

БЕЛКИ-СОВМЕСТИТЕЛИ (MOONLIGHTING PROTEINS) ЧЕЛОВЕКА И РЯДА ДРУГИХ ЭУКАРИОТ. ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

©2025 г.

С. С. ШИШКИН

*Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук, г. Москва*

I. Введение. II. Возникновение и развитие концепции о белках-совместителях эукариот. III. Белки-совместители среди ферментов гликолиза. IV. Белки-совместители, участвующие в трансляции. V. Белки хроматина с дополнительными функциями. VI. Белки клеточных мембран с дополнительными функциями. VII. Специализированные базы данных о белках-совместителях. VIII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

В современной биохимии происходит постоянное развитие основных представлений о белках, которые рассматривают как один из главных объектов исследований этой науки. В частности, ещё в конце XX века были получены сведения о том, что экспрессия экзон-интронных генов эукариот часто происходит с альтернативным сплайсингом, в результате чего один ген оказывается способным детерминировать образование нескольких, иногда существенно различающихся белковых продуктов. Далее у многих подобных макромолекул обнаружили отдельные или множественные посттрансляционные модификации, благодаря которым мог значительно расширяться набор продуктов – результатов функционирования одного гена. Более того, накопился ряд данных о том, что у разных людей (и других видов эукариот) в полипептидных цепях, детерминированных одним и тем же геном, существуют небольшие различия, например единичные аминокислотные замены, обусловленные так называемыми «точечными» мутациями в этом гене. Обобщение перечисленных и других материалов привело к возникновению в 2013 г. понятия «протеоформы» [1], которое вошло в научную литературу.

Способности единичных генов к образованию наборов протеоформ, обладающих определенными структурно-функциональными особенностями, стали рассматривать как следствие идущих эволюционных процессов, способствовавших приобретению раз-

Список сокращений: Б-С – белки-совместители; БД – база данных; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; РБ – рибосомные белки; ТМБ – трансмембранные белки; Э-М-П – Эмбдена-Мейергофа-Парнаса метаболический путь; НМГА – группа А белков высокой подвижности от «high mobility group A»; НМГВ – группа В белков высокой подвижности от «high mobility group B»; НМГН – группа N белков высокой подвижности от «high mobility group N»; NCBI – National Centre for Biotechnology Information (Национальный центр биотехнологической информации США).

Адрес для корреспонденции: sergeyshishkin@yandex.ru

ными организмами многих важных качеств, в частности, устойчивости к воздействиям внешней среды [2, 3].

Параллельно накапливались данные о том, что протеоформы в общем виде вовлечены в обеспечение феномена белкового полиморфизма, который характеризуется как существование у человека и других млекопитающих нескольких белковых молекул, обладающих определенными общими качествами, но при этом и четко детектируемыми различиями, часто принципиально важными для функции [4]. В свою очередь материалы многих исследований свидетельствуют о том, что существование полиморфных белков является следствием эволюции от так называемого последнего универсального общего предка (*last universal common ancestor*), в частности, до млекопитающих и человека, например [5, 6].

В качестве важного направления в современных исследованиях белков человека можно выделить изучение так называемых мультифункциональных белков. Только за последние десять лет опубликовано почти три тысячи обзоров, содержащих сведения о подобных белках, которые обладают различными основными функциями (ферментной, транспортной, регуляторной и т. д.), а также одновременно и другими, «дополнительными» функциями. Аннотации этих публикаций имеются в базе данных (БД) PubMed, которая многие годы поддерживается Национальным центром биотехнологической информации США (NCBI). Общие представления об этих публикациях удастся наглядно получить при библиометрическом анализе, выполненном с помощью программы VOSviewer.

VOSviewer представляет собой бесплатную компьютерную программу, способную строить графические изображения библиометрических карт определенных предметных областей [7–9]. В нашем случае предметная область ограничивалась словами «*multi-functional protein review*». VOSviewer обеспечивает визуализацию предметной области на основе анализа отобранных публикаций в виде сети взаимосвязей между источниками в двумерном пространстве. Формируемая сеть состоит из «узлов» и «ребер». В ней «узлы» представляют собой частоты публикаций с определенными ключевыми словами, а «ребра» – существование тематических взаимосвязей между «узлами».

На рис. 1 приведено графическое изображение русифицированной библиометрической карты, охватывающей материалы, представленные в БД PubMed, которые были опубликованы в период 2014–2024 г.г. Визуализация была проведена на основе наиболее часто встречавшихся ключевых слов (около 100) с использованием тематической кластеризации.

Как видно из рис.1, таких кластеров оказалось 9 («узлы», которых показаны разными цветами). В центре построенной карты выделен «узел», обозначенный как «белки-совместители (на англоязычной версии «*moonlighting protein*)». Данный термин был введен в научную литературу более двадцати лет назад [10] и начал активно использоваться для обозначения особой группы мультифункциональных белков.

Во второй декаде XXI века эти исследования получили значительное развитие. Многие авторы отмечали, что отдельные аспекты изучения «*moonlighting protein*» затрагивают фундаментальные положения современной молекулярной биологии и подчеркивали: существование подобных белков соответствует не формуле «один ген – одна функция», а формуле «один ген – две функции» [11–13]. Соответственно, с учетом выше отмеченного целью данного обзора стал анализ результатов изучения свойств «*moonlighting protein*» человека и некоторых других эукариот с определенными эволюционными аспектами.

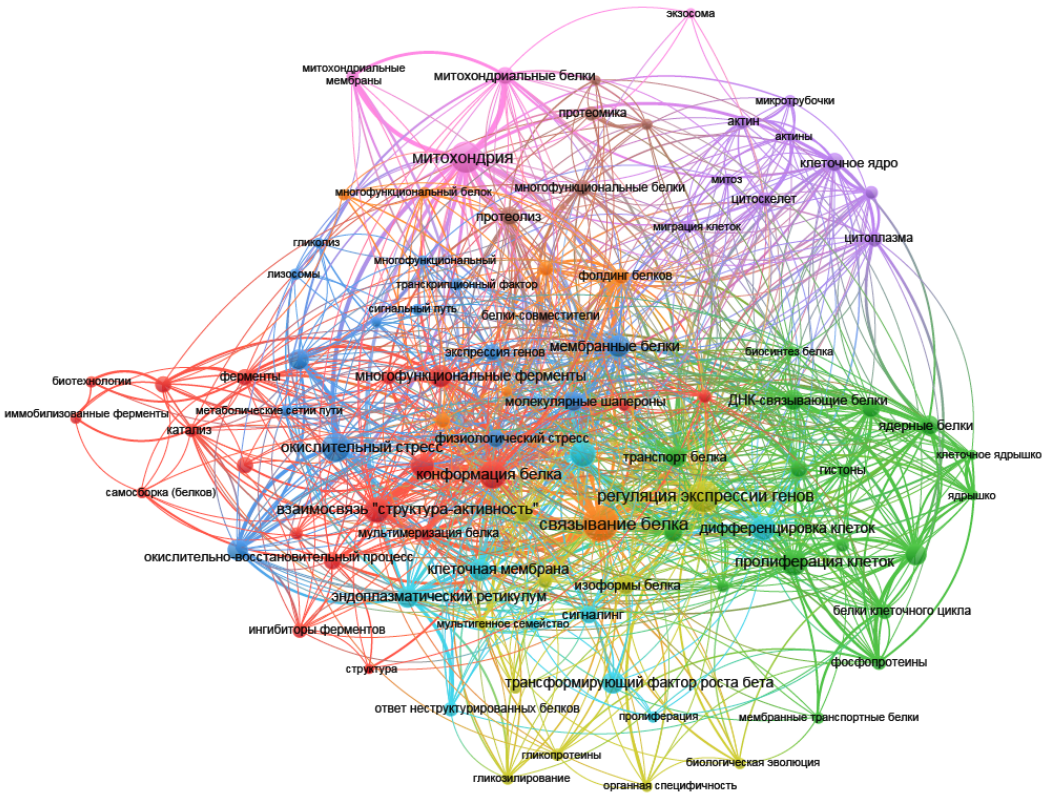


Рис. 1. Графическое русифицированное изображение библиометрической карты, построенной с помощью программы VOSviewer, которая охватывает предметную область, ограниченную словами «multifunctional protein review», и содержит сведения о материалах, имеющихся в БД PubMed опубликованных в период 2014–2024 гг. Тематическая кластеризация проводилась в автоматическом режиме на основе наиболее часто встречавшихся ключевых слов.

II. ВОЗНИКНОВЕНИЕ И РАЗВИТИЕ КОНЦЕПЦИИ О БЕЛКАХ-СОВМЕСТИТЕЛЯХ ЭУКАРИОТ

Прелюдией к формированию концепции о «moonlighting protein» можно считать появление в конце 80-ых годов XX века публикаций о существовании у некоторых организмов отдельных генов, белковые продукты которых обладают не одной, а, как минимум, двумя принципиально разными функциями, обнаруживающимися, например, в зависимости от клеточной или внеклеточной локализации. Так, было показано, что известные цитоплазматические ферменты (лактатдегидрогеназа, енолаза) способны выступать в качестве структурных кристаллинов в хрусталике глаз [14, 15]. По приведенным данным у указанных ферментов и изоформ кристаллинов оказались общие аминокислотные последовательности.

Позднее Constance J. Jeffery [10] в своем обзоре суммировала имевшиеся сведения о подобных белках и предложила для их обозначения термин «moonlighting protein». Выбранное необычное название происходит от английского слова «moonlighting», которое не только переводится как «лунный свет», но также в качестве сленга интерпретируется как – «работа по совместительству», «подработка по вечерам», а также даже как – «подвергаться ночному нападению» или «уничтожать по ночам посевы и скот». С учетом этого далее в статье будет использоваться в основном термин – «белок-совместитель» (Б-С) в качестве русского эквивалента термину «moonlighting protein».

В настоящее время нарастающий интерес к Б-С во многом по-видимому связан с тем, что стали появляться разнообразные сведения об их вовлеченности в жизненно важные молекулярные процессы, например [16–18]. Однако ряд вопросов, связанных с Б-С, на протяжении прошедших десятилетий остаются фактически открытыми, в частности, когда, как и для чего появилось такое молекулярное совместительство, хотя существует предположение, что оно могло возникнуть в ходе эволюции [10, 19–21]. Однако есть и альтернативная точка зрения о том, что древние белки исходно имели по несколько функций, а затем теряли их в ходе эволюции и оставались только с одной функцией, например, ферментной [18].

В качестве важной характеристики Б-С отмечается то, что их функции могут «переключаться» (switching). Как результат, в разных клеточных компартментах или вне клеток, а также при ряде других обстоятельств может осуществляться одна из возможных функций, а в иных условиях – другая.

«Переключение» функций у Б-С привлекает внимание исследователей с ранних публикаций по настоящее время, например [10, 12, 22]. Механизмы «переключения» активно исследуются, и среди них рассматриваются, например, способы, связанные с посттрансляционными модификациями [22, 23]. К числу условий «переключения» иногда относят специфику биосинтеза Б-С в клетках с разными типами дифференцировки, а также изменения олигомерного состояния белка (гомо- или гетероолигомеры), связанного или не связанного с клеточной концентрацией лиганда, субстрата, кофактора или продукта и др. [18, 24]. Многие авторы описывали и различные комбинации вариантов «переключения» между функциями.

В связи с этим представляется важным отметить, что с конца XX века и до настоящего времени развивается концепция о так называемых внутренне неупорядоченных белках (Intrinsically disordered proteins) [25, 26]. Появлению этой концепции способствовали успехи геномных проектов. В частности, они привели к заключению о том, что большая часть генных последовательностей кодирует белки, неспособные самостоятельно свертываться в глобулярные структуры [25]. У таких внутренне неупорядоченных белков имеются длинные участки аминокислотных последовательностей, которые, вероятно, либо разворачиваются в растворе, либо формируют неглобулярные структуры неопределенной конформации. Более того, стало распространяться представление о том, что в физиологических условиях подобные белки (и/или белковые сегменты) не могут достичь единой стабильной трехмерной структуры, вместо этого они принимают несколько взаимопревращающихся конформационных состояний [26, 27].

Интересным отражением этой концепции в отношении Б-С представляются работы, указывающие на связи между способностями одной полипептидной цепи выполнять две (или более) существенно разные функции и присутствием в таких полипептидных цепях внутренне неструктурированных участков [27–30]. Предполагается, что благодаря

способностям внутренне неструктурированных участков в таких белках принимать несколько взаимопревращающихся конформационных состояний у них и возникают структурные основы для осуществления разных функций. В качестве примеров рассматриваются свойства некоторых Б-С проявлять ферментную и шапероно-подобную активности, а также выступать в качестве фермента и структурного или регуляторного фактора [20, 27, 29, 31].

Важной особенностью Б-С считают и то, что, при точечной мутации в кодирующем гене, которая нарушает одну из функций этого белка, другая его функция может остаться сохранной, например [18, 22, 32, 33].

Обычно к Б-С не принято относить мультифункциональные белки, которые могли возникнуть из-за слияния предковых генов [10, 34, 35]. Способности таких белков выполнять несколько функций связывают с присутствием в их полипептидных цепях специальных доменов, каждый из которых обеспечивает только одну из функций. Тем не менее, признается, что для осуществления разных функций у типичных Б-С могут использоваться разные структурные элементы полипептидной цепи.

Нарастающий интерес к Б-С при сохранении многих нерешенных вопросов, по-видимому, стал причиной появления уже в конце второй декады XXI века специальной статьи Constance J. Jeffery с говорящим названием «Белки-совместители: что это такое и почему это важно?» («Protein moonlighting: what is it, and why is it important?») [20]. В указанной работе автор охарактеризовала Б-С как макромолекулы, способные выполнять «более одной физиологически значимой биохимической или биофизической функции в пределах одной полипептидной цепи». Предложенный критерий был принят многими исследователями, например [12, 36].

Однако следует отметить и то, что ряд авторов отмечают существование определенных трудностей при использовании применяемых критериев Б-С, особенно в отношении субъединиц олигомерных белковых комплексов, например [37, 38]. Более того, некоторые авторы считают, что, если несколько доменов, имеющих в белке, совместно нужны для выполнения разных функций, то такие белки также можно рассматривать как «moonlighting proteins» [16].

В целом, очевидно, что к настоящему времени сформировалась концепция о Б-С, что находит отражение в тысячах публикаций с термином «moonlighting protein», которые аннотируются в общих БД PubMed и ScienceDirect. Подавляющее большинство этих работ посвящено Б-С эукариот (от одноклеточных до многоклеточных растений и позвоночных животных). При этом около трети всех публикаций касаются Б-С бактерий и заметно меньше – Б-С архей. Из эукариот по вполне понятным причинам Б-С человека изучались в наибольшем числе исследований.

В ряде публикаций сообщалось, что Б-С присутствуют практически во всех клеточных компартаментах и субклеточных структурах, а также в различных внеклеточных образованиях. Схематически общие представления о биосинтезе и распределении Б-С в эукариотических клетках показаны на Рис. 2.

При этом было установлено, что внутри клеток отдельные Б-С часто транспортируются из одного компартамента в другой, например, из цитоплазмы в ядро и обратно [39], встраиваются в митохондрии [40, 41] и клеточную мембрану [23]. Во внеклеточные структуры Б-С поступают благодаря экспорту из определенных клеток [42]. Кроме того, некоторые Б-С обнаруживаются и в кровотоке, например [43].

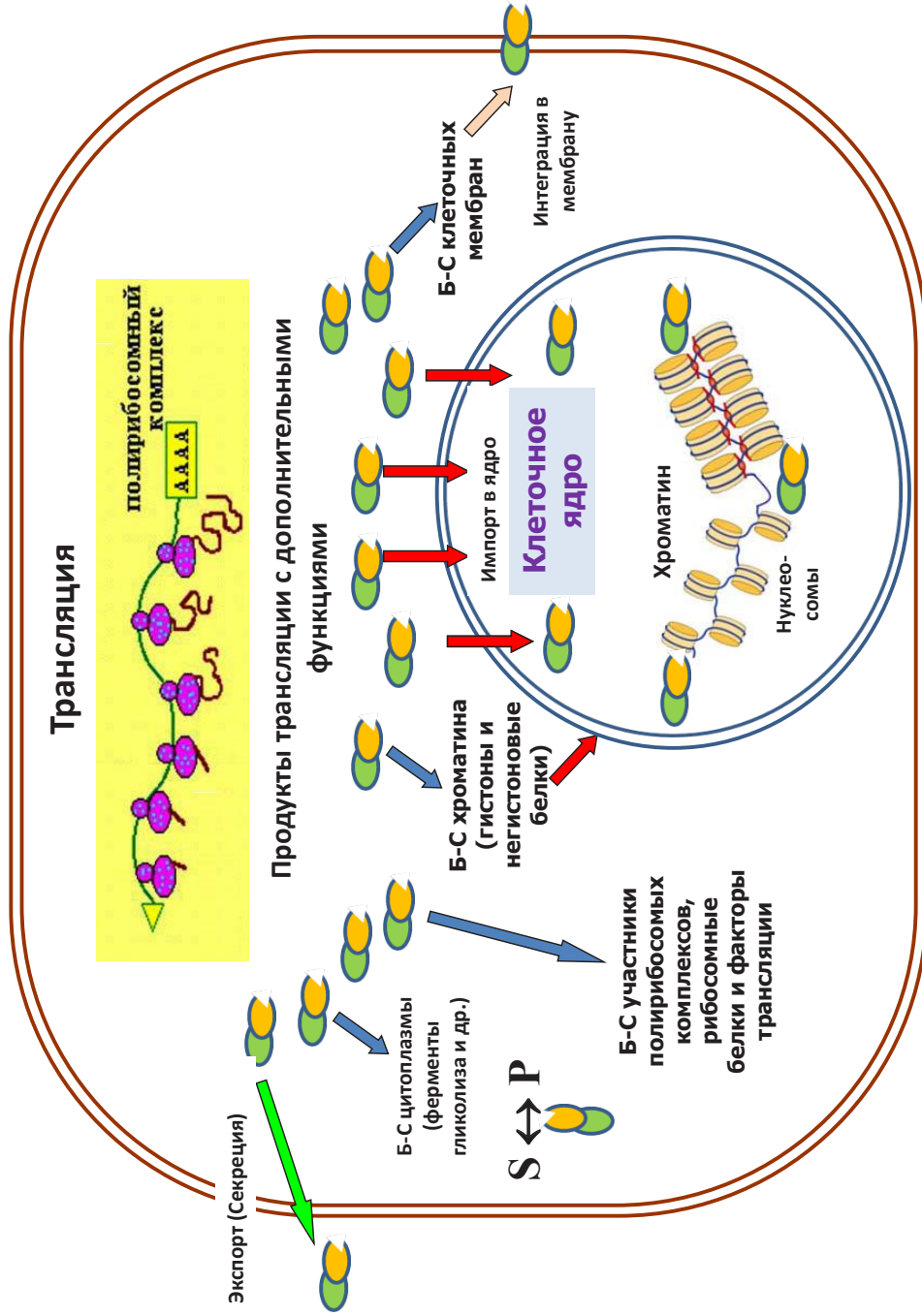


Рис. 2. Схема общих представлений о биосинтезе и распределении Б-С в эукариотических клетках. Стрелками показано распределение Б-С по компартментам, где они выполняют наиболее известную функцию [10, 20, 23, 28, 42, 44].

Биосинтез Б-С (как и всех других клеточных белков) осуществляется в результате трансляции соответствующих мРНК, после чего вновь синтезированные полипептидные цепи проходят различные посттрансляционные модификации и начинают выполнять как свои хорошо известные, так и дополнительные функции. Во многих случаях для начала того или иного варианта функционирования необходимым является транспорт в различные клеточные компартменты, например, в клеточное ядро или встраивание в клеточные мембраны (Рис. 2).

С учетом вышеупомянутого среди накопленных материалов о Б-С представлялось особенно интересным рассмотреть сведения о белках эукариот, которые вовлечены в обеспечение некоторых метаболических процессов и внутриклеточных структур, появившихся на ранних стадиях эволюции. Соответственно, в четырех следующих разделах приводятся данные о Б-С среди гликолитических ферментов, а также о Б-С, участвующих в процессах трансляции и являющихся компонентами хроматина или клеточных мембран.

III. БЕЛКИ-СОВМЕСТИТЕЛИ СРЕДИ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Известно, что гликолитические процессы происходят в цитоплазме клеток и обнаруживаются в определенных формах у всех изученных эукариот. Среди белков, охарактеризованных как Б-С, уже на ранних этапах исследований были отмечены ферменты гликолиза [10, 14, 15]. Свои дополнительные функции гликолитические ферменты часто выполняют вне цитоплазмы клеток, а, например, во внеклеточных структурах или в ядрах. Важно отметить, что и в третьей декаде XXI века продолжают появляться новые материалы о ферментах гликолиза, которые считаются Б-С [45, 46].

Гликолиз относят к наиболее хорошо охарактеризованным метаболическим процессам, который иногда называют одним из центральных метаболических путей («central metabolic pathways»)[47–49]. Филогенетический подход к изучению ферментов гликолиза дал основания полагать, что этот действительно очень древний метаболический путь существовал в живых организмах уже тогда, когда только произошло расхождение прокариот и эукариот, т.е. около 1800 миллионов лет назад [47, 49]. Более того, имеются сообщения о том, что некоторые реакции, подобные гликолитическим, могли происходить даже до начала клеточной жизни, в пребиотический период [50].

После первых публикаций о ферментах – участниках гликолиза (в 30-ых – 40-ых годах XX века) и до исследований нашего времени выявленные у эукариот гликолитические процессы традиционно описывают как метаболический путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса (Э-М-П). Установлено, что таким образом в аэробных условиях обеспечивается распад молекулы глюкозы в ходе десяти последовательных ферментных реакций до двух молекул пирувата. В анаэробных условиях молекулы пирувата в одиннадцатой реакции с помощью лактатдегидрогеназы восстанавливаются до молочной кислоты. Детальные описания реакций, составляющих путь Э-М-П, можно найти в различных учебниках биохимии, например [51]. Тем не менее, определенные особенности и оригинальные схемы реализации пути Э-М-П приводятся и в современных журнальных публикациях, например, [18, 49, 52–54]. Для удобства изложения последующего материала одна из таких схем (с небольшими модификациями и после русификации) приведена на рис. 3.

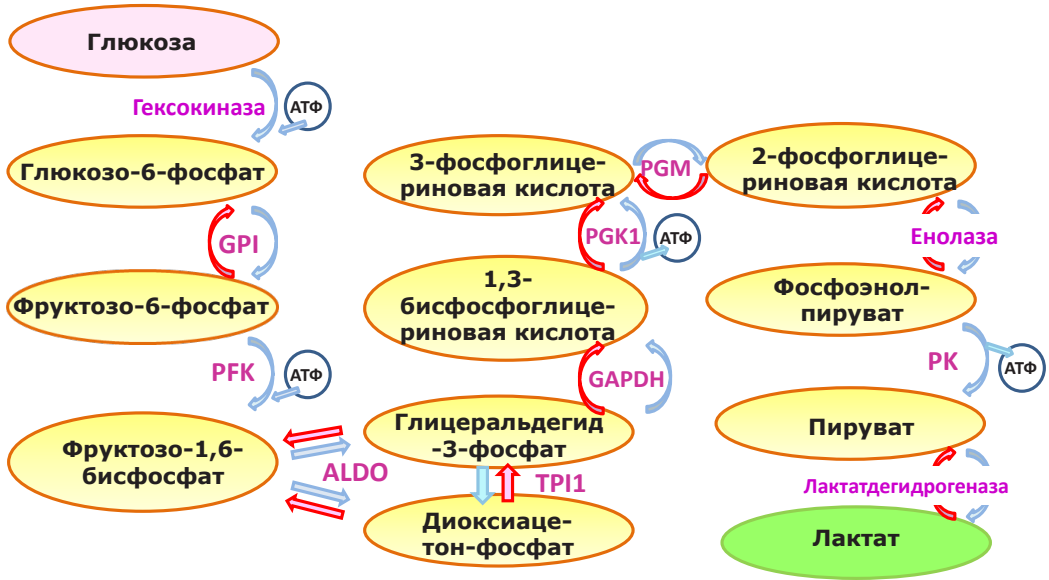


Рис. 3 Обобщенная схема гликолитического распада глюкозы (путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса), по [51–53].

Противоположно направленными, голубыми и красными стрелками соединены обратимые реакции. Полностью названы три вида ферментов – совместителей, свойства которых обсуждаются ниже, остальные ферменты показаны традиционными символами. Дополнительные пояснения даны в тексте.

По накопленным данным многие ферменты гликолиза оказались Б-С (а в некоторых организмах – даже практически все, например, [21, 55]). Известно, что для гликолитических ферментов у человека и высших позвоночных существует выраженный полиморфизм (т.е. они представляют собой группы родственных белков) [46, 47, 54, 55].

Более того, строение одноименных ферментов гликолиза у разных организмов весьма консервативно. При этом дополнительные функции пока удалось обнаружить не у всех изоформ и, соответственно, остается открытым возникающий вопрос о том, следует ли считать все подобные изоформы потенциальными Б-С.

В литературе уже имеется множество публикаций о полиморфизме и мультифункциональности ферментов гликолиза (например, [55, 21, 18]). Соответственно, рассмотрение всех ферментов гликолиза и их изоформ с дополнительными функциями в данном обзоре представлялось нецелесообразным. В качестве примеров ниже приведены сведения только о трех группах гликолитических ферментов человека (полностью названных на Рис. 3), среди которых имеются изоформы с установленными дополнительными функциями.

ГЕКСОКИНАЗЫ

Установлено, что в геноме человека присутствуют, как минимум, пять генов, кодирующих различные ферменты, способные катализировать реакции фосфорилирования гексоз с использованием АТФ, например [56, 57]. Два из этих генов (*HK1*, *HKDC1*) расположены в сегменте 10q22.1, а остальные – на других хромосомах: *HK2* – в области 2p12, *HK3* – 5q35.2 и *HK4* – 7p13, по [OMIM NCBI]. Таким образом, очевидно, что у человека существует выраженный полилокусный полиморфизм гексокиназ.

Три из пяти указанных генов (*HK1*, *HK2*, *HK3*) обеспечивают синтез весьма сходных по строению белковых продуктов, например [58, 59]. Они обладают М.м. ~ 100 кДа и аминокислотные последовательности у этих ферментов идентичны на 70% [60]. В строении этих гексокиназ выделяют два больших сходных домена. У гексокиназ 1 и 3 один из доменов (С-концевой) является каталитическим, а другой (N-концевой) – регуляторным [58 и P19367, P52790 UniProt], тогда как у гексокиназы 2 оба домена признаются каталитическими [P52789 UniProt]. Белковые продукты двух других генов (*HK4* и *HKDC1*) существенно отличаются по структурно-функциональным характеристикам от первых трех. При этом экспрессия всех перечисленных гексокиназных генов способна по разным механизмам приводить к образованию многих протеоформ. Кроме того, в некоторых гексокиназных генах обнаружены точечные мутации, вызывающие определенные наследственные болезни. Соответствующие сведения приведены в Таблице 1.

Установлено, что у человека, по крайней мере, белковые продукты генов *HK2* и *HK4* обладают дополнительными функциями, то есть являются Б-С [21, 61, 62]. В частности, показано, что эти ферменты выполняют роли «сенсоров глюкозы», вызывая стимулируемую глюкозой секрецию инсулина в клетках поджелудочной железы. Кроме того, у белковых продуктов гена *HK2* выявлена способность к взаимодействию с мембранами митохондрий, а также цитопротекторное действие на здоровые и неопластические клетки [63]. Иными словами, показано, что и дополнительные функции отдельных изоформ гексокиназ могут играть значимую роль в формировании различных патологических процессов.

ЕНОЛАЗЫ

Начиная с середины 70-х годов XX века, стали появляться сведения о том, что в различных тканях человека присутствуют несколько изоформ енолаз – ферментов, способных катализировать образование из 2-фосфоглицериновой кислоты фосфоенолпирувата (Рис. 3), например [64]. Позднее, соответствующие изоферменты, различающиеся по биохимическим свойствам, были обозначены как изоформы α , β и γ , при этом удалось установить, что α -енолаза присутствует в клетках с самыми разными типами дифференцировки, тогда как β -енолаза является специфичной для мышц, а γ -енолаза – для нервных клеток [65, 66]. Считается, что в клетках человека изоформы енолаз, как правило, представлены гомодимерами, например [54, 66, 67]. Однако имеются сведения о существовании и гетеродимеров с составами $\alpha\beta$ и $\alpha\gamma$.

Далее фактически ещё до начала широких исследований генома человека были идентифицированы и картированы три основных енолазных гена: *ENO1* (1p36.23) – для α -субъединиц, *ENO2* (12p13.31) – для γ -субъединиц, а *ENO3* (17p13.2) – для β -субъединиц, например, по [БД OMIM NCBI]. Таким образом, несоответствия в обозначениях двух указанных генов и их белковых продуктов (*ENO2* – для γ -субъединиц и *ENO3* – для β -субъединиц) сложились исторически, но сохраняются и в настоящее время. Известно

Таблица 1. Общие характеристики гексокиназ человека и их различных протеоформ, по [UniProt и OMIM NCBI]

Принятые названия и некоторые синонимы* (англоязычные наименования белков) и символы генов	Номера в UniProt / OMIM	Количество аминокислотных остатков (а.о.)	Проявления полиморфизма	
			Природные варианты****	ПТМ*****
Гексокиназа 1, мозговая изоформа (hexokinase-1, Brain form hexokinase) НК1	P19367 / 142600, 235700**, 605285**	917***	577	3
Гексокиназа 2, мышечная изоформа (hexokinase-2, Muscle form hexokinase) НК2	P52789 / 601125	917	797	3
Гексокиназа 3 (hexokinase-3) НК3	P52790 / 142570	923	965	1
Гексокиназа 4, глюкокиназа (hexokinase-4, glucokinase) НК4, GCK	P35557 / 138079, 125851**, 125853**	465***	588	нет данных
Белок 1, содержащий гексокиназный домен (hexokinase domain-containing protein 1) НКDC1	Q2TB90 / 617221	917***	916	нет данных

* Используются принятые названия, происходящие от названий белков на английском языке, и некоторые синонимы.

** Номера записей в OMIM NCBI о патологических синдромах, обусловленных мутациями в гене данного белка.

*** Известно о нескольких изоформах, различающихся размерами аминокислотных последовательностей:

P19367-1 – 917 а.о., P19367-2 – 916 а.о., P19367-3 – 921 а.о., P19367-4 – 905 а.о.;

P35557-1 – 465 а.о., P35557-2 – 466 а.о., P35557-3 – 464 а.о.;

Q2TB90-1 – 917 а.о., Q2TB90-2 – 806 а.о., Q2TB90-3 – 736 а.о.

**** Природные варианты – количество протеоформ, как правило, с единичными аминокислотными заменами, по UniProt.

***** ПТМ – количество возможных посттрансляционных модификаций аминокислотных остатков, по UniProt.

также о существовании в геноме человека еще одного енолазного гена – *ENO4*. Этот ген кодирует сперма-специфичную изоформу енолазы [A6NNW6 UniProt, 131375 OMIM NCBI]. Локализация гена *ENO4* установлена – 10q25.3. Из приведенных данных следует, что у человека имеется полилокусный полиморфизм енолазы.

Исследованиям енолаз человека посвящены многие тысячи публикаций. Так, поиск, проведенный по словам «human enolase», обнаружил в БД PubMed около 10 тысяч аннотированных работ, а в БД ScienceDirect – более 20 тысяч. Из этих гигантских материалов, обобщенных в БД UniProt, следует, что продукты экспрессии гена *ENO1* (P06733) присутствуют не только в цитозоле, но также в клеточных ядрах, мембранах и вне клеток

(в плазме крови), где они выполняют помимо каталитической функции ряд дополнительных. С учетом накопленных сведений многие авторы характеризуют указанные продукты как Б-С, которые способны связываться с ДНК и регулировать генную экспрессию, выступать в качестве рецептора плазминогена, а также участвовать в ряде патологических процессов. Более того, альфа-энолазу определяют и как онкомаркер, и как потенциальную мишень для химиотерапии некоторых злокачественных опухолей, например, [68].

Недавно появилось и прямое сообщение о том, что белковые продукты гена *ENO2* могут рассматриваться как Б-С [69]. Подобных данных о белках человека, биосинтез которых детерминируют гены *ENO3* и *ENO4*, пока найти не удалось.

ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Лактатдегидрогеназы (ЛДГ) человека представляют собой набор изоферментов, являющихся гомо- или гетеротетрамерами, в образовании которых участвуют соответственно одна или две субъединицы. Эти ферменты, катализирующие последнюю реакцию анаэробного гликолиза (Рис. 3), подробно изучены, их свойства приводятся во множестве традиционных учебников биохимии, например [51], а характеристики субъединиц в деталях описаны в БД UniProt (P00338; P07195; P07864). Очень краткие сведения из БД UniProt и OMIM NCBI об этих полипептидных цепях приводятся ниже.

В геноме человека выявлено три гена, кодирующих субъединицы ЛДГ – *LDHA*, *LDHB* и *LDHC*. Ген *LDHA* картирован на участке 11p15.4. Он экспрессируется во многих органах, но особенно активно в скелетных мышцах. Его белковый продукт называют – субъединица А или М (от «muscle»). Ген *LDHB* кодирует субъединицу, обозначаемую символами В или Н (от «heat»), его локализация установлена на участке 12p12.2-p12.1. Экспрессия гена *LDHB* также происходит во многих органах, но резко доминирует в сердечной мышце. Кроме того, известно, что в яйцях практически специфично осуществляется экспрессия гена *LDHC* (синоним *LDHX*, локализация – 11p15.5-p15.3) и соответствующая субъединица формирует гомотетрамер особой изоформы ЛДГ.

Таким образом, функционирование полиморфных ЛДГ человека характеризуется существенной тканевой специфичностью, что позволяет использовать изоформы ЛДГ в качестве биомаркеров некоторых видов патологии, например злокачественных опухолей [70, 71]. При этом ряд исследователей подчеркивали определенные особенности изоформ ЛДГ, дающие основания считать их не простыми индикаторами наличия опухоли, а учитывать вовлеченность указанных белков в активацию нескольких онкогенных сигнальных путей и приобретение многими опухолями инвазивности. Иными словами, функций, прямо не связанных с ферментным катализом.

Имеются сообщения о том, что изоформы ЛДГ – белковые продукты гена *LDHA* присутствуют в клеточных ядрах, где связываются с ДНК, взаимодействуют с некоторыми ДНК-полимеразами, стимулируют синтез ДНК и репарацию ДНК после УФ-облучения, например [72, 73]. Более того, некоторые авторы прямо относят белковые продукты гена *LDHA* к Б-С, которые в ядре выполняют функции регуляторного фактора, связывающегося транскрипционными комплексами [74]. Представляется важным отметить, что по данным Roseweir A.K. et al. (2019) [75] у пациентов с коло-ректальным раком именно ядерные протеоформы, детерминируемые геном *LDHA* (изоформа ЛДГ-5), ассоциированы с плохим прогнозом. Соответственно, можно думать, что значимый вклад в прогрессирование опухолей способны обеспечивать протеоформы ЛДГ, как регуляторные ядерные белки.

По материалам, приведенным в БД UniProt (P07195; P07864), белковые продукты генов *LDHB* и *LDHC*, имеющиеся в цитоплазме клеток, пока не были обнаружены в клеточных ядрах. В БД PubMed и ScienceDirect не удалось найти и указаний на наличие дополнительных функций у соответствующих изоферментов. Таким образом, по всей видимости из всех изоферментов ЛДГ человека только белковые продукты гена *LDHA* являются Б-С.

Подводя некоторый итог рассмотрения материалов о ферментах гликолиза, являющихся Б-С, представляется важным отметить, что недавно был опубликован подробный обзор по этой тематике, в котором также охарактеризованы как Б-С многие другие метаболические ферменты [18].

IV. БЕЛКИ-СОВМЕСТИТЕЛИ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ТРАНСЛЯЦИИ

Биосинтез белков, несомненно, одно из важнейших проявлений жизни, происходящее в результате целого комплекса взаимосвязанных молекулярных процессов, квинтэссенцией которых становится трансляция генетической информации, переписанной в нуклеотидные последовательности информационных РНК, в аминокислотные последовательности соответствующих белков, например [76]. Аппарат трансляции включает наиболее консервативные клеточные белки и РНК, которые рассматриваются как убедительные доказательства общего происхождения всех форм жизни [77, 78]. При этом считается, что процессы трансляции происходили на самых ранних этапах эволюции.

Исследования разных аспектов трансляции продолжаются в настоящее время [79, 80]. Установлено, что трансляция у эукариот идет не только в цитоплазме, но и в митохондриях, а у растений ещё и в хлоропластах, где существуют особые белок-синтезирующие системы с рибосомами, которые существенно отличаются от цитоплазматических. Хотя в третьей декаде XXI века сохраняется значительное внимание к белок-синтезирующим системам митохондрий и хлоропластов, рассматриваемые далее материалы будут касаться в основном исследований эукариотических рибосом и факторов трансляции, главные функции которых осуществляются в составе цитоплазматических полирибосомных комплексов.

РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ

Считается, что рибосомы по массе составляют основную часть полирибосомных комплексов и около 50% состава каждой рибосомы представляют собой несколько десятков отдельных рибосомных белков (РБ), например по [76, 81, 82]. РБ описываются как единичные сравнительно небольшие полипептидные цепи, количество которых в 80S рибосомах эукариот оценивается в 79–80 видов [83].

К настоящему времени после многих десятилетий интенсивных исследований РБ у организмов, принадлежащим трем так называемым главным доменам жизни (прокариоты, археи, эукариоты) был сделан ряд важных заключений [79, 80, 82]. Так, накопленные сведения об аминокислотных последовательностях и ряду других характеристик РБ бактерий, архей и эукариот показали высокую степень гомологии между ними. Это дало возможность, обобщить имеющиеся данные и предложить интегральную систему номенклатуры РБ, в создании которой приняли участие представители 25 научных организаций [82].

Предложенная система предусматривает присвоение гомологичным РБ одного и того же названия независимо от вида. Основу названий традиционно составляет про-

писная буква и цифра: SX или LY, где буквы – это символы принадлежности к малой субъединице (S от small) или к большой (L от large), а X и Y — целые числа. Кроме того, названия дополнялись специальными префиксами. С учетом того, что значительная часть РБ белков оказалась характерной для всех доменов жизни (бактерии, археи, и эукариоты), такие белки определяли префиксом «u», как универсальные РБ. Префикс «b» присваивали тем РБ, которые обнаруживались только у бактерий, а префикс «e» – белкам эукариот и архей. Для обозначения РБ митохондрий и хлоропластов предлагалось использовать суффиксы «m» и «c», соответственно (например, uL2m; uL2c).

Разработанная номенклатура подошла практически ко всем (за редкими исключениями) известным в то время РБ и в обобщающих таблицах суммарно оказалось 39 белков малых субъединиц и 61 белок больших субъединиц [82].

Однако далеко не во всех публикациях используется эта номенклатура, что создает определенные трудности при сравнительном анализе результатов, поскольку, например, в интегральной системе наименований имеется рибосомный белок с названием uL16, который среди рибосомных белков человека и дрожжей иногда обозначается L10 [82, 84].

Как итог, в рассматриваемой классификации нашли отражение разнообразные сведения о том, что у рибосомных белков, принадлежащих эволюционно весьма далеким организмам, регистрируется выраженная структурная консервативность, которая определяет и соответствующие функциональные свойства. Наличие структурной и функциональной консервативности большинства рибосомных белков этой группы позволяет предполагать, что они существовали уже на ранних стадиях эволюции [81, 85].

В эукариотических клетках для обеспечения биогенеза рибосом сначала многие десятки разных РБ должны синтезироваться в цитоплазме, затем транспортироваться в ядро и далее в ядрышко [79, 86–88]. Таким образом, до начала формирования рибосомных частиц РБ находятся в свободном состоянии и в частности в клеточной цитоплазме.

Далее биогенез эукариотических рибосом, начавшись в ядрышке, продолжается в цитоплазме, где к незрелым рибосомным частицам присоединяются определенные свободные РБ [79, 86–88]. После этого окончательно сформированные рибосомы включаются в полирибосомные комплексы и выполняют функцию трансляции.

В целом, накопленные данные свидетельствуют о наличии цитоплазматического пула РБ. Исследования свободных цитоплазматических РБ и их функций на протяжении нескольких десятилетий вели ученые разных стран, например [89–91]. Как результат, появились свидетельства того, что у отдельных РБ имеются так называемые нерибосомные или внерибосомные функции [79, 92–94]. В частности, в обзоре Wang W. et al. (2015) [94] была представлена таблица о РБ, обладающих или предположительно обладающих внерибосомными функциями. В эту таблицу были включены 21 РБ малой рибосомной субъединицы и 19 РБ большой рибосомной субъединицы. Особо следует отметить и то, что при различных нарушениях биогенеза рибосом в клетках наблюдалось накопление свободных рибосомных белков, которые также могут участвовать в выполнении внерибосомных функций [95, 96].

Схематически приведенные выше материалы о РБ обобщены на Рис. 4.

В качестве внерибосомных функций РБ отмечались участие в обеспечении клеточной пролиферации и дифференцировке, а также в процессах апоптоза и репарации ДНК [94]. Показано также, что некоторые из РБ выполняют свои внерибосомные функции, взаимодействуя с определенными цитоплазматическими и/или ядерными белками [90, 97]. Более того, находясь в свободном от рибосом состоянии, отдельные РБ могут подвер-

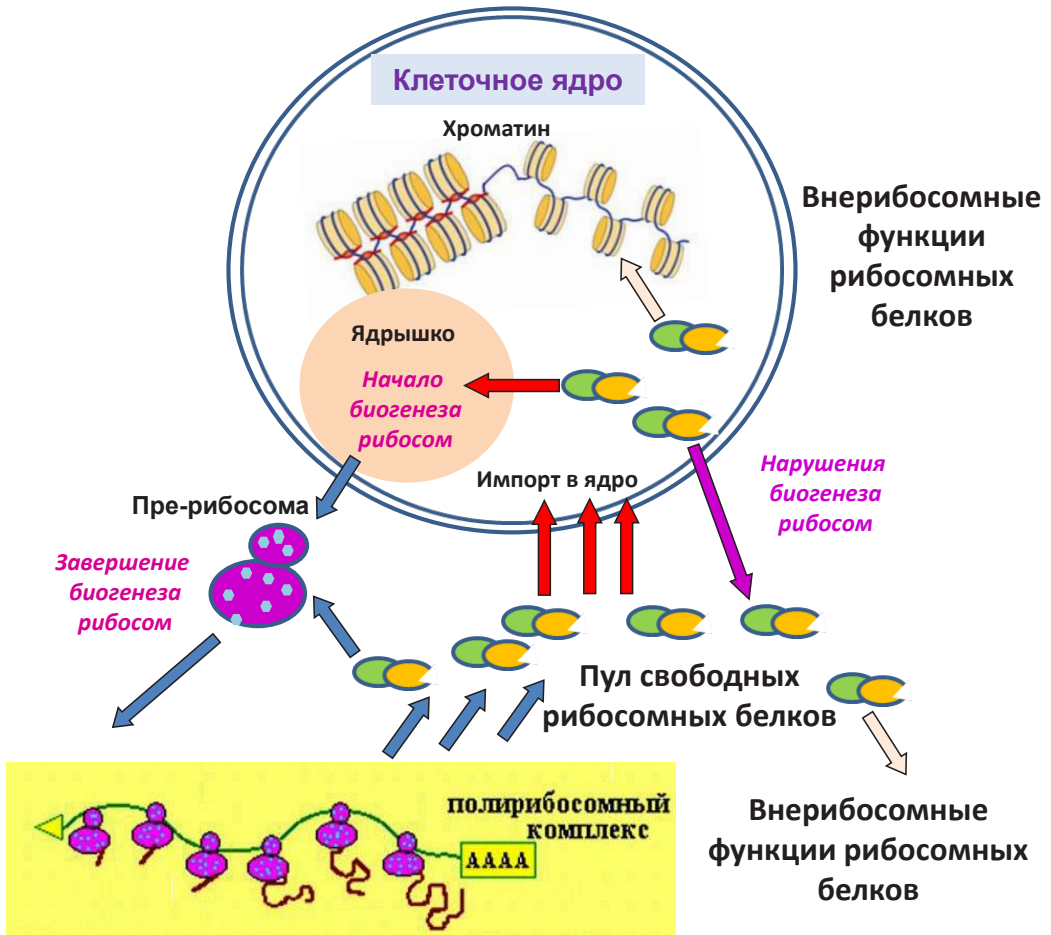


Рис. 4. Схема представлений о биосинтезе и транспорте рибосомных белков в клетках эукариот, по [86, 87].

Обозначения такие же, как и на Рис. 2.

гаться постсинтетическим модификациям (например, uS5) и выполнять различные вне-рибосомные функции, включая активацию p53-зависимых или p53-независимых путей в ответ на стресс. Кроме того, отмечалось, что РБ человека, обозначаемый как L13a (по интегральной номенклатуре – uL13), обладает внерибосомными функциями в клетках рака молочной железы [98]. К ключевым результатам подобных исследований работ можно отнести выявление роли свободных РБ (т.е. их внерибосомных функций) в процессах онкогенеза при различных типах опухолей, например [99].

Вне-рибосомным функциям нескольких РБ посвящен ряд публикаций отечественных авторов [100–102]. В их работах отмечено, что у эукариот белок S3 участвует в репарации ДНК, а также в избирательной регуляции активности генов, в индуцировании апоптоза и в других молекулярных процессах. Далее, эукариотический белок

S15 (по универсальной номенклатуре uS19) вне рибосом обладает функцией, связанной с участием в регуляции активности опухолевого супрессора p53. Кроме того, подчеркнуто, что мутации в гене белка S15, связаны с развитием определенных заболеваний человека (анемия Даймонда Блэкфана, хронический лимфоцитарный лейкоз, болезнь Паркинсона) [101]. Наконец, недавно Ochkasova A. et al. (2023) [102] рассмотрели возможные внерибосомные функции РБ эукариот, связанные с их участием в межклеточной коммуникации посредством внеклеточных везикул, в том числе экзосом.

Из имеющихся сведений можно сделать заключение о том, что у многих РБ выявлены внерибосомные функции, и, соответственно, их можно рассматривать как Б-С, например [79, 96, 103, 104]. Исследования РБ по данной проблематике продолжаются, и недавно Mołoj M. et al. (2023) [105] показали, что белок uL6a играет ключевую роль в ответе клеток на окислительный и осмотический стресс, т.е. тоже может расцениваться как Б-С.

ФАКТОРЫ ТРАНСЛЯЦИИ

Известно, что в функционировании цитоплазматических полирибосомных комплексов принимают участие несколько групп белковых факторов, необходимых для обеспечения определенных этапов трансляции (инициации, элонгации и терминации), среди которых у разных организмов идентифицированы Б-С, например [106, 107]. Считается, что, по меньшей мере, 12 белков, называемых факторами инициации эукариот (eIF), отвечают за инициацию трансляции, обеспечивая взаимодействие малой рибосомной субъединицы (40S) с 5'-нетранслируемыми участками (UTR) мРНК. Каноническая кэп-зависимая инициация трансляции включает связывание eIF4F с 7-метилгуанозинным кэпом (кэп m7G) на 5'-конце мРНК, а eIF4G1 играет центральную роль, действуя как многоцелевой рибосомный адаптер, соединяя другие eIF, такие как eIF4E и eIF4A в особые инициаторные комплексы [106, 107].

Начиная с первой декады XXI века, в литературе появляются публикации о том, что некоторые eIF присутствуют в ядрах, где они выполняют свои дополнительные функции, связанные с регуляцией транскрипции, процессингом и экспортом мРНК, например [106, 108]. При этом у отдельных eIF, взаимодействующих с 5'-кэпом мРНК и регулирующих глобальную трансляцию, оказались дополнительные функции, выражающиеся в способности связывать определенные белки вне полирибосомных комплексов [109]. Интересно, что имеется сообщение и о наличии эндорибонуклеазной активности у eIF5A, который считают высоко консервативным у эукариот и архей [110].

Среди множества работ, посвященных изучению трансляционных факторов элонгации эукариот (eEF), имеется ряд исследований, свидетельствующих о наличии дополнительных функций у этих белков, например [111–113]. Так, более двадцати лет назад Ejiri S. (2002) [111] в большом обзоре привел сведения о роли субъединиц eEF-1 не только в обеспечении трансляции в полирибосомных комплексах, но и о способности этих белков к связыванию актлина, а также при ядерной локализации к взаимодействию с белком цинковых пальцев R1.

Недавно показано, что у эукариотического фактора элонгации eEF1A2 есть сайты связывания с клеточными мембранами и мембранами внутриклеточных органелл, а кроме того у него обнаружена вовлеченность в отдельные молекулярные процессы [114]. Как следствие, цитированные авторы отметили, что с учетом новых материалов о ролях eEF1A2 в аутофагии, онкогенезе и вирусной репликации современные представления о

значении этого древнего белка уходят далеко от его канонической функции по доставке аминоксил-тРНК к рибосоме.

Представляется важным особо отметить недавний обзор Negrutskii B.S. et al. (2022) [113], в котором представлена сводка современных знаний о семействе факторов элонгации трансляции eEF1 у млекопитающих, полученных в результате многолетних исследований несколькими поколениями ученых. Negrutskii B.S. et al. (2022) [113] проанализировали данные о пространственной организации и посттрансляционных модификациях eEF1A1 и eEF1A2, а также привели примеры их участия в различных нетрансляционных процессах. Было подчеркнуто, что хотя два варианта eEF1A обладают сходной трансляционной активностью, они могут различаться в отношении своих дополнительных функций.

По мнению ряда авторов терминация является критическим этапом трансляции, в частности, потому, что преждевременный обрыв синтеза полипептидной цепи может привести к образованию токсичных укороченных полипептидов, например [115]. Обеспечивают терминацию трансляции три белка, называемые релизинг-факторами и обозначаемые как RF1, RF2 и RF3. По данным Chai B. et al. (2008) [116] эукариотический релизинг-фактор RF3 (eRF3) присутствует как в цитоплазме, так и в ядре, где, по-видимому, участвует в морфологической организации ядер. Соответственно, эти авторы предложили считать eRF3 полифункциональным белком с дополнительными ролями в процессе прекращения синтеза белка. Позднее было показано, что eRF3 действительно представляет собой многофункциональный белок, который играет ключевую роль в терминации трансляции, а также участвует в инициации распада мРНК и в регуляции апоптоза [117].

Таким образом, имеются убедительные материалы, свидетельствующие о том, что многие белки, вовлеченные в процессы трансляции (которые реализуются в цитоплазме), присутствуют и в клеточных ядрах, где они способны выполнять различные дополнительные функции.

V. БЕЛКИ ХРОМАТИНА С ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМИ ФУНКЦИЯМИ

Ядра эукариотических клеток описывают как крупные органеллы, в которых большую часть занимает хроматин, содержащий геномную ДНК, гистоновые и негистоновые белки, а также различные виды РНК [118, 119]. Хроматин представляется весьма динамичным образованием, в котором выделяют различные структурные элементы (называемые «областями», «компартаментами», «территориями» и др., например по [119]). Традиционно считается, что в хроматине имеются две основные области: эухроматин и гетерохроматин. В целом, эухроматин определяется как менее плотные геномные области, которые обогащены транскрипционно активными генами, а гетерохроматин – как состоящий из плотных геномных областей, где имеются транскрипционно неактивные гены [120, 121]. Среди множества компонентов хроматина выявлены белки, имеющие кроме ядерной и другие локализации, у которых наряду с функциями поддержания структуры хроматина обнаруживаются и дополнительные функции. Иными словами, некоторые из белков хроматина характеризуют как мультифункциональные, а отдельные прямо относят к Б-С. Считается, что выраженный полиморфизм белков хроматина представляет собой результат целенаправленной эволюции [122–124].

ГИСТОНЫ

Основные гистоны позвоночных, включая человека (H1, H2A, H2B, H3 и H4), относят к числу наиболее хорошо изученных эукариотических белков, которые обеспечивают основу для формирования хроматина путем достаточно специфичного взаимодействия с геномной ДНК, например [125–127]. В этом взаимодействии четыре пары гистонов H2A, H2B, H3 и H4, которые иногда называют коровыми гистонами, образуют особые октамерные комплексы – нуклеосомы. По существующим оценкам вокруг каждой нуклеосомы молекула ДНК совершает 1,67 оборота (147 п.н.), а гистону H1 приписывают роль межнуклеосомного линкера.

Гистоны относят к древним белкам, предшественники которых первоначально появились, по-видимому, у так называемого последнего универсального общего предка [126, 128]. Затем симбиоз древних бактерий и архей привел к появлению эукариотических клеток, у которых продолжилось формирование набора гистонов, что обеспечило возможность движения эволюции по пути увеличения размеров геномов [124, 126].

Известно, что характерной особенностью строения белок-кодирующих генов эукариот является экзон-интронная структура, тогда как подобные гены прокариот не содержат интронов. Однако и у высших эукариот имеются безинтронные гены. В частности, по существующим оценкам в геноме человека такие гены составляют около 3%, а среди них ~ 20% принадлежит гистоновым генам [122]. Иными словами, можно думать, что гены гистонов эукариот, прошедшие длинный путь эволюции, сохраняют некоторые признаки генов – аналогов, которые обнаруживаются у прокариот.

О некоторых особенностях эволюции гистоновых генов на пути от одноклеточных эукариот до многоклеточных организмов можно судить, например, сравнивая геномы дрожжей и человека.

Сообщалось [129], что в геноме *Saccharomyces cerevisiae* обнаружены гены, кодирующие гистоны H2A, H2B, H3, H4, которые организованы в четыре локуса (НТА1-НТВ1; НТА2-НТВ2; ННТ1-ННФ1; ННТ2-ННФ2), содержащие по два гена гистонов, дивергентно транскрибируемых с центрального промотора. При этом оказалось, что два гена, детерминирующие биосинтез гистона H2A, несколько отличаются друг от друга, в результате у *Saccharomyces cerevisiae* образуются две изоформы данного белка. Такая же ситуация имеет место и для гистона H2B. Однако в локусах ННТ1-ННФ1 и ННТ2-ННФ2 присутствуют по паре одинаковых генов, которые кодируют идентичные белки H3 и H4. Кроме того, ещё идентифицировано три гена гистонов, кодирующих белки H1 (ННО1), H2AZ (близкий вариант H2A) и особый центромерный H3 (CSE4). Итого, в геноме *Saccharomyces cerevisiae* суммарно найдено 11 гистоновых генов [129].

Важно отметить, что по материалам, приведенным в БД UniProt, некоторые гистоны дрожжей наряду с основными структурными функциями выполняют и дополнительные – связанные с репарацией повреждений ДНК (например, P04911 UniProt) или регуляцией транскрипции (Q12692 UniProt).

Отличие от генома дрожжей, в геноме человека было выявлено более 70 гистоновых генов и ещё ряд псевдогенов [127, 130]. Показано, что эти гены тоже формируют четыре кластера и кодируют белки, образующие пять соответствующих семейств (H1, H2A, H2B, H3, H4) [127, 130, 131]. Самый большой кластер генов гистонов расположен на хромосоме 6 (локус HIST1) и ещё три кластера (локусы HIST2, HIST3 и HIST4) – на других хромосомах (по БД OMIM NCBI). При этом оказалось, что гистоновые гены и

кодируемые белки, составляющие соответствующие семейства, во многом похожи, но далеко не идентичны (например, по БД UniProt, Таблица 2).

Таблица 2. Общие характеристики семейства гистонов H1 человека, их генов и проявления полиморфизма по [130], а также по БД UniProt и OMIM NCBI

Обозначения гистонов* (англоязычные наименования и синонимы), <i>символы генов</i>	Номера в UniProt / OMIM (хромосомная локализация)	Количество аминокислотных остатков	Природные варианты***	Количество аминокислотных остатков с ПТМ****
H1.0 [Histone H1.0, Histone H1', Histone H1(0)] H1-0, H1F0, H1FV	P07305**, 142708 (22q13.1)	194	156	6
H1.1 [Histone H1.1, Histone H1a] <i>H1-1, H1F1, HIST1H1A</i>	Q02539, 142709 (6p22.2)	215	352	более 20
H1.2 [Histone H1.2, Histone H1c, Histone H1d, Histone H1s-1] <i>H1-2, H1F2, HIST1H1C</i>	P16403, 142710 (6p22.2)	213	596	более 50
H1.3 [Histone H1.3, Histone H1c, Histone H1s-2] <i>H1-3, H1F3, HIST1H1D</i>	P16402, 142210 (6p22.2)	221	70	более 25
H1.4 [Histone H1.4, Histone H1b Histone H1s-4] <i>H1-4, H1F4, HIST1H1E</i>	P10412, 142220 (6p22.2)	219	123	более 30
H1.5 [Histone H1.5, Histone H1a Histone H1b, Histone H1s-3] <i>H1-5, H1F5, HIST1H1B</i>	P16401, 142711 (6p22.2)	226	410	более 30
H1.6 [Histone H1t, Testicular H1 histone] <i>H1-6, H1FT, HIT, HIST1H1T</i>	P22492, 142712 (6p22.2)	207	47	более 10
H1.7 [Histone H1.7, Testis-specific H1 histone, Haploid germ cell-specific nuclear protein 1, Histone H1t2] <i>H1-7, H1FNT, HANP1</i>	Q75WM6, 618565 (12q13.11)	255	305	1
H1.8 [Histone H1.8, Histone H1oo, osH1] <i>H1-8, H1FOO, H1OO, OSH1</i>	Q81ZA3****, 142709 (6p22.2)	346	321	нет данных
H1.10 [Histone H1.10, Histone H1x] <i>H1-10, H1FX</i>	Q92522, 602785 (3q21.3)	213	189	более 10

* Обозначения гистонов приведены по новой стандартизированной номенклатуре [130].

** Имеются основания предполагать возможность образования двух изоформ P07305-1 и P07305-2 за счет посттранскрипционной модификации пре-мРНК гистона H1.0

*** ПТМ – количество возможных посттрансляционных модификаций аминокислотных остатков, по UniProt.

*** Природные варианты – количество протеоформ, как правило, с единичными аминокислотными заменами, по UniProt.

**** По материалам Q81ZA3 UniProt известно о двух изоформах, различающихся размерами аминокислотных последовательностей: Q81ZA3-1 – 346 а.о., Q81ZA3-2 – 207 а.о.

Кроме того, отмечено, что гистон H1.8 локализуется и в клеточном ядре, и в цитоплазме.

Представляется важным отметить, что в литературе имеются различные классификации и обозначения индивидуальных гистоновых генов и самих гистонов. Для преодоления возникающих из-за этого трудностей и несогласованностей предпринималось несколько попыток унификации используемых обозначений, а недавно была опубликована новая стандартизированная номенклатура гистоновых генов человека и мыши [130]. Эта номенклатура, охватывающая данные о таких генах и белках человека, создавалась при участии Комитета по номенклатуре, существующего при организации «Геном человека» (Human Genome Organization Nomenclature Committee, HGNC). Тем не менее, во многих источниках, включая БД UniProt и OMIM NCBI, сохраняются разнообразные названия представителей гистоновых семейств, что необходимо учитывать при анализе литературных материалов. Ниже в качестве примера в Таблице 2 приведены общие характеристики семейства гистонов H1 человека, их генов и проявления полиморфизма.

Из сведений, содержащихся в БД UniProt, следует, что все представители семейства гистонов H1 выполняют в структуре хроматина сходные функции, связываясь с участками ДНК, которые располагаются между нуклеосомами, и обеспечивают благодаря этому формирование макромолекулярной структуры, известной как хроматиновое волокно. Кроме того, для некоторых гистонов H1 указаны функции регуляторов транскрипции отдельных генов, которые связывают с ремоделированием хроматина и метилированием ДНК (например, по P16403, P16402 UniProt).

Интересно, что отдельные гистоны H1 имеют отношение и к функции сплайсинга [132, 133]. В частности, гистон H1.5 обладает способностью связываться с ДНК через сайты сплайсинга коротких экзонов в фибробластах легких человека. В итоге было сделано заключение о том, что H1.5 участвует в регуляции выбора сайта сплайсинга и альтернативного сплайсинга, т.е. обладает дополнительной функцией [132]. Далее недавно в модельных экспериментах было показано, что гистон H1.2 проявляет «высокое сродство» к экзонам, тогда как H1.3 связывает интронные последовательности [133]. В результате благодаря их влиянию на элонгацию, осуществляемую РНК-полимеразой II, возникают условия для пропуска экзонов и/или удержания интронов.

Представляется важным подчеркнуть, что представители семейства гистонов H1 человека при сходных общих функциях существенно различаются по размерам аминокислотных цепей (Таблица 2), и у некоторых их генов отмечается определенная специфичность экспрессии. По материалам БД UniProt экспрессия большинства генов семейства гистонов H1 сопровождается появлением сотен протеоформ, обладающих, как правило, единичными аминокислотными заменами, а также разнообразными посттрансляционными модификациями аминокислотных остатков. Соответственно, можно считать, что, во-первых, многочисленные изоформы и варианты гистонов H1 являются продуктами длительной эволюции, а, во-вторых, ряд из них выполняют не только структурные функции в составе хроматина, но и имеют различные дополнительные функции.

Ситуация с коровыми гистонами человека существенно сложнее, чем с гистонами H1. В геноме человека обнаружены целые спектры генов, которые детерминируют биосинтезы значительных наборов изоформ и вариантов гистонов H2A, H2B, H3, H4. Эти сведения продолжают уточняться. Например, в публикации 2020 года сообщалось о 17 генах человека, кодирующих гистоны H2A [134], а в работе 2022 года указаны уже более 26 таких генов (правда, к некоторым из них есть примечание «вариант гистона H1 или H3») [130]. В БД UniProt при описании функций многих коровых гистонов человека, например гистона H2A тип 2-B (Q8IUE6 UniProt) приводится следующее описание:

«Основной компонент нуклеосомы. Нуклеосомы оборачивают и уплотняют ДНК в хроматине, ограничивая доступность ДНК для клеточных механизмов, которым ДНК требуется в качестве матрицы. Таким образом, гистоны играют центральную роль в регуляции транскрипции, репарации ДНК, репликации ДНК и стабильности хромосом. Доступность ДНК регулируется посредством сложного набора посттрансляционных модификаций гистонов, также называемых гистоновым кодом...». Иными словами, подчеркивается, что у этих белков наряду с основной структурной функцией есть и ряд дополнительных. Представляется целесообразным отметить, что только функции, которую называют гистоновым кодом, посвящены тысячи публикаций, например [135].

Известно, что гистоны синтезируются в цитоплазме, а затем транспортируются через нуклеолемму в ядро [136]. Ядерный импорт гистонов осуществляется с помощью белков семейства кариеферинных ядерных транспортных рецепторов, также известных как импортины. Таким образом, после синтеза некоторое время гистоны существуют вне хроматина и, очевидно, могут выполнять внехроматиновые функции.

В отдельных публикациях сообщалось о присутствии свободных гистонов в цитоплазме клеток. В частности, ещё в конце XX века Zlatanova J.S. et al. (1990) [137] представили данные о существовании цитоплазматического пула гистонов H1, отметив, что коровых гистонов в цитоплазме им обнаружить не удалось. Однако недавно появились сообщения о наличии в цитоплазме клеток гистонов H3 и H4, где они связываются с определенными импортинами перед транспортом в клеточное ядро [138, 139]. Присутствие основных гистонов (H1, H2A, H2B, H3, H4) в составе плазматических мембран отмечалось в работах ряда авторов, которые рассматривали это как довод о вероятном наличии у гистонов дополнительных внехроматиновых функций [127, 140, 141]. Кроме того, гистоны были обнаружены у млекопитающих и вне клеток в кровотоке, где они выступали в качестве факторов воспаления, непосредственно повреждая эндотелиальные клетки, а также клетки различных органов [142].

В целом, по всей видимости, некоторые гистоны не только выполняют структурные и регуляторные функции в составе хроматина, но могут играть и различные роли вне хроматина.

НЕГИСТОНОВЫЕ БЕЛКИ ХРОМАТИНА

Термин «негистоновые белки хроматина» (НБХ) используется уже более полувека для обозначения большой группы белков, способных связываться с хроматином, но различающихся по строению и функциям. К НБХ традиционно относят три семейства белков высокой подвижности, которые часто обозначают аббревиатурами HMGА, HMGВ, HMGN (от high mobility group A, B, N), например [143–145]. Белки этих семейств считаются структурными компонентами и факторами архитектуры хроматина, однако они по-разному взаимодействуют с геномной ДНК и гистонами.

У человека обнаружен ряд протеоформ, относящихся к семейству HMGА, которые являются белковыми продуктами экспрессии двух генов (*HMGА1* и *HMGА2*). При этом функционирование каждого гена ведет к образованию десятков протеоформ вследствие точечных мутаций, альтернативного сплайсинга и постсинтетических модификаций, по P17096 и P52926 UniProt. Из приводимых данных следует, что соответствующие белки способны связываться с А+Т – богатыми участками геномной ДНК, участвовать в ремоделировании хроматина, взаимодействовать с транскрипционными факторами, обеспечивая регуляцию экспрессии различных генов и др.

Представляется важным отметить и то, что для белковых продуктов гена *HMGA1* установлена локализация в ядре и нуклеоплазме, а также и в цитоплазме (P17096 UniProt).

По имеющимся данным белки семейства HMGA выполняют свои функциональные роли главным образом во время эмбрионального развития, когда экспрессия указанных генов достаточно высока, после чего их функционирование в нормальных тканях взрослых становится низким или отсутствует, например [146]. Однако белки семейства HMGA присутствуют в значительных количествах в злокачественных опухолях человека, что рассматривается как указание на их вовлеченность в процессы канцерогенеза и плохой прогностический показатель.

Накопленные сведения о белках семейства HMGA дали основания считать их мультифункциональными [147]. Более того, недавно было обнаружено, что клетки рака молочной железы способны секретировать продукт экспрессии гена *HMGA1*, который вне клеток способен функционировать как ростовой фактор, и это позволило отнести указанный белок к Б-С [42].

Белки семейства HMGB человека кодируются четырьмя генами (*HMGB1*, *HMGB2*, *HMGB3*, *HMGB4*), и в результате экспрессии каждого из них образуется по несколько протеоформ. Так, белковые продукты гена *HMGB1* представляют собой четыре проверенных варианта с 26 постсинтетическими модификациями (P09429 UniProt). Они локализованы в разных клеточных компартментах (ядро, цитоплазма, клеточные мембраны и др.), где выполняют разные функции. Кроме того, показана секреция этих белков во внеклеточную среду с функционированием в качестве цитокина. Соответственно, по мнению ряда авторов белковые продукты гена *HMGB1* являются Б-С [148].

В геноме человека обнаружено пять генов, кодирующих белки HMGN, свойства которых описаны в базе данных UniProt (*HMGN1* – P05114, *HMGN2* – P05204, *HMGN3* – Q15651, *HMGN4* – O00479, *HMGN5* – P82970). Экспрессия каждого из перечисленных генов приводит к образованию нескольких протеоформ за счет постсинтетических модификаций. Однако пока найдены только две изоформы, которые детерминируются геном *HMGN3*. Отмечено также, что протеоформы, детерминированные тремя генами, локализованы в разных клеточных компартментах: *HMGN1* и *HMGN2* в клеточных ядрах, нуклеоплазме и цитоплазме, а *HMGN3* – в клеточных ядрах, нуклеоплазме и митохондриях.

Белки HMGN синтезируются во всех клетках позвоночных. При функционировании они связываются с нуклеосомами, а также с регуляторными сайтами хроматина, включая энхансеры и промоторы [144]. Имеются и прямые данные о мультифункциональности у млекопитающих продуктов экспрессии гена *HMGN1* [149].

ХРОМАТИН И ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ

К настоящему времени накоплено множество данных о взаимодействиях хроматина с сотнями транскрипционных факторов, в результате чего происходят определенные структурные перестройки и изменения хроматина. К факторам транскрипции относят белки, способные «узнавать» и связываться со специфичными ДНК-последовательностями, обеспечивая регуляцию транскрипции, например [123]. Считается, что специфичность ДНК-связывания транскрипционных факторов определяется, с одной стороны, присутствием в их полипептидных последовательностях особых ДНК-связывающих доменов,

а, с другой стороны, наличием в полинуклеотидных цепях ДНК наборов родственных коротких последовательностей (мотивов или сайтов), узнаваемых определенными факторами [123].

Имеются прямые данные, что отдельные транскрипционные факторы наряду со своим каноническим функциям обладают и дополнительными функциями. Так, транскрипционный фактор ATF5 (AMP-dependent transcription factor, ATF-5, по Q9Y2D1 UniProt), способный либо стимулировать, либо подавлять экспрессию определенных генов, необходим и для обеспечения различных стадий митоза. Он выступает как Б-С в сборке и функционировании centrosом, особых органелл в клетках эукариот [150].

Среди транскрипционных факторов известны белки с неупорядоченной структурой, способные к олигомеризации и взаимодействиям с другими белками или низкомолекулярными лигандами при осуществлении своих функций (активации или репрессии генов), например, YY1 [151]. По существующим данным YY1 связывает специфический мотив ДНК, присутствующий в регуляторных элементах многих генов. Соответственно этот фактор представляет собой плейотропный регулятор ряда клеточных процессов – клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптоза.

Кроме того, показано, что некоторые из подобных транскрипционных факторов, а также отдельные участники (субъединицы) олигомерных транскрипционных комплексов вовлечены в процессы канцерогенеза и их характеризуют как онкобелки [151, 152]. Так, белок c-Fos человека, локализуясь в клеточных ядрах, образует прочный, но нековалентно связанный комплекс с транскрипционным фактором JUN/AP-1 и участвует в регуляции генной транскрипции (по P01100 UniProt). Однако показано его присутствие и в эндоплазматическом ретикулуме, и в цитоплазме. У белка c-Fos при неядерной локализации была выявлена способность активировать синтез цитоплазматических липидов в клетках центральной нервной системы и поддерживать нейрональную активность, что дало основание отнести его к Б-С [152].

КБ-С относят и транскрипционный фактор EB (по P19484 UniProt – Class E basic helix-loop-helix protein 35, TFEВ, bHLHe35), который специфически распознает и связывает в молекулах ДНК последовательность 5'-GTCACGTGAC-3'. Эта последовательность присутствует в регуляторных областях многих генов, обеспечивающих биогенез и функционирование лизосом. Естественно, что для выполнения своей главной функции транскрипционный фактор EB должен иметь ядерную локализацию, однако значительная часть этого белка присутствует в цитоплазме, где он находится в составе специфического комплекса, ассоциированного с лизосомами [153]. Наконец, в недавнем обзоре были обобщены различные данные о том, что транскрипционный фактор EB способен менять клеточную локализацию, и при этом действует не только как фактор транскрипции, но и выполняет дополнительные функции [38].

Таким образом, многие белки человека, которые входят в состав хроматина или взаимодействуют с хроматином при функционировании, обладают дополнительными функциями. Некоторые из них прямо считают Б-С, а ряд других, по видимому, по формальным признакам тоже можно рассматривать как Б-С.

VI. БЕЛКИ-СОВМЕСТИТЕЛИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

В современных представлениях о возникновении жизни особое внимание уделяется шагам, которые обеспечили переход от пребиотической стадии к формированию клеточных форм, благодаря появлению клеточных мембран, например [154, 155]. Предполагается, что принципиальным условием для этого должно было стать появление источника амфифильных соединений, способных собираться в мембранные компартменты. Соответственно, проводятся модельные исследования самосборки простых мембран протоклеток как предпосылки начала клеточного метаболизма и фактически жизни на ранней Земле [155].

Считается, что мембранные белки, встроенные в липидный бислой (трансмембранные белки, ТМБ), имеют решающее значение для стабильности мембран и осуществления многих клеточных функций, поскольку они способны взаимодействовать и с окружающей средой и с внутриклеточными компонентами. Полипептидные цепи ТМБ могут располагаться таким образом, что они однократно пересекают липидный бислой (single pass membrane proteins) и как следствие их N-концевой участок оказывается во внеклеточной среде, а С-концевой – в цитоплазме (класс I) или наоборот (класс II) [156]. Известны также ТМБ, у которых полипептидные цепи многократно пересекают липидный бислой (multi pass membrane proteins) [156, 157].

В полипептидных цепях ТМБ, характеризующихся как «single pass membrane protein», обычно присутствует несколько доменов, каждый из которых выполняет свою специфическую функцию. Иными словами, такие белки являются мультифункциональными, но по принятым правилам их не относят к Б-С. Вместе с тем показано, что некоторые «multi pass membrane proteins» локализируются не только в структуре клеточных мембран, но и в цитоплазме, как например, эпителиальный мембранный белок 2 (EMP2) по [P54851 UniProt]. Более того, отмечено, что этот небольшой белок наряду с мембранными функциями обладает и рядом дополнительных функций, в частности, связанными с регуляцией функционирования отдельных сигнальных путей и вовлеченностью в канцерогенез [158].

Определенное внимание среди ТМБ как Б-С привлекают так называемые эктоферменты, представляющие собой мембраносвязанные ферменты, каталитический центр которых находится вне клетки [23]. В частности, известно, что один из таких ферментов – аминопептидаза N (CD13), являющаяся Zn^{+2} -зависимой металлопротеиназой, катализирует гидролиз различных пептидов, но также может играть роль в транспорте аминокислот, участвовать в ангиогенезе и выступать в качестве рецептора человеческого коронавируса (по P15144 UniProt). Описаны также как Б-С определенные ТМБ человека, выступающие как транспортеры Zn^{+2} и способные выполнять различные дополнительные функции [159, 160]. Отмечается, что транспортеры Zn^{+2} у млекопитающих, включая человека, представляют собой достаточно большое белковое семейство, сформировавшееся в процессе длительной эволюции, представители которого присутствуют в разных клеточных мембранах. Они способны образовывать олигомерные комплексы и участвовать во многих процессах сигналинга. В геноме человека обнаружено более десятка генов, кодирующих транспортеры Zn^{+2} . В качестве примера многообразия свойств и клеточной локализации можно указать на материалы, приведенные в БД UniProt для транспортера Zn^{+2} ZnT-1 (синоним – Proton-coupled zinc antiporter SLC30A1), по Q9Y6M5 UniProt.

В целом, с учетом того, что мембранные белки могут составлять до 30% всех белков человека (например, по [156]), вероятно общий объем сведений о тех из них, которые следует относить в Б-С, будет увеличиваться.

VII. СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ О БЕЛКАХ-СОВМЕСТИТЕЛЯХ

Во второй декаде XXI века накопление знаний о Б-С в сочетании с развитием постгеномных научных дисциплин и биоинформатики, стали побудительными причинами для того, чтобы начались работы по созданию специализированных БД о Б-С.

Так, в конце 2014 г. была направлена в печать работа с описанием специализированной БД, содержащей сведения о Б-С, которая была сформирована в иллинойском университете (США) и получила название «MoonProt». Эта работа была опубликована в начале 2015 г. [161], она включала материалы об экспериментально подтвержденных 200 Б-С. Представляется важным подчеркнуть, что среди авторов этой статьи была Constance J. Jeffery. Далее выходили новые версии БД MoonProt и версия 3.0 содержала уже аннотации о свойствах более 500 Б-С, принадлежащих самым разным организмам [35].

Практически параллельно с американскими исследователями группой испанских авторов была сформирована и начала использоваться другая БД, названная MultitaskProtDB, которая содержала обобщенные сведения о нескольких сотнях известных Б-С [36, 162]. По мнению разработчиков, MultitaskProtDB открыла возможности для определения подобных белков путем анализа их структурных и функциональных характеристик из многих других баз данных с помощью различных биоинформационных технологий. В версии 2018 г. (MultitaskProtDB-II) количество записей достигло 694 Б-С [162]. В её формировании наряду с испанскими авторами приняли участие и исследователи из Уругвая. В MultitaskProtDB-II был заметно расширен список источников, материалы которых анализировали разработчики. Кроме того, были включены новые сведения из публикаций, представленных БД PubMed, а также в новых версиях UniProt. Особое внимание разработчики уделили материалам и из ряда других БД, среди которых были особо отмечены Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Human Gene Mutation Database (HGMD), the Therapeutic Target Database (TTD) и the DrugBank database. Определенное расширение получил используемый биоинформационный инструментарий. MultitaskProtDB-II доступна Интернет-пользователям (адрес: <http://wallace.uab.es/multitaskII>).

Во второй декаде XXI века и во Франции была сформирована собственная специализированная БД о «чрезвычайно многофункциональных» белках человека, включая Б-С, получившая название MoonDB [163, 164]. В этой работе активно использовались публикации по изучению белок – белковых взаимодействий («interactions»), которые привели к появлению особых «интерактомных» данных о свойствах Б-С. Как следствие, разработчики, комбинируя различную сетевую информацию с материалами из аннотаций белков, имевшихся в нескольких базах данных (включая, например, OMIM NCBI), отобрали (идентифицировали) 430 экстремально многофункциональных белков. В версию БД MoonDB 2.0 (<http://moondb.hb.univ-amu.fr/>) вошли сведения не только о Б-С человека, но и о подобных белках ещё нескольких эукариот, чьи геномы полностью секвенированы [164]. Кроме того, интерфейс второй версии MoonDB авторы полностью переработали и улучшили, а в имеющиеся записи были включены перекрестные ссылки на БД UniProt.

Далее следует отметить публикацию китайских исследователей о создании специализированной БД PlantMP, в которой собраны сведения о Б-С растений [165]. В неё включены материалы о 110 известных растительных Б-С, а также о 10 «вероятных» Б-С и 27 «предполагаемых совместителях». В PlantMP используются идентификаторы и обозначения UniProt, что открывает возможности для поиска канонических и дополнительные функции белков. Кроме того, в БД PlantMP приводятся соответствующие ссылки на статьи, индексированные БД PubMed. Разработчики высказали мнение, что организация материалов о Б-С растений на одной платформе позволит исследователям удобно собирать необработанные и обработанные данные о конкретных растениях, включая сведения о молекулярных функциях и структурных особенностях, необходимых для формулирования гипотез в фундаментальных исследованиях и для биотехнологических инноваций.

Наконец, недавно появилось еще одно сообщение о разработанной в Италии специализированной БД, названной MultifacetedProtDB, которая включала развернутую информацию о Б-С человека [166]. В этой новой БД имеются сведения не только о Б-С, но о многих других мультифункциональных белках. Очевидно, что MultifacetedProtDB позволит оптимизировать исследования Б-С и мультифункциональных белков. MultifacetedProtDB расположена по адресу: <https://multifacetedprotdb.biocomp.unibo.it/>.

По-видимому, можно считать, что создание различных БД, в которых интегрирована существующая информация о Б-С, открывает широкие возможности для целенаправленного изучения участия указанных белков в различных многофакторных биологических процессах, таких как сигналинг и регуляция метаболизма, генная экспрессия и клеточные коммуникации, что принципиально важно для изучения патогенеза многих заболеваний.

С сожалением приходится констатировать, что пока не удалось найти сообщений о подобных отечественных БД.

VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный анализ свидетельствует о том, что в настоящее время исследования Б-С составили целое научное направление, в рамках которого изучаются вопросы, относящиеся как к теоретической биохимии, так и к решениям различных прикладных задач, связанных, например, с диагностикой социально-значимых заболеваний.

Так, для теоретической биохимии значительный интерес представляет формирование представлений о том, за счет чего, когда и как появились особые мультифункциональные белки, состоящие из одной полипептидной цепи, но обладающие несколькими функциями, которые в своей структуре не имеют разных доменов для обеспечения этих функций, т.е. Б-С. Одним из возможных объяснений могли бы послужить материалы о внутренне неупорядоченных белках, третичная структура которых способна существенно меняться в зависимости от окружающих условий. Феномен переключения функций у Б-С, по крайней мере, в некоторых случаях вероятно связан с подобными изменениями. Однако насколько такой механизм универсален или распространен, требуется еще доказывать.

Представляется важным особо отметить теоретический вопрос о появлении дополнительных функций у Б-С. Уже в ранних публикациях (например, [10]) высказывалось мнение о том, что дополнительные функции могли стать результатом молекулярной эволюции. Однако существует и альтернативная точка зрения, согласно которой,

напротив, древним белкам могла быть присуща мультифункциональность, а эволюция привела к появлению белков с уникально специализированными функциями. К этой точке зрения склоняется и автор данной статьи.

Многие исследования Б-С, которые рассматриваются как особая группа мультифункциональных белков, ориентированы на изучение молекулярных основ патогенеза распространенных заболеваний, включая злокачественные опухоли. Считается, что в результате могут быть выявлены перспективные диагностические маркеры и/или молекулярные мишени для разработок новых эффективных методов лечения. С подобными целями в ряде стран (США, Испании, Франции, Китае, Италии) созданы и используются специализированные БД, содержащие сведения о Б-С.

Таким образом, собранные материалы позволяют надеяться, что исследования Б-С и в нашей стране в ближайшей перспективе получат значительное развитие, чему могло бы способствовать построение соответствующей отечественной специализированной БД.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Smith, L.M., Kelleher, N.L.; Consortium for Top Down Proteomics. (2013) Proteoform: a single term describing protein complexity. *Nature Methods*, **10**(3), 186–187. doi:10.1038/nmeth.2369.
2. Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I.T., Klíma, M., Renaut, J. (2021) Plant Proteoforms Under Environmental Stress: Functional Proteins Arising From a Single Gene. *Frontiers in Plant Science*, **12**, 793113. doi: 10.3389/fpls.2021.793113.
3. Fedorova, A.D., Kiniry, S.J., Andreev, D.E., Mudge, J.M., Baranov, P.V. (2022) Thousands of human non-AUG extended proteoforms lack evidence of evolutionary selection among mammals. *Nature Communications*, **13**(1), 7910. doi: 10.1038/s41467-022-35595-6.
4. Шишкин С.С. Полиморфизм некоторых ферментов и регуляторных белков человека (Биомедицинские аспекты). (2021) М.: Изд-во Ваш Формат. 584с. ISBN 978-5-00147-295-7.
5. Zhang, J., Yang, J.R. (2015) Determinants of the rate of protein sequence evolution. *Nature Reviews Genetics*, **16**(7), 409–420.
6. Mustafa, G., Mahrosh, H.S., Arif, R. (2021) Sequence and Structural Characterization of Toll-Like Receptor 6 from Human and Related Species. *BioMed Research International*, **2021**, 5545183. doi: 10.1155/2021/5545183.
7. van Eck, N.J., Waltman, L. (2010) Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*. **84**(2). 523–538.
8. Arruda. H., Silva, E.R., Lessa, M., Proença, D. Jr., Bartholo R. (2022) VOSviewer and Bibliometrix. *Journal of the Medical Library Association*, **110**(3), 392–395.
9. Cao, H., Ou H., Ju, W., Pan, M., Xue, H., Zhu, F. (2023) Visual Analysis of International Environmental Security Management Research (1997–2021) Based on VOSviewer and CiteSpace. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **20**(3), 2601. doi: 10.3390/ijerph20032601.
10. Jeffery, C.J. (1999) Moonlighting proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, **24**(1), 8–11.
11. Copley, S.D. (2014) An evolutionary perspective on protein moonlighting. *Biochemical Society Transactions*, **42**(6), 1684–1691.

12. Huerta, M., Franco-Serrano, L., Amela, I., Perez-Pons, J.A., Pinol, J., Mozo-Villarias, A., Querol, E., Cedano, J. (2023) Role of Moonlighting Proteins in Disease: Analyzing the Contribution of Canonical and Moonlighting Functions in Disease Progression. *Cells*, **12**(2), 235. doi: 10.3390/cells12020235.
13. Bourke, A.M., Schwarz, A., Schuman, E.M. (2023) De-centralizing the Central Dogma: mRNA translation in space and time. *Molecular Cell*, **83**(3), 452–468.
14. Hendriks, W., Mulders, J.W., Bibby, M.A., Slingsby, C., Bloemendal, H., de Jong, W.W. (1988) Duck lens epsilon-crystallin and lactate dehydrogenase B4 are identical: a single-copy gene product with two distinct functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **85**(19), 7114–7118.
15. Wistow, G.J., Lietman, T., Williams, L.A., Stapel, S.O., de Jong, W.W., Horwitz, J., Piatigorsky, J. (1988) Tau-crystallin/alpha-enolase: one gene encodes both an enzyme and a lens structural protein. *Journal of Cell Biology*, **107**(6 Pt 2), 2729–2736.
16. Grønbaek-Thygesen, M., Kampmeyer, C., Hofmann, K., Hartmann-Petersen, R. (2023) The moonlighting of RAD23 in DNA repair and protein degradation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms*, **1866**(2), 194925. doi: 10.1016/j.bbagr.2023.194925.
17. Gupta, M.N., Uversky, V.N. (2023) Moonlighting enzymes: when cellular context defines specificity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **80**(5), 130. doi: 10.1007/s00018-023-04781-0.
18. Werelusz, P., Galiniak, S., Mołoń, M. (2024) Molecular functions of moonlighting proteins in cell metabolic processes. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, **1871**(1), 119598. doi: 10.1016/j.bbamcr.2023.119598.
19. Jeffery, C.J. (2003) Moonlighting proteins: old proteins learning new tricks. *Trend in Genetics*, **19**(8), 415–417.
20. Jeffery, C.J. (2018) Protein moonlighting: what is it, and why is it important? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **373**(1738), 20160523. doi: 10.1098/rstb.2016.0523.
21. Shegay, P.V., Shatova, O.P., Zabolotneva, A.A., Shestopalov, A.V., Kaprin, A.D. (2023) Moonlight functions of glycolytic enzymes in cancer. *Frontiers in Molecular Biosciences*, **10**, 1076138. doi: 10.3389/fmolb.2023.1076138.
22. Krantz, M., Klipp, E. (2020) Moonlighting proteins – an approach to systematize the concept. *In Silico Biology*, **14**(1–2), 71–83.
23. López-Cortés, G.I., Díaz-Alvarez, L., Ortega, E. (2021) Leukocyte Membrane Enzymes Play the Cell Adhesion Game. *Frontiers in Immunology*, **12**, 742292. doi: 10.3389/fimmu.2021.742292.
24. Varghese, D.M., Nussinov, R., Ahmad, S. (2022) Predictive modeling of moonlighting DNA-binding proteins. *NAR Genomics and Bioinformatics*, **4**(4), 1–11. doi: 10.1093/nargab/lqac091.
25. Wright, P.E., Dyson, H.J. (1999) Intrinsically unstructured proteins: re-assessing the protein structure–function paradigm. *Journal of Molecular Biology*, **293**(2), 321–331.
26. Trivedi, R., Nagarajaram, H.A. (2022) Intrinsically Disordered Proteins: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(22), 14050. doi: 10.3390/ijms232214050.
27. Li, Y., Qin, J., Chen, M., Sun, N., Tan, F., Zhang, H., Zou, Y., Uversky, V.N., Liu, Y. (2023) The Moonlighting Function of Soybean Disordered Methyl-CpG-Binding Domain 10c Protein. *International Journal of Molecular Sciences* **24**(10), 8677. doi: 10.3390/ijms24108677.
28. Jeffery, C.J. (2009) Moonlighting proteins – an update. *Molecular BioSystems*, **5**(4), 345–350.
29. Chakrabortee, S., Meersman, F., Kaminski Schierle, G.S., Bertocini, C.W., McGee, B., Kaminski, C.F., Tunnacliffe, A. (2010) Catalytic and chaperone-like functions in an intrinsically disordered protein associated with desiccation tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**(37), 16084–16089.

30. Ramya, L., Helina Hilda S. (2023) Structural dynamics of moonlighting intrinsically disordered proteins – A black box in multiple sclerosis. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, **124**, 108572. doi: 10.1016/j.jmgm.2023.108572.
31. Jeffery, C.J. (2014) An introduction to protein moonlighting. *Biochemical Society Transactions*, **42**(6), 1679–1683.
32. Huberts, D.H., Venselaar, H., Vriend, G., Veenhuis, M., van der Klei, I.J. (2010) The moonlighting function of pyruvate carboxylase resides in the non-catalytic end of the TIM barrel. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1803**(9), 1038–1042.
33. Arribas-Carreira, L., Dallabona, C., Swanson, M.A., Farris, J., Østergaard, E., Tsiakas, K., Hempel, M., Aquaviva-Bourdain, C., Koutsoukos, S., Stence, N.V., Magistrati, M., Spector, E.B., Kronquist, K., Christensen, M., Karstensen, H.G., Feichtinger, R.G., Achleitner, M.T., Lawrence Merritt II, J., Pérez, B., Ugarte, M., Grünewald, S., Riela, A.R., Julve, N., Arnoux, J.B., Haldar, K., Donnini, C., Santer, R., Lund, A.M., Mayr, J.A., Rodriguez-Pombo, P., Van Hove, J.L.K. (2023) Pathogenic variants in GCSH encoding the moonlighting H-protein cause combined nonketotic hyperglycinemia and lipoate deficiency. *Human Molecular Genetics*, **32**(6), 917–933.
34. Huberts, D.H., van der Klei, I.J. (2010) Moonlighting proteins: an intriguing mode of multitasking. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1803**(4), 520–525.
35. Chen, C., Liu, H., Zabad, S., Rivera, N., Rowin, E., Hassan, M., Gomez, De Jesus, S.M., Llinás Santos, P.S., Kravchenko, K., Mikhova, M., Ketterer, S., Shen, A., Shen, S., Navas, E., Horan, B., Raudsepp, J., Jeffery, C. (2021) MoonProt 3.0: an update of the moonlighting proteins database. *Nucleic Acids Research*, **49**(D1), D368–D372.
36. Hernández S., Ferragut G., Amela I., Perez-Pons J., Piñol J., Mozo-Villarias A., Cedano J., Querol E. (2014) MultitaskProtDB: A database of multitasking proteins. *Nucleic Acids Research*, **42**, D517–D520. doi: 10.1093/nar/gkt1153.
37. Nuño-Cabanes, C., Rodríguez-Navarro, S. (2021) The promiscuity of the SAGA complex subunits: Multifunctional or moonlighting proteins? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms*, **1864**(2), 194607. doi: 10.1016/j.bbagr.2020.194607.
38. Tan, A., Prasad, R., Lee, C., Jho, E.H. (2022) Past, present, and future perspectives of transcription factor EB (TFEB): mechanisms of regulation and association with disease. *Cell Death & Differentiation*, **29**(8), 1433–1449.
39. Mboukou, A., Rajendra, V., Kleinova, R., Tisne, C., Jantsch, M.F., Barraud, P. (2021) Transportin-1: A Nuclear Import Receptor with Moonlighting Functions. *Frontiers in Molecular Biosciences*, **8**, 638149. doi: 10.3389/fmolb.2021.638149.
40. González-Arzola, K., Velázquez-Cruz, A., Guerra-Castellano, A., Casado-Combreras, M.Á., Pérez-Mejías, G., Díaz-Quintana, A., Díaz-Moreno, I., De la Rosa, M.Á. (2019) New moonlighting functions of mitochondrial cytochrome c in the cytoplasm and nucleus. *FEBS Letters*, **593**(22), 3101–3119.
41. Novo, N., Ferreira, P., Medina, M. (2021) The apoptosis-inducing factor family: Moonlighting proteins in the crosstalk between mitochondria and nuclei. *IUBMB Life*, **73**(3), 568–581.
42. Pujals, M., Resar, L., Villanueva, J. (2021) HMGA1, Moonlighting Protein Function, and Cellular Real Estate: Location, Location, Location! *Biomolecules*, **11**(9), 1334. doi: 10.3390/biom11091334.
43. Genet, S.A.A.M., Wolfs, J.R.E., Vu, C.B.A.K., Wolter, M., Broeren M.A.C., van Dongen, J., Brunsveld, L., Scharnhorst, V., van de Kerkhof, D. (2023) Analysis of Neuron-Specific enolase isozymes in human serum using immunoaffinity purification and liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantification. *Journal of Chromatography B*, **1223**, 123701. doi: 10.1016/j.jchromb.2023.123701.

44. Annese, T., Tamma, R., Ruggieri, S., Ribatti D. (2019) Erythropoietin in tumor angiogenesis. *Experimental Cell Research*, **374**(2), 266–273.
45. Huang, C.K., Sun, Y., Lv, L., Ping, Y. (2022) ENO1 and Cancer. *Molecular Therapy Oncology*, **24**, 288–298.
46. Myers, T.D., Palladino, M.J. (2023) Newly discovered roles of triosephosphate isomerase including functions within the nucleus. *Molecular Medicine*, **29**(1), 18. doi: 10.1186/s10020-023-00612-x.
47. Fothergill-Gilmore, L.A., Michels, P.A. (1993) Evolution of glycolysis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, **59**(2), 105–235.
48. Sato, T., Atomi, H. (2011) Novel metabolic pathways in Archaea. *Current Opinion in Microbiology*, **14**(3), 307–314.
49. Kim, Y.E., Cho, K.H., Bang, I., Kim, C.H., Ryu, Y.S., Kim, Y., Choi E.M., Nong L.K., Kim D., Lee S.K. (2022) Characterization of an Entner-Doudoroff pathway-activated *Escherichia coli*. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, **15**(1), 120. doi: 10.1186/s13068-022-02219-6.
50. Ralser, M. (2018) An appeal to magic? The discovery of a non-enzymatic metabolism and its role in the origins of life. *Biochemical Journal*, **475**(16), 2577–2592.
51. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. (1998) Биохимия. Изд-во Медицина, Москва, 704 с.
52. Adamus, G. (2017) Impact of Autoantibodies against Glycolytic Enzymes on Pathogenicity of Autoimmune Retinopathy and Other Autoimmune Disorders. *Frontiers in Immunology*, **8**, 505. doi: 10.3389/fimmu.2017.00505.
53. Alramadhani, D., Aljahdali, A.S., Abdulmalik, O., Pierce, B.D., Safo, M.K. (2022) Metabolic Reprogramming in Sickle Cell Diseases: Pathophysiology and Drug Discovery Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences* **23**(13), 7448. doi: 10.3390/ijms23137448.
54. Bian, X., Jiang, H., Meng, Y., Li, Y.P., Fang, J., Lu, Z. (2022) Regulation of gene expression by glycolytic and gluconeogenic enzymes. *Trends in Cell Biology*, **32**(9), 786–799.
55. Rodriguez-Saavedra, C., Morgado-Martinez, L.E., Burgos-Palacios, A., King-Diaz, B., Lopez-Coria, M., Sanchez-Nieto, S. (2021) Moonlighting Proteins: The Case of the Hexokinases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, **8**, 701975. doi: 10.3389/fmolb.2021.701975.
56. Irwin, D.M., Tan, H. (2008) Molecular evolution of the vertebrate hexokinase gene family: Identification of a conserved fifth vertebrate hexokinase gene. *Comparative Biochemistry & Physiology. Part D Genomics Proteomics.*, **3**(1), 96–107.
57. Pusec, C.M., De Jesus, A., Khan, M.W., Terry, A.R., Ludvik, A.E., Xu, K., Giancola, N., Pervaiz, H., Daviau, Smith E., Ding, X., Harrison, S., Chandel, N.S., Becker, T.C., Hay, N., Ardehali, H., Cordoba-Chacon, J., Layden, B.T. (2019) Hepatic HKDC1 Expression Contributes to Liver Metabolism. *Endocrinology*, **160**(2), 313–330.
58. Aleshin, A.E., Zeng, C., Bourenkov, G.P., Bartunik, H.D., Fromm, H.J., Honzatko, R.B. (1998) The mechanism of regulation of hexokinase: new insights from the crystal structure of recombinant human brain hexokinase complexed with glucose and glucose-6-phosphate. *Structure*, **6**(1), 39–50.
59. Nawaz, M.H., Ferreira, J.C., Nedyalkova, L., Zhu, H., Carrasco-Lopez, C., Kirmizialtin, S., Rabeh, W.M. (2018) The catalytic inactivation of the N-half of human hexokinase 2 and structural and biochemical characterization of its mitochondrial conformation. *Bioscience Reports*, **38**(1), BSR20171666. doi: 10.1042/BSR20171666.
60. Wilson, J.E. (1995) Hexokinases. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **126**, 65–198.
61. Toulis, K.A., Nirantharakumar, K., Pourzitaki, C., Barnett, A.H., Tahrani, A.A. (2020) Glucokinase Activators for Type 2 Diabetes: Challenges and Future Developments. *Drugs*, **80**(5), 467–475.

62. Guo, D., Meng, Y., Jiang, X., Lu, Z. (2023) Hexokinases in cancer and other pathologies. *Cell Insight*, **2**, 100077. <https://doi.org/10.1016/j.cellin.2023.100077>.
63. Ciscato, F., Ferrone, L., Masgras, I., Laquatra, C., Rasola, A. (2021) Hexokinase 2 in Cancer: A Prima Donna Playing Multiple Characters. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(9), 4716. doi: 10.3390/ijms22094716.
64. Chen, S.H., Giblett, E.R. (1976) Enolase: human tissue distribution and evidence for three different loci. *Annals of Human Genetics*, **39**(3), 277–280.
65. Zomzely-Neurath, C.E. (1983) Enolase. In: A. Lajtha (ed.), *Handbook of neurochemistry*, 2nd ed., vol. 4. Plenum Press, New York, 403–433.
66. Xu, C.M., Luo, Y.L., Li, S., Li, Z.X., Jiang, L., Zhang, G.X., Owusu, L., Chen, H.L. (2019) Multifunctional neuron-specific enolase: its role in lung diseases. *Bioscience Reports*, **39**(11), BSR20192732. doi: 10.1042/BSR20192732.
67. Fougerousse, F., Edom-Vovard, F., Merkulova, T., Ott, M.O., Durand, M., Butler-Browne, G., Keller, A. (2001) The muscle-specific enolase is an early marker of human myogenesis. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **22**(6), 535–544.
68. Qiao, G., Wu, A., Chen, X., Tian, Y., Lin, X. (2021) Enolase 1, a Moonlighting Protein, as a Potential Target for Cancer Treatment. *International Journal of Biological Sciences*, **17**(14), 3981–3992.
69. Gao, L., Yang, F., Tang, D., Xu, Z., Tang, Y., Yang, D., Sun, D., Chen, Z., Teng, Y. (2023) Mediation of PKM2-dependent glycolytic and non-glycolytic pathways by ENO2 in head and neck cancer development. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **42**(1), 1. doi: 10.1186/s13046-022-02574-0.
70. Claps, G., Faouzi, S., Quidville, V., Chehade, F., Shen, S., Vagner, S., Robert, C. (2022) The multiple roles of LDH in cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **19**(12), 749–762.
71. Abedi, N., Maleki, L., Tarrahi, M.J., Khalesi, S. (2023) Evaluation of changes in Salivary Lactate Dehydrogenase Level for detection of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis Study. *International Journal of Preventive Medicine*, **14**, 50. doi: 10.4103/ijpvm.ijpvm_452_21.
72. Boukouris, A.E., Zervopoulos, S.D., Michelakis, E.D. (2016) Metabolic Enzymes Moonlighting in the Nucleus: Metabolic Regulation of Gene Transcription. *Trends in Biochemical Sciences*, **41**(8), 712–730.
73. Pan, C., Li, B., Simon, M.C. (2021) Moonlighting functions of metabolic enzymes and metabolites in cancer. *Molecular Cell*, **81**, 3760–3774.
74. Brighenti, E., Carnicelli, D., Brigotti, M., Fiume, L. (2017) The inhibition of lactate dehydrogenase A hinders the transcription of histone 2B gene independently from the block of aerobic glycolysis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **485**(4), 742–745.
75. Roseweir, A.K., Clark, J., McSorley, S.T., vanWyk, H.C., Quinn, J.A., Horgan, P.G., McMillan, D.C., Park, J.H., Edwards, J. (2019) The association between markers of tumour cell metabolism, the tumour micro-environment and outcomes in patients with colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, **144**(9), 2320–2329.
76. Спирин А.С., Гаврилова Л.П. (1971) Рибосома. Изд-во «Наука». М. 254 с.
77. Burroughs, A.M., Aravind, L. (2019) The Origin and Evolution of Release Factors: Implications for Translocation Termination, Ribosome Rescue, and Quality Control Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**(8), 1981. doi: 10.3390/ijms20081981.
78. Fine, J.L., Pearlman, R.E. (2023) On the origin of life: an RNA-focused synthesis and narrative. *RNA*, **29**(8), 1085–1098.

79. Kang, J., Brajanovski, N., Chan, K.T., Xuan, J., Pearson, R.B., Sanij, E. (2021) Ribosomal proteins and human diseases: molecular mechanisms and targeted therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **6**(1):323. doi: 10.1038/s41392-021-00728-8.
80. Jiao, L., Liu, Y., Yu, X.Y., Pan, X., Zhang, Y., Tu, J., Song, Y.H., Li, Y. (2023) Ribosome biogenesis in disease: new players and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **8**(1):15. doi: 10.1038/s41392-022-01285-4.
81. Коробейникова А.В., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М. (2012) Рибосомные белки: структура, функция и эволюция. *Биохимия*, **77**(6), 687–700.
82. 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. *Current Opinion in Structural Biology*, **24**, 165–169.
83. de la Cruz, J., Karbstein, K., Woolford, J.L. Jr. (2015) Functions of ribosomal proteins in assembly of eukaryotic ribosomes in vivo. *Annual Review of Biochemistry*, **84**, 93–129.
84. Ma, C., Wu, S., Li, N., Chen, Y., Yan, K., Li, Z., Zheng, L., Lei, J., Woolford, J.L. Jr, Gao, N. (2017) Structural snapshot of cytoplasmic pre-60S ribosomal particles bound by Nmd3, Lsg1, Tif6 and Reh1. *Nature Structural & Molecular Biology*, **24**(3), 214–220.
85. Kisly, I., Tamm, T. (2023) Archaea/eukaryote-specific ribosomal proteins - guardians of a complex structure. *Computational and Structural Biotechnology J.*, **21**, 1249–1261.
86. Моралева А.А., Дерябин А.С., Рубцов Ю.П., Рубцова М.П., Донцова О.А. (2022) Биогенез рибосом эукариот: 60S субъединица. *Acta Naturae*, **14**, 39–49.
87. Luan, Y., Tang, N., Yang, J., Liu, S., Cheng, C., Wang, Y., Chen, C., Guo, Y.N., Wang, H., Zhao, W., Zhao, Q., Li, W., Xiang, M., Ju, R., Xie, Z. (2022) Deficiency of ribosomal proteins reshapes the transcriptional and translational landscape in human cells. *Nucleic Acids Research*, **50**(12), 6601–6617.
88. Dörner, K., Ruggeri, C., Zemp, I., Kutay, U. (2023) Ribosome biogenesis factors-from names to functions. *The EMBO Journal*, **42**(7):e112699. doi: 10.15252/embj.2022112699.
89. Saenz-Robles, M.T., Remacha, M., Vilella, M.D., Zinker, S., Ballesta, J.P. (1990) The acidic ribosomal proteins as regulators of the eukaryotic ribosomal activity. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1050**(1–3), 51–55.
90. Soulet, F., Al Saati, T., Roga, S., Amalric, F., Bouche, G. (2001) Fibroblast growth factor-2 interacts with free ribosomal protein S19. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **289**(2), 591–596.
91. Derylo, K., Michalec-Wawiorca, B., Krokowski, D., Wawiorca, L., Hatzoglou, M., Tchorzewski, M. (2018) The uL10 protein, a component of the ribosomal P-stalk, is released from the ribosome in nucleolar stress. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, **1865**, 34–47.
92. Weisberg, R.A. (2008) Transcription by Moonlight: Structural Basis of an Extraribosomal Activity of Ribosomal Protein S10. *Molecular Cell*, **32**, 747–748.
93. Matragkou, Ch., Papachristou, H., Karetsoy, Z., Papadopoulos, G., Papamarcaki, T., Vizirianakis, I.S., Tsiftoglou, A.S., Choli-Papadopoulou, T. (2009) On the intracellular trafficking of mouse S5 ribosomal protein from cytoplasm to nucleoli. *Journal of Molecular Biology*, **392**(5), 1192–1204.
94. Wang, W., Nag, S., Zhang, X., Wang, M.H., Wang, H., Zhou, J., Zhang, R. (2015) Ribosomal proteins and human diseases: pathogenesis, molecular mechanisms, and therapeutic implications. *Medicinal Research Reviews*, **35**(2), 225–285.

95. Dolezal, J.M., Dash, A.P., Prochownik, E.V. (2018) Diagnostic and prognostic implications of ribosomal protein transcript coordination in human cancers. *BMC Cancer*, **18**(1), 275. doi: 10.1186/s12885-018-4178-z.
96. Molavi, G., Samadi, N., Hosseingholi, E.Z. (2019) The roles of moonlight ribosomal proteins in the development of human cancers. *Journal of Cellular Physiology*, **234**(6), 8327–8341.
97. Landry-Voyer, A.M., Mir Hassani, Z., Avino, M., Bachand, F. (2023) Ribosomal Protein uS5 and Friends: Protein-Protein Interactions Involved in Ribosome Assembly and Beyond. *Biomolecules*, **13**(5), 853. doi: 10.3390/biom13050853.
98. Molavi, G., Samadi, N., Hashemzadeh, S., Halimi, M., Hosseingholi, E.Z. (2020) Moonlight human ribosomal protein L13a downregulation is associated with p53 and HER2/neu expression in breast cancer. *Journal of Applied Biomedicine*, **18**(2–3), 46–53.
99. Pecoraro, A., Pagano, M., Russo, G., Russo, A. (2021) Ribosome Biogenesis and Cancer: Overview on Ribosomal Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(11), 5496. doi: 10.3390/ijms22115496.
100. Graifer, D., Malygin, A., Zharkov, D.O., Karpova, G. (2014) Eukaryotic ribosomal protein S3: A constituent of translational machinery and an extraribosomal player in various cellular processes. *Biochimie*, **99**, 8–18.
101. Graifer, D., Karpova, G. (2021) Eukaryotic protein uS19: a component of the decoding site of ribosomes and a player in human diseases. *Biochemical Journal*, **478**(5), 997–1008.
102. Ochkasova, A., Arbuzov, G., Malygin, A., Graifer, D. (2023) Two «Edges» in Our Knowledge on the Functions of Ribosomal Proteins: The Revealed Contributions of Their Regions to Translation Mechanisms and the Issues of Their Extracellular Transport by Exosomes. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**(14):11458. doi: 10.3390/ijms241411458.
103. Xu, X., Xiong, X., Sun, Y. (2016) The role of ribosomal proteins in the regulation of cell proliferation, tumorigenesis, and genomic integrity. *Science China. Life Sciences*, **59**(7), 656–672.
104. Hurtado-Rios, J.J., Carrasco-Navarro, U., Almanza-Perez, J.C., Ponce-Alquicira, E. (2022) Ribosomes: The New Role of Ribosomal Proteins as Natural Antimicrobials. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(16), 9123. doi: 10.3390/ijms23169123.
105. Mołoń, M., Zaciura, M., Wojdyła, D., Molestak, E. (2023) Increasing the number of ribosomal uL6 mRNA copies accelerates aging of the budding yeast. *Molecular Biology Reports*, **50**(3), 2933–2941.
106. Kachaev, Z.M., Ivashchenko, S.D., Kozlov, E.N., Lebedeva, L.A., Shidlovskii, Y.V. (2021) Localization and Functional Roles of Components of the Translation Apparatus in the Eukaryotic Cell Nucleus. *Cells*, **10**(11), 3239. doi: 10.3390/cells10113239.
107. Liu, Y., Cui, J., Hoffman, A.R., Hu, J.F. (2023) Eukaryotic translation initiation factor eIF4G2 opens novel paths for protein synthesis in development, apoptosis and cell differentiation. *Cell Proliferation*, **56**(3), e13367. doi: 10.1111/cpr.13367.
108. Bohnsack, M.T., Regener, K., Schwappach, B., Saffrich, R., Paraskeva, E., Hartmann, E., Gorlich, D. (2002) Exp5 exports eEF1A via tRNA from nuclei and synergizes with other transport pathways to confine translation to the cytoplasm. *The EMBO Journal*, **21**, 6205–6215.
109. Weiss, B., Allen, G.E., Kloehn, J., Abid, K., Jaquier-Gubler, P., Curran, J.A. (2021) eIF4E3 forms an active eIF4F complex during stresses (eIF4FS) targeting mTOR and re-programs the translatoome. *Nucleic Acids Research*, **49**(9), 5159–5176.
110. Bassani, F., Zink, I.A., Pribasniig, T., Wolfinger, M.T., Romagnoli, A., Resch, A., Schleper, C., Bläsi, U., La Teana, A. (2019) Indications for a moonlighting function of translation factor aIF5A in the crenarchaeum *Sulfolobus solfataricus*. *RNA Biology*, **16**(5) 675–685.
111. Ejiri, S. (2002) Moonlighting functions of polypeptide elongation factor 1: from actin bundling to zinc finger protein R1-associated nuclear localization. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **66**(1), 1–21.

112. Farache, D., Antine, S.P., Lee, A.S.Y. (2022) Moonlighting translation factors: multifunctionality drives diverse gene regulation. *Trends in Cell Biology*, **32**(9), 762–772.
113. Negrutskii, B.S., Shalak, V.F., Novosylina, O.V., Porubleva, L.V., Lozhko, D.M., El'skaya, A.V. (2022) The eEF1 family of mammalian translation elongation factors. *BBA Advances*, **3**, 100067. doi: 10.1016/j.bbadv.2022.100067.
114. Carriles, A.A., Mills, A., Muñoz-Alonso, M.J., Gutiérrez, D., Domínguez, J.M., Hermoso, J.A., Gago, F. (2021) Structural Cues for Understanding eEF1A2 Moonlighting. *ChemBioChem*, **22**(2), 374–391.
115. Zhou, J., Korostelev, A., Lancaster, L., Noller, H.F. (2012) Crystal structures of 70S ribosomes bound to release factors RF1, RF2 and RF3. *Current Opinion in Structural Biology*, **22**(6), 733–742.
116. Chai, B., Wang, W., Liang, A. (2008) Nuclear localization of eukaryotic class II release factor (eRF3): implication for the multifunction of eRF3 in ciliates Euplotes cell. *Cell Biology International*, **32**(3), 353–357. doi: 10.1016/j.cellbi.2007.12.005.
117. Hashimoto, Y., Kumagai, N., Hosoda, N., Hoshino, S. (2014) The processed isoform of the translation termination factor eRF3 localizes to the nucleus to interact with the ARF tumor suppressor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **445**(3), 639–644.
118. Sanchez, A., Lee, D., Kim, D.I., Miller, K.M. (2021) Making Connections: Integrative Signaling Mechanisms Coordinate DNA Break Repair in Chromatin. *Frontiers in Genetics*, **12**, 747734. doi: 10.3389/fgene.2021.747734.
119. Laghmach, R., Di Pierro, M., Potoyan, D. (2022) A Liquid State Perspective on Dynamics of Chromatin Compartments. *Frontiers in Molecular Biosciences*, **8**, 781981. doi: 10.3389/fmolb.2021.781981.
120. Hildebrand, E.M., Dekker, J. (2020) Mechanisms and Functions of Chromosome Compartmentalization. *Trends in Biochemical Sciences*, **45**(5), 385–396.
121. Takahata, S., Murakami, Y. (2023) Opposing Roles of FACT for Euchromatin and Heterochromatin in Yeast. *Biomolecules*, **13**(2), 377. doi: 10.3390/biom13020377.
122. Grzybowska, E.A. (2012) Human intronless genes: Functional groups, associated diseases, evolution, and mRNA processing in absence of splicing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **424**(1), 1–6.
123. Lambert, S.A., Jolma, A., Campitelli, L.F., Das, P.K., Yin, Y., Albu, M., Chen, X., Taipale, J., Hughes, T.R., Weirauch, M.T. (2018) The Human Transcription Factors. *Cell*, **172**(4), 650–665.
124. Stevens, K.M., Warnecke, T. (2023) Histone variants in archaea – An undiscovered country. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **135**, 50–58.
125. Fyodorov, D.V., Zhou, B.R., Skoultchi, A.I., Bai, Y. (2018) Emerging roles of linker histones in regulating chromatin structure and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **19**(3), 192–206.
126. Alva, V., Lupas, A.N. (2019) Histones predate the split between bacteria and archaea. *Bioinformatics*, **35**(14), 2349–2353.
127. Singh, R., Bassett, E., Chakravarti, A., Parthun, M.R. (2018) Replication-dependent histone isoforms: a new source of complexity in chromatin structure and function. *Nucleic Acids Research*, **46**(17), 8665–8678.
128. Brunk, C.F., Martin, W.F. (2019) Archaeal Histone Contributions to the Origin of Eukaryotes. *Trends in Microbiology*, **27**(8), 703–714.
129. Eriksson, P.R., Ganguli, D., Nagarajavel, V., Clark, D.J. (2012) Regulation of histone gene expression in budding yeast. *Genetics*, **191**(1), 7–20.

130. Seal, R.L., Denny, P., Bruford, E.A., Gribkova, A.K., Landsman, D., Marzluff, W.F., McAndrews, M., Panchenko, A.R., Shaytan, A.K., Talbert, P.B. (2022) A standardized nomenclature for mammalian histone genes. *Epigenetics Chromatin*, **15**(1), 34. doi: 10.1186/s13072-022-00467-2.
131. Behrends, M., Engmann, O. (2020) Linker histone H1.5 is an underestimated factor in differentiation and carcinogenesis. *Environmental Epigenetics*, **6**(1), 1–10. doi: 10.1093/eep/dvaa013.
132. Glaich, O., Leader, Y., Lev Maor, G., Ast G. (2019) Histone H1.5 binds over splice sites in chromatin and regulates alternative splicing. *Nucleic Acids Research*, **47**(12), 6145–6159.
133. Pascal, C., Zonszain, J., Hameiri, O., Gargi-Levi, C., Lev-Maor, G., Tammer, L., Levy, T., Tarabeih, A., Roy, V.R., Ben-Salmon, S., Elbaz, L., Eid, M., Hakim, T., Abu Rabe'a, S., Shalev, N., Jordan A., Meshorer, E., Ast, G. (2023) Human histone H1 variants impact splicing outcome by controlling RNA polymerase II elongation. *Molecular Cell*, **83**(21), 3801–3817.
134. Shah, S., Verma, T., Rashid, M., Gadewal, N., Gupta S. (2020) Histone H2A isoforms: Potential implications in epigenome plasticity and diseases in eukaryotes. *Journal of Biosciences*, **45**, 4. doi: 10.1007/s12038-019-9985-0.
135. Morgan, M.A.J, Shilatifard, A. (2023) Epigenetic moonlighting: Catalytic-independent functions of histone modifiers in regulating transcription. *Science Advances*, **9**(16):eadg6593. doi: 10.1126/sciadv.adg6593.
136. Bernardes, N.E., Chook, Y.M. (2020) Nuclear import of histones. *Biochemical Society Transactions*, **48**(6), 2753–2767.
137. Zlatanova, J.S., Srebrev, L.N., Banchev, T.B., Tasheva, B.T., Tsanev, R.G. (1990) Cytoplasmic pool of histone H1 in mammalian cells. *Journal of Cell Science*, **96**, 461–468.
138. Bao, H., Huang, H. (2022) A new route to the nucleus. *Elife*, **11**, e83308. doi: 10.7554/eLife.83308.
139. Pardal, A.J., Bowman, A.J. (2022) A specific role for importin-5 and NASP in the import and nuclear hand-off of monomeric H3. *Elife*, **11**:e81755. doi: 10.7554/eLife.81755.
140. Watson, K., Edwards, R.J., Shaunak, S., Parmelee, D.C., Sarraf, C., Gooderham, N.J., Davies, D.S. (1995) Extra-nuclear location of histones in activated human peripheral blood lymphocytes and cultured T-cells. *Biochem Pharmacol.*, **50**(3), 299–309.
141. Parseghian, M.H., Luhrs, K.A. (2006) Beyond the walls of the nucleus: the role of histones in cellular signaling and innate immunity. *Biochemistry and Cell Biology*, **84**(4), 589–604.
142. Nair, R.R., Mazza, D., Brambilla, F., Gorzanelli, A., Agresti, A., Bianchi, M.E. (2018) LPS-Challenged Macrophages Release Microvesicles Coated With Histones. *Frontiers in Immunology*, **9**, 1463. doi: 10.3389/fimmu.2018.01463.
143. Bozzo, M., Macri, S., Calzia D., Sgarra, R., Manfioletti, G., Ramoino, P., Lacalli, T., Vignali, R., Pestarino, M., Candiani, S. (2017) The HMGA gene family in chordates: evolutionary perspectives from amphioxus. *Development Genes and Evolution*, **227**(3), 201–211.
144. Nanduri, R., Furusawa, T., Bustin, M. (2020) Biological Functions of HMGN Chromosomal Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(2), 449. doi: 10.3390/ijms21020449.
145. Ren, Y., Zhu, D., Han, X., Zhang, Q., Chen, B., Zhou, P., Wei, Z., Zhang Z., Cao, Y., Zou, H. (2023) HMGB1: a double-edged sword and therapeutic target in the female reproductive system. *Frontiers in Immunology*, **14**, 1238785. doi: 10.3389/fimmu.2023.1238785.
146. De Martino, M., Esposito, F., Fusco, A. (2022) Critical role of the high mobility group A proteins in hematological malignancies. *Hematol Oncol.*, **40**(1), 3–11.
147. Cleynen, I., Van de Ven, W.J. (2008) The HMGA proteins: a myriad of functions (Review). *International Journal of Oncology*, **32**(2), 289–305.
148. Kapurniotu, A., Gokce, O., Bernhagen, J. (2019) The Multitasking Potential of Alarmins and Atypical Chemokines. *Frontiers in Medicine*, **6**, 3. doi: 10.3389/fmed.2019.00003.

149. Masaoka, A., Gassman, N.R., Kedar, P.S., Prasad, R., Hou, E.W., Horton, J.K., Bustin, M., Wilson, S.H. (2012) HMGN1 protein regulates poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) self-PARYlation in mouse fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, **287**(33), 27648–27658.
150. Somma, M.P., Andreyeva, E.N., Pavlova, G.A., Pellacani, C., Bucciarelli, E., Popova, J.V., Bonaccorsi, S., Pindyurin, A.V., Gatti, M. (2020) Moonlighting in Mitosis: Analysis of the Mitotic Functions of Transcription and Splicing Factors. *Cells*, **9**(6), 1554. doi: 10.3390/cells9061554.
151. Figiel, M., Górka, A.K., Górecki, A. (2023) Zinc Ions Modulate YY1 Activity: Relevance in Carcinogenesis. *Cancers (Basel)*, **15**(17), 4338. doi: 10.3390/cancers15174338.
152. Rodríguez-Berdini, L., Ferrero, G.O., Bustos Plonka, F., Cardozo Gizzi, A.M., Pucca, C.G., Quiroga, S., Caputto, B.L. (2020) The moonlighting protein c-Fos activates lipid synthesis in neurons, an activity that is critical for cellular differentiation and cortical development. *Journal of Biological Chemistry*, **295**(26), 8808–8818.
153. Follo, C., Vidoni, C., Morani, F., Ferraresi, A., Seca, C., Isidoro, C. (2019) Amino acid response by Halofuginone in Cancer cells triggers autophagy through proteasome degradation of mTOR. *Cell Commun Signal.*, **17**(1), 39. doi: 10.1186/s12964-019-0354-2.
154. Deamer D. (2017) The Role of Lipid Membranes in Life's Origin. *Life (Basel)*, **7**(1), 5. doi: 10.3390/life7010005.
155. Geisberger, T., Diederich, P., Kaiser, C.J.O., Vogele, K., Ruf, A., Seitz, C., Simmel, F., Eisenreich, W., Schmitt-Kopplin, P., Huber, C. (2023) Formation of vesicular structures from fatty acids formed under simulated volcanic hydrothermal conditions. *Scientific Reports*, **13**(1), 15227. doi: 10.1038/s41598-023-42552-w.
156. Orioli, T., Vihinen, M. (2019) Benchmarking subcellular localization and variant tolerance predictors on membrane proteins. *BMC Genomics*, **20**(Suppl 8), 547. doi: 10.1186/s12864-019-5865-0.
157. Ahmat Amin, M.K.B., Shimizu, A., Ogita, H. (2019) The Pivotal Roles of the Epithelial Membrane Protein Family in Cancer Invasiveness and Metastasis. *Cancers (Basel)*, **11**(11), 1620. doi: 10.3390/cancers11111620.
158. Mozaffari, K., Mekonnen, M., Harary, M., Lum, M., Aguirre, B., Chandla, A., Wadehra, M., Yang, I. (2023) Epithelial membrane protein 2 (EMP2): A systematic review of its implications in pathogenesis. *Acta Histochemica*, **125**(1), 151976. doi: 10.1016/j.acthis.2022.151976.
159. Shusterman, E., Beharier, O., Levy, S., Zarivach, R., Etzion, Y., Campbell, C.R., Lee, I.H., Dinudom, A., Cook, D.I., Peretz, A., Katz, A., Gitler, D., Moran, A. (2017) Zinc transport and the inhibition of the L-type calcium channel are two separable functions of ZnT-1. *Metallomics*, **9**(3), 228–238.
160. Kambe, T., Taylor, K.M., Fu, D. (2021) Zinc transporters and their functional integration in mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry*, **296**, 100320. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100320.
161. Mani, M., Chen, C., Amblee, V., Liu, H., Mathur, T., Zwicke, G., Zabad, S., Patel, B., Thakkar, J., Jeffery, C.J. (2015) MoonProt: a database for proteins that are known to moonlight. *Nucleic Acids Research*, **43**(Database issue), D277–282.
162. Franco-Serrano, L., Hernandez, S., Calvo, A., Severi, M.A., Ferragut, G., Perez-Pons, J., Pinol, J., Pich, O., Mozo-Villarias, A., Amela, I., Querol, E., Cedano, J. (2018) MultitaskProtDB-II: an update of a database of multitasking/moonlighting proteins. *Nucleic Acids Research* **46**(D1), D645–D648.
163. Chapple, C.E., Robisson, B., Spinelli, L., Guien, C., Becker, E., Brun, C. (2015) Extreme multifunctional proteins identified from a human protein interaction network. *Nature Communications*, **6**, 7412. doi: 10.1038/ncomms8412.

164. Ribeiro, D.M., Briere, G., Bely, B., Spinelli, L., Brun, C. (2019) MoonDB 2.0: an updated database of extreme multifunctional and moonlighting proteins. *Nucleic Acids Research*, **47**(D1), D398–D402.
165. Su, B., Qian, Z., Li, T., Zhou, Y., Wong, A. (2019) PlantMP: a database for moonlighting plant proteins. *Database (Oxford)*, **2019**, baz050, 1–6. doi: 10.1093/database/baz050.
166. Bertolini, E., Babbi, G., Savojardo, C., Martelli, P.L., Casadio, R.(2024) MultifacetedProtDB: a database of human proteins with multiple functions. *Nucleic Acids Research*, **52**(D1), D494–D501.