

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

Направление 46. Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов

Получены экспериментальные результаты, которые позволяют предложить новую, альтернативную существующей, модель GroEL-ассистируемого сворачивания белков, в которой процесс осуществляется вне комплекса с шапероном GroEL (*д.ф.-м.н. Семисотнов Г.В.*).

Определена структура коровой части РНК-зависимой РНК-полимеразы Q β -репликазы с разрешением 2,5 Å (*чл.-корр. Четверин А. Б.*).

Определена структура комплекса архейного рибосомного белка L10(P0) со специфическим фрагментом рибосомной РНК при разрешении 3.2 Å (*д.б.н. Гарбер М.Б., д.б.н. Никонов С.В.*).

Определены структуры мутантных форм гамма-субъединицы архейного фактора инициации трансляции 2 и исследовано влияние этих мутаций на связывание белком нуклеотидов, мРНК и тРНК (*д.б.н. Гарбер М.Б., д.б.н. Никонов С.В.*).

Определена структура белка генного продукта SA0103 из *Staphylococcus aureus* – одного из представителей сульфотрансфераз суперсемейства роданеза-подобных белков (*д.б.н. Ю.Н. Чиргадзе.*).

Подробно проанализирована 3-мерная структура полисом со спиральной упаковкой рибосом. Показано, что в таких полисомах взаимная ориентация рибосом обеспечивает максимально близкое расположение мест входа и выхода мРНК на соседних рибосомах (*акад. Спириин А.С.*).

Показано, что 5'-концевые стабильные элементы вторичной структуры в 5'-НТО мРНК оказывают большее влияние на скорость сканирования на этапе инициации трансляции в эукариотической бесклеточной системе, чем шпильки, расположенные внутри 5'-НТО (*акад. Спириин А.С.*).

Получены экспериментальные данные по ферментативной активности синтезируемой на рибосомах светлячковой люциферазы, связанной с рибосомами в виде протеинил-тРНК, которые указывают на локализацию растущей полипептидной цепи вне туннеля большой субчастицы (*д.б.н. Колб В.А.*).

Методом ЯМР показано, что РНК, содержащая 5'-нетранслируемую последовательность РНК вируса табачной мозаики (омега-РНК), обладает вторичной структурой не уотсон-криковского типа в растворе (*акад. Спириин А.С.*).

Исследование функциональных свойств адресно-измененных форм омега-последовательности РНК показало, что её способность усиливать трансляцию напрямую не зависит от степени компактности и стабильности структуры РНК (*акад. Спириин А.С.*).

Показано, что именно переход YB-1 в ядро, обусловленный C-концевым укорочением YB-1 под действием 20S протеасомы обуславливает повышение устойчивости раковых клеток к доксорубину (*акад. Овчинников Л.П.*).

Выделены и идентифицированы 19 белков, специфически связывающихся с 3' НТО мРНК YB-1 (*акад. Овчинников Л.П.*).

Исследовано ядерно-цитоплазматическое распределение белка YB-1 в клетках млекопитающих разных линий при нормальных условиях роста и после их стимуляции эмбриональной телячьей сывороткой или инсулиноподобным фактором роста I. Показано, что без стимуляции YB-1 распределялся диффузно как в ядре, так и в цитоплазме; при этом большая часть белка находилась в цитоплазме. После стимуляции YB-1 концентрировался в узком пространстве вокруг ядра (*акад. Овчинников Л.П.*).

Показано, что образование фибрилл белком YB-1 сопровождается появлением амилоидной кросс- β -структуры. В отличие от классических амилоидных фибрилл образование фибрилл YB-1 в условиях высокой ионной силы обратимо. Предложена модель инициации и удлинения данных фибрилл (*акад. Овчинников Л.П.*).

Показано, что делеция четырех остатков петли $\beta 2$ - $\beta 3$ в белке L5 приводит к замедлению роста клеток *E. coli*. Установлено, что укорочение петли $\beta 2$ - $\beta 3$ ($\Delta A75$ -K78 или $\Delta S73$ -R80) в белке L5 снижает эффективность биосинтеза белка рибосомами *in vivo* и *in vitro*, но не влияет на точность трансляции (д.б.н. Гонгадзе Г.М.).

Показано, что замены 2-х или 3-х остатков в 5S рРНК-связывающем модуле белка L25 (S17L/D90Y; S17L/H88F; S17L/I29F/D90Y; S17L/Y31L/H88F) значительно ослабляют способность белка удерживаться в рибосоме, что, в свою очередь, приводит к замедлению роста клеток *E. coli* (д.б.н. Гонгадзе Г.М.).

Установлена полная нуклеотидная последовательность ДНК T5-подобного бактериофага H8; проведена её детальная аннотация (к.б.н. Ксензенко В.Н.).

Обнаружена и частично охарактеризована новая сайт-специфическая эндонуклеаза F-TfIXII фага CEV2, принадлежащая семейству "HNN". Она является хоуминг-нуклеазой и вносит одноцепочечный разрыв в ДНК (в пределах гена *nrdA*) фагов BF23 и T5 (к.б.н. В.Н. Ксензенко).

Показано, что частоту ложной рекомбинации РНК при обратной транскрипции можно снизить более чем в 1 000 000 раз. Разработанные способы могут быть использованы для решения разнообразных фундаментальных и прикладных задач, в том числе для исследования рекомбинации РНК и детекции РНК-маркеров различных заболеваний (чл-корр. Четверин А. Б.).

Показано, что механизмы формирования надмолекулярной спиральной структуры жгутиков архей могут существенно отличаться у различных галофилов, и наличие двух или нескольких флагеллиновых генов не всегда является необходимым условием формирования функционального спирального жгутика (д.б.н. Федоров О. В.).

На примере зеленого флуоресцентного белка GFP впервые экспериментально показано, что с помощью одиночных замен гидрофобных аминокислот можно определить последовательность формирования разных структурных элементов в белке, сворачивающемся в несколько стадий (к.ф.-м.н. Мельник Б.С.).

Направление 49. Клеточная биология. Теоретические основы клеточных технологий

Разработана клеточная система для исследования взаимодействия микротрубочковых моторных белков с везикулами, транспортирующими белки из эндоплазматического ретикула в аппарат Гольджи. Показано, что динеин-динактиновый комплекс может вовлекаться в эти везикулы (д.б.н. Надеждина Е.С.).

Открыт новый путь передачи сигнала, регулирующего мембранный потенциал митохондрий, который включает малую ГТФазу Ras1, её эффектор протеинкиназу PAK и белок промежуточных филаментов виментин (д.б.н. Надеждина Е.С., к.б.н. Минин А.А.).

Установлено, что активность протеинкиназы LOSK необходима для локализации белка РСМ-1 на центросоме. Показано, что, вопреки сложившимся представлениям, центросомная локализация РСМ-1 в клетках не является необходимой для организации других центросомных белков и для формирования радиальной системы клеточных микротрубочек (д.б.н. Надеждина Е.С.).

Установлено, что протеинкиназа LOSK регулирует поляризацию клеток, т.е. транслокацию аппарата Гольджи в лидирующую часть клетки, через фосфорилирование изоформы динактина p150Glued-1A. Протеинкиназа LOSK, однако, не влияет на транспортные функции динактина (д.б.н. Надеждина Е.С.).

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

Обобщены принципы элементарных транспортных актов в рибосоме и других биологических молекулярных машинах (член-корр. Финкельштейн А.В., акад. Спириин А.С.).

Построена кинетическая схема, описывающая процесс амилоидообразования, учитывающая стадию экспоненциального роста агрегата. Компьютерная имитация показала,

что модель адекватно описывает экспериментальные кинетические данные амилоидообразования (д.ф.-м.н. Галзитская О.В.).

Разработан метод предсказания скоростей самоорганизации белка на основе одновременного учёта размера белка, его топологии, и стабильности нативного состояния в различных условиях (член-корр. Финкельштейн А.В.).

Построено обновленное структурное древо β -белков, содержащих 3β -уголки, создана база данных белков этого класса. На основе построенного древа разработана современная классификация β -белков с 3β -уголками. Доработан ресурс RCBOST путём включения в классификацию новых групп белков и добавления новых возможностей ресурса (д.х.н. Ефимов А.В.).

Выполнена работа по кластеризации белковых структур с заданной идентичностью белковых последовательностей; построена библиотека неструктурированных мотивов. Исследована частота встречаемости участков из шести одинаковых аминокислотных остатков и неструктурированных мотивов в 123 эукариотических и бактериальных протеомах (д.ф.-м.н. Галзитская О.В.).

Показано существенное различие распределения аминокислотных остатков на внутренней и внешней поверхностях сильно скрученных бета-шпилек (д.х.н. Ефимов А.В.).

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

Направление 51 Биотехнология

Разработаны одноразовые картриджи для ПЦР-версии метода нанокolonий, пригодные для серийного производства. Конструкция картриджей предотвращает загрязнение образцов продуктами размножения и связанные с этим ложноположительные результаты диагностики (чл-корр. Четверин А. Б.).

На примере клеток *E. coli*, продуцирующих зеленый флуоресцентный белок (GFP), показана возможность выделения индивидуальных клонов с использованием ранее разработанного клеточного биочипа для двумерного дисплея бактериальных клеток. Метод позволяет в течение нескольких часов выделить клоны клеток, составляющих миллионную долю клеточной популяции (чл-корр. Четверин А. Б.).

Высокоэффективная бесклеточная система трансляции длительного действия на основе экстракта *E.coli* применена для синтеза мембранных белков и рецепторов группы GPCR. Для рецепторов NPY2, ADORA2A, AVPR2 и бактериородопсин достигнут уровень синтеза в растворимой форме, равный или превышающий 1 мг/мл реакционной смеси (акад. Спиринов А.С.).

Основные публикации

Безносков С.Н., Пятибратов М.Г., Федоров О.В., Кулова Т.Л., Скундин А.М. Электрохимические характеристики наноструктурированного материала на основе модифицированных жгутиков галофильной археи *Halobacterium salinarum* для отрицательного электрода литий-ионного аккумулятора // Российские нанотехнологии. 2011. т.6. с.43-47

Галзитская О.В., Богатырева Н.С., Глякина А.В. Бактериальные белки сворачиваются быстрее, чем эукариотические белки с простой кинетикой сворачивания // Биохимия. 2011. т.76. с.274-286

Гонгадзе Г.М. 5S рРНК и рибосома // Успехи биол. химии. 2011. т.51. с.165-192.

Довидченко Н.В., Галзитская О.В. Моделирование образования амилоидных фибрилл // Биохимия. 2011. т.76. с.449-458.

Елисеева И.А., Ким Е.Р., Гурьянов С.Г., Овчинников Л.П., Лябин Д.Н. // Y-боксысвязывающий белок (YB-1) и его функции. Успехи биол. химии. 2011. т. 51. с.65-132

Ефимов А.В. Замкнутые в циклы структуры в глобулярных белках // Успехи биол. химии. 2011. т.51. с.25-36.

Катанаев В.Л., Крючков М.В. Глаз дрозофилы как модельная система для изучения внутриклеточной передачи сигнала при онтогенезе и патогенезе // *Успехи биол. химии.* 2011. т.51. с.401–458.

Катина Н.С., Ильина Н.Б., Кашипаров И.А., Балобанов В.А., Васильев В.Д., Бычкова В.Е. Мутантные формы апомиоглобина с одиночными заменами в положении Val10 способны образовывать амилоидные структуры при перmissive температуре // *Биохимия.* 2011. т.76, № 5, с.680-691.

Мачулин А.В., Дерюшева Е.И., Юнусова А.К., Железная Л.А., Сердюк И.Н. Исследование сайт-специфического связывания ДНК с никующей эндонуклеазой Nt.BspD6I на уровне одиночных молекул методом атомно-силовой микроскопии // *Биофизика.* 2011. т.56. №6.

Мачулин А.В., Смольгина Л.Д., Сузина Н.Е., Сердюк О.П. Исследование морфологии клеток дикого типа и *ipt*-трансформанта фототрофной пурпурной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* методами атомно-силовой и электронной микроскопии // *Биофизика.* 2011. т. 56. №6.

Мурина В. Н., Никулин А. Д. РНК-связывающие Sm-подобные белки бактерий и архей: сходство и различие // *Успехи биол. химии.* т.51. с.133-164.

Переяславец Л.Б., Баранов М.В., Леонова Е.И., Галзитская О.В. Предсказание ядер сворачивания в молекулах тРНК // *Биохимия.* 2011. т.76. с.287-296.

Сердюк И.Н., Дерюшева Е.И. Биофизика одиночных молекул // *Биофизика.* 2011. т.56. с.899-927.

Четверин А.Б. Парадоксы репликации РНК бактериального вируса // *Мол. биол.* 2011. т.45. с.160–172.

Agalarov S.C., Sogorin E.A., Shirokikh N.E., Spirin A.S. Insight into the structural organization of the omega leader of TMV RNA: the role of various regions of the sequence in the formation of a compact structure of the omega RNA // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011. V.404. P.250-253.

Broser M., Gloeckner C., Gabdulkhakov A., Guskov A., Buchta J., Kern J., Mueh F., Dau H., Saenger W., Zouni A. Structural basis of cyanobacterial photosystem II inhibition by the herbicide terbuthryn // *J. Biol. Chem.* 2011. V.286. P.15964–15972.

Dmitriev S.E., Stolboushkina E.A., Terenin I.M., Andreev D.E., Garber M.B., Shatsky I.N. Archaeal translation initiation factor aIF2 can substitute for eukaryotic eIF2 in ribosomal scanning during mammalian 48S complex formation // *J. Mol. Biol.* 2011. V.413. P.106-114.

Galzitskaya O.V. Misfolded Species Involved Regions Which Are Involved in an Early Folding Nucleus. In: “Protein Structure” (L. M. Haggerty, ed.) Nova Science Publishers, 2011. P.1-30.

Galzitskaya O.V. Modelling of Protein Folding and Prediction of Rate based on Nucleation Mechanism. In: “Protein Folding” (E. C. Walters, ed.), Nova Science Publishers, 2011. P.151-185.

Galzitskaya O.V., Lobanov M. Yu., Finkelstein A.V. Cunning simplicity of a stoichiometry driven protein folding thesis // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2011. V.28. P.595-598.

Glyakina A.V., Bogatyreva N.S., Galzitskaya O.V. Accessible surfaces of beta proteins increase with increasing protein molecular mass more rapidly than those of other proteins // *PLoS ONE.* 2011. V.6. e28464.

Gordeev A.A., Samatov T.R., Chetverina H.V., Chetverin A.B. 2D format for screening bacterial cells at the throughput of flow cytometry // *Biotechnol. Bioeng.* 2011. V.108. P.2682–2690.

Gushchina L.V., Gabdulkhakov A.G., Nikonov S.V., Filimonov V.V. High-Resolution Crystal Structure of Spectrin SH3 Domain Fused with a Proline-Rich Peptide // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2011. V.29. P.485-495.

Kostareva O., Tishchenko S., Nikonova E., Kljashtorny V., Nevskaya N., Nikulin A., Sycheva A., Moshkovskii S., Piendl W., Garber M. and S. Nikonov S. Disruption of shape

complementarity in the ribosomal protein L1–RNA contact region does not hinder specific recognition of the RNA target site // *J. Mol. Recognit.* 2011. V.24. P.524–532.

Koval A., Purvanov V., Egger-Adam D., Katanaev V.L. Yellow Submarine of the Wnt/Frizzled Signaling: Submerging from the G Protein Harbor to the Targets // *Biochemical Pharmacology* 2011. V.82. P.1311-1319.

Kryuchkov M., Katanaev V.L., Enin G.A., Sergeev A., Timchenko A.A., Serdyuk I.N. Analysis of micro- and nano-structures of the corneal surface of *Drosophila* and its mutants by atomic force microscopy and optical diffraction // *PLoS ONE*. 2011. V.6. e22237.

Lobanov M.Yu. and Galzitskaya O.V. Disordered Patterns in Clustered Protein Data Bank and in eukaryotic and bacterial Proteomes // *PLoS ONE*. 2011. V.6. e27142.

Lyabin, D.N., Eliseeva I.A., Skabkina, O.V. and Ovchinnikov L.P. Interplay between Y-box-binding protein 1 (YB-1) and poly(A) binding protein (PABP) interplay in specific regulation of YB-1 mRNA translation // *RNA Biology*. 2011. V.8. P.883-892.

Maltsev A.V., Bystryak S., Galzitskaya O.V. Role of amyloid beta peptide in neurodegenerative diseases // *Ageing Research Reviews*. 2011. V.10. P.440-452.

Melnik B.S., Molochkov N.V., Prokhorov D.A., Uversky V.N., Kutysenko V.P. Molecular mechanisms of the anomalous thermal aggregation of green fluorescent protein // *Biochim Biophys Acta*. 2011. V.1814. P.1930-1939.

Melnik T., Povarnitsyna T., Solonenko H., Melnik B. Studies of irreversible heat denaturation of green fluorescent protein by differential scanning microcalorimetry // *Thermochimica Acta*. 2011. V.512. P.71-75.

Melnik T.N., Povarnitsyna T.V., Glukhov A.S., Uversky V.N., Melnik B.S. Sequential melting of two hydrophobic clusters within the green fluorescent protein GFP-cycle3 // *Biochemistry*. 2011. V.50. P.7735-7744.

Nekrasova O.E., Mendez M.G., Chernouvanenko I.S., Tyurin-Kuzmin P.A., Kuczmarski E.R., Gelfand V.I., Goldman R.D., Minin A.A. Vimentin Intermediate Filaments Modulate the Motility of Mitochondria // *Mol Biol Cell*. 2011 V.22. P.2282-2289.

Potekhin S.A., Senin A.A., Abdurakhmanov N.N., Khusainova R.S. Thermodynamic invariants of gel to the liquid-crystal 1,2-diacylphosphatidylcholines transition // *Biochim. Biophys. Acta (Biomembranes)*/ 2011. V.1808. P.1806–1810.

Rozhkova A.V., Dmitrieva V.G., Zhapparova O.N., Sudarkina O.Y., Nadezhdina E.S., Limborska S.A., Dergunova L.V. Human sphingomyelin synthase 1 gene (SMS1): organization, multiple mRNA splice variants and expression in adult tissues // *Gene*. 2011. V.481. P.65-75.

Spirin, A.S., Finkelstein A.V. The ribosome as a Brownian ratchet machine. In “Molecular machines in Biology”. Ed. J.Frank, Cambridge University Press, USA, 2011, pp. 158-190.

Tishchenko S, Nikonova E, Kostareva O, Gabdulkhakov A, Piendl W, Nevskaya N, Garber M, Nikonov S. Structural analysis of interdomain mobility in ribosomal L1 proteins // *Acta Crystallogr.* 2011. V.D67. P.1023-1027.

Vassilenko K.S., Alekhina O.M., Dmitriev S.E., Shatsky I.N., Spirin A.S. Unidirectional constant rate motion of the ribosomal scanning particle during eukaryotic translation initiation // *Nucleic Acids Res.* 2011. V.39. P.5555-5567.

Опубликовано 8 глав в монографиях, 1 учебник для студентов ВПО и 42 статьи, в том числе 27 статей в зарубежных изданиях.

Директор Института белка РАН
академик Л.П. Овчинников