

ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН

Директор – академик Л. П. Овчинников

Направление 46. Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов

Методом высокопроизводительного трансгенеза плодовой мушки *D.melanogaster* кДНК библиотекой, полученной на основе раковой ткани молочной железы человека, выявлен ряд новых белков-потенциальных протоонкогенов (к.б.н. В.Л. Катанев).

Определена структура тройственного комплекса архейного фактора инициации трансляции 2 с инициаторной тРНК (Met-tRNAⁱ•aIF2 α D3 γ •GTP) при разрешении 3.2 Å (д.б.н. М.Б. Гарбер, д.б.н. С.В. Никонов).

Показано, что делеция аминокислотных остатков в петле α 3- β 4 рибосомного белка L5 *E. coli* влияет на стабильность ассоциации рибосомных субчастиц и компактность рибосомы, что приводит к замедлению роста клеток и снижению эффективности работы их аппарата трансляции *in vivo* и *in vitro* (д.б.н. Г.М. Гонгадзе).

Показано *in vivo*, что рибосомный белок L30 необходим для эффективного функционирования рибосомы в клетках *E. coli*, не являясь обязательным для их выживания (д.б.н. Г.М. Гонгадзе).

Показано, что при голодании клеток по сыворотке, при повышении плотности клеточной культуры и при ингибировании клеточного сигнального пути mTOR синтез белка YB-1 специфически подавляется (акад. Л. П. Овчинников).

Показано, что PABP стимулирует трансляцию полиаденилированной мРНК YB-1 с укороченной 3'НТО, в то время как трансляция полноразмерной мРНК или мРНК с заменой удаленного участка на неспецифическую последовательность не стимулируется (акад. Л.П. Овчинников).

Показано, что в составе филамента жгутика галофильного археона *Halobacterium salinarum* флагеллины flaA1, flaA2, flaB2 распределены по всей его длине, а спиральный филамент жгутика *H. salinarum* является ассоциацией трех протофиламент, образуемых каждым из флагеллинов (д.б.н. О. В. Федоров).

Разработан простой метод точного картирования концов в молекулах ДНК, выделенных из фаговых частиц. С использованием этого метода определены концы ДНК у девяти T5-подобных бактериофагов (к.б.н. В. Н. Ксензенко).

Определена полная нуклеотидная последовательность ДНК литического бактериофага tf, инфицирующего штамм PrG1 *P. putida*. Проведена детальная аннотация генома данного фага. Показано, что молекулы ДНК фага tf имеют разную структуру концов, а также содержат в одной из цепей локализованные одноцепочечные разрывы (к.б.н. В. Н. Ксензенко).

Получены фрагменты белка S1, содержащие разное число РНК-связывающих структурных мотивов. Показано, что фрагмент, содержащий первые два мотива, образует стабильный комплекс с кором Q β -репликазы и стимулирует репликацию РНК-сателлитов бактериофага (RQ-РНК) и геномной РНК бактериофага Q β как и полноразмерный белок S1 (чл.-корр. РАН А. Б. Четверин).

Направление 47 Молекулярная генетика, механизмы реализации генетической информации, биоинженерия

Впервые исследована динамика формирования и активности белок-синтезирующих комплексов эукариот – полирибосом. Установлено несколько типов конформаций эукариотических полирибосом. Показана последовательная смена типов конформаций с сопутствующими изменениями трансляционной активности в ходе работы эукариотической полирибосомы, от ускорения («разгона») до затухания (акад. А. С. Спиринов).

Обнаружено увеличение скорости инициации в процессе трансляции экзистированных и полиаденилированных мРНК в эукариотической бесклеточной системе. Показано, что этот эффект определяется взаимодействием 5' и 3' концов мРНК и зависит от длины 5'-НТО. Полученные результаты свидетельствуют в пользу модели функциональной циклизации эукариотических мРНК (акад. А. С. Спиринов).

Получены результаты, которые позволяют отвергнуть гипотезу о роли инвариантного N-концевого формилметионина, направляющего растущие полипептиды в рибосомный туннель (д.б.н. В. А. Колб).

Исследованы свойства химерных вариантов Q β -фага, в которых белки *E. coli* заменены на их гомологи из *T. thermophilus*. Показано, что Q β -репликаза, содержащая термофильный EF-Ts, является полностью функционально активной, причем ее температурный оптимум на 10°C выше, чем репликазы дикого типа (чл.-корр. РАН А. Б. Четверин).

Обнаружено, что кэпирование 5'- конца мРНК с поли(A)₂₅ лидером ингибирует кэп-независимую (eIF4F-независимую) инициацию трансляции (акад. А. С. Спирин).

Направление 48 Молекулярные механизмы клеточной дифференцировки, иммунитета и онкогенеза

Показано, что YB-1 повышает устойчивость клеток NIH3T3 к ДНК-повреждающим атираковым препаратам в результате отщепления его C-концевой последовательности с сигналом цитоплазматического удержания, перехода укороченного белка в клеточное ядро, взаимодействия с поврежденными участками ДНК и стимуляции репарации повреждений в ДНК (акад. Л.П. Овчинников).

Получена эффективная модельная система для изучения транспорта белков *in vitro*. Установлено, что система из пермеабелизованных клеток и цитозоля HeLa обеспечивала транспорт в ядро как укороченной (1-219), так и полноразмерной (1-324) формы белка YB-1 или только укороченной формы, лишенной сигнала цитоплазматического удержания (акад. Л.П. Овчинников).

Направление 49 Клеточная биология. Теоретические основы клеточных технологий

Получены культивируемые клетки, в которых динактин искусственно связан с центросомой через слитый с ним домен РАСТ из перицентрина. Показано, что в таких клетках центросома практически всегда является организатором радиальной системы клеточных микротрубочек, что доказывает определяющую роль динактина в этом процессе (д.б.н. Е.С. Надеждина).

Создана компьютерная модель формирования в клетках стрессовых гранул, учитывающая возможность транспорта или диффузии компонентов стрессовых гранул по микротрубочкам. Показано, что наиболее эффективно формирование стрессовых гранул происходит, если соприкосновение компонентов стрессовых гранул не всегда приводит к их слиянию в одну структуру (д.б.н. Е.С. Надеждина).

Продемонстрировано, что при закислении среды культивирования клеток в них перестают образовываться РНП-содержащие стрессовые гранулы, а уже образованные гранулы теряют способность к разборке при снятии стрессового воздействия (д.б.н. Е.С. Надеждина).

Показано, что в двух сходных линиях культивируемых клеток, происходящих из почки зеленой мартышки - Vero и BS-C-1, аппарат Гольджи в резко различной степени вовлечен в организацию микротрубочек в интерфазе. Предположено, что это отличие обусловлено различной концентрацией белка CLASP в клетках и различной интенсивностью его привлечения на мембраны аппарата Гольджи (д.б.н. Е.С. Надеждина).

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

Проведено моделирование сворачивания 84 белков с помощью метода Монте-Карло и динамического программирования. Продемонстрирована корреляция между экспериментальной скоростью сворачивания, некоторыми структурными параметрами и числом шагов на уровне 0,75 (д.ф.-м.н. О.В. Галзитская).

Построен сервер для предсказания неструктурированных остатков, основанный на модели Изинга (модели двух состояний, когда аминокислотный остаток может быть в сверну-

том или развернутом состоянии). Проведён анализ встречаемости гомоповторов и простых мотивов в 123 протеомах (д.ф.-м.н. О.В. Галзитская).

Выделен новый структурный подкласс ($\alpha+\beta$)-белков состоящих из сильно скрученных β -листов, и одной или нескольких альфа-спиралей, упакованных на вогнутой поверхности β -листа. Белкам данного подкласса дано название «wгар-белки» (д.х.н. А. В. Ефимов).

Построены структурные деревья белков, содержащих S-образные бета-листы, Деревья включены в систему классификации PCBOST (д.х.н. А. В. Ефимов).

Показано, что гибридный белок "альбебетин-тиоредоксин" способен образовывать амилоидные агрегаты при температуре 37°C. Тиоредоксин при этом сохраняет свою структуру, а альбебетиновая составляющая отвечает за формирование амилоидов (чл.-корр. РАН А.В. Финкельштейн).

Разработано новое силовое поле PFFSol1.1 для вычисления взаимодействий молекул в неявном водном окружении (чл.-корр. РАН А.В. Финкельштейн).

Направление 51 Биотехнология

Налажен метод получения нанодисков и их очистки гель-хроматографией. Проведены тестовые синтезы GPCR (бактериородопсина, а также NPY2R и ADRB2) в бактериальной бесклеточной системе трансляции в присутствии нанодисков. Успешная котрансляционная интеграция синтезированного белка в нанодиск показана в случае бактериородопсина (акад. А.С. Спиринов, д.б.н. А.Г. Рязанов).

Разработан метод создания монослоя живых эукариотических клеток в толще гидрогеля (двумерный дисплей живых эукариотических клеток). Имобилизованы клетки как адгезивного, так и суспензионного типа, причем все клетки остаются жизнеспособными и сохраняют способность к делению с образованием микроколоний. Метод может быть использован для высокопроизводительного скрининга и клонирования клеток во многих областях биологии и биотехнологии (чл.-корр. РАН А.В. Четверин).

Основные публикации

- Alekhina O.M., Vassilenko K.S. Translation Initiation in Eukaryotes: Versatility of the Scanning Model // *Biochemistry (Moscow)*. 2012. V. 77. P. 1465-1477.
- Bilousov O.O., Kozeretka I.A., Katanaev V.L. Role of the gene miniature in Drosophila wing maturation // *Genesis*. 2012. V. 50. P. 525-533.
- Eliseeva I.A., Ovchinnikov L.P., Lyabin D.N. Specific PABP effect on translation of YB-1 mRNA is neutralized by polyadenylation through a "mini-loop" at 3' UTR. *RNA // Biology*. V. 9. P. 1-15.
- Evdokimova V., Tognon C.E., Benatar T., Yang W., Krutikov K., Pollak M., Poul H.B., Sorensen P.H.B., Seth A. IGFBP7 Binds to the IGF-1 Receptor and Blocks Its Activation by Insulin-Like Growth Factors // *Science Signaling*. 2012. V. 5. P. 1-11.
- Evdokimova V., Tognon C.E., Sorensen P.H. On translational regulation and EMT // 2012. *Semin Cancer Biol*. V. 22. P. 437-445.
- Galzit'skaya O.V. and Glyakina A.V. Nucleation-based prediction of the protein folding rate and its correlation with the folding nucleus size // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2012. V. 80. P. 2711-2727.
- Glukhov A.S., Krutilina A.I., Shlyapnikov M.G., Severinov K., Lavysh D., Kochetkov V.V., McGrath J.W., de Leeuwe C., Shaburova O.V., Krylov V.N., Akulenko N.V., Kulakov L.A. // Genomic analysis of *Pseudomonas putida* phage τ with localized single-strand DNA interruptions. *PLoS One*. 2012. V. 7. e51163.
- Gordeev A.A., Chetverina H.V., Chetverin A.B. Planar arrangement of eukaryotic cells in merged hydrogels combines the advantages of 3-D and 2-D cultures // *Biotechniques*. 2012. V. 52. P. 325-331.
- Gordeev A.B. and Efimov A.V. Modeling of folds and folding pathways for some protein families of ($\alpha+\beta$)- and α/β - classes // *J. Biomol Struct Dyn*. 2013. V. 31. P. 4-16.

- Guryanov S.G., Selivanova O.M., Nikulin A.D., Enin G.A., Kretov D.A., Serdyuk I.N., Ovchinnikov L.P.* Formation of amyloid-like fibrils by Y-box binding protein 1 (YB-1) is mediated by its cold shock domain and modulated by disordered terminal domains // PLOS ONE. 2012. V. 7. e36969.
- Ivashina T.V., Ksenzenko V.N.* Exopolysaccharide biosynthesis in *Rhizobium leguminosarum*: from genes to functions // In: The Complex World of Polysaccharides. 2012. D. N. Karunaratne, ed. P. 99-126. ISBN: 978-953-51-0819-1, InTech.
- Korepanov A.P., Korobeinikova A.V., Shestakov S.A., Garber M.B., Gongadze G.M.* Protein L5 is crucial for in vivo assembly of the bacterial 50S ribosomal subunit central protuberance // Nucleic Acids Res. 2012. V. 40. P. 9153-9159.
- Koval A, Katanaev V.L.* Platforms for High-Throughput Screening of Wnt/Frizzled Antagonists // Drug Discovery Today. 2012. V. 17. P. 1316–1322.
- Lobanov M.Yu. and Galzitskaya O.V.* Occurrence of disordered patterns and homorepeats in eukaryotic and bacterial proteomes // Molecular BioSystems. 2012. V. 8. P. 327-337.
- Lobanov M.Yu., Sokolovskiy I.V. and Galzitskaya O.V.* IsUnstruct: Prediction of the Residue Status to Be Ordered or Disordered in the Protein Chain by a method based on the Ising model // J Biomol Struct Dyn. 2012.
- Melnik B.S., Povarnitsyna T.V., Glukhov A.S., Melnik T.N., Uversky V.N. Sarma RH* SS-stabilizing proteins rationally: Intrinsic disorder-based design of stabilizing disulphide bridges in GFP // J Biomol Struct Dyn. 2012. V. 29. P. 815-824.
- Melnik T.N., Povarnitsyna T.V., Glukhov A.S., Melnik B.S.* Multi-state proteins. Approach allowing experimental determination of the formation order of structure elements in the green fluorescent protein // PLoS One. 2012. V. 7. e48604.
- Osterman I.A., Prokhorova I.V., Sysoev V.O., Boykova Y.V., Efremenkova O.V., Svetlov M.S., Kolb V.A., Bogdanov A.A., Sergiev P.V., Dontsova O.A.* Attenuation-based dual-fluorescent-protein reporter for screening translation inhibitors // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2012. V. 56. P. 1774-1783.
- Pereyaslavets L.B., Finkelstein A.V.* Development and testing of PFFSol1.1, a new polarizable atomic force field for calculation of molecular interactions in implicit water environment // J Phys Chem 2012. V. B116. P. 4646-4654.
- Pestryakov P, Zharkov DO, Grin I, Fomina EE, Kim ER, Hamon L, Eliseeva IA, Petrusheva IO, Curmi PA, Ovchinnikov LP, Lavrik OI.* Effect of the multifunctional proteins RPA, YB-1, and XPC repair factor on AP site cleavage by DNA glycosylase NEIL1 // Journal of Molecular Recognition. 2012. V. 25. P. 224-233.
- Pyatibratov M.G., Kostyukova A.S.* New insights into the role of angiogenin in actin polymerization // Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2012. V. 295. P. 175-198.
- Stavrovskaya A, Stromskaya T, Rybalkina E, Moiseeva N, Vaiman A, Guryanov SG, Ovchinnikov LP, Guens G.* YB-1 protein and multidrug resistance of tumor cells // Current Signal Transduction Therapy. 2012. V. 7. P. 237-246.
- Tishchenko S., Gabdulkhakov A., Nevskaya N., Sarskikh A., Kostareva O., Nikonova E., Sycheva A., Moshkovskii S., Garber M. and Nikonov S.* High-resolution crystal structure of the isolated ribosomal L1 stalk // Acta Cryst. 2012. V. D68. P. 1051-1057.
- Гаврилова Л.П., Корпачева И.И., Семушина С.Г., Яшин В.А.* Гипертермия индуцирует одновременно перестройки всех известных цитоскелетных филаментов в нормальных интерфазных фибробластах // 2012. Цитология. т. 54. с. 837-846.
- Дерюшева Е.И., Селиванова О.М., Сердюк И.Н.* Петли и повторы в белках как отпечатки молекулярной эволюции // Успехи биологической химии. т. 52. с. 177-202.
- Коробейникова А.В., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М.* Рибосомные белки: структура, функция и эволюция // Биохимия. 2012. т. 77 с. 686-700.
- Леонова Е.И., Баранов М.В., Галзитская О.В.* Формирование пространственной структуры молекул РНК // Мол. биол. 2012. т. 46. с. 37-51.
- Моисеева Н.И., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Вайман А.В., Малышкина М.А., Ким Е.Р., Елисеева И.А., Кулаковский И.В., Овчинников Л.П., Ставровская А.А.* Влияние вне-

клеточного белка УВ-1 на культивируемые клетки опухолей молочной железы // Биол. мембраны. 2012. т. 29. с. 340-348.

Саблина А. А., Чудинова Е. М., Надеждина Е. С., Иванов П. А. Стрессовые гранулы в клетках с интактными или разрушенными микротрубочками: анализ с помощью нового алгоритма обработки видеоизображений // Цитология. 2012. т. 54. с. 560–565

Селиванова О.М., Галзитская О.В. Структурный полиморфизм и возможные пути образования амилоидных фибрилл на примере белка инсулина // Биохимия. 2012. т. 11. с. 1478-1490.

Согорин Е.А, Широких Н.Э., Ибрагимова А.М., Васильев В.Д., Агаларов С.Ч., Спиринов А.С. Лидерные последовательности эукариотических мРНК могут быть связанными одновременно с иницирующей 80s рибосомой и 40s рибосомной субъединицей // Биохимия. 2012. т. 77. с. 437-441.

Суворина М.Ю., Суринов А.К., Довидченко Н.В., Лобанов М.Ю., Галзитская О.В. Сравнение экспериментальных и теоретических данных по водороднодейтериевому обмену для десяти глобулярных белков // Биохимия. 2012. т. 77. с. 758-766.

Чудинова Е.М., Надеждина Е.С., Иванов П.А. Клеточный ацидоз ингибирует образование, разборку и перемещения в цитоплазме стрессовых гранул // Биохимия. 2012. т. 77. с. 1526-1535.

Опубликовано 3 главы в монографиях, 1 учебник для студентов ВПО и 54 статьи, в том числе 36 статьи в зарубежных изданиях.