

УДК 577.217

ВНЕРИБОСОМНЫЕ ФУНКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ РИБОСОМНЫХ БЕЛКОВ

© 2011 г. Л. В. Асеев, И. В. Бони*

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 117997*

Поступила в редакцию 15.03.2011 г.

Принята к печати 25.03.2011 г.

Рибосомные белки составляют значительную часть протеома клетки. Хотя их основное предназначение — служить интегральными компонентами белоксинтезирующей машины, рибосомы, многие из них по совместительству способны выполнять другие функции вне рибосомы как индивидуальные белки-регуляторы или же в составе комплексов с другими клеточными компонентами. Вне ribosomal активности некоторых рибосомных белков отмечали еще в 70–80-х годах, но в последние годы список белков-совместителей и репертуар дополнительных функций, которые они выполняют вне рибосомы, значительно расширились благодаря развитию новых методов анализа белок-белковых и РНК/ДНК-белковых взаимодействий в сложных комплексах, вовлеченных в различные клеточные процессы. В этом обзоре собрана информация о функциях бактериальных рибосомных белков, доказанных или же гипотетически возможных, которые они способны выполнять в клетке.

Ключевые слова: рибосомные белки бактерий, вне ribosomal функции, РНК/ДНК-белковые взаимодействия, белок-белковые взаимодействия, регуляция клеточных процессов.

EXTRARIBOSOMAL FUNCTIONS OF BACTERIAL RIBOSOMAL PROTEINS, by *L. V. Aseev, I. V. Boni** (Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997 Russia; *e-mail: irina_boni@ibch.ru, irinaboni@gmail.com). Ribosomal proteins (r-proteins) constitute a considerable part of the cellular proteome. Though their primary role in a cell is to serve as integral components of protein synthesis machinery, the ribosome, many of them have functions beyond the ribosome (the phenomenon known as moonlighting), acting either as individual regulatory proteins or in complexes with other cellular components. Extraribosomal activities of some ribosomal proteins have been observed as early as in the 1970–1980s. During the last years both a list of r-proteins-moonlighters and the repertoire of their additional functions beyond the ribosome have been greatly expanded, mainly due to newly developed techniques for dissecting RNA/DNA-protein or protein-protein interactions within functional complexes involved in various cellular processes. In this review, we surveyed information on the experimentally proven as well as on presumptive extraribosomal functions which may be performed by bacterial r-proteins in a cell.

Keywords: bacterial ribosomal proteins, extraribosomal functions, RNA/DNA-protein interactions, protein-protein interactions, regulation of cellular processes.

ВВЕДЕНИЕ

Синтез белков у всех организмов происходит на рибосомах — сложных рибонуклеопротеидных комплексах, состоящих из двух субъединиц — малой (у прокариот 30S, у эукариот 40S) и большой (50S и 60S у про- и эукариот соответственно), в состав которых входят три (у прокариот) или четыре (у эукариот) молекулы рибосомных РНК (рРНК) и несколько десятков различных белков (р-белков). Белоксинтезирующий аппарат клетки удивительно консервативен в эволюции. Считается, что рибосома, близкая по структуре и составу современной,

сформировалась уже в период общего предка всех организмов (last common ancestor) до их разделения на три царства (для обзора см. [1]). Основанием для такого заключения служит тот факт, что консервативность многих р-белков прослеживается от бактерий до человека. Так, универсальными являются 15 белков малой субъединицы (у бактериальной рибосомы S2–S5, S7–S15, S17, S19) и 19 белков большой субъединицы (L1–L6, L10–L16, L18, L22–L24, L29, L30) [2, 3].

Широкое распространение получила гипотеза о том, что молекулярный механизм синтеза пептидных цепей возник в мире РНК. Реликт этого начального этапа эволюции трансляционного аппара-

* Эл. почта: irina_boni@ibch.ru

та, как полагают, — пептидилтрансферазный центр (ПТЦ), состоящий почти исключительно из РНК [1, 2]. Вопросы о том, на каком этапе эволюции к рРНК присоединились р-белки и каково их происхождение, до сих пор остаются предметом дискуссий. Учитывая удивительное структурное разнообразие р-белков, предполагается, что наиболее древние из них коэволюционировали с рРНК для формирования и/или поддержания ее активной конформации, тогда как более поздние по происхождению могли быть привлечены из других процессов для усовершенствования качества и точности трансляционного аппарата [1]. Белки составляют от трети до половины массы современной рибосомы и совершенно необходимы для трансляции. Хотя у бактерий гены ряда р-белков можно удалить без потери клеткой жизнеспособности [4], как правило, это приводит к различным дефектам роста в определенных условиях. Специфические функции р-белков в процессе белкового синтеза долго оставались неизвестными и начали проясняться сравнительно недавно [3, 5].

Как структурные компоненты рибонуклеопротеида большинство р-белков обладают РНК-связывающей способностью, при этом некоторые из них могут связывать и ДНК, что косвенно указывает на возможность их кооптации на более поздних этапах эволюции. В составе рибосомы р-белки взаимодействуют не только с рРНК, но и со своими белковыми партнерами, т.е. имеют способность к белок-белковым взаимодействиям. Эти свойства предполагают потенциальную возможность образования комплексов с другими клеточными компонентами для выполнения функций вне рибосомы, что и доказано для ряда про- и эукариотических р-белков [6, 7].

Внерибосомную активность ряда бактериальных р-белков обнаружили более 30 лет назад; в первую очередь это относится к способности некоторых из них выполнять регуляторную роль специфических репрессоров трансляции мРНК своего оперона, т.е. осуществлять аутогенный контроль (обзоры [8, 9]). С развитием методов анализа сложных функциональных комплексов, вовлеченных в регуляцию клеточных процессов, стало ясно, что количество р-белков, способных выполнять дополнительные функции в клетке, а также разнообразие этих функций было явно недооценено; в частности, оказалось, что р-белки могут принимать участие в регуляции транскрипции [10]. В настоящем обзоре собран материал по внерибосомным функциям р-белков бактерий, предполагаемым или уже полностью доказанным. Для обзора выбрана форма каталога, где каждому р-белку, выполняющему работу по совместительству, посвящен отдельный раздел, при этом дается и краткое описание тех функций (если они известны), которые этот белок выполняет в составе рибосомы.

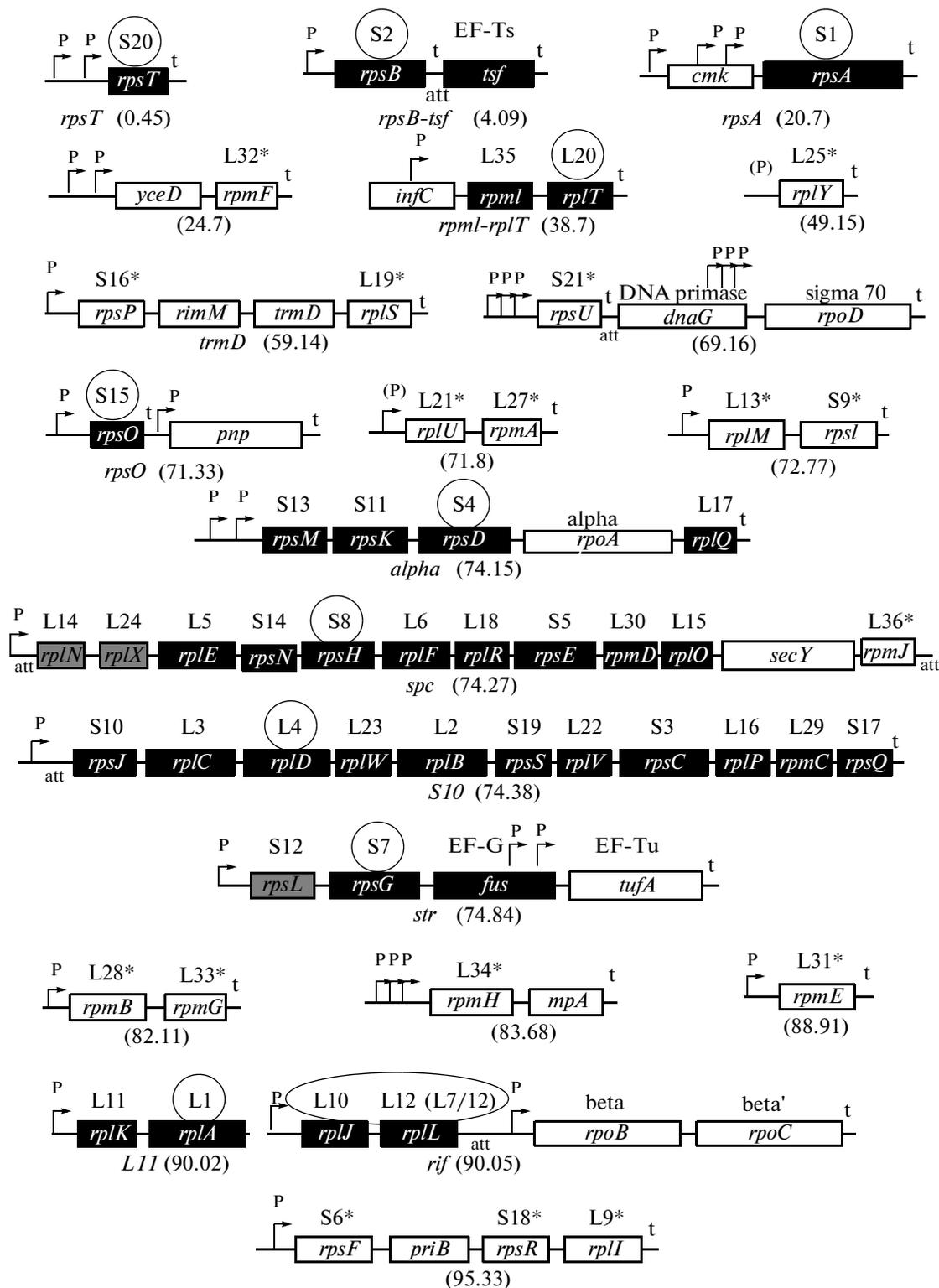
ФУНКЦИИ РИБОСОМНЫХ СУБЪЕДИНИЦ В ПРОЦЕССЕ ТРАНСЛЯЦИИ

Малая субчастица рибосом бактерий (30S), в состав которой входит одна молекула РНК (16S рРНК) и около 20 белков (в зависимости от источника; например, у *Escherichia coli* 21 белок, от S1 до S21), отвечает за узнавание и связывание мРНК на этапе инициации трансляции, за декодирование содержащейся в мРНК информации и поддержание рамки считывания в процессе синтеза белковой цепи. Большая субчастица рибосом (50S) содержит две молекулы рРНК (23S и 5S) и более 30 р-белков (33 в *E. coli*), не контактирует с мРНК, принимает непосредственное участие в катализе образования пептидной связи в ПТЦ и обеспечивает выход растущей белковой цепи через “выходной” туннель (exit tunnel).

Транспортные РНК (тРНК) занимают в трансляционном цикле последовательно А, Р и Е-сайты, расположенные на обеих субъединицах: в декодирующем центре 30S субчастицы происходит взаимодействие антикодонов тРНК с мРНК, а на 50S субчастице располагаются универсальные ССА-концы тРНК, несущие аминокислоту или же растущую белковую цепь. Взаиморасположение р-белков и участков рРНК в важнейших функциональных центрах, а также расположение лигандов (тРНК, мРНК, факторов трансляции, антибиотиков) и их взаимодействие с рибосомными компонентами в настоящее время достаточно хорошо известны благодаря рентгеноструктурному анализу с высоким разрешением и криоэлектронной микроскопии (для обзора и ссылок см. [11]).

ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОВ РИБОСОМНЫХ БЕЛКОВ НА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ХРОМОСОМЕ

Гены р-белков бактерий организованы в опероны, в которые часто включены гены нерибосомных белков — факторов трансляции (*tsf*, *fus*, *tufA*), субъединиц РНК-полимеразы (*rpoA*, *rpoB*, *rpoC*, *rpoD*), компонентов репликационного комплекса (*dnaG*—праймаза, *priB*—праймсомный белок N, необходимый для рестарта репликации). Это указывает на взаимосвязь основных процессов реализации генетической информации и необходимость их координации в бактериальной клетке. Кроме того, в состав ряда оперонов р-белков входят гены, продукты которых участвуют в модификации и процессинге тРНК (*trmD* и *rpmA* соответственно), созревании рРНК (*rimM*), экспорте белков через мембрану (*secY*). Биологический смысл включения этих генов в состав оперонов р-белков пока не очень ясен, часто нерибосомные гены регулируются независимо от генов р-белков [8]. Строение оперонов р-белков и их распределение на хромосомной карте *E. coli* показано на рисунке.



Строение оперонов рибосомных белков и их распределение на хромосоме *E. coli*. В основу положена схема из работы [8], переработанная и дополненная с учетом современных данных. Под схемой каждого оперона указано его название (если оно имеется) и положение на хромосомной карте (в сантисомах) по данным EcoCyc version 14.6 (<http://bio-cyc.org/ECOLI>). Белки, регулирующие экспрессию собственных оперонов, обведены; звездочкой отмечены р-белки, о регуляции которых нет сведений. Черный фон – гены под контролем белка-репрессора, белый фон – гены, не регулируемые р-белком или гены оперонов, регуляция которых до сих пор не изучена. Alpha, beta, beta' и sigma 70 – субъединицы РНК-полимеразы; P – промотор, t и att – терминатор и аттенюатор транскрипции.

БЕЛКИ-СОВМЕСТИТЕЛИ (MOONLIGHTING R-PROTEINS) 30S СУБЧАСТИЦ РИБОСОМ

S1. Белок S1, самый большой из р-белков (557 аминокислотных остатков в *E. coli*), является интегральным компонентом трансляционного аппарата всех протеобактерий, цианобактерий (предшественников хлоропластов), а также ряда других групп бактерий, но его нет в рибосомах грамположительных бактерий с низким G/C-составом [12]. У грамотрицательных бактерий S1 содержит шесть гомологичных повторов (72–75 аминокислотных остатков каждый), называемых S1-мотивами [12]. S1-мотивы консервативны и встречаются во многих РНК-связывающих белках от бактерий до человека [13]. Два повтора, образующие N-концевой домен S1, в ходе эволюции утратили РНК-связывающие функции и приобрели способность к белок-белковым взаимодействиям, а четыре повтора в центральной и C-концевой области отвечают за способность S1 связывать РНК. S1 присоединяется к 30S субчастице N-концевым доменом за счет белок-белковых контактов, завершая сборку активных в связывании мРНК субчастиц, при этом его протяженный РНК-связывающий домен обращен в раствор [12]. Жизненно важная функция S1 как компонента 30S субчастицы состоит в связывании мРНК на первых этапах инициации трансляции [14], причем мишени S1 расположены в 5'-нетранслируемых областях (5'-НТО) мРНК [15]. Хотя S1 не обладает выраженной специфичностью к определенной последовательности нуклеотидов, он проявляет более высокое сродство к A/U-богатым одноцепочечным участкам РНК [16].

Способность к белок-белковым и РНК-белковым взаимодействиям лежит в основе многочисленных функций, которые S1 выполняет вне рибосомы. Различные бактериофаги при инфекции клетки-хозяина используют S1 в самых разных процессах. S1 является одной из четырех субъединиц Q β -репликазы, а также репликаз других РНК-содержащих фагов, он абсолютно необходим для репликации плюс-цепей фаговых РНК [17, 18]. Исторически это самая первая внерибосомная функция, открытая у р-белков [17]. S1 взаимодействует с β -белком фага λ , вовлеченным в рекомбинацию, поэтому не исключено его участие в этом процессе [19, 20]. S1 стимулирует активность специфической эндорибонуклеазы RegV фага T4, которая расщепляет последовательность Шайна–Дальгарно (SD) в ряде ранних фаговых РНК, когда их трансляция больше не нужна [21]. Интересно, что для этой функции достаточно РНК-связывающего домена S1, из чего следует, что активность RegV стимулируется не за счет образования белок-белкового комплекса, а за счет взаимодействия S1 с РНК-мишенями [22].

Как аутогенный регулятор S1 ингибирует *in vitro* и *in vivo* трансляцию своей мРНК (*rpsA*-мРНК), ес-

ли синтезируется в избытке по отношению к 30S субчастице [23, 24]. Рибосомсвязывающий участок (RBS) *rpsA*-мРНК у *E. coli* и родственных γ -протеобактерий лишен канонической SD-последовательности, и образование 30S инициаторного комплекса строго зависит от взаимодействий S1-мРНК [24, 25]. В отличие от других р-белков-регуляторов, S1 не связывает рРНК; в основе механизма аутогенного контроля лежит конкуренция за мРНК между свободным S1 и S1 в составе 30S субчастицы [24]. Предпочтительность связывания с *rpsA*-мРНК на фоне других клеточных мРНК объясняется, скорее всего, кооперативностью взаимодействия нескольких молекул S1-репрессора с A/U-богатыми участками в 5'-НТО *rpsA*-мРНК [24].

Предполагается, что S1 может играть роль в регуляции эффективности транскрипции, увеличивая процессивность РНК-полимеразы [26, 27], в полиаденилировании мРНК [28], а также в образовании антитерминационного комплекса РНК-полимеразы на специфическом участке в лидерных областях транскриптов рРНК, называемом бокс А [10, 29]. Однако эти предположения основаны на экспериментальном материале, полученном *in vitro*. Учитывая предпочтение S1 к A/U-богатым одноцепочечным участкам РНК, данные о его взаимодействии с A/U-богатым боксом А *in vitro* [29] могут и не иметь биологической значимости для образования антитерминационного комплекса *in vivo*. Кроме того, эту же функцию (связывание бокса А) S1 может выполнять и в составе 30S субчастицы [16]. Также предполагалась возможность участия S1 в связывании тмРНК и в контроле качества мРНК по механизму *транс*-трансляции [30], однако о роли S1 в этом процессе нет единого мнения; например, в работе [31] такая возможность вполне обоснованно отвергается.

Недавно была идентифицирована еще одна функция белка S1 *E. coli*: оказалось, что он способен контролировать не только экспрессию своего оперона, *rpsA*, но и участвовать в регуляции экспрессии оперона *rpsB-tsif*, кодирующего р-белок S2 и фактор элонгации EF-Ts [32].

S2. Консервативный белок S2 (S0 – в рибосомах дрожжей, SA – у высших эукариот) – жизненно важный компонент рибосом всех организмов, хотя функции, которые он выполняет в трансляции, точно не определены. Показано, что в составе бактериальной рибосомы S2 вовлечен в связывание SD-дуплекса на этапе инициации трансляции [33], но это не объясняет необходимость его присутствия в организмах, которые не используют SD-взаимодействий при связывании мРНК. В свободном виде белок S2 действует как негативный регулятор экспрессии обоих генов оперона *rpsB-tsif* у *E. coli* и других γ -протеобактерий *in vivo* [32, 34]. Связываясь со структурированным операторным участком в 5'-НТО собственной мРНК (*rpsB*), S2 ингибирует

ее трансляцию, что, в свою очередь, приводит к нарушению транскрипционно-трансляционного сопряжения в опероне, снижению уровня бицистронной мРНК *rpsB-tsfi* и, как результат, — к ингибированию синтеза EF-Ts [32]. В отличие от классических р-белков-регуляторов (см. обзоры [8, 9]) белку S2 для аутогенной репрессии необходим помощник — продукт другого оперона — р-белок S1, и очень вероятно, что в регуляцию вовлечен комплекс S1-S2 [32]. Этот необычный для оперонов р-белков способ регуляции связан, по-видимому, с тем, что сам белок S2 не проявляет выраженной РНК-связывающей активности, тогда как сродство комплекса S2-S1 к операторному участку достаточно велико для обеспечения высокоэффективной репрессии (наши неопубликованные данные).

S4. Универсальный белок S4 (в рибосомах эукариот — S9, см. [3]) — ключевой в биогенезе малой субчастицы рибосом. Его взаимодействие (в которое вовлечен N-концевой домен белка) с 5'-концевым доменом 16S рРНК приводит к структурным изменениям, строго необходимым для последующих этапов сборки 30S субчастицы (для ссылок по теме см. [35]). В составе 30S субчастицы р-белки S4, S3 и S5 образуют входные ворота для мРНК и обладают хеликазной активностью, необходимой для плавления вторичной структуры участка мРНК, входящего в мРНК-связывающий канал при трансляции [3].

Вне рибосомы S4 выполняет в клетках *E. coli* важную регуляторную функцию аутогенного репрессора экспрессии α -оперона (рисунок) на уровне трансляции. Механизм аутогенного контроля белком S4 описывается термином “ловушка” (“entrapment”) [8, 36, 37]. В отличие от механизма прямой конкуренции, когда связывание белка-репрессора с мРНК препятствует связыванию 30S субчастицы (как, например, в случае S1), взаимодействие S4 с 5'-областью α -мРНК, включающей RBS первого цистрона (*rpsM*) и образующей сложный псевдоузел, разрешает посадку 30S субчастицы, но в результате образуется непродуктивный комплекс, не способный к связыванию тРНК и, как следствие, к образованию транскрипционно активного инициаторного комплекса [36, 37]. Образование неактивного комплекса S4 • мРНК • 30S ингибирует синтез р-белков S13, S11, S4 и L17 с полицистронной α -мРНК (рисунок). Считается, что при этом не ингибируется трансляция цистрона, кодирующего α -субъединицу РНК-полимеразы, хотя он и фланкирован цистронами р-белков, которые подвержены трансляционной репрессии, но механизм такого исключения остается неясным.

S4 регулирует собственный синтез не только в клетках *E. coli*, но и у *Bacillus subtilis*, причем у *Bacillus* кодирующий S4 ген *rpsD* не входит в состав оперона с другими генами р-белков, а представляет собой отдельную транскрипционную единицу [38].

Аутогенная регуляция происходит, как и в *E. coli*, на посттранскрипционном уровне, но в связывание S4-репрессора у *Bacillus* вовлечена протяженная 5'-концевая область *rpsD*-мРНК, вторичная структура которой не соответствует конформации псевдоузла. Молекулярный механизм репрессии *rpsD*-мРНК в деталях не изучался [38]; предполагается, что принципы узнавания операторного участка S4-репрессором у *Bacillus* и *E. coli* могут различаться.

Особый интерес представляет внерибосомная активность S4, связанная с его стимулирующей ролью в транскрипции рРНК [10, 39]. Функция S4 в антитерминации транскрипции на Rho-зависимых терминаторах аналогична роли фактора транскрипции NusA; более того, как и NusA, S4 ассоциирован с РНК-полимеразой *in vivo* [39]. Таким образом, S4 не только служит репрессором трансляции α -оперона, если его уровень превышает уровень свободной 16S рРНК в клетке, но и может стимулировать синтез рРНК, что дополнительно способствует поддержанию баланса синтеза рРНК и р-белков.

S7. Универсальный белок S7 (S5 — в рибосомах эукариот, см. [3]), как и S4, — ключевой белок самосборки рибосом, его взаимодействие с 16S рРНК инициирует фолдинг 3'-основного домена и последующее формирование “головы” 30S субчастицы. Если синтез S7 избыточен по отношению к 16S рРНК, те же РНК-связывающие детерминанты белка используются для взаимодействия с мРНК *str*-оперона *E. coli* и репрессии ее трансляции [40, 41]. Механизм ингибирования включает взаимодействие S7-репрессора с межцистронным участком между первым (S12) и вторым (S7) цистронами *str*-оперона, что приводит к прямой репрессии синтеза самого S7 и сопряженной с ним трансляции последующего цистрона *fus*, кодирующего EF-G [40, 42]. Экспрессия последнего в опероне гена *tufA* (EF-Tu) при этом подавляется в гораздо меньшей степени, так как направляется двумя дополнительными промоторами в гене *fus* (рисунок). Полагают, что связывание S7 с межцистронным участком может ингибировать и трансляцию предыдущего цистрона (S12) по механизму ретрорегуляции, так как образование репрессорного комплекса дестабилизирует соответствующий участок мРНК [40].

S8. Универсальный белок S8 (S22 — в рибосомах дрожжей, S15a — у высших эукариот, см. [3]) играет важную роль при сборке 30S субчастицы, связывая несовершенную спираль H21 в 16S рРНК. Он также служит аутогенным регулятором экспрессии *src*-оперона, кодирующего 11 р-белков и SecY-компонент аппарата белкового экспорта [8, 43]. Механизм регуляции во многом сходен с репрессией *str*-оперона белком S7 (см. выше), так как связывание репрессора происходит не перед первым цистроном оперона, как в большинстве случаев аутогенной регуляции оперонов р-белков [8], а в области инициа-

ции синтеза р-белка L5, который кодируется третьим геном оперона *rplE* (рисунок). Связывание S8-репрессора с мРНК *src*-оперона блокирует трансляцию цистрона *rplE* напрямую, а трансляцию последующих цистронов р-белков из-за нарушения трансляционного сопряжения [44]. Трансляция двух предыдущих цистронов (L14 и L15) ингибируется по механизму ретрорегуляции, приводящему к дестабилизации мРНК [45]. О регуляции самых удаленных цистронов *secY* и *rpmJ* сведений нет. Структура комплекса S8 с операторной областью мРНК в кристалле изучена с высоким разрешением (2.8 Å). Показано, что обе РНК-мишени для белка S8 (операторный участок мРНК и шпилька H21 в 16S рРНК) имеют бесспорное структурное сходство (молекулярная мимикрия), и в обеих функциях использует один и тот же РНК-связывающий сайт [46].

S9. Гены белков S9 (*rpsI*) и L13 (*rplM*) образуют оперон (рисунок), о регуляции которого пока нет данных. Роль S9 (S16 – в рибосомах высших эукариот) в функциях рибосом связана с расположением пептидил-тРНК в Р-участке 30S субчастиц, причем взаимодействие С-концевого участка S9 с антикодонной петлей тРНК важно для поддержания рамки считывания мРНК [47]. Предполагалось, что S9 выполняет дополнительную функцию, не имеющую отношения к трансляции: при исследовании белок-белковых взаимодействий в процессе SOS-репарации ДНК было обнаружено, что S9 взаимодействует с белком UmuC, одним из ключевых компонентов процесса. Более того, S9 ускорял ренатурацию UmuC после его частичной денатурации *in vitro*, что свидетельствовало в пользу функциональной значимости этого взаимодействия [48]. Недавно было установлено, что комплекс UmuC с белком UmuD' является SOS-специфичной ДНК-полимеразой V, отвечающей за репликацию в местах повреждений ДНК [49], но о возможном участии в этом процессе S9 больше не упоминалось.

S10. S10 – универсальный компонент малой субчастицы рибосом (у эукариот S20, см. [3]), о специфических функциях которого в рибосоме до последнего времени не было сведений, а все внимание концентрировалось на его внерибосомной активности. S10 – первый бактериальный р-белок, для которого показано участие в регуляции транскрипции [10, 50]. Как фактор транскрипции (NusE) S10 участвует в сборке антитерминационного комплекса, препятствующего остановке транскрипции на Rho-зависимых терминаторах в оперонах рРНК или на хромосоме фага λ. Комплекс S10 и фактора NusB связывается с последовательностью бокса А на *nut*-сайтах ДНК фага λ и на участках рРНК-транскриптов перед генами 16S и 23S рРНК [10, 51]. В комплексе с NusB S10 имеет ту же конформацию, что и в 30S субчастице [52, 53]. Структура S10 включает глобулярный домен и длинную петлю, при этом петля строго необходима для присоединения

S10 к рибосоме, но ее отсутствие не вызывает изменения активности в антитерминации [53]. Хотя в трансляции и в регуляции транскрипции участвуют разные домены белка, S10 не может одновременно связываться с NusB и с рибосомой. Ключевую роль в формировании антитерминационного комплекса отводят именно S10, так как его суперпродукция супрессирует ноль-мутации по гену *nusB* [53].

У бактерий транскрипция и трансляция тесно сопряжены во времени и пространстве, но механизм такого сопряжения до последнего времени не был известен. Лишь совсем недавно получены прямые свидетельства, что эти два процесса связаны физически [54], и что ключевую роль в определении скорости транскрипции играет рибосома, следующая за РНК-полимеразой и транслирующая мРНК в процессе ее синтеза [55]. Физическую связь между двумя надмолекулярными машинами осуществляет фактор транскрипции NusG, связанный своим N-концевым доменом с РНК-полимеразой, а С-концевым – с S10 на рибосоме [54]. S10 конкурирует за С-концевой домен NusG с фактором терминации Rho, не позволяя терминировать транслируемый транскрипт. Таким образом, функция S10 в рибосоме при транскрипционно-трансляционном сопряжении аналогична его функции в составе антитерминационного комплекса, в котором S10 (NusE) связан с РНК-полимеразой через фактор NusG и, конкурируя с Rho, препятствует терминации на Rho-зависимых терминаторах в оперонах рРНК и на хромосоме фага λ [55].

S15. S15 – первичный белок при сборке 30S субчастиц *in vitro*, его взаимодействие с 16S РНК стимулирует связывание р-белков S6, S11, S18 и S21 с центральным доменом 16S рРНК с образованием “платформы” 30S субчастицы. Удивительно, но при этом S15 не является жизненно необходимым, и мутанты с делецией гена *rpsO* вполне жизнеспособны, хотя и имеют холодочувствительный фенотип [56, 57]. Это означает, что *in vivo* при благоприятных температурных условиях сборка рибосом может протекать и в отсутствие S15.

Как и многие р-белки, взаимодействующие с рРНК на первых этапах сборки рибосом, S15 является аутогенным регулятором экспрессии своего гена на уровне инициации трансляции [8]. Механизм регуляции синтеза S15 в *E. coli* изучен детально, идентифицированы участки РНК и определены аминокислотные остатки, участвующие в узнавании обеих мишеней, 16S рРНК и *rpsO*-мРНК [57]. Как и в случае регуляции р-белком S4 (см. выше), контроль экспрессии гена *rpsO* работает по принципу “ловушки” для рибосомы [8]. Структура 5'-НТО *rpsO*-мРНК существует в виде двух равновесных конформаций, одна из которых представляет собой псевдоузел. Свободный белок S15 связывается с 5'-НТО в конформации псевдоузла и фиксирует ее, разрешая при этом связывание 30S субчастицы. Од-

нако в таком комплексе инициаторный AUG-кодон не может занять свое положение в Р-сайте, необходимое для связывания fMet-тРНК^{Met} и последующего образования продуктивного инициаторного комплекса, что прямо показано исследованием тройного комплекса *rpsO*-мРНК·S15·30S методом криоэлектронной микроскопии [58].

Видимой аналогии между структурами операторного участка на мРНК (псевдоузел) и участком связывания S15 на 16S рРНК (сочленение трех шпилек) нет, однако обе РНК-мишени узнаются одним и тем же набором аминокислотных остатков S15, и в обоих случаях узнается мотив G–U/G–C. Это указывает на существование хотя и ограниченного, но сходства в участках узнавания (ограниченная молекулярная мимикрия, см. [57]).

Аутогенная регуляция экспрессии гена *rpsO* на уровне трансляции показана также у *Thermus thermophilus* [59] и *B. stearothermophilus* [60], бактерий, филогенетически удаленных от *E. coli*. Интересно, что структурированные операторные участки в 5'-НТО *rpsO*-мРНК в этих случаях не образуют псевдоузел, а представляют собой комбинацию трех шпилечных структур [59, 60]. Как и у *E. coli*, белок S15 использует для связывания оператора тот же РНК-связывающий сайт, что и для узнавания 16S рРНК в процессе сборки 30S субчастицы. Таким образом, аутогенная регуляция синтеза S15 характеризуется высокой степенью консервативности в эволюции, но тонкие молекулярные механизмы этого процесса могут различаться у разных филогенетических групп – в клетках *E. coli* работает механизм “ловушки”, а в других случаях – механизм конкуренции (competition), когда связывание репрессора с мРНК запрещает связывание рибосомы [60].

S16. Белок S16 жизненно необходим для сборки активных 30S субчастиц у бактерий, так как при его связывании в 16S рРНК происходят конформационные изменения, стабилизирующие “псевдоузел” в декодирующем центре [61]. Ген белка S16 входит в состав оперона *trmD*, который кроме генов р-белков (S16 и L19) содержит гены, отвечающие за созревание 30S субчастиц (*rimM*) и модификацию тРНК (*trmD*) [62]. О регуляции оперона р-белками сведений нет. У S16 обнаружена ДНК-связывающая и дезоксирибонуклеазная активность: белок способен узнавать крестообразные конформации ДНК и производить точечные специфические разрывы в одной из цепей, в частности, в области *oriC* *E. coli* преимущественно после аденина в последовательности 5'-AGTT-3' [63]. Биологическое значение ДНКазной активности S16 не ясно, возможно, это рудимент. Так как S16 не относится к универсальным р-белкам [1, 3], можно предположить, что на одном из этапов эволюции рибосом бактерий он был заимствован из процессов, связанных с метаболизмом ДНК.

S20. S20 – первичный белок при сборке бактериальной 30S субчастицы. Он связывает, как минимум, два сайта на 16S рРНК, что приводит к сближению 3'-минорного и 5'-доменов [64]. Хотя кодирующий S20 ген *rpsT* может быть подвергнут “нокауту” без потери клеткой жизнеспособности [4], это приводит к сильному замедлению роста, так как рибосомы становятся дефектными по связыванию мРНК и ассоциации субъединиц [65]. Ген *rpsT* представляет собой отдельный оперон, он содержит два промотора и терминатор (рисунок). Имеются данные о том, что свободный белок S20 является аутогенным регулятором экспрессии *rpsT* на стадии инициации трансляции и может конкурировать с 30S субчастицей рибосом за связывание инициаторного участка на *rpsT*-мРНК, но только в присутствии природного “редкого” стартового кодона UUG [66].

ВНЕРИБОСОМНЫЕ ФУНКЦИИ БЕЛКОВ 50S СУБЧАСТИЦ БАКТЕРИАЛЬНЫХ РИБОСОМ

L1. Универсальный р-белок L1 (L10a у высших эукариот) взаимодействует с 23S рРНК с образованием бокового выступа 50S субчастицы, называемого L1-выступом (L1-stalk). Эта подвижная структура управляет движением тРНК через рибосому в процессе трансляции и отвечает за освобождение деацелированной тРНК из Е-сайта [67]. РНК-связывающая способность L1 лежит в основе его бифункциональности у бактерий и архей [68, 69]. L1 – трансляционный аутогенный репрессор, в клетках *E. coli* он контролирует синтез L11 и свой собственный (рисунок), а у архей – синтез L11, L1, L10 и L12 (для обзора см. [69]). Во всех случаях комплекс L1 с мРНК менее стабилен, чем с 23S рРНК, поэтому, как только в клетке появляется свободная рРНК, L1 связывается с ней, покидая мРНК, и трансляция возобновляется [69]. Как это следует из анализа кристаллических структур комплексов L1 с операторным участком мРНК и с фрагментом 23S рРНК, с которым L1 взаимодействует в составе 50S субчастицы, между двумя РНК-мишенями наблюдается структурное сходство [68]. Однако участок 23S рРНК более сложно устроен, во взаимодействие вовлечены дополнительные контакты с L1, что приводит к большей стабильности комплекса с рРНК и обеспечивает предпочтительность связывания, которая и лежит в основе L1-зависимой регуляции [69].

L2. Консервативный р-белок L2 (L8 у высших эукариот, см. [3]) расположен в 50S субчастице вблизи ПТЦ и необходим для трансляционной активности рибосом. 50S субчастицы, реконструированные *in vitro* в отсутствие L2, не способны к ассоциации с 30S субчастицей из-за утери контактов с р-белком S20, с которым L2 образует очень стабильный комплекс [70]. Более того, L2 вовлечен в связывание тРНК с А- и Р-сайтами, и мутация консервативного His229 нарушает работу ПТЦ [70]. Способность L2 к образованию функциональных

комплексов вне рибосомы открыли совсем недавно [71, 72]. С целью выявления потенциальных модуляторов транскрипции проведен поиск белковых партнеров α -субъединицы РНК-полимеразы *E. coli*, и среди взаимодействующих белков обнаружен L2 [71]. Так как р-белки в силу своей высокой концентрации в клетке часто составляют неспецифический фон в функциональной протеомике, для доказательства биологической значимости этого результата были проведены независимые тесты *in vivo* и *in vitro*. Показано, что L2 действительно специфически взаимодействует с α -субъединицей и, более того, это взаимодействие способно избирательно повышать активность промотора P1 оперонов рРНК. Другие р-белки (L1, L3, L20 и L27) не обладали способностью модулировать транскрипцию. Таким образом, L2 – это не только жизненно важный компонент рибосом, но и активатор транскрипции оперонов рРНК, который вносит свой вклад в регуляцию сбалансированного синтеза компонентов рибосомы [71].

L2 также образует комплекс с белковым шапероном HtpG, аналогом эукариотического Hsp90, и активирует его способность к гидролизу АТФ более чем на порядок [72]. Физиологическое значение этого взаимодействия остается пока неясным.

L4. Универсальный р-белок L4 важен для сборки и активности большой субчастицы рибосом у всех организмов [3]. Глобулярный домен L4 расположен на поверхности 50S субчастицы, а протяженная неструктурированная петля (“щупальце”) проникает в сердцевину, где образует множественные контакты с 23S рРНК вблизи ПТЦ в самой узкой области выходного туннеля для синтезируемого пептида (см. [3] для ссылок по теме). Эта область 50S субчастицы служит местом связывания эритромицина и других макролидных антибиотиков, и мутации в петле L4 приводят к устойчивости к этим антибиотикам. Прямого контакта между эритромицином и L4, как полагают, нет, а устойчивость обусловлена пертурбациями в структуре 23S рРНК, вызванными мутациями [73].

В свободном виде L4 является специфическим регулятором экспрессии своего оперона, *S10* (рисунок), причем уникальным, так как в отличие от других р-белков-регуляторов L4 способен регулировать не только трансляцию, но и транскрипцию *S10*-мРНК, вызывая ее преждевременную терминацию [8]. Связывание L4-репрессора в обоих случаях происходит в пределах протяженной структурированной 5'-НТО мРНК, причем участки, вовлеченные в регуляцию трансляции и транскрипции, частично перекрываются [8]. В терминации транскрипции в результате связывания L4 с мРНК-лидером, как полагают, участвует фактор NusA, хотя для связывания L4 NusA не требуется [8, 74]. В отличие от высокой консервативности самого L4, структура операторного участка мРНК и зависимые от

нее механизмы аутогенной репрессии проявляют лишь ограниченную филогенетическую консервативность в подклассе γ -протеобактерий, что указывает на их сравнительно недавнее происхождение в эволюции [75]. Фрагмент 23S рРНК, соответствующий участку первичного связывания L4, способен снижать активность L4 в регуляции *S10*-мРНК, что предполагает конкуренцию между этими двумя РНК-мишенями. Анализ структуры минимальных участков связывания L4 с 23S рРНК и 5'-НТО *S10*-мРНК подтверждает их структурное сходство [74].

Помимо РНК-связывающих участков, вовлеченных во взаимодействие с рРНК и мРНК, L4 содержит область, потенциально способную к взаимодействию с другими белками [76]. Недавно это предположение нашло подтверждение [77, 78]. Показано, что L4 на рибосоме контактирует с РНК-хеликазой SrmB, участвующей в сборке 50S субчастицы *in vivo* [77]. Вне рибосомы L4 связывается с С-концевым доменом РНКазы E, ингибируя ее активность по отношению к определенным видам мРНК, повышенная экспрессия которых необходима при различных видах стресса [78]. Полагают, что модуляция активности РНКазы E белком L4 является частью стратегии клетки, обеспечивающей выживание в неблагоприятных условиях [78].

L10 и L7/12. Белок L12 (L7/12) представляет собой исключение из общего правила эквимоларности рибосомных компонентов, так как в состав 50S субчастицы у большинства бактерий входят два димера этого белка, а у *Thermotoga maritima* – три [79]. Димеры L7/12 взаимодействуют с белком L10 с образованием прочного комплекса, который в структуре 50S субчастицы связан с белком L11 и участком 23S рРНК. Все вместе эти компоненты образуют вытянутый выступ, рибосомный “stalk”, который выполняет важнейшую функциональную роль, рекрутируя GTP-связывающие факторы трансляции (IF2, EF-Tu, EF-G и RF3), стабилизируя их активную конформацию и стимулируя гидролиз GTP (см. [80] для ссылок по теме). Функциональные аналоги L7/12 присутствуют в рибосомах всех организмов [3].

Белки L10 и L7/12 *E. coli* кодируются генами одного оперона *rplJLrpoBC* (рисунок). Пентамерный комплекс L10(L7/12)₄ в свободном виде функционирует как оперон-специфичный репрессор трансляции, участок связывания которого расположен в протяженной 5'-НТО мРНК перед кодирующим L10 цистроном *rplJ* [8, 81]. В состав оперона входят также гены субъединиц β и β' РНК-полимеразы *rpoB* и *rpoC* (что и дало название оперону – *rif*, так как мутации в этих генах определяют устойчивость к рифампицину), но экспрессия *rpoB* и *rpoC* регулируется независимо от трансляционной регуляции комплексом L10(L7/12)₄ [8]. Ключевую роль в узнавании операторного участка мРНК играет L10, ко-

торый распознает тот же структурный мотив (“kink-turn”), что и в участке 23S рРНК, с которым взаимодействует в составе рибосомы [81]. Веским аргументом в пользу этого стало одинаковое воздействие мутаций в аналогичных позициях мотива “kink-turn” в рРНК и мРНК на РНК-белковые взаимодействия [81]. Таким образом, структура мРНК в районе связывания репрессорного комплекса как бы имитирует сайт посадки комплекса на 23S рРНК. Однако специфический механизм ингибирования трансляции в результате присоединения L10(L7/12)₄ к мРНК все еще не раскрыт, так как сайт посадки репрессора удален от RBS и прямая конкуренция с рибосомой маловероятна.

L14. О специфической функции универсального белка L14 (эукариотический L23) в трансляции сведений нет, но в первом обзоре по внерибосомным функциям р-белков он упоминается как вероятный кандидат на участие в репликации ДНК [6]. Показано, что L14 в 40 раз усиливает активность АТФ-зависимой ДНК-хеликазы Rep, фермента *E. coli*, вовлеченного в репликацию клеточной и фаговых ДНК [82]. Белок L14 способен связывать как РНК, так и ДНК. Предполагалось, что в стимуляцию Rep вовлечены именно ДНК-связывающие свойства. Поскольку роль Rep в клетке не была ясна, то и биологическая значимость L14-опосредованной стимуляции Rep-активности оставалась под вопросом. Лишь недавно комплексное исследование *in vivo* хеликаз Rep, DinG и UvrD пролило свет на их функции [83]. Показано, что сочетание как минимум двух хеликаз жизненно необходимо для разрешения конфликта между репликацией и транскрипцией при прохождении репликативной вилки через интенсивно транскрибируемые районы хромосомы [83]. Прогресс в изучении биологической роли ДНК-хеликаз позволяет надеяться, что и роль стимулирующих факторов, таких как р-белок L14, станет со временем более ясной.

L20. L20 абсолютно необходим на ранних этапах сборки бактериальных 50S субчастиц, и делеция гена *rplT*, кодирующего L20, летальна [84]. В *E. coli* L20 служит аутогенным репрессором трансляции своего оперона *rpmI-rplT* [85]. Перед геном *rpmI* расположен ген *infC*, кодирующий фактор инициации трансляции IF3 (рисунк), однако его экспрессия не регулируется L20, а контролируется самим IF3, к тому же у *E. coli* промотор транскрипции оперона *rpmI-rplT* расположен в кодирующей области *infC*. Связываясь с операторным участком мРНК перед цистроном *rpmI*, L20 прямо репрессирует синтез L35, что приводит к ингибированию и его собственного синтеза из-за нарушения трансляционного сопряжения [85, 86]. Протяженный (450 н.) оператор для L20-репрессора устроен довольно сложно: взаимодействие между удаленными областями формирует структуру типа “псевдоузел”. В качестве репрессора L20 взаимодействует с двумя участками в операторе, причем оба важны для репрессии *in vivo*

и оба проявляют структурное сходство с местом посадки на 23S рРНК [85]. Предполагается, что ингибирование трансляции происходит по механизму конкуренции, так как рибосома тоже предпочтительно связывается с “псевдоузлом” [86].

Интересно, что гены *infC-rplI-rplT* *B. subtilis* образуют оперон, транскрипция которого направляется промотором, расположенным перед геном *infC* [87]. Этот оперон также контролируется L20, но в отличие от *E. coli* регулируется не трансляция, а транскрипция. В лидерной области мРНК перед стартом инициации трансляции *infC* возможно формирование двух альтернативных структур, одна из которых – терминатор транскрипции. Связывание L20 провоцирует образование именно терминаторной структуры. Хотя механизмы регуляции белком L20 у *E. coli* и *B. subtilis* принципиально различны, в обоих случаях в основе лежит сходство структур участков связывания на мРНК и 23S рРНК [87].

Рибосомные белки-шапероны. Некоторые р-белки способствуют укладке РНК, предотвращая образование неправильных, функционально неактивных структур, т.е. являются шаперонами для РНК. Эта активность р-белков не требует гидролиза АТФ; теоретически она может быть вовлечена как в процесс сборки рибосом, так и в формирование активной конформации нерибосомных РНК. Из белков 30S субчастиц наиболее выраженную РНК-шаперонную активность проявляет S12 [88]. Не обладая специфичностью к нуклеотидной последовательности, S12 имеет родство к неструктурированным РНК. Показано, что *in vitro* S12 способствует сплайсингу интронов группы I бактериофага T4, причем он не участвует в сплайсинге как таковом, а нужен только для придания оптимальной структуры молекуле РНК, так как может быть удален протеолитическими ферментами до инициации реакции сплайсинга добавлением GTP [87]. Аналогичные функции РНК-шаперонов могут выполнять около одной трети белков 50S субчастицы [89], при этом наивысшая активность отмечена у L1. Более того, оказалось, что эта способность филогенетически консервативна и свойственна L1-гомологам из всех трех царств, хотя имеются и исключения [90]. Белки L15, L16, L18 и L19 служат шаперонами и для РНК, и для белков, причем их шаперонная активность по отношению к белкам сравнима с активностью классического шаперона Hsp90 [91]. Эта функция р-белков может быть востребована в условиях различных типов стресса, когда лишь малая доля рибосом используется для синтеза необходимых стрессовых белков, а “лишние” р-белки берут на себя роль шаперонов для поддержания их активной структуры, способствуя выживаемости клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в обзоре данные наглядно показывают, что рибосомные белки способны функциони-

ровать вне рибосомы и служить модуляторами различных клеточных процессов (в том числе и фагоспецифических): трансляции (р-белки как аутогенные трансляционные репрессоры), транскрипции (S10, S4, S1, L2, L4), регуляции стабильности мРНК (L4, S1), репарации-репликации ДНК (S9, L14), репликации фаговых РНК (S1). Эти дополнительные функции р-белки осуществляют благодаря их РНК/ДНК-связывающим свойствам, а также способности к взаимодействию с другими клеточными белками. Некоторые белки бактериальных рибосом способны выполнять несколько дополнительных функций, являясь поистине полифункциональными компонентами клетки – S1, S4, L4. Есть все основания полагать, что список внерибосомных функций р-белков далеко не полон, и по мере создания глобальной картины взаимодействий клеточных компонентов, описание которых и составляет цель “интерактомики”, будут открываться новые, в том числе и неожиданные, активности структурных компонентов рибосом.

Авторы выражают благодарность Российскому фонду фундаментальных исследований за финансовую поддержку (06-04-48353а и 09-04-01014а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fox G.E. 2010. Origin and evolution of the ribosome. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2**(9), a003483.
2. Smith T.F., Lee J.C., Gutell R.R., Hartman H. 2008. The origin and evolution of the ribosome. *Biology Direct.* **3**, 16.
3. Wilson D.N., Nierhaus K.H. 2005. Ribosomal proteins in the spotlight. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **40**, 243–267.
4. Bubunenko M., Baker T., Court D.L. 2007. Essentiality of ribosomal and transcription antitermination proteins analyzed by systematic gene replacement in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **189**, 2844–2853.
5. Brodersen D.E., Nissen P. 2005. The social life of ribosomal proteins. *FEBS J.* **272**, 2098–2108.
6. Wool I. 1996. Extraribosomal functions of ribosomal proteins. *Trends Biochem. Sci.* **21**, 164–165.
7. Warner J.R., McIntoch K.B. 2009. How common are extraribosomal functions of ribosomal proteins? *Mol. Cell.* **34**, 3–11.
8. Zengel J.M., Lindahl L. 1994. Diverse mechanisms for regulating ribosomal protein synthesis in *Escherichia coli*. *Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.* **47**, 331–370.
9. Nomura M. 1999. Regulation of ribosome biosynthesis in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*: diversity and common principles. *J. Bacteriol.* **181**, 6857–6864.
10. Squires C.L., Zaporozhets D. 2000. Proteins shared by the transcription and translation machines. *Annu. Rev. Microbiol.* **54**, 775–798.
11. Steitz T.A. 2008. A structural understanding of the ribosome. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**, 242–253.
12. Subramanian A.R. 1983. Structure and functions of ribosomal protein S1. *Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.* **28**, 101–142.
13. Bycroft M., Hubbard T.J., Proctor M., Freund S.M., Murzin A.G. 1997. The solution structure of the S1 RNA binding domain: a member of an ancient nucleic acid-binding fold. *Cell.* **88**, 235–242.
14. Sorensen M.A., Fricke J., Pedersen S. 1998. Ribosomal protein S1 is required for translation of most, if not all, natural mRNAs in *Escherichia coli in vivo*. *J. Mol. Biol.* **280**, 561–569.
15. Boni I.V., Isaeva D.M., Musychenko M.L., Tsareva N.V. 1991. Ribosome-messenger recognition: mRNA target sites for ribosomal protein S1. *Nucl. Acids Res.* **19**, 155–162.
16. Komarova A.V., Tchufistova L.S., Supina E.V., Boni I.V. 2002. Protein S1 counteracts the inhibitory effect of the extended Shine-Dalgarno sequence on translation. *RNA.* **8**, 1137–1147.
17. Wahba A.J., Miller M.J., Niveleau A., Landers T.A., Carmichael G.G., Weber K., Hawley D.A., Slobin L.I. 1974. Subunit I of Q β replicase and 30S ribosomal protein S1 of *Escherichia coli*: evidence for the identity of the two proteins. *J. Biol. Chem.* **249**, 3314–3316.
18. Miranda G., Schuppli D., Barrera I., Hausherr C., Sogo J.M., Weber H. 1997. Recognition of bacteriophage Q β plus strand RNA as a template by Q β replicase: role of RNA interactions mediated by ribosomal protein S1 and host factor. *J. Mol. Biol.* **267**, 1089–1103.
19. Venkatesh E.V., Radding C.M. 1993. Ribosomal protein S1 and NusA protein complexed to recombination protein β of phage λ . *J. Bacteriol.* **175**, 1844–1846.
20. Muniyappa K., Mythili E. 1993. Phage lambda beta protein, a component of general recombination, is associated with host ribosomal S1 protein. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **31**, 1–11.
21. Ruckman J., Ringquist S., Brody E., Gold L. 1994. The bacteriophage T4 regB ribonuclease. Stimulation of the purified enzyme by ribosomal protein S1. *J. Biol. Chem.* **269**, 26655–26662.
22. Aliprandi P., Sizun C., Perez J., Caputo S., Leroy J.L., Odaert B., Laalami S., Uzan M., Bontems F. 2008. S1 ribosomal protein functions in translation initiation and ribonuclease RegB activation are mediated by similar RNA-protein interactions: an NMR and SAXS analysis. *J. Biol. Chem.* **283**, 13289–13301.
23. Skouv J., Schnier J., Rasmussen M.D., Subramanian A.R., Pedersen S. 1990. Ribosomal protein S1 of *Escherichia coli* is the effector for regulation of its own synthesis. *J. Biol. Chem.* **265**, 17044–17049.
24. Boni I.V., Artamonova V.S., Tzareva N.V., Dreyfus M. 2001. Non-canonical mechanism for translational control in bacteria: synthesis of ribosomal protein S1. *EMBO J.* **20**, 4222–4232.
25. Tchufistova L.S., Komarova A.V., Boni I.V. 2003. A key role for the mRNA leader structure in translational control of ribosomal protein S1 synthesis in gamma-proteobacteria. *Nucl. Acids Res.* **31**, 6996–7002.
26. Sukhodolets M.V., Garges S. 2003. Interaction of *Escherichia coli* RNA polymerase with the ribosomal protein S1 and the Sm-like ATPase Hfq. *Biochemistry.* **42**, 8022–8034.
27. Sukhodolets M.V., Garges S., Adhya S. 2006. Ribosomal protein S1 promotes transcriptional cycling. *RNA.* **12**, 1505–1513.
28. Kalapos M.P., Paulus H., Sarkar N. 1997. Identification of ribosomal protein S1 as a poly(A) binding protein in *Escherichia coli*. *Biochimie.* **79**, 493–502.
29. Mogridge J., Greenblatt J. 1998. Specific binding of *Escherichia coli* ribosomal protein S1 to boxA transcriptional antiterminator RNA. *J. Bacteriol.* **180**, 2248–2252.

30. Saguy M., Gillet R., Skorski P., Hermann-Le Denmat S., Felden B. 2007. Ribosomal protein S1 influences translation *in vitro* and *in vivo*. *Nucl. Acids Res.* **35**, 2368–2376.
31. Qi H., Shimizu Y., Ueda T. 2007. Ribosomal protein S1 is not essential for the trans-translation machinery. *J. Mol. Biol.* **368**, 845–852.
32. Aseev L.V., Levandovskaya A.A., Tchufistova L.S., Skaptsova N.V., Boni I.V. 2008. A new regulatory circuit in ribosomal protein operons: S2-mediated control of the *rpsB-tsfc* expression *in vivo*. *RNA*. **14**, 1882–1894.
33. Yusupova G., Jenner L., Rees B., Moras D., Yusupov M. 2006. Structural basis for messenger RNA movement on the ribosome. *Nature*. **444**, 391–394.
34. Асеев Л.В., Левандовская А.А., Скапцова Н.В., Бони И.В. 2009. Консервативность регуляторных элементов, контролирующих экспрессию оперона *rpsB-tsfc* у гамма-протеобактерий. *Молекуляр. биология*. **43**, 111–118.
35. Bellur D.L., Woodson S.A. 2009. A minimized rRNA-binding site for ribosomal protein S4 and its implications for 30S assembly. *Nucl. Acids Res.* **37**, 1886–1896.
36. Spedding G., Draper D. 1993. Allosteric mechanism for translational repression in the *Escherichia coli* alpha operon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **90**, 4399–4403.
37. Schlax P.J., Xavier K.A., Gluick T.C., Draper D.E. 2001. Translational repression of the *Escherichia coli* alpha operon mRNA: importance of an mRNA conformational switch and a ternary entrapment complex. *J. Biol. Chem.* **276**, 38494–38501.
38. Grundy F.J., Henkin T.M. 1991. The *rpsD* gene, encoding ribosomal protein S4 is autogeneously regulated in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **173**, 4595–4602.
39. Torres M., Condon C., Balada J.-M., Squires C., Squires C.L. 2001. Ribosomal protein S4 is a transcription factor with properties remarkably similar to NusA, a protein involved in both non-ribosomal and ribosomal RNA termination. *EMBO J.* **20**, 3811–3820.
40. Saito K., Mattheakis L.C., Nomura M. 1994. Post-transcriptional regulation of the *str* operon in *Escherichia coli*. Ribosomal protein S7 inhibits coupled translation of S7 but not its independent translation. *J. Mol. Biol.* **235**, 111–124.
41. Robert F., Brakier-Gingras L. 2001. Ribosomal protein S7 from *Escherichia coli* uses the same determinants to binds 16S ribosomal RNA and its messenger RNA. *Nucl. Acids Res.* **29**, 677–682.
42. Сурдина А.В., Рассохин Т.И., Головин А.В., Спиридонова В.А., Крааль Б., Копылов А.М. 2008. Селекция случайных фрагментов РНК (SERF) как метод поиска участка регуляции трансляции стрептомициновой мРНК *E. coli* рибосомным белком S7. *Биохимия*. **73**, 813–821.
43. Wu H., Jiang L., Zimmermann R.A. 1994. The binding site for ribosomal protein S8 in 16S rRNA and *spc* mRNA from *Escherichia coli*: minimum structural requirements and the effects of single bulged bases on S8-RNA interaction. *Nucl. Acids Res.* **22**, 1687–1695.
44. Mattheakis L.C., Nomura M. 1988. Feedback regulation of the *spc* operon in *Escherichia coli*: translational coupling and mRNA processing. *J. Bacteriol.* **170**, 4484–4492.
45. Mattheakis L., Vu L., Sor F., Nomura M. 1989. Retro-regulation of the synthesis of ribosomal protein L14 and L24 by feedback repressor S8 in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **86**, 448–452.
46. Merianos H.J., Wang J., Moore P.B. 2004. The structure of a ribosomal protein S8/*spc* operon mRNA complex. *RNA*. **10**, 954–964.
47. Näsvalld S.J., Nilsson K., Björk G.R. 2009. The ribosomal grip of the peptidyl-tRNA is critical for reading frame maintenance. *J. Mol. Biol.* **385**, 350–367.
48. Woodgate R., Rajagopalan M., Lu C., Echols H. 1989. UmuC mutagenesis protein of *Escherichia coli*: Purification and interaction with UmuD and UmuD'. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **86**, 7301–7305.
49. Jiang Q., Karata K., Woodgate R., Cox M.M., Goodman M.F. 2009. The active form of DNA polymerase V is UmuD'(2)C-RecA-ATP. *Nature*. **460**, 359–363.
50. Friedman D.I., Schauer A.T., Baumann M.R., Baron L.S., Adhya S.L. 1981. Evidence that ribosomal protein S10 participates in control of transcription termination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **78**, 1115–1118.
51. Nodwell J.R., Greenblatt J. 1993. Recognition of boxA antiterminator RNA by the *E. coli* antitermination factors NusB and ribosomal protein S10. *Cell*. **72**, 261–268.
52. Weisberg R.A. 2008. Transcription by moonlight: structural basis of an extraribosomal activity of ribosomal protein S10. *Mol. Cell*. **32**, 747–748.
53. Luo X., Hsiao H.-H., Babunenko M., Weber G., Court D.L., Gottesman M.E., Urlaub H., Wahl M.C. 2008. Structural and functional analysis of the *E. coli* NusB-S10 transcriptional antitermination complex. *Mol. Cell*. **32**, 791–802.
54. Burmann B.M., Schweimer K., Luo X., Stitt B.L., Gottesman M.E., Rösch P. 2010. A NusE:NusG complex links transcription and translation. *Science*. **328**, 501–504.
55. Proshkin S., Rahmouni A.R., Mironov A., Nudler E. 2010. Cooperation between translating ribosomes and RNA polymerase in transcription elongation. *Science*. **328**, 504–508.
56. Babunenko M., Korepanov A., Court D.L., Jagannathan I., Dickinson D., Chaudhuri B.R., Garber M.B., Culver G.M. 2006. 30S ribosomal subunits can be assembled *in vivo* without primary binding ribosomal protein S15. *RNA*. **12**, 1229–1239.
57. Mathy N., Pellegrini O., Serganov A., Patel D.J., Ehresmann C., Portier C. 2004. Specific recognition of *rpsO* mRNA and 16S rRNA by *Escherichia coli* ribosomal protein S15 relies on both mimicry and site differentiation. *Mol. Microbiol.* **52**, 661–675.
58. Marzi S., Myasnikov A.G., Serganov A., Ehresmann C., Romby P., Yusupov M., Klaholz B.P. 2007. Structured mRNAs regulate translation initiation by binding to the platform of the ribosome. *Cell*. **130**, 1019–1031.
59. Serganov A., Polonskaya A., Ehresmann B., Ehresmann C., Patel D.J. 2003. Ribosomal protein S15 represses its own translation via adaptation of an rRNA-like fold within its mRNA. *EMBO J.* **22**, 1898–1908.
60. Scott L.G., Williamson J.R. 2005. The binding interface between *Bacillus stearothermophilus* ribosomal protein S15 and its translation operator mRNA. *J. Mol. Biol.* **351**, 280–290.
61. Ramaswamy P., Woodson S.A. 2009. S16 throws a conformational switch during assembly of 30S 5' domain. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **16**, 438–445.
62. Lövgren J.M., Wikström P.M. 2001. Hybrid protein between ribosomal protein S16 and RimM of *Escherichia*

- coli* retains the ribosome maturation function of both proteins. *J. Bacteriol.* **183**, 5352–5357.
63. Bonnefoy E. 1997. The ribosomal protein S16 of *Escherichia coli* displaying a DNA-nicking activity binds to cruciform DNA. *Eur. J. Biochem.* **247**, 852–859.
 64. Hendrick E.G., Hill W.E. 2010. Protein S20 binds two 16S rRNA sites as assembly is initiated. *J. Mol. Biol.* **401**, 493–502.
 65. Tobin C., Mandava C.S., Ehrenberg M., Andersson D.I., Sanyal S. 2010. Ribosomes lacking protein S20 are defective in mRNA binding and subunit association. *J. Mol. Biol.* **397**, 767–776.
 66. Parsons G.D., Donly B.C., Mackie G.A. 1988. Mutations in the leader sequence and initiation codon of the gene for ribosomal protein S20 (*rpsT*) affect both translational efficiency and autoregulation. *J. Bacteriol.* **170**, 2485–2492.
 67. Fei J., Kosuri P., MacDouglas D.D., Gonzales R.L. Jr. 2008. Coupling of ribosomal L1 stalk and tRNA dynamics during translation elongation. *Mol. Cell.* **30**, 348–359.
 68. Nevskaya N., Tischenko S., Gabdoulkhalakov A., Nikonova E., Nikonov O., Nikulin A., Platonova O., Garber M., Nikonov S., Piendl W. 2005. Ribosomal protein L1 recognizes the same specific structural motif in its target sites on the autoregulatory mRNA and 23S rRNA. *Nucl. Acids Res.* **33**, 478–485.
 69. Тищенко С.В., Никонова Е.Ю., Невская Н.А., Никонов О.С., Гарбер М.Б., Никонов С.В. 2006. Взаимодействия рибосомного белка L1 с рибосомной и матричной РНК. *Молекуляр. биология.* **40**, 650–657.
 70. Diedrich G., Spahn C.M., Stelzl U., Schäfer M.A., Wooten T., Bochkariov D.E., Cooperman B.S., Traut R.R., Nierhaus K.H. 2000. Ribosomal protein L2 is involved in the association of the ribosomal subunits, tRNA binding to A and P sites and peptidyl transfer. *EMBO J.* **19**, 5241–5250.
 71. Rippa V., Cirulli C., Di Palo B., Doti N., Amoresano A., Duilio A. 2010. The ribosomal protein L2 interacts with the RNA polymerase α subunit and acts as a transcriptional modulator in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **192**, 1882–1889.
 72. Motojima-Miyazaki Y., Yoshida M., Motojima F. 2010. Ribosomal protein L2 associates with *E. coli* HtpG and activates its ATPase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **400**, 241–245.
 73. Gabashvili I.S., Gregory S.T., Valle M., Grassucci R., Worbs M., Wahl M.C., Dahlberg A.E., Frank J. 2001. The polypeptide tunnel system in the ribosome and its gating in erythromycin resistance mutants of L4 and L22. *Mol. Cell.* **8**, 181–188.
 74. Stelzl U., Zengel J., Tovbina M., Walker M., Nierhaus K.H., Lindahl L., Patel D.J. 2003. RNA-structural mimicry in *Escherichia coli* ribosomal protein L4-dependent regulation of the S10 operon. *J. Biol. Chem.* **278**, 28237–28245.
 75. Allen T., Shen P., Samsel L., Liu R., Lindahl L., Zengel J.M. 1999. Phylogenetic analysis of L4-mediated autogenous control of the S10 ribosomal protein operon. *J. Bacteriol.* **181**, 6124–6132.
 76. Worbs M., Huber R., Wahl M.C. 2000. Crystal structure of ribosomal protein L4 shows RNA-binding sites for ribosome incorporation and feedback control of the S10 operon. *EMBO J.* **19**, 807–818.
 77. Trubetskoy D., Proux F., Allemand F., Dreyfus M., Iost I. 2009. SrmB, a DEAD-box helicase involved in *Escherichia coli* ribosome assembly, is specifically targeted to 23S rRNA *in vivo*. *Nucl. Acids Res.* **37**, 6540–6549.
 78. Singh D., Chang S.-J., Lin P.-H., Averina O.V., Kaberdin V.R., Lin-Chao S. 2009. Regulation of ribonuclease E activity by the L4 ribosomal protein of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 864–869.
 79. Diaconu M., Kothe U., Schlunzen F., Fisher N., Harms J.M., Tonevitsky A.G., Stark H., Rodnina M.V., Wahl M.C. 2005. Structural basis for the function of the ribosomal L7/12 stalk in factor binding and GTPase activation. *Cell.* **121**, 991–1004.
 80. Helgstrand M., Mandava C., Mulder F.A.A., Liljas A., Sanyal S., Akke M. 2007. The ribosomal stalk binds to translation factors IF2, EF-Tu, EF-G and RF3 via a conserved region of the L12 C-terminal domain. *J. Mol. Biol.* **365**, 468–479.
 81. Iben J.R., Draper D.E. 2008. Specific interaction of the L10(L12)4 ribosomal protein complex with mRNA, rRNA, and L11. *Biochemistry.* **47**, 2721–2731.
 82. Yancey J.E., Matson S.W. 1991. The DNA unwinding reaction catalyzed by Rep protein is facilitated by an RHSP-DNA interaction. *Nucl. Acids Res.* **19**, 3943–3951.
 83. Boubakri H., de Septenville A.L., Viguera E., Michel B. 2010. The helicases Din G, Rep and UvrD cooperate to promote replication across transcription units *in vivo*. *EMBO J.* **29**, 145–157.
 84. Guillier M., Allemand F., Graffe M., Raibaud S., Dardel F., Springer M., Chiaruttini C. 2005. The N-terminal extension of *Escherichia coli* ribosomal protein L20 is important for ribosomal assembly but dispensable for translational feedback control. *RNA.* **11**, 728–738.
 85. Guillier M., Allemand F., Raibaud S., Dardel F., Springer M., Chiaruttini C. 2002. Translational feedback regulation of the gene for L35 in *Escherichia coli* requires binding of ribosomal protein L20 to two sites in its leader mRNA: a possible case of ribosomal RNA-messenger RNA molecular mimicry. *RNA.* **8**, 879–889.
 86. Haentjens-Sitri J., Allemand F., Springer M., Chiaruttini C. 2008. A competition mechanism regulates the translation of the *Escherichia coli* operon encoding ribosomal proteins L35 and L20. *J. Mol. Biol.* **375**, 612–625.
 87. Choonee N., Even S., Zig L., Putzer H. 2007. Ribosomal protein L20 controls expression of the *Bacillus subtilis infC* operon via a transcription attenuation mechanism. *Nucl. Acids Res.* **35**, 1578–1588.
 88. Coetzee T., Hershlag D., Belfort M. 1994. *Escherichia coli* proteins, including ribosomal protein S12, facilitate *in vitro* splicing of phage T4 introns by acting as RNA chaperones. *Genes Dev.* **8**, 1575–1588.
 89. Semrad K., Green R., Schroeder R. 2004. RNA chaperone activity of large ribosomal subunit proteins from *Escherichia coli*. *RNA.* **10**, 1855–1860.
 90. Ameres S.L., Scherbakov D., Nikonova E., Piendl W., Schroeder R., Semrad K. 2007. RNA chaperone activity of L1 ribosomal proteins: phylogenetic conservation and splicing inhibition. *Nucl. Acids Res.* **35**, 3752–3763.
 91. Kovacs D., Rakas M., Agoston B., Lenkey K., Semrad K., Schroeder R., Tompa P. 2009. Janus chaperones: assistance of both RNA- and protein-folding by ribosomal proteins. *FEBS Lett.* **583**, 88–92.