

ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН
Директор – академик **Овчинников Л. П.**

Направление 46. Впервые в эукариотических бесклеточных системах трансляции разного происхождения показана линейная зависимость времени, затрачиваемого на сканирование 5' нетранслируемой области мРНК в процессе кэп-зависимой инициации трансляции, от длины этой области (акад. А.С. Спирин).

Направление 46. Разработан количественный метод анализа функциональных комплексов рибосомы с мРНК на любой стадии трансляции, позволяющий определить положение рибосомы или малой рибосомной субчастицы на мРНК с точностью в один нуклеотид и количество такого комплекса при инициации, элонгации и терминации белкового синтеза. Показана эффективность метода в клеточных лизатах и бесклеточных системах, содержащих как одну, так и смесь нескольких мРНК (акад. А.С. Спирин).

Направление 46. Показана принципиальная возможность диссоциации протеинил-тРНК из большой субчастицы рибосомы без существенного разворачивания последней. Результат указывает на локализацию синтезируемой полипептидной цепи вне туннеля большой субчастицы рибосомы (д.б.н. В.А. Колб).

Направление 46. Впервые показано, что флуоресценция хромофора растворов зеленого флуоресцентного белка (GFP) не всегда отражает изменения в структуре этого белка (к.ф.-м.н. Б.С. Мельник).

Направление 46. Обнаружено, что преинкубация гамма-субъединицы архейного фактора инициации трансляции 2 (aIF2) с ГТФ или его аналогами ингибирует связывание мРНК с этой субъединицей. ГДФ такого действия не оказывает, что говорит, о том, что 5'-концевой трифосфат как в ГТФ, так и в мРНК узнается одним и тем же специфическим участком на белке (д.б.н. С.В. Никонов).

Направление 46. Показано, что рибосомный белок L5 строго необходим для встраивания 5S рРНК-белкового комплекса в большую рибосомную субчастицу *in vivo* (к.б.н. Г.М. Гонгадзе).

Направление 46. В семействе рибосомных белков выявлен домен, имеющий максимальную гомологию с доменом S1 из PNPase (д.б.н. И.Н. Сердюк).

Направление 46. Показано, что ингибирование трансляции мРНК YB-1 в бесклеточной системе происходит при достаточной длине спейсерного участка между поли(А)-хвостом и регуляторной последовательностью на мРНК YB-1. Нуклеотидная последовательность спейсера роли не играет. Ингибирование зависит от кэп-структуры на мРНК и поли(А) связывающего белка (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 46. Показано, что первоначальная сборка стрессовых гранул малого размера не требует микротрубочек. Последующей сборке более крупных стрессовых гранул способствует динамическая нестабильность микротрубочек (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 46. Показано, что замена двух фосфорилируемых остатков Ser102 и Ser209 на Asp, который имитирует фосфорилированный серин, снижает ингибиторное действие YB-1 на кэп-зависимую трансляцию и не меняет его ядерно-цитоплазматического распределения (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 46. Показано, что экспрессия YB-1 и его укороченной формы (1-219) с плазмид приводит к повышению устойчивости клеток к доксорубину, повреждающему ДНК. При экспрессии YB-1 с инактивированными сайтами расщепления YB-1-опосредованная устойчивость клеток к доксорубину не развивается (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 46. Впервые показано, что мультифункциональный ДНК- и РНК-связывающий белок YB-1 образует протяженные фибриллы диаметром 15-20 нм и длиной более 10 микрон. Фибриллы имеют спиральную или зигзагообразную форму, обладают полярностью и имеют тенденцию к ассоциации в структуры более высокого порядка в

виде лент и пучков с периодичностью около 52 нм (акад. Л.П. Овчинников, д.б.н. И.Н. Сердюк).

Направление 46. Построена трехмерная фазовая диаграмма состояний апомиоглобина в координатах рН – концентрация денатуранта – температура (д.ф.-м.н. В.Е. Бычкова).

Направление 46. Исследование связывания апомиоглобина с фосфолипидными мембранами в присутствии мочевины показало, что при всех концентрациях мочевины наблюдается связывание апомиоглобина с поверхностью мембраны, а спектральные свойства этого связанного состояния сходны со свойствами промежуточного состояния этого белка в растворе (д.ф.-м.н. В.Е. Бычкова).

Направление 46. Разработана новая модель функционирования белка теплового шока GroEL из клеток *E.coli* как молекулярного шаперона. Модель предполагает лиганд-контролируемое связывание субстратных белков с GroEL, что предотвращает их неспецифическую агрегацию. Окончательное сворачивание субстратных белков осуществляется в свободном состоянии - вне комплекса с GroEL, в результате их лиганд-индуцируемой диссоциации с поверхности шаперона. (д.ф.-м.н. Г.В. Семисотнов).

Направление 48. Обнаружено, что белок YB-1 и его мРНК могут служить маркерами на метастазирование и множественную лекарственную устойчивость опухолей, и что существующие способы лечения больных с ядерной локализацией YB-1 не эффективны и не приводят к снижению числа рецидивов заболевания (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 48. Показано, что повышение концентрации белка YB-1 в культивируемых эпителиальных клетках молочной железы, трансформированных онкогеном H-Ras, приводит к их превращению в мезенхимные, снижает их способность к пролиферации и увеличивает их миграционную активность в гелевой среде и в ткани молочной железы. Предполагается, что такие клетки могут оставаться в покое, быть устойчивыми к антираковым препаратам, адресованным быстро пролиферирующим клеткам, и восстанавливать свой рост после ряда лет спячки, вызывая метастазирование опухолей (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 48. Методом ОТ-ПЦР исследованы изменения в уровне экспрессии гена YB-1 при немелкоклеточном раке легкого. Установлено значительное снижение содержания мРНК гена YB-1 в 67% опухолевых образцов по сравнению с прилегающими нормальными тканями. Существенного повышения количества мРНК YB-1 не обнаружено ни в одном из образцов исследованных (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 48. Охарактеризован регуляторный элемент из локуса легкой цепи иммуноглобулинов курицы, контролирующей соматическое гипермутирование. Разработана технология искусственной эволюции и отбора Wnt-лигандов с улучшенными свойствами (к.б.н. В.Л. Катанаев).

Направление 49. В клетках, лишенных виментина, основного белка промежуточных филаментов, обнаружен особый тип подвижности ядер, вращение. Показано, что это вращение обусловлено моторным белком динеином, связанным с системой микротрубочек, а виментиновые промежуточные филаменты препятствуют ему (д.б.н. Е.С.Надеждина, к.б.н. А.А.Минин).

Направление 49. В молекуле виментина найден участок, ответственный за взаимодействие промежуточных филаментов с митохондриями, и показано, что в результате этого взаимодействия увеличивается трансмембранный потенциал митохондрий (д.б.н. Е.С.Надеждина, к.б.н. А.А.Минин).

Направление 49. Обнаружено, что компартмент раннего везикулярного секреторного транспорта (ERES/ERGIC) может организовывать радиальную сеть микротрубочек в отсутствие centrosомы, причем существенную роль в этом процессе играет динеин-динактиновый комплекс (д.б.н. Е.С.Надеждина).

Направление 49. Показано, что динамика интерфазных микротрубочек необходима для поиска и захвата транспортируемых органелл, причем посредником в захвате

выступает структурный белок CLIP170, ассоциированный с плюс-концами микротрубочек (д.б.н. Е.С.Надеждина).

Направление 50. Создан общий и быстрый метод максимизации «опознающей силы» линейной комбинации произвольного числа различных методов, предназначенных для распознавания белковых структур по их аминокислотным последовательностям (член-корр. РАН А.В.Финкельштейн).

Направление 50. На основе растворимости молекулярных кристаллов в воде построено новое атомное силовое поле FFSol для расчета взаимодействий белков в водном окружении (член-корр. РАН А.В.Финкельштейн).

Направление 50. Построена шкала вероятности образования водородной связи. Данная шкала была использована как для предсказания амилоидогенных фрагментов по аминокислотной последовательности, так и аминокислотных остатков, защищенных от водородно-дейтериевого обмена. Показано, что вовлечение в ядро сворачивания белка аминокислотных остатков из амилоидогенных участков происходит чаще, чем прочих аминокислотных остатков (д.ф.-м.н. О.В. Галзитская).

Направление 50. Создана новая база ComSin, которая включает структуры белковых цепей в свободном и в связанном состояниях. Анализ неструктурированных участков в белковых комплексах и в одиночных молекулах белка вне комплексов показал, что число неструктурированных участков при образовании комплексов может возрастать, уменьшаться и не изменяться (д.ф.-м.н. О.В. Галзитская).

Направление 50. Проведено микрокалориметрическое исследование влияния высокого давления на денатурационный переход белка коллагена (д.ф.-м.н. С.А. Потехин).

Направление 50. Показано, что в белках участки цепи, образующие β - β -шпильки и замкнутые в циклы S-S-мостиками, в пространстве укладываются в левые суперспирали (д.х.н. А.В.Ефимов).

Направление 50. Построены три новых структурных дерева, содержащих комбинации ψ -мотивов и $\beta\alpha\beta$ -единиц (д.х.н. А.В.Ефимов).

Направление 50. Разработана модель пространственной структуры для регулярного полирибонуклеотида (CAA)_n, которая представляет собой внутримолекулярную тройную спираль (д.х.н. А.В.Ефимов, акад. А.С.Спирин).

Направление 51. Разработана и оптимизирована диагностическая процедура для обнаружения одиночных молекул РНК-онкомаркеров в цельной крови с помощью наноклоний. Благодаря использованию цифрового метода наноклоний для регистрации отдельных молекул, намного превзойден современный уровень эффективности, точности и надежности определения РНК-онкомаркеров (чл.-корр. РАН А. Б. Четверин).

Направление 51. Подобраны перспективные РНК-маркеры для диагностики онкологических заболеваний. Выбранные маркеры клонированы и использованы для осуществления модельных экспериментов с целью определения чувствительности и специфичности диагностической (чл.-корр. РАН А. Б. Четверин).

Направление 51. Разработан способ повышения специфичности обратной транскрипции путем избирательной дегградации посторонней (отличной от мишени) РНК полинуклеотидфосфорилазой. Способ может быть использован для повышения чувствительности и специфичности молекулярной диагностики, а также в фундаментальных исследованиях – например, при изучении редких событий рекомбинации РНК (чл.-корр. РАН А. Б. Четверин).

Направление 51. Проанализирована зависимость скорости синтеза белка от концентрации ионов Mg^{2+} и K^+ в пшеничной бесклеточной системе трансляции, работающей в режимах фиксированного объема и диализного реактора. Показано, что оптимальные концентрации ионов изменяются в ходе работы системы: концентрация Mg^{2+} снижается, а K^+ – увеличивается после определённого периода работы системы, достаточного для формирования (акад. А.С. Спирин).

Основные публикации

Bogatyreva N.S., Osypov A.A., Ivankov D.N. KineticDB: a database of protein folding kinetics. *Nucleic Acids Res.* 2009. 37, D342-D346.

Chernov, K.G., Barbet A., Hamon L., Ovchinnikov, L.P., Curmi, P.A., and Pastre, D. Role of microtubules in stress granule assembly: Microtubule dynamical instability favors the formation of micrometric stress granules in cells. *J. Biol. Chem.* 2009. 284, 36569-36580.

Chetverina, H. V., Chetverin, A. B. Nanocolonies: Detection, Cloning, and Analysis of Individual Molecules. *Biochemistry (Moscow).* 2008. 73, 1361-1387.

Efimov A.V., Spirin, A.S. Intramolecular triple helix as a model for regular polyribonucleotide (CAA)_n. *BBRC.* 2009. 388, 127-130.

Evdokimova, V., Tognon, C., Ng T., and Sorensen, P.H. Reduced proliferation and enhanced migration: two sides of the same coin? Molecular mechanisms of metastatic progression by YB-1. *Cell Cycle.* 2009. 8, 2901-2006.

Evdokimova, V., Tognon, C., Ng, T., Ruzanov, P., Melnyk, N., Fink, D. Sorokin, A., Ovchinnikov, L.P., Davicioni, E., Triche, T.J., and Sorensen, P.H.B. Translational Activation of Snail1 and Other Developmentally Regulated Transcription Factors by YB-1 Promotes an Epithelial-Mesenchymal Transition. *Cancer Cell.* 2009. 15, 402-415.

Galzitskaya O.V. Influence of flexible loops on the rate of protein folding. *Current Topics in Peptide & Protein Research.* 2009. 9, 71-82.

Galzitskaya O.V., Garbuzynskiy S.O. Folding and aggregation features of proteins. Nova Science Publishers, Inc. 2008. In: Protein Misfolding, Editors: Cian B. O'Doherty and Adam C. Byrne. pp.99-112.

Gerashchenko M. V., Chernoiivanenko I. S., Moldaver M. V., Minin A. A. Dynein is a motor for nuclear rotation while vimentin IFs are "brakes". *Cell Biol Int.* 2009. 33, 1057-1064.

Glyakina A.V., Balabaev N.K., Galzitskaya O.V. Mechanical unfolding of proteins L and G with constant force: Similarities and differences. *J Chem. Phys.* 2009. 131, 045102

Gushchina L.V., Gabdulkhakov A.G., Nikonov S.V., Mateo P.L., Filimonov V.V. Structural and thermodynamic studies of Bergerac-SH3 chimeras. *Biophys Chem.* 2009. 139, 106-115.

Karpov P.A., A. I. Emets, V. G. Matusov, A. Yu. Nyporko, E. S. Nadezhdina, and Ya. B. Blume. Bioinformatics Search for Plant Homologues of Ste20-like Serine/Threonine Protein Kinases. *Cytology and Genetics.* 2009. 43(6), 419-428.

Karpov P.A., Nadezhdina E.S., Yemets A.I., Matusov V.G., Nyporko A.Yu., Shashina N.Yu., Blume Ya.B. Bioinformatic search of plant protein kinases, participating in microtubule protein phosphorylation and cell division regulation. *Cytology and Genetics.* 2009. 43 (3), 201-215.

Korobeinikova, A. V., Shestakov, S. A., Korepanov, A. P., Garber, M. B., Gongadze, G. M. Protein CTC from *Aquifex aeolicus* possesses a full-sized 5S rRNA-binding domain. *Biochimie.* 2009. 91, 453-456.

Kulakov L.A., Ksenzenko V.N., Shlyapnikov M.G., Kochetkov V.V., Del Casale A., Allen C.C., Larkin M.J., Ceyssens P.J., Lavigne R. Genomes of "phiKMV-like viruses" of *Pseudomonas aeruginosa* contain localized single-strand interruptions. *Virology.* 2009. 391, 1-4.

Lecuona E., Minin A., Trejo H. E., Chen J., Comellas A. P., Sun H., Grillo D., Nekrasova O. E., Welch L. C., Szleifer I., Gelfand V. I., Sznajder J. I. Myosin Va restrains Na,K-ATPase-containing vesicles traffic in alveolar epithelial cells. *J Cell Sci.* 2009. 122, 3915-3922.

Lomakin A.J., Semenova I., Zaliapin I., Kraikivski P., Nadezhdina E., Slepchenko B.M., Akhmanova A., Rodionov V. CLIP-170-dependent capture of membrane organelles by microtubules initiates minus-end directed transport. *Dev. Cell.* 2009. 17, 323-333.

Marchenkov V.V., Semisotnov G.V. GroEL-Assisted Protein Folding: Does It Occur Within the Chaperonin Inner Cavity? *Int. J. Mol. Sci.* 2009. 10, 2066-2083

Potekhin S.A., Senin A.A., Abdurachmanov N.N., Tiktopulo E.I. High pressure stabilization of collagen structure. *BBA (Proteins and Proteomics).* 2009. 1794, 1151-1158.

Samatova E.N., Katina N.S., Balobanov V.A., Melnik B.S., Dolgikh D.A., Bychkova V.E., Finkelstein A.V. How strong are side chain interactions in the folding intermediate? *Protein Sci.* 2009. 18, 2152-2159.

Sorokin, A.V., Kim, E.R., and Ovchinnikov, L.P. Proteasome System of Protein Degradation and Processing. *Biochemistry (Moscow)*. 2009. 74, #13.

Spirin A.S. The ribosome as a conveying thermal ratchet machine. *J. Biol. Chem.* 2009. 284, 21103-21119.

Spirin, A.S. How does a scanning ribosomal particle move along the 5'-untranslated region of eukaryotic mRNA? Brownian ratchet model. *Biochemistry*. 2009. 48, 10688–10692.

Svitkin, Yu.V., Evdokimova, V. M., Brasey, A., Pestova, T.V., Fantus, D., Yanagiya, A., Imataka, H., Skabkin, M.A., Ovchinnikov, L.P., Merrick, W.C., and Sonenberg, N. General RNA-binding proteins have a function in poly(A)-binding protein-dependent translation. *EMBO J.* 2009. 28, 58-68.

Zhapparova O.N., Bryantseva S.A., Dergunova L.V., Raevskaya N.M., Burakov A.V., Bantysh O.B., Shanina N.A., Nadezhkina E.S. Dynactin subunit p150Glued isoforms notable for differential interaction with microtubules. *Traffic*. 2009. 10, 1635-1646.

Гордеев А.Б., Ефимов А.В. Новое структурное древо ($\alpha+\beta$)-белков, содержащих abCd-единицы. *Мол. биол.* 2009. 43, 521-526.

Барышникова (Саматова) Е.Н., Мельник Б.С., Балобанов В.А., Катина Н.С., Финкельштейн А.В., Семисотнов Г.В., Бычкова В.Е. О роли некоторых консервативных и неконсервативных аминокислотных остатков в переходном состоянии и в интермедиате сворачивания апомиоглобина. *Мол. биол.* 2009. 43, 136-147.

Безносос С. Н., Пятибратов М. Г., Федоров О. В. Жгуты архей как матрицы для создания новых наноматериалов. *Российские нанотехнологии*. 2009. 4, №5-6, 144 – 148.

Бункин А.Ф., Першин С.М., Хусаинова Р.С., Потехин С.А. Спин-изомерная селективность молекул воды при гидратации ДНК. *Биофизика*. 2009. 54, 396-401.

Галзитская О.В. Одни и те же или разные аминокислотные остатки ответственны за правильное и неправильное сворачивание белков? *Биохимия*. 2009. 74, 229-237.

Довидченко Н.В., Лобанов М.Ю., Гарбузинский С.А., Галзитская О.В. Предсказание аминокислотных остатков, защищенных от водородно-дейтериевого обмена, в белковой цепи. *Биохимия*. 2009. 74, 1091-1102.

Лобанов М.Ю., Богатырева Н.С., Иванков Д.Н., Финкельштейн А.В. Предсказания структур белков по аналогии. I. Новая база пространственно-сходных и несходных структур белковых доменов для тестирования и оптимизации методов предсказания. *Мол. биол.* 2009. 43, 722-732.

Лобанов М.Ю., Финкельштейн А.В. Предсказания структур белков по аналогии. II. Тестирование матриц замен и псевдо-потенциалов, используемых при выравнивании первичных структур белков с пространственными. *Мол. биол.* 2009. 43, 733-740.

Лобанов М.Ю., Финкельштейн А.В. Предсказания структур белков по аналогии. III. Оптимизация комбинации матриц замен и псевдо-потенциалов, используемых при выравнивании первичных структур белков с пространственными. *Мол. биол.* 2009. 43, №6, с.1-10.

Николаева Т.И., Кузнецова С.М., Тиктопуло Е.И. Стимулирует ли микроразворачивание коллагена процесс фибриллообразования? *Биофизика*. 2009. 54, 1015-1018.

Сердюк И.Н. Физические методы и молекулярная биология. *Биофизика*. 2009. 54, 343–381.

Фалалеева М.В., Четверина Е.В., Кравченко А.В., Четверин А.Б. Применение наноклоний для выявления минимальной остаточной болезни при лейкозе t(8;21). *Молекуляр. биология*. 2009. 43, 180–189.

Опубликовано 55 статей, в том числе 37 - в зарубежных изданиях.