

УЧРЕЖДЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
**ИНСТИТУТ БЕЛКА РАН**



**ЕЖЕГОДНАЯ  
НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**

Сборник тезисов

8 - 9 июня 2011 г.  
г. Пущино

# Программа конференции

8 ИЮНЯ, СРЕДА

*Утреннее заседание, начало в 10.00*

## ОТКРЫТИЕ КОНФЕРЕНЦИИ

### **БИОСИНТЕЗ БЕЛКА**

*Председатель: А. В. Ефимов*

А.В. Финкельштейн, А.С. Спирин. Биологические молекулярные машины (30 мин.)

М.С. Светлов, А.С. Спирин, В.А. Колб. Что происходит с синтезируемым полипептидом после связывания эритромицина с транслирующей рибосомой? (15 мин.)

Г.М. Гонгадзе, А.П. Корепанов, А.В. Коробейникова, А.Ю. Аникаев, Е.М. Максимова, М.В. Баженова, С.А. Шестаков, М.Г. Бубуненко, С.В. Никонов, М.Б. Гарбер. Роль 5S рРНК связывающих белков в формировании бактериальной рибосомы *in vivo*. (20 мин.)

Перерыв (11:20-11:40)

### **СТРУКТУРА И САМООРГАНИЗАЦИЯ МАКРОМОЛЕКУЛ**

*Председатель: А. В. Финкельштейн*

О.С. Никонов, Е.С. Столбоушкина, А.Д. Никулин, С.В. Никонов, М.Б. Гарбер. Структура тройственного комплекса архейного фактора инициации трансляции 2 с инициаторной Мет-тРНК (20 мин.)

А.Д. Никулин, В.Н. Мурина, О.М. Селиванова, Б.С. Мельник, М.Б. Гарбер, С.В. Никонов. Влияние замен консервативных остатков белка Hfq на его структурную организацию (20 мин.)

Г.В. Семисотнов, В.В. Марченков, Н.А. Рябова, Н.Ю. Марченко, С.Ю. Марченкова, И.А. Кашпаров, Н.В. Котова. Функционирование и самоорганизация *in vitro* молекулярного шаперона GroEL: роль лигандов и внешних условий (30 мин.)

*Перерыв*

**8 ИЮНЯ, СРЕДА**

*Дневное заседание, начало в 15.00*

## **НАДМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ И КЛЕТКИ**

*Председатель: В. Н. Ксензенко*

И.Б. Бродский, А.В. Бураков, О.Н. Жаппарова, А.И. Фокин, Е.С. Надеждина. Центросома и аппарат Гольджи в организации клеточных микротрубочек (20 мин.)

Е.А. Матвеева, А.А. Минин. Регуляция взаимодействия митохондрий с виментиновыми промежуточными филаментами малой ГТФазой RAC1 (20 мин.)

А.С. Костюкова. Возможные механизмы регулирования динамики актиновых филаментов с помощью кэпирующего белка тропоподулина (15 мин.)

М.В. Крючков, В.Л. Катанаев, Г.А. Енин, А.А. Тимченко, И.Н. Сердюк. Анализ микро и наноструктур роговичной поверхности *Drosophila melanogaster* дикого типа и штамма *frizzled* методами атомно-силовой микроскопии и оптической дифракции (15 мин.)

**Перерыв (16:30-16:50)**

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ**

*Председатель: О. В. Фёдоров*

Ю.Н. Чиргадзе, В.С. Сивожелезов, Р.В. Полозов, В.А. Степаненко, В.В. Иванов. Связывание факторов транскрипции гомеодоменов и операторной ДНК определяется «стереохимическим кодом» узнавания (15 мин.)

Н.В. Довидченко, О.М. Селиванова, А.К. Сурин, М.Г. Суворина, В.В. Шматченко, А.В. Финкельштейн, О.В. Галзитская. Теоретическое моделирование и экспериментальное исследование амилоидообразования на примере белка инсулина человека (10 мин.)

А.Б. Гордеев, Е.А. Бошкова, А.М. Каргатов, А.В. Ефимов. Разработка классификации белков, основанной на структурных деревьях (15 мин.)

С.А. Гарбузинский, Д.Н. Иванков, Н.С. Богатырёва, А.В. Финкельштейн. Предсказание скоростей самоорганизации глобулярных белков на основе их геометрических и физических характеристик (15 мин.)

## **ПРОВЕДЕНИЕ КОНКУРСА НА ЛУЧШИЙ ДОКЛАД**

### **ЗАКРЫТИЕ КОНФЕРЕНЦИИ**

**9 ИЮНЯ, ЧЕТВЕРГ – ПИКНИК 14:00**

# Тезисы докладов

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАШИНЫ

**Финкельштейн А.В., Спирин А.С.**

*E-mail: afinkel@vega.protres.ru*

Одни и те же физические законы, действующие на разных масштабах, приводят к тому, что устройство машин в биологическом нано-мире отличается от устройства привычных нам макроскопических машин (таких, как колесо, рычаг, маховик, двигатель внутреннего сгорания или электромотор). (1) Молекулы и макромолекулы имеют относительно небольшие размеры и массы, и они движутся в относительно очень вязкой и теплопроводящей среде. Поэтому наномашин не могут запастись ни тепло, ни кинетическую энергию. (2) Детали наномашин имеют конфигурационную гибкость и подвергаются, при биологических температурах, интенсивному броуновскому движению. Поэтому действие наномашин должно быть стохастическим, а не механически детерминированными. В частности, они не могут передавать направленную силу на большое расстояние. (3) Конфигурационные переходы в наномашинах создают и разрушают каталитические центры и меняют энергетический ландшафт для подвижных частей этих машин. Поэтому каждый заданный конфигурационный переход и каждая заданная химическая реакция может происходить только при строго определенном (для него или для нее) состоянии наномашин. Это и обеспечивает то направленное движение наномашин, в ходе которого происходит гидролиз высокоэнергетического соединения (АТФ, ГТФ) или другая экзоэргоническая реакция. Элементарный акт движения сводится к преимущественному отбору наномашин тех броуновских движений, что ведут от конфигураций с более высоким уровнем свободной энергии к конфигурациям с более низкой свободной энергией. Описанные механизмы иллюстрируются работой кинезина, роторных молекулярных моторов, и некоторых стадий рабочего цикла рибосомы.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», программой "Научные школы", Федеральным агентством по науке и инновациям и грантами РФФИ.

## **ЧТО ПРОИСХОДИТ С СИНТЕЗИРУЕМЫМ ПОЛИПЕПТИДОМ ПОСЛЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЭРИТРОМИЦИНА С ТРАНСЛИРУЮЩЕЙ РИБОСОМОЙ?**

**Светлов М.С., Спирин А.С. и Колб В.А.**

*E-mail:svetl@vega.protres.ru*

Участок связывания макролидных антибиотиков, в число которых входит эритромицин, расположен в рибосомном туннеле вблизи пептидилтрансферазного центра рибосомы. Связанный антибиотик не препятствует инициации трансляции и нескольким последующим раундам элонгации полипептидной цепи, однако затем рост цепи останавливается. Поскольку просвет туннеля в районе участка связывания оказывается существенно суженным, считается, что антибиотик стерически препятствует продвижению синтезируемого пептида вдоль туннеля. Ранее нами было показано, что рибосомы, несущие длинные (до 31 аминокислотного остатка) растущие цепи, восприимчивы к действию эритромицина. Этот результат противоречит упомянутой выше гипотезе о стерическом антагонизме между растущим полипептидом и связанным с рибосомным туннелем макролидом. Цель настоящей работы состояла в том, чтобы выяснить причину, по которой происходит остановка трансляции в присутствии антибиотика.

Мы обнаружили, что эритромицин не ингибирует пептидил-трансферазный центр транслирующей рибосомы, но вызывает выпадение пептидил-тРНК из нее. При этом оказалось, что из рибосомы диссоциируют все растущие пептиды, допускающие связывание антибиотика. Максимальная длина таких цепей составляет 31 аминокислотный остаток. Представляется очевидным, что, если синтезируемая цепь движется по рибосомному туннелю, то макролид, сужая его просвет в месте своего связывания, должен предотвращать диссоциацию пептидил-тРНК. Однако наблюдается обратная ситуация, что указывает на иное расположение растущего пептида в рибосоме.

## **РОЛЬ 5S рРНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ В ФОРМИРОВАНИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ *IN VIVO***

**Г.М. Гонгадзе, А.П. Корепанов, А.В. Коробейникова, А.Ю. Аникаев, Е.М. Максимова, М.В. Баженова, С.А. Шестаков, М.Г. Бубуненко, С.В. Никонов, М.Б. Гарбер**

*E-mail: gongadze@vega.protres.ru*

Известно, что три рибосомных белка (L5, L18 и L25 в *Escherichia coli*) специфически связываются с 5S рРНК в бактериальной рибосоме. Недавно нами было показано, что нокаут генов белков L5 и L18 летален для клеток *E. coli*, а нокаут гена белка L25 – нет. При этом клетки  $\Delta$ L25-штамма росли медленнее клеток контрольного штамма, а их рибосомы менее эффективно синтезировали природные полипептиды в системах *in vivo* и *in vitro*.

Представляемая работа посвящена изучению роли белков L5 и L25 в формировании функционально-активной бактериальной рибосомы *in vivo*. Показано, что белок L25 с мутациями в его РНК-связывающем модуле, которые исключают образование комплекса с изолированной 5S рРНК, способен встраиваться в рибосому *in vivo*, но слабо в ней удерживается. Отсутствие белка L25 в рибосоме дестабилизирует структуру центрального протуберанца большой субчастицы, что в свою очередь приводит к накоплению в клетках  $\Delta$ L25-штамма функционально-неактивных рибосомных субчастиц. В отсутствие белка L5 в клетках *E. coli* собираются большие рибосомные субчастицы (45S частицы), лишенные не только 5S рРНК-белкового комплекса, но и большинства компонентов ее центрального протуберанца (белки L16, L27, L30 и L33). Такие 45S рибосомные субчастицы утрачивают способность ассоциировать с малыми субчастицами, что, по-видимому, и является причиной гибели бактериальной клетки.

Таким образом, в данной работе впервые продемонстрировано, что 5S рРНК-связывающие белки L5 и L25 строго необходимы для формирования и стабилизации центрального протуберанца большой субчастицы бактериальной рибосомы *in vivo*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-04-00459 и № 09-04-01747, а также Программой «Молекулярная и клеточная биология» РАН.

## СТРУКТУРА ТРОЙСТВЕННОГО КОМПЛЕКСА АРХЕЙНОГО ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 2 С ИНИЦИАТОРНОЙ МЕТ-ТРНК

**О.С. Никонов, Е.С. Столбоушкина, А.Д. Никулин, С.В. Никонов, М.Б. Гарбер**

*E-mail:alik@vega.protres.ru*

Архейный фактор инициации трансляции 2 гомологичен соответствующему эукариотическому фактору и представляет собой гетеротримерный белок, состоящий из субъединиц  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . В составе тройственного комплекса с ГТФ и инициаторной тРНК e/aIF2 доставляет метионил-тРНК в Р-участок малой рибосомной субчастицы. Кристаллы тройственного комплекса Met-tRNA<sub>i</sub>•aIF2 $\alpha\beta\gamma$ •GDPNP, в котором использовалась конформационно-стабильная сердцевинная часть фактора aIF2 (димер  $\gamma$ -субъединицы и третьего домена  $\alpha$ -субъединицы), были получены нами впервые. Этот димер связывает инициаторную тРНК с той же аффиностью, что и целый фактор aIF2. Существенным недостатком полученных кристаллов было их двойникование с коэффициентом твиннинга 0.5, что вызвало значительные трудности в определении истинной симметрии кристалла и потребовало разработки новых подходов для решения фазовой проблемы. Структура комплекса определена с разрешением 3.2 Å. Ориентация инициаторной метионил-тРНК относительно белка в данном комплексе сильно отличается от таковой в комплексе элонгаторной aa-тРНК с фактором элонгации EF1A, который гомологичен  $\gamma$ -субъединице aIF2. В инициаторном комплексе ССА конец тРНК<sub>i</sub> располагается в междоменном пространстве, занимая место между первым и третьим доменами  $\gamma$ -субъединицы, а сама тРНК<sub>i</sub> взаимодействует с  $\gamma$ -субъединицей той частью поверхности, которая в элонгационном комплексе экспонирована в растворитель. Кроме того, тРНК<sub>i</sub> имеет непосредственные контакты с третьим доменом  $\alpha$ -субъединицы, как мы ранее предполагали. Антикодоновый стебель инициаторной метионилированной тРНК располагается вдоль продольной оси первого и второго доменов  $\gamma$ -субъединицы и ориентирован антикодовой петлей в направлении от второго к третьему домену  $\gamma$ -субъединицы. Положение нуклеотида, особенно его азотистого основания, в нуклеотид-связывающем кармане  $\gamma$ -субъединицы существенно отличается от его положения в отсутствии тРНК: в комплексе нуклеотид связан с белком значительно слабее, и по-видимому, способен покинуть белок при гидролизе ГТФ и разупорядочивании переключателя 1 без участия дополнительного фактора.

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



## ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН КОНСЕРВАТИВНЫХ ОСТАТКОВ БЕЛКА Hfq НА ЕГО СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ.

**А. Д. Никулин, В. Н. Мурина, О. М. Селиванова, Б. С. Мельник, М. Б. Гарбер, С. В. Никонов**

*E-mail: nikulin@vega.protres.ru*

Hfq - небольшой термостабильный РНК-связывающий белок, являющийся глобальным регулятором экспрессии генов в бактериях. Он относится к семейству Sm-подобных белков (Lsm), которые существуют в виде тороидальных гексамеров (бактериальные белки Hfq) или гептамеров (архейные и эукариотические Lsm белки). В свою очередь, гексамеры/гептамеры могут формировать фибриллоподобные структуры, отличающиеся по морфологии и условиям образования.

Нами исследовано влияние замен ряда консервативных аминокислотных остатков белка Hfq из *Pseudomonas aeruginosa* на его стабильность и способность формировать фибриллоподобные структуры. Определено, что только замены в области консервативного Sm2 мотива приводят к заметному понижению стабильности белка. При изменении последовательности Sm2-мотива была получена мутантная форма белка Hfq, формирующая отличающуюся от характерных для Lsm белков четвертичную структуру и способная образовывать фибриллоподобные структуры нового типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и ГК № 02.740.11.0295 ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

## **ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ И САМООРГАНИЗАЦИЯ *IN VITRO* МОЛЕКУЛЯРНОГО ШАПЕРОНА GROEL: РОЛЬ ЛИГАНДОВ И ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ.**

**Семисотнов Г.В., Марченков В.В., Рябова Н.А., Марченко Н.Ю., Марченкова С.Ю.,  
Кашпаров И.А., Котова Н.В.**

*E-mail: nina@vega.protres.ru*

Молекулярный шаперон клеток *Escherichia coli* GroEL состоит из 14-ти идентичных субъединиц и взаимодействует как *in vitro*, так и *in vivo* с многочисленными клеточными белками, которые находятся в ненативной (денатурированной) конформации, предотвращая их от неспецифической агрегации. Лиганды GroEL (ионы  $Mg^{2+}$ , АТФ, АДФ и белковый ко-шаперонин GroES) обеспечивают не только его функционирование как молекулярного шаперона, но и его правильную сборку, однако роль лигандов в этих процессах до конца не ясна. В настоящей работе представлены результаты многолетних исследований роли лигандов и внешних условий в процессах функционирования и самоорганизации GroEL *in vitro*. С использованием методов люминесценции, аффинной хроматографии на основе денатурированных белков, гель-хроматографии, электрофореза в неденатурирующих условиях и рассеяния света показано следующее. Во-первых, наряду с гидрофобными взаимодействиями в формировании комплекса GroEL с денатурированными белками важную роль играют электростатические взаимодействия. Во-вторых, лиганды в различной степени ослабляют взаимодействие GroEL с денатурированными белками. В-третьих, лиганды в различной степени увеличивают эффективность сборки GroEL-частицы при ренатурации шаперона из полностью развернутого состояния. В-четвертых, ионная сила раствора и присутствие глицерина в растворе могут заменять действие лигандов в процессах функционирования и самоорганизации GroEL. На основе полученных данных предлагаются новые модели функционирования GroEL как молекулярного шаперона и его самоорганизации *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 09-04-00768-а), Российской академии наук (программа «Молекулярная и клеточная биология») и Федерального агентства по науке и инновациям (№ 02.740.11.0295).

## ЦЕНТРОСОМА И АППАРАТ ГОЛЬДЖИ В ОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ МИКРОТРУБОЧЕК

**И.Б.Бродский, А.В. Бураков, О.Н. Жаппарова, А.И. Фокин, Е.С.Надеждина**

*E-mail:elena.nadezhdina@gmail.com*

В интерфазных клетках животных микротрубочки образуют радиальную систему или же располагаются хаотично. Компактным центром выраженной радиальной системы микротрубочек служит центросома, на которой происходит нуклеация роста микротрубочек и закрепление их минус-концов. Мы обнаружили, что в клетках нередко присутствуют один или несколько дополнительных неплотных центров организации микротрубочек, нарушающих симметрию системы. Мы показали, что в таких центрах происходит нуклеация микротрубочек; и они совпадают с аппаратом Гольджи. Наличие дополнительных центров организации нарушает симметрию системы микротрубочек. Мы показали, что микротрубочки-организующая активность аппарата Гольджи отличается у различных линий клеток; например, в клетках культуры Vero аппарат Гольджи не нуклеирует микротрубочки. Вероятно, это является причиной того, что в бесцентросомных цитопластах Vero микротрубочки разрежены и не образуют радиальную систему.

Молекулы, участвующие в закреплении концов микротрубочек на центросоме, пока остаются неидентифицированными. Мы обнаружили, что центросома утрачивает функцию закоривания микротрубочек при ингибировании протеинкиназы LOSK. Субстратом данной киназы является субъединица динактина p150Glued. При ингибировании LOSK количество динактина, связанного с центросомой, снижается. Мы показали, что синтез в клетках мутанта p150GluedTE, имитирующего фосфорилированное состояние, восстанавливает систему микротрубочек, дезорганизованную при ингибировании LOSK. Мутант p150GluedTE эффективно связывается с центросомой, в отличие от нефосфорилируемого мутанта p150GluedTA. Известно, что динактин привлекает на центросому белок Pcg6a; мы показали, что при ингибировании LOSK Pcg6a истощается в центросоме. Возможно, именно это является причиной нарушения закрепления на центросоме минус-концов микротрубочек.

## РЕГУЛЯЦИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИТОХОНДРИЙ С ВИМЕНТИНОВЫМИ ПРОМЕЖУТОЧНЫМИ ФИЛАМЕНТАМИ МАЛОЙ ГТФазой Rac1

**Матвеева Е.А., Минин А.А.**

*E-mail: alexminin@gmail.com*

Функции митохондрий зависят от их правильного расположения в клетках, которое определяется цитоскелетными структурами: микротрубочками, актиновыми микрофиламентами и промежуточными филаментами. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что виментиновые промежуточные филаменты (vimIF) контролируют не только распределение и подвижность митохондрий, но также их трансмембранный потенциал.

В N-концевой части молекулы виментина был найден участок (с 45 по 70 аа), ответственный за взаимодействие vimIF с митохондриями, в результате которого их подвижность уменьшается. Этот участок содержит сайт фосфорилирования виментина p21-активируемой киназой-1 (PAK-1) эффектором малой ГТФазы Rac1. С другой стороны, ранее мы обнаружили, что малая ГТФаза Rac1 увеличивает подвижность митохондрий и снижает их трансмембранный потенциал. Поскольку эффекты ГТФазы Rac1 на митохондрии наблюдались только в клетках, содержащих vimIF, мы решили проверить, не связаны ли они с нарушением связи митохондрий с vimIF.

Используя генетические конструкции, кодирующие конститутивно-активный мутант белка Rac1 и доминантно-негативный мутант протеинкиназы PAK-1, мы убедились, что увеличение подвижности митохондрий действительно связано с активацией PAK-1. Мы проверили, как повлияет на поведение митохондрий мутация виментина S56E, имитирующая его фосфорилирование киназой PAK-1 по остатку Ser56, и обнаружили, что такая замена приводит к увеличению подвижности митохондрий, подобно экспрессии активированного белка Rac1. С другой стороны, замена в молекуле виментина S56A, препятствующая его фосфорилированию киназой PAK-1, приводит к тому, что активированная ГТФаза Rac1 не увеличивает подвижность митохондрий.

Таким образом, взаимодействие митохондрий с vimIF находится под контролем малой ГТФазы Rac1 и ее эффектора протеинкиназы PAK-1, которая способна фосфорилировать Ser56 в молекуле виментина.

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 10-04-00414-а).

## **ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ ДИНАМИКИ АКТИНОВЫХ ФИЛАМЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ КЭПИРУЮЩЕГО БЕЛКА ТРОПОМОДУЛИНА.**

**Костюкова А.С.**

*E-mail:kostyuas@umdnj.edu*

Способность актина полимеризоваться и деполимеризоваться играет важную роль во многих биологических процессах, таких как мышечное сокращение, миграция клеток, организация цитоскелета и транспорт органелл. Актиновые филаменты существенно различаются по длине в зависимости от типа тканей и локализации в клетках. Актиновые филаменты полярны, их концы, медленно растущий (острый) и быстро растущий (тупой), отличаются по структуре и динамике полимеризации/деполимеризации. Для того, чтобы поддерживать определенную длину филаментов, существуют механизмы, включающие в себя определение длины актинового филамента и его кэпирование как на быстро, так и на медленно растущем концах, что препятствует спонтанной сборке / разборке филаментов. В настоящее время для быстро растущих концов известно несколько кэпирующих белков, таких, например, как гельзолин, профилин и Cap Z, в то время как для медленно растущих концов известен только один – тропомодулин. Кэпирующая активность тропомодулина зависит от его взаимодействия с тропомиозином. Молекулу тропомодулина можно разделить на две части, N-концевую половину, не имеющую упорядоченной структуры и содержащую сайты связывания с тропомиозином и актином, и C-концевую половину, представленную LRR доменом, функция которого полностью не определена. Механизмы, с помощью которых может регулироваться кэпирование тропомодулином, пока неизвестны. Обнаруженная нами изоформная специфичность взаимодействия тропомодулина и тропомиозина может быть одним из таких механизмов. Необходимость наличия LRR домена, продемонстрированная нами в экспериментах на кардиомиоцитах, указывает на существование факторов, непосредственно влияющих на функцию тропомодулина за счет связывания с этим доменом или его модификации.

## АНАЛИЗ МИКРО И НАНОСТРУКТУР РОГОВИЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ДИКОГО ТИПА И ШТАММА *FRIZZLED* МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ И ОПТИЧЕСКОЙ ДИФРАКЦИИ

**М. В. Крючков, В.Л. Катанаев, Г.А. Енин, , А.А.Тимченко, И.Н. Сердюк**

*E-mail: kryuchkovmv@gmail.com*

*Drosophila melanogaster* является модельным организмом в многочисленных биологических исследованиях. Глаз мушек имеет сложное регулярное строение, основой которого являются примерно 800 омматидиев, имеющих на своей поверхности линзы с поперечным сечением около 15 мкм. Каждый омматидий содержит 18 клеток, включающих 4 конусообразных клеток, секретирующих материал линз (роговицу). В свою очередь, поверхность линз покрыта системой выростов (ниппелей) с поперечным сечением около 250 нм. Таким образом, роговица глаза имеет двухуровневую микро и нано систему строения. В данной работе впервые была исследована тонкая структура поверхности глаза мушек Дрозофил дикого типа и ее *frizzled* мутанта с высоким разрешением при помощи метода атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Фурье-анализ АСМ изображений показал, что система ниппелей омматидия разупорядочена, а кажущаяся упорядоченность обусловлена плотной упаковкой ниппелей. В то же время Фурье-анализ микроструктуры глаза, а также оптическая диффракция подтверждают наблюдаемую регулярность в расположении омматидиев. В случае же Дрозофилы с *frizzled* мутацией Фурье-анализ и оптическая диффракция показывают разупорядоченность расположения омматидиев. Методом АСМ при высоком разрешении было обнаружено, что наблюдаемая разупорядоченность обусловлена выростами ткани между омматидиями. В то же время, наноструктура омматидиев мутанта (система ниппелей) имеет такую же разупорядоченность, как и для дикого типа, но для них была выявлена тенденция к уменьшению вертикального размера. Таким образом, использование доступного метода АСМ с высоким разрешением для быстрого анализа фенотипических и структурных изменений в модельных организмах при их направленных мутациях позволяет выявить природу таких изменений и прогнозировать эффект проведенных мутаций.

## СВЯЗЫВАНИЕ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ ГОМЕОДОМЕНОВ И ОПЕРАТОРНОЙ ДНК ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ «СТЕРЕОХИМИЧЕСКИМ КОДОМ» УЗНАВАНИЯ

**Ю.Н. Чиргадзе<sup>1</sup>, В.С. Сивожаелезов<sup>2</sup>, Р.В. Полозов<sup>3</sup>, В.А. Степаненко<sup>4</sup>, В.В. Иванов<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Институт белка РАН, Пущино, Московская область. e-mail: chir@vega.protres.ru

<sup>2</sup>Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московская область

<sup>3</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Московская область

<sup>4</sup>Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Московская область

Проведен структурный анализ атомных контактов для 22 комплексов белковых факторов транскрипции семейства гомеодоменов с операторной двухцепочечной ДНК в области большой бороздки ее молекулы. Показано, что области связывания молекулы ДНК и узнающей  $\alpha$ -спирали белкового фактора содержат две группы контактов белок-ДНК: инвариантные и переменные атомные контакты. *Инвариантная область связывания молекулы ДНК* содержит контакты семи атомных групп обеих цепей ДНК – кодирующей и некодирующей. Эти группы включают в себя инвариантный аденин и несколько инвариантно фиксированных по позициям фосфатных групп. В связывании участвуют четыре нуклеотида канонического фрагмента ТААТ промоторного участка кодирующей цепи. Контакты инвариантной области определяют локализацию на ДНК узнающей  $\alpha$ -спирали белкового фактора за счет сильного электростатического взаимодействия. *Инвариантная область связывания узнающей  $\alpha$ -спирали факторов транскрипции* включает в себя семь атомных групп аминокислотных остатков, четыре из них являются положительно заряженными группами остатков аргинина и лизина. Обнаруженные инвариантные области определяют своеобразный “стереохимический код” узнавания, общий для всех рассмотренных факторов транскрипции гомеодоменов. *Переменные области связывания*, как ДНК, так и белковых факторов определяют специфическое связывание конкретных факторов. По сравнению с инвариантной областью число атомных контактов ДНК-белок в переменной области вдвое меньше.

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ  
ИССЛЕДОВАНИЕ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ НА ПРИМЕРЕ БЕЛКА ИНСУЛИНА  
ЧЕЛОВЕКА**

**Довидченко Н.В., Селиванова О.М., Сурин А.К., Суворина М.Г., Шматченко В.В.,  
Финкельштейн А.В., Галзитская О.В.**

*E-mail:ogalzit@vega.protres.ru*

Предложена кинетическая модель для описания процесса амилоидообразования, включающая в себя нуклеационный механизм полимеризации с последовательным присоединением мономеров к олигомеру и автокаталитический рост амилоидных агрегатов, под которым подразумеваются все типы экспоненциального роста: ветвление, дробление и рост с поверхности. Получено аналитическое решение предложенных уравнений и проведены компьютерные симуляции для двух типов экспоненциального роста: дробление и роста с поверхности. Нами изучен процесс амилоидообразования на примере рекомбинантного инсулина человека и его аналога (LysPro). Показано, что инсулин и его аналог LysPro (замена в цепи В остатков Pro28 и Lys29 местами) имеют похожую картину формирования амилоидных структур, что согласуется с теоретическими предсказаниями. Аппроксимация экспериментальных данных показала, что модель корректно описывает наблюдаемые в эксперименте стадии роста амилоидных фибрилл, и что присутствие члена, описывающего в модели стадию экспоненциального роста, критично для верного моделирования возникновения лаг-периода.

Работа выполнена при поддержке Программ "Молекулярная и клеточная биология" и "Фундаментальные науки – медицине" Президиума РАН, грантами РФФИ (11-04-00763, 10-04-00162а), ФАНИ (02.770.11.0295) и фонда Дмитрия Зимина «Династия».



## РАЗРАБОТКА КЛАССИФИКАЦИИ БЕЛКОВ, ОСНОВАННОЙ НА СТРУКТУРНЫХ ДЕРЕВЬЯХ

**Гордеев А.Б., Бошкова Е.А., Каргатов А.М., Ефимов А.В.**

*E-mail: gordeew@vega.protres.ru*

Число расшифрованных белков с каждым годом стремительно растёт, и поэтому всё актуальнее становится проблема классификации белковых структур. В настоящее время существует несколько классификаций белков, основанных на разных принципах, которые имеют как преимущества, так и недостатки. Нам представляется, что классификация белков, основанная на использовании структурных деревьев, является наиболее перспективной. Такая классификация базируется только на сходстве пространственных структур и на общности смоделированных путей сворачивания белков. В ней вовсе не учитывается информация, заложенная в аминокислотных последовательностях, а также информация о функциях и эволюционном родстве белков, что в той или иной степени учитывается в других известных классификациях.

Предложена новая схема классификации белков, учитывающая принадлежность белка к тому или иному структурному дереву и положение его укладки на древе. Исходя из данной схемы, разработана уникальная и удобная в использовании структурная классификация белков. Классификация иерархически организована и содержит следующие уровни иерархии: Класс – Структурное дерево – Уровень – Укладка – Белковый домен – Вид организма – PDB-файл. На настоящее время она объединяет белки, относящиеся к одиннадцати структурным группам, для каждой из которых построены соответствующие структурные деревья. Классификация содержит 4911 белков и доменов (всего 14202 PDB-файла), организована в виде WEB-ресурса PCBOST (Protein classification based on structural trees), размещена на сервере Института белка РАН и свободно доступна в Интернете по адресу <<http://streets.protres.ru>>.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-00727-а и грантом Федерального агентства по науке и инновациям № 02.740.11.0295.

## **ПРЕДСКАЗАНИЕ СКОРОСТЕЙ САМООРГАНИЗАЦИИ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ ИХ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК**

**С. А. Гарбузинский, Д. Н. Иванков, Н. С. Богатырёва, А. В. Финкельштейн**

*E-mail:sergey@alpha.protres.ru*

Нами разработан метод предсказания скоростей самоорганизации белка на основе одновременного учёта размера белка, его стабильности и топологии нативного состояния. Метод позволяет успешно (коэффициент корреляции предсказаний с экспериментальными данными составляет более 80%) предсказывать скорости сворачивания, а также разворачивания глобулярных белковых доменов как в воде (в отсутствие денатуранта), так и в условиях термодинамического равновесия.

Работа выполнена при поддержке Программы "Молекулярная и клеточная биология" Президиума РАН, Федерального агентства по науке и инновациям (грант № 02.740.11.0295), РФФИ (грант № 10-04-00162-а), Фонда «Династия» и Грантов Президента РФ для государственной поддержки молодых российских учёных (МК-4894.2009.4 и МК-5540.2011.4).