

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0525U000408

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 24-09-2025

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шалак В'ячеслав Федорович

2. Viacheslav F. Shalakov

Кваліфікація: к.б.н., с.н.с., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.03

Назва наукової спеціальності: Молекулярна біологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 30-09-2025

Спеціальність за освітою: біофізика

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д26.237.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.15.15, 34.15.17

Тема дисертації:

1. Структурно-функціональна організація макромолекулярних комплексів і їх компонентів апарату елонгації трансляції у ссавців.
2. Structural and functional organization of the macromolecular complexes and their components of the mammalian translation elongation apparatus.

Реферат:

1. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 — молекулярна біологія. – Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. Київ, 2025. У дисертаційній роботі представлено широкомасштабні дослідження просторової структури і особливостей функціонування компонентів двох основних макромолекулярних комплексів, що працюють на дорибосомному етапі трансляції ссавців. Отримані експериментальні результати виявили низку нових аспектів структурно-функціональної організації компонентів апарату трансляції ссавців зокрема відмінності просторової організації високо гомологічних білків-паралогів eEF1A1 та eEF1A2, неканонічних взаємодій фактора елонгації eEF1A1, четвертинної організації комплексу eEF1B, подвійної функціональної ролі білка p43

макромолекулярного комплексу аміноацил-тРНК синтетаз. Встановлено, що фактор елонгації трансляції eEF1A1 в ГДФ-зв'язаній формі має видовжену конформацію в розчині з радіусом гірації 5.2 ± 0.2 нм, що більш ніж в 2 рази перевищує обрахований радіус гірації кристалографічної структури його білка-паралога eEF1A2 в комплексі з ГДФ. Розшифровано кристалічну структуру фактора елонгації трансляції eEF1A2, який складається з трьох доменів і має близьку до сферичної просторову конформацію. Встановлено, що іони Mg^{2+} не впливають на реакцію обміну гуанінового нуклеотиду на молекулі eEF1A2. Показано, що eEF1A1 у ГДФ-зв'язаній формі може утворювати неканонічний потрійний комплекс з деацильованою тРНК і четвертинний комплекс з фенілаланіл-тРНК синтетазою, а також збільшує початкову швидкість реакції, яку каталізує метіоніл-тРНК синтетаза. Виявлено взаємодію трансляційно-контрольованого білка пухлин (TCTP) з факторами елонгації трансляції eEF1A1 і субодиницею eEF1B α . Зв'язування TCTP з eEF1A1 призводить до зниження швидкості реакції як спонтанного, так і eEF1B α -опосередкованого обміну гуанінового нуклеотиду на молекулі eEF1A1. Вперше детально досліджено структурну організацію факторів елонгації eEF1B α , eEF1B β і eEF1B γ , які утворюють макромолекулярний комплекс eEF1B. Визначено сайти взаємодії між субодиницями eEF1B α і eEF1B β , eEF1B β і eEF1B γ , і встановлено, що мотив «лейциновий застібка» eEF1B α відповідає за тримеризацію цього білка, а також всього комплексу eEF1B, який має структурну організацію типу (ppp)3. Показано, що eEF1B(ppp)3 здатен зв'язувати до шести молекул eEF1A2, відповідно до кількості GEF-доменів в ньому. Таке унікальне структурне об'єднання факторів обміну гуанінового нуклеотиду в одному комплексі може забезпечувати ефективне відновлення активної ГТФ-зв'язаної конформації eEF1A в процесі елонгації трансляції у вищих еукаріот. Вперше розкрито механізм стимуляції активності eEF1B α субодиницею eEF1B β при утворенні комплексу між ними. Конформація N-кінцевого домену eEF1B α частково перешкоджає взаємодії eEF1A з GEF-доменом, що знижує швидкість обміну гуанінового нуклеотиду. Зв'язування N-кінцевих доменів eEF1B α і eEF1B β усуває цей інгібіторний ефект. Встановлено, що N-кінцевий домен білка p43 макромолекулярного комплексу аміноацил-тРНК синтетаз взаємодіє з аргініл-тРНК синтетазою. Показано, що p43 не впливає на каталітичні параметри аргініл-тРНК синтетази і не збільшує її спорідненість до відповідної тРНК. Отже, білок p43 не є кофактором для цього ферменту. Доведено, що інкубація макромолекулярного комплексу аміноацил-тРНК синтетаз з каспазою 7 *in vitro* призводить до розщеплення його p43 компоненту на два фрагменти. Його C-кінцевий фрагмент, який вивільняється з комплексу, є ідентичним ЕМАРІІ і здатен викликати хемотаксис моноцитів. Розщеплення p43 призводить до втрати його тРНК-зв'язувальної властивості. Виявлено, що індукція апоптозу в клітинах призводить до появи і вивільнення з клітин іншого протеолітичного фрагменту білка p43, названого p43(ARF), який на 40 амінокислот довший ніж ЕМАРІІ. Показано, що обидва p43(ARF) і ЕМАРІІ не індуквали експресію Е-селектину на ендотеліальних клітинах (HUVEC), тоді як повнорозмірний p43 таку індукцію викликав. Протеоліз білка p43 дозволяє уникнути активації ендотеліальних клітин і, як наслідок, можливого розвитку запальної реакції в організмі. Вперше ідентифіковано новий трансляційний продукт гена, який кодує білок p43. Цей продукт має мітохондріальну локалізацію і є на 9 амінокислот довшим ніж цитоплазматична ізоформа p43. Кількість мітохондріальної ізоформи складає приблизно 2% від загальної кількості p43 в клітині.

2. Thesis submitted for the degree of Doctor of Biological Sciences in Biology, specialty 03.00.03 – Molecular Biology. – Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv, 2025. This thesis presents a large-scale study of structural organization and functional properties of the components of two major macromolecular complexes that operate at the pre-ribosomal stage of mammalian translation. The obtained experimental results revealed a number of new aspects of the structural and functional organization of the components of mammalian translation apparatus, including differences in the spatial organization of the highly homologous eEF1A1 and eEF1A2 protein-paralogs, non-canonical interactions of the elongation factor eEF1A1, quaternary organization of the eEF1B complex, and the dual functional role of the p43 protein involved into macromolecular complex of aminoacyl-tRNA synthetases. We have found that the translation elongation factor eEF1A1 in the GDF-bound form has an elongated conformation in solution with a radius of gyration 5.2 ± 0.2 nm, which is more than 2 times larger than the radius of gyration of its paralog, the eEF1A2-GDF complex, in a crystal. We have deciphered the crystal structure of eEF1A2, which has a three-domain fold and a spherical-like

conformation. We have also found that Mg²⁺ ions do not affect the guanine–nucleotide exchange reaction on the eEF1A2 molecule. We have demonstrated that eEF1A1 in the GDP-bound state can form a non-canonical ternary complex with deacylated tRNA and a quaternary complex with phenylalanyl-tRNA synthetase, and it also increases the initial rate of reaction catalyzed by methionyl-tRNA synthetase. We have revealed the interaction of the translationally controlled tumor protein (TCTP) with the translation elongation factors eEF1A1 and eEF1B α . The binding of TCTP to eEF1A1 leads to a decrease of the reaction rate of both spontaneous and eEF1B α -mediated guanine–nucleotide exchange on the eEF1A1 molecule. For the first time, we have studied in detail the structural organization of the elongation factors eEF1B α , eEF1B β and eEF1B γ involved into eEF1B macromolecular complex. We have identified the sites of interaction between eEF1B α and eEF1B β , eEF1B α and eEF1B γ , and we established that the “leucine zipper” motif of eEF1B α is responsible for the trimerization of this protein, as well as the entire eEF1B complex, which has a structural organization of the (ABC)₃ type. We have shown that eEF1B(ABC)₃ is able to bind up to six eEF1A2 molecules, according to the number of GEF domains in the complex. Such, so far, unique structural assembly of the guanine–nucleotide exchange factors within a stable complex may ensure an efficient conversion of eEF1A from the GDP-bound state to the active GTP-bound conformation in higher eukaryotes. For the first time, we have revealed the mechanism of eEF1B α -mediated stimulation of eEF1B β activity upon a complex formation between them. The conformation of the N-terminal domain of eEF1B α partially prevents the interaction of eEF1A with the GEF domain, which reduces the rate of guanine–nucleotide exchange. Binding of the N-terminal domains of eEF1B α and eEF1B β eliminates this inhibitory effect. We have established that the N-terminal domain of p43 interacts with arginyl-tRNA synthetase. We have shown that p43 does not affect the catalytic parameters of arginyl-tRNA synthetase and does not increase its affinity for the cognate tRNA. Thus, the p43 protein is not a cofactor for this enzyme. We have shown that incubation of the macromolecular complex of aminoacyl-tRNA synthetases with caspase 7 in vitro leads to cleavage of its p43 component into two fragments. The resulting C-terminal fragment, identified as EMAPII, is released from the complex and exhibits cytokine-like activity in a monocyte chemotaxis assay, while the N-terminal fragment remains within the complex. Cleavage of p43 leads to the loss of its tRNA-binding property. We have demonstrated, for the first time, that the induction of apoptosis in U937 cells leads to the appearance and release of another proteolytic fragment of p43 protein, named p43(ARF), which is 40 amino acids longer than EMAPII. We have shown that both p43(ARF) and EMAPII do not induce E-selectin expression in endothelial cells (HUVEC), whereas full-length p43 does. Proteolysis of p43 protein in apoptotic cells prevents activation of endothelial cells and, consequently, avoids possible development of an inflammatory response in organism. We have identified, for the first time, a new translational product of the p43-encoding gene. This product has mitochondrial localization and is 9 amino acids longer than the cytoplasmic isoform of p43. The amount of the mitochondrial isoform is approximately 2% of the total amount of p43 in the cell.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Не застосовується

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

1. Budkevich TV, Timchenko AA, Tiktopulo EI, Negrutskii BS, Shalak VF, Petrushenko ZM, Aksenov VL, Willumeit R, Kohlbrecher J, Serdyuk IN, El'skaya AV. (2002). Extended conformation of mammalian translation elongation factor 1A in solution. *Biochemistry*. 41(51):15342–9. doi:10.1021/bi026495h.
2. Crepin T, Shalak VF, Yaremchuk AD, Vlasenko DO, McCarthy A, Negrutskii BS, Tukalo MA, El'skaya AV. (2014). Mammalian translation elongation factor eEF1A2: X-ray structure and new features of GDP/GTP exchange mechanism in higher eukaryotes. *Nucleic Acids Res*. 42(20):12939–48. doi:10.1093/nar/gku974.

- 3. Petrushenko ZM, Budkevich TV, Shalak VF, Negrutskii BS, El'skaya AV. (2002). Novel complexes of mammalian translation elongation factor eEF1A*GDP with uncharged tRNA and aminoacyl-tRNA synthetase. Implications for tRNA channeling. *Eur J Biochem.* 269(19):4811-8. doi:10.1046/j.1432-1033.2002.03178.x.
- 4. Kaminska M, Shalak V, Mirande M. (2001). The appended C-domain of human methionyl-tRNA synthetase has a tRNA-sequestering function. *Biochemistry.* 40(47):14309-16. doi:10.1021/bi015670b.
- 5. Cans C, Passer BJ, Shalak V, Nancy-Portebois V, Crible V, Amzallag N, Allan D, Tufino R, Argentini M, Moras D, Fiucci G, Goud B, Mirande M, Amson R, Telerman A. (2003). Translationally controlled tumor protein acts as a guanine nucleotide dissociation inhibitor on the translation elongation factor eEF1A. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100(24):13892-7. doi:10.1073/pnas.2335950100.
- 6. Trotsiuk TV, Shalak VF, Szczepanowski RH, Negrutskii BS, El'skaya AV. (2016). A non-catalytic N-terminal domain negatively influences the nucleotide exchange activity of translation elongation factor 1B α . *FEBS J.* 283(3):484-97. doi:10.1111/febs.13599.
- 7. Bondarchuk TV, Lozhko DM, Shalak VF, Fatal'ska A, Szczepanowski RH, Dadlez M, Negrutskii BS, El'skaya AV. (2019). The protein-binding N-terminal domain of human translation elongation factor 1B α possesses a dynamic α -helical structural organization. *Int J Biol Macromol.* 126:899-907. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.220
- 8. Bondarchuk TV, Shalak VF, Lozhko DM, Fatal'ska A, Szczepanowski RH, Liudkovska V, Tsuvariev OY, Dadlez M, El'skaya AV, Negrutskii BS. (2022). Quaternary organization of the human eEF1B complex reveals unique multi-GEF domain assembly. *Nucleic Acids Res.* 50(16):9490-9504. doi: 10.1093/nar/gkac685.
- 9. Guigou L, Shalak V, Mirande M. (2004). The tRNA-interacting factor p43 associates with mammalian arginyl-tRNA synthetase but does not modify its tRNA aminoacylation properties. *Biochemistry.* 43(15):4592-600. doi:10.1021/bi036150e.
- 10. Shalak V, Kaminska M, Mitnacht-Kraus R, Vandenabeele P, Clauss M, Mirande M. (2001). The EMAPII cytokine is released from the mammalian multisynthetase complex after cleavage of its p43/proEMAPII component. *J Biol Chem.* 276(26):23769-76. doi:10.1074/jbc.
- 11. Shalak V, Guigou L, Kaminska M, Wautier MP, Wautier JL, Mirande M. (2007). Characterization of p43(ARF), a derivative of the p43 component of multi-aminoacyl-tRNA synthetase complex released during apoptosis. *J Biol Chem.* 282(15):10935-43. doi:10.1074/jbc.M611737200
- 12. Shalak V, Kaminska M, Mirande M. (2009). Translation initiation from two in-frame AUGs generates mitochondrial and cytoplasmic forms of the p43 component of the multisynthetase complex. *Biochemistry.* 48(42):9959-68. doi:10.1021/bi901236g

Наукова (науково-технічна) продукція: методи, теорії, гіпотези

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Впровадження не планується

Зв'язок з науковими темами: №0101U009211, №0105U005340, №0110U000693, №0115U003744, №0120U102238

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сиволоб Андрій Володимирович
2. Andrei V. Sivolob

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.02**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується**Додаткова інформація:****Повне найменування юридичної особи:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка**Код за ЄДРПОУ:** 02070944**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 60, Київ, 01033, Україна**Форма власності:****Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Кучмеровська Тамара Муратівна
2. Tamara M. Kuchmerovska

Кваліфікація: д.б.н., с.н.с., 03.00.04**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується**Додаткова інформація:****Повне найменування юридичної особи:** Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України**Код за ЄДРПОУ:** 05417288**Місцезнаходження:** вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна**Форма власності:** Державна**Сфера управління:** Національна академія наук України**Ідентифікатор ROR:****Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Оболенська Марія Юріївна
2. Maria Y. Obolenska

Кваліфікація: д.б.н., с.н.с., 03.00.03**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується**Додаткова інформація:****Повне найменування юридичної особи:** Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Єльська Ганна Валентинівна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Корнелюк О. І.

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Крупська І.В.

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна