

«Согласовано»

постановление Бюро ОБН РАН

от \_\_\_\_\_ 202 г. № \_\_\_\_\_

Академик-секретарь

Отделения биологических наук РАН

---

академик РАН М.П. Кирпичников

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
науки**

**ИНСТИТУТ БЕЛКА РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК  
ОТЧЕТ**

**2021 год**

**Утвержден на заседании  
Ученого совета Института белка РАН  
протокол №1 от 18 января 2022г.**

директор Института белка РАН

---

В.А.Колб

<p>Номер и наименование направления фундаментальных исследований (по Программе)</p>	<p>Полученные результаты (в привязке к ожидаемым результатам)</p>
<p>57 «Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов, протеомика, биокатализ»  Структурные и функциональные исследования белков и их комплексов (№0115-2019-0001)</p>	<p><b>Исследование процесса созревания рибосом у бактерий на молекулярном уровне</b></p> <p>Нами показано, что отсутствие RbfA влияет на раннюю стадию созревания – формирование центрального псевдоузла и головного домена, а также на позднюю – позиционирования спирали h44 в декодирующем центре 30S рибосомной субчастицы. Мы пришли к выводу, что фактор RbfA глубоко вовлечен в процесс биогенеза рибосом и assisteрует созревание функционально важных структурных элементов малой рибосомной субчастицы, и, следовательно, может являться мишенью для разработки новых антибактериальных средств. (ИБ РАН)</p> <p><b>Исследования инициаторного комплекса Qβ-репликазы</b></p> <p>Найдены условия формирования стабильного инициаторного комплекса Qβ-репликазы, связанной с законной матрицей. Для выяснения механизма узнавания матричных РНК Qβ-репликазой важно установить структуру инициаторного комплекса. Наиболее полную информацию о структуре белковых комплексов дает исследование их кристаллов с помощью рентгеноструктурного анализа. Однако до сих пор не удавалось получить стабильный инициаторный комплекс Qβ-репликазы с законной (способной к экспоненциальной репликации) РНК-матрицей, что является непременным условием для образования кристаллов. Инициаторный комплекс образуется в результате инициации синтеза РНК с участием GTP. Если репликазе, связанной с законной матрицей, давать только GTP или неполный набор нуклеотидов, она</p>

останавливается на шаге, требующем включения недостающего нуклеотида. При инкубации в условиях, благоприятных для кристаллизации белка, такой комплекс распадается и не может быть восстановлен. В нашей работе эта проблема была преодолена путем использования олигонуклеотидных праймеров, комплементарных 3'-концевой последовательности матричной РНК. Более того, оказалось, что наличие трифосфатной группы на 5'-конце праймера не является обязательным, и что полученный с помощью олигонуклеотидных праймеров продукт является более гомогенным, чем с помощью ГТР. Наконец, было установлено, что лучшим праймером является тетра-нуклеотид. Так как праймер-индуцируемый переход в закрытую конформацию не требует синтеза РНК, элонгационный комплекс может быть получен в равновесных условиях. Полученный результат открывает реальную перспективу установления кристаллической структуры инициаторного комплекса  $\alpha$ -репликазы, связанной с законной матрицей. (ИБ РАН)

**Исследование влияния замен в аминокислотной последовательности белка YB-1 на его ядерно-цитоплазматическую локализацию**

Ранее нами было обнаружено, что при ингибировании транскрипции белок YB-1 фосфорилируется по серину 102 и переходит в клеточное ядро. Использование ингибитора Akt киназы одновременно с ингибитором транскрипции приводило к снижению фосфорилирования YB-1 по серину 102 и его удержанию в цитоплазме. Однако было не понятно, действительно ли фосфорилирование по серину 102 важно для перехода YB-1 при ингибировании транскрипции или важны какие-то другие модификации, в том числе транспортных факторов. Для ответа на этот вопрос, в клетках HeLa и MCF7 экспрессировали белки HA-YB-1 дикого типа и с фосфомиметическими заменами по серину 102: на аланин (имитирует дефосфорилированное состояние) и на аспарагиновую кислоту (имитирует фосфорилированное состояние). Далее клетки инкубировали с ингибитором транскрипции

флавопиридолом в течении 24 часов и детектировали локализацию НА-УВ-1 иммунофлюоресцентной микроскопией. Оказалось, что белки НА-УВ-1 с заменами по серину 102, также, как и белок НА-УВ-1 дикого типа, переходят в клеточное ядро. Другими словами, даже в нефосфорилированном состоянии НА-УВ-1 (с заменой серина 102 на аланин) переходит в ядро при ингибировании транскрипции. Таким образом, для перехода УВ-1 в ядро при ингибировании транскрипции важно не фосфорилирование серина 102, а фосфорилирование других аминокислотных остатков и/или фосфорилирования компонентов транспортной системы (ядерной поры, транспортных факторов) и белков-партнеров УВ-1. (ИБ РАН)

#### **Исследование ДНК-плавящих свойств белка УВ-1**

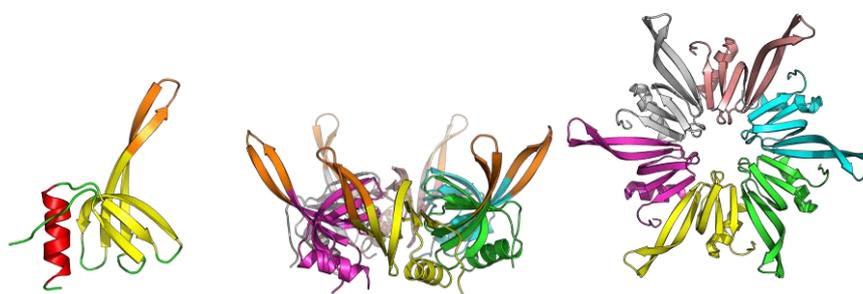
Одним из свойств белка УВ-1 является его способность разрушать вторичную структуры нуклеиновых кислот. Однако детали этого процесса изучены мало. Используя ЯМР-анализ комплексов фрагмента УВ-1(1-180) с ДНК-шпильками, мы установили, что важную роль в плавлении вторичной структуры ДНК играют аминокислотные остатки R97 и K98 в домене холодого шока УВ-1, взаимодействующие с остатками K137 и Y138 в С-концевом домене УВ-1. Действительно замены R97A/K98A или K137A/Y138A в аминокислотной последовательности УВ-1 существенно снижали эффективность плавления короткой двухцепочечной ДНК этим белком (рис. 4). Мы предполагаем, что ДНК-плавящая активность УВ-1 может быть обусловлена совместным действием домена холодого шока и неструктурированным С-концевым доменом. (ИБ РАН)

#### **Структура мутантной формы белка-регулятора трансляции**

##### **Hfq с удлиненной петлей L4**

Бактериальный белок Hfq принадлежит к обширному семейству Lsm/Sm белков, имеющих консервативную третичную структуру и формирующих стабильную четвертичную структуру в виде колец из нескольких мономеров. Бактериальные белки формируют гексамеры, а их архейные и эукариотические гомологи – гептамеры.

Причина формирования высокомолекулярными Lsm/Sm белками с одинаковой третичной структурой мультимеров с различающимся числом мономеров не установлена и является предметом активной дискуссии. Мы экспериментально проверили влияние вариабельной по длине петли L4 на четвертичную структуру белка Hfq. Полученный белок (PaeHfqL4) сохранил гексамерную четвертичную структуру, а удлиненная петля отходит от центральной части белка в разные стороны. Таким образом, нам не удалось изменить четвертичную структуру белка, что показывает её высокую стабильность.

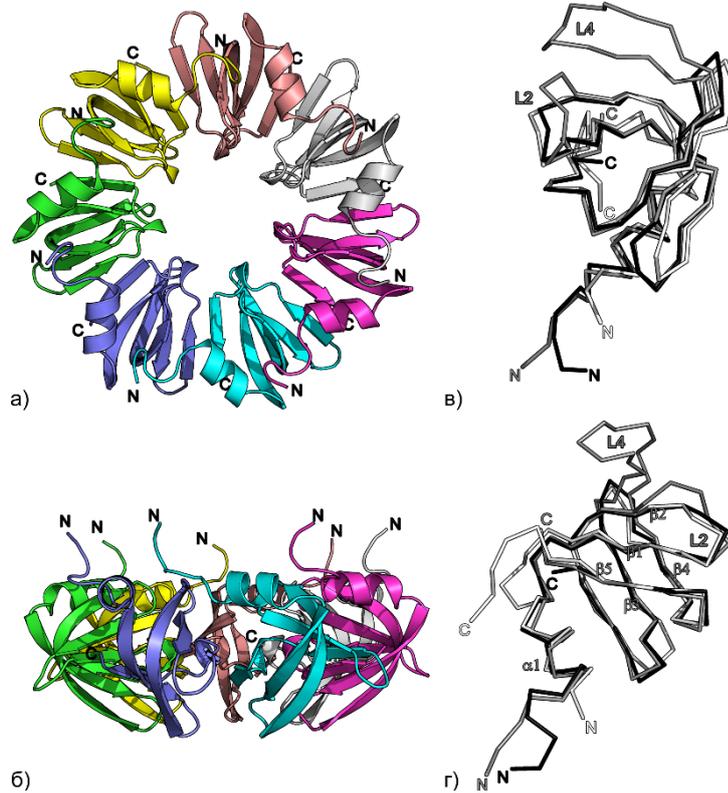


Структура белка Hfq из *P. aeruginosa* с удлиненными петлями L4 (выделена оранжевым цветом). Слева – структура мономера белка PaeHfqL4, в центре – структура гексамерной четвертичной структуры белка PaeHfqL4 (вид сбоку), справа – вид сверху на PaeHfqL4. (ИБ РАН)

#### **Пространственная структура и РНК-связывающие свойства LSM белка из *Halobacterium salinarum***

Определена структура и исследованы РНК-связывающие свойства Lsm белка из *Halobacterium salinarum*, отличительной особенностью которого является короткая петля L4, соединяющая тяжи  $\beta 3$  и  $\beta 4$ . Поскольку бактериальные белки Lsm, называемые Hfq, имеют короткую петлю L4 и образуют гексамеры, тогда как белки Lsm архей, называемые SmAP, имеют длинную петлю L4 и образуют гептамеры, было высказано предположение, что длина петли L4 может влиять на четвертичную структуру белков. Более того, петля L4 прикрывает область SmAP, соответствующую одному из сайтов связывания РНК белка Hfq, и, таким образом, может влиять на РНК-

связывающие свойства белка. Наши результаты показывают, что SmAP из *H. salinarum* формирует гептамеры и обладает теми же РНК-связывающими свойствами, что и гомологичные белки с длиной петель L4. Следовательно, длина L4 не влияет на количество мономеров в белковых частицах и не влияет на РНК-связывающие свойства Lsm.



Структура белка SmAP из *H. salinarum*. а) Общий вид структуры гептамера со стороны  $\alpha$ -спиралей мономеров белка (проксимальная сторона). Обозначены N- и C-концы мономеров. б) Общий вид структуры с боковой стороны гептамера. в) и г) Наложение  $\alpha$ -цепей мономеров SmAP из *H. salinarum* (PDB 6TFL) (черная), AF-Sm2 из *A. fulgidus* (PDB 1LJO) (серая) и Hfq из *E.coli* (PDB 1HK9) (белая). Мономер на панели г) повернут относительно панели в) на 90° по вертикальной оси. Обозначены N- и C-концы белков, элементы вторичной структуры, петли L2 и L4. (ИБ РАН)

### Исследование регуляции трансляции рибосомным белком L1 из архей

Рибосомный белок L1 – консервативный двухдоменный белок, участвующий в формировании L1-выступа большой рибосомной

субчастицы. В условиях дефицита 23S рибосомной РНК белок ингибирует собственную трансляцию, связываясь со специфическим участком в последовательности мРНК своего оперона (L11-оперона бактерий и L1-оперона архей). В работе продемонстрирована консервативность регуляторных свойств рибосомного белка L1 и его домена I в термофильных бактериях родов *Thermus* и *Thermotoga* и в галофильной архее *Haloarcula marismortui*. Наряду с этим, выявлены особенности регуляции оперона в термофильных бактериях, предполагающие наличие двух регуляторных участков.

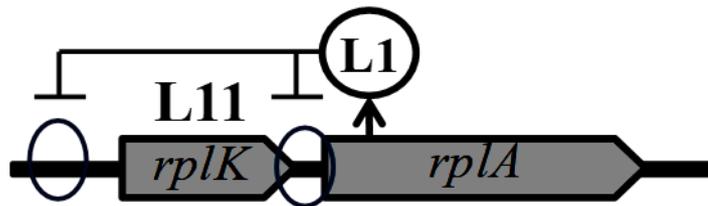
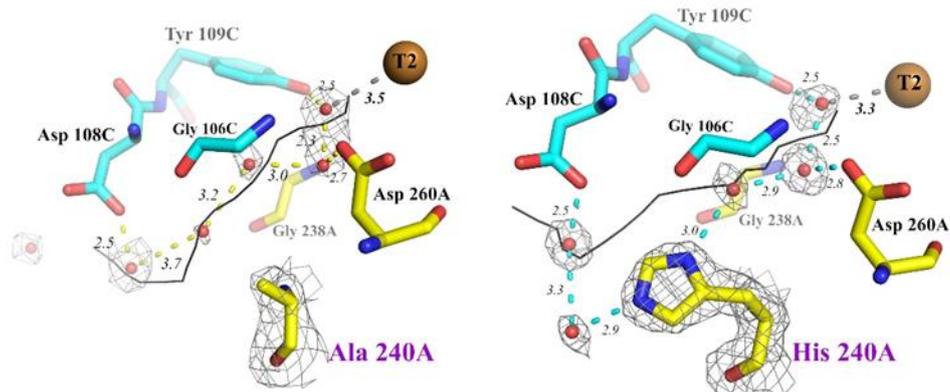


Схема L11 оперона и регуляторные участки в термофильных бактериях родов *Thermus* и *Thermotoga*. (ИБ РАН)

#### Структурно-функциональные исследования медьсодержащих оксидаз (лакказ)

Лакказы относятся к медьсодержащим оксидазам, эти ферменты окисляют субстрат с сопутствующим восстановлением молекулы кислорода до воды. Процесс протонирования происходит в T2/T3 активном центре лакказ, содержащем 3 иона меди (два - T3 и один - T2). В трёхдоменных лакказах ключевую роль в протонирующих событиях играют отрицательно заряженные аминокислотные остатки.

Была исследована роль аргинина 240, расположенного в канале, ведущем к T2 иону меди двухдоменной лакказы, в протонирующих событиях. Мутагенез Arg240 (R240A и R240H) показал ведущую роль положительно заряженного остатка в переносе протонов в двухдоменных лакказах.



Перенос протонов (ломаная линия) к иону меди T2 центра в мутантных формах двухдоменной лакказы (R240A и R240H). (ИБ РАН)

### Структурные исследования бактериофага T5

Впервые получен аутентичный препарат предшественника капсида бактериофага T5 (проголовка I) и установлен его белковый состав. Анализ проголовок I методом крио-ЭМ позволил получить предварительные данные о структуре еще не подвергшейся процессингу фаговой головки, что открывает возможности строить предположения о пути ее самосборки. (ИБ РАН)

57 «Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов, протеомика, биокатализ»  
Теоретические и экспериментальные исследования пространственной структуры

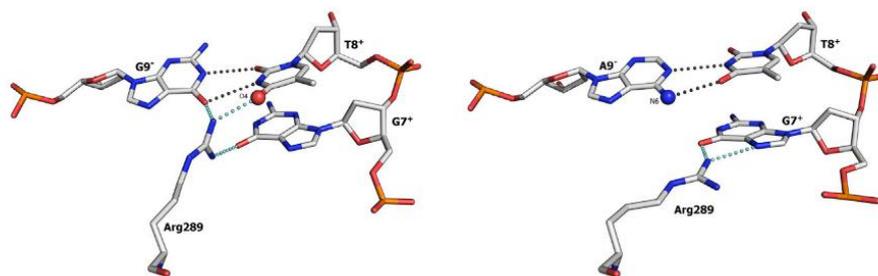
### Бесклеточная система трансляции с нефосфорилируемым по серину 51 фактором инициации трансляции 2A (eIF2alpha с заменой S51A)

На основе лизата клеток Nap1 с eIF2 $\alpha$  S51A нами была создана эффективно работающая бесклеточная система трансляции, проявляющая трансляционную активность в 2-4 раза выше, чем в неоптимизированной системе. Кроме того, в такой системе происходит как формирование полирибосом на экзогенной мРНК, так и активная трансляция эндогенных мРНК. Полученная бесклеточная система удовлетворяет требованиям к системе трансляции для изучения процесса реинициации в полирибосомах и будет использована в дальнейших исследованиях. (ИБ РАН)

белков и других  
макромолекул"  
(№ 0095-2019-  
0009)

### Анализ транскрипционных факторов семейства С/ЕВР

На основании анализа частот мутаций в стволовых клетках была выдвинута гипотеза, что транскрипционные факторы семейства С/ЕВР могут иметь повышенное сродство к участкам специфического связывания, содержащим одноцепочечную замену [С>Т]G. Для проверки данной гипотезы было проведено структурное моделирование на основе опубликованных рентгеноструктурных данных комплексов СЕВРВ с ДНК. Были построены модели связывания со специфичной двухцепочечной ДНК (ТАТАТТGCGСААТАТА) и ДНК с заменами С(+)>Т(+)<sup>8</sup> в 8 положении и/или G(-)>A(-)<sup>9</sup> в 9 положении комплементарной цепи. Оказалось, что за узнавание нуклеотидов в этих положениях отвечает остаток аргинина 289 белка СЕВРВ. При одноцепочечной замене [С8(+)>Т8(+)] аргинин формирует дополнительную водородную связь с атомом кислорода Т8, что должно приводить к усилению связывания СЕВРВ с ДНК. При двухцепочечной замене [С8(+)>Т8(+)] и [G9(-)>A9(-)] аргинин формирует более доступные растворителю водородные связи с G7(+), что в свою очередь должно приводить к ослаблению связывания СЕВРВ с ДНК. Таким образом, структурное моделирование подтвердило гипотезу о повышенном сродстве СЕВРВ к специфическому участку связывания, содержащему одноцепочечную замену [С>Т]G.



Взаимодействие аминокислотного остатка Arg289 белка СЕВРВ с ДНК с двуцепочечной заменой [С8(+)>Т8(+)] и [G9(-)>A9(-)] (левая панель) и с одноцепочечной заменой [С8(+)>Т8(+)] (правая панель). В случае двуцепочечной замены происходит формирование водородных связей между Arg289 и G7(+), а в случае

одноцепочечной замены происходит формирование дополнительной водородной связи между Arg289 и O4 атомом T8(+). (ИБ РАН)

**Изучение свойств мутантных форм глицил-тРНК синтетазы человека, связанных с нейродегенеративными заболеваниями**

В 2003 году впервые появилось сообщение о связи тяжелого нейродегенеративного заболевания как болезнь Шарко-Мари-тута с миссенс-мутациями в гене глицил-тРНК-синтетазы. Болезнь Шарко Мари Тута – самая распространенная наследственная моторно-сенсорная нейропатия у человека. Поскольку данная болезнь связана с точечными мутациями в гене GlyRS, патологические варианты глицил-тРНК синтетазы довольно хорошо охарактеризованы биохимически.

В GlyRS на сегодняшний момент описано более 20 мутаций, связанных с различными нейродегенеративными заболеваниями. L129P и G240R – наиболее часто встречаемый вариант мутаций. При образовании функционально активной димерной формы GlyRS эти аминокислотные остатки располагаются в области контакта двух молекул. Из литературных данных известно, что GlyRS L129P – каталитически неактивен и неспособен образовывать димер. Наличие в белке одиночной мутации в 240 положении так же приводит к потере способности образовывать димер.

Нами были получены препараты глицил-тРНК синтетазы с точечными заменами L129P и L129P/G240R. Обе мутантные формы склонны к агрегации, что может провоцировать возникновение нейродегенеративных заболеваний. Мы показали, что GlyRS L129P способна образовывать комплекс с фрагментом IRES I (константа такого взаимодействия всего лишь в 3 раза ниже, чем у белка дикого типа). Учитывая то, что данная мутантная форма каталитически неактивна и не способна образовывать димер, можно предположить, что эти особенности не являются необходимыми для взаимодействия GlyRS с IRES энтеровирусов. (ИБ РАН)

**Изучение влияния аминокислотных замен в гамма-субъединице фактора инициации трансляции 2 из архей *S. solfataricus* на взаимодействие с бета-субъединицей  $\alpha$ /eIF2**

У людей с синдромом МЕНМО (Mental retardation, Epileptic seizures, Hypogonadism, Microcephaly, Obesity) происходит замена изолейцина в 222 положении на треонин в высоко консервативном участке GTP-связывающего домена hIF2 $\gamma$ . Показано, что такая замена приводит к ослаблению связывания  $\beta$  и  $\gamma$  субъединиц hIF2, нарушая, таким образом, полноценное образование гетеротримерного комплекса. Нами была внесена аналогичная мутация (I181T) в SsoIF2 $\gamma$ , но его структура не изменилась. Мы предположили, что для того, чтобы увидеть эффект замены I181T, необходимо воссоздать еще и ее окружение (у эукариот эта область более закрыта от растворителя, чем у архей): замена (G197Y) должна была воссоздать более закрытый  $\beta\gamma$  интерфейс, способный придать архейной  $\gamma$ -субъединице с заменой I181T свойства эукариотического гомолога. С помощью метода поверхностного резонанса плазмонов были определены константы связывания обеих мутантных форм SsoIF2 $\gamma$  с архейной и эукариотическими (дрожжевой и человеческой) бета субъединицами.

Полученные нами данные указывают на то, что аминокислотная замена в 181 положении однозначно ухудшает ассоциацию архейной гамма-субъединицы с эукариотической бета-субъединицей, однако существенно не сказывается на её ассоциации с архейной бета-субъединицей. Такое различие скорее всего связано с особенностями строения самих бета-субъединиц и разницей в месторасположении областей контакта бета-субъединицы с гамма-субъединицей у архей и эукариот. Мы предполагаем, что бета-субъединица фактора инициации трансляции 2 человека имеет неструктурированную в свободном состоянии N-концевую часть, которая принимает определенную конформацию только при взаимодействии с гамма-субъединицей. Замена изолейцина на треонин в 181 положении гамма-субъединицы замедляет этот процесс. Замена глицина на тирозин в 197 положении, вероятно, улучшает гидрофобные

взаимодействия бета- и гамма-субъединиц. (ИБ РАН)

### **Исследование инициации трансляции у вируса картофеля Y**

Вирус картофеля Y (PVY) является одним из наиболее распространенных и вредоносных растительных вирусов. Трансляция вирусной РНК начинается с взаимодействия белка VPg, ковалентно связанного с вирусной РНК, и растительными кэп-связывающими факторами инициации трансляции семейства eIF4E. С нарушением этого взаимодействия связан один из основных механизмов устойчивости растений к вирусу картофеля Y. В геноме картофеля (*Solanum tuberosum* L.) мультисемейство факторов eIF4E представлено тремя генами - *eIF4E-1*, *eIF4E-2* и *eIF(iso)4E*. До настоящего времени было неизвестно, с какими именно факторами мультисемейства и каким образом связывается вирусный белок.

Были сконструированы модели белков картофеля eIF4E-1 и eIF4E-2 и VPg вируса Y, на основании которых с использованием данных о природном полиморфизме аминокислотных последовательностей белка VPg было выдвинуто предположение о ключевой роли остатка Arg104 в узнавании кэп-связывающих факторов картофеля. Получены мутантные формы белка VPg с заменами в этом положении и проверена их способность связываться с eIF4E картофеля. С использованием полученных экспериментальных и известных структурных данных построена теоретическая модель комплекса VPg с eIF4E2. Предложенная модель существенно отличается от известных ранее моделей комплексов VPg вируса Y с eIF4E и хорошо соответствует имеющимся биохимическим данным. (ИБ РАН)

<p>58.</p> <p>«Молекулярная генетика, механизмы реализации генетической информации, биоинженерия»</p> <p>Изучение процесса биосинтеза белка и механизма его регуляции</p> <p>(№ 0115-2019-0003)</p>	<p style="text-align: center;"><b>Трансляция метилированной мРНК</b></p> <p>Для изучения механизмов неканонической эукариотической инициации трансляции была синтезирована кэпированная матричная РНК с 5'-концевой нетранслируемой последовательностью мРНК бета-глобина кролика, в которой адениловые остатки были метилированы в 6-м положении (N<sup>6</sup>-метиладенозин, m<sup>6</sup>A). Степень метилирования (вероятность того, что данный нуклеотид метилирован) составляла приблизительно 50%.</p> <p>Такую мРНК транслировали в бесклеточной системе трансляции, приготовленной из клеток НЕК293Т. Реакцию проводили в присутствии кэп-аналога – типичного ингибитора кэп-зависимой инициации трансляции. Оказалось, что метилированная мРНК более устойчива к ингибированию кэп-зависимой трансляции кэп-аналогом, что подтверждает возможность кэп-независимой инициации на модифицированных мРНК. Кроме того, было проведено сравнение кэпированной неметилированной и метилированной мРНК в системах трансляции, содержащих мутант R362Q фактора инициации eIF4A – ингибитора АТФ-зависимого сканирования. Показано, что присутствие R362Q в реакционной смеси оказывает больший ингибирующий эффект на трансляцию немодифицированной мРНК по сравнению с метилированной, что подтверждает возможность АТФ-независимого сканирования на модифицированных мРНК, продемонстрированную ранее методом тупритинга в экспериментах по образованию инициаторных 48S комплексов в присутствии R362Q. (ИБ РАН)</p> <p style="text-align: center;"><b>Влияние нетранслируемых РНК на трансляцию в бесклеточных эукариотических системах</b></p> <p>Бесклеточные системы синтеза белка (трансляции) – одна из фундаментальных технологий, которая, помимо изучения механизмов биосинтеза белка, открывает широкие возможности для быстрого синтеза белков в препаративных количествах. В опытах по бесклеточной трансляции обнаружено новое свойство системы на</p>
---	---

	<p>основе экстракта зародышей пшеницы (wheat germ extract, WGE) – стимуляция биосинтеза добавлением нетранслируемой бактериальной рибосомной РНК. Было показано, что добавление в систему WGE 16S или 23S рибосомной РНК <i>E. coli</i> оказывает значительный стимулирующий эффект на трансляцию репортерной мРНК. В то же время добавление нетранслируемой тРНК или ДНК в качестве контроля не влияет на трансляцию. Механизм обнаруженного явления неизвестен. Предположение о том, что нетранслируемая РНК связывает присутствующий в экстракте ингибитор, будет проверяться в дальнейших опытах. (ИБ РАН)</p>
<p>60 "Клеточная биология. Теоретические основы клеточных технологий «Изучение организации и функций</p>	<p><b>Роль динеинового транспорта по микротрубочкам в клеточной секреции</b></p> <p>Получены данные, показывающие, что при синтезе в клетках конститутивно-активной ГТФазы Sar1a[H79G] образуется кластер везикул, и он диспергируется по клетке при разрушении микротрубочек. Движение в клетках везикул, содержащих белок промежуточного компартмента ERGIC53/LMAN1, подавляется при ингибировании динеина. Используя эффект Sar1a[H79G], вызывающий кластеризацию ERES в центральной части клетки, мы</p>

<p>белковых фибрилл в клетках»</p> <p>№ 0115-2019-0002</p>	<p>обнаружили, что белки BicaudalD2 (BicD2) и Rab6 являются компонентами адапторного комплекса, связывающего динеин с мембранами ERES (Shomron et al., 2021; <a href="https://doi.org/10.1111/tra.12774">https://doi:10.1111/tra.12774</a>). BicD2 локализовался с ERES и транспортными везикулами ТС. Локализация ERES вблизи аппарата Гольджи нарушалась при ингибировании BicD2 при экспрессии его N-концевого фрагмента или доминантно-негативного мутанта Rab6. Аккумуляция секретируемого белка в аппарате Гольджи также замедлялась при ингибировании Rab6 и BicD2. Таким образом, адаптор динеина, состоящий из BicD2/Rab6 необходим для локализации ERES вблизи аппарата Гольджи. Мы предполагаем, что ассоциация ERES и аппарата Гольджи может увеличивать эффективность транспорта на участке между ER и аппаратом Гольджи. (ИБ РАН)</p> <p style="text-align: center;"><b>Изучение роли множественности генов археллинов (флагеллинов) у галофильных архей</b></p> <p>Мы исследовали сборку одно- и двухкомпонентных архелл в гетерологичной системе <i>Haloferox volcanii</i> и сравнили характеристики рекомбинантных и природных мультикомпонентных архелл. Были исследованы археллины двух галоархей, существенно отличающиеся по своим характеристикам. 1) Археллины <i>Halorubrum lacusprofundi</i> ArlB1 и ArlB2: эти белки идентичны только на 30%, их гены организованы в оперон с общим промотором, в составе архелл они представлены в сопоставимых количествах. 2) Археллины ArlA1 и ArlA2 <i>Halobacterium salinarum</i>: эти белки идентичны на 80%, их гены также организованы в оперон с общим промотором, в составе архелл они являются мажорными компонентами (наряду с минорными археллинами ArlB1-ArlB3). С помощью микрокалориметрии было показано, что функциональные спиральные археллы могут формироваться из каждого археллина <i>Hrr. lacusprofundi</i> по отдельности, при этом двухкомпонентные филаменты ArlB1/ArlB2 обладают повышенной термостабильностью и устойчивостью к пониженной солености, по сравнению с однокомпонентными филаментами (Pyatibratov et al.,</p>
--	--

2020, <https://doi.org/10.1002/mbo3.1047>). В случае *Hbt. salinarum* функциональные спиральные археллы также могут формироваться из каждого археллина по отдельности, но при этом рекомбинантные однокомпонентные и двухкомпонентные филаменты имеют сходную стабильность, незначительно отличающуюся от стабильности природных архелл. Таким образом, в обоих случаях гипотеза о решающей роли множественных археллинов в формировании спиральной структуры археллы не нашла подтверждения. Показано, что двухкомпонентный состав архелл может обеспечивать дополнительную стабилизацию их структуры, способствуя адаптации к более широкому диапазону внешних условий.

Впервые показана возможность сополимеризации *in vivo* археллинов различных видов галоархей. Получены сополимеры, собранные из смеси археллинов *Hfx. volcanii* и археллинов *Hrr. lacusprofundi*, *Hbt. salinarum* и *Haloferax hispanica*. Гибридные жгутики сохраняли функциональность, а в некоторых случаях стабильность гибридных структур (например при коэкспрессии археллинов ArlB1 *Hrr. lacusprofundi* и ArlA1ArlA2 *Hfx. volcanii*) была выше, чем у природных архелл *Hfx. volcanii*. (ИБ РАН)

#### **Изучение нового типа поверхностных структур (ТАТ-нитей), обнаруженных нами у галофильных архей**

Анализируя окружение гена, кодирующего мажорный белок ТАТ-нитей *Haloarcula hispanica*, НАН\_0240, мы идентифицировали кластер консервативных генов (*hah\_0238* – *hah\_0243*), вероятно, участвующих в выполнении общих задач. Один из генов, *hah\_0243*, кодирует сигнальную пептидазу, белковые продукты двух других (*hah\_0239* и *hah\_0242*), подобно НАН\_0240 содержат мотив, характерный для твин-аргининового (ТАТ) пути транслокации. Мы показали, что экспрессия полного кластера (*hah\_0237-hah\_0243*) этих генов в составе рекомбинантной плазмиды в модельном галофильном археоне *Haloferax volcanii*, не имеющем подобных генов, приводит к синтезу рекомбинантных ТАТ-нитей, сходных с природными. При экспрессии неполного набора генов из данного кластера (*hah\_0240-hah\_0243*) белок НАН\_0240 секретируется из

клетки, однако ТАТ-нити не формируются. Мы предполагаем, что неспособность НАН\_0240 к полимеризации в такой системе может быть вызвана отсутствием гипотетических белков-партнеров НАН\_0240 (НАН\_0237-НАН\_0239), необходимых для инициации полимеризации. Результаты анализа структуры НАН\_0240 и других белков кластера с помощью молекулярного моделирования (AlphaFold и другие методы) позволили выдвинуть гипотезу о структурном подобии ТАТ-нитей и хорошо изученных адгезивных пилей, которые используются патогенными бактериями при инфицировании клетки-хозяина. Секреция субъединиц адгезивных пилей осуществляется с помощью Sec-пути, а определяющую роль в сборке пилей играют периплазматический шаперон и транспортный белок внешней мембраны, т. н. «usher» (Zavialov et al., 2007, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00075.x>; Lillington et al., 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.07.009>). В случае ТАТ-нитей вместо Sec-пути используется ТАТ-путь, при котором белки секретируются, уже имея сформировавшуюся третичную структуру (Frain et al., 2019, <https://doi.org/10.1007/s10930-019-09859-y>). Соответственно, сборка ТАТ-нитей, вероятно, происходит принципиально иным путем с использованием других вспомогательных белков. Для понимания механизмов сборки ТАТ-нитей планируется получение мутантных штаммов с последовательными делециями генов кластера *hah\_0237 - hah\_0243*. (ИБ РАН)

**Модификация поверхности жгутиков галофильных архей с целью получения наноматериалов с заданными свойствами**

Задачей исследований был поиск оптимальных сайтов для вставок целевых пептидов в молекулу археллина и разработка системы для синтеза архелл с разной степенью модификации. Для вставки использовался т. н. FLAG-пептид, детекция которого проводилась с помощью специфических антител. С помощью молекулярного моделирования для вставок были выбраны участки во внешних петлях археллинов ArlA1 и ArlA2 *Hbt. salinarum*. При выборе в расчет принимались результаты предсказания сайтов N-

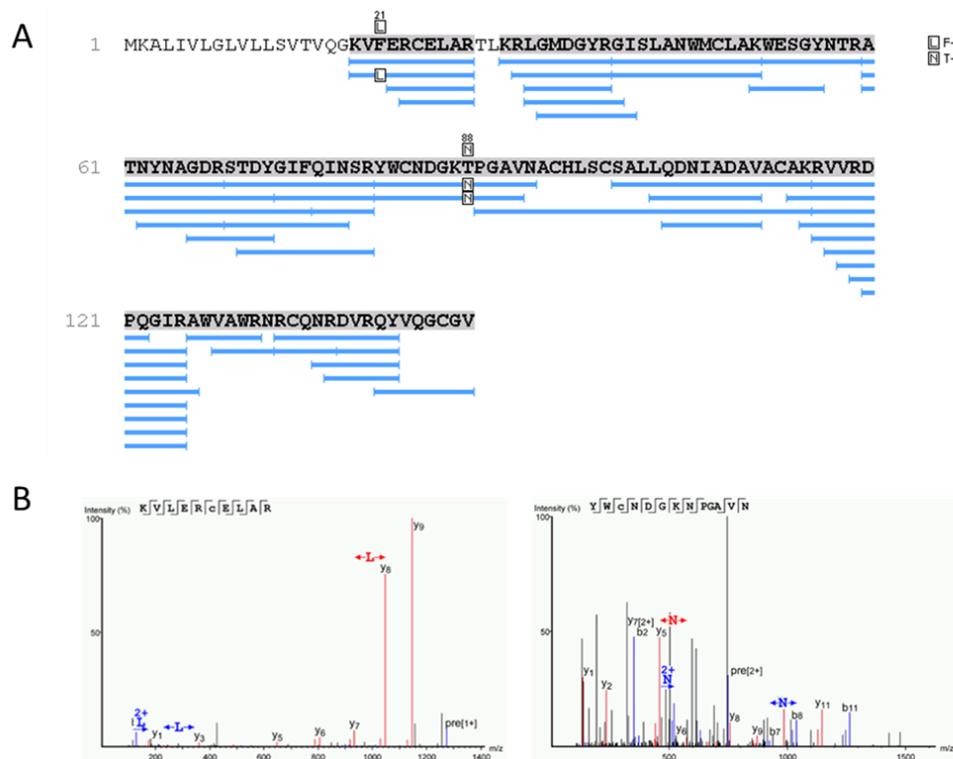
гликозилирования археллинов и структуры присоединенных олигосахаридов, известные из литературных данных (Vershinin et al., 2021, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwab080>). Были протестированы следующие варианты вставок: для ArlA1: между S75-G76, A90-A91 и T120-A121; для ArlA2: между T119-T120 и K157-L158. Экспериментальная проверка показала, что гетерологичная система *Hfx. volcanii* может использоваться для эффективной экспрессии как нативных, так и модифицированных археллинов *Hbt. salinarum*. Были получены функциональные рекомбинантные двухкомпонентные археллы ArlA1<sub>FLAG</sub>/ArlA2, в которых доля модифицированного археллина ArlA1<sub>FLAG</sub> составляла 30 и 60% (ранее нам удавалось получить археллы, где доля модифицированной субъединицы не превышала 20%). Нам не удалось получить однокомпонентные филаменты, построенные полностью из модифицированного ArlA1. Уровень экспрессии модифицированных археллинов ArlA1<sub>FLAG</sub>, был невысоким, а при электронно-микроскопическом исследовании выяснилось, что вставка (каждый из трех вариантов) приводит к аномальной сборке этих археллинов в утолщенные тяжи или агрегаты вместо нормальных филаментов. В противоположность ArlA1, модифицированный FLAG-пептидом по сайту (T119 /T120) археллин ArlA2 сохраняет способность формировать однокомпонентные филаменты, внешне сходные с природными, на 100% состоящие из модифицированной субъединицы ArlA2<sub>FLAG</sub>. Экспонированность пептидной вставки на поверхности архелл была подтверждена иммуно-электронной микроскопией. Модифицированные филаменты сохраняют функциональность, хотя подвижность клеток-продуцентов значительно ниже, чем при экспрессии природного археллина ArlA2. Разработана методика, позволяющая получать ArlA2<sub>FLAG</sub>-археллы с высоким выходом. (ИБ РАН)

**Роль митофагии в определении тяжести симптомов при наследственных оптических нейропатиях**

Митофагия — это тип избирательной аутофагии. В процессе

	<p>митофагии некоторые митохондрии изолируются от всех остальных молекул и органелл клеток в двухмембранной органелле — аутофагасоме, в которой митохондрии доставляются в лизосомы, где происходит их разрушение. Можно предположить, что перспективным подходом для смягчения симптомов НОНЛ может быть стимуляция митофагии в нейронах носителей вышеназванных мутаций. Поскольку активацию митофагии можно вызвать при помощи некоторых известных фармакологических препаратов (например, рапамицина), мы рассматриваем данные, опубликованные для некоторых из них. Таким образом, митофагия представляет собой защитную систему различных клеток и в первую очередь нейронов, позволяющую избегать апоптоза при повреждении митохондрий. От нормального функционирования этой системы зависит степень нарушений, которые наблюдаются при митохондриальных болезнях. В соответствии с этим использование компонентов системы митофагии в качестве мишени при лечении больных НОНЛ, как и других нейродегенеративных заболеваний, представляется перспективным. (ИБ РАН)</p>
<p>61 "Биофизика. Радиобиология. Математические модели в биологии. Биоинформатика". Биоинформатические и протеомные исследования белков и их комплексов (№0115-2019-0004)</p>	<p style="text-align: center;"><b>Определение специфических белков в тканях пациентов с диагнозом системный амилоидоз</b></p> <p>В рамках работы с образцами тканей, полученных от пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом «амилоидоз», были определены типы амилоида для 10 различных образцов. Также были подобраны условия выделения белков из материала с различным типом фиксации. Для одного из препаратов был определен крайне редкий тип амилоида с отложением в нерастворимые агрегаты лизоцима. Данный тип является наследственным и причиной его является возникновение аминокислотной замены в последовательности лизоцима. Также с помощью масс-спектрометрического анализа были найдены две аминокислотные замены в последовательности лизоцима – p.F21L/T88N. С помощью анализа нуклеотидной последовательности гена, кодирующего лизоцим, было показано наличие двух мутаций, которые привели к заменам данных аминокислотных остатков в последовательности</p>

белка.

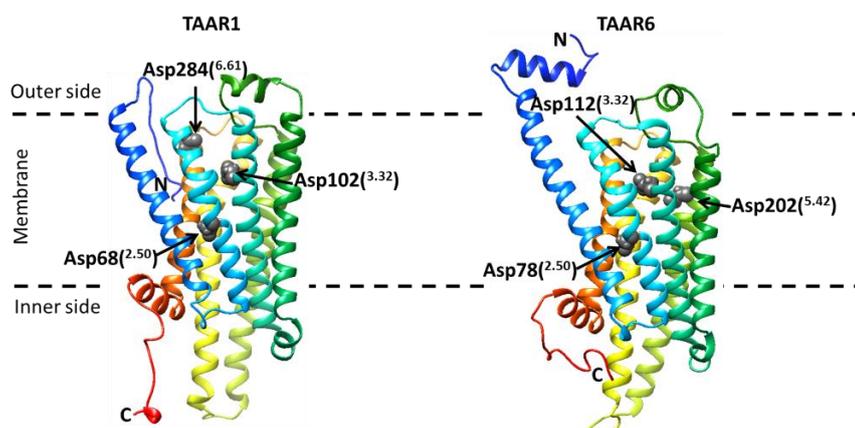


Определение аминокислотной замены в последовательности лизоцима по данным масс-спектрометрии для пациента, с поставленным диагнозом амилоидоз. А – покрытие аминокислотной последовательности лизоцима при обработке в программе PeaksStudio (Spider). Синим цветом выделены узнанные при идентификации пептиды. В – спектры фрагментации пептидов, узнанных с заменами р.F21L и р.T88N. (ИБ РАН)

## 2. Поиск структурных основ взаимодействия биогенных аминов с рецепторами TAAR1 и TAAR6 человека

Обнаружение и характеристика участков связывания рецептора с лигандом важны для разработки лекарств. Рецепторы, связанные со следовыми аминами (TAAR, входят в класс А семейства GPCR белков) могут взаимодействовать с различными биогенными аминами и их метаболитами, но структурная основа их распознавания рецепторами TAAR на сегодняшний день пока не совсем ясна. В данной работе были получены третичные структуры рецепторов TAAR1 и TAAR6 с помощью программы GPCR-I-TASSER и проведён докинг рецепторов TAAR1 и TAAR6 с лигандами бетафенилэтиламином, тирамином, путресцином,

кадаверином и гамма-аминомасляной кислотой с использованием программы Galaxy7TM. После анализа аминокислотных последовательностей рецепторов мы выбрали по три аминокислотных остатка Asp68<sup>(2.50)</sup>, Asp102<sup>(3.32)</sup>, Asp284<sup>(6.61)</sup> в рецепторе TAAR1 и Asp78<sup>(2.50)</sup>, Asp112<sup>(3.32)</sup>, Asp202<sup>(5.42)</sup> в рецепторе TAAR6, которые могут быть связаны с активным центром (см. Рис. 2). В дальнейшем, тройки и пары, состоящие из этих аминокислотных остатков, использовались в качестве входных данных для программы Galaxy7TM. Из анализа результатов связывания для 7500 структур, мы получили данные о том, что путресцин и кадаверин связываются с TAAR1 по одному сайту, Asp68<sup>(2.50)</sup> + Asp102<sup>(3.32)</sup>, а с TAAR6 по двум сайтам, Asp78<sup>(2.50)</sup> + Asp112<sup>(3.32)</sup> и Asp112<sup>(3.32)</sup> + Asp202<sup>(5.42)</sup>. Тирамин связывается с TAAR6 по тем же двум сайтам, что и путресцин и кадаверин, и не связывается с TAAR1 по выбранным остаткам аспарагиновой кислоты.  $\beta$ -фенилэтиламин и гамма-аминомасляная кислота не связываются с рецепторами TAAR1 и TAAR6 по выбранным остаткам аспарагиновой кислоты.



Пространственные структуры рецепторов TAAR1 и TAAR6. Аминокислотные остатки Asp68<sup>(2.50)</sup>, Asp102<sup>(3.32)</sup>, Asp284<sup>(6.61)</sup> для TAAR1 и Asp78<sup>(2.50)</sup>, Asp112<sup>(3.32)</sup>, Asp202<sup>(5.42)</sup> для TAAR6, которые, предположительно входят в состав активного центра, выделены серым цветом. (ИБ РАН)

**Определение тотального белка в биологических жидкостях  
методами ограниченного протеолиза и ВЭЖХ-МС**

С помощью масс-спектрометрии проанализировано 7 образцов мочи от здоровых добровольцев, 1 образец от пациента, проходившего лечение в онкологическом диспансере. При первичной обработке полученных данных по количеству идентифицированных белков в образцах, выборка общих белков-кандидатов в коровый протеом составила 30 белков. Был проведен теоретический анализ размера необходимой выборки для получения стабильного корового протеома мочи здоровых лиц.

(ИБ РАН)

**Моделирование растяжения двух моделей филаментного актина  
с постоянной скоростью методом молекулярной динамики**

Целью работы являлось определение механической стабильности двух моделей филаментного актина. Так как филаментный актин является белком мышечной ткани, то он играет важную роль в сокращении мышц совместно с белками миозином и титином. Поэтому изучение механических свойств филаментного актина является важной и актуальной задачей в области молекулярной биологии и биофизики. В данной работе растяжение двух моделей филаментного актина проводилось при трех постоянных скоростях (0.1, 0.05 и 0.01 Å/пс) с использованием метода молекулярной динамики. Первая модель была взята из банка белковых структур (ProteinDataBank), а вторая модель была построена нами на основании полученных данных по ограниченному протеолизу, масс-спектрометрическому анализу и электронной микроскопии, таким образом, что один мономер актина частично прикрывал второй мономер (см. Рис. 3). Для каждой скорости растяжения было проведено по 8 независимых вычислительных экспериментов. Таким образом, было получено 48 траекторий (по 24 траектории для каждой модели филаментного актина). Из анализа полученных траекторий следует, что вторая модель филаментного актина оказалась более механически устойчивой по сравнению с первой. Разница в силах, необходимых для отрыва мономеров друг от друга,

для первой и второй моделей составляет ~ 2000 пН.

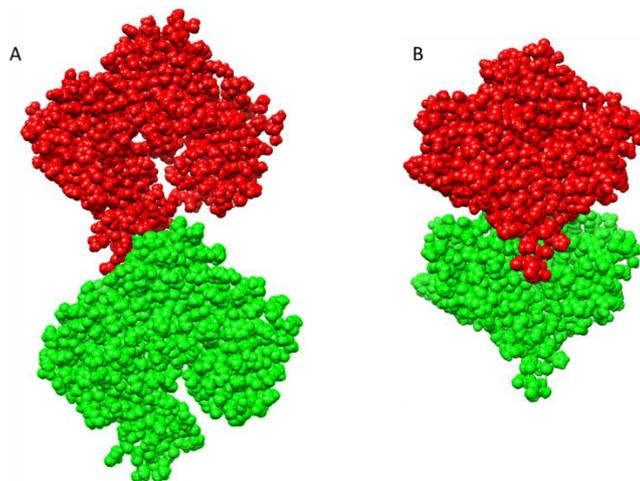


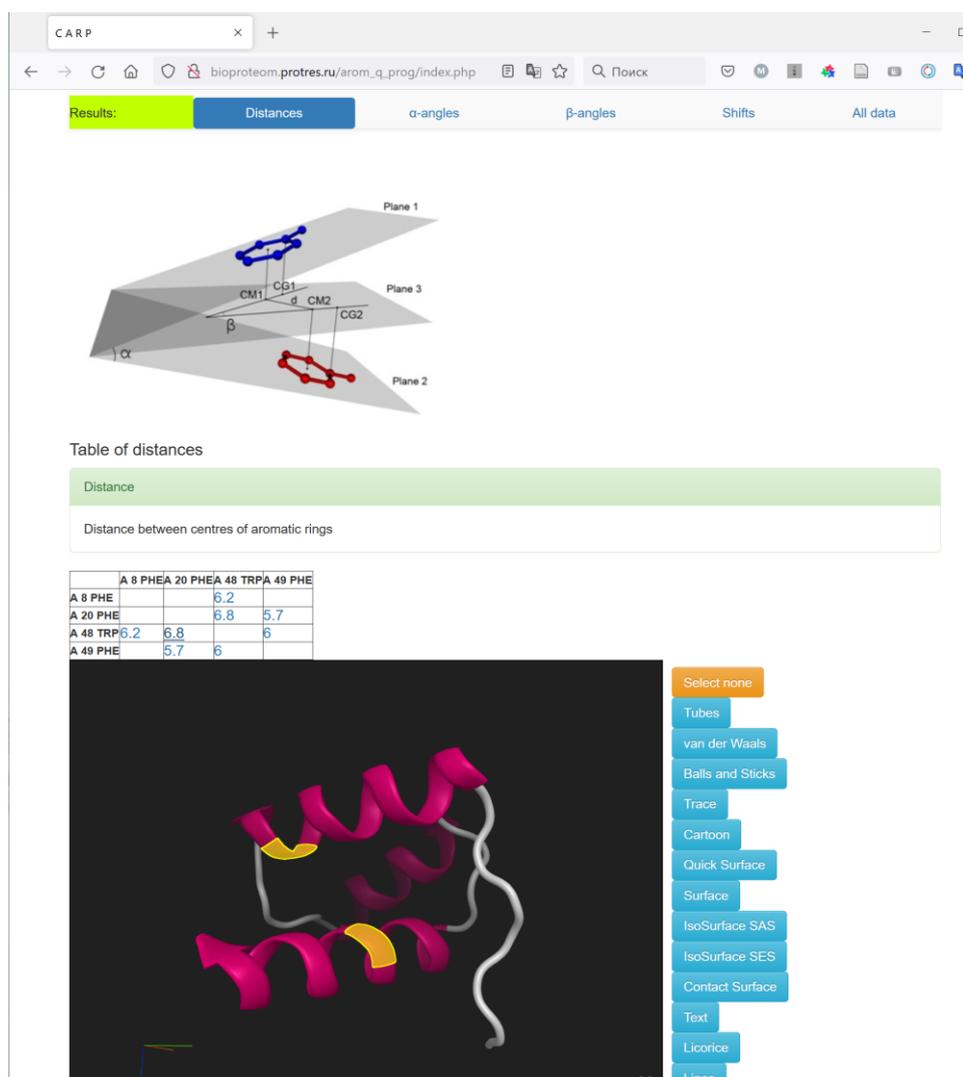
Рисунок 3. (А) Структура филаментного актина из банка белковых структур (pdb 3j8k, цепи E и G). (В) Сконструированная структура филаментного актина с перекрывающимися структурными единицами.

(ИБ РАН)

Мы показали, что наиболее благоприятное расположение между взаимодействующими ароматическими остатками в белковых структурах, представленных в банке белковых структур, соответствует углу  $60^\circ$ . Создан сервер (CARP – Contacts of Aromatic Residues in Proteins) для расчета структурных особенностей взаимодействующих ароматических остатков в белках: [http://bioproteom.protres.ru/arom\\_q\\_prog/](http://bioproteom.protres.ru/arom_q_prog/).

Цель данного исследования состояла в том, чтобы оценить благоприятность различных конформаций ароматических остатков в белках путем анализа встречаемости определенных конформаций. Выполнена кластеризация белковых структур из банка белковых структур (PDB). Конформации взаимодействующих ароматических остатков были проанализированы для 511 282 пар в 35 493 белковых структурах, имеющих менее 50% идентичности. Пары с параллельным расположением ароматических остатков составили 6,2% от всех возможных, что вдвое больше ожидаемого. Пары с перпендикулярным расположением ароматических остатков

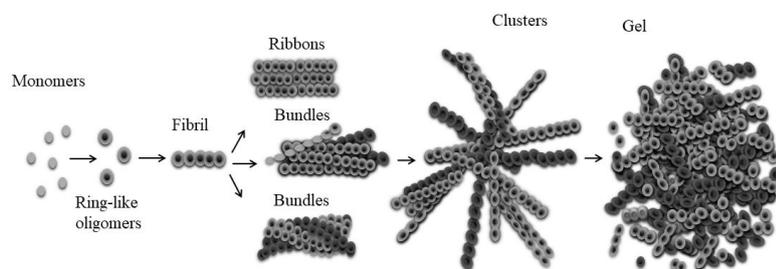
составили 25%. Мы показали, что наиболее благоприятное расположение между взаимодействующими ароматическими остатками было при угле  $60^\circ$ . Среди всех возможных ароматических пар пара His-His встречалась вдвое чаще, чем ожидалось, а пара His-Phe встречалась реже, чем ожидалось. Нами создан сервер (CARP – Contacts of Aromatic Residues in Proteins) для расчета структурных особенностей взаимодействующих ароматических остатков в белках: [http://bioproteom.protres.ru/arom\\_q\\_prog/](http://bioproteom.protres.ru/arom_q_prog/)



Результат CARP-сервера для структуры белка 1enh и взаимодействующих ароматических остатков 48 Trp и 20 Phe, которые выделены желтым цветом. Расстояние между этими остатками составляет  $6,8 \text{ \AA}$ .

## Определение механизма гелеобразования из коротких амилоидогенных пептидов

Фибриллы, биопленки, биогели являются перспективным объектом для использования их в развивающейся области исследований – нанобиотехнологии. Исследование механизма/механизмов их формирования, влияние на этот процесс различных факторов необходимое условие для разработки подходов с целью получения нанобиоматериалов с заданными свойствами. В данной работе мы представляем данные по исследованию структуры биогелей, сформированных четырьмя 10-членными амилоидогенными пептидами: пептида AspNB и его аналога GluNB, являющимися фрагментами белка глюкантрансферазы Bgl2p из клеточной стенки дрожжей, и пептидами A $\beta$ (31-40), A $\beta$ (933-42) из A $\beta$ (1-42) пептида. Данные пептиды были предсказаны нами как амилоидогенные на основании программы FoldAmyloid. На основании анализа данных мы предлагаем возможную схему формирования биогелей данными пептидами (Рис.5).



Схема, демонстрирующая механизм образования геля из амилоидогенных пептидов. (ИБ РАН)

В ходе соревнований Critical Assessment of protein Intrinsic Disorder prediction (CAID) было показано, что наша программа IsUnstruct вошла в 10 лучших программ для предсказания неструктурированных участков в белковой последовательности.

(ИБ РАН)

<p>VI. Биологические науки</p> <p>61. Биофизика, радиобиология, математические модели в биологии, биоинформатика</p> <p>Тема: "Теоретические и экспериментальные исследования пространственной структуры белков и других макромолекул" (№ 0115-2019-0005)</p>	<p><b>Теоретическое исследование скорости зарождения льда</b></p> <p>Такое исследование потребовалось при изучении механизма действия белков-антифризов. Показано, что время зарождения льда как в толще воды, так и на связывающей лёд ровной поверхности стремится к бесконечности, когда температура приближается к 0°C. Причина - потеря межмолекулярных контактов на периферии льда. Но этой потере можно избежать, если связывающая лёд поверхность такова, что контакт между молекулами нарастающего на нее слоя льда мал: потеря энергии контактов на периферии такого слоя невелика. Анализ структуры «нормального» гексагонального льда показал, что его слои налипают друг к другу именно таким образом, ибо молекулы H<sub>2</sub>O в нем имеют водородные связи либо с «нижним», либо с «верхним» слоем, но не в пределах одного и того же слоя. (ИБ РАН)</p> <p><b>Расчет констант диссоциации молекул в воде</b></p> <p>Важный для молекулярной биофизики расчет констант диссоциации требует расчета и энтальпии, и энтропии связывания. Расчет энтропии с помощью молекулярной динамики требует очень большого времени. Мы разрабатываем быстрый метод расчета энтропии, основанный на оценке диапазона движения молекул в связанном состоянии. Ранее мы рассматривали сублимацию малых органических молекул из кристаллов в пар, а теперь расширили наш подход, рассматривая растворение молекул в дополнение к их сублимации. Как и в случае сублимации, наш метод показывает хорошую (~95%) корреляцию с экспериментально измеренными константами диссоциации при растворении кристаллов. (ИБ РАН)</p> <p><b>Исследование образования амилоидов крупными белками</b></p> <p>Это - новое направление в исследовании белковой агрегации (до сих пор же работы по амилоидогенезу делались в основном на небольших белках и пептидах). Проведено исследование амилоидной агрегации карбоксиангидразы – крупного однодоменного глобулярного белка с молекулярным весом 30 кДа. С использованием электронной микроскопии, гель-хроматографии и</p>
---	--

электрофореза обнаружено, что в условиях формирования фибрилл (рН 2,7; 57°C) карбоксиангидраза подвергается кислотному гидролизу, и предшественниками амилоидов являются фрагменты белка молекулярным весом  $\approx 10$  кДа. Повышение рН ведет к ингибированию гидролиза; при этом полноразмерный белок не способен к формированию амилоидов и образует аморфные агрегаты без регулярной  $\beta$ -структуры. Полученные результаты указывают на важность контроля целостности полипептидной цепи при длительной инкубации белков в кислых условиях в широком диапазоне температур. (ИБ РАН)

#### **Поиск места инициации амилоидной агрегации**

Этот поиск привёл нас к анализу событий, происходящих у стенок пробирок и других поверхностей раздела твёрдой и жидкой фаз. У любого сосуда, используемого в эксперименте, есть стенки, которые могут влиять на адсорбцию белка и изменять его структуру. Мы провели серию простых экспериментов по прямому наблюдению адсорбции и агрегации пептида А $\beta$  1-40 на поверхности стекла, кварца и пластика, и показали, что на этих поверхностях происходит интенсивная адсорбция и агрегация пептидов. Это означает, что стенка сосуда может быть тем местом, где возникает ядро амилоида. Мы предполагаем, что этот эффект также может быть одной из причин трудности воспроизведения кинетических опытов при изучении агрегации амилоида пептида А $\beta$  1-40 и других амилоидогенных белков. Как показывают результаты данной работы, этот фактор может иметь место в любом эксперименте, и необходимо его учитывать и оценивать его влияние. (ИБ РАН)

#### **Создание универсальной установки для разнообразных исследований процессов замерзания водных растворов и таяния льда**

Собрана экспериментальная установка и разработана методика измерений, позволяющая исследовать влияние различных веществ на температуру замерзания воды, температуру сосуществования льда и воды, и температуру плавления льда. Исследовано влияние

клеток *P. syringae* (которые способствуют замерзанию растений) на замерзание воды и на таяние льда. Определена зависимость температуры замерзания воды от концентрации этих клеток. Впервые обнаружено влияние клеток *P. syringae* на температуру сосуществования льда и воды. (ИБ РАН)

#### **Исследование взаимодействий фактора некроза опухоли**

Исследовано взаимодействие фактора некроза опухоли (TNF) с кавеолином-1, резидентным белком липидного рафта. Обнаружено, что внутриклеточные домены TNF а также белка CD40L взаимодействуют с кавеолином-1. Кроме того, обнаружено, что полноразмерный TNF может образовывать комплекс с кавеолином-1 в мембранных рафтах клеток HeLa, и нокдаун кавеолина-1 приводит к нарушению транспорта TNF к рафтам. Эти результаты являются первым доказательством прямого взаимодействия между TNF, CD40L и кавеолином-1, и предполагают, что кавеолин-1 может быть ответственен за процесс доставки TNF в липидные рафты. (ИБ РАН).

#### **Сравнительное исследование люцифераз**

Проведено сравнительное изучение люцифераз из *Vibrio harveyi* и *Photobacterium leiognathi*. Получены стационарные и разрешенные во времени спектры флуоресценции и спектры кругового дихроизма двух люцифераз в присутствии разных концентраций денатуранта и разных pH. Методом молекулярной динамики исследованы различия в окружении триптофановых аминокислотных остатков в структуре люцифераз. Проведенные исследования позволили сделать вывод, что различия во флуоресценции двух люцифераз связаны с различиями в структуре С-концевого домена  $\alpha$ -субъединиц этих белков. (ИБ РАН).

#### **Исследование связывания барназы с барстаром *in vivo***

Резонансным переносом энергии биолюминесценции (BRET) зарегистрирован комплекс барназы с барстар *in vivo*. Резонансный перенос энергии биолюминесценции (BRET) является перспективным биофизическим методом исследований белок-

белковых взаимодействий в живых клетках благодаря очень специфичной реакции окисления ко-фактора люцифераз – целентеразина, что значительно уменьшает вклад других клеточных факторов и последствия воздействия света на их структуру. Показано, что в результате коэкспрессии плазмид, кодирующих слитые гены барназа-люцифераза и барстар-EGFP, в клетках *E. coli* формируется прочный комплекс барназы с барстар, результатом которого является эффективный резонансный перенос энергии биолюминесценции между люциферазой (донором) и EGFP (акцептор). Впервые *in vivo* проведена оценка расстояния между хромофорами донора и акцептора, которая составила  $56 \pm 2 \text{ \AA}$ , что подтверждает наличие прочного комплекса барназа-барстар *in vivo*. (ИБ РАН)

#### **Идентификация новой гиалуронидазы**

Гиалуроновая кислота широко используется в косметологии и медицине. Гиалуронидаза из гомогената гепатопанкреазы камчатского краба является ферментом, расщепляющим агрегаты гиалуроновой кислоты с эффективностью на порядок большей, чем коммерческие аналоги. Однако ферментативные и структурные особенности этого белка изучены мало. Ген белка, обладающего гиалуронидазной активностью, был выделен из транскриптона гепатопанкреазы и клонирован. Показано, что белковый продукт этого гена имеет ожидаемый мол. вес 42,5 кДа и обладает способностью расщеплять гиалуронат до ненасыщенного тетрасахарида. Таким образом, идентифицирована новая гиалуронидаза высших эукариот, которая не включена в современную классификацию гиалуронидаз. (ИБ РАН).

#### **Изучение агрегационных и амилоидогенных свойств белка sMyBP-C**

Миозин-связывающий белок (sMyBP-C) взаимодействует *in vivo* с белками толстых и тонких филаментов в саркомерическом А-диске. С использованием малоуглового диффузного рассеяния рентгеновских лучей (SAXS) исследованы агрегационные и

амилоидогенные свойства этого белка *in vitro*. Установлено, что аморфные агрегаты sMyBP-C, сформированные как в течение 5-10 минут, так и за 16 часов, состоят из 7-10 мономеров. (ИБ РА).

### **Обнаружение нового фактора, влияющего на взаимную упаковку $\alpha$ -спиралей**

До сих пор таковыми факторами считались: (1) вхождение боковых цепей одной спирали во впадины между боковыми цепями другой; (2) наличие кластера гидрофобных боковых цепей на одной стороне спирали и гидрофильных - на другой; (3) комплементарность гидрофобных кластеров контактирующих спиралей. Теперь нами обнаружена и изучена зависимость взаимного расположения  $\alpha$ -спиралей *от формы и размера гидрофобных боковых цепей*, образующих кластеры в зоне контакта между спиральями. Так, если в  $\alpha$ -спиральных с гептадными повторами  $(abcdefg)_n$  а-позиции заняты большими цепями, а d-позиции – малыми, то отберется антипараллельная упаковка, где а-позиции одной спирали расположены в углублениях, образованных d-позициями на другой, и наоборот. Таким образом, отбор уникальных упаковок  $\alpha$ -спиралей определяется совокупностью факторов, согласованных друг с другом. (ИБ РАН).

### **Изучение зависимости упаковки $\alpha$ -спиралей от взаимодействия с лигандами**

Для этого была собрана база данных из >250 лигандов спиральных  $\alpha$ - и  $\beta$ - адренорецепторов, включающая структуры агонистов и антагонистов, а также комплексов рецепторов с лигандами (>60 структур из PDB). Молекулы агонистов адренорецепторов имеют гидрофобную «головку» (обычно – одно, редко два ароматических кольца) и «хвост» с положительно заряженной аминогруппой. «Головка» имеет один-два донора или акцептора Н-связей для связывания с трансмембранной (ТМ) спиралью 5. Показано, что агонист взаимодействует с рецептором в сайте связывания, расположенном в углублении между ТМ-спиральями 3, 5, 6, 7, приобретая вытянутую конформацию и взаимодействуя с консервативным остатком триптофана 6.48. В результате, ТМ-

спирали 3, 5, 7 немного сближаются, а ТМ-спираль 6 поворачивается вокруг оси. Это ведет к открытию центра связывания с G-белком на внутренней стороне рецептора. Увеличенная длина «хвоста» антагониста и отсутствие доноров/акцепторов на его «головке» такого эффекта не оказывают. (ИБ РАН)

#### **Изучение стабильности $\alpha$ - $\alpha$ -углов**

Методом молекулярной динамики изучена стабильность  $\alpha$ - $\alpha$ -углов, отобранных из PDB-банка. Исследовали характеристики структурных мотивов, описывающие их геометрию, прежде всего межспиральные расстояния и углы, а также торсионные углы  $\phi$ ,  $\psi$  возникающие в ходе молекулярной динамики. Показано, что  $\alpha$ - $\alpha$ -углы достаточно стабильны и могут существовать независимо от остальной части белковой молекулы в водном окружении. Все это подтверждает высказанную нами ранее гипотезу о том, что  $\alpha$ - $\alpha$ -уголок может быть зародышем при сворачивании белков. (ИБ РАН)

#### **Анализ элементов, стабилизирующих ОБ-домены**

Проведен анализ петлевых участков многих негомологичных «ОБ-укладок» (небольших  $\beta$ -структурных доменов с ортогональной укладкой пары  $\beta$ -листов). Выделены и проанализированные наиболее важные для поддержания их структуры полуконсервативные участки, связывающие эти  $\beta$ -листы. (ИБ РАН).

#### **Изучение различий $\beta\alpha$ -дуг в расщеплённых и нерасщеплённых $\beta\alpha\beta$ -единицах**

Показано, что  $\beta\alpha$ -дуги (состоящие из  $\beta$ -тяжа, петли и последующей  $\alpha$ -спирали) имеют в расщеплённых и нерасщеплённых  $\beta\alpha\beta$ -единицах разную встречаемость, зависящую от ближайших к петле аминокислотных остатков  $\beta$ -тяжа и  $\alpha$ -спирали. При этом петли с конформациями « $\epsilon\alpha\beta$ », « $\epsilon\delta\beta$ » и « $\alpha_L\alpha\beta$ » практически не встречаются в расщеплённых  $\beta\alpha\beta$ -единицах, а в нерасщеплённых требуют маленького остатка в третьей позиции  $\alpha$ -спирали. В то же время структура «P-loop» есть только в  $\beta\alpha$ -дугах расщеплённых  $\beta\alpha\beta$ -

единиц, что говорит о влиянии этой петли на отбор расщеплённых мотивов. (ИБ РАН)

### **Изучение вариации структуры фермента тирозинфосфатаза РТР1В человека**

Этот белок - негативный регулятор метаболизма гормонов инсулина и лептина, связанных с диабетом 2 и ожирением. Получены, с разрешением  $1.8\text{\AA}$ , структуры кристаллов апофермента и его комплекса с новым аллостерическим ингибитором P00058, пирролидин производным бензойной кислоты. Показано, что связывание с ингибитором приводит к заметным изменениям хода белковой цепи в области активного центра фермента, удалённого от места связывания на  $18\text{\AA}$ . С помощью молекулярной динамики показано, что изменения в области каталитической р-Туг петли активного центра происходят через 4 наносекунды после присоединения ингибитора, и сохраняются после этого. Насколько нам известно, сценарий передачи конформационного сигнала получен впервые. (ИБ РАН)

### **Развитие нового подхода к изучению “взрывных” промежуточных состояний белка**

Дискуссии о природе быстро реализующихся (“взрывных”) промежуточных состояний белка ведутся давно, но полной ясности до сих пор нет. Результаты экспериментальных исследований в определенной степени противоречивы. Нами разрабатывается подход, который впервые позволит оценить энергетические параметры “взрывных” состояний белка и степень дегидратации гидрофобных групп в них. Исследование основывается на калориметрическом методе изотермического титрования. В ходе работы выполнен теплофизический анализ функциональной схемы имеющегося изотермического титрационного микрокалориметра, определена передаточная функция прибора и отработана процедура получения, корректировки и обработки экспериментальных данных. Модельный объект исследований - РНКаза. (ИБ РАН)

**Сведения о выполнении количественных показателей индикаторов эффективности фундаментальных научных исследований, реализуемых Программой в 2021 году**

Индикатор	Единица измерения	Фактическое исполнение
1	2	4
Количество публикаций в ведущих российских и международных журналах по результатам исследований, полученным в процессе реализации Программы*	штук	57
Количество публикаций в мировых научных журналах, индексируемых в базе данных «Сеть науки» (WEB of Science) и Scopus	штук	56
Доля исследователей в возрасте до 39 лет в общей численности исследователей	%	44,7
Число охраняемых объектов интеллектуальной собственности:		
зарегистрированных патентов в России	штук	0
зарегистрированных патентов за рубежом	штук	0
Количественные показатели научной продукции по результатам научных исследований и разработок		
Научные монографии	штук	2
Коллективные труды	штук	0
Научно-аналитические доклады	штук	0

## Информация об издательской деятельности

	опубликовано в 2021 году						
	монографий	глав в монографиях	сборников	научно-методич. пособий	статей	тезисов	др.
на русском языке				1	1	37	
на иностранном языке		2			56	5	

## Справочные сведения:

Общее число научных работников – 87 человек.

В 2020 году защищена 1 диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук:

Рябовой Н.А. по теме «Исследование процессов разворачивания и сворачивания *in vitro* молекулярных шаперонов GroEL и GroES клеток *E. coli*»

Научная работа сотрудников Института поддержана 6 грантами Российского научного фонда.

В Институте была проведена Ежегодная научная конференция Института белка РАН 8-9 июня 2021, Пущино, Институт белка РАН

## **Информация о взаимодействии академической науки с отраслевой и вузовской наукой, об интеграции РАН и высшего образования:**

факультете биоинженерии и биоинформатики МГУ, и на Биотехнологическом факультете (в Пущинском филиале) МГУ.

Б.С. Мельник читает курс «Молекулярная спектроскопия. Спектральные методы исследований» в магистратуре Биотехнологического факультета (в Пущинском филиале) МГУ.

А.В. Ефимов читает курс лекций «Принципы структурной организации белков и нуклеиновых кислот» в Учебном центре Института белка РАН и на Биотехнологическом факультете (в Пущинском филиале) МГУ.

Сотрудничество со Сколковским институтом науки и технологий (Сколтех, Москва) по теории сворачивания белков.

Сотрудничестве с Институтом биофизики Сибирского отделения РАН по спектроскопии белков..

Сотрудничество с Институтом теоретической и экспериментальной биофизики РАН (Пущино) по медико-биологическим проблемам.

Сотрудничество с Институтом биологии КарНЦ РАН (Петрозаводск) по структуре лигандов спиральных  $\alpha$ - и  $\beta$ - адренорецепторов.

Сотрудничество с Институтом математических проблем биологии по молекулярной динамике структурных мотивов и структуре фермента тирозинфосфатаза РТР1В человека методом молекулярной динамики.

Сотрудничество с «Научно-исследовательским институтом биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». (Москва) по молекулярной динамике структурных мотивов.

Проведение совместной научно-исследовательской работы по сравнительному анализу структуры и функций поверхностных нитевидных структур бактерий и архей, выяснении эволюционных взаимосвязей между ними в рамках Договора о научном сотрудничестве между ИБ РАН и ИБФРМ РАН от 28.10.2019 (Дополнительное соглашение от 09.10.2020).

О.В. Галзитская читает курс "Физика белка: оптимизация структуры", кафедра биотехнологии, филиал МГУ Пущино.

И.В. Лихачев читает курсы лекций по дисциплинам «Информатика», «Архитектура вычислительных систем», ведет семинарские занятия по дисциплине «Безопасность

информационных сетей». Тульский государственный университет. Институт Прикладной Информатики и Компьютерных Наук, кафедра информационной безопасности.

Подписан договор №1/2019 о научно-техническом сотрудничестве с Государственным бюджетным учреждением «Городская клиническая больница им. В.М. Буянова Департамента Здравоохранения г. Москвы» (ГБУЗ «ГКБ им. В.М. Буянова ДЗМ»

Совместная работа с филиалом ИБХ РАН, Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО) Тюменского государственного университета, ИТЭБ, НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи (Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи)

Совместная работа с НИЦ «Курчатовский институт» по договору о выполнении НИР «Исследование структурной организации эукариотических полирибосом методом криоэлектронной томографии».

### **Информация о международном научном сотрудничестве:**

Сотрудничество с Фотонной фабрикой г. Цукуба (Япония) по исследованию олигомерных белковых структур методом SAXS

Сотрудничество с Department of Pharmacology, Rutgers Robert Wood Johnson Medical School, Piscataway, 08854 New Jersey, USA» по структуре лигандов спиральных  $\alpha$ - и  $\beta$ - адренорецепторов.

Сотрудничество с Гронингским университетом (Нидерланды) (лабораторией профессора А. Гуськова)

Проведение совместных исследований с учеными Molecular Cryo-Electron Microscopy Unit (Dr. Matthias Wolf), Okinawa Institute of Science (OIST), Japan, Department of Molecular Microbiology (Dr. Tessa Quax), Groningen Biomolecular Sciences & Biotechnology Institute (GBB), Netherlands и Institute of Microbiology (Dr. Hua Xiang), Chinese Academy of Sciences, Beijing, China.

Совместная работа с лабораторией М.М. Юсупова в Институте генетики и молекулярной и клеточной биологии в Страсбурге (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France).

## **Информация о пропаганде и популяризации научных знаний**

### Главы в энциклопедии

Oxana Galzitskaya, Sergei Grishin - Amyloidogenic Regions in bPaS1  
<https://encyclopedia.pub/13291>

Finkelstein A.V. - Protein Folding: Enigma and Solution. - Scholarly Community Encyclopedia.  
2021, 23 Apr. <https://encyclopedia.pub/9435>

### **Патенты:**

Поданы две заявки: на изобретение и полезную модель.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ИНСТИТУТА БЕЛКА РАН ЗА 2021 г.

1. Sergey Abramov , Alexandr Boytsov , Daria Bykova , Dmitry D. Penzar , Ivan Yevshin , Semyon K. Kolmykov , Marina V. Fridman, Alexander V. Favorov , Ilya E. Vorontsov , Eugene Baulin , Fedor Kolpakov , Vsevolod J. Makeev , Ivan V. Kulakovskiy. Landscape of allele-specific transcription factor binding in the human genome. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 2751. doi: 10.1038/s41467-021-23007-0
2. A. A. Alipov, N. V. Lekontseva, A. O. Mikhailina, M. S. Fando, S. V. Tishchenko, A. D. Nikulin. Structure of a Mutant Form of Translation Regulator Hfq with the Extended Loop L4. *Crystallography Reports*, 2021; 66: 791–796. doi: 10.1134/S1063774521050023
3. Liya G. Bobyleva, Sergey A. Shumeyko, Elmira I. Yakupova , Alexey K. Surin, Oxana V. Galzitskaya, Hiroshi Kihara, Alexander A. Timchenko, Maria A. Timchenko, Nikita V. Penkov, Alexey D. Nikulin, Mariya Yu. Suvorina, Nikolay V. Molochkov, Mikhail Yu. Lobanov, Roman S. Fadeev, Ivan M. Vikhlyantsev, Alexander G. Bobylev. Myosin Binding Protein-C Forms Amyloid-Like Aggregates In Vitro. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (2): 731. doi: 10.3390/ijms22020731
4. Andrey Bogorodskiy, Ivan Okhrimenko, Ivan Maslov , Nina Maliar, Dmitrii Burkatovskii, Florian von Ameln, Alexey Schulga, Philipp Jakobs, Joachim Altschmied, Judith Haendeler, Alexandros Katranidis, Ivan Sorokin , Alexey Mishin, Valentin Gordeliy , Georg Buldt, Wolfgang Voos, Thomas Gensch, Valentin Borshchevskiy. Accessing Mitochondrial Protein Import in Living Cells by Protein Microinjection. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 698658. doi: 10.3389/fcell.2021.698658
5. Karina Budkina, Krystel El Hage, Marie-Jeanne Clement, Benedicte Desforges, Ahmed Bouhss, Vandana Joshi, Alexandre Maucuer, Loic Hamon, Lev P Ovchinnikov, Dmitry N Lyabin, David Pastre. YB-1 unwinds mRNA secondary structures in vitro and negatively regulates stress granule assembly in HeLa cells. *Nucleic Acids Research*, 2021; 49 (17): 10061–10081. doi: 10.1093/nar/gkab748
6. Alexander B. Chetverin. Alexander Spirin on Molecular Machines and Origin of Life. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86: 913–925. doi: 10.1134/S0006297921080034
7. Yuri N. Chirgadze, Kevin P. Battaile, Ilya V. Likhachev, Nikolay K. Balabaev, Roni D. Gordon, Vladimir Romanov, Andres Lin, Robert Karisch, Robert Lam, Max Ruzanov, Evgeniy V. Brazhnikov, Emil F. Pai, Benjamin G. Neel, Nickolay Y. Chirgadze. Signal transfer in human protein tyrosine phosphatase PTP1B from allosteric inhibitor P00058. *J Biomol Struct Dyn.*, 2021; 1-10. doi: 10.1080/07391102.2021.1994879

8. Evgeniya Deryusheva, Andrey Machulin, Maxim Matyunin, Oxana Galzitskaya. Sequence and evolutionary analysis of bacterial ribosomal S1 proteins. *Proteins*. 2021. doi: 10.1002/prot.26084. Online ahead of print
9. E. I. Deryusheva, A. V. Machulin, O. V. Galzitskaya. Structural, Functional, and Evolutionary Characteristics of Proteins with Repeats *Mol Biol (Mosk)*, 2021; 55(5):748-771. doi: 10.31857/S0026898421050037
10. Artyom A. Egorov, Desislava S. Makeeva, Nadezhda E. Makarova, Dmitri A. Bykov, Yanislav S. Hrytseniuk, Olga V. Mitkevich, Valery N. Urakov, Alexander I. Alexandrov, Ivan V. Kulakovskiy, Sergey E. Dmitriev. Ribo-Seq and RNA-Seq of TMA46 ( DFRP1) and GIR2 ( DFRP2) knockout yeast strains. *F1000Res*, 2021; 10: 1162. doi: 10.12688/f1000research.74727.1
11. Anna S. Ershova , Irina A. Eliseeva , Oleg S. Nikonov, Alla D. Fedorova , Ilya E. Vorontsov , Dmitry Papatsenko , Ivan V. Kulakovskiy. Enhanced C/EBP binding to G•T mismatches facilitates fixation of CpG mutations in cancer and adult stem cells. *Cell Rep*. 2021; 35 (10): 109221. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109221
12. Maria S. Fando, Alisa O. Mikhaylina, Nataliya V. Lekontseva, Svetlana V. Tishchenko and Alexey D. Nikulin. Structure and RNA-Binding Properties of Lsm Protein from *Halobacterium salinarum*. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86: 833–842. doi: 10.1134/S000629792107004X
13. Azat Gabdulkhakov, Ilya Kolyadenko, Paulo Oliveira, Paula Tamagnini, Alisa Mikhaylina, Svetlana Tishchenko The role of positive charged residue in the proton-transfer mechanism of two-domain laccase from *Streptomyces griseoflavus* Ac-993. *J Biomol Struct Dyn.*, 2021; 1-8. doi: 10.1080/07391102.2021.1911852
14. Azat Gabdulkhakov, Ilya Kolyadenko, Paulo Oliveira, Paula Tamagnini, Alisa Mikhaylina, Svetlana Tishchenko. The role of positive charged residue in the proton-transfer mechanism of two-domain laccase from *Streptomyces griseoflavus* Ac-993. *J Biomol Struct Dyn*. 2021; 1-8. doi: 10.1080/07391102.2021.1911852. Online ahead of print
15. Oxana V. Galzitskaya. Exploring Amyloidogenicity of Peptides From Ribosomal S1 Protein to Develop Novel AMPs. *Front. Mol. Biosci.*, 2021; 8, 705069. doi: 10.3389/fmolb.2021.705069
16. Oxana V. Galzitskaya, Olga M. Selivanova, Elena Y. Gorbunova, Leila G. Mustaeva, Viacheslav N. Azev, Alexey K. Surin. Mechanism of Amyloid Gel Formation by Several Short Amyloidogenic Peptides. *Nanomaterials*, 2021; 11(11):3129. doi: 10.3390/nano11113129

17. Ksenia A. Glukhova, Vladislav G. Klyashtorny, Vladimir N. Uversky, Bogdan S. Melnik. Natural container for drug storage and delivery: chimeric GFP with embedded xenogenic peptide. *J Biomol Struct Dyn.*, 2021; 39 (11): 4192-4197. doi: 10.1080/07391102.2020.1771423
18. Glukhova X.A., Trizna J.A., Melnik B.S., Proussakova O.V., Beletsky I.P. - Recruitment of TNF ligands to lipid rafts is mediated by their physical association with caveolin-1. - *FEBS Lett.*, 2021, Dec. 13;. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14257>
19. Glyakina AV, Pavlov CD, Sopova JV, Gainetdinov RR, Leonova EI, Galzitskaya OV. Search for Structural Basis of Interactions of Biogenic Amines with Human TAAR1 and TAAR6 Receptors. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 25;23(1):209. doi: 10.3390/ijms23010209. PMID: 35008636
20. Sergei Y. Grishin, Pavel A. Domnin, Sergey V. Kravchenko, Viacheslav N. Azev, Leila G. Mustaeva, Elena Y. Gorbunova, Margarita I. Kobayakova, Alexey K. Surin, Maria A. Makarova, Stanislav R. Kurpe, Roman S. Fadeev, Alexey S. Vasilchenko, Victoria V. Firstova, Svetlana A. Ermolaeva and Oxana V. Galzitskaya. Is It Possible to Create Anti-microbial Peptides Based on the Amyloidogenic Sequence of Ribosomal S1 Protein of *P. aeruginosa*? *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(18): 9776. doi: 10.3390/ijms22189776
21. S.Y. Grishin, U.F. Dzhus, A.S. Glukhov, O.M. Selivanova, A.K. Surin, O.V. Galzitskaya. Identification of amyloidogenic regions in *pseudomonas aeruginosa* ribosomal s1 protein. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (14): 7291. doi: 10.3390/ijms22147291
22. Katina N., Mikhaylina A., Ilyina N., Eliseeva I., Balobanov V. - Near-wall aggregation of amyloidogenic A $\beta$  1-40 peptide: direct observation by the FRET. – *Molecules*, 2021, 26(24), 7590. <https://doi.org/10.3390/molecules26247590>
23. Semyon Kolmykov, Ivan Yevshin, Mikhail Kulyashov, Ruslan Sharipov, Yury Kondrakhin, Vsevolod J Makeev, Ivan V Kulakovskiy, Alexander Kel, Fedor Kolpakov. GTRD: an integrated view of transcription regulation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49 (D1): D104-D111. doi: 10.1093/nar/gkaa1057.
24. Svetlana Kononova , Ekaterina Litvinova , Timur Vakhitov, Maria Skalinskaya , Stanislav Sitkin. Acceptive Immunity: The Role of Fucosylated Glycans in Human Host-Microbiome Interactions. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (8): 3854. doi: 10.3390/ijms22083854
25. Kuiper M., Bonello J., Fernández-Breis J., Bucher P., Futschik M., Gaudet P., Kulakovskiy I., Licata L., Logie C., Lovering R., Makeev V., Orchard S., Panni S., Perfetto L., Sant D., Schulz S., Verduyck S., Zerbino D., Lægread A. - GRECO Consortium. The gene regulation knowledge commons: the action area of GREEKC. - *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 2021,1865(1):194768. doi: 10.1016/j.bbagr.2021.194768

26. S. R. Kurpe, S. Yu. Grishin, A. V. Glyakina, M. V. Slizen, A. V. Panfilov, A. P. Kochetov, A. K. Surin, M. I. Kobayakova, R. S. Fadeev, O. V. Galzitskaya. Antibacterial effects of peptides synthesized based on the sequence of ribosome protein S1. *Biomed Khim.*, 2021; 67 (3): 231-243. doi: 10.18097/PBMC20216703231
27. Marina V. Lebedeva, Ekaterina Y. Nikonova, Alexey A. Terentiev, Vasiliy V. Taranov, Alexey V. Babakov and Oleg S. Nikonov. VPg of Potato Virus Y and Potato Cap-Binding eIF4E Factors: Selective Interaction and Its Supposed Mechanism. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86: 1128–1138. doi :10.1134/S000629792109008X
28. Natalia V. Lekontseva, Elena A. Stolboushkina, Alexey D. Nikulin. Diversity of LSM Family Proteins: Similarities and Differences *Biochemistry (Mosc)*. 2021; 86 (Suppl 1): S38-S49. doi: 10.1134/S0006297921140042
29. Mikhail Yu. Lobanov, Leonid B. Pereyaslavets, Ilya V. Likhachev, Bakhyt T. Matkarimov, Oxana V. Galzitskaya. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput Struct Biotechnol J.*, 2021; 19: 5960-5968. doi: 10.1016/j.csbj.2021.10.036.
30. D. N. Lyabin, E. A. Smolin, K. S. Budkina, I. A. Eliseeva, L. P. Ovchinnikov. Towards the mechanism(s) of YB-3 synthesis regulation by YB-1. *RNA Biol.*, 2021; 18 (11): 1630-1641. doi: 10.1080/15476286.2020.1859243
31. Elena M. Maksimova, Alexey P. Korepanov, Olesya V. Kravchenko, Timur N. Baymukhametov, Alexander G. Myasnikov, Konstantin S. Vassilenko, Zhanna A. Afonina, Elena A. Stolboushkina. RbfA Is Involved in Two Important Stages of 30S Subunit Assembly: Formation of the Central Pseudoknot and Docking of Helix 44 to the Decoding Center. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (11), 6140. doi:10.3390/ijms22116140
32. Elena M. Maksimova, Daria S. Vinogradova , Ilya A. Osterman , Pavel S. Kasatsky, Oleg S. Nikonov, Pohl Milon, Olga A. Dontsova, Petr V. Sergiev, Alena Paleskava, Andrey L. Konevega. Multifaceted Mechanism of Amicoumacin A Inhibition of Bacterial Translation. *Front Microbiol.* 2021 Feb 12; 12: 618857. doi: 10.3389/fmicb.2021.618857
33. V. Marchenkov, N. Ryabova, V. Balobanov, A. Glukhov, N. Ilyina, N. Katina. Under conditions of amyloid formation bovine carbonic anhydrase b undergoes fragmentation by acid hydrolysis. *Biomolecules*, 2021; 11 (11): 1608. doi: 10.3390/biom11111608
34. Melnik B.S., Glukhova K.A., Sokolova E.A., Balalaeva I.V., Finkelstein A.V. - A novel view on the mechanism of biological activity of antifreeze proteins. - *BioRxiv*, 2021,(preprint), doi: <https://doi.org/10.1101/2021.09.22.461391>
35. Alisa O. Mikhaylina, Ekaterina Y. Nikonova, Olga S. Kostareva, Wolfgang Piendl , Matthias Erlacher , Svetlana V. Tishchenko. Characterization of Regulatory Elements of L11

- and L1 Operons in Thermophilic Bacteria and Archaea. *Biochemistry (Mosc)*. 2021; 86 (4): 397-408. doi: 10.1134/S0006297921040027
36. A.O. Mikhaylina, E.Y. Nikonova, O.S. Kostareva, S.V. Tishchenko. Regulation of Ribosomal Protein Synthesis in Prokaryotes. *Mol Biol (Mosk)*. 2021; 55 (1):20-41. doi: 10.31857/S0026898421010110.
37. Marco Necci , Damiano Piovesan , CAID Predictors; DisProt Curators; Silvio C E Tosatto. Collaborators: Md Tamjidul Hoque, Ian Walsh, Sumaiya Iqbal, Michele Vendruscolo, Pietro Sormanni, Chen Wang, Daniele Raimondi, Ronesh Sharma, Yaoqi Zhou, Thomas Litfin, Oxana Valerianovna Galzitskaya, Michail Yu Lobanov, Wim Vranken, Bjorn Wallner, Claudio Mirabello, Nawar Malhis, Zsuzsanna Dosztanyi, Gabor Erdos, Balint Meszaros, Jianzhao Gao, Kui Wang, Gang Hu, Zhonghua Wu, Alok Sharma, Jack Hanson, Kuldip Paliwal, Isabelle Callebaut, Tristan Bitard-Feildel, Gabriele Orlando, Zhenling Peng, Jinbo Xu, Sheng Wang, David T Jones, Domenico Cozzetto, Fanchi Meng, Jing Yan, Jorg Gsponer, Jianlin Cheng, Tianqi Wu, Lukasz Kurgan, Vasilis J Promponas, Stella Tamana, Cristina Marino-Buslje, Elizabeth Martinez-Perez, Anastasia Chasapi, Christos Ouzounis, A Keith Dunker, Andrey V Kajava, Jeremy Y Leclercq, Burcu Aykac-Fas, Matteo Lambrugh, Emiliano Maiani, Elena Papaleo, Lucia Beatriz Chemes, Lucia Alvarez, Nicolas S Gonzalez-Foutel, Valentin Iglesias, Jordi Pujols, Salvador Ventura, Nicolas Palopoli, Guillermo Ignacio Benitez, Gustavo Parisi, Claudio Bassot, Arne Elofsson, Sudha Govindarajan, John Lamb, Marco Salvatore, Andras Hatos, Alexander Miguel Monzon, Martina Bevilacqua, Ivan Micetic, Giovanni Minervini, Lisanna Paladin, Federica Quaglia, Emanuela Leonardi, Norman Davey, Tamas Horvath, Orsolya Panna Kovacs, Nikoletta Murvai, Rita Pancsa, Eva Schad, Beata Szabo, Agnes Tantos, Sandra Macedo-Ribeiro, Jose Antonio Manso, Pedro Jose Barbosa Pereira, Radoslav Davidovic, Nevena Veljkovic, Borbala Hajdu-Soltesz, Matyas Pajkos, Tamas Szaniszló, Mainak Guharoy, Tamas Lazar, Mauricio Macossay-Castillo, Peter Tompa. Critical assessment of protein intrinsic disorder prediction. *Nat Methods*. 2021; 18 (5): 472-481. doi: 10.1038/s41592-021-01117-3
38. Elena V. Nemtseva, Dmitry V. Gulnov, Marina A. Gerasimova, Lev A. Sukovatyi, Ludmila P. Burakova, Natalya E. Karuzina, Bogdan S. Melnik, Valentina A. Kratasyuk. Bacterial Luciferases from *Vibrio harveyi* and *Photobacterium leiognathi* Demonstrate Different Conformational Stability as Detected by Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci*. 2021; 22(19): 10449. doi: 10.3390/ijms221910449
39. O. S. Nikonov, O. V. Kravchenko, N. A. Nevskaya, E. A. Stolboushkina, M. B. Garber and S. V. Nikonov. Effect of the Ile222Thr Missense Mutation in SsoIF2 $\gamma$  on the Affinity of  $\gamma$

- and  $\beta$  Subunits of aIF2. *Crystallography Reports*, 2021; 66: 797–801. doi: 10.1134/S1063774521050151
40. Oleg S. Nikonov, Natalia A. Nevskaya, Maria B. Garber and Stanislav V. Nikonov. Structure and Function of Archaeal Translation Initiation Factor 2 Fragments Containing Cys2 Cys2 Motifs. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86: 1003–1011. doi: 10.1134/S0006297921080101
41. Alexey D. Nikulin. Characteristic Features of Protein Interaction with Single- and Double-Stranded RNA. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86: 1025–1040. doi: 10.1134/S0006297921080125
42. Purtov Y.A., Tishchenko S.V., Nikulin A.D. - Modeling the Interaction of the UxuR–ExuR Heterodimer with the Components of the Metabolic Pathway of *Escherichia coli* for Hexuronate Utilization. - *Biophysics*, - 2021, - v. 66, - pp.753-763. doi: 10.1134/S0006350921050201
43. Vladimir R. Rudnev, Liudmila I. Kulikova, Anna L. Kaysheva, Alexander V. Efimov and Dmitry A. Tikhonov. Use of the Molecular Dynamics Method to Investigate the Stability of  $\beta$ - $\beta$ -Corner Structural Motifs in Proteins. *Symmetry*, 2021; 13 (7): 1193. doi: 10.3390/sym13071193
44. Pavel A. Sakharov, Egor A. Smolin, Dmitry N. Lyabin, Sultan C. Agalarov ATP-Independent Initiation during Cap-Independent Translation of m<sup>6</sup>A-Modified mRNA. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (7): 3662. doi: 10.3390/ijms22073662
45. Anastasiia Samsonova, Krystel El Hage, Benedicte Desforges, Vandana Joshi, Marie-Jeanne Clement, Guillaume Lambert, Helene Henrie, Nicolas Babault, Pierrick Craveur, Rachid C. Maroun, Emilie Steiner, Ahmed Bouhss, Alexandre Maucuer, Dmitry N. Lyabin, Lev P. Ovchinnikov, Loic Hamon, David Pastre. Lin28, a major translation reprogramming factor, gains access to YB-1-packaged mRNA through its cold-shock domain. *Commun Biol*. 2021; 4 (1): 359. doi: 10.1038/s42003-021-01862-3
46. Anna A. Shalybkova, Darya S. Mikhailova, Ivan V. Kulakovskiy, Liliia I. Fakhranurova, Eugene F. Baulin. Annotation of the local context of the RNA secondary structure improves the classification and prediction of A-minors. *RNA*, 2021; 27 (8): 907-919. doi: 10.1261/rna.078535.120
47. Olga Shomron, Koret Hirschberg, Anton Burakov, Rimma Kamentseva, Elena Kornilova, Elena Nadezhdina, Ilya Brodsky. Positioning of endoplasmic reticulum exit sites around the Golgi depends on BicaudalD2 and Rab6 activity. *Traffic*. 2021; 22 (3): 64-77. doi: 10.1111/tra.12774. Epub 2020 Dec 27.

48. Dmitrii Sliadovskii, Tatyana Ponomareva, Maxim Molchanov, Irina Pozdnyakova-Filatova, Maria Timchenko, Victor Marchenkov, Oleg Gusev, Evgeny Sogorin.  $\beta$ -elimination of hyaluronate by red king crab hyaluronidase. *Sci Rep*, 2021;11(1): 22600. doi: 10.1038/s41598-021-01890-3
49. Ivan I. Sorokin, Konstantin S. Vassilenko, Ilya M. Terenin, Natalia O. Kalinina, Vadim I. Agol and Sergey E. Dmitriev. Non-Canonical Translation Initiation Mechanisms Employed by Eukaryotic Viral mRNAs. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86: 1060–1094. doi: 10.1134/S0006297921090042
50. Tikhomirova TS, Matyunin MA, Lobanov MY, Galzitskaya OV. In-depth analysis of amino acid and nucleotide sequences of Hsp60: How conserved is this protein? *Proteins*. 2021 Dec 29. doi: 10.1002/prot.26294. Epub ahead of print. PMID: 34964171
51. S. V. Tishchenko, A. O. Mikhailina, N. V. Lekontseva, E. A. Stolboushkina, E. Yu. Nikonova, O. S. Nikonov and A. D. Nikulin. Structural Investigations of RNA–Protein Complexes in Post-Ribosomal Era *Crystallography Reports*, 2021; 66: 726–736. doi: 10.1134/S1063774521050217
52. Trubetskaya O.E., Trubetskoj O.A., Richard C., Vervald A.M., Burikov S.A., Marchenkov V.V., Shenderova O.A., Patsaeva S.V., Dolenko T.A. - High-performance size exclusion chromatography with online fluorescence and multi-wavelength absorbance detection for isolation of high-purity carbon dots fractions, free of non-fluorescent material. - *J. Chromatogr. A*, 2021, 1650:462251. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462251>
53. Ekaterina S. Vinogradova, Oleg S. Nikonov, Ekaterina Yu. Nikonova Associations between Neurological Diseases and Mutations in the Human Glycyl-tRNA Synthetase. *Biochemistry (Mosc)*. 2021; 86 (Suppl 1): S12-S23. doi:10.1134/S0006297921140029
54. Ilya E. Vorontsov, Artyom A. Egorov, Aleksandra S. Anisimova , Irina A. Eliseeva , Vsevolod J. Makeev, Vadim N. Gladyshev, Sergey E. Dmitriev , Ivan V. Kulakovskiy. Assessing Ribosome Distribution Along Transcripts with Polarity Scores and Regression Slope Estimates. *Methods Mol Biol*. 2021; 2252: 269-294. doi: 10.1007/978-1-0716-1150-0\_13
55. A.Y. Yegorov, S.A. Potekhin Heat denaturation of ribonuclease under high pressure: Differential scanning microcalorimetry study. *Thermochimica Acta*. 2021. Volume 698, 178885. doi:10.1016/j.tca.2021.178885
56. Nadezhda V. Zyrina and Valeriya N. Antipova. Nonspecific Synthesis in the Reactions of Isothermal Nucleic Acid Amplification. *Biochemistry (Moscow)*, 2021; 86 (7): 887-897. doi: 10.1134/S0006297921070099

57. Андреева Н.А., Шеремет Н.Л., Мураховская Ю.К., Даял А.А., Минин А.А. Роль митоза при наследственных оптических нейропатиях. Офтальмология. 2021; 18(3S): 646-653. doi:10.18008/1816-5095-2021-3S-646-653

### **Главы в сборниках и монографиях. Книги.**

1. Galzitskaya OV. Search for functions of intrinsically disordered prion-like domains for FET proteins involved in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. TDP-43 and Neurodegeneration. [https://elsevier-books-eproof.tnq.co.in/ECOMPS/286abfa4120c57822bae5db8f2df8b3d/KUMAR\\_9780128204405.pdf](https://elsevier-books-eproof.tnq.co.in/ECOMPS/286abfa4120c57822bae5db8f2df8b3d/KUMAR_9780128204405.pdf) Editors: Vijay Kumar Manoj Jaiswal, Paperback ISBN: 9780128200667, Imprint: Academic Press, Published Date: 7th September 2021
2. Glyakina A.V., Balabaev N.K., and Galzitskaya O.V. Determination of the Most Stable Packing Of Peptides From Ribosomal S1 Protein, Protein Bgl2p and Abeta peptide in beta-layers during Molecular Dynamics Simulations. Computer Simulations of Aggregation of Proteins and Peptides - Methods in Molecular Biology Mai Suan Li (editor), Andrzej Kloczkowski (editor), Marek Cieplak (editor), Maksim Kouza (editor) Publisher: SPRINGER, BERLIN; HUMANA; Hardback (07 Feb 2022) Благодарность РФФ

### **Методическое пособие:**

Ефимов А.В. - "Принципы структурной организации белков и нуклеиновых кислот". Озвученный электронный курс лекций. 2021. <http://mbec.protres.ru>