

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЗНАВАНИЯ РИБОСОМНЫХ РНК РИБОСОМНЫМИ БЕЛКАМИ

©2018 г.

А. Д. НИКУЛИН

Институт белка РАН, Пущино, Московская область

I. Введение. II. Рибосомные белки «L12-выступа» 50S рибосомной субчастицы. III. «L1-выступ» 50S рибосомной субчастицы. IV. 23S рРНК связывающие рибосомные белки «тела» 50S рибосомной субчастицы. V. 5S рРНК связывающие рибосомные белки 50S рибосомной субчастицы. VI. 16S рРНК связывающие рибосомные белки 30S рибосомной субчастицы. VII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Биосинтез белков в клетках происходит на уникальных органеллах клеток – рибосомах, которые представляют собой сложные макромолекулярные машины, объединяющие в одно целое несколько рибосомных РНК и более чем 50 рибосомных белков для рибосом бактерий (рис. 1) и до 80 белков в эукариотических рибосомах [1]. Биосинтез белков в клетках является одним из ключевых процессов в клетках и для его понимания важно знать устройство (структуру) рибосомы и взаимодействие всех её компонентов между собой. Прорыв в структурных исследованиях рибосом произошел на рубеже XX и XXI веков, когда благодаря развития методов рентгеноструктурного анализа (РСА) и криоэлектронной микроскопии удалось получить структуры целой бактериальной рибосомы и её отдельных субчастиц с разрешением, достаточном для детального описания всех компонентов рибосомы.

Структуры изолированных рибосомных белков и их комплексов со специфическими фрагментами рРНК активно исследовались ещё до получения структур рибосом и их субчастиц. Структуры РНК-белковых комплексов были первыми экспериментальными данными по взаимодействию белков с двухцепочечными участками РНК и

Принятые сокращения: РСА – рентгеноструктурный анализ, ЯМР – ядерный магнитный резонанс, ЭМ – электронная микроскопия

Адрес для корреспонденции: [nikulin@vega.protres.ru](mailto:nikulina@vega.protres.ru)

Работа поддержана Программой ПРАН «Молекулярная и клеточная биология».

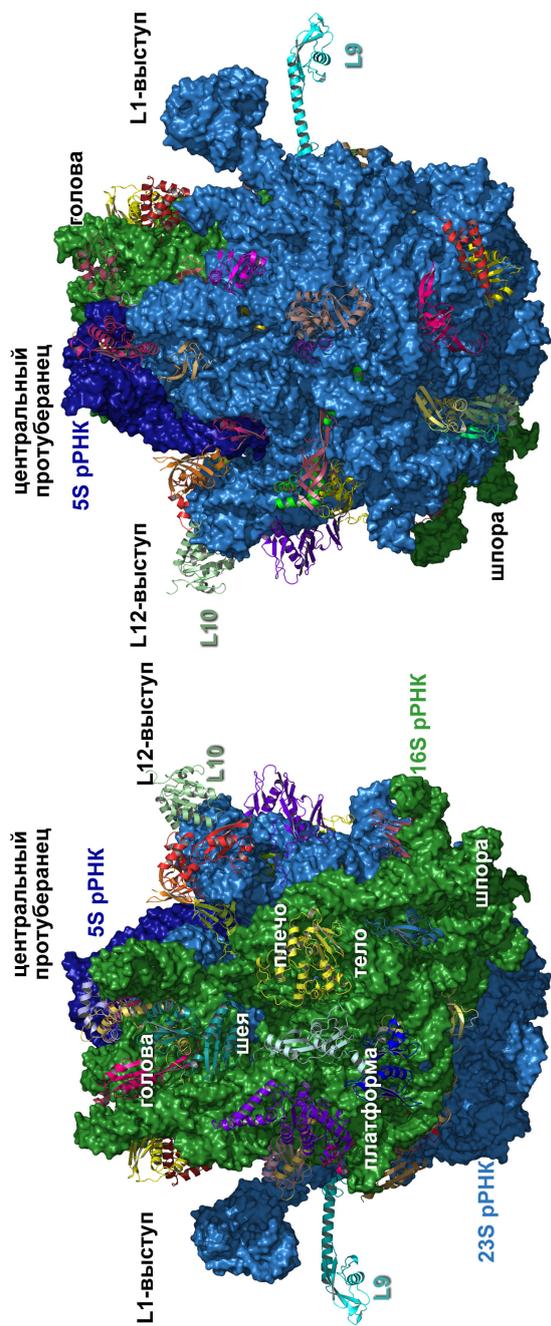


Рис. 1. Структура 70S рибосомы *E. coli* [12].

Слева – вид со стороны 30S рибосомной субчастицы, справа – вид со стороны 50S рибосомной субчастицы. Рибосомная рРНК большой рибосомной субчастицы обозначена тёмно-голубым (23S рРНК) и синим цветом (5S рРНК), малой субчастицы – зелёным (16S рРНК). На 50S субчастице обозначены L1-выступ, центральный протуберанец, L12-выступ, рибосомные белки L10 и L9. На 30S субчастице указаны головка (head), шея (neck), платформа (platform), тело (body), плечо (shoulder) и шпора (spur). Рибосомные белки представлены в виде лент со вторичной структурой.

Рисунок создан на основе координат модели PDB 5IT8 в программе PyMol (Schrodinger LLC, version 1.8.6.0 Open-Source).

их изучение стало важной вехой на пути понимания принципов РНК-белкового узнавания. Более того, структуры отдельных рибосомных белков и рРНК-белковых комплексов послужили основой для расшифровки первых карт электронной плотности рибосомных субчастиц и интерпретации их крио-ЭМ моделей. Важным применением структур рРНК-белковых комплексов стало описание структуры функционально участков большой рибосомной субчастицы, которые не видны на получаемых картах электронной плотности из-за их высокой подвижности. Дальнейшее уточнение структур рибосомных субчастиц и рибосом позволило подробно классифицировать структуры рибосомных белков [2].

Большая часть рибосомных белков является универсальной и обнаруживается в рибосомах как бактерий, так и архей, и эукариот [3, 4]. Сравнение аминокислотных последовательностей таких белков из разных организмов показывает, что они, как правило, сохраняют свои размеры и не имеют дополнительных неконсервативных элементов структуры [5]. В 2014 году была предложена общая номенклатура рибосомных белков, которая сейчас считается общепринятой [6]. Многие универсально-консервативные белки вовлечены в формирование функциональных центров рибосомы и в первые этапы сборки рибосомных субчастиц. В *E. coli* первично-связывающимися рибосомными белками являются S4, S7, S8, S15, S17 и S20 малой рибосомной субчастицы [7, 8] и белки L1, L2, L3, L4, L9, L20, L23 и L24 большой рибосомной субчастицы [9, 10]. При реконструкции рибосомных субчастиц *in vitro* присоединение этих белков к соответствующим рРНК приводит к значительной компактизации формируемых рибонуклеопротеиновых частиц [11, 12]. Согласно новой номенклатуре эти белки именовются uS4, uS7, uS8, uS15, uS17, bS20 и uL1, uL2, uL3, uL4, bL9, bL20, uL23, uL24, где «u» означает принадлежность к универсально-консервативным рибосомным белкам, а «b» – специфические только для бактериальных рибосом [6].

В предлагаемом обзоре будут рассмотрены структурные данные по контактам консервативных первично-связывающих бактериальных рибосомных белков с рибосомными РНК в составе бактериальной рибосомы *E. coli*, и, где возможно, приведено сравнение структур бактериальных белков на рибосоме, в изолированном состоянии и/или в комплексах с фрагментами рРНК. При именовании рибосомных белков будет использована «старая» номенклатура бактериальных рибосомных белков [1].

II. РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ «L12-ВЫСТУПА» 50S РИБОСОМНОЙ СУБЧАСТИЦЫ

Первично-связывающие белки большой рибосомной субчастицы связываются с различными доменами 23S рРНК и располагаются как на внутренней стороне 50S субчастицы (со стороны межсубъединичного интерфейса рибосомы), так и её внешней стороне (сторона «растворителя») (рис. 2) [13]. Первично-связывающий рибосомный белок L1 формирует отдельный морфологический элемент 50S субчастицы называемый «L1-выступ».

С противоположной стороны 50S субчастицы имеется другой выступ – так называемый «L12-выступ» (в археях и эукариотах обычно именуемый «Р-выступом»), формируемый белками L10, L11 (по новой номенклатуре – uL10 и uL11) несколькими димерами белка L12 (bL12). L12-выступ большой рибосомной субчастицы играет определяющую роль во взаимодействии рибосомы с факторами трансляции и в контроле точности трансляции формируя вместе с 23S рРНК ГТФазный центр рибосомы [14, 15]. Рибосомные белки L12-выступа были одними из первых, структуры которых в свободном состоянии и в комплексах с фрагментами рРНК получены методами РСА и ЯМР [16, 17].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L11

Рибосомный белок L11 содержит два глобулярных домена, связанных короткой гибкой перетяжкой [17]. С-концевой домен длиной 75 аминокислотных остатков, специфически взаимодействует с доменом II 23S рРНК (участок 1051-1108 в нумерации 23S рРНК *E. coli*) [18]. N-концевой домен белка вовлечен во взаимодействие с факторами трансляции на рибосоме и не влияет на специфичность взаимодействия белка с 23S рРНК [19, 20].

В 1990-х годах методом РСА были определены структуры С-концевого домена белка L11 из *Bacillus stearothermophilus* в комплексе с фрагментом 23S рРНК из *E. coli*, включающие спирали H43 и H44 [21] (Рис. 3а), а затем – структура комплекса полноразмерного белка из *Thermotoga maritima* с тем же фрагментом 23S рРНК (рис. 3б) [20]. Несколько позже методом ЯМР была определена структура белка L11 в комплексе с 23S рРНК и антибиотиком тиострептоном [19].

N-концевой домен белка L11 состоит из трёх-тяжевого β -листа с двумя α -спиралями, расположенными с одной из его сторон. Согласно структурной классификации SCOP [22], структура этого $\alpha+\beta$ домена является уникальной. С-концевой домен белка L11, в противоположность N-концевому домену, состоит из трех α -спиралей

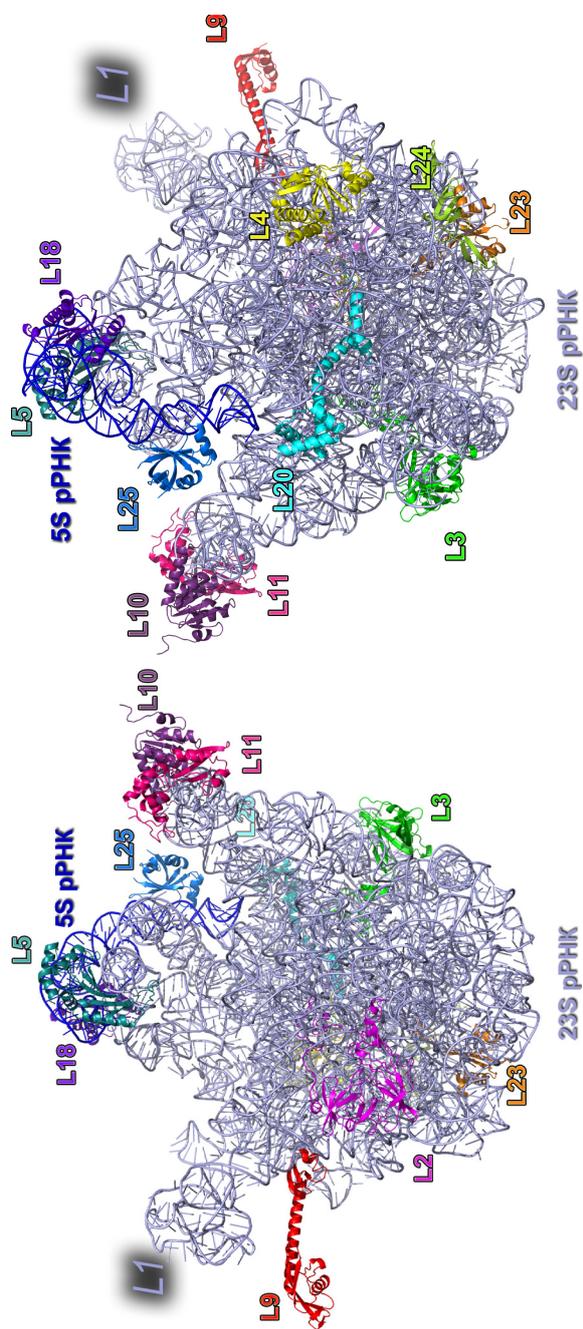


Рис. 2. Расположение первично-связывающихся рибосомных белков 50S рибосомной субчастицы *E. coli* относительно 23S рРНК (сиреневая) и 5S рРНК (синяя).

Слева – вид со стороны 30S рибосомной субчастицы, справа – вид со стороны «растворителя». Положение белка L1 обозначено в виде пятна, поскольку модель не содержит его координат. Указаны 23S рРНК-связывающие белки: L2 (малиновый), L3 (зеленый), L4 (желтый), L9 (красный), L10 (сиреневый), L11 (ярко-малиновый), L20 (голубой), L23 (оранжевый), L24 (лимонный), и 5S рРНК-связывающие белки: L5 (сине-зеленый), L18 (фиолетовый), L25 (бирюзовый).

Рисунок создан на основе координат модели PDB 5IT8.

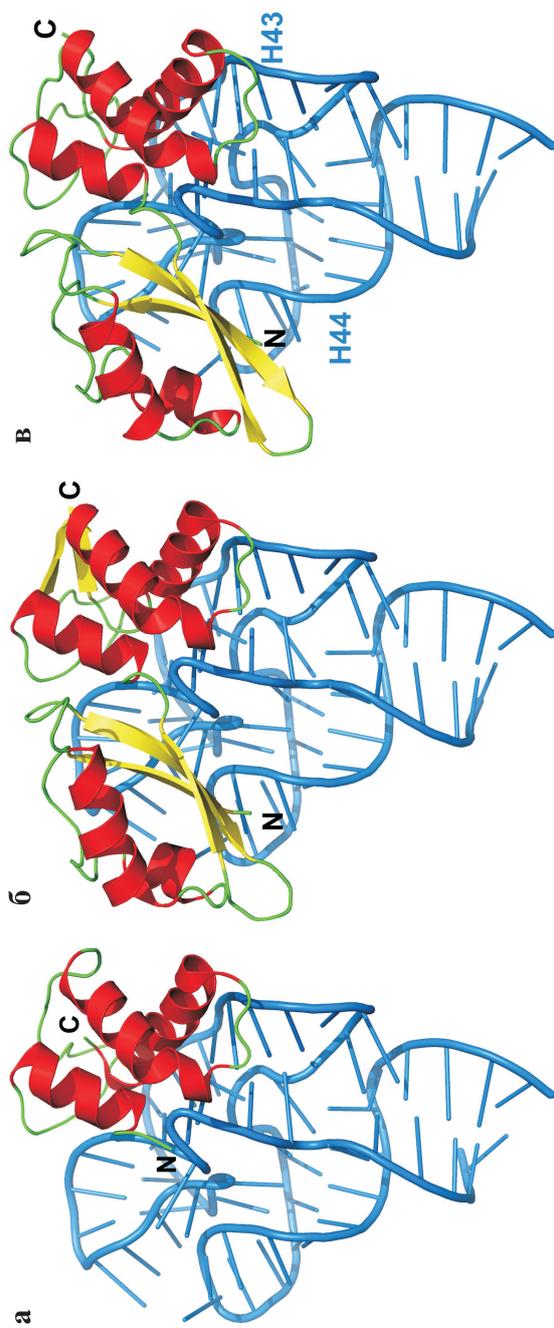


Рис. 3. Структуры комплексов белка L11 со специфическим фрагментом 23S рРНК.

а – С-концевой домен белка L11 – 23S рРНК *B. stearotherophilus*, разрешение 2,8Å (PDB 1QA6 [20]).

б – Белок L11 – 23S рРНК *T. maritima*, разрешение 2,6Å (PDB 1MMS [19]).

в – Расположение рибосомного белка L11 относительно 23S рРНК (голубая) в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 23S рРНК.

с короткой β -шпилькой и двумя длинными петлями, неупорядоченными в отсутствие рРНК [20]. В SCOP этот домен классифицируется как полностью α -спиральный «ДНК/РНК-связывающий 3-х спиральный пучок» (DNA/RNA-binding 3-helical bundle).

Во всех полученных структурах белок L11 связывается с 23S рРНК посредством спирали $\alpha 5$ С-концевого домена белка, которая укладывается вдоль малого желобка рРНК и образует большинство контактов с ней (Рис. 3). Область контакта прикрыта аминокислотными остатками N-концевой части спирали $\alpha 3$ и петель $\alpha 3$ – $\beta 4$ и $\alpha 4$ – $\alpha 5$, располагающиеся по обоим сторонам спирали [20]. Анализ структур показал, что наибольшее число контактов между L11 и рРНК представлены водородными связями между атомами главной цепи белка и сахарофосфатного остова рРНК, а контактов белка с основаниями РНК небольшое количество [21]. Аналогичная модель узнавания посредством α -спирали белка реализуется для многих факторов транскрипции, взаимодействующих с ДНК, например, для *cro*-репрессора [23, 24]. В них α -спираль белка располагается в большом желобке двойной спирали Б-формы ДНК, атомы аминокислотных остатков α -спирали взаимодействуют с атомами оснований нуклеотидов, реализуя таким образом специфическое узнавание последовательности оснований ДНК белком [25]. Сужение большого желобка в А-форме двухцепочечной РНК не позволяют реализовать такой вариант распознавания нуклеотидных последовательностей, поэтому авторами предложено, что РНК-связывающий белок L11 узнает не последовательность нуклеотидов РНК, а её пространственную укладку [20, 21].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L10

Рибосомный белок L10 является важным элементом L12-выступа рибосомы, выполняющий роль связующего мостика между рибосомными белками L12 и 23S рРНК [15, 26]. Он включает в себя два домена: N-концевой α/β домен имеет компактную трехслойную структуру и взаимодействует с областью спиралей H42-H44 23S рРНК рядом с белком L11 [27]; С-концевой домен представляет собой длинную α -спираль, к которой присоединяются димеры белков L12 [15] (рис. 4). Два домена белка L10 соединены гибкой перетяжкой, поэтому С-концевой домен белка вместе с присоединенными молекулами димеров белка L12 очень подвижен и не может быть зафиксирован в кристаллических структурах рибосом. Основой для описания структурных особенностей L12 выступа рибосомы до настоящего времени являются крио-ЭМ реконструкции рибосом. В 2005 году

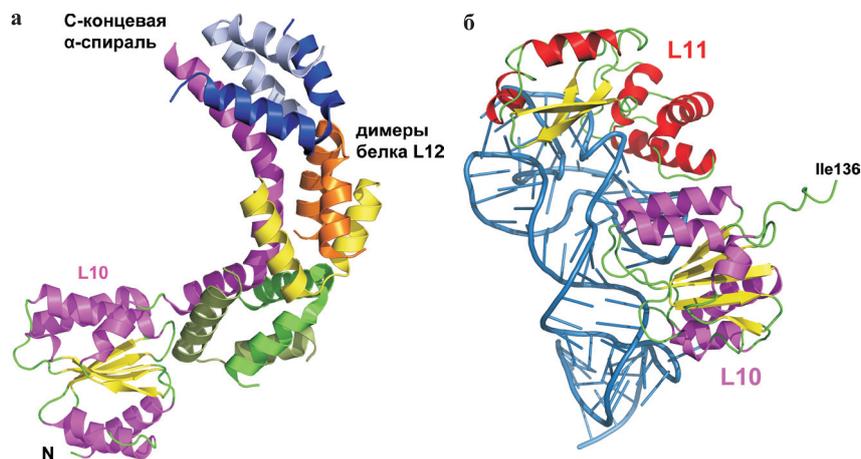


Рис. 4. (а) Структура белка L10 из *T. maritima* в комплексе с тремя димерами N-концевых доменов белка L12, разрешение 2,1 Å (PDB 1ZAX). (б) Фрагмент структуры 70S рибосомы *E. coli* высокого разрешения (PDB 5IT8), включающий участок 1038–1117 23S рРНК, белок L11 (красный) и N-концевую часть белка L10 (сиреневый). Для белка L10 указано положение аминокислотного остатка Ile136.

для рибосомы из археи *Haloarcula marismortui* с использованием структуры белка L10 в комплексе с тремя димерами белка L12 из бактерии *T. maritima* была предложена наиболее интересная модель структуры этого функционального домена большой рибосомной субчастицы [15].

Недавние структуры бактериальных рибосом высокого разрешения *E. coli* [28, 29] и *T. thermophilus* [30, 31] позволяют достаточно детально анализировать контакты N-концевого домена бактериального белка L10 с 23S рРНК. Взаимодействие белка L10 с 23S рРНК реализуется преимущественно за счет аминокислотных остатков спиралей $\alpha 1$ и $\alpha 3$ белка, которые ложатся в мелкий желобок рРНК в области нуклеотидов 1038–1117 23S рРНК *E. coli* (рис. 4). Аминокислотные остатки белка L10 во всех представленных структурах не образуют водородных связей с атомами оснований рРНК, а формируют контакты только с его сахарофосфатным остовом. Таким образом, в случае белка L10 имеет место узнавание специфической укладки рРНК в пространстве.

III. «L1-ВЫСТУП» 50S РИБОСОМНОЙ СУБЧАСТИЦЫ

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L1

L1-выступ большой рибосомной субчастицы образован рибосомным белком L1 и спиралями H76–H78 23S рРНК и располагается на противоположной от L12-выступа части 50S рибосомной субчастицы (рис. 2). Белок L1 не виден на кристаллографических структурах рибосом поскольку L1-выступ обладает высокой подвижностью и может смещаться на значительное расстояние и вращаться относительно оси спирали H76 23S рРНК в зависимости от наличия тРНК в E-сайте рибосомы [13, 32]. Считается, что подвижность этого участка большой рибосомной субчастицы связана с его участием в транслокации тРНК на рибосоме, а именно в перемещении деацелированной тРНК в E-сайт и её последующем удалении с рибосомы [33]. В первых кристаллографических работах по структурам рибосомы из-за высокой подвижности L1-выступа описана только его часть, представляющая участок 23S рРНК без самого белка [34, 35]. Восполнить этот пробел в описании рибосомы помогло определение структуры комплекса белка L1 с соответствующим фрагментом 23S рРНК.

В 1996 году в нашей лаборатории впервые определена структура белка L1 из термофильной бактерии *Thermus thermophilus* [36]. Было показано, что белок включает в себя два домена, причем первый домен включает и N-концевую, и C-концевую часть белка, а второй домен представляет собой вставку из среднего участка полипептидной цепи (рис. 5а). Первый домен имеет двухслойную структуру «расщепленной abc/d единицы» или «split β - α - β », а второй домен – трехслойную укладку по Россману. Домены I и II соединены гибкой перетяжкой и могут достаточно независимо менять взаимную ориентацию в растворе [37].

В 2003 году в нашей лаборатории определена структура белка L1 из археи *Sulfolobus solfataricus* в комплексе с фрагментом 23S рРНК из *T. thermophilus* (рис. 5б) [38]. Сочетание компонентов из различных организмов позволило впервые подобрать условия кристаллизации этого комплекса, поиск которых продолжался почти 7 лет с момента определения структуры самого белка. Полученная структура комплекса использована нами, а позднее и другими исследователями, для описания L1-выступа в моделях бактериальных рибосом [38].

Структура комплекса L1-23S рРНК показала, что взаимодействие белка с рРНК реализуется в двух удаленных друг от друга областях, расположенных на поверхности обоих доменов белка, причём контактирующих аминокислотных остатков в первом домене примерно в

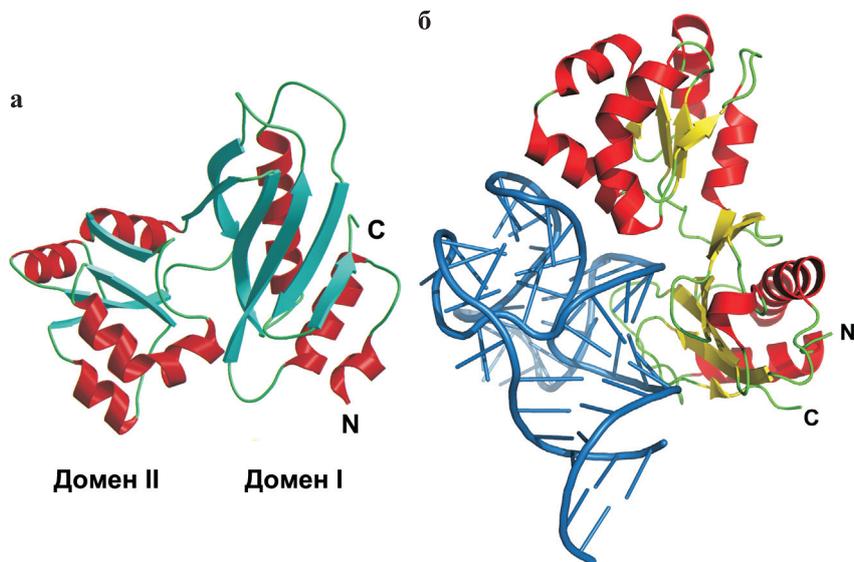


Рис. 5. (а) Структура рибосомного белка L1 из *T. thermophilus* [35]. (б) Структура комплекса рибосомного белка L1 из *S. solfataricus* в комплексе с фрагментом 23S рРНК из *T. thermophilus* (PDB 1MZP).

четыре раза больше, что позволило предположить его определяющую роль в узнавании 23S рРНК [38]. Как и в выше описанных рибосомных комплексах, в случае белка L1 аминокислотные остатки белка взаимодействуют преимущественно с атомами сахарофосфатного остова рРНК.

IV. 23S рРНК СВЯЗЫВАЮЩИЕ РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ «ТЕЛА» 50S РИБОСОМНОЙ СУБЧАСТИЦЫ

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L2

Первично-связывающийся с 23S рРНК рибосомный белок L2 располагается недалеко от основания L1-выступа большой рибосомной субчастицы (рис. 2) [39]. По имеющимся данным белок L2 необходим для ассоциации 30S и 50S субъединиц для формирования 70S рибосомы, связывания рибосомой тРНК в А и Р сайтах и образования пептидной связи растущего пептида [40, 41]. В 70S рибосомах *E. coli* на стадии инициации трансляции белок L2 образует несколько контактов с 16S рРНК, образуя мостик В7b, который разрушается при связывании рибосомой фактора трансляции EF-G [42]. Бактериальный белок L2 может быть заменен в рибосомах гомологами из археи *H. marismortui*

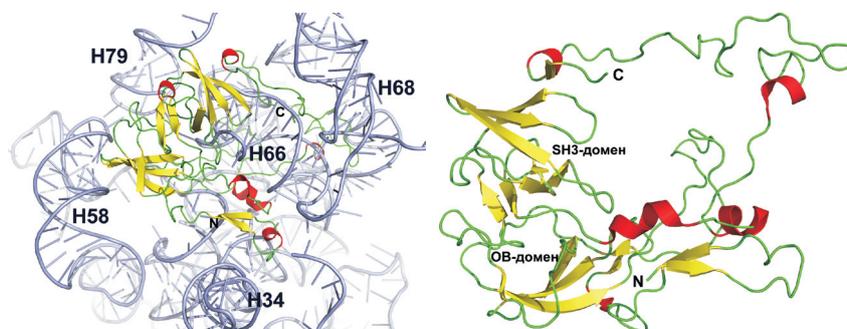


Рис. 6. Расположение рибосомного белка L2 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E.coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 23S рРНК. Справа – схематическое представление структуры белка L2 в составе рибосомы.

(HmaL2) или белком L8 из 60S рибосомы цитоплазмы человека с сохранением активности рибосомы [43].

Значительная часть рибосомного белка L2, который имеет в своем составе более 270 аминокислотных остатков, не имеет выраженной вторичной структуры, однако в центральной части белка выделяются два β -структурных домена, которые могут быть классифицированы как нуклеотид-связывающий ОВ-домен и SH3-подобный домен (рис. 6).

В составе 50S рибосомной субчастицы белок взаимодействует с удаленными друг от друга участками 23S рРНК, выполняя роль «каркасного» белка и скрепляя отдельные спирали рРНК (рис. 6). Анализ контактов аминокислотных остатков с атомами рРНК показывает, что только 15% из них являются водородными связями между атомами белка и атомами оснований нуклеотидов, а остальные – с сахарофосфатным остовом 23S рРНК. Интересной особенностью РНК-белковых контактов является то, что подавляющая часть их реализуется за счет аминокислотных остатков белка, принадлежащих неупорядоченным областям белка – петлям и поворотам. Таким образом, сложно считать, что белок L2 специфически распознает структуру 23S рРНК за счет своей третичной структуры. Скорее, белок L2 фиксирует определенное расположение спиралей 23S рРНК в пространстве при сборке большой рибосомной субчастицы.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L3

Рибосомный белок L3 является одним из двух (наряду с белком L24) инициаторных белков при сборке 50S рибосомной субчастицы [44]. Он присоединяется в области 3'-конца 23S рРНК и образует ядро сворачивания рРНК [10]. Белок L3 является одним из участников

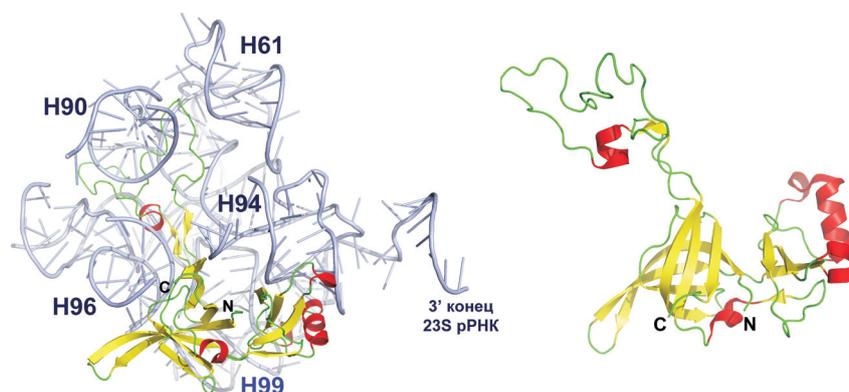


Рис. 7. Расположение рибосомного белка L3 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 23S рРНК и 3'-конец 23S рРНК. Справа – схематическое представление структуры белка L3 в составе рибосомы.

формирования пептидилтрансферазного центра благодаря своим длинным петлям, пронизывающим большую рибосомную субчастицу [45]. Были обнаружены мутации в аминокислотной последовательности белка L3, которые приводят к устойчивости к антибиотику тиамулину [46, 47] и линезолиду [47]. Все обнаруженные замены в аминокислотной последовательности этого белка находятся на участке 144–151, а наиболее сильно влияют замены остатков 148 и 149, находящиеся непосредственно в области пептидилтрансферазного центра рибосомы [46].

Структура белка в свободном состоянии или в комплексе с фрагментом рРНК получены не были. Рассмотрение структуры белка, входящего в состав рибосомы *E. coli* показывает, что белок L3 двухдоменный (рис. 7). Первый домен включает N- и C- концы белка и представляет собой β -бочонок с ответвляющейся петлей длиной 50 аминокислотных остатков (115–165). Петля в основном не имеет вторичной структуры за исключением небольшой α -спирали и короткого β -участка. Второй домен (остатки 30–97) является вставкой в первый домен и состоит из β -листа, с одной стороны которого расположено несколько α -спиралей.

Наибольшее число контактов белка L3 с 23S рРНК реализуется аминокислотными остатками петли 115–165 (примерно 80% от всех), причем часть из них образует водородные связи с атомами оснований нуклеотидов. β -тяжи второго домена белка взаимодействует с

сахарофосфатным остовом рРНК, а первый домен белка взаимодействует с рРНК всего 5 аминокислотными остатками. Таким образом, можно заключить, что, по-видимому, первоначально узнающей рРНК единицей белка L3 выступает второй домен, который может идентифицировать структуру 23S рРНК в начале сборки большой рибосомной субчастицы. Петля 115-165 формирует основную долю контактов с рРНК, но, скорее всего, на последующих этапах сборки 50S рибосомной субчастицы.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L4

Рибосомный белок L4 необходим для сборки 50S рибосомной субчастицы на самых первых этапах [10]. Он связывается с 5'-концевой частью 23S рРНК, а в составе собранной рибосомы формирует большое число контактов с различными доменами 23S рРНК [48, 49] (рис. 8). Белок L4 расположен с внешней стороны 50S субчастицы, однако имеет длинную петлю, проходящую сквозь всю субчастицу к пептидилтрансферазному центру рибосомы. Эта петля является объектом пристального исследования, поскольку выходит в область рибосомного туннеля, по которому транспортируется растущий полипептид после синтеза на рибосоме [50] и ряд мутаций в ней приводят к возникновению устойчивости бактерий к антибиотикам эритромицинового ряда [51, 52]. Несмотря на то, что петля белка L4 проходит сквозь всю большую рибосомную субчастицу, она не является необходимой для сборки 50S субчастицы и её можно делетировать [53].

Структура изолированного бактериального рибосомного белка L4 из *Thermotoga maritima* определена в 2000 году [54]. В полученной структуре белка отсутствует участок полипептидной цепи с 41 по 96 остаток, который соответствует длинной петле, неупорядоченной в несвязанном с рРНК состоянии (рис. 8). Из-за высокой подвижности петли этот участок белка не фиксируется в кристалле и, соответственно, имеет скудную электронную плотность, не позволяющую её описать.

Согласно структурной классификации SCOP, рибосомный белок L4 относится к трехслойным α/β -белкам и содержит 4-тяжевый параллельный β -лист. Общая укладка элементов вторичной структуры признана уникальной и выделена в отдельное семейство рибосомных белков L4 (SCOP 52167).

Анализ контактов аминокислотных остатков белка L4 с 23S рРНК показывает, что, как и в случае белка L3, большая часть контактов между ними происходит в области длинной петли белка и прилегающей к ней концевым участкам α -спиралей (остатки 40–99). Второй участок взаимодействия РНК-белок – это спираль

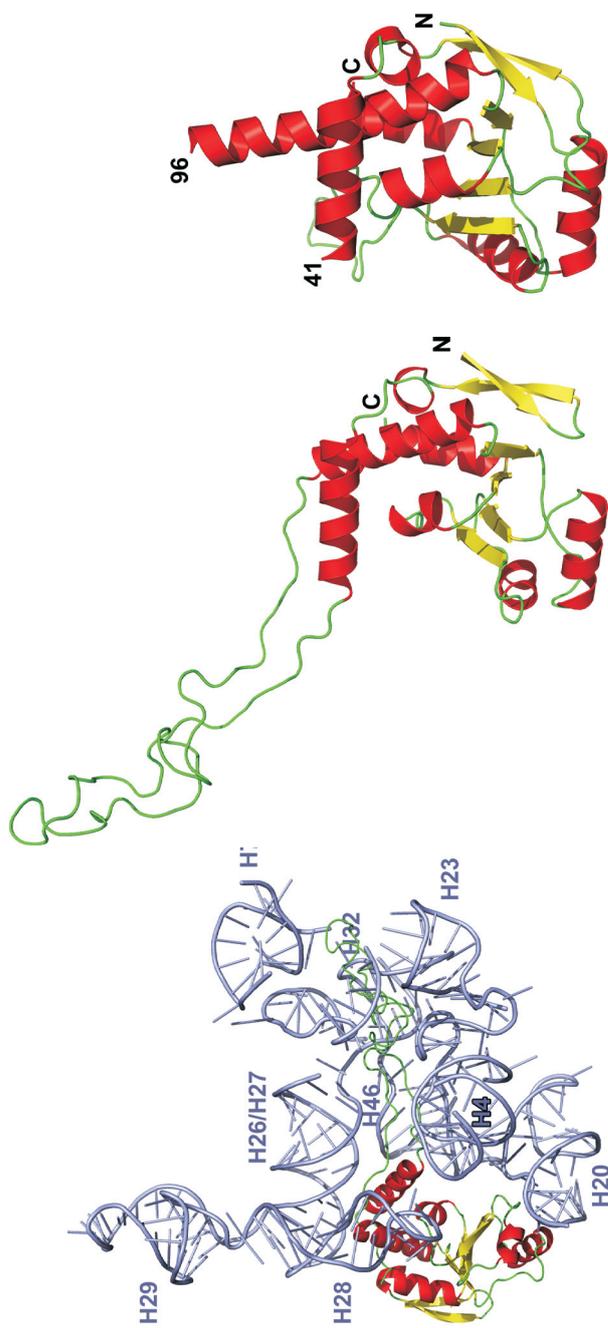


Рис. 8. Расположение рибосомного белка L4 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5GT8).

Обозначены спирали 23S рРНК. В центре – схематическое представление структуры белка L4 в составе рибосомы. Справа – схематическое представление структуры белка L4 из *T. maritima* (PDB 1DMG). Указаны остатки 41 и 96, между которыми расположена неопианная часть белка.

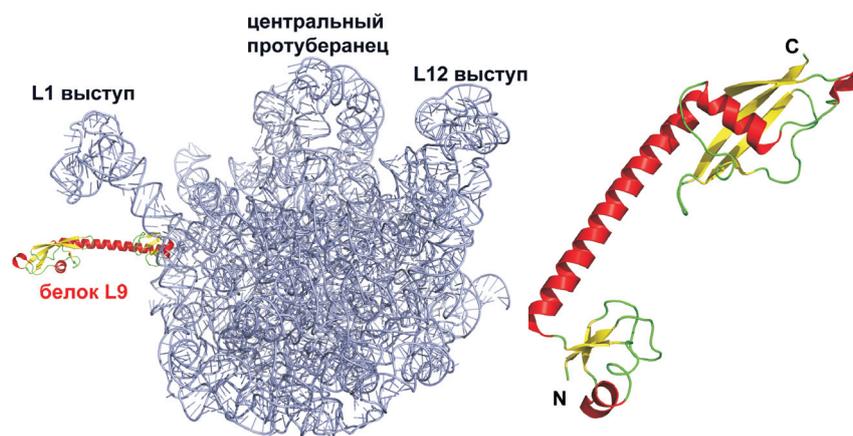


Рис. 9. Расположение рибосомного белка L9 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli*. Вид со стороны интерфейса рибосомных субчастиц.

Схема создана на основе координат PDB 5IT8. Справа – схематическое представление структуры белка L9 из *B. stearothermophilus* (PDB 1DIV).

$\alpha 2$, аминокислотные остатки которой формируют контакты белка с 23S рРНК. Поскольку показано, что петля белка L4 не является необходимой для сборки 50S субчастицы [53], то можно твердо утверждать, что рРНК-узнающей единицей белка является его структурированный домен, а наиболее важным элементом – спираль $\alpha 2$.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L9

Рибосомный белок L9 связывается с 23S рРНК одним из первых [10]. Он взаимодействует с 3' концом рРНК рядом с сайтом посадки белка L1 и имеется только в бактериальных рибосомах [55]. В большой рибосомной субчастице он располагается непосредственно под L1-протуберанцем (рис. 9).

Впервые структура белка L9 была опубликована в 1994 году [55]. Белок L9 включает в себя два домена. Маленький N-концевой домен (47 аминокислотных остатков) имеет трехслойную архитектуру $\alpha/\beta/\alpha$, а C-концевой домен (85 остатков), имеет двухслойную архитектуру $\alpha + \beta$. Они соединены между собой длинной α -спиралью (37 остатков, 10 витков), которая участвует в формировании самих доменов. N-концевой домен структурно схож с мотивом RRM (RNA recognition motif). Оба домена положительно заряжены и, предполагалось, что оба взаимодействуют с 23S рРНК [55, 56]. Однако, в кристаллических структурах бактериальных рибосом с 23S рРНК взаимодействует

только N-концевой домен белка, а С-концевой домен удален от поверхности рибосомы и контактирует с 30S субъединицей соседней в кристалле рибосомы [57]. Криоэлектронная микроскопия рибосом показала возможность изгиба α -спирали белка L9 так, что С-концевой домен белка сближен с рибосомным белком S6 [58]. Одна из возможных гипотез, объясняющая особенность расположения белка L9 на рибосоме состоит в том, что он контролирует расстояние между отдельными рибосомами на полисоме, подавляя сдвиг рамки считывания и, таким образом, увеличивая точность прочтения мРНК рибосомой [59].

Расчет контактов между белком L9 и 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8) показывает очень малое их число. По всей видимости это связано с ограничением разрешения модели и неточностью её уточнения на периферии модели. Тем не менее, можно сказать, что белок L9 взаимодействует с областью соединения спиралей H76 и H79 23S рРНК.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L20

Белок L20 связывается с 5'-концом 23S рРНК на ранних стадиях сборки субчастицы и является необходимым для первой стадии сборки 50S рибосомной субчастицы *in vitro* [60, 61]. Белок L20 не является универсально-консервативным и присутствует только в бактериальных рибосомах, однако делеция гена белка L20 является летальной для клеток *E. coli* [61]. Следует отметить, что белок L20 может заменять белок L24 при инициации сборки рибосомной субчастицы при низких температурах [62]. Белок располагается на противоположной от пептидилтрансферазного центра поверхности 50S рибосомной субчастицы и взаимодействует с несколькими удаленными друг от друга участками 23S рРНК (рис. 10).

Исследования структуры белка L20 методом ЯМР показали, что он развернут в несвязанном с рРНК состоянии [63], однако приобретает вторичную структуру при кристаллизации [64]. Согласно структурной классификации SCOP, белок L20 однодоменный, содержит четыре α -спирали, расположенных ортогонально. Укладка спиралей соответствует PАРВ-домену.

Считается, что белок структурируется при взаимодействии с 23S рРНК, причем С-концевая α -спираль белка взаимодействует с другими рибосомными белками на поверхности рибосомы, а с рРНК взаимодействует N-концевая α -спираль и длинная спираль $\alpha 2$ [65]. Действительно, анализ контактов белка L20 с 23S рРНК в составе рибосомы показывает наличие обширной области контактов этих двух спиралей с сахарофосфатным остовом спиралей H40–H41 23S

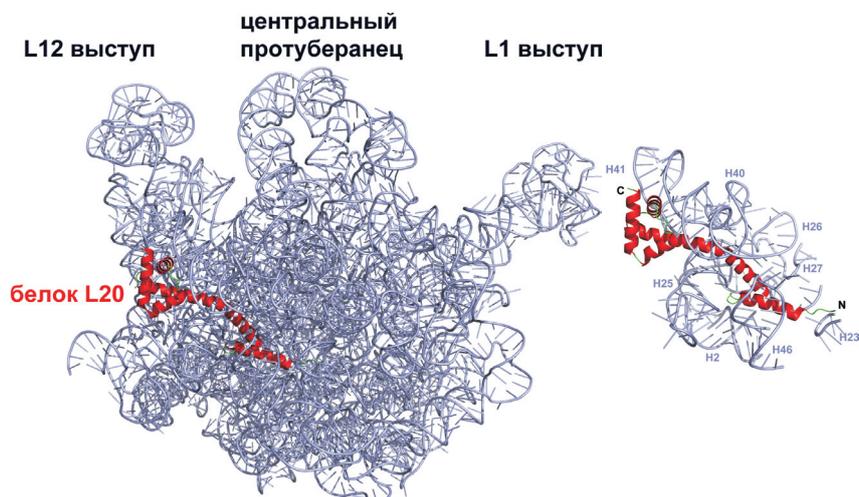


Рис. 10. Расположение рибосомного белка L20 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Вид со стороны «растворителя». Справа – увеличенная область связывания белка L20 на 50S субчастице рибосомы. Обозначены спирали 23S рРНК.

рРНК с одной стороны белка и спиралями H25–H27 с другой стороны белка (рис. 10). Однако, аминокислотные остатки спиралей $\alpha 3$ и $\alpha 4$ также формируют ряд контактов с сахарофосфатным остовом спирали H41 23S рРНК, так что нельзя говорить об отсутствии контактов С-концевого домена белка L20. Анализ взаимодействия белка L20 с рРНК показывает, почему белок важен для сборки большой рибосомной субчастицы: он позволяет нейтрализовать отрицательные заряды фосфатов 23S рРНК и собрать её удаленные по последовательности домены вместе [61, 65].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L23

Рибосомный белок L23 связывается на первых этапах сборки большой рибосомной субчастицы с третьим доменом 23S рРНК [10, 49]. На 50S рибосомной субчастице он располагается возле выхода растущей полипептидной цепи с внешней стороны рибосомы (рис. 2). Имеются данные об его взаимодействии в составе рибосомы с триггер-фактором [66] и signal recognition particle [67, 68] и считается, что белок L23 может участвовать в процессе сворачивания растущей полипептидной цепи [66].

Известна его пространственная структура в свободном состоянии, определённая методом ЯМР (рис. 11) [69]. Он относится к классу

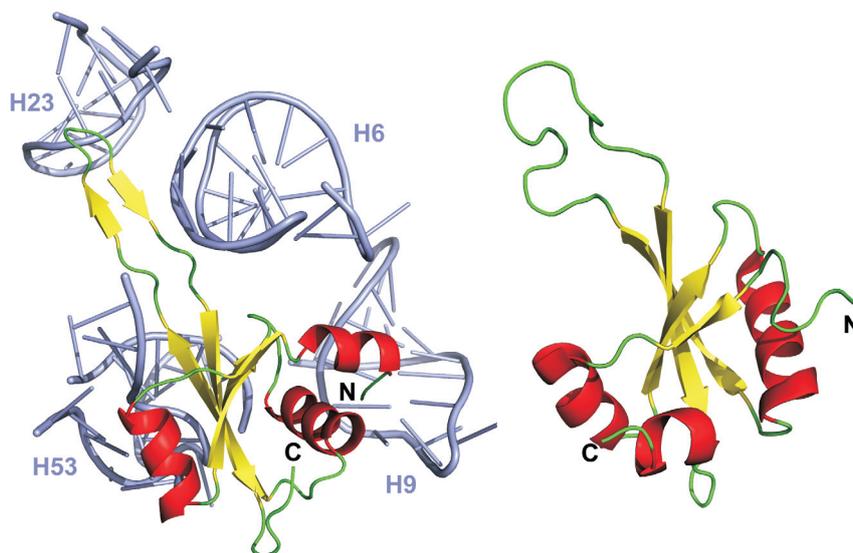


Рис. 11. Расположение рибосомного белка L23 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 23S рРНК. Справа – схематическое представление структуры белка L23 из *T. thermophilus*, полученной методом ЯМР (PDB 1N88).

трехслойных $\alpha+\beta$ белков, выделенных в отдельное семейство (SCOP 54189). Структура белка L23 консервативна и связывание его с 23S рРНК не приводит к заметному изменению его структуры.

В составе рибосомной субчастицы белок взаимодействует с сахарофосфатным остовом спиралей H6, H9, H23 и H53 23S рРНК (рис. 11). Белок взаимодействует с 23S рРНК преимущественно областью длинной петли и прилегающей к ней концами β -тяжей, а также остатками спирали $\alpha 2$ (формирует контакты с сахарофосфатным остовом спирали H53 рРНК). В целом, аминокислотные остатки белка взаимодействуют преимущественно с сахарофосфатным остовом 23S рРНК.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L24

Рибосомный белок L24, наряду с белком L3, является инициаторным белком сборки 50S бактериальной рибосомной субчастицы [44, 70]. Он взаимодействует с 5'-концом 23S рРНК, где формирует ядро сворачивания большой рибосомной субчастицы [10]. В структуре 50S рибосомной субчастицы *E. coli* белок L24, наряду с белком L23, располагается в области выхода полипептидной цепи и взаимодействует со спиралью H7, H18-H20 и H24 (рис. 12) [70, 71].

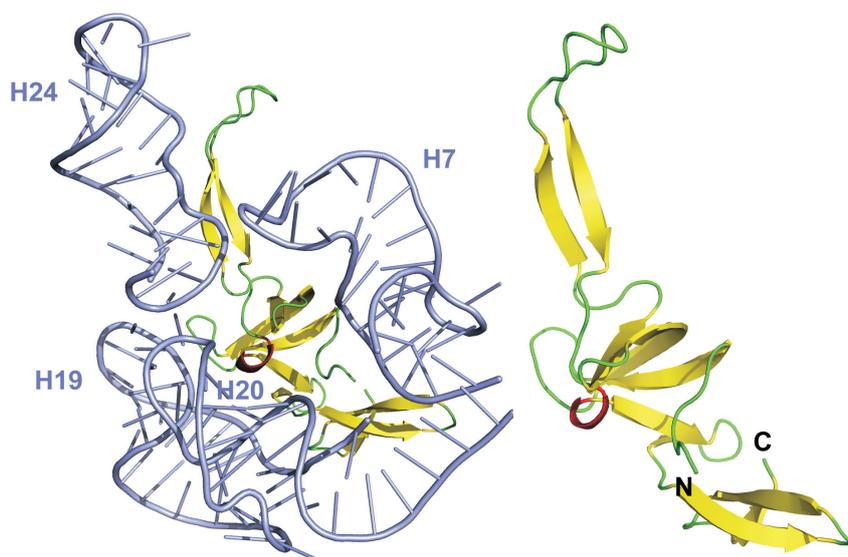


Рис. 12. Расположение рибосомного белка L24 относительно 23S рРНК в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 23S рРНК. Справа – схематическое представление структуры белка L24 в составе рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8).

Структура белка в свободном состоянии получена не была. В составе рибосомы – это β -белок с укладкой цепи типа SH3-бочонок центральной части белка (SCOP 50105) (рис. 12). Интересно, что в белке L24 N- и C-концы белка находятся в одном домене, а остальная часть полипептидной цепи формирует отдельные домены или вытянутые петли. Аналогичная архитектура наблюдается для рассмотренных выше рибосомных белков L1, L3, L4 и L23. Можно только предполагать, что такое расположение элементов вторичной структуры белка в пространстве способствует формированию стабильного «ядра» белка, а «удлинения» позволяют «дотягиваться» до удаленных от основного места взаимодействия участков 23S рРНК, таким образом, способствуя правильному сворачиванию рРНК при сборке рибосомы.

Анализ контактов аминокислотных остатков белка L24 с 23S рРНК показывает, что белок взаимодействует преимущественно с атомами сахарофосфатного остова двуцепочечных участков рРНК.

V. 5S рРНК СВЯЗЫВАЮЩИЕ РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ 50S РИБОСОМНОЙ СУБЧАСТИЦЫ

Наряду с большой 23S рРНК (2904 нуклеотидов в *E. coli*) в бактериальной 50S рибосомной субчастице присутствует небольшая, всего 120 нуклеотидов, 5S рРНК [72]. С этой рРНК связываются три рибосомных белка: L5, L18 и L25 [73] (по новой номенклатуре – белки uL5, uL18, bL25 соответственно [6]). Вместе они формируют центральный протуберанец 50S рибосомной субчастицы, который занимает важное место в функционировании рибосомы (рис. 2) [74, 75].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L5

Рибосомный белок L5 связывается с «петлей С», которая «закрывает» спираль III 5S рРНК [76]. Его рРНК связывающие свойства значительно усиливает присутствие белка L18 на 5S рРНК [77, 78]. Белок L5 взаимодействует со спиралью H84-H85 23S рРНК, обеспечивая присоединение 5S рРНК – белкового комплекса к большой рибосомной субчастице (рис. 13а) [9, 79].

В составе 70S рибосомы белок L5 контактирует с белком S13 малой рибосомной субчастицы на стадии инициации трансляции, причем по данным моделирования динамики 70S рибосомы, этот контакт изменяется при связывании фактора элонгации EF-G [42]. Сравнение двух структур 70S рибосомы *E. coli*, полученных независимо друг от друга методами РСА при разрешении 3,5Å, подтвердило динамический характер контактов белков L5, S13 и S19 [80].

Белок L5 контактирует с тРНК в Р-сайте и, совместно с 5S рРНК и другими ассоциированными с ней белками, способствует позиционированию тРНК в этом участке рибосомы [78, 80, 81].

Структура белка L5 из *B. stearothermophilus* определена в свободном состоянии в 2001 году [82], а несколько позже, в 2003 году, была опубликована структура комплекса белка L5 *T. thermophilus* с фрагментом 5S рРНК *E. coli* (рис. 13) [83]. Сравнение структур белка L5 в свободном состоянии, в комплексе с фрагментом 5S рРНК и в составе рибосомы показывает неизменность пространственной структуры белка [83]. Исключением являются небольшие подвижные части белка, например, в составе рибосомы *E. coli* белок образует с 5S рРНК дополнительные контакты за счет аминокислотных остатков спирали $\alpha 1$ [83].

Белок L5 относится к $\alpha+\beta$ белкам с антипараллельным β -листом и принадлежит к суперсемейству белков RL5-like (SCOP 55282). Укладка элементов вторичной структуры в пространстве белка L5 схожа с RNP-доменом (рибонуклеопротеин-доменом) [83], который

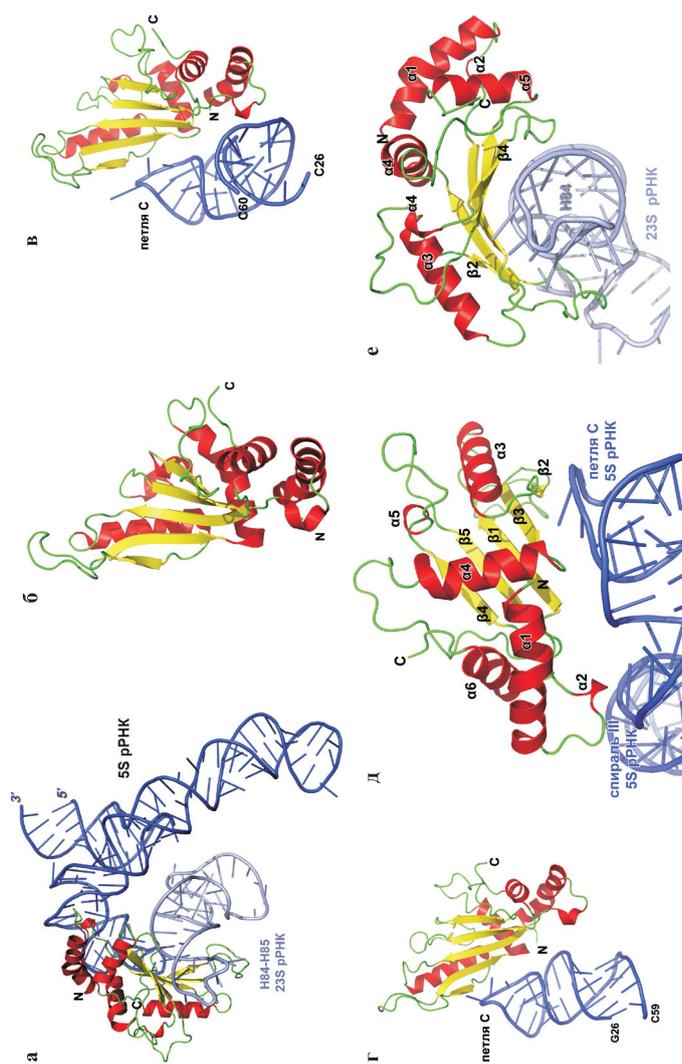


Рис. 13. (а) Область взаимодействия рибосомного белка L5 с 5S рРНК и 23S рРНК в составе рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). (б) Структура белка L5 из *B. stearotherophilus* в свободном состоянии, определенная методом рентгеноструктурного анализа (PDB ID 1IQ4). (в) Область контакта белка L5 *E. coli* с 5S рРНК (с 26 по 60 нуклеотиды) в составе рибосомы (PDB 5IT8). Указана петля C 5S рРНК. (г) Структура комплекса белка L5 *T. thermophilus* с фрагментом 5S рРНК *E. coli* (PDB ID 1MJ1). Ориентация белка L5 на рисунках (б), (в) и (г) одинаковая. (д) Область контакта белка L5 *E. coli* с 5S рРНК (PDB 5IT8). (е) Область контакта белка L5 с 23S рРНК (PDB 5IT8).

связывается с молекулами РНК поверхностью β -листа. В рибосоме белок L5 реализует контакты с 5S рРНК аминокислотными остатками петли $\alpha 1$ - $\alpha 2$, тяжа $\beta 2$ и торца спирали $\alpha 4$ (рис. 13д). Таким образом, 5S рРНК примыкает к торцу β -листа. Особенность этого взаимодействия заключается в том, что белок L5 формирует много контактов боковых цепей аминокислотных остатков с атомами оснований нуклеотидов. Это можно объяснить тем, что сайт связывания белка L5 включает в себя не только двуспиральный участок 5S рРНК, но и петлю С, которая по своей сути является участком одноцепочечной рРНК открытой для внешних контактов.

С 23S рРНК белок L5 взаимодействует поверхностью β -листа, что наиболее характерно для RNP-доменов (рис. 13е) [83]. Следует отметить, что число контактов белка с 23S рРНК несколько больше, чем с 5S рРНК. Эти два пункта хорошо соответствуют данным, о важной роли белка L5 для присоединения 5S рРНК – белкового комплекса к остальной части большой рибосомной субчастице [78, 82].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L18

Как уже упоминалось выше, белок L18 значительно усиливает сродство белка L5 к 5S рРНК [77, 78]. Считается, что L5 и L18 связываются с 5S рРНК кооперативно [84]. Как видно из рисунка 14а, оба белка взаимодействуют с областью спирали III и петли С 5S рРНК, поэтому кооперативный характер связывания белков L5 и L18 с 5S рРНК не является неожиданным.

Структура белка L18 из *T. thermophilus* в свободном состоянии была определена методом ЯМР в 2002 г. [85], а двумя годами позже определена структура белка из *B. stearothermophilus* [86]. Белок относится к трехслойным α/β белкам рибонуклеаза Н-подобного типа (SCOP 53138). В обоих структурах белка L18 не было идентифицировано по 20 N-концевых аминокислотных остатков, которые в растворе в свободном состоянии не имеют вторичной структуры (рис. 14). В составе рибосомы N-концевая часть белка приобретает структуру α -спирали и взаимодействует с доменом V 23S рРНК, включая соединение спиралей (junction) H83-H85 и спираль H87 (рис. 14в). С этой областью рРНК также контактирует боковая часть тяжа $\beta 4$ и примыкающая к ней петля. С 5S рРНК белок L18 имеет намного более обширную область контакта, включая поверхность β -листа, взаимодействующую со спиралью I 5S рРНК, и торцевую часть всех α -спиралей, взаимодействующих с петлями В и С спирали III 5S рРНК (рис. 14б). Сравнивая взаимодействия белков L5 и L18 с 5S рРНК и 23S рРНК, можно видеть, что оно как бы «зеркальное»: белок L18 имеет больше контактов с 5S рРНК и взаимодействует с ней

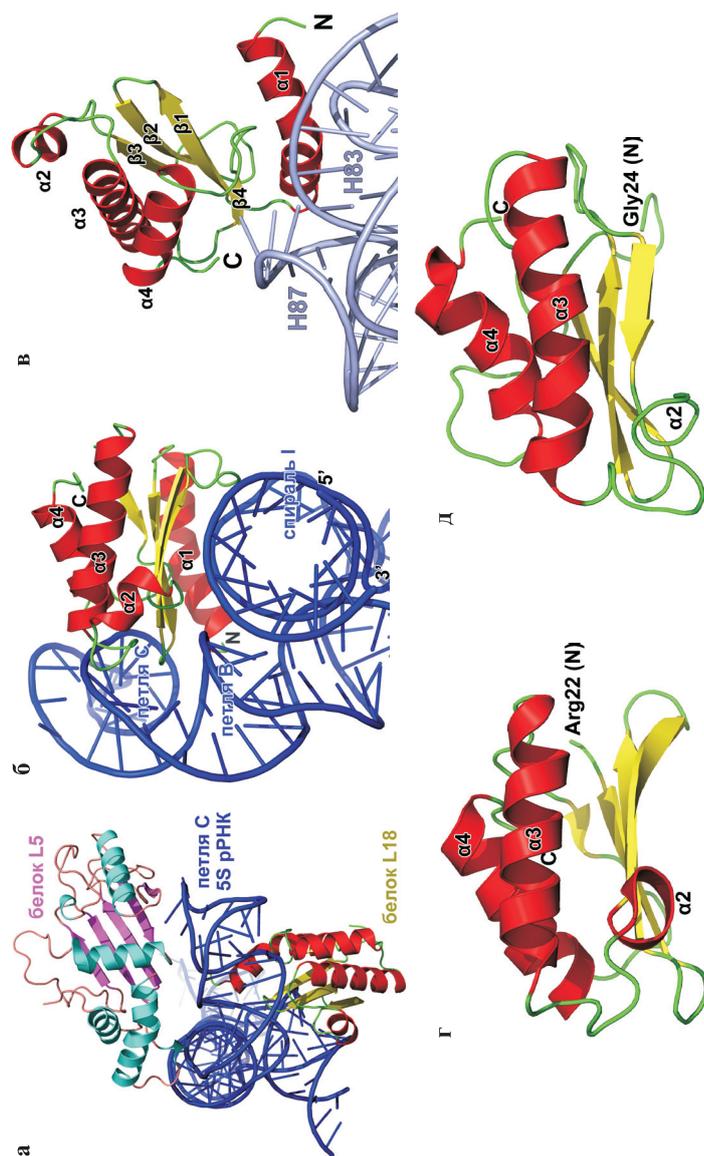


Рис. 14. (а) Схематическое представление расположения рибосомных белков L5 и L18 на 5S рРНК в составе рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). (б) Область контакта белка L18 с 5S рРНК. (в) Область контакта белка L18 с 23S рРНК. (г) Структура белка L18 из *T. thermophilus* в свободном состоянии, определенная методом ЯМР (PDB 1IU7). Обозначен N-концевой остаток структуры – Arg22. (д) Структура белка L18 из *B. stearotherophilus* в свободном состоянии, определенная методом ЯМР (PDB 1OVY). Обозначен N-концевой остаток структуры – Gly24.

β -листом, а белок L5 взаимодействует β -листом с 23S рРНК и имеет с ней больше контактов, чем с 5S рРНК. Причем белок L18 связывает две пространственно-удаленных спирали 5S рРНК – I и III, что должно стабилизировать их взаимное расположение и способствовать стабилизации трехмерной структуры 5S рРНК на рибосоме [87]. Эти структурные особенности взаимодействий белков с рРНК хорошо соответствуют определенным ранее функциям L5 и L18 при сборке рибосомы [75, 78, 84, 85, 88].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК L25/TL5

Третий 5S рРНК-связывающий белок – L25. Он связывается с 5S рРНК независимо от белков L5 и L18, и не требуется для присоединения 5S рРНК – белкового комплекса к 23S рРНК [77, 89]. Белок L25 взаимодействует с областью «петли E» 5S рРНК, расположенной между спиралями IV и V, максимально удаленной от участка связывания белков L5 и L18 (рис. 2) [73, 90]. В отличие от белков L5 и L18, белок L25 не является необходимым для выживания клеток [73, 79]. Его функция на рибосоме не совсем ясна, хотя предполагается, что белок L25 может участвовать в стабилизации и нормальной работе функциональных центров 50S субчастицы рибосомы бактерий, таких как А-сайт и Р-сайт [73, 91].

Структура белка L25 из *E. coli* определена в свободном состоянии методом ЯМР (рис. 15) [92] и PCA в комплексе с фрагментом 5S рРНК [93]. По классификации SCOP белок L25 относится к β -белкам с топологией β -бочонок (SCOP 50714), хотя в своем составе имеет три α -спирали. В комплексе L25-5S рРНК белок взаимодействует с сахарофосфатным остовом петли E и распознает её характерную пространственную структуру [93]. Со стороны белка в контакты вовлечены аминокислотные остатки поверхности β -листа и спирали $\alpha 1$ (рис. 15).

Годом позже структура комплекса L25-5S рРНК опубликована структура комплекса фрагмента 5S рРНК с белком TL5 из *T. thermophilus*, N-концевой домен которого является гомологом белка L25 (рис. 15г) [94]. Показано, что белок TL5 может функционально заменять белок L25 в реконструированных рибосомах *E. coli* [95]. В полученном комплексе только N-концевой домен взаимодействует с фрагментом 5S рРНК, а С-концевой домен не имеет контактов с РНК. Интересной особенностью N-концевого домена белка TL5 является то, что спираль $\alpha 1$ имеет меньше витков по сравнению с белком L25 *E. coli*, вследствие чего эта α -спираль почти не имеет контактов с 5S рРНК. Это приводит к тому, что за узнавание фрагмента РНК отвечают только аминокислотные остатки поверхности β -листа N-концевого домена белка TL5.

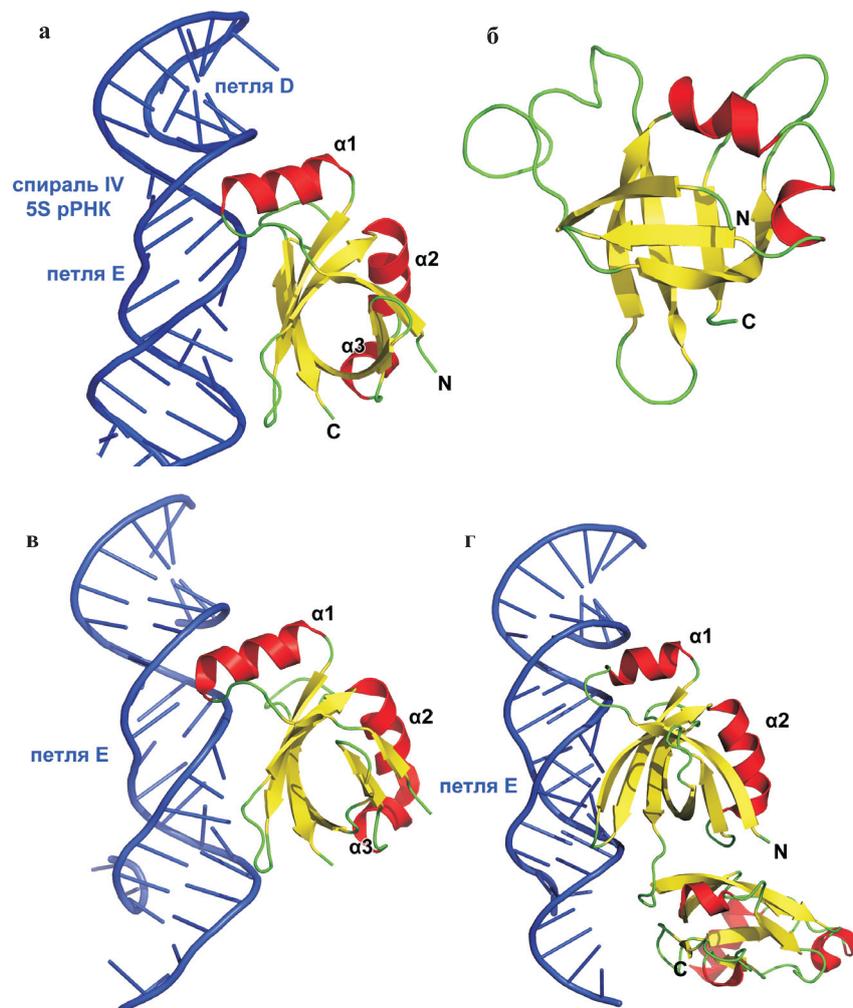


Рис. 15. (а) Схематическое представление расположения рибосомного белка L25 на 5S рРНК в составе рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). (б) Структура белка L25 из *E. coli* в свободном состоянии, определенная методом ЯМР (PDB 1B75). (в) Структура белка L25 из *E. coli* в комплексе с фрагментом 5S рРНК (PDB 1DFU). (г) Структура комплекса белка TL5 из *T. thermophilus*, N-концевой домен которого является гомологом белка L25, в комплексе с фрагментом 5S рРНК (PDB 1FEU).

VI. 16S рРНК СВЯЗЫВАЮЩИЕ РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ 30S РИБОСОМНОЙ СУБЧАСТИЦЫ

16S рРНК почти в два раза меньше 23S рРНК по количеству составляющих её нуклеотидов: в рибосомах *E. coli* это соответственно 1542 нт. и 2904 нт. [96]. Число первично-связывающихся с 16S рРНК рибосомных белков также меньше – это белки S4, S7, S8, S15, S17 и S20 (рис. 16).

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК S4

Белок S4 – один из двух инициаторных белков 30S рибосомной субчастицы [97]. Он связывается с 16S рРНК и служит ядром сворачивания «тела» малой рибосомной субчастицы [97–99]. Место связывания белка S4 располагается на соединении пяти спиралей (H3, H4, H16, H17 и H18) начала 5'-домена 16S рРНК, причем белок контактирует с сахарофосфатным остовом трех из них (рис. 17), а также непосредственно с 5'-концом 16S рРНК и нуклеотидами оконечной петли спирали H21 [97, 100]. Такое ключевое расположение белка S4 хорошо согласуется с биохимическими данными по химическим модификациям оснований и защиты сахарофосфатного остова 16S рРНК [101].

Структура белка S4 из бактерии *B. stearothermophilus* в свободном состоянии была определена методом РСА [102] и методом ЯМР [103] (рис. 17). В обоих случаях использовался белок без первых 41 N-концевых аминокислот, поскольку они не упорядочены в растворе. В составе 30S рибосомной субчастицы N-концевая часть белка частично структурирована и имеет две небольших α -спирали.

Белок S4 состоит из двух доменов, причем второй домен является вставкой в первый, что достаточно часто встречается среди рибосомных белков. Первый домен полностью α -спиральный; второй относится к $\alpha+\beta$ доменам и состоит из пяти-тяжевого антипараллельного β -листа с тремя α -спиралями, расположенными с одной из его сторон. Укладку элементов структуры второго домена можно отнести к семейству α -L РНК-связывающего домена (SCOP 55174).

С 16S рРНК белок взаимодействует аминокислотными остатками четырех α -спиралей первого и второго доменов, а также двух α -спиральных участков «неупорядоченной» N-концевой части белка. Они контактируют с атомами сахарофосфатного остова 16S рРНК и имеют единичные контакты с атомами оснований нуклеотидов. Аминокислотные остатки β -листа не принимают участие во взаимодействии с 16S рРНК.

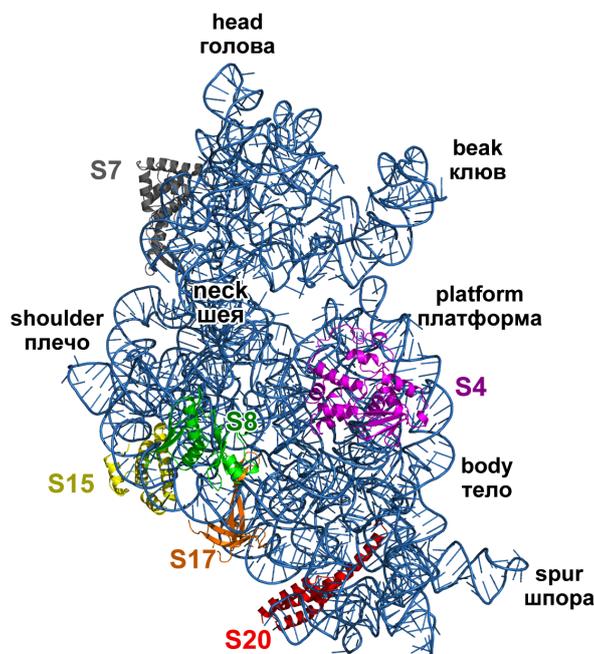


Рис. 16. Схематическое представление расположения рибосомных белков S4, S7, S8, S15, S17 и S20 на 30S рибосомной субчастице *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены основные морфологические детали малой рибосомной субчастицы.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК S7

Рибосомный белок S7 – второй инициаторный белок малой рибосомной субчастицы; его связывание с 16S рРНК приводит к сборке «головы» 30S субчастицы [97]. Белок располагается в области интерфейса рибосомных субъединиц возле декодирующего центра 30S субъединицы, где, как было показано, взаимодействует с мРНК [104]. Кроме того, имеются данные, что S7 контактирует с тРНК в Р и Е сайтах [105].

Место связывания белка S7 на 16S рРНК располагается в области соединения трех спиралей 16S рРНК – H28, H29 и H43, и недалеко расположенную от неё спираль H41 (рис. 18а). N-концевые аминокислотные остатки белка имеют единичные контакты с петлями спирали H37 в структуре рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Белок контактирует с сахарофосфатным остовом 16S рРНК преимущественно за счет аминокислотных остатков α -спиралей. Длинный

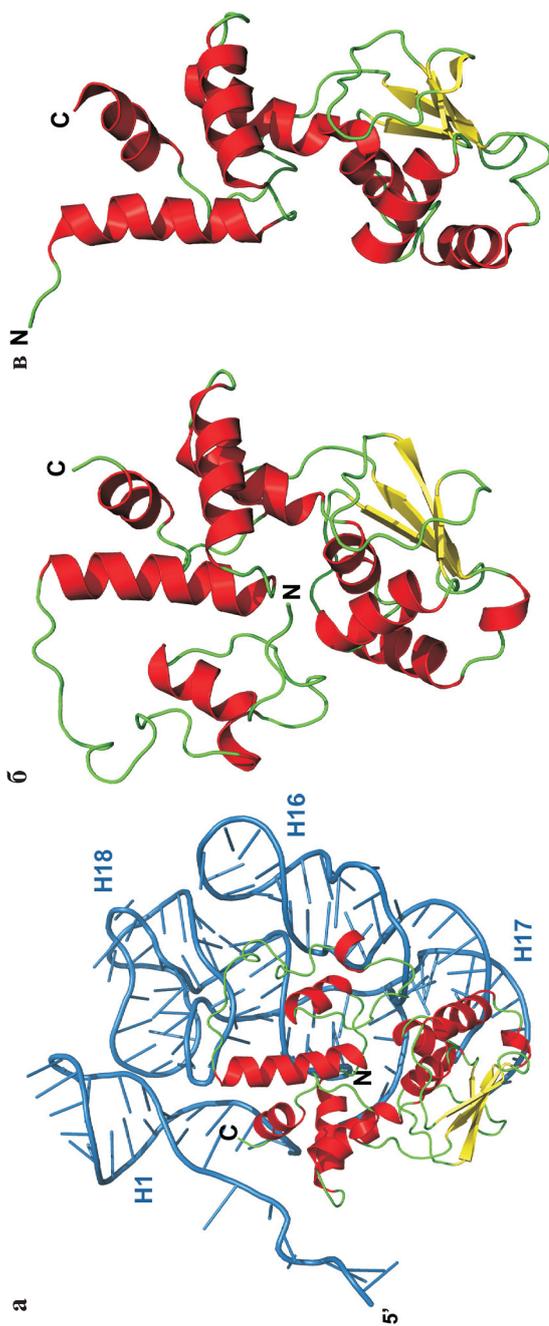


Рис.17. (а) Область связывания белка S4 на 30S субчастице рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены 5'-конец и спирали 16S рРНК. (б) Структура белка S4 из *E. coli* в составе рибосомы (PDB 5IT8). (в) Структура белка S4 из *B. stearothermophilus* в свободном состоянии, определенная методом ЯМР (PDB 1C05).

N-конец белка располагается вдоль желобка спирали H43 рРНК и формирует область контактов с ней. Небольшая β -шпилька белка имеет всего пару контактов с рРНК. В целом, взаимодействие белка S7 с 16S рРНК имеет уникальный характер: нельзя сказать, что α -спирали белка укладываются в желобки спиралей РНК, β -шпилька небольшая и не образует поверхность, контактирующую со спиралью РНК. По всей видимости, это обусловлено сложной пространственной структурой 16S рРНК, которая специфически узнается белком S7.

Структура белка S7 в свободном состоянии из *B. stearothermophilus* [106] и из *T. thermophilus* [107] определена в 1997 году (рис. 18). Белок S7 классифицирован как полностью α -структурный белок из 5 α -спиралей с дополнительной α -спиралью и β -шпилькой вне ядра белка (SCOP 47974). При сравнении структуры белка S7 в свободном состоянии и в составе рибосомы видно, что она не претерпевает заметных изменений при взаимодействии с 16S рРНК.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК S8

Рибосомный белок S8 напрямую взаимодействует с центральным доменом 16S рРНК и координирует сборку «платформы» 30S субъединицы с участием белков S5 и S12 [108, 109]. На рибосоме он взаимодействует с консервативным участком спирали H21, связываясь с сахарофосфатным остовом двуцепочечной РНК, контактирует с прилегающей спиралью H20, а также имеет обширные контакты со спиралью H25 16S рРНК (рис. 19а) [101, 110]. Таким образом, белок S8 стабилизирует пространственную укладку этого участка платформы 30S рибосомной субъединицы.

Было показано, что небольшой фрагмент спирали H21 16S рРНК достаточен для связывания белка S8 [111, 112]. В 2001 г. опубликована структура комплекса архейного белка S8 с соответствующим фрагментом 16S рРНК из *Methanococcus jannaschii* (рис. 19б) [113]. Полученная структура показала, что белок взаимодействует с малым желобком спирали РНК, причем белок образует «мостик» между витками спирали РНК, взаимодействуя двумя доменами с двумя участками РНК. Также установлено, что большая часть контактов между консервативными аминокислотными остатками и нуклеотидами сосредоточена в С-концевом домене белка [113].

В 2014 году эти выводы подтверждены структурными исследованиями комплекса белка S8 из *Bacillus anthracis* с РНК-аптамерами [114]. В ходе работы также показано, что нуклеотиды исследуемых РНК-аптамеров в свободном состоянии образуют множественные неканонические пары, а при связывании с белком S8 исследуемые РНК приобретают «классический S8-узнаваемый фолд» с измене-

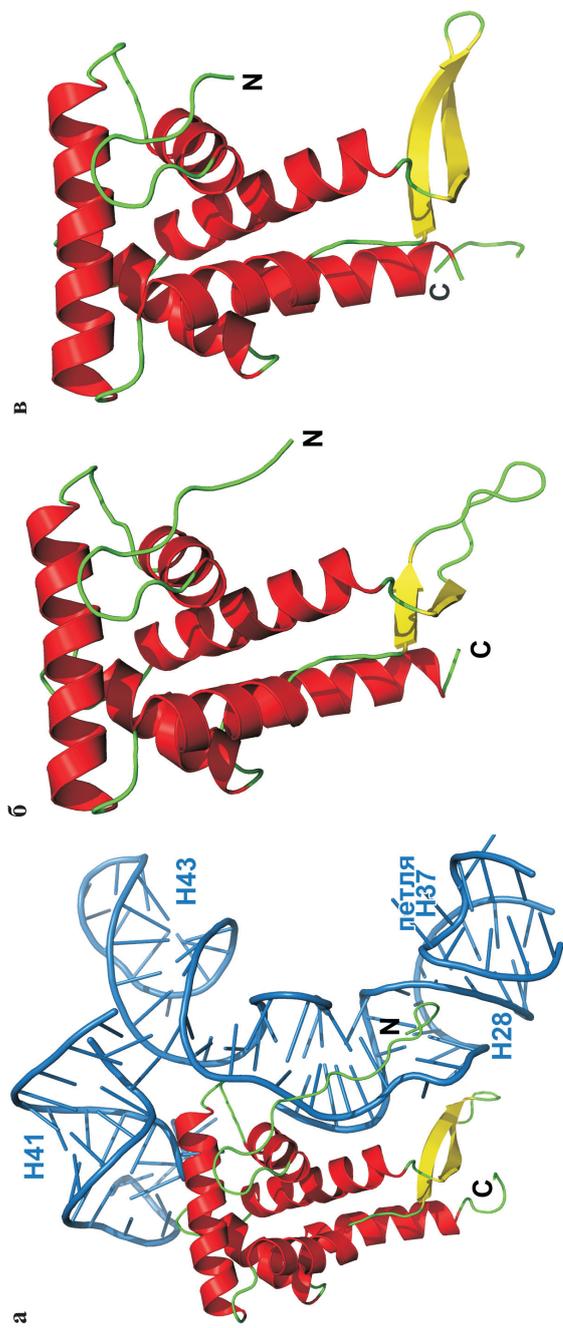


Рис. 18. (а) Область связывания белка S7 на 30S субчастице рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 16S рРНК. (б) Структура белка S7 из *B. stearothermophilus* в свободном состоянии (PDB 1HUS). (в) Структура белка S7 из *T. thermophilus* в свободном состоянии (PDB 1RSS).

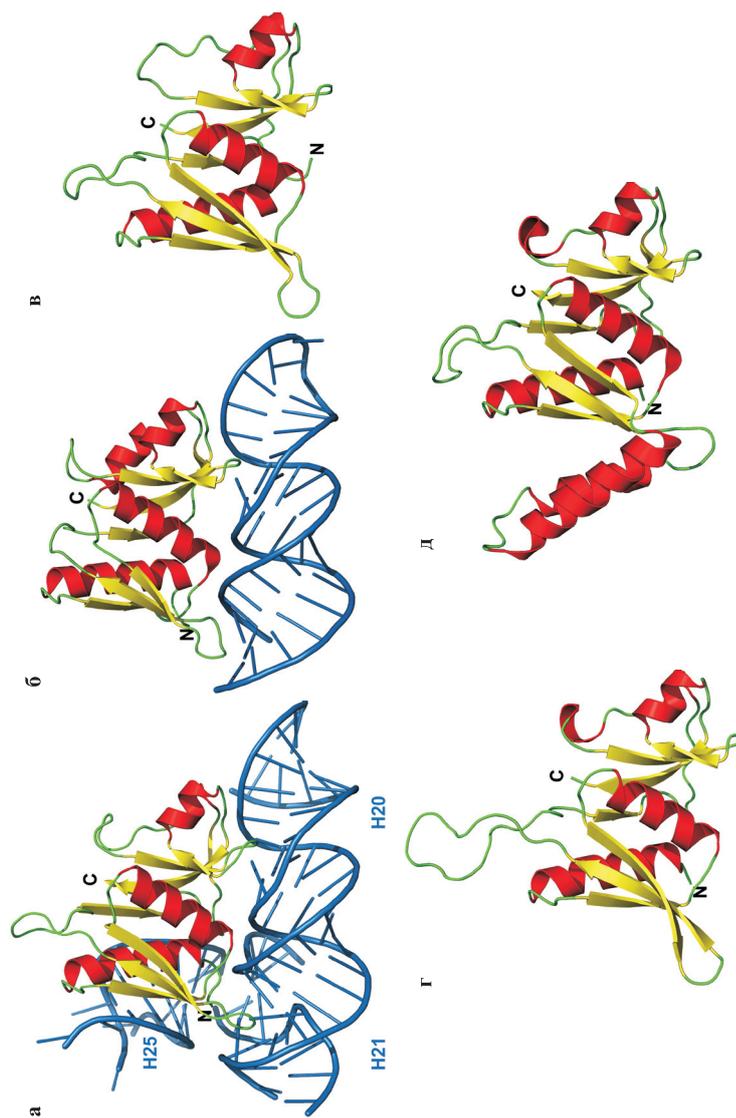


Рис. 19. (а) Область связывания белка S8 на 30S субчастице рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 16S рРНК. (б) Структура комплекса белка S8 из археи *Methanococcus jannaschii* в комплексе с фрагментом 16S рРНК (PDB 116U). (в) Структура белка S8 из *B. stearotherophilus* в свободном состоянии (PDB 1SE1). (г) Структура белка S8 из *T. thermophilus* в свободном состоянии (PDB 1AN7). (д) Структура белка S8 из *Aquifex aeolicus* в свободном состоянии (PDB 3RF2).

нием взаимодействия оснований аптамеров. Был сделан вывод, что белок S8 может изменять вторичную и третичную структуру РНК при связывании [114].

Структура белка в свободном состоянии определена неоднократно: из *B. stearothermophilus* – в 1996 г. [115], из *T. thermophilus* – в 1998 г. [116], из *Aquifex aeolicus* – в 2012 г. [117] (рис. 19). Белок S8 состоит из двух доменов и относится к классу $\alpha+\beta$ белков. Расположение элементов вторичной структуры относится к четырехслойной структуре b/a/b/a с двумя субдоменами и по классификации SCOP выделено в отдельное семейство (SCOP 56048). Следует отметить, что белок S8 из *Aquifex aeolicus* имеет две дополнительные α -спирали в N-концевом домене (рис. 19д), которые значительно повышают сродство белка к 16S рРНК в области соединения спиралей H20, H21 и H22 [117].

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК S15

Рибосомный белок S15 связывается с 16S рРНК вблизи от белка S8 и также участвует в сборке платформы 30S рибосомной субчастицы [42, 80]. Кроме того, белок S15 в 70S рибосомах *E. coli* контактирует с 23S рРНК 50S субчастицы, формируя межсубъединичный мостик B4 [42].

В составе 30S субчастицы белок S15 располагается вдоль спирали H22 16S рРНК и образует большое число контактов с её сахарофосфатным остовом (рис. 20). Одновременно белок областями противоположных концов спиралей $\alpha 2$ и $\alpha 3$ стабилизирует два тройных сочленения спиралей: первый участок – спирали H20-H21-H22, второй участок – спирали H23a-H22-H23. В результате, белок S15 играет определяющую роль в формировании пространственной структуры центрального домена 16S рРНК в области спирали H22 [118, 119].

Структура белка S15 из *T. thermophilus* в комплексе с фрагментом 16S рРНК показала, что белок стабилизирует взаимную ориентацию трех спиралей 16S рРНК – спирали H22 с примыкающей к ней фрагментами спиралей H20 и H21 – благодаря взаимодействию с сахарофосфатным остовом (рис. 20б) [118]. Одновременно с этой структурой была опубликована структура комплекса большего фрагмента 16S рРНК в комплексе с белками S6, S15 и S18, которая показала точную картину формирования центрального домена 16S рРНК в составе 30S субчастицы (рис. 20в) [119]. До настоящего момента этот комплекс является самой большой структурой фрагмента рРНК в комплексе с несколькими рибосомными белками.

Структура S15 в свободном состоянии определена для белка из *T. thermophilus* (рис. 20г) [120] и для белка из *B. stearothermophilus* (рис. 20д) [121]. Белок принадлежит к классу полностью α -спиральных белков, причем белок S15 выделен в семейство S15/NS1 РНК-

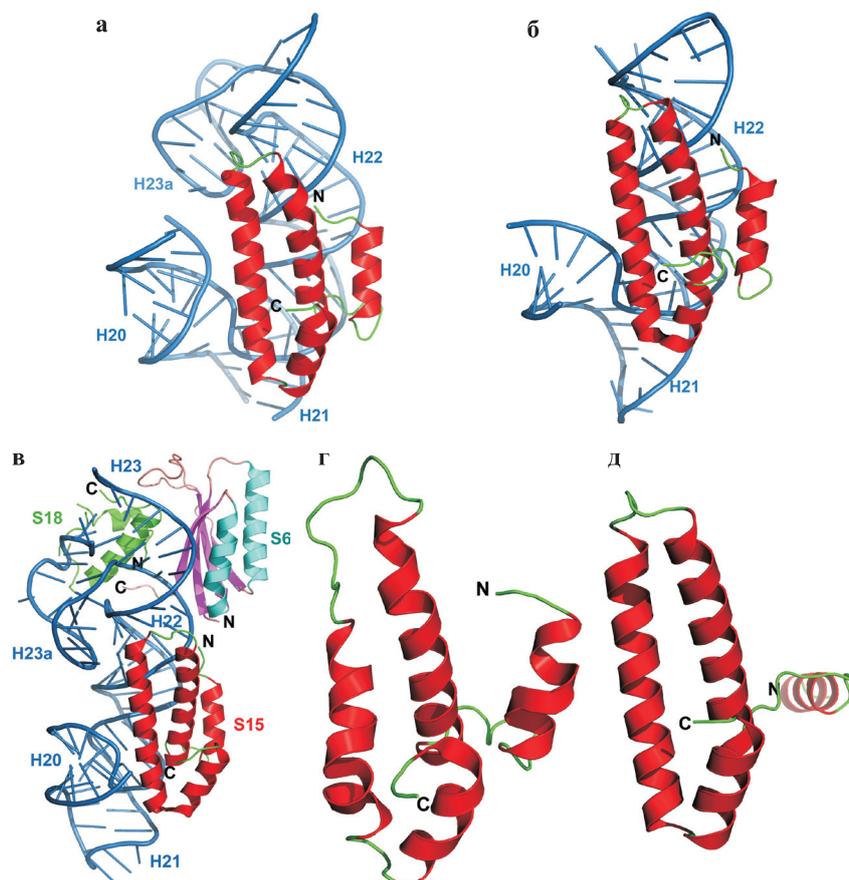


Рис. 20. (а) Область связывания белка S15 на 30S субчастице рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Обозначены спирали 16S рРНК. (б) Структура комплекса белка S15 *T. thermophilus* в комплексе с фрагментом 16S рРНК (PDB 1DK1). (в) Структура комплекса белков S6, S15 и S18 из *T. thermophilus* с фрагментом 16S рРНК (PDB 1G1X). (г) Структура белка S15 из *T. thermophilus* в свободном состоянии, определенная методом ЯМР (PDB 1AB3). (д) Структура белка S15 из *B. stearothermophilus* в свободном состоянии (PDB 1A32).

связывающих белков с нерегулярной упаковкой трех α -спиралей и дополнительной N-концевой α -спиралью (SCOP 47064). Действительно, сравнение структур белка S15 показывает подвижность N-концевой α -спирали относительно трех остальных спиралей белка, что особенно заметно для структуры белка из *B. stearothermophilus*.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК S17

Рибосомный белок S7 специфически связывается с 5'-концевым доменом 16S рРНК в области спирали H11 [108] и стабилизирует область соединения спиралей H6, H6a, H7, H11 и H12 [100]. Белок S17 на 30S рибосомной субчастице находится рядом с первично-связывающими белками S7 и S15 и петлями «достаёт» до удалённых от спирали H11 частей 16S рРНК (рис. 21). Он имеет единичные контакты с участками спиралей H7, H12, H20, H21 и H44.

Белок S17 играет существенную роль в определении точности трансляции, поскольку аминокислотные замены в белке приводят к устойчивости к антибиотику неамицину, что, в свою очередь, уменьшает неправильное прочтение мРНК (misreading) *in vitro* [122, 123].

Структура белка в свободном состоянии была определена методом ЯМР в 1993 году [124], тогда же была установлена его принадлежность к полностью β -структурным белкам. С этой записью в банке данных PDB связан необычный казус, поскольку депонированная структура белка S17 оказалась зеркальным отображением реальной структуры белка.

Структурно белок S17 относится к полностью β -белкам с широко распространённой супервторичной структурой типа ОВ-фолд. Его структура представляет собой β -бочонок семейства «Cold shock DNA-binding domain-like» (ДНК-связывающий домен холодового шока, семейство SCOP 50282). Несмотря на свое сходство с данным классом белков, практически все контакты с 16S рРНК белок образует аминокислотными остатками петель между β -тяжами, а остатки β -листа имеют небольшое число контактов с РНК.

РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК S20

Рибосомный белок S20 присутствует только в бактериальных рибосомах [6]. Он связывается с 16S рРНК в районе её 5'-конца независимо от других бактериальных рибосомных белков [7, 8], причём возможно два альтернативных места первоначальной посадки белка на рРНК [125]. Имеются данные, что присутствие белка S20 стабилизирует участок спиралей H6, H7, H8, H9, H11 и H13 16S рРНК [100]. В составе рибосомы белок S20 занимает положение между указанными выше спиральями, но также контактирует с функционально важной спиралью H44 16S рРНК (рис. 22). Отсутствие белка S20 на рибосоме приводит к значительному уменьшению скорости связывания мРНК рибосомой, а также к уменьшению сродства 30S рибосомной субчастицы и 50S, что приводит к уменьшению выхода целых 70S рибосом *in vitro* [126, 127]. Отсутствие белка S20 сказывается на возможности

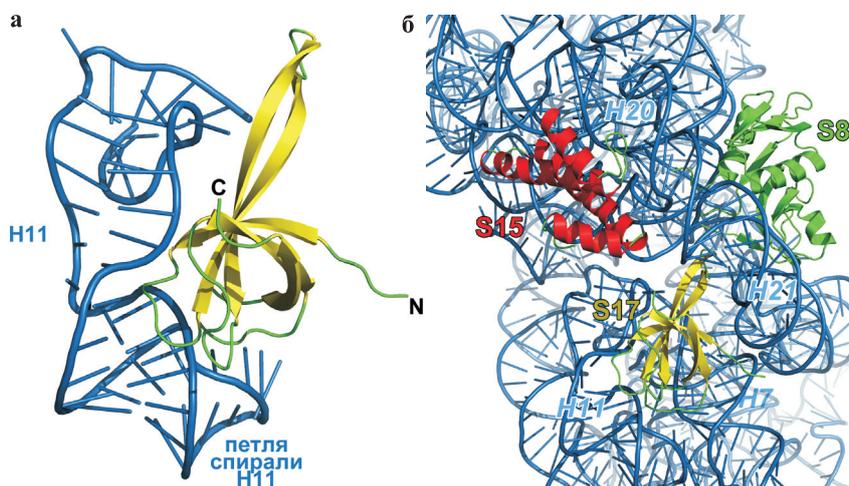


Рисунок 21. (а) Область контакта белка S17 со спиралью H11 16S рРНК в составе рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). (б) Область связывания белков S8, S15 и S17 на 30S субчастице рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Указаны спирали 16S рРНК.

формирования инициаторного комплекса 30S – fMet-тРНК – мРНК [128]. Делеционные по гену белка S20 штаммы бактерий растут значительно медленнее [126]. Таким образом, белок S20 играет существенную роль в функционировании малой рибосомной субчастицы.

Рибосомный белок S20 небольшой, меньше 90 аминокислотных остатков. Структура белка в свободном состоянии не известна. Белок относится к α -спиральным и содержит три α -спирали с укладкой типа «спектрин-подобной»; в классификации SCOP выделен в отдельное суперсемейство белков (SCOP 46992).

С 16S рРНК белок S20 взаимодействует аминокислотными остатками α -спиралей, при этом они не укладываются в желобки РНК, а располагаются как бы в стороне от них. Например, вторая и третья α -спирали белка контактируют со спиралью H9 16S рРНК парой, находясь наиболее близко от «гребней» сахарофосфатного остова (рис. 22).

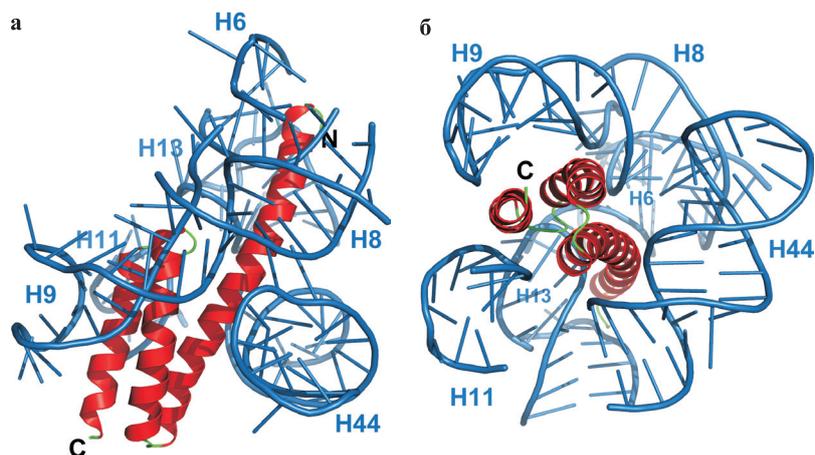


Рис. 22. Область контакта белка S20 с 16S рРНК в составе рибосомы *E. coli* (PDB 5IT8). Слева – ориентация α -спиралей белка «сверху-вниз», справа – «с торца».

VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассматривая совокупность структурных данных по взаимодействию первично-связывающихся с рибосомными РНК рибосомных белков можно отметить, что они узнают и связывают двуспиральные участки РНК. При этом, взаимодействие идет, как правило, между боковыми цепями консервативных аминокислотных остатков с атомами сахаро-фосфатного остова РНК, то есть, представляет собой классический случай узнавания специфической пространственной укладки РНК. Взаимодействие остатков белков с атомами оснований нуклеотидов занимают незначительное место и характерны для участков петель рРНК, где нуклеотиды могут быть неспаренными и открыты для внешних контактов.

Второй особенностью взаимодействий рибосомные белки – рибосомные РНК является множественность контактов первично связывающихся рибосомных белков. Благодаря этому происходит стабилизация пространственной укладки 5S рРНК, 16S рРНК и 23S рРНК в составе рибосомы, а также формирование функционально важных участков рибосомы, в том числе, областей контактов малой и большой рибосомной субчастиц.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор приносит искренние благодарности своим коллегам за помощь в работе над материалом обзора, в особенности С.В. Тищенко, Н.А. Невской, С.В. Никонову, М. Б. Гарбер.

ЛИТЕРАТУРА

1. Спириин, А. (2011) Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка, М: «Академия».
2. Klein, D.J., Moore, P.B., Steitz, T.A. (2004) The Roles of Ribosomal Proteins in the Structure Assembly, and Evolution of the Large Ribosomal Subunit. *J. Mol. Biol.*, **340**, 141–177.
3. Lecompte, O., Ripp, R., Thierry, J.-C., Moras, D., Poch, O. (2002) Comparative analysis of ribosomal proteins in complete genomes: an example of reductive evolution at the domain scale. *Nucleic Acids Res.*, **30**, 5382–5390.
4. Коробейникова, А.В., Гарбер, М.Б., Гонгадзе, Г.М. (2012) Рибосомные белки: структура, функция и эволюция. *Биохимия*, **77**, 686–700.
5. Hartman, H., Favaretto, P., and Smith, T.F. (2006) The archaeal origins of the eukaryotic translational system. *Archaea*, **2**, 1–9.
6. Ban, N., Beckmann, R., Cate, J.H., Dinman, J.D., Dragon, F., Ellis, S.R., Lafontaine, D.L., Lindahl, L., Liljas, A., Lipton, J.M., McAlear, M.A., Moore, P.B., Noller, H.F., Ortega, J., Panse, V.G., Ramakrishnan, V., Spahn, C.M., Steitz, T.A., Tchorzewski, M., Tollervey, D., Warren, A.J., Williamson, J.R., Wilson, D., Yonath, A., Yusupov, M. (2014) A new system for naming ribosomal proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **24**, 165–169.
7. Kaczanowska, M., and Ryden-Aulin, M. (2007) Ribosome Biogenesis and the Translation Process in *Escherichia coli*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev., American Society for Microbiology*, **71**, 477–494.
8. Hamacher, K., Trylska, J., McCammon, J. A. (2006) Dependency Map of Proteins in the Small Ribosomal Subunit. *PLoS Comput. Biol.*, **2**, e10.
9. Röhl, R., and Nierhaus, K. H. (1982) Assembly map of the large subunit (50S) of *Escherichia coli* ribosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 729–733.
10. Herold, M., and Nierhaus, K.H. (1987) Incorporation of six additional proteins to complete the assembly map of the 50 S subunit from *Escherichia coli* ribosomes. *J. Biol. Chem.*, **262**, 8826–8833.
11. Spillmann, S., Dohme, F., and Nierhaus, K.H. (1977) Assembly in Vitro of the 50 S subunit from *Escherichia coli* ribosomes: Proteins essential for the first heat-dependent conformational change. *J. Mol. Biol.*, **115**, 513–523.
12. Held, W.A., and Nomura, M. (1973) Rate determining step in the reconstitution of *Escherichia coli* 30S ribosomal subunits. *Biochemistry*, **12**, 3273–3281.
13. Schuwirth, B.S. (2005) Structures of the Bacterial Ribosome at 3.5 Å Resolution. *Science*, **310**, 827–834.
14. Porse, B.T., Garrett, R.A. (1999) Ribosomal Mechanics, Antibiotics, and GTP Hydrolysis. *Cell*, **97**, 423–426.
15. Diaconu, M., Kothe, U., Schlünzen, F., Fischer, N., Harms, J.M., Tonevitsky, A.G., Stark, H., Rodnina, M.V., Wahl, M. C. (2005) Structural Basis for the Function of the Ribosomal L7/L12 Stalk in Factor Binding and GTPase Activation. *Cell*, **121**, 991–1004.
16. Leijonmarck, M., and Liljas, A. (1987) Structure of the C-terminal domain of the ribosomal protein L7/L12 from *Escherichia coli* at 1.7 Å. *J. Mol. Biol.*, **195**, 555–579.
17. Митрошин, И.В., Гарбер, М.Б., Габдулхаков, А.Г. (2016) Исследования структуры L12/P-выступа рибосомы. *Успехи биологической химии*, **56**, 25–52.
18. Xing, Y., Draper, D.E. (1996) Cooperative interactions of RNA and thiostrepton antibiotic with two domains of ribosomal protein L11. *Biochemistry*, **35**, 1581–1588.
19. Jonker, H.R.A., Ilin, S., Grimm, S.K., Wohnert, J., Schwalbe, H. (2006) L11 domain rearrangement upon binding

- to RNA and thiostrepton studied by NMR spectroscopy. *Nucleic Acids Res.*, **35**, 441–454.
20. Wimberly, B.T., Guymon, R., McCutcheon, J.P., White, S.W., Ramakrishnan, V. (1999) A detailed view of a ribosomal active site: the structure of the L11-RNA complex. *Cell*, **97**, 491–502.
 21. Conn, G.L., Draper, D.E., Lattman, E.E., Gittis, A.G. (1999) Crystal structure of a conserved ribosomal protein-RNA complex. *Science*, **284**, 1171–1174.
 22. Murzin, A.G., Brenner, S.E., Hubbard, T., Chothia, C. (1995) SCOP: a structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures. *J. Mol. Biol.*, **247**, 536–540.
 23. Brennan, R.G., Matthews, B.W. (1989) The helix-turn-helix DNA binding motif. *J. Biol. Chem.*, **264**, 1903–1906.
 24. Matthews, B.W., Ohlendorf, D.H., Anderson, W.F., Takeda, Y. (1982) Structure of the DNA-binding region of lac repressor inferred from its homology with *cro* repressor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 1428–1432.
 25. Müller, C.W. (2001) Transcription factors: global and detailed views. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **11**, 26–32.
 26. Gudkov, A.T., Tumanova, L.G., Gongadze, G.M., Bushuev, V.N. (1980) Role of different regions of ribosomal proteins L7 and L10 in their complex formation and in the interaction with the ribosomal 50 S subunit. *FEBS Lett.*, **109**, 34–38.
 27. Rosendahl, G., Douthwaite, S. (1993) Ribosomal Proteins L11 and L10-(L12)₄ and the Antibiotic Thiostrepton Interact with Overlapping Regions of the 23 S rRNA Backbone in the Ribosomal GTPase Centre. *J. Mol. Biol.*, **234**, 1013–1020.
 28. Noeske, J., Wasserman, M.R., Terry, D.S., Altman, R.B., Blanchard, S.C., Cate, J.H.D. (2015) High-resolution structure of the *Escherichia coli* ribosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 336–341.
 28. Cocozaki, A.I., Altman, R.B., Huang, J., Buurman, E.T., Kazmirski, S.L., Doig, P., Prince, D.B., Blanchard, S.C., Cate, J.H.D., Ferguson, A.D. (2016) Resistance mutations generate divergent antibiotic susceptibility profiles against translation inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 8188–8193.
 30. Lin, J., Gagnon, M. G., Bulkley, D., Steitz, T. A. (2015) Conformational Changes of Elongation Factor G on the Ribosome during tRNA Translocation. *Cell*, **160**, 219–227.
 31. Gagnon, M.G., Lin, J., Steitz, T.A. (2016) Elongation factor 4 remodels the A-site tRNA on the ribosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 4994–4999.
 32. Fischer, N., Konevega, A.L., Wintermeyer, W., Rodnina, M.V., Stark, H. (2010) Ribosome dynamics and tRNA movement by time-resolved electron cryomicroscopy. *Nature*, **466**, 329–333.
 33. Trabuco, L.G., Schreiner, E., Eargle, J., Cornish, P., Ha, T., Luthey-Schulten, Z., Schulten, K. (2010) The Role of L1 Stalk-tRNA Interaction in the Ribosome Elongation Cycle. *J. Mol. Biol.*, **402**, 741–760.
 34. Ban, N., Nissen, P., Hansen, J., Moore, P.B., Steitz, T.A. (2000) The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution. *Science*, **289**, 905–920.
 35. Selmer, M. (2006) Structure of the 70S Ribosome Complexed with mRNA and tRNA. *Science* **313**, 1935–1942.
 36. Nikonov, S., Nevskaya, N., Eliseikina, I., Fomenkova, N., Nikulin, A., Ossina, N., Garber, M., Jonsson, B. H., Briand, C., Al-Karadaghi, S., Svensson, A., Årvarsson, A., Liljas, A. (1996) Crystal structure of the RNA binding ribosomal protein L1 from *Thermus thermophilus*. *EMBO J.* **15**, 1350–1359.

37. Tishchenko, S., Nikonova, E., Kostareva, O., Gabdulkhakov, A., Piendl, W., Nevskaya, N., Garber, M., Nikonov, S. (2011) Structural analysis of interdomain mobility in ribosomal L1 proteins. *Acta Crystallogr. Sect. D*, **67**, 1023–1027.
38. Nikulin, A., Eliseikina, I., Tishchenko, S., Nevskaya, N., Davydova, N., Platonova, O., Piendl, W., Selmer, M., Liljas, A., Drygin, D., Zimmermann, R., Garber, M., and Nikonov, S. (2003) Structure of the L1 protuberance in the ribosome. *Nat. Struct. Biol.*, **10**, 104–108.
39. Willumeit, R., Forthmann, S., Beckmann, J., Diedrich, G., Ratering, R., Stuhmann, H.B., Nierhaus, K.H. (2001) Localization of the protein L2 in the 50S subunit and the 70S *E. coli* ribosome. *J. Mol. Biol.*, **305**, 167–177.
40. Diedrich, G., Spahn, C.M. T., Stelzl, U., Schäfer, M.A., Wooten, T., Bochkariov, D.E., Cooperman, B.S., Traut, R.R., Nierhaus, K.H. (2000) Ribosomal protein L2 is involved in the association of the ribosomal subunits, tRNA binding to A and P sites and peptidyl transfer. *EMBO J.*, **19**, 5241–5250.
41. Cooperman, B.S., Wooten, T., Romero, D.P., Traut, R.R. Histidine 229 in protein L2 is apparently essential for 50S peptidyl transferase activity. *Biochem. Cell Biol.*, **73**, 1087–94.
42. Gao, H., Sengupta, J., Valle, M., Korostelev, A., Eswar, N., Stagg, S. M., Van Roey, P., Agrawal, R. K., Harvey, S. C., Sali, A., Chapman, M.S., Frank, J. (2003) Study of the structural dynamics of the *E. coli* 70S ribosome using real-space refinement. *Cell*, **113**, 789–801.
43. Uhlein, M., Weglohner, W., Urlaub, H., Wittmann-Liebold, B. (1998) Functional implications of ribosomal protein L2 in protein biosynthesis as shown by *in vivo* replacement studies. *Biochem J.*, **331**, 423–430.
44. Nowotny, V., Nierhaus, K.H. (1982) Initiator proteins for the assembly of the 50S subunit from *Escherichia coli* ribosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 7238–7242.
45. Petrov, A., Meskauskas, A., Dinman, J.D. (2004) Ribosomal protein L3: influence on ribosome structure and function. *RNA Biol.*, **1**, 59–65.
46. Pringle, M., Poehlsgaard, J., Vester, B., Long, K.S. (2004) Mutations in ribosomal protein L3 and 23S ribosomal RNA at the peptidyl transferase centre are associated with reduced susceptibility to tiamulin in *Brachyspira* spp. isolates. *Mol. Microbiol.*, **54**, 1295–1306.
47. Klitgaard, R.N., Ntokou, E., Nørsgaard, K., Bilstoft, D., Hansen, L.H., Trædholm, N.M., Kongsted, J., Vester, B. (2015) Mutations in the Bacterial Ribosomal Protein L3 and Their Association with Antibiotic Resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **59**, 3518–3528.
48. Urlaub, H., Kruff, V., Bischof, O., Müller, E.C., Wittmann-Liebold, B. (1995) Protein-rRNA binding features and their structural and functional implications in ribosomes as determined by cross-linking studies. *EMBO J.*, **14**, 4578–4588.
49. Wower, I., Wower, J., Meinke, M., Brimacombe, R. (1981) The use of 2-iminothiolane as an RNA-protein cross-linking agent in *Escherichia coli* ribosomes, and the localization on 23S RNA of sites cross-linked to proteins L4, L6, L21, L23, L27 and L29. *Nucleic Acids Res.*, **9**, 4285–4302.
50. Gabashvili, I.S., Gregory, S.T., Valle, M., Grassucci, R., Worbs, M., Wahl, M.C., Dahlberg, A.E., Frank, J. (2001) The Polypeptide Tunnel System in the Ribosome and Its Gating in Erythromycin Resistance Mutants of L4 and L22. *Mol. Cell*, **8**, 181–188.
51. Zaman, S., Fitzpatrick, M., Lindahl, L., Zengel, J. (2007) Novel mutations in ribosomal proteins L4 and L22 that confer erythromycin resistance in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, **66**, 1039–1050.

52. Chittum, H.S., Champney, W.S. (1994) Ribosomal protein gene sequence changes in erythromycin-resistant mutants of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **176**, 6192–6198.
53. Zengel, J.M. (2003) The extended loops of ribosomal proteins L4 and L22 are not required for ribosome assembly or L4-mediated autogenous control. *RNA*, **9**, 1188–1197.
54. Worbs, M., Huber, R., Wahl, M.C. (2000) Crystal structure of ribosomal protein L4 shows RNA-binding sites for ribosome incorporation and feedback control of the S10 operon. *EMBO J.*, **19**, 807–818.
55. Hoffman, D.W., Davies, C., Gerchman, S.E., Kycia, J.H., Porter, S.J., White, S.W., Ramakrishnan, V. (1994) Crystal structure of prokaryotic ribosomal protein L9: a bi-lobed RNA-binding protein. *EMBO J.*, **13**, 205–212.
56. Hoffman, D.W., Cameron, C.S., Davies, C., White, S.W., Ramakrishnan, V. (1996) Ribosomal Protein L9: A Structure Determination by the Combined Use of X-ray Crystallography and NMR Spectroscopy. *J. Mol. Biol.*, **264**, 1058–1071.
57. Selmer, M., Gao, Y.-G., Weixlbaumer, A., Ramakrishnan, V. (2012) Ribosome engineering to promote new crystal forms. *Acta Crystallogr. Sect. D*, **68**, 578–583.
58. Fischer, N., Neumann, P., Konevega, A.L., Bock, L.V., Ficner, R., Rodnina, M.V., Stark, H. (2015) Structure of the *E. coli* ribosome-EF-Tu complex at $<3\text{\AA}$ resolution by Cs-corrected cryo-EM. *Nature*, **520**, 567–570.
59. Naganathan, A., Wood, M.P., Moore, S.D. (2015) The large ribosomal subunit protein L9 enables the growth of EF-P deficient cells and enhances small subunit maturation. *PLoS One*, **10**, e0120060.
60. Raibaud, S., Vachette, P., Guillier, M., Allemand, F., Chiaruttini, C., Dardel, F. (2003) How Bacterial Ribosomal Protein L20 Assembles with 23 S Ribosomal RNA and Its Own Messenger RNA. *J. Biol. Chem.*, **278**, 36522–36530.
61. Guillier, M., Allemand, F., Graffe, M., Raibaud, S., Dardel, F., Springer, M., Chiaruttini, C. (2005) The N-terminal extension of *Escherichia coli* ribosomal protein L20 is important for ribosome assembly, but dispensable for translational feedback control. *RNA*, **11**, 728–738.
62. Franceschi, F.J., Nierhaus, K.H. (1988) Ribosomal protein L20 can replace the assembly-initiator protein L24 at low temperatures. *Biochemistry*, **27**, 7056–7059.
63. Raibaud, S., Lebars, I., Guillier, M., Chiaruttini, C., Bontems, F., Rak, A., Garber, M., Allemand, F., Springer, M., Dardel, F. (2002) NMR structure of bacterial ribosomal protein L20: implications for ribosome assembly and translational control. *J. Mol. Biol.*, **323**, 143–151.
64. Timsit, Y., Allemand, F., Chiaruttini, C., Springer, M. (2006) Coexistence of two protein folding states in the crystal structure of ribosomal protein L20. *EMBO Rep.*, **7**, 1013–1018.
65. Timsit, Y., Acosta, Z., Allemand, F., Chiaruttini, C., Springer, M. (2009) The role of disordered ribosomal protein extensions in the early steps of eubacterial 50S ribosomal subunit assembly. *Int. J. Mol. Sci.*, **10**, 817–834.
66. Kramer, G., Rauch, T., Rist, W., Vorderwülbecke, S., Patzelt, H., Schulze-Specking, A., Ban, N., Deuerling, E., Bukau, B. (2002) L23 protein functions as a chaperone docking site on the ribosome. *Nature*, **419**, 171–174.
67. Gu, S.-Q., Peske, F., Wieden, H.-J., Rodnina, M.V., Wintermeyer, W. (2003) The signal recognition particle binds to protein L23 at the peptide exit of the *Escherichia coli* ribosome. *RNA*, **9**, 566–573.
68. Ullers, R.S., Houben, E.N.G., Raine, A., ten Hagen-Jongman, C.M., Ehrenberg, M., Brunner, J., Oudega, B., Harms, N., Luirink, J. (2003) Interplay of signal recognition particle and

- trigger factor at L23 near the nascent chain exit site on the *Escherichia coli* ribosome. *J. Cell Biol.*, **161**, 679–684.
69. Ohman, A., Rak, A., Dontsova, M., Garber, M.B., Härd, T. (2003) NMR structure of the ribosomal protein L23 from *Thermus thermophilus*. *J. Biomol. NMR*, **26**, 131–137.
70. Spillmann, S., Nierhaus, K.H. (1978) The ribosomal protein L24 of *Escherichia coli* is an assembly protein. *J. Biol. Chem.*, **253**, 7047–7050.
71. Mitra, K., Schaffitzel, C., Shaikh, T., Tama, F., Jenni, S., Brooks, C.L., Ban, N., Frank, J. (2005) Structure of the *E. coli* protein-conducting channel bound to a translating ribosome. *Nature*, **438**, 318–324.
72. Szymanski, M., Barciszewska, M.Z., Erdmann, V.A., Barciszewski, J. (2002) 5S Ribosomal RNA Database. *Nucleic Acids Res.*, **30**, 176–178.
73. Гонгадзе, Г.М., Корепанов, А.П., Коробейникова, А.В., Гарбер, М.Б. (2008) Бактериальные 5S рРНК – связывающие белки семейства СТС. *Успехи биологической химии*, **48**, 105–132.
74. Gongadze, G.M. (2011) 5S rRNA and ribosome. *Biochemistry (Moscow)*, **76**, 1450–1464.
75. Selivanova, O.M., Gongadze, G.M., Gudkov, A.T., Vasiliev, V.D. (1986) Structure of protein-deficient 50 S ribosomal subunits. Particles without 5 S RNA-protein complex retain the L7/L12 stalk and associate with 30 S subunits. *FEBS Lett.*, **197**, 79–83.
76. Gongadze, G.M., Perederina, A.A., Meshcheriakov, V.A., Fedorov, R.V., Moskalenko, S.E., Rak, A.V., Serganov, A.A., Shcherbakov, D.V., Nikonov, S.V and Garber, M.B. (2001) The *Thermus thermophilus* 5S rRNA-protein complex: Identifications of specific binding sites for proteins L5 and L18 in 5S rRNA. *Mol. Biol. (Mosk)*, **35**, 610–616.
77. Shpanchenko, O.V, Zvereva, M.I., Dontsova, O.A., Nierhaus, K.H., Bogdanov, A.A. (1996) 5S rRNA sugar-phosphate backbone protection in complexes with specific ribosomal proteins. *FEBS Lett.*, **394**, 71–75.
78. Spierer, P., Zimmermann, R.A. (1978) Stoichiometry, cooperativity, and stability of interactions between 5S RNA and proteins L5, L18, and L25 from the 50S ribosomal subunit of *Escherichia coli*. *Biochemistry*, **17**, 2474–2479.
79. Korepanov, A.P., Gongadze, G.M., Garber, M.B., Court, D.L., Bubunencko, M.G. (2007) Importance of the 5 S rRNA-binding Ribosomal Proteins for Cell Viability and Translation in *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.*, **366**, 1199–1208.
80. Osswald, M., Döring, T., Brimacombe, R. (1995) The ribosomal neighbourhood of the central fold of tRNA: cross-links from position 47 of tRNA located at the A, P or E site. *Nucleic Acids Res.*, **23**, 4635–4641.
81. Korepanov, A.P., Korobeinikova, A.V, Shestakov, S.A., Garber, M.B., Gongadze, G.M. (2012) Protein L5 is crucial for *in vivo* assembly of the bacterial 50S ribosomal subunit central protuberance. *Nucleic Acids Res.*, **40**, 9153–9159.
82. Nakashima, T., Yao, M., Kawamura, S., Iwasaki, K., Kimura, M., Tanaka, I. (2001) Ribosomal protein L5 has a highly twisted concave surface and flexible arms responsible for rRNA binding. *RNA*, **7**, 692–701.
83. Perederina, A., Nevskaya, N., Nikonov, O., Nikulin, A., Dumas, P., Yao, M., Tanaka, I., Garber, M., Gongadze, G., Nikonov, S. (2002) Detailed analysis of RNA-protein interactions within the bacterial ribosomal protein L5/5S rRNA complex. *RNA*, **8**, 1548–1557.
84. Spierer, P., Wang, C.C., Marsh, T.L., Zimmermann, R.A. (1979) Cooperative interactions among protein and RNA components of the 50S ribosomal subunit of *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res.*, **6**, 1669–1682.
85. Woestenenk, E.A., Gongadze, G.M., Shcherbakov, D.V, Rak, A.V, Garber, M.B., Härd, T., Berglund, H.

- (2002) The solution structure of ribosomal protein L18 from *Thermus thermophilus* reveals a conserved RNA-binding fold. *Biochem. J.*, **363**, 553–561.
86. Turner, C.F., Moore, P.B. (2004) The Solution Structure of Ribosomal Protein L18 from *Bacillus stearothermophilus*. *J. Mol. Biol.*, **335**, 679–684.
87. Ciesiolka, J., Lorenz, S., Erdmann, V.A. (1992) Structural analysis of three prokaryotic 5S rRNA species and selected 5S rRNA-ribosomal-protein complexes by means of Pb(II)-induced hydrolysis. *Eur. J. Biochem.*, **204**, 575–581.
88. Newberry, V., Garrett, R.A. (1980) The role of the basic N-terminal region of protein L18 in 5S RNA-23S RNA complex formation. *Nucleic Acids Res.*, **8**, 4131–4142.
89. Szymański, M., Barciszewska, M.Z., Erdmann, V., Barciszewski, J. (2003) 5 S rRNA: structure and interactions. *Biochem. J.*, **371**, 641–651.
90. Douthwaite, S., Garrett, R.A., Wagner, R., Feunteun, J. (1979) A ribonuclease-resistant region of 5S RNA and its relation to the RNA binding sites of proteins L18 and L25. *Nucleic Acids Res.*, **6**, 2453–2470.
91. Harms, J., Schluenzen, F., Zarivach, R., Bashan, A., Gat, S., Agmon, I., Bartels, H., Franceschi, F., Yonath, A. (2001) High resolution structure of the large ribosomal subunit from a mesophilic eubacterium. *Cell*, **107**, 679–688.
92. Stoldt, M., Wöhnert, J., Görlach, M., Brown, L.R. (1998) The NMR structure of *Escherichia coli* ribosomal protein L25 shows homology to general stress proteins and glutaminyl-tRNA synthetases. *EMBO J.*, **17**, 6377–6384.
93. Lu, M., Steitz, T.A. (2000) Structure of *Escherichia coli* ribosomal protein L25 complexed with a 5S rRNA fragment at 1.8Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 2023–2028.
94. Fedorov, R., Meshcheryakov, V., Gongadze, G., Fomenkova, N., Nevskaya, N., Selmer, M., Laurberg, M., Kristensen, O., Al-Karadaghi, S., Liljas, A., Garber, M., Nikonov, S. (2001) Structure of ribosomal protein TL5 complexed with RNA provides new insights into the CTC family of stress proteins. *Acta Crystallogr. Sect. D*, **57**, 968–976.
95. Gongadze, G.M., Korepanov, A.P., Korobeinikova, A.V., Garber, M.B. (2008) Bacterial 5S rRNA-binding proteins of the CTC family. *Biochemistry. (Mosc.)*, **73**, 1405–1417.
96. Petrov, A.S., Bernier, C.R., Gulen, B., Waterbury, C.C., Hershkovits, E., Hsiao, C., Harvey, S.C., Hud, N.V., Fox, G.E., Wartell, R.M., Williams, L.D. (2014) Secondary Structures of rRNAs from All Three Domains of Life. *PLoS One*, **9**, e88222.
97. Nowotny, V., Nierhaus, K. H. (1988) Assembly of the 30S subunit from *Escherichia coli* ribosomes occurs via two assembly domains which are initiated by S4 and S7. *Biochemistry*, **27**, 7051–7055.
98. Stern, S., Powers, T., Changchien, L.M., Noller, H.F. (1989) RNA-protein interactions in 30S ribosomal subunits: folding and function of 16S rRNA. *Science*, **244**, 783–790.
99. Mayerle, M., Woodson, S.A. (2013) Specific contacts between protein S4 and ribosomal RNA are required at multiple stages of ribosome assembly. *RNA*, **19**, 574–585.
100. Ramaswamy, P., Woodson, S.A. (2009) Global Stabilization of rRNA Structure by Ribosomal Proteins S4, S17, and S20. *J. Mol. Biol.*, **392**, 666–677.
101. Powers, T., Noller, H.F. (1995) Hydroxyl radical footprinting of ribosomal proteins on 16S rRNA. *RNA*, **1**, 194–209.
102. Davies, C., Gerstner, R.B., Draper, D.E., Ramakrishnan, V., White,

- S.W. (1998) The crystal structure of ribosomal protein S4 reveals a two-domain molecule with an extensive RNA-binding surface: one domain shows structural homology to the ETS DNA-binding motif. *EMBO J.*, **17**, 4545–4558.
103. Markus, M.A., Gerstner, R.B., Draper, D.E., Torchia, D.A. (1998) The solution structure of ribosomal protein S4 delta41 reveals two subdomains and a positively charged surface that may interact with RNA. *EMBO J.*, **17**, 4559–4571.
104. Greuer, B., Thiede, B., Brimacombe, R. (1999) The cross-link from the upstream region of mRNA to ribosomal protein S7 is located in the C-terminal peptide: experimental verification of a prediction from modeling studies. *RNA*, **5**, 1521–2625.
105. Osswald, M., Döring, T., Brimacombe, R. (1995) The ribosomal neighbourhood of the central fold of tRNA: cross-links from position 47 of tRNA located at the A, P or site. *Nucleic Acids Res.*, **23**, 4635–4641.
106. Hosaka, H., Nakagawa, A., Tanaka, I., Harada, N., Sano, K., Kimura, M., Yao, M., Wakatsuki, S. (1997) Ribosomal protein S7: a new RNA-binding motif with structural similarities to a DNA architectural factor. *Structure*, **5**, 1199–1208.
107. Wimberly, B.T., White, S.W., Ramakrishnan, V. (1997) The structure of ribosomal protein S7 at 1.9 Å resolution reveals a beta-hairpin motif that binds double-stranded nucleic acids. *Structure*, **5**, 1187–1198.
108. Held, W.A., Ballou, B., Mizushima, S., Nomura, M. (1974) Assembly mapping of 30S ribosomal proteins from *Escherichia coli*. Further studies. *J. Biol. Chem.*, **249**, 3103–3111.
109. Ramakrishnan, V., Wimberly, B.T., Brodersen, D.E., Clemons, W.M., Morgan-Warren, R.J., Carter, A.P., Vornrhein, C., Hartsch, T. (2000) Structure of the 30S ribosomal subunit. *Nature*, **407**, 327–339.
110. Svensson, P., Changchien, L.M., Craven, G.R., Noller, H.F. (1988) Interaction of ribosomal proteins, S6, S8, S15 and S18 with the central domain of 16 S ribosomal RNA. *J. Mol. Biol.*, **200**, 301–308.
111. Allmang, C., Mougél, M., Westhof, E., Ehresmann, B., Ehresmann, C. (1994) Role of conserved nucleotides in building the 16S rRNA binding site of *E. coli* ribosomal protein S8. *Nucleic Acids Res.*, **22**, 3708–3714.
112. Mougél, M., Allmang, C., Eyermann, F., Cachia, C., Ehresmann, B., Ehresmann, C. (1993) Minimal 16S rRNA binding site and role of conserved nucleotides in *Escherichia coli* ribosomal protein S8 recognition. *Eur. J. Biochem.*, **215**, 787–792.
113. Tishchenko, S., Nikulin, A., Fomenkova, N., Nevskaya, N., Nikonov, O., Dumas, P., Moine, H., Ehresmann, B., Ehresmann, C., Piendl, W., Lamzin, V., Garber, M., Nikonov, S. (2001) Detailed analysis of RNA-protein interactions within the ribosomal protein S8-rRNA complex from the archaeon *Methanococcus jannaschii*. *J. Mol. Biol.*, **311**, 311–324.
114. Davlieva, M., Donarski, J., Wang, J., Shamoo, Y., Nikonowicz, E.P. (2014) Structure analysis of free and bound states of an RNA aptamer against ribosomal protein S8 from *Bacillus anthracis*. *Nucleic Acids Res.* **42**, 10795–10808.
115. Davies, C., Ramakrishnan, V., White, S.W. (1996) Structural evidence for specific S8-RNA and S8-protein interactions within the 30S ribosomal subunit: ribosomal protein S8 from *Bacillus stearothermophilus* at 1.9 Å resolution. *Structure*, **4**, 1093–1104.
116. Nevskaya, N., Tishchenko, S., Nikulin, A., Al-Karadaghi, S., Liljas, A., Ehresmann, B., Ehresmann, C., Garber, M., Nikonov, S. (1998) Crystal structure of ribosomal protein

- tein S8 from *Thermus thermophilus* reveals a high degree of structural conservation of a specific RNA binding site. *J. Mol. Biol.*, **279**, 233–244.
117. Menichelli, E., Edgcomb, S.P., Recht, M.I., Williamson, J.R. (2012) The structure of *Aquifex aeolicus* ribosomal protein S8 reveals a unique subdomain that contributes to an extremely tight association with 16S rRNA. *J. Mol. Biol.*, **415**, 489–502.
118. Nikulin, A., Serganov, A., Ennifar, E., Tishchenko, S., Nevskaya, N., Shepard, W., Portier, C., Garber, M., Ehresmann, B., Ehresmann, C., Nikonov, S., and Dumas, P. (2000) Crystal structure of the S15–rRNA complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **7**, 273–277.
119. Agalarov, S.C. (2000) Structure of the S15, S6, S18-rRNA Complex: Assembly of the 30S Ribosome Central Domain. *Science*, **288**, 107–112.
120. Berglund, H., Rak, A., Serganov, A., Garber, M., Härd, T. (1997) Solution structure of the ribosomal RNA binding protein S15 from *Thermus thermophilus*. *Nat. Struct. Biol.*, **4**, 20–23.
121. Clemons, W.M., Davies, C., White, S.W., Ramakrishnan, V. (1998) Conformational variability of the N-terminal helix in the structure of ribosomal protein S15. *Structure*, **6**, 429–438.
122. Yaguchi, M., Wittmann, H.G., Cabezon, T., DeWilde, M., Villarroel, R., Herzog, A., Bollen, A. (1976) Alteration of ribosomal protein S17 by mutation linked to neamine resistance in *Escherichia coli*. II. Localization of the amino acid replacement in protein S17 from a *meaA* mutant. *J. Mol. Biol.*, **104**, 617–620.
123. Bollen, A., Cabezon, T., de Wilde, M., Villarroel, R., Herzog, A. (1975) Alteration of ribosomal protein S17 by mutation linked to neamine resistance in *Escherichia coli*. I. General properties of *meaA* mutants. *J. Mol. Biol.*, **99**, 795–806.
124. Golden, B.L., Hoffman, D.W., Ramakrishnan, V., White, S.W. (1993) Ribosomal protein S17: Characterization of the three-dimensional structure by proton and nitrogen-15 NMR. *Biochemistry*, **32**, 12812–12820.
125. Hedrick, E.G., Hill, W.E. (2010) Protein S20 Binds Two 16S rRNA Sites as Assembly Is Initiated. *J. Mol. Biol.*, **401**, 493–502.
126. Tobin, C., Mandava, C.S., Ehrenberg, M., Andersson, D.I., Sanyal, S. (2010) Ribosomes Lacking Protein S20 Are Defective in mRNA Binding and Subunit Association. *J. Mol. Biol.*, **397**, 767–776.
127. Rydén-Aulin, M., Shaoping, Z., Kylsten, P., Isaksson, L.A. (1993) Ribosome activity and modification of 16S RNA are influenced by deletion of ribosomal protein S20. *Mol. Microbiol.*, **7**, 983–992.
128. Götz, F., Dabbs, E.R., Gualerzi, C.O. (1990) *Escherichia coli* 30S mutants lacking protein S20 are defective in translation initiation. *Biochim. Biophys. Acta*, **1050**, 93–97.