

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту молекулярної біології і
генетики НАН України
Михайло Тукало



АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
ВСТАНОВЛЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КОМПЛЕКСУ
ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ eEF1В ЛЮДИНИ

Назва конкурсу: «Підтримка досліджень провідних і молодих вчених»

Реєстраційний номер Проєкту: 2020.02/0028

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.02/0028 **ВСТАНОВЛЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КОМПЛЕКСУ ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ eEF1В ЛЮДИНИ_**

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Підтримка досліджень провідних і молодих вчених» (назва конкурсу) протокол від « 16-17 » вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту

Початок – 21.10. 2020 р;

Закінчення – 15.12. 2021р.

Загальна вартість Проєкту, грн. 5 269 800,00

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 1 617 000,00

2-й рік 3 652 800,00

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту залучено 8 виконавців, з них:

доктори наук 1;

кандидати наук 2;

інші працівники 5.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України
03143, м.Київ, вул. Заболотного, 150

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Мета проєкту - вперше розкрити просторову організацію елонгаційного комплексу трансляції eEF1B людини.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

1. Створення моделі просторової структури eEF1Ba. 2. Створення моделі просторової структури eEF1Bβ. 3. Створення моделі просторової структури eEF1Bγ. 4. Розкриття просторової організації цілого комплексу eEF1B. 5. Створення атомарної моделі просторової структури комплексу eEF1B.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Макромолекулярний комплекс eEF1B, що складається з α , β і γ субодиниць, виконує функцію нуклеотидного обміну для фактора елонгації трансляції 1A. eEF1Ba і eEF1Bβ активні в нуклеотидному обміні, тоді як eEF1Bγ вважається структурним компонентом комплексу. Запропоновані щонайменше чотири моделі структурної організації eEF1B, між якими є суттєві розбіжності. На сьогодні жодна модель не визнана вірною.

- Новизна Проєкту (до 400 знаків)

Отримана ексклюзивна інформація про стан мультимеризації кожної субодиниці та їхню точну стехіометрію у комплексі eEF1B. Вперше визначено структурну динаміку кожної субодиниці у вільному стані і в комплексі. Поєднання молекулярно-біологічних, біофізичних та обчислювальних підходів дозволило створити 3D-моделі всіх субодиниць окремо і реконструювати першу атомістичну модель комплексу eEF1B людини.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Була використана комбінація різних методів досліджень структури білків та їх комплексів, а саме воднево-дейтерієвого обміну із наступною мас спектрометрією, аналітичної хроматографії і аналітичного ультрацентрифугування в різних режимах, малокутового розсіяння рентгенівських променів, цілої низки обчислювальних методів.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

В результаті виконання проєкту проведено порівняльний аналіз раніше нами отриманих і нових даних щодо структурної динаміки та мультимерності eEF1Ba та даних рентгеноструктурного аналізу доменів цього білка. Побудовано просторову модель структури eEF1Ba. Вивчено рівень мультимеризації eEF1Bβ методом аналітичного ультрацентрифугування у швидкісному та рівноважному режимах. Виявлено області eEF1Bβ, відповідальні за мультимеризацію, шляхом аналізу делеційних мутантів. Визначена молекулярна форма мультимерного eEF1Bβ за допомогою SAXS. Досліджена структурна динаміка eEF1Bβ за допомогою HDX-MS. Побудовано на основі експериментальних даних модель просторової організації eEF1Bβ. Вивчено рівень мультимеризації eEF1Bγ методом аналітичного центрифугування. Досліджена структурна динаміка eEF1Bγ за допомогою HDX-MS. Побудовано на основі експериментальних даних модель просторової організації eEF1Bγ. Показано, що

подвійний комплекс eEF1B $\alpha\gamma$ в розчині є димером зі схильністю до олігомеризації. Показано, що подвійний комплекс eEF1B $\beta\gamma$ у розчині є тримером зі схильністю до олігомеризації. Показано, що потрійний комплекс eEF1B $\alpha\beta\gamma$ є переважно тримером (eEF1B $\alpha\beta\gamma$)₃, зі схильністю до олігомеризації. Показана виключна важливість N-кінцевих доменів eEF1B α , eEF1B β і eEF1B γ для формування потрійного комплексу eEF1B. Визначені сайти взаємодії між собою субодиниць комплексу eEF1B. На основі всієї отриманої інформації вперше в світі створена атомістична модель просторової організації комплексу eEF1B.

Отже, результатом цієї роботи є створення структурних моделей субодиниць eEF1B α , eEF1B β і eEF1B γ та реконструкція з них атомістичної моделі цілого комплексу eEF1B. Ми показали, що два білки відіграють структурну роль в цьому комплексі: eEF1B β , який є стабільним гомотримером і eEF1B γ , який зв'язує eEF1B β і eEF1B α . Визначено, що внаслідок цього комплекс eEF1B є стабільним тримером, що містить шість гуанін обмінювальних сайтів. Висунуто гіпотезу, що саме локальна компартменталізація такої великої кількості гуанін обмінювальних сайтів поблизу рибосом може бути конкретним механізмом підвищення ефективності білкового синтезу у великих за об'ємом клітинах вищих еукаріотів.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Науково-технічна продукція відсутня

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Проєкт не передбачає проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Оскільки відомо, що субодиниці eEF1B α , eEF1B β та eEF1B γ пов'язані із раковими та неврологічними захворюваннями людини, знання їх просторової організації може бути важливим для розробки специфічних ліків, спрямованих на інактивацію цих білків. Побудування вперше атомістичної моделі просторової структури комплексу eEF1B людини є суттєвим кроком вперед в процесі розвитку фундаментальних уявлень щодо структури трансляційного компартмента як цілого, і займе своє місце у підручниках з молекулярної біології білкового синтезу.

Анотований звіт не містить відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту

Завідувач відділу структурної і функціональної протеоміки

Борис Негруцький

(підпис)

