

Биоинформатическое исследование семейства бактериальных рибосомных белков S1: особенности структурной организации, амилоидогенные области в S1 доменах, эволюция бактериальных отделов, создание новых антибактериальных пептидов

Галзитская О.В.^{1,2}, Мачулин А.В.³, Дерюшева Е.И.⁴, Панфилов А.В.¹, Сурин А.А.⁵,
Кравченко С.В.⁶, Глякина А.В.^{1,7}, Гришин С.Ю.^{1,6}.

¹ФГБУН Институт белка РАН, 142290 Пущино, Московская область.

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290 Пущино, Московская область.

³ФГБУН ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, 142290 Пущино, Московская область.

⁴ФГБУН ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН, Институт биологического приборостроения, 142290 Пущино, Московская область

⁵МИРЭА - Российский технологический университет, 119454 Москва

⁶Тюменский государственный университет, X-Bio, 625000 Тюмень

⁷Институт математических проблем биологии РАН – филиал Института прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, 142290, Пущино, Московская область

ogalzit@vega.protres.ru

Семейство рибосомных белков S1 составляет примерно 20 % от всех бактериальных белков, содержащих S1-домен. Белки этого семейства взаимодействуют с мРНК, мРНК-подобной областью молекулы тмРНК, а также участвуют в инициации и трансляции природных мРНК *in vivo*. Отличительной особенностью семейства является множественное копирование структурных доменов в прокариотах, что повышает аффинность и специфичность при связывании с нуклеиновыми кислотами. Анализ более 1000 последовательностей рибосомных белков S1 позволил выявить некоторые особенности структурной организации этого семейства. Так, мы показали, что распределение числа и особенностей S1 доменов в этом семействе белков соответствуют характеристикам структурных повторов в других подобных семействах. Так, прослеживается положительная корреляция между длиной последовательности белка и количеством структурных повторов; дублирования в основном встречаются в середине белковой цепи между другими повторами. Кроме того, повторы являются результатом дублирования сразу нескольких доменов одновременно. Рибосомный белок S1 был найден в 24 различных бактериальных отделах. Количество доменов в белках S1 является отличительной характеристикой для филогенетической классификации бактерий по основным отделам. Были проанализированы проценты идентичности, аминокислотный состав, а также соотношение dN/dS в бактериальных белках S1. Полученные структурированные данные были собраны в онлайн ресурс, доступный по ссылке <http://oka.protres.ru:4200>. Нами было предположено, что эволюционное развитие бактериальных рибосомных белков S1 происходило от многодоменных белков к одиночным. Кроме того, нами было проведено биоинформатическое исследование амилоидогенных свойств бактериальных рибосомных белков S1, что позволило выявить уникальные участки для изучения их склонности к фибриллообразованию. Доля амилоидогенных участков для полноразмерных белков снижается с увеличением размера белков. Внутри отдельных доменов амилоидогенные области чаще предсказываются на N- и C-концевых участках. Специфические амилоидогенные области могут быть потенциальными мишенями для модулирования амилоидных свойств бактериального рибосомного белка S1.

Ключевые слова: семейство бактериальных рибосомных белков S1, структурные повторы, амилоидогенные участки, эволюционный анализ.

Bioinformatics study of the family of bacterial ribosomal proteins S1: features of structural organization, amyloidogenic regions in S1 domains, evolution of bacterial phyla, creation of new antibacterial peptides

Galzitskaya O.V.^{1,2}, Machulin A.V.³, Deryusheva E.I.⁴, Panfilov A.V.¹, Surin A.A.⁵, Kravchenko S.V.⁶, Glyakina A.V.^{1,7}, Grishin S.Y.^{1,6}

¹*Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino*

²*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia*

³*Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, Pushchino*

⁴*Institute for Biological Instrumentation, Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, Pushchino*

⁵*MIREA - Russian Technological University, Moscow*

⁶*Tyumen State University, X-Bio, Tyumen*

⁷*Institute of Mathematical Problems of Biology and Keldysh Institute of Applied Mathematics, Russian Academy of Sciences, Pushchino*

The ribosomal protein family S1 accounts for approximately 20 % of all bacterial proteins containing the S1 domain. Proteins of this family interact with mRNA, an mRNA-like region of the tmRNA molecule, and are also involved in the initiation and translation of natural mRNAs *in vivo*. A distinctive feature of the family is the multiple copying of structural domains in prokaryotes, which increases the affinity and specificity when binding to nucleic acids. Analysis of more than 1000 sequences of S1 ribosomal proteins revealed some features of the structural organization of this family. Thus, we have shown that the distribution of the number and features of S1 domains in this protein family correspond to the characteristics of structural repeats in other similar families. Thus, there is a positive correlation between the length of the protein sequence and the number of structural repeats; duplications are mainly found in the middle of the protein chain between other repeats. In addition, repetitions are the result of duplication of several domains at once. The S1 ribosomal protein has been found in 24 different bacterial phyla. The number of domains in S1 proteins is a distinguishing characteristic for the phylogenetic classification of bacteria into major phyla. Percentage identity, amino acid composition, and dN/dS ratio in bacterial S1 proteins were analyzed. The resulting structured data was collected into an online resource available at <http://oka.protres.ru:4200>. We suggested that the evolutionary development of bacterial S1 ribosomal proteins proceeded from multidomain proteins to single ones. In addition, we carried out a bioinformatic study of the amyloidogenic properties of bacterial S1 ribosomal proteins, which made it possible to identify unique regions for studying their tendency to fibril formation. The proportion of amyloidogenic sites for full-length proteins decreases with increasing protein size. Within individual domains, amyloidogenic regions are more often predicted at the N- and C-terminal regions. Specific amyloidogenic regions can be potential targets for modulating the amyloid properties of bacterial ribosomal S1 protein.

Key words: family of bacterial ribosomal proteins S1, structural repeats, amyloidogenic regions, evolutionary analysis.

1. Введение

Многофункциональный рибосомный белок S1 является частью 30S субъединицы рибосомы прокариот и играет важную роль в инициации трансляции мРНК, участвует в элонгации, а также выполняет ряд внерибосомных функций [1, 2]. Семейство рибосомных белков S1 составляет примерно 20 % от всех бактериальных белков, содержащих S1 домен [3]. Отличительной особенностью этого семейства является множественное копирование структурных доменов в прокариотах. Количество структурных повторов варьируется от одного до шести у различных видов

бактерий, при этом длина белка меняется в большом диапазоне (от 70 до 900 аминокислотных остатков). На данный момент, наиболее изучен шестидоменный рибосомный белок S1 из *Escherichia coli*. Показано, что N-концевой домен участвует в белок-белковых взаимодействиях (включая связывание рибосом), в то время как центральный домен и С-конец состоят из четырех сходных РНК-связывающих мотивов, которые, как известно, распознают одноцепочечные AU- или U богатые участки в лестницах мРНК [4, 5]. N-концевой фрагмент белка конкурирует с интактным белком S1 при взаимодействии с 30S субъединицей рибосомы, но при этом не взаимодействует с РНК.

Установлено, что шестой домен S1 рибосомного белка S1 *E. coli* участвует в аутогенной регуляции собственного синтеза, а третий домен имеет принципиальное значение для взаимодействия с мРНК и тмРНК. Показано, что белок S1 взаимодействует с рибосомным белком S2 рядом с выходным каналом мРНК, при этом глобулярные домены S1 образуют обширную область вокруг выходного канала мРНК и взаимодействуют с подвижными хвостами рибосомных белков S6 и S18. Таким образом, образуется динамическая сетка вблизи выходных и входных каналов мРНК для модуляции связывания, сворачивания и движения мРНК [6]. Также, было показано, что белок S1 выполняет другие функции в *E. coli*, в том числе в процессах, связанных с фаговыми инфекциями [7], и как аутогенный репрессор трансляции в присутствии избытка свободного от рибосом белка.

Работы по исследованию белков данного семейства в основном посвящены отдельным S1 доменам, или проводятся на малых выборках. В данной работе мы представляем результаты биоинформатического анализа бактериальных рибосомных белков S1, проведенного на большом наборе данных (более 1000 последовательностей), включающих в себя особенности структурной организации белков данного семейства, выявление уникальных амилоидогенных областей в отдельных S1 доменах, а также исследование эволюционных отношений между основными бактериальными отделами.

2. Материалы и методы

2.1. Создание репрезентативного набора данных

Репрезентативный набор данных был выбран, как описано в [3]. Исследуемый набор данных состоял из 1331 записи.

2.2. Количество структурных повторов в белках S1

Количество структурных S1 доменов в семействе рибосомных белков S1 было собрано для соответствующих записей из базы белковых доменов SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>).

2.3. Предсказание амилоидогенных регионов

Для предсказания амилоидогенных регионов использовались программы FoldAmyloid (<http://bioinfo.protnet.ru/fold-amyloid/>), Waltz (<http://waltz.switchlab.org/>), PASTA 2.0 (<http://protein.bio.unipd.it/pasta2/>) и Aggrescan (<http://bioinf.uab.es/aggrescan/>). Были выбраны стандартные установки соответствующих программных алгоритмов. Уникальность предсказанных амилоидогенных областей проверяли с помощью сервера BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

2.4. Таксономическое разнообразие

Организмы были классифицированы по основным таксономическим категориям в соответствии с таксономической базой данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>).

2.5. Реализация

Реализация алгоритмов поиска и сбора, анализ и представление данных были выполнены с использованием высокоуровневого языка программирования Python 3 (<https://www.python.org/>).

2.6. Выравнивание и анализ последовательностей

Множественное выравнивание последовательностей реализовано сервисом MEGA (<https://www.megasoftware.net>) (ClustalW); использовались стандартные параметры этой программы. Логотипы последовательности были созданы сервером WebLogo 3 (<http://weblogo.threeplusone.com>). Для расчета PID (процент идентичности последовательности), каждая пара аминокислот последовательности выравнивалась с помощью функции `Bio.pairwise2.align.globalds` с матрицей `Bio.SubsMat.MatrixInfo.blosum62` (Biopython). PID рассчитывали, как описано в [8].

2.7. Разработка онлайн ресурса

Для разработки сайта использовалась программная платформа Flask (<https://palletsprojects.com/>). MongoDB использовалась как документоориентированная кроссплатформенная база данных (<https://www.mongodb.com>). Язык Elm (<https://elm-lang.org>) использовался для создания графического пользовательского интерфейса на основе веб-браузера.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Структурная организация

Наличие структурных повторов в белках принято рассматривать как удачную эволюционную стратегию, поскольку регулярность вторичной структуры и разнообразие трехмерной сборки приводит к существованию молекул различных размеров с множеством значимых функций [9]. Структурные повторы в белках представлены копиями длин белковых цепей и образуют домены или структурные мотивы, определяющие функционирование всего белка [10]. Многочисленные исследования изменений в расположении концевых доменов (т. е. перестройки N- и C-концевых доменов в белках) показали, что основная роль в таких перестройках принадлежит механизму удвоения генов, кодирующих белки, слияния и утраты концевых доменов, а не появление

новых структурных доменов [11–14]. Поскольку предполагается, что повторы структурных доменов происходят из-за внутренней дубликации, в результате тандемной дубликации в гене копия вставляется рядом с его источником [9, 15].

S1 домен можно рассматривать как уникальный, поскольку, при высококонсервативной трехмерной укладке, в пределах семейства одного белка, он может иметь не высокую степень гомологичности [8]. Проведенные нами исследования на большой выборке данных [16–18] позволили предположить, что общая структура рибосомных белков S1 с такими повторами представляет собой молекулу вида «бусинок» на нити (“beads on a string”), в которой отдельные «бусинки» соответствуют глобулярным S1 доменам. Данное предположение соответствует недавно полученной структуре соседних двух S1 доменов (3 и 4) рибосомного белка S1 из *Vibrio vulnificus* [19]. На исследуемой выборке прослеживается положительная корреляция между длиной последовательности белка и количеством структурных повторов в нем. Это согласуется с тем, что структурные повторы часто вовлечены в процессы регуляции генов и передачи сигналов [20, 21], то есть более сложным организмам требуется больше повторов для выполнения большего числа функций. Также видно, что S1 домен в семействе бактериальных рибосомных белков S1 преобладает в количестве 4 и 6. Эти данные также согласуются с результатами работы [22], в которой было показано, что повторы являются результатом дублирования сразу нескольких доменов одновременно. Кроме того, дублирование в основном встречается в середине белковой цепи между другими повторами [22], что было подтверждено нами при исследовании идентичности близко расположенных S1 доменов в бактериальном семействе рибосомных белков S1 [8].

3.2. Эволюция бактериальных отделов

Анализ 1331 последовательности S1 позволил нам продемонстрировать, что количество доменов в S1 является отличительной характеристикой разных филогенетических бактериальных отделов. Рибосомный белок S1 был идентифицирован в 24 различных бактериальных отделах (в соответствии со списком названий прокариот, стоящих в номенклатуре, List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature). 62 % всех записей идентифицированы как шестидоменные белки S1, принадлежащие к отделу Proteobacteria. Четырехдоменные S1 идентифицированы в основном в отделах Firmicutes и Actinobacteria. Записи, принадлежащие этим отделам, составляют 33 % всех записей. Наименее представленные двухдоменные S1 белки составляют около 0.6 % всех записей. Проверка идентичности S1 доменов выявила, что для длинных белков S1 (пяти- и шестидоменные белки S1) центральная часть белков более консервативна, чем концевые домены и, по-

видимому, необходима для активности и функциональности S1 [8]. Третий домен в группе шестидоменных белков имеет самую высокую идентичность (68 %) по сравнению с другими доменами. Более того, при выравнивании последовательностей между отдельными доменами в каждой группе выявлен довольно низкий процент идентичности, который свидетельствует о том, что для общего функционирования этих белков ОБ-укладка (OB-fold), более важна, чем аминокислотная последовательность.

Высокий процент идентичности аминокислотных последовательностей проявляется между отдельными доменами S1 трех- и четырехдоменных белков, которые представлены эволюционно родственными отделами Cyanobacteria и Chloroflexi, а также двух- и четырехдоменными белками (отделы Actinobacteria и Chloroflexi). Идентичность шестидоменных белков S1 с отдельными доменами трех-, четырех- и пятидоменных белков S1 соответствует эволюционным отношениям в объединенном отделе PVC, в который входят отделы: Planctomycetes, Verrucomicrobia и Chlamydiae [8, 18].

Кроме того, анализ эволюционных отношений между основными бактериальными отделами, позволил утверждать, что, во-первых, количество структурных доменов S1 у бактерий разных типов могут совпадать при симбиотической жизни и, во-вторых, более древние филогенетические отделы имеют большее количество структурных доменов (в основном шесть). При этом в более “молодых” микроорганизмах число структурных доменов сокращено и ранжировано. Все полученные структурированные данные (проценты идентичности, аминокислотный состав, dN/dS) при биоинформатическом исследовании бактериальных белков S1 были собраны в онлайн ресурс, доступный по ссылке <http://oka.protres.ru:4200> [18].

3.3. Амилоидогенные участки

Анализ частоты распределения амилоидогенных областей в доменах S1 позволил выявить характерные особенности для каждого отдельного S1 домена [23]. Результаты используемых программ (Материалы и методы) для прогнозирования склонностей к амилоидогенезу для белка S1 сильно различаются. Так, программы PASTA 2.0 и Aggrescan не выявили четко определенных (со строгими границами) амилоидогенных участков вдоль белковой цепи. В то же время, программы FoldAmyloid и Waltz предсказали определенные области с большой тенденцией к фибриллогенезу. Как было отмечено выше, выравнивание последовательностей белков S1 между отдельными доменами в каждой группе (разное количество структурных доменов) выявило довольно низкий процент идентичности (Раздел 3.2.). Этот факт объясняет отсутствие строгих границ амилоидогенных областей, предсказываемых программой Aggrescan, которая основана на

агрегационных свойствах отдельных аминокислотных остатков. PASTA 2.0 оценивает стабильность предполагаемых кросс-β складчатых конформаций между различными участками белковой последовательности. Однако отдельные амилоидогенные области и β-листы в процессе агрегации могут вести себя по-разному. Программа Waltz основана на экспериментально существующих библиотеках амилоидов, поэтому полученные результаты можно считать надежными. FoldAmyloid использует ожидаемое количество контактов и вероятность образования водородной связи. В результате, для нашего набора данных FoldAmyloid предсказал регионы со строгими границами в каждом отдельном домене. Наличие строго ограниченных амилоидогенных участков (по программам FoldAmyloid и Waltz) для каждой группы дополнительных S1 доменов (содержащих разное количество структурных доменов) и между этими группами позволяет рассматривать эти участки как уникальные и наиболее актуальные для дальнейших экспериментальных исследований, изучения их склонности к фибрилlogenезу [23]. Мы показали также, что процент амилоидогенности для полноразмерных белков снижается с увеличением размера белков. Внутри отдельных доменов амилоидогенность выше в концевых частях. Кроме того, в экспериментах *in vitro* установлено, что синтезированные на основе амилоидогенных участков белка S1 некоторые пептиды способны стимулировать образование фибрилл рибосомного белка S1. Для патогенной бактерии *Pseudomonas aeruginosa* антибактериальные свойства были обнаружены у пептида R23L, синтезированного на основе амилоидогенного участка S1 из *P. aeruginosa*, для которого минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составила 8 мкг/мл, что сопоставимо с МИК антибиотика гентамицина [24–27].

4. Заключение

На основе анализа более 1000 последовательностей рибосомных белков S1 нам удалось определить особенности структурной организации этого семейства. Было показано, что распределение количества и особенностей S1 доменов в этом семействе белков соответствует организации структурных повторов других подобных семейств. Разные количества доменов в белках S1 являются отличительными характеристиками для филогенетической классификации бактерий по основным отделам. Мы проанализировали идентичность, аминокислотный состав и соотношение dN/dS в бактериальных белках S1. На настоящее время, структурированные данные можно получить в интернет-ресурсе, доступном по ссылке <http://oka.protres.ru:4200>. Нами была высказана гипотеза о том, что эволюционное развитие бактериальных рибосомных белков S1 происходило от многодоменных белков к

однодоменным. Исследование амилоидогенных свойств бактериальных рибосомных белков S1 позволило выявить уникальные участки для изучения их склонности к фибриллообразованию. Специфичные амилоидогенные области могут стать потенциальной мишенью для модулирования антимикробных свойств бактериальных рибосомных белков S1.

5. Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 18-14-00321 (Галзитская О.В.)

6. Список литературы

1. Wower I.K., Zwieb C.W., Guven S.A., Wower J. Binding and cross-linking of tmRNA to ribosomal protein S1, on and off the Escherichia coli ribosome. *EMBO J.* 2000. V. 19. P. 6612–6621. doi: [10.1093/emboj/19.23.6612](https://doi.org/10.1093/emboj/19.23.6612)
2. Hajnsdorf E., Boni I.V. Multiple activities of RNA-binding proteins S1 and Hfq. *Biochimie.* 2012. V. 94. 1544–1553. doi: [10.1016/j.biochi.2012.02.010](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.02.010)
3. Deryusheva E.I., Machulin A.V., Selivanova O.M., Galzitskaya O.V. Taxonomic distribution, repeats, and functions of the S1 domain-containing proteins as members of the OB-fold family. *Proteins.* 2017. V. 85. P. 602–613. doi: [10.1002/prot.25237](https://doi.org/10.1002/prot.25237)
4. Boni I.V., Artamonova V.S., Tzareva N.V., Dreyfus M. Non-canonical mechanism for translational control in bacteria: synthesis of ribosomal protein S1. *EMBO J.* 2001. V. 20. P. 4222–4232. doi: [10.1093/emboj/20.15.4222](https://doi.org/10.1093/emboj/20.15.4222)
5. Duval M., Korepanov A., Fuchsbaauer O., Fechter P., Haller A., Fabbretti A., Choulier L., Micura R., Klaholz B.P., Romby P., Springer M., Marzi S. Escherichia coli ribosomal protein S1 unfolds structured mRNAs onto the ribosome for active translation initiation. *PLoS Biol.* 2013. V. 11. Article No. e1001731. doi: [10.1371/journal.pbio.1001731](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001731)
6. Loveland A.B., Korostelev A.A. Structural dynamics of protein S1 on the 70S ribosome visualized by ensemble cryo-EM. *Methods.* 2018. V. 137. P. 55–66. doi: [10.1016/j.ymeth.2017.12.004](https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2017.12.004)
7. Ruckman J., Ringquist S., Brody E., Gold L. The bacteriophage T4 regB ribonuclease. Stimulation of the purified enzyme by ribosomal protein S1. *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 26655–26662. doi: [10.1016/S0021-9258\(18\)47069-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)47069-X)
8. Machulin A.V., Deryusheva E.I., Selivanova O.M., Galzitskaya O.V. The number of domains in the ribosomal protein S1 as a hallmark of the phylogenetic grouping of bacteria. *PLoS One.* 2019. V. 14. Article No. e0221370. doi: [10.1371/journal.pone.0221370](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221370)

9. Andrade M.A., Perez-Iratxeta C., Ponting C.P. Protein repeats: structures, functions, and evolution. *J. Struct. Biol.* 2001. V. 134. P. 117–131. doi: [10.1006/jsbi.2001.4392](https://doi.org/10.1006/jsbi.2001.4392)
10. Deryusheva E.I., Machulin A.V., Galzitskaya O.V. Structural, Functional, and Evolutionary Characteristics of Proteins with Repeats. *Mol. Biol. (Mosk)*. 2021. V. 55. P. 748–771. doi: [10.31857/S0026898421050037](https://doi.org/10.31857/S0026898421050037)
11. Kummerfeld S.K., Teichmann S.A. Relative rates of gene fusion and fission in multi-domain proteins. *Trends Genet.* 2005. V. 21. P. 25–30. doi: [10.1016/j.tig.2004.11.007](https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.11.007)
12. Weiner J., Bornberg-Bauer E. Evolution of circular permutations in multidomain proteins. *Mol. Biol. Evol.* 2006. V. 23. P. 734–743. doi: [10.1093/molbev/msj091](https://doi.org/10.1093/molbev/msj091)
13. Zmasek C.M., Godzik A. Strong functional patterns in the evolution of eukaryotic genomes revealed by the reconstruction of ancestral protein domain repertoires. *Genome Biol.* 2011. V. 12. doi: [10.1186/gb-2011-12-1-r4](https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-1-r4)
14. Forslund S.K., Kaduk M., Sonnhammer E.L.L. Evolution of Protein Domain Architectures. *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 1910. P. 469–504. doi: [10.1007/978-1-4939-9074-0_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9074-0_15)
15. Garrido-Ramos M.A. Satellite DNA: An Evolving Topic. *Genes (Basel)*. 2017. V. 8. P. 230. doi: [10.3390/genes8090230](https://doi.org/10.3390/genes8090230)
16. Machulin A., Deryusheva E., Lobanov M., Galzitskaya O. Repeats in S1 Proteins: Flexibility and Tendency for Intrinsic Disorder. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. doi: [10.3390/ijms20102377](https://doi.org/10.3390/ijms20102377)
17. Deryusheva E.I., Machulin A.V., Matyunin M.A., Galzitskaya O.V. Investigation of the Relationship between the S1 Domain and Its Molecular Functions Derived from Studies of the Tertiary Structure. *Molecules*. 2019. V. 24. doi: [10.3390/molecules24203681](https://doi.org/10.3390/molecules24203681)
18. Deryusheva E., Machulin A., Matyunin M., Galzitskaya O. Sequence and evolutionary analysis of bacterial ribosomal S1 proteins. *Proteins* 2021. V. 89. P. 1111–1124. doi: [10.1002/prot.26084](https://doi.org/10.1002/prot.26084)
19. Qureshi N.S., Matzel T., Cetiner E.C., Schnieders R., Jonker H.R.A., Schwalbe H., Fürtig B. NMR structure of the *Vibrio vulnificus* ribosomal protein S1 domains D3 and D4 provides insights into molecular recognition of single-stranded RNAs. *Nucleic Acids Res.* 2021. V. 49. P. 7753–7764. doi: [10.1093/nar/gkab562](https://doi.org/10.1093/nar/gkab562)
20. Theriot J.A. Why are bacteria different from eukaryotes? *BMC Biol.* 2013. V. 11. P. 119. doi: [10.1186/1741-7007-11-119](https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-119)
21. Sonay T.B., Koletou M., Wagner A. A survey of tandem repeat instabilities and associated gene expression changes in 35 colorectal cancers. *BMC Genomics*. 2015. V. 16. P. 702. doi: [10.1186/s12864-015-1902-9](https://doi.org/10.1186/s12864-015-1902-9)
22. Björklund A.K., Ekman D., Elofsson A. Expansion of protein domain repeats. *PLoS Comput. Biol.* 2006. V. 2. Article No. e114. doi: [10.1371/journal.pcbi.0020114](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0020114)
23. Galzitskaya O.V., Kurpe S.R., Panfilov A.V., Glyakina A.V., Grishin S.Y., Kochetov A.P., Deryusheva E.I., Machulin A.V., Kravchenko S.V., Domnin P.A., Surin A.K., Azev V.N., Ermolaeva S.A. Amyloidogenic Peptides: New Class of Antimicrobial Peptides with the Novel Mechanism of Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. doi: [10.3390/ijms23105463](https://doi.org/10.3390/ijms23105463)
24. Kravchenko S.V., Domnin P.A., Grishin S.Y., Panfilov A.V., Azev V.N., Mustaeva L.G., Gorbunova E.Y., Kobyakova M.I., Surin A.K., Glyakina A.V., Fadeev R.S., Ermolaeva S.A., Galzitskaya O.V. Multiple Antimicrobial Effects of Hybrid Peptides Synthesized Based on the Sequence of Ribosomal S1 Protein from *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. doi: [10.3390/ijms23010524](https://doi.org/10.3390/ijms23010524)
25. Grishin S.Y., Domnin P.A., Kravchenko S.V., Azev V.N., Mustaeva L.G., Gorbunova E.Y., Kobyakova M.I., Surin A.K., Makarova M.A., Kurpe S.R., Fadeev R.S., Vasilchenko A.S., Firstova V.V., Ermolaeva S.A., Galzitskaya O.V. Is It Possible to Create Antimicrobial Peptides Based on the Amyloidogenic Sequence of Ribosomal S1 Protein of *P. aeruginosa*? *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. doi: [10.3390/ijms22189776](https://doi.org/10.3390/ijms22189776)
26. Grishin S.Y., Dzhus U.F., Glukhov A.S., Selivanova O.M., Surin A.K., Galzitskaya O.V. Identification of Amyloidogenic Regions in *Pseudomonas aeruginosa* Ribosomal S1 Protein. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. doi: [10.3390/ijms22147291](https://doi.org/10.3390/ijms22147291)
27. Galzitskaya O.V. Exploring Amyloidogenicity of Peptides From Ribosomal S1 Protein to Develop Novel AMPs. *Front. Mol. Biosci.* 2021. V. 8. doi: [10.3389/fmolb.2021.705069](https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.705069)