

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ПЕРЕДАЧИ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В РИБОСОМЕ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ\*

© 2015 Г.И. Макаров<sup>1</sup>, А.В. Головин<sup>2</sup>,  
Н.В. Сумбатян<sup>1</sup>, А.А. Богданов<sup>1,3\*\*</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
химический факультет, 119991 Москва

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,  
119991 Москва; электронная почта: bogdanov@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 02.03.15  
После доработки 13.04.15

Рибосома представляет собой молекулярную машину, которая синтезирует все клеточные белки, транслируя генетическую информацию, закодированную в полинуклеотидной цепи информационной РНК. Известно, что переход от одной стадии рабочего цикла рибосомы к последующей строго координирован изменениями структуры и взаимного расположения как субъединиц самой рибосомы, так и ее лигандов. При этом информация о структурных перестройках передается из одного функционального центра рибосомы в другой с помощью специфических сигналов. Поскольку функциональные центры рибосомы, как правило, находятся друг от друга на расстоянии, достигающем нескольких десятков ангстрем, считается, что передача таких сигналов осуществляется аллостерически. В настоящей работе изучали каким образом может передаваться аллостерический сигнал из одного т.н. сенсорного центра рибосомного туннеля (РТ) в пептидилтрансферазный центр рибосомы (ПТЦ). Методом моделирования молекулярной динамики (МД) изучали сегмент стенки РТ рибосомы *E. coli*, состоящий из нуклеотидных остатков A2058, A2059, m<sup>2</sup>A2503, G2061, A2062 и C2063 23S рРНК. Показано, что потенциальный сигнал-передающий путь A2058–C2063 ведет себя как динамический ансамбль взаимозависимых конформационных состояний, изменения в котором могут происходить путем каскада. Высказано предположение, что структурная перестройка сегмента A2058–C2063 РТ приводит к обратимой инактивации ПТЦ, вследствие образования сильного стэкинг-контакта функционально важного остатка ПТЦ U2585 с нуклеотидным остатком C2063. Обсуждается возможная роль наблюдаемого конформационного перехода в сегменте A2058–C2063 в регуляции работы рибосомы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** рибосома, рибосомный туннель, моделирование, аллостерия, молекулярная динамика.

Рибосома представляет собой молекулярную машину, которая синтезирует все клеточные белки, транслируя генетическую информацию, закодированную в полинуклеотидной цепи информационной РНК (мРНК). Известно, что переход от одной стадии рабочего цикла рибосомы к последующей модулируется строго координированными изменениями структуры и взаимного расположения как субъединиц самой рибосомы, так и ее лигандов — тРНК и белковых факторов трансляции [1–5]. При этом информация об этих структурных перестройках передается из

одного функционального центра рибосомы в другой с помощью специфических сигналов [6]. Поскольку функциональные центры рибосомы, как правило, находятся друг от друга на большом расстоянии, иногда достигающем нескольких десятков ангстрем, высказано предположение, что передача таких сигналов осуществляется аллостерически [7]. При этом были получены веские свидетельства в пользу того, что рибосомные РНК (рРНК) играют в этом процессе ключевую роль [8, 9]. Вполне вероятно, что некоторые антибиотики, ингибирующие трансляцию, также воздействуют на функциональные центры рибосомы, не контактируя с ними непосредственно, т.е. аллостерически [10–13].

Примером аллостерического воздействия на эффективность работы рибосомы могут служить

\* Первоначально английский вариант рукописи был опубликован на сайте «Biochemistry» (Moscow), Papers in Press, BM 15-063, 05.07.2015.

\*\* Адресат для корреспонденции.

последствия единичных мутаций, вставок и делеций нуклеотидных остатков рРНК, расположенных в макромолекулярной структуре рибосомы на больших расстояниях от ее функциональных центров. Такие направленные локальные искажения в первичной структуре рРНК, как правило, приводят к изменению взаимной ориентации ее многочисленных нуклеотидных остатков, что было зафиксировано с помощью методов химической модификации (т.н. «пробинга»), которые используются при стандартном анализе вторичной структуры РНК. Важно, что эти остатки локализованы во внутририбосомной третичной структуре рРНК в достаточно компактных каналобразных областях, по которым, по-видимому, и передаются аллостерические сигналы [14–17].

Аллостерические эффекты, наблюдающиеся при функционировании белков и особенно белков-ферментов, интенсивно исследуются и обсуждаются уже около полувека [18], и в понимании их природы достигнуты серьезные успехи (например, обзор [19]). В то же время механизмы передачи аллостерических сигналов в макромолекулах РНК и в РНК-белковых комплексах начали изучать только в последние годы [20, 21], и на сегодня они еще фактически неизвестны.

В настоящей работе мы изучали каким образом может передаваться аллостерический сигнал из одного из т.н. сенсорных центров рибосомного туннеля (РТ) в пептидил-трансферазный центр рибосомы (ПТЦ) *E. coli*, где происходит синтез полипептидной цепи белка. РТ расположен внутри большой субъединицы рибосомы. Он соединяет ПТЦ с областью на поверхности рибосомы, где протекают первые этапы посттрансляционной модификации и сворачивания полипептидной цепи вновь синтезированных белков. Кроме того, с РТ связываются многочисленные антибиотики, ингибиторы синтеза белка на рибосоме [22]. Стенки РТ сформированы остатками рРНК и р-белков, а его область, примыкающая к ПТЦ, которая и была объектом настоящего исследования, так же, как и сам ПТЦ, построена исключительно из нуклеотидных остатков 23S рРНК [23]. Подавляющее большинство полипептидных цепей синтезируемых рибосомой белков перемещаются по РТ достаточно свободно. Однако из этого правила есть исключения: известно несколько (пока еще немногочисленных) случаев, когда синтез полипептидной цепи белка в ПТЦ и ее транспорт по РТ останавливаются. Это происходит вследствие того, что специфические аминокислотные остатки растущей в РТ цепи, находящиеся в ней в строго определенных положениях, контактируют с особыми (сенсорными) нуклеотидными

остатками на стенках РТ. Сигнал об этом событии поступает в ПТЦ, который, приняв его, инактивируется и теряет способность катализировать образование новых пептидных связей. При этом работу рибосомы может остановить либо сам растущий в ней полипептид, либо для этого дополнительно требуется присутствие в РТ низкомолекулярных кофакторов [24]. В последнем случае известны многочисленные примеры (системы), когда роль кофактора выполняют антибиотики макролиды и кетолиды [25]. Поскольку участвующие в этих событиях остатки 23S рРНК находятся вне ПТЦ, считается, что передача сигнала от сенсора в этот центр происходит аллостерически.

Остановка работы рибосомы в результате описанных выше событий – важный способ регуляции биосинтеза белка на уровне трансляции, и не удивительно, что это явление интенсивно изучается (обзор [24]). Предполагается, в частности, что в рибосоме *E. coli* существуют, по крайней мере, две цепочки нуклеотидов 23S рРНК, образующие пути, по которым сигнал может передаваться от сенсоров РТ в ПТЦ [26]. Так, например, один из этих вероятных путей, начинающийся нуклеотидным остатком A752, был недавно изучен с помощью комбинации методов криоэлектронной микроскопии, молекулярного моделирования и биохимического анализа [27]. Показано, что антибиотик эритромицин смещает положение С-конца т.н. лидерного пептида эритромицин-зависимой метилтрансферазы Erm VL таким образом, что он образует контакт с нуклеотидными остатками, формирующими ПТЦ, и переводит его в неактивное состояние, что и приводит к остановке трансляции.

В настоящей работе мы использовали метод моделирования молекулярной динамики (МД) для изучения другого сегмента стенки РТ рибосомы *E. coli*, состоящего из нуклеотидных остатков A2058, A2059, m<sup>2</sup>A 2503, G2061, A2062 и C2063, участие которых в передаче сигнала от сенсорного сайта A2058–A2059 достаточно убедительно продемонстрировано сайт-направленным мутагенезом [25]. Начало этого вероятного сигнального пути (остаток A2058) находится на расстоянии примерно 20 Å от ПТЦ. Важно отметить, что расположенные в начале этого пути остатки A2058 и A2059 участвуют в формировании центра связывания всех антибиотиков-макролидов и -кетолидов в РТ [28]. Кроме того, уже достаточно давно известно, что N6-диметилирование A2058 приводит к устойчивости бактерий к антибиотикам этих и нескольких других классов [29].

Несмотря на исключительную сложность объекта, после расшифровки атомных структур

рибосомы метод МД многократно использовался для описания динамических аспектов структуры и функционирования как целой рибосомы, так и отдельных ее частей [30]. Его применяют также для изучения структуры и функций РТ [31]. В частности, этим методом были установлены некоторые потенциальные контакты ключевых аминокислотных остатков в пептидах, останавливающих трансляцию, с сенсорными нуклеотидными остатками РТ [32]. Недавно с помощью этого метода нам удалось установить возможные причины аномальной биологической активности пептидных производных макролидов – ингибиторов синтеза белка, и обнаружить новый потенциальный сайт взаимодействия растущей в РТ полипептидной цепи с его стенками [33]. В данной работе мы наблюдали методом моделирования МД, что потенциальный сигнал-передающий путь А2058–С2063 ведет себя как динамический ансамбль взаимозависимых конформационных состояний, изменения в котором могут распространяться каскадообразно. При этом мы предполагаем, что структурная перестройка сегмента А2058–С2063 РТ приводит к обратимой инактивации ПТЦ. В работе обсуждается возможная роль наблюдаемого конформационного перехода в сегменте А2058–С2063 23S рРНК в регуляции работы рибосомы.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Моделируемая система.** Стартовая система была сконструирована на основе кристаллической структуры комплекса 50S субъединицы рибосомы *E. coli* с эритромицином, полученной методом рентгеноструктурного анализа с разрешением 3,1 Å (код PDB: 3OFR) [34] с добавлением модифицированных оснований в соответствии со сведениями из банка данных [35]. Положения модифицированных оснований были оптимизированы минимизацией энергии сочетанием метода наискорейшего спуска с алгоритмом Бройдена–Флетчера–Гольдфарба–Шанно с ограниченным использованием памяти [36], за которой следовал расчет 2 нс молекулярной динамики под управлением термостата масштабирования скоростей с добавочным стохастическим членом [37]. При этом все немодифицированные основания были полностью зафиксированы, тогда как модифицированные основания, ионы и вода двигались, а эритромицин, содержащийся в исходной рентгеновской структуре, был изъят. После оптимизации были выделены все остатки, у которых хотя бы один атом попал в кубическую область с ребром длиной 7 нм,

включающую в себя весь РТ и ПТЦ так, что центр этой области находился в туннеле, а сам туннель пролегал вдоль мысленной оси аппликата. Полученное выделение использовалось во всех дальнейших расчетах.

Контрольные системы были построены на основе описанной выше стартовой системы, в которой, в первом случае, было избирательно зафиксировано положение н.о. G2057, A2058 и A2059; во втором случае, 2-метиладенин в н.о. m<sup>2</sup>A2503 был заменен на гуанин; в третьем случае, аденин в н.о. A2062 был заменен на урацил.

**Условия моделирования.** Все расчеты молекулярной динамики и анализ полученных траекторий движения атомов проводились посредством пакета GROMACS [38, 39] версий 4.5.4 и 4.6.5 и силового поля parm99sb. Все расчетные эксперименты выполняли при температуре 300 К с периодом привязки 0,1 пс под управлением термостата масштабирования скоростей с добавочным стохастическим членом [37] и при периодических граничных условиях с изотропным постоянным давлением, поддерживаемым баростатом Берендсена [40] с периодом привязки 5 пс. Электростатические взаимодействия обрабатывались посредством сети частиц Эвальда [41] с шагом сетки 0,125 нм и четвертым порядком интерполяции. Моделируемая система была центрирована в кубической ячейке с ребром 8,8 нм, заполненной 13 067 молекулами воды TIP4P [42], так что грани системы были покрыты слоем растворителя толщиной в 0,9 нм. Отрицательный заряд системы был нейтрализован 95 ионами магния и 381 натрия. Ионы натрия использовали вместо ионов калия в силу неверной параметризации ионов калия в силовом поле parm99sb, основанной на данных для кристаллов хлорида калия. При моделировании ионов калия вместе с ионами хлора в воде они образуют кристалл хлорида калия при недостаточной для этого их концентрации [43]. Взаимодействия между ионами калия и любыми отрицательно заряженными ионами переоценены, следовательно, применение ионов калия как противоионов может приводить к большим возмущениям в моделируемой структуре, чем для ионов натрия. Ионы магния добавляли так, чтобы они образовывали «магниево-мостики» между соседними фосфатными группами, а ионы натрия располагали вблизи отрицательно заряженных групп с тем, чтобы компенсировать остаточный отрицательный заряд [44]. Остатки, хотя бы один атом которых находится в пределах 0,1 нм от грани моделируемого участка рибосомы, были позиционно ограничены, при этом все остальные атомы могли свободно двигаться. Временной шаг интегрирования во всех вычислениях

ях составлял 2 фс, координаты записывались в файл траектории каждые 15 пс. Для ограничения длин ковалентных связей, включающих атомы водорода, использовался алгоритм LINCS. Вычисления управляемой динамики и метадинамики осуществлялись при помощи пакета PLUMED [45], версия 1.3, работающего в комплексе с пакетом GROMACS. Положение и частоту встречаемости водородных связей анализировали так, как это было описано нами ранее [33].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

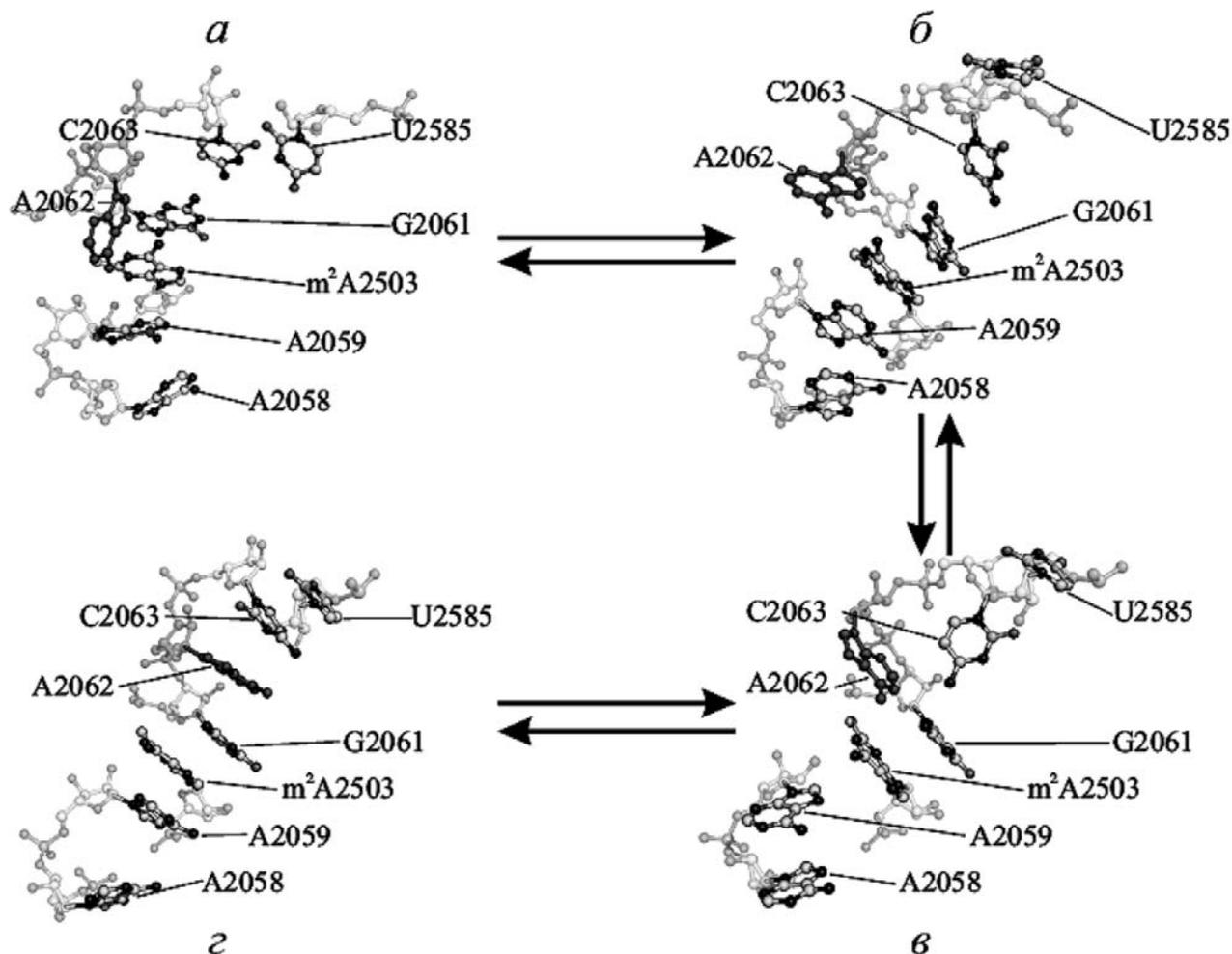
Целью настоящей работы был детальный анализ конформационной подвижности сегмента стенки туннеля рибосомы *E. coli*, образованного участком 2058–2063 полинуклеотидной цепи 23S рРНК, а также примыкающим к нему в третичной структуре рибосомы модифицированным нуклеотидным остатком m<sup>2</sup>A2503. Как уже отмечалось выше, этот сегмент макромолекулы 23S рРНК неоднократно рассматривался как один из наиболее вероятных участников процесса передачи функциональных сигналов из внутренних районов РТ в ПТЦ рибосомы [24–26]. В самое последнее время это предположение получило убедительное экспериментальное подтверждение [13, 27, 46]. В то же время детальную картину возможных конформационных превращений, которые могли бы обеспечить передачу функциональных сигналов с помощью этого сегмента рРНК, пока еще получить не удалось. В нашей работе мы попытались восполнить этот пробел, уделив особое внимание поиску ответа на вопрос, каким образом изменения во взаимном расположении нуклеотидных остатков в исследуемом сегменте РТ сказываются на конформации ПТЦ рибосомы. Исследования проводились методом моделирования молекулярной динамики, который, как известно, позволяет оценить во времени изменения величин торсионных углов в нуклеотидных остатках рРНК, изменения положений и встречаемости водородных связей между ними, а также изменения величин энергии ассоциации гетероциклических оснований [47].

Для исследуемой системы были рассчитаны двадцать одна траектория продолжительностью от 200 до 360 нс, при анализе которых были зафиксированы разнообразные конформационные переходы, затрагивающие как нуклеотидные остатки изучаемого сегмента РТ, так и некоторые нуклеотидные остатки, участвующие в функционировании ПТЦ рибосомы. Основные конформационные переходы заключаются в

следующем. Во-первых, адениновые основания A2058 и A2059 сближаются. Во-вторых, основание C2063 теряет контакт с гуаниновым основанием G2061, в результате чего у основания A2062 появляется возможность вклиниться между ними и образовать элемент структуры, в котором все три основания скреплены стэкинг-взаимодействиями. И, наконец, конформация остатка U2585, компонента ПТЦ рибосомы, изменяется таким образом, что его основание входит в стэкинг-контакт с цитозинным основанием C2063.

Эти события происходят иногда поодиночке, иногда, что особенно важно, совместно, образуя в одной из траекторий взаимоувязанный конформационный переход, в котором приблизительно на 60 нс основания в A2058 и A2059 сближаются, после чего происходят все описанные выше события (рис. 1). В итоге, стабилизированные стэкинг-взаимодействиями блоки A2058–A2059–m<sup>2</sup>A2503–G2061 (существующий в исходной структуре) и A2062–C2063–U2585 (вновь образованный) объединяются в единую стопкообразную структуру. Это согласованное движение отчетливо отображается в первой главной компоненте, полученной при анализе главных компонент значений торсионных углов  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\chi$  тридцати четырех нуклеотидных остатков в ближайшей окрестности исследуемого сегмента РТ и ПТЦ (результаты этого анализа частично представлены на рис. 2). Оно также хорошо иллюстрируется изменением во времени значений энергии нековалентных (электростатических и ван-дер-ваальсовых) взаимодействий, ответственных за ассоциацию гетероциклических оснований соседних нуклеотидных остатков (рис. 3). При этом следует подчеркнуть, что изменения значений углов и энергии происходят не синхронно, а последовательно, разбиваясь на три основные группы, которые описаны выше. Если же конформационные изменения происходят поодиночке, то они не завершаются и не приводят к образованию устойчивых структур, но, когда все они включены в единый конформационный переход, процесс завершается образованием стабильной структуры. Важным также является тот факт, что наблюдаемые нами изменения взаимного расположения нуклеотидных остатков в сегменте A2058–C2063 и контактирующих с ним нуклеотидных остатков m<sup>2</sup>A2503 и U2585 оказались обратимыми, что было установлено при помощи приема метадинамики, описанного Лайо и Парринелло [48].

Необходимо отметить, что возможные изменения конформации под влиянием стоп-пептида SecM в части A2062–G2061–C2063 исследуемого нами сегмента 23S рРНК ранее изучались



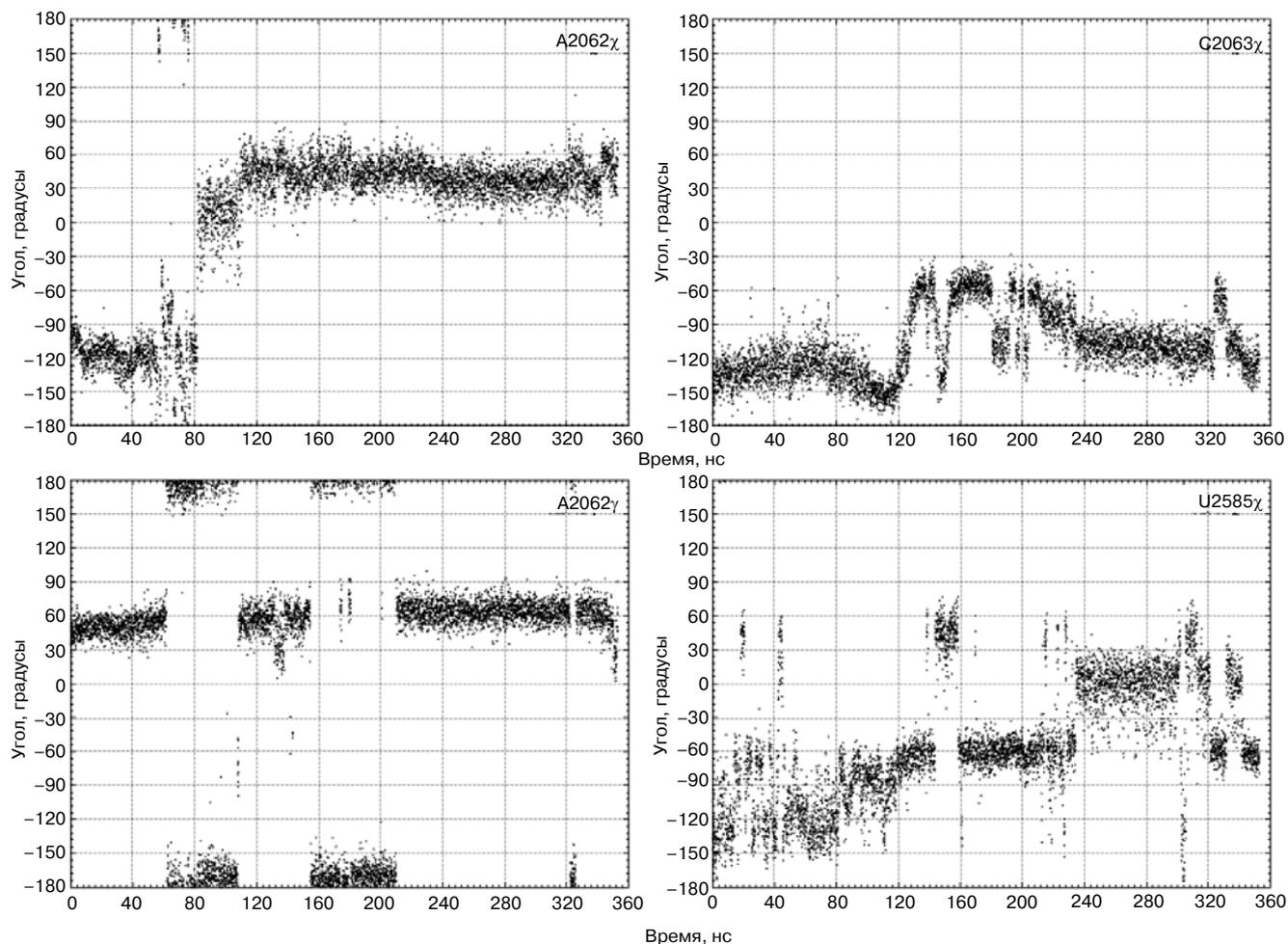
**Рис. 1.** Основные фазы конформационного перехода в участке A2058–C2063 23S рРНК рибосом *E. coli*, наблюдаемого с помощью моделирования молекулярной динамики (МД): *a* – начальная (4 нс); *б* и *в* – промежуточные (71 и 117 нс) и *г* – конечная (353 нс) стадии. Нуклеотид A2062 выделен сплошным темно-серым

методом моделирования МД Гумбартом и др. [32]. Из данных, представленных в работе этих авторов, можно сделать вывод, что функциональный сигнал передается в ПТЦ без перестройки порядка расположения оснований относительно порядка расположения нуклеотидных остатков в этом элементе. Однако моделирование МД в этом случае останавливали на 20 нс, т.е. задолго до того, как, по нашим данным, эта структурная перестройка совершается.

Движущими силами наблюдаемого нами согласованного изменения конформации сегмента A2028–C2063 можно считать гидрофобный эффект и стэкинг-взаимодействия. При этом структурном переходе гидрофобная поверхность системы убывает, поскольку находившиеся в исходной структуре в просвете туннеля основания нуклеотидов A2062 и U2585 вступают в

стэкинг-взаимодействия со своими новыми соседями. Действительно, как видно из рис. 3, энергетический выигрыш достигается за счет вхождения основания A2062 между C2063 и G2061 и образования контакта между C2063 и U2585; изменение энергии нековалентных взаимодействий составляет  $-19 \pm 10$  кДж/моль. При этом между 80 и 160 нс система преодолевает энергетический барьер, соответствующий конформациям, в которых основания G2061 и C2063 уже разошлись, но A2062 и U2585 еще не вошли с ними в контакт, стабилизированный стэкинг-взаимодействиями.

Рассмотрим теперь свойства участников изучаемого нами конформационного перехода в свете известных литературных данных. Как уже отмечалось, он начинается со сближения нуклеотидных остатков A2058 и A2059. Их аденино-

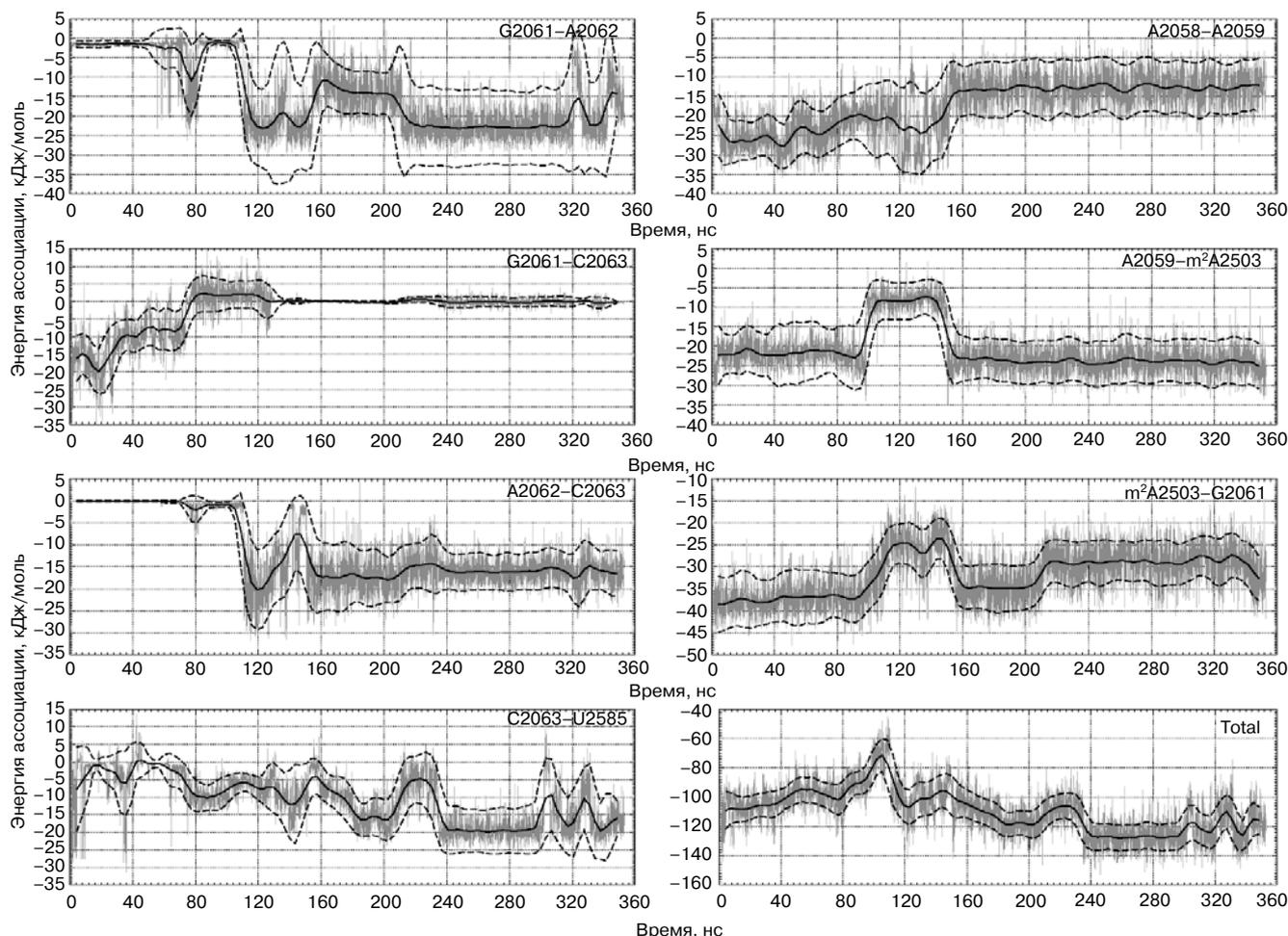


**Рис. 2.** Значения торсионных углов некоторых нуклеотидных остатков участка A2058–C2063 и U2585, претерпевающих наиболее сильные изменения при конформационных переходах, изучаемых в настоящей работе

вые основания образуют экспонированный на стенке РТ гидрофобный «карман» — один из основных сайтов связывания антибиотиков-макролидов и -кетолитов в большой субъединице рибосом [49, 50]. Эффект сближения был ожидаемым, поскольку в стартовой системе макролидный антибиотик эритромицин был удален из этого «кармана», а в рибосоме, связанной с эритромицином, по сравнению со свободной рибосомой, основания в A2058 и A2059 разведены (ср., например, структуры с кодами PDB 2AW4 и 3OFR соответственно). Важно, что в контрольной системе, в которой положение этих нуклеотидных остатков было изначально «заморожено», конформационный переход в исследуемом сегменте не наблюдался.

Однако как видно из рис. 1, наиболее сильные конформационные перестройки в исследуемой системе связаны с изменением положения

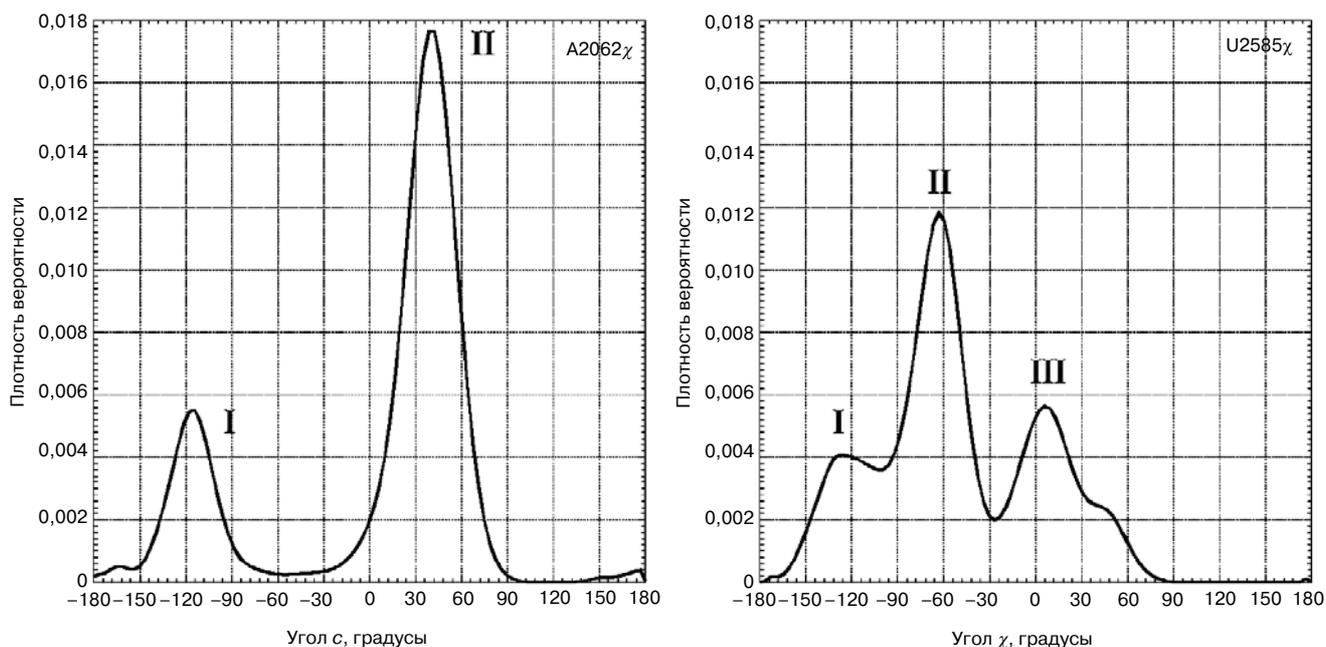
A2062. Этот абсолютно консервативный нуклеотидный остаток рРНК большой субъединицы рибосомы обладает исключительно высокой подвижностью. Экстраординарная подвижность A2062 также законсервирована в эволюции, что наводит на мысль о том, что это свойство A2062 необходимо для нормального функционирования рибосомы. В большинстве известных на сегодня кристаллических структур рибосом A2062 находится в конформации, которую мы будем называть здесь «открытой». При этом его гетероциклическое основание направлено в свободный просвет РТ (например, структуры с кодами в PDB 1VQL, 2WDN и 3OFR). Однако в ряде кристаллических структур 50S субъединицы бактериальной рибосомы остаток аденина в A2062 повернут относительно его углеводного остатка таким образом, что его плоскость более или менее параллельна стенкам РТ



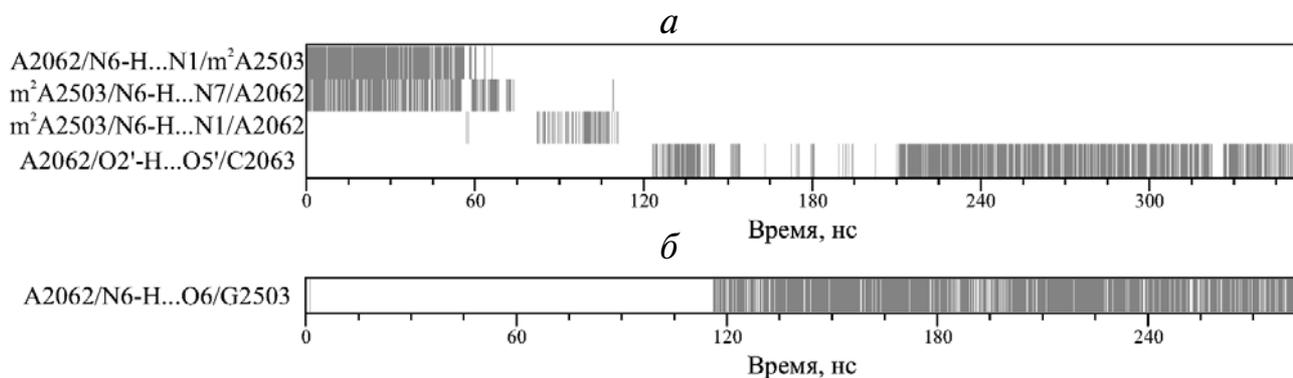
**Рис. 3.** Энергии нековалентных взаимодействий для пар азотистых оснований, вступающих в стэкинг-взаимодействия при описываемом конформационном переходе. Серым показаны значения энергии нековалентных взаимодействий, черная сплошная линия – значения энергии, сглаженные скользящим средним с окном 9 нс, черный пунктир – скользящее стандартное отклонение. Нижний правый график показывает изменение суммарной энергии нековалентных взаимодействий оснований в изучаемом участке 23S рРНК

(например, структуры с кодами в PDB 1KQS, 3ONK и 3OFQ). Такую конформацию мы будем называть «закрытой». Наши расчеты молекулярной динамики A2062 показывают, что он действительно легко переходит из «открытой» в «закрытую» конформацию, причем первая является предпочтительной (рис. 4). При моделировании МД сегмента A2058–A2063 мы исходили из структуры 50S субъединицы рибосомы *E. coli* (код в PDB 3OFR), в которой A2062 находился в «открытой» конформации. Однако после запуска процесса моделирования, его конформация быстро перестраивается в «закрытую» (структура на рис. 1, соответствующая 4 нс), что также хорошо видно на схеме, иллюстрирующей динамику изменения положения водородных связей A2062 с его соседями (рис. 5, а). Извест-

но, что в кристаллических структурах 50S субъединицы рибосом *Haloarcula marismortui* и *Escherichia coli* гетероциклическое основание A2062, находящегося как в «открытой», так и в «закрытой» конформациях, связано водородными связями с остатком модифицированного аденина в m<sup>2</sup>A2503 [51], как уже отмечалось, встроенного в трехмерной структуре рибосомы в сегмент A2058–C2063. Как видно из рис. 5, а, первоначально A2062 образует с m<sup>2</sup>A2503 нестабильную транс-уотсон-криковскую/хугстиновскую А–А-пару (по классификации Вестхофа и сотр. [52]). Эта пара разрушается на ранних этапах исследуемого конформационного перехода, что позволяет A2062 в последующем вклиниваться между н.о. G2061 и C2063. Как уже отмечалось, этому событию предшествует изменение поло-



**Рис. 4.** Распределение значений торсионных углов  $\chi$  нуклеотидов A2062 и U2585. В распределении значений угла  $\chi$  основания A2062 пик I соответствует фазам  $\alpha$  и  $\beta$  (рис. 1), пик II – фазам  $\nu$  и  $\zeta$  (рис. 1). В распределении значений угла  $\chi$  основания U2585 пик I соответствует фазе  $\alpha$ , пик II – фазам  $\beta$  и  $\nu$ , пик III – фазе  $\zeta$  (рис. 1)



**Рис. 5.** Схема, показывающая образование основных водородных связей нуклеотида A2062 при моделировании молекулярной динамики. Серая вертикальная черта отражает существование указанной водородной связи в данный момент времени; б – карта водородных связей нуклеотида G2503, полученная из траектории с мутацией A2503G *in silico*

жения C2063 и потеря его контакта с G2061 (рис. 1 и 2). Что же касается н.о.  $m^2A2503$ , то он находится в стэкинг-контакте со своими соседями A2059 и G2061 в течение большей части процесса моделирования, за исключением периода между 90 и 150 нс, когда этот контакт заметно ослабляется (рис. 2).

Предположение о том, что н.о. A2062 играет важную роль в функционировании рибосомы, было высказано вскоре после расшифровки ее атомной структуры [53]. Впоследствии оно по-

лучило убедительное подтверждение в работах Манькина с сотр. [54]. Показано, что мутации в этом положении 23S рРНК полностью исключают остановку рибосомы в системах со стоп-пептидами. Поскольку сама по себе замена аденина в A2062 на другие нуклеиновые основания заметно не сказывалась на эффективности работы ПТЦ рибосомы, было высказано предположение, что мутации этого нуклеотидного остатка прерывают передачу аллостерического сигнала в ПТЦ из более глубоких райнов РТ. Аналогич-

ные результаты были получены той же группой и для m<sup>2</sup>A2503 [51]. В соответствии с этими данными, мы заменили в стартовой системе для моделирования МД основание в A2062 на урацил, а 2-метиладенин в m<sup>2</sup>A2503 — на гуанин. Эти мутации *in silico* привели к блокированию описанного выше конформационного перехода. При этом U2062 вклинивался на короткое время между G2061 и C2063, но в силу меньших размеров гетероциклического кольца и ослабленных стэкинг-взаимодействий не мог образовать с ними стабильную триаду. Что же касается G2503, то наблюдалась тенденция к образованию достаточно прочной не-уотсон-криковской G–A-пары между основаниями этого нуклеотида и A2062, что удерживало последний в исходном состоянии (рис. 5, б).

Хотя порядок расположения консервативных нуклеотидных остатков в обнаруженной нами триаде G2061–A2062–C2063 и соответствует вторичным структурам всех известных рРНК большой субъединицы рибосомы, он не наблюдался ни в одной из ее пространственных структур, полученных на сегодня с помощью рентгено-структурного анализа или крио-электронной микроскопии с разрешением, приближающимся к атомному. Нуклеотидный остаток G2061 непосредственно контактирует в них с C2063, а A2062 либо выведен наружу («открытая» конформация), либо расположен по соседству с G2061, но не с C2063 («закрытая» конформация). Нуклеотидные остатки G2061 и C2063 относятся к т.н. «внешнему слою» ПТЦ [55]. Они участвуют в структурировании A2451, одного из ключевых функциональных нуклеотидных остатков ПТЦ рибосомы [56, 57], и их сайт-направленный мутагенез драматическим образом сказывается на активности рибосомы [58, 59]. Поэтому можно думать, что постепенное смещение C2063 относительно своего положения в стартовой структуре и полная потеря его контакта с G2061 к 80 нс также не может не сказаться на эффективности пептидилтрансферазной (ПТ) реакции.

Другим важным следствием наблюдаемой нами реорганизации сегмента A2062–G2061–C2063 в триаду G2061–A2062–C2063 является образование устойчивого ассоциата C2063 с U2585, которое стабилизируется к 240 нс (рис. 2). Хотя изучение механизма ПТ реакции еще нельзя считать законченным (см., например, работу Поликанова с сотр. [57]), на сегодня твердо установлено, что ключевую роль в катализе образования пептидных связей в синтезирующихся на рибосоме полипептидных цепях белка играют, по меньшей мере, четыре н.о. рРНК, а именно нуклеотидные остатки C2063, A2451, U2585 и U2586 [60].

Показано, что на каждом шаге ПТ-реакции один из субстратов ПТЦ — аминоксил-тРНК — индуцирует перестройку конформации ансамбля из этих нуклеотидов так, чтобы она соответствовала структуре 3'-концевого участка тРНК и аминокислотного остатка, которым он ацилирован [61]. Иными словами, этот ансамбль должен достаточно легко перестраиваться. При этом оказалось, что подвижность U2585 в нем особенно ярко выражена. Отсюда ясно, что наблюдаемое нами отклонение U2585 от положения, оптимального для эффективного протекания ПТ-реакции, и его фиксация в этом положении должны приводить к инактивации рибосомы. Более того, мы обнаружили, что U2585, будучи ассоциированным с C2063, создает затруднения для связывания 3'-концевого аденозина в пептидил-тРНК с Р-сайтом ПТЦ.

Важно отметить, что наблюдаемый нами конформационный переход сегмента A2058–C2063, во-первых, обратим, а во-вторых, он происходит со скоростью, на несколько порядков превышающей скорость ПТ-реакции. Следовательно, для того, чтобы эти конформационные изменения воздействовали на активность рибосомы (например, приводили к длительной остановке ее работы), он должен быть каким-то образом зафиксирован, например, при помощи стоп-пептида. В самое последнее время, благодаря существенному прогрессу в увеличении разрешающей способности крио-электронной микроскопии, удалось наблюдать различные стоп-пептиды и их окружение в РТ [27, 62–65]. Однако лишь в упомянутой выше работе Аренца с сотр. [27] была замечена фиксация положения U2585. Она происходила тогда, когда в рибосоме *E. coli* одновременно присутствовали стоп-пептид ErmVL и антибиотик эритромицин. Более того, подвижность U2585 в этом случае была ограничена за счет его стэкинг-взаимодействий с U2586, а не с C2063. Кроме того, заметных изменений в конформации изучаемого нами участка РТ в этой работе отмечено не было (см. структуру с кодом PDB 3J5L).

Каким же образом может происходить «замораживание» наблюдаемой нами необычной конформации сегмента A2058–C2063? Как уже отмечалось, конформационный переход в этом сегменте РТ инициируется изменением взаимного расположения, а именно, сближением адениновых оснований в динуклеотидном фрагменте A2058–A2059 23S рРНК. Можно себе представить, что в ходе перемещения вновь синтезируемого полипептида по РТ один из его гидрофобных аминокислотных остатков (X) входит в гидрофобную полость, образуемую A2058 и 2059, и раздвигает адениновые основания. Ско-

рее всего, связывание X с этим сайтом будет легко обратимым (в отличие от макролидов и кетолидов, которые в дополнение к гидрофобному контакту связаны с этим районом РТ рядом устойчивых водородных связей). Тогда, до того, как осуществится следующий шаг синтеза полипептидной цепи, остаток X может периодически покидать гидрофобную полость сегмента A2058–A2059 и связываться с ней вновь, что приведет к периодическим изменениям конформации сегмента A2058–C2063, описанным выше. Далее события могут развиваться по одному из двух сценариев в зависимости от первичной структуры C-концевого фрагмента растущей полипептидной цепи. Действительно, недавно было установлено, что связанные с тРНК в ПТЦ пептиды со специфической аминокислотной последовательностью и длиной всего лишь в три аминокислотных остатка способны в определенных условиях останавливать трансляцию [66]. Это происходит за счет их взаимодействия с нуклеотидными остатками РТ, непосредственно примыкающими к ПТЦ. В таком случае, если структура C-концевого фрагмента син-

тезирующегося на рибосоме полипептида такова, что он способен зафиксировать фрагмент G2061–A2062–C2063 в стэкинг-конформации, то синтез белка на рибосоме будет замедлен или вовсе остановлен вследствие стабилизации контакта U2585 с C2063. Если же в момент конформационной перестройки сегмента A2058–C2063 C-концевой фрагмент синтезирующегося полипептида имеет другую аминокислотную последовательность, то остановки или существенного замедления процесса трансляции не произойдет. По подобному механизму, который, разумеется, нуждается в экспериментальной проверке, может протекать процесс регуляции трансляции любыми эффекторами, обратимо связывающимися с A2058–A2059 сенсорным элементом РТ.

Авторы выражают благодарность Вычислительному центру МГУ им. М.В. Ломоносова за предоставленную возможность производить расчеты МД на суперкомпьютере «Ломоносов».

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-24-00061).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Polacek, N., Patzke, S., Nierhaus, K.H., and Barta, A. (2000) Periodic conformational changes in rRNA: Monitoring the dynamics of translating ribosomes, *Mol. Cell.*, **6**, 159–171.
- Zhou, J., Lancaster, L., Donohue, J.P., and Noller, H.F. (2013) Crystal structures of EF-G–Ribosome complexes trapped in intermediate states of translocation, *Science*, **340**, 1236086.
- Pulk, A., and Cate, J.H.D. (2013) Control of ribosomal subunit rotation by elongation factor G, *Science*, **340**, 1235970.
- Ogle, J.M., Brodersen, D.E., Clemons, W.M., Tarry, M.J., Carter, A.P., and Ramakrishnan, V. (2001) Recognition of cognate transfer RNA by the 30S ribosomal subunit, *Science*, **292**, 897–902.
- Munro, J.B., Sanbonmatsu, K.Y., Spahn, C.M., and Blanchard, S.C. (2009) Navigating the ribosome's metastable energy landscape, *Trends Biochem. Sci.*, **34**, 390–400.
- Steitz, T.A. (2008) A structural understanding of the dynamic ribosome machine, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 242–253.
- Rheinberger, H.-J., and Nierhaus, K.H. (1986) Allosteric interactions between the ribosomal transfer RNA-binding sites A and E, *J. Biol. Chem.*, **261**, 9133–9139.
- Bogdanov, A.A., Dontsova, O.A., Dokudovskaya, S.S., and Lavrik, I.N. (1995) Structure and function of 5S rRNA in the ribosome, *Biochem. Cell Biol.*, **73**, 869–876.
- Chan, Y.-L., Dresios, J., and Wool, I.G. (2006) A pathway for the transmission of allosteric signals in the ribosome through a network of RNA tertiary interactions, *J. Mol. Biol.*, **355**, 1014–1025.
- Blaha, G., Gurel, G., Schroeder, S.J., Moore, P.B., and Steitz, T.A. (2008) Mutations outside the anisomycin-binding site can make ribosomes drug-resistant, *J. Mol. Biol.*, **37**, 505–519.
- Davidovich, C., Bashan, A., Auerbach-Nevo, T., Yaggie, R.D., Gontarek, R., and Yonath, A. (2007) Induced-fit tightens pleuromutilins binding to ribosomes and remote interactions enable their selectivity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 4291–4296.
- Wang, L., Pulk, A., Wasserman, M.R., Feldman, M.B., Altman, R.B., Cate J.H.D., and Blanchard, S.C. (2012) Allosteric control of the ribosome by small-molecule antibiotics, *Nature Struct. Mol. Biol.*, **19**, 957–963.
- Sothiselva, S., Liu, B., Han, W., Ramu, H., Klepacki, D., Atkinson, G.C., Brauer, A., Remm, M., Tenson, T., Schulten, K., Vazquez-Laslop, N., and Mankin, A.S. (2014) Macrolide antibiotics allosterically predispose the ribosome for translation arrest, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 9804–9809.
- Sergiev, P.V., Bogdanov, A.A., Dahlberg, A.E., and Dontsova, O. (2000) Mutations at position A960 of *E. coli* 23S ribosomal RNA influence the structure of 5S ribosomal RNA and the peptidyltransferase region of 23S ribosomal RNA, *J. Mol. Biol.*, **299**, 379–389.
- Sergiev, P.V., Lesnyak, D.V., Burakovsky, D.E., Kiparisov, S.V., Leonov, A.A., Bogdanov, A.A., Brimacombe, R., and Dontsova, O.A. (2005) Alteration in location of a conserved GTPase-associated center of the ribosome induced by mutagenesis influences the structure of peptidyltransferase center and activity of elongation factor G, *J. Biol. Chem.*, **280**, 31882–31889.
- Sergiev, P.V., Kiparisov, S.V., Burakovsky, D.E., Lesnyak, D.V., Leonov, A.A., Bogdanov, A.A., and Dontsova, O.A. (2005) The conserved A-site finger of the 23 S rRNA: Just one of the intersubunit bridges or a part of the allosteric communication pathway? *J. Mol. Biol.*, **353**, 116–123.

17. Burakovsky, D.E., Sergiev, P.V., Steblyanko, M.A., Konevega, A.L., Bogdanov, A.A., and Dontsova, O.A. (2011) The structure of helix 89 of 23S rRNA is important for peptidyl transferase function of *Escherichia coli* ribosome, *FEBS Lett.*, **585**, 3073–3078.
18. Monod, J., Wyman, J., and Changeux, J.-P. (1965) On the nature of allosteric transitions: a plausible model, *J. Mol. Biol.*, **12**, 88–118.
19. Goodey, N.M., and Benkovic, S.J. (2008) Allosteric regulation and catalysis emerge via a common route, *Nature Chem. Biol.*, **4**, 474–482.
20. Sethi, A., Eargle, J., Black, A.A., and Luthey-Schulten, Z. (2009) Dynamical networks in tRNA: protein complexes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 6620–6625.
21. Williams, S.G., and Hall, K.B. (2014) Linkage and allostery in snRNP protein/RNA complexes, *Biochemistry*, **53**, 3529–3539.
22. Wilson, D.N. (2009) The A-Z of bacterial translation inhibitors, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **44**, 393–433.
23. Ban, N., Nissen, P., Hansen, J., Moore, P.B., and Steitz, T.A. (2000) The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution, *Science*, **289**, 905–920.
24. Ito, K., and Chiba, S. (2013) Arrest peptides: cis-acting modulators of translation, *Annu. Rev. Biochem.*, **82**, 171–202.
25. Vazquez-Laslop, N., Ramu, H., and Mankin, A.S. (2011) Nascent peptide mediated ribosome stalling promoted by antibiotics, in *Ribosomes Structure, function and dynamics* (Rodnina, M.V., Wintermeyer, W., Green, R., eds), Springer, Vienna, pp. 377–392.
26. Seidelt, B., Innis, C.A., Wilson, D.N., Gartmann, M., Armache, J.-P., Villa, E., Trabuco, L.G., Becker, T., Mielke, T., Schulten, K., Steitz, T.A., and Beckmann, R. (2009) Structural insight into nascent polypeptide chain-mediated translational stalling, *Science*, **326**, 1412–1415.
27. Arenz, S., Ramu, H., Gupta, P., Berninghausen, O., Beckmann, R., Vazquez-Laslop, N., Mankin, A.S., and Wilson, D.N. (2014) Molecular basis for erythromycin-dependent ribosome stalling during translation of the ErmBL leader peptide, *Nature Commun.*, **5**, 3501, DOI: 10.1038.
28. Kannan, K., and Mankin, A.S. (2011) Macrolide antibiotics in the ribosomal tunnel: species-specific binding and action, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1241**, 33–47.
29. Weisblum, B. (1995) Erythromycin resistance by ribosome modification, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**, 577–585.
30. Sanbonmatsu, K.Y. (2012) Computational studies of molecular machines: the ribosome, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **22**, 168–174.
31. Trabuco, L.G., Harrison, C.B., Schreiner, E., and Schulten, K. (2010) Recognition of the regulatory nascent chain TnaC by the ribosome, *Structure*, **18**, 627–637.
32. Gumbart, J., Schreiner, E., Wilson, D., Beckmann, R., and Schulten, K. (2012) Mechanism of SecM-mediated stalling in the ribosome, *Biophys. J.*, **103**, 331–341.
33. Shishkina, A., Makarov, G., Tereshchenkov, A., Korshunova, G., Sumbatyan, N., Golovin, A., Svetlov, M., and Bogdanov, A. (2013) Conjugates of amino acids and peptides with 5-O-Mycaminosyltylonolide and their interaction with the ribosomal exit tunnel, *Bioconjug. Chem.*, **24**, 1861–1869.
34. Jack, A., Dunkle, J.A., Xiong, L., Mankin A.S., and Cate, J.H.D. (2010) Structures of the *Escherichia coli* ribosome with antibiotics bound near the peptidyl transferase center explain spectra of drug action, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 17152–17157.
35. Cannone J.J., Subramanian, S., Schnare, M.N., Collett, J.R., D'Souza, L.M., Du, Y., Feng, B., Lin, N., Madabusi, L.V., Muller, K.M., Pande, N., Shang, Z., Yu, N., and Gutell, R.R. (2002) The comparative RNA web (CRW) site: an online database of comparative sequence and structure information for ribosomal, intron, and other RNAs, *BMC Bioinformatics*, **3**, 2.
36. Byrd, R.H., Lu, P., and Nocedal, J. (1995) A limited memory algorithm for bound constrained optimization, *SIAM J. Sci. Comput.*, **16**, 1190–1208.
37. Bussi, G., Donadio, D., and Parrinello, M. (2007) Canonical sampling through velocity rescaling, *J. Chem. Phys.*, **126**, 014101.
38. Van der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A.E., and Berendsen, H.J.C. (2005) GROMACS: fast, flexible, free, *J. Comput. Chem.*, **26**, 1701–1718.
39. Hess, B., Kutzner, C., van der Spoel, D., and Lindahl, E. (2008) GROMACS 4: algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation, *J. Chem. Theory Comput.*, **4**, 435–447.
40. Berendsen, H.J.C., Postma, J.P.M., van Gunsteren, W.F., DiNola, A., and Haak, J.R. (1984) Molecular dynamics with coupling to an external bath, *J. Chem. Phys.*, **81**, 3684–3690.
41. Darden, T., York, D., and Pedersen, L. (1993) Particle mesh Ewald: An N log(N) method for Ewald sums in large systems, *J. Chem. Phys.*, **98**, 10089–10092.
42. Jorgensen, W.L., Chandrasekhar, J., and Madura, J.D. (1983) Comparison of simple potential functions for simulating liquid water, *J. Chem. Phys.*, **79**, 926–935.
43. Reshetnikov, R.V., Spomer, J., Rassokhina, O.I., Kopylov, A.M., Tsvetkov, P.O., Makarov, A.A., and Golovin, A.V. (2011) Cation binding to 15-TBA quadruplex DNA is a multiple-pathway cation-dependent process, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 9789–9802.
44. Athavale, S.S., Petrov, A.S., Hsiao, C., Watkins, D., Prickett, C.D., Gossett, J.J., Lie, L., Bowman, J.C., O'Neill, E., Bernier, C.R., Hud, N.V., Wartell, R.M., Harvey, S.C., and Williams, L.D. (2012) RNA folding and catalysis mediated by Iron (II), *PLoS ONE*, **7**, e38024.
45. Bonomi, M., Branduardi, D., Bussi, G., Camilloni, C., Provasi, D., Raiteri, P., Donadio, D., Marinelli, F., Pietrucci, F., Broglia, R.A., and Parrinello, M. (2009) PLUMED: a portable plugin for free-energy calculations with molecular dynamics, *Comput. Phys. Commun.*, **180**, 1961–1972.
46. Arenz, S., Meydan, S., Starosta, A.L., Berninghausen, O., Beckmann, R., Vazquez-Laslop, N., and Wilson, D.N. (2014) Drug sensing by the ribosome induces translational arrest via active site perturbation, *Mol. Cell*, **56**, 446–452.
47. Hashem, Y., and Auffinger, P. (2009) A short guide for molecular dynamic simulation of RNA systems, *Methods*, **47**, 187–197.
48. Laio, A., and Parrinello, M. (2002) Escaping free energy minima, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 12562–12566.
49. Hansen, J., Ippolito, J., Ban, N., Nissen, P., Moore, P., and Steitz, T. (2002) The structures of four macrolide antibiotics bound to the large ribosomal subunit, *Mol. Cell*, **10**, 117–128.
50. Hansen, J.L., Moore, P.B., and Steitz, T.A. (2003) Structures of five antibiotics bound at the peptidyl transferase center of the large ribosomal subunit, *J. Mol. Biol.*, **330**, 1061–1075.
51. Vazquez-Laslop, N., Ramu, H., Klepacki, D., Kannan, K., and Mankin, A.S. (2010) The key function of a conserved and modified rRNA residue in the ribosomal response to the nascent peptide, *EMBO J.*, **29**, 3108–3117.
52. Leontis, N.B., Stombaugh, J., and Westhof, E. (2000) The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices, *Nucleic Acids Res.*, **30**, 3497–3531.
53. Hansen, J.L., Schmeing, T.M., Moore, P.B., and Steitz, T.A. (2002) Structural insights into peptide bond formation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 11670–11675.

54. Vazquez-Laslop, N., Thum, C., and Mankin, A.S. (2008) Molecular mechanism of drug-dependent ribosome stalling, *Mol. Cell*, **30**, 190–202.
55. Youngman, E.M., Brunelle, J.L., Kochaniak, A.B., and Green, R. (2004) The active site of the ribosome is composed of two layers of conserved nucleotides with distinct roles in peptide bond formation and peptide release, *Cell*, **117**, 589–599.
56. Nissen, P., Hansen, J., Ban, N., Moore, P.B., and Steitz, T.A. (2000) The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis, *Science*, **289**, 920–930.
57. Polikanov, Y.S., Steitz, T.A., and Innis, C.A. (2014) A proton wire to couple aminoacyl-tRNA accommodation and peptide-bond formation on the ribosome, *Nature Struct. Mol. Biol.*, **21**, 787–793.
58. Sergiev, P.V., Lesnyak, D.V., Burakovsky, D.E., Svetlov, M., Kolb, V.A., Serebryakova, M.V., Demina, I.A., Govorun, V.M., Dontsova, O.A., and Bogdanov, A.A. (2012) Non-stressful death of 23S rRNA mutant G2061C defective in puromycin reaction, *J. Mol. Biol.*, **416**, 656–667.
59. Chirkova, A., Erlacher, M.D., Clementi, N., Zywicki, M., Aigner, M., and Polacek, N. (2010) The role of the universally conserved A2450–C2063 base pair in the ribosomal peptidyl transferase center, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 4844–4855.
60. Leung, E.K.Y., Suslov, N., Tuttle, N., Sengupta, R., and Piccirilli, J.A. (2011) The mechanism of peptidyl transfer catalysis by the ribosome, *Annu. Rev. Biochem.*, **80**, 527–555.
61. Schmeing, T.M., Huang, K.S., Strobel, S.A., and Steitz, T.A. (2005) An induced-fit mechanism to promote peptide bond formation and exclude hydrolysis of peptidyl-tRNA, *Nature*, **438**, 520–524.
62. Bhushan, S., Hoffmann, T., Seidelt, B., Frauenfeld, J., Mielke, T., Berninghausen, O., Wilson D.N., and Beckmann, R. (2011) SecM-stalled ribosomes adopt an altered geometry at the peptidyl transferase center, *PLoS Biol.*, **18**, e1000581.
63. Tsai, A., Kornberg, G., Johansson, M., Chen, J., and Puglisi, J.D. (2014) The dynamics of SecM-induced translational stalling, *Cell Rep.*, **7**, 1521–1533.
64. Sothiselvam, S., Liu, B., Han, W., Ramu, H., Klepacki, D., Atkinson, G.C., Brauer, A., Remm, M., Tenson, T., Schulten, K., Vazquez-Laslop, N., and Mankin, A.S. (2014) Macrolide antibiotics allosterically predispose the ribosome for translation arrest, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 9804–9809.
65. Bischoff, L., Berninghausen, O., and Beckmann, R. (2014) Molecular basis for the ribosome functioning as an L-tryptophan sensor, *Cell Rep.*, **9**, 469–475.
66. Kannan, K., Kanabar, P., Schryerm D., Florin, T., Oh, E., Bahroos, N., Tenson, T., Weissman, J.S., and Mankin, A.S. (2014) The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 15958–15963.

## ALLOSTERIC SIGNAL TRANSDUCTION IN THE RIBOSOME: A MOLECULAR DYNAMICS STUDY

**G. I. Makarov<sup>1</sup>, A. V. Golovin<sup>2</sup>, N. V. Sumbatyan<sup>1</sup>,  
A. A. Bogdanov<sup>1,3\*</sup>**

<sup>1</sup> *M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry,  
Moscow 119991, Russia*

<sup>2</sup> *M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty  
of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow 119991, Russia*

<sup>3</sup> *M. V. Lomonosov Moscow State University, A. N. Belozersky  
Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow 119991,  
Russia; E-mail: bogdanov@belozersky.msu.ru*

Received March 02, 2015

Revision received April 13, 2015

The ribosome is a molecular machine that synthesizes cell proteins in the course of mRNA translation. At the each step of polypeptide chain synthesis, the ribosome ligands, tRNAs and several protein factors, bind and leave the ribosome in a strictly coordinated way. Also, it is known that the coordination of these steps is based on interrelated conformational rearrangements of components of the ribosome. It is generally accepted that coordination of the ordered sequence of events in the ribosomal working cycle is accomplished by signal exchange between functional centers of the ribosome. Since distances between these centers are rather large, it has been suggested that signal transduction in the ribosome might be performed allosterically. In this work, we attempt to explain how the allosteric signal can be transferred from one of the so-called sensory centers of the ribosomal nascent peptide exit tunnel (NPET) to the peptidyl transferase center (PTC) of the *E. coli* ribosome is made. To address this question, we use molecular dynamics modeling of the putative signal-transmission pathway that includes universally conserved 23S rRNA residues A2058, A2059, m<sup>2</sup>A2503, G2061, A2062, and C2063. We found that this rRNA segment constitutes a dynamic ensemble of interrelated conformational states. Moreover, we observed that these conformational changes could occur as a cascade. We suggest that restructuring of the A2058-C2063 region of NPET leads to reversible stalling of PTC due to stacking interactions of the functionally important U2585 residue with C2063. The possible role of the observed conformational changes in the regulation of the work of the ribosome is discussed.

*Key words:* ribosome, ribosomal tunnel, allostery, molecular dynamics simulations