., Баженова М.В., Гарбер М.Б.* 5S рРНК-узнающий модуль белков семейства СТС и его эволюция. Биохимия (2008) 73, 193-201.

Минин А.А., Молдавер М.В. Виментиновые промежуточные филаменты и их роль во внутриклеточном распределении органелл. *Успехи биологической химии* (2008) 48, 221-252.

Прохоров Д.А., Тимченко М.А., Кудреватых Ю.А., Федюкина Д.В., Гущина Л.В., Христофоров В.С., Филимонов В.В., Кутышенко В.П. Исследование методом ЯМР структуры и динамики химерного варианта SH3 домена (“SNA-Бержерак”). *Биоорганическая химия* (2008) 34, 645-653.

Рубин М.А., Тиктопуло Е.И., Намиот В.А., Туманян В.Г., Есипова Н.Г. Механизм влияния аминокислот на физические характеристики коллагенов. *Бифизика* (2008) 5, 910-912.

Спирин А.С. Гельфандовский семинар – начало и завершение. *Онтогенез* (2008) 39, 1-2.

Четверина Е.В., Четверин А.Б. Нанокolonии: обнаружение, клонирование и анализ индивидуальных молекул. *Успехи биол. химии* (2008) 48, 3-64.

Чиргадзе Ю.Н. Структурное поведение РНК-связывающих белков в свободном состоянии и в составе комплекса с РНК: рибосомный белок L25 и 5S рРНК из *E. coli*. *Мол. биол.* (2008)42, 685-692.

Finkelstein A.V., Ivankov D.N., Garbuzynskiy S.O., Galzitskaya O.V. (2008) Protein structure and its folding rate. In: *Mathematical Modelling of Biosystems* (R. Mondaini, P. M. Pardalos, eds.). Heidelberg: Springer Verlag, pp. 273-301.

Марченко Н.Ю., Гарбузинский С.А., Семисотнов Г.В. (2008) Молекулярные шапероны в норме и при патологии. В: *Молекулярная патология белка* (под ред. Заболотного Д.И.). Киев: Логос. 74-97.

Опубликовано 56 статей, в том числе 37 – в зарубежных изданиях.