

***ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ***  
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ**  
**ИНСТИТУТ БЕЛКА РОССИЙСКОЙ**  
**АКАДЕМИИ НАУК**



**ЕЖЕГОДНАЯ НАУЧНАЯ**  
**КОНФЕРЕНЦИЯ**

**Сборник тезисов**

**8 - 9 июня 2014 г.**  
**г. Пущино**

# Программа конференции

**8 ИЮНЯ, ВОСКРЕСЕНЬЕ**

*10:00 Утреннее заседание*

Открытие конференции

## **БИОСИНТЕЗ БЕЛКА**

*Председатель: Л. П. Овчинников*

П. Сахаров, С. Ч. Агаларов и А. С. Спирин. Сканирование нетранслируемых областей эукариотических мРНК 40S рибосомной субъединицей с факторами инициации (43S рибосомным комплексом) (30 мин.)

А. П. Корепанов, М. В. Забенько, М. Б. Гарбер, С. В. Тищенко. Домен I консервативного рибосомного белка L1 способен *in vivo* выполнять функции полноразмерного белка (15 мин.)

## **НАДМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ И КЛЕТКИ**

А. И. Фокин, А. В. Бураков, Т. А. Клементьева, Е. С. Надеждина. Пути передачи сигнала от протеинкиназы LOSK в регуляции движения культивируемых клеток (15 мин.)

*Перерыв (20 минут)*

## **СТРУКТУРА БЕЛКОВ**

*Председатель: А. В. Ефимов*

Г. В. Семисотнов, Н. А. Рябова, В. В. Марченков, О. М. Селиванова. Сборка молекулярного шаперона GroEL *in vitro*. Роль ко-шаперона GroES (20 мин.)

А. Д. Никулин, В. Н. Мурина, В. И. Архипова, Н. В. Леконцева, В. Märten, U. Bläsi, М. Б. Гарбер, С. В. Никонов. Структурные и функциональные исследования РНК-связывающих Sm-подобных белков: от бактериального Hfq к архейным SmAP (20 мин.)

Ю. Чиргадзе, Р. Лам, Т. Чан, К. Бетейли, В. Михайлович, В. Романов, Э. Паи, Н. Чиргадзе. Белок sa0856 из *Staphylococcus aureus*: новое подсемейство суперсемейства глиоксалаз (15 мин.)

*Перерыв*

*15:00 Дневное заседание*

## **МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА БЕЛКОВ**

*Председатель: А. В. Финкельштейн*

В. Г. Кляшторный, С. В. Никонов, Ф. Маниве. Молекулярно-динамическое моделирование структуры рецептора ароматических углеводов AhR и его комплексов с низкомолекулярными лигандами (15 мин.)

А. Г. Габдулхаков, В. Г. Кляшторный и С. В. Никонов. Поиск путей перемещения молекул воды в фотосистеме II цианобактерий методом молекулярной динамики (15 мин.)

И. В. Лихачёв, А. В. Глякина, О. В. Галзитская, Н. К. Балабаев. Анализатор траекторий молекулярной динамики и его применение к изучению механических свойств белков (20 мин.)

А. Б. Исаев, В. Г. Кляшторный, С. В. Никонов. Молекулярно-динамическое моделирование комплексов рибосомного белка L25 и его мутантных форм с фрагментом 5S рРНК (10 мин.)

*Перерыв (20 минут)*

## **ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ**

*Председатель: К. С. Василенко*

С. А. Потехин. Самые общие термодинамические соображения позволяют предсказать достаточно много особенностей поведения фазовых переходов липидов (20 мин.)

Е. А. Бошкова, А. В. Ефимов. Теоретический анализ двух возможных механизмов сворачивания белков (15 мин.)

А. В. Финкельштейн. Оценка времени преодоления длинного свободно-энергетического барьера (15 мин.)

## **Проведение конкурса докладов**

Заккрытие конференции

**9 ИЮНЯ, ПОНЕДЕЛЬНИК – ПИКНИК 13:00**

# Тезисы докладов

**СКАНИРОВАНИЕ НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ОБЛАСТЕЙ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ МРНК  
40S РИБОСОМНОЙ СУБЪЕДИНИЦЕЙ С ФАКТОРАМИ ИНИЦИАЦИИ (43S  
РИБОСОМНЫМ КОМПЛЕКСОМ)**

**П. Сахаров, С. Ч. Агаларов и А. С. Спирин.**

## **ДОМЕН I КОНСЕРВАТИВНОГО РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 СПОСОБЕН ВЫПОЛНЯТЬ ФУНКЦИИ ПОЛНОРАЗМЕРНОГО БЕЛКА *IN VIVO***

**А. П. Корепанов, М. В. Забенько, М. Б. Гарбер и С. В. Тищенко**

Рибосомный белок L1 – консервативный первично связывающийся с 23S рРНК белок, который входит в состав L1 выступа рибосомы и способствует удалению деацетилированной тРНК из Е-сайта. Белок L1 также выполняет в клетке функцию регуляции трансляции мРНК своего оперона (L11 оперона в *Escherichia coli*). L1 состоит из двух доменов, причём большинство контактов с мРНК и рРНК образовано аминокислотными остатками домена I.

Нами был создан штамм, лишённый рибосомного белка L1 ( $\Delta$ L1 штамм). Клетки  $\Delta$ L1 штамма росли значительно медленнее и имели холодочувствительный фенотип. Показано, что в мутантном штамме около половины 50S рибосомных субчастиц являются дефектными - в них отсутствует белок L16.

При синтезе *in trans* белка L1 *E. coli* (EcoL1) или его домена I (EcoL1d1) эти белки встраивались в рибосомы  $\Delta$ L1 штамма. При этом значительно уменьшалась фракция дефектных 50S субчастиц, ростовые характеристики мутантных клеток восстанавливались, клетки теряли холодочувствительный фенотип.

Для исследования регуляторных свойств EcoL1d1 мы оценивали уровень экспрессии модельного “слитого” гена *rplK-lacZ* в условиях синтеза *in trans* EcoL1 и EcoL1d1. Показано, что EcoL1d1 *in vivo* регулирует трансляцию L11 оперона *E. coli*.

Таким образом, мы показали, что домен I белка L1 способен *in vivo* функционально заменить целый белок.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

## ПУТИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА ОТ ПРОТЕИНКИНАЗЫ LOSK В РЕГУЛЯЦИИ ДВИЖЕНИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК.

**А. И. Фокин, А. В. Бураков, Т. С. Клементьева, Е. С. Надеждина.**

*fktimofei@yandex.ru*

Серин-треониновая протеинкиназа LOSK (long Ste20-like kinase), известная также как SLK, активна во многих типах клеток и участвует в поддержании упорядоченной системы клеточных микротрубочек. Фосфорилирование данной киназой белка динактинового комплекса p150<sup>Glued</sup> обеспечивает его посадку на центросому, где динактин участвует в удержании микротрубочек. Другим известным субстратом для киназы LOSK является малая ГТФаза RhoA. Фосфорилирование RhoA способствует её связыванию с ингибитором GDI и последующей деактивации малой ГТФазы.

Подавление активности LOSK приводит не только к дезорганизации системы микротрубочек, но и к серьезным нарушениям клеточной миграции. Мы решили выяснить, фосфорилирование какого из субстратов LOSK является более значимым для передвижения клеток?

Используя ДНК-конструкции, содержащие ген белка RhoA дикого типа, конститутивно-активного и доминантно-негативных его мутантов, псевдофосфорилированного и нефосфорилируемого по серину 188 белка, а также ингибитор Rho-зависимой киназы, мы выяснили, что локомоторная способность клеток находится в обратной зависимости от степени активации RhoA и связанной с ним киназы ROCK. Нам добиться не удалось значительного восстановления движения путем синтеза какой-либо из форм ГТФазы RhoA на фоне ингибирования LOSK. Но можно предположить, что роль фосфорилирования данной ГТФазы протеинкиназой LOSK заключается в поддержании градиента активной RhoA путём её инактивации на переднем краю движущейся клетки.

Однако, синтез псевдофосфорилированного p150<sup>Glued</sup> [T145-147E] на фоне ингибирования протеинкиназы в значительной мере восстанавливает скорость и направленность миграции клеток, в отличие от его нефосфорилируемого аналога p150<sup>Glued</sup> [T145-147A]. Вероятно, динактин и является основным субстратом киназы LOSK при регуляции ею направленного движения клеток.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 14-04-01729, 12-04-33178 и 12-04-31683.

## **СБОРКА МОЛЕКУЛЯРНОГО ШАПЕРОНА GROEL *IN VITRO*. РОЛЬ КО-ШАПЕРОНА GROES.**

**Г.В. Семисотнов, Н.А. Рябова, В.В. Марченков, О.М. Селиванова**

*nina@vega.protres.ru*

Белки теплового шока (HSP<sub>s</sub>) клеток *E. Coli*: молекулярный шаперон GroEL (HPS 60) и его ко-шаперон GroES (HPS 10) обеспечивают правильное сворачивание и олигомеризацию широкого круга как вновь синтезированных так и зрелых клеточных белков, денатурированных в условиях различных стрессов. Однако и GroEL и GroES сами по себе являются сложными олигомерными комплексами и поэтому ответ на вопрос каким образом эти шапероны сворачиваются представляет определенный интерес.

В данной работе нами исследована роль ко-шаперона GroES в сборке шаперона GroEL. Показано, что присутствие ко-шаперона GroES абсолютно необходимо для сборки полной GroEL частицы в неблагоприятных условиях. Такими условиями являются низкие концентрации шаперона, низкие ионные силы раствора и экстремальные температуры. Анализ продуктов реакции олигомеризации GroEL методами электрофореза в неденатурирующих условиях (blue electrophoresis) и электронной микроскопии показал, что в присутствии Mg-ATP GroES связывается с промежуточным олигомером GroEL (однокольцевая, семисубъединичная структура) и, по-видимому, стабилизирует его (не дает распасться на мономеры) при неблагоприятных условиях. Такая стабилизация позволяет промежуточным однокольцевым структурам с большей вероятностью взаимодействовать друг с другом и формировать стабильную двухкольцевую 14-ти субъединичную структуру. Результаты работы позволяют предположить, что расположение гена GroES перед геном GroEL в Gro-опероне клеток *E. coli* необходимо для облегчения сборки GroEL *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».



**СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ  
SM-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ: ОТ БАКТЕРИАЛЬНОГО HFQ К АРХЕЙНЫМ SMAR**

**А. Д. Никулин, В. Н. Мурина, В. И. Архипова, Н. В. Леконцева, V. Mörtens, U. Bläsi,  
М. Б. Гарбер, С. В. Никонов**

*nikulin@vega.protres.ru*

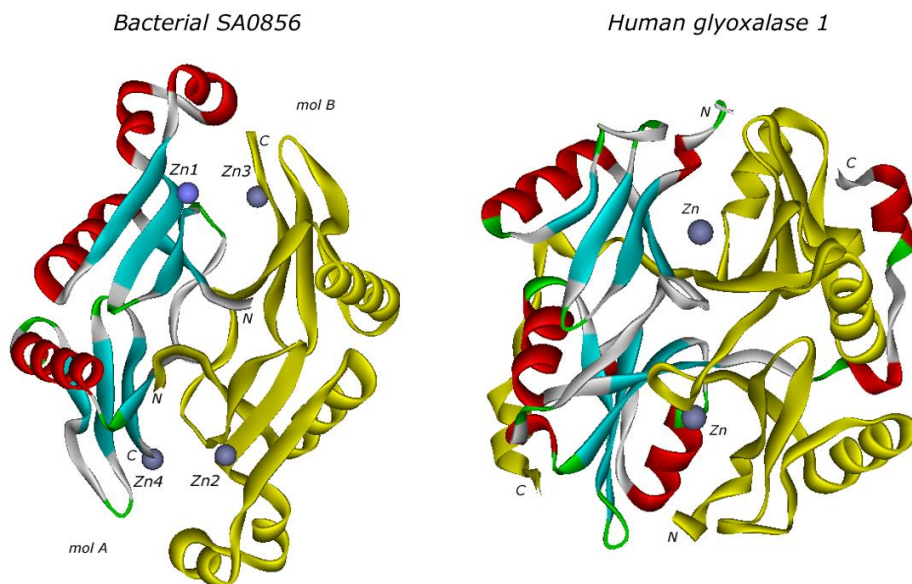
## БЕЛОК SA0856 ИЗ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: НОВОЕ ПОДСЕМЕЙСТВО СУПЕРСЕМЕЙСТВА ГЛИОКСАЛАЗ

**Ю. Чиргадзе, Р. Лам, Т.Чан, К. Бетейли, В. Михайлович, В. Романов, Э. Паи, Н. Чиргадзе**

chir@vega.protres.ru

SA0856 - белок из патогенной бактерии *Staphylococcus aureus*. Это металлофермент структурного суперсемейства глиоксалаз. Глиоксалазная система состоит из двух ферментов I и II и обеспечивает детоксикацию весьма агрессивного метилглиоксаля путем его преобразования в молочную кислоту. Метилглиоксаль является побочным продуктом реакций ряда метаболических цепей, в частности гликолиза, окисления липидов и др.

В кристалле и в растворе этот небольшой белок из 106 остатков существует в виде димера. По типу структуры и топологии цепи он относится к структурному семейству “глиоксалаза I”. Активные центры сформированы в обширных полостях вокруг ионов цинка. По анализу имеющихся гомологичных последовательностей мы обнаружили два разных подсемейства. В первое входят ряд бактерий, простейшие организмы, водоросли, растения, человек. Для второго семейства нам удалось найти последовательности десяти бактерий, все - грамположительные. Характерным представителем первого подсемейства является глиоксалаза I человека, ее активный центр содержит один атом Zn. Единственным пока представителем второго подсемейства является белок SA0856, в его активном центре находятся два атома Zn. В настоящее время проводится определение глиоксалазной и других возможных типов функциональной активности белка.



## МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ РЕЦЕПТОРА АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ AhR И ЕГО КОМПЛЕКСОВ С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ЛИГАНДАМИ

**Кляшторный В.Г.<sup>1</sup>, Довидченко Н.В.<sup>1</sup>, Никонов С.В.<sup>1</sup>, Маниве Ф.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>142290, Россия, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская 4, Институт белка РАН

<sup>2</sup>UBCS/Inserm 942, (APHP) Service de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière Assistance, 2 rue Ambroise Paré, 75475 Paris Cedex 10, France

*vladkljasch@gmail.com*

Рецептор ароматических углеводородов (AhR) обнаруживается практически во всех животных клетках и является транскрипционным фактором, сигнализирующим клетке о попадании в нее внешних загрязнителей (ксенобиотиков). Основными лигандами, которые узнает AhR, являются диоксины, полициклические ароматические углеводороды, а также их галогеновые производные. При связывании лиганда белок AhR переходит в ядро, где образует комплекс с белком ARNT (AhR Nuclear Translocator). Такой комплекс, состоящий из гетеродимера AhR/ARNT и низкомолекулярного лиганда, выполняет функцию транскрипционного фактора, специфически связываясь с основными регуляторными элементами ДНК, локализованными в промоторах целевых генов. При этом в зависимости от типа связанного низкомолекулярного лиганда происходит регуляция альтернативных целевых генов.

В рамках данной работы была построена стартовая модель гетеродимерного комплекса AhR/ARNT и проведено ее исследование и «расслабление» методом молекулярной динамики. Полученная модель была использована далее для докинга различных природных и синтетических низкомолекулярных лигандов с их последующим моделированием методом молекулярной динамики. Анализ полученных данных показал, что в результате связывания лиганда происходит стабилизация ДНК-узнающего домена гетеродимера AhR/ARNT, состоящего из N-концевых  $\alpha$ -спиральных участков белков AhR и ARNT. При этом в зависимости от типа связанного лиганда стабилизация происходит в одной из двух альтернативных конформаций.

## **ПОИСК ПУТЕЙ ПЕРЕМЕЩЕНИЯ МОЛЕКУЛ ВОДЫ В ФОТОСИСТЕМЕ II ЦИАНОБАКТЕРИЙ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ**

**А. Г. Габдулхаков, В. Г. Кляшторный и С. В. Никонов.**

Фотосистема II (ФСII), осуществляет реакцию образования кислорода из воды на свету. Кислород-выделяющий комплекс расположен в глубине люменальной части фотосистемы II, и молекулам воды необходимо пройти некоторый путь сквозь белковые субъединицы, чтобы попасть в активный центр – марганцевый кластер. Предыдущие исследования по выявлению водных каналов в ФСII были основаны на анализе полостей внутри статической структуры ФСII, полученной методом рентгеноструктурного анализа. В данной работе мы предприняли попытку моделирования движения воды в транспортной системе ФСII методом молекулярной динамики.

## **АНАЛИЗАТОР ТРАЕКТОРИЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ К ИЗУЧЕНИЮ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БЕЛКОВ**

**И. В. Лихачёв, А. В. Глякина, О. В. Галзитская, Н. К. Балабаев.**

Методом моделирования молекулярной динамики (МД) пользуются во многих научно-исследовательских лабораториях. После проведения МД-расчетов ставится задача анализа полученных данных. Возможны случаи, когда необходимо ответить на конкретные вопросы по полученным результатам, а также когда возникает потребность описать эксперимент в целом, заострив внимание на структурные перестроения в ходе моделирования.

Как правило, при анализе траекторий многие исследователи пишут собственные несложные программы для расчета простых характеристик. Вместе с тем, сложные алгоритмы работы с траекториями заложены в такие объемные пакеты как VMD и GROMACS, на изучение которых требуется до полугода рабочего времени.

Разработанная программа TAMD (Trajectory Analyzer of Molecular Dynamics, далее по тексту Анализатор) сочетает в себе: интуитивный графический пользовательский интерфейс, новые характеристики, направленные на быстрый анализ траектории в целом, а также является платформой для написания новых характеристик на траекториях и управляемой программой-платформой с интерпретатором скриптового языка для автоматизации рутинных действий.

В целях повышения быстродействия для анализа МД-систем из большого количества атомов, реализация Анализатора траекторий использует современные технологии, направленные на ускорение обработки информации, такие как технология вывода трехмерной графики OpenGL, параллельное программирование, в том числе массивно-параллельное (технология CUDA).

Некоторые белки в клетке испытывают механические деформации при таких биологических процессах как межклеточная адгезия, сокращение мышц, перенос белков через мембрану. Для понимания молекулярной природы механической стабильности белков необходимо провести большое количество МД опытов для исследования зависимости механических свойств белков от различных параметров. Исследование этого вопроса представляет практический интерес для конструирования биоматериалов с повышенной механической стабильностью.

При помощи Анализатора проведен анализ механического разворачивания по траекториям МД белка межклеточной адгезии кадгерина, а также влияние хиральности восьми альфа-спиральных белков на их механические свойства.

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ РИБОСОМНОГО БЕЛКА L25 И ЕГО МУТАНТНЫХ ФОРМ С ФРАГМЕНТОМ 5S рРНК**

**Исаев А.Б., Кляшторный В.Г.**

*ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия*  
*tcft18@gmail.com*

Рибосомный белок L25 *Escherichia coli* относится к группе 5S рРНК-связывающих белков и характерен только для рибосом бактериальных клеток. РНК-узнающий модуль белка L25 формируется пятью консервативными аминокислотными остатками, способными образовывать недоступные растворителю водородные связи с Е-петлей 5S рРНК. Ранее, в экспериментах *in vitro*, было показано, что замены этих консервативных остатков приводят к дестабилизации комплекса белка L25 с 5S рРНК. Целью данной работы являлось выявление молекулярных механизмов влияния указанных замен с помощью метода молекулярной динамики.

Мы провели моделирование 4-х мутантных форм белка L25 (H88F, S17L/Y31L/H88F, S17L/I29F/D90Y, S17L/Y31L/H88R) и их гипотетических комплексов с 5S рРНК, используя для создания стартовых моделей соответствующие структуры белка дикого типа (PDB-коды: 1B75 и 1DFU). Моделирование производилось в программном комплексе Gromacs 4.5 с использованием полноатомных силовых полей Charmm27. Для каждой модели было рассчитано по три траектории длиной до 100 нс.

Сравнение полученных мутантных структур со структурой белка L25 дикого типа позволило сделать вывод, что внесённые мутации практически не влияют на конформацию главной цепи белка в изолированном состоянии. Однако моделирование взаимодействия мутантных форм белка L25 с фрагментом 5S рРНК показало, что эти замены приводят к значительной дестабилизации комплексов и наблюдаемый эффект находится в согласии с имеющимися биохимическими данными. Полученные результаты дали возможность оценить вклад каждого из исследованных аминокислотных остатков в стабильность комплекса, формируемого белком L25 с фрагментом 5S рРНК.

**САМЫЕ ОБЩИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ СООБРАЖЕНИЯ ПОЗВОЛЯЮТ  
ПРЕДСКАЗАТЬ ДОСТАТОЧНО МНОГО ОСОБЕННОСТЕЙ ПОВЕДЕНИЯ ФАЗОВЫХ  
ПЕРЕХОДОВ ЛИПИДОВ**

**С. А. Потехин.**

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДВУХ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ СВОРАЧИВАНИЯ БЕЛКОВ

**Бошкова Е. А., Ефимов А. В.**

*boshkova.e.a@rambler.ru*

В работе рассматриваются два теоретических механизма сворачивания белков – «зародышевый» и «блочный» на примере белков, содержащих  $3\beta$ -уголки. Проведенный анализ структуры и аминокислотных последовательностей  $3\beta$ -углков позволил предположить, что они способны сворачиваться в свою уникальную структуру самостоятельно и могут быть зародышами либо готовыми структурными блоками при сворачивании белков. «Зародышевый» механизм сворачивания белков можно проиллюстрировать структурными деревьями белков. Согласно этому теоретическому механизму, вначале сворачивается зародыш – в данном примере,  $3\beta$ -уголок, далее к нему пошагово пристраиваются новые  $\beta$ -тяжи. Однако структуры многих белков невозможно получить путем последовательной пристройки  $\alpha$ -спиралей и/или  $\beta$ -тяжей к растущим структурам; необходимо пристраивать некие «готовые структурные блоки», такие, например, как  $\beta$ -шпилька, трехтяжевой  $\beta$ -лист,  $3\beta$ -уголок и др. Таким образом, часть белков сворачивается, по-видимому, путем объединения «готовых блоков», т.е. в соответствии с «блочным» механизмом. В данной работе «блочный» механизм сворачивания разбирается на примере доменов сериновых протеаз, структура которых представляет собой комплементарное объединение двух  $3\beta$ -углков.



## **ОЦЕНКА ВРЕМЕНИ ПРЕОДОЛЕНИЯ ДЛИННОГО СВОБОДНО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА**

**А. В. Финкельштейн.**

Многие важные процессы (например, полимеризация, в т.ч. образование актиновых и амилоидных фибрилл) связаны с преодолением длинного и высокого свободно-энергетического барьера. В докладе представлена простая аналитическая формула для оценки характерного времени преодоления такого барьера в ходе химической, биохимической или физической реакции.

