

УДК 577.12

КРАТКИЙ СПРАВОЧНИК ПО НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ ИНГИБИТОРАМ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ ТРАНСЛЯЦИИ*

Обзор

© 2020 С.Е. Дмитриев^{1,2,3**}, Д.О. Владимиров², К.А. Лашкевич¹

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119234 Москва, Россия;
электронная почта: sergey.dmitriev@belozersky.msu.ru

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234 Москва, Россия

³ Институт молекулярной биологии имени В.А.Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

Поступила в редакцию 26.08.2020

После доработки 04.10.2020

Принята к публикации 04.10.2020

Эукариотическая рибосома и аппарат кеп-зависимой трансляции являются привлекательными мишенями для противоопухолевой, антивирусной, противовоспалительной и антипаразитарной терапии. В настоящее время известен широкий спектр низкомолекулярных ингибиторов, специфично подавляющих биосинтез белка в клетках эукариот. Большое количество таких веществ обнаруживается среди хорошо изученных антибиотиков, чье действие направлено на рибосому. Они включают ингибиторы транслокации и пептидил-трансферазного центра, блокаторы рибосомного пептидного туннеля, индукторы ошибок декодирования, преждевременной терминации и сквозного прочтения стоп-кодона, а также модуляторы связывания компонентов трансляционного аппарата с рибосомой. Отдельного внимания заслуживают низкомолекулярные ингибиторы аминоксил-тРНК-синтеза, трансляционных факторов и сигнальных путей, ассоциированных с трансляцией, в том числе ингибиторы киназы mTOR. Рибосом-направленные ингибиторы широко применяются для анализа экспрессии генов методом рибосомного профайлинга, при селекции культивируемых клеток, используются в качестве фунгицидов в сельском хозяйстве и как противогрибковые и антигельминтные средства в медицине. С веществами, влияющими на точность распознавания стоп-кодона, связаны надежды в терапии наследственных заболеваний, вызываемых нонсенс-мутациями, и восстановлении функции онкосупрессоров в опухолях. Некоторые ингибиторы биосинтеза белка обнаруживают также свойства геропротекторов. В данном обзоре мы приводим список как хорошо изученных, так и малоизвестных ингибиторов эукариотической трансляции (не касаясь биосинтеза белка в митохондриях и пластидах), дополненный информацией об их непосредственных мишенях и краткой характеристикой механизмов действия. Мы также представляем обновляемую базу данных, которая на данный момент содержит информацию о 370 ингибиторах. База данных размещена по адресу: <http://eupsic.belozersky.msu.ru/>.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: низкомолекулярные ингибиторы, рибосомные 40S и 60S субчастицы, 4E-VP1, фосфорилирование eIF2 α , риботоксический стресс, циклогексимид, харрингтонин, трихотециновые микотоксины, аминокликозиды, рапамацин.

DOI: 10.31857/S0320972520110093

ВВЕДЕНИЕ

Трансляционный аппарат эукариот имеет несколько особенностей, касающихся как структуры его компонентов, так и механизмов трансляционного цикла [1–3]. Несмотря на

консервативность функционального ядра, эукариотическая рибосома по своей структуре довольно сильно отличается от бактериальной; имея много общего с рибосомой архей, она тем не менее содержит целый ряд специфических элементов: дополнительных сегментов рРНК,

Принятые сокращения: АРСаза – аминоксил-тРНК-синтезаза; ГАЦ – ГТФаза-активирующий центр; ДЦ – декодирующий центр; ПТЦ – пептидилтрансферазный центр; РПТ – рибосомный пептидный туннель; 5'-ТОР – 5'-концевой олигопиримидиновый тракт, 5'-terminal oligopyrimidine tract; ISR – интегрированный стрессовый ответ, integrated stress response.

* Статья на английском языке опубликована в режиме Open Access (открытого доступа) на сайте издательства Springer (<https://link.springer.com/journal/10541>), том 85, вып. 11, 2020.

** Адресат для корреспонденции.

эукариот-специфичных белков и их участков [2, 3]. В ходе эволюции эукариоты выработали уникальные особенности инициации трансляции, терминации и рибосомного рециклинга [1, 4–6]. Наиболее яркой особенностью эукариотической трансляции является кеп-зависимое рибосомное сканирование при инициации трансляции, которое подразумевает посадку 40S рибосомной субчастицы вблизи 5'-конца мРНК (как правило, содержащего m⁷G-кеп) и её направленное движение в сторону 3'-конца до обнаружения стартового кодона [1, 5].

Наличие как консервативных, так и специфичных черт обуславливает то, что набор веществ, подавляющих биосинтез белка в эукариотической клетке, включает как универсальные ингибиторы рибосом (действующие, как правило, на представителей всех царств живого), так и эукариот-специфичные блокаторы, направленные либо также на рибосому, либо на другие компоненты трансляционного аппарата. На рибосоме вещества могут связываться с разными участками: с пептидилтрансферазным центром (ПТЦ), Е-сайтом, рибосомным пептидным туннелем (РПТ) или ГТФаза-активирующим центром (ГАЦ) на 60S субчастице; с декодирующим центром (ДЦ) или другими участками на 40S субчастице; с участками связывания трансляционных факторов и так далее [7–9].

Помимо мишеней и механизма действия, ингибиторы отличаются также по эффекту на полисомы, который легко наблюдать в прямом эксперименте. Те из них, которые блокируют инициацию, но не блокируют элонгацию, как правило, разбирают полисомы; ингибиторы элонгации могут как разбирать, так и стабилизировать полисомы в зависимости от того, действуют ли они на «внутренние» рибосомы в полисоме или только на новоиницировавшие рибосомы (см. ниже). Последний тезис не очевиден и часто вызывает путаницу, когда некоторые вещества, действующие на стадии элонгации (например, харрингтонин и лактимидомицин), называют ингибиторами инициации. Ингибиторы терминации могут вызывать стабилизацию полисом и увеличение в них числа рибосом, но если речь идёт об индукторах сквозного прочтения стоп-кодонов, то влияния на полисомный профиль обычно не наблюдается. То же самое можно сказать и об индукторах нарушений декодирования, влияющих на правильность синтезируемых полипептидов, но не сказывающихся на полисомном профиле. Индукторы преждевременной терминации (пуромицин) закономерно разбирают полисомы. Картина усложняется тем, что некоторые ингибиторы проявляют разные механизмы действия в зависи-

мости от своей концентрации, а при воздействии на живые клетки способны вызывать риботоксический или другие виды стресса, что может изменять характер ответа на ингибитор со временем.

В данном обзоре мы предприняли попытку составить систематизированный список низкомолекулярных ингибиторов эукариотической трансляции, представив их в формате таблиц с минималистичными комментариями (в данной статье) и в формате обновляемой базы данных на сайте НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ: <http://eupsic.belozersky.msu.ru/>. Наиболее известные или типичные ингибиторы подробно описаны в тексте данной статьи и представлены на рисунке. В силу ограниченности места мы не рассматриваем здесь ингибиторы трансляции в митохондриях и пластидах, поскольку аппарат этих органелл относится к бактериальному типу. Мы также не будем рассматривать ингибиторы белковой природы – вещества типа рицина или дифтерийного токсина, несмотря на их важность и широкую распространённость.

ИНГИБИТОРЫ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ РИБОСОМЫ

Существует несколько типов рибосомных ингибиторов, общих для представителей всех царств живого. Большая их часть направлена на консервативные стадии элонгационного цикла: связывание лигандов, транспептидацию и транслокацию, их мы и рассмотрим в первую очередь (табл. 1). Те из них, которые действуют на рибосомы всех типов, мы будем называть «универсальными ингибиторами». В противном случае речь будет идти об эукариот-специфичных блокаторах рибосомы либо об архей- и эукариот-специфичных («АЭ-») ингибиторах. Специфичность действия определяется, как правило, тонкими различиями в строении места связывания: структурные исследования показывают, что часто достаточно замены одного нуклеотида в рРНК или разницы в единственной аминокислотной позиции рибосомного белка, чтобы конфигурация участка не позволяла ингибитору связаться. Многие из этих веществ были идентифицированы ещё в 60–70-е годы прошлого века благодаря усилиям нескольких групп авторов, среди которых стоит выделить Д. Вакеса, А. Химинеса и С. Пестка. Наш обзор будет охватывать период с конца 60-х годов, ознакомьтесь же с более ранними работами и историей открытия тех ингибиторов, которые были найдены более полувека назад, можно в старых обзорах упомянутых классиков [10–13].

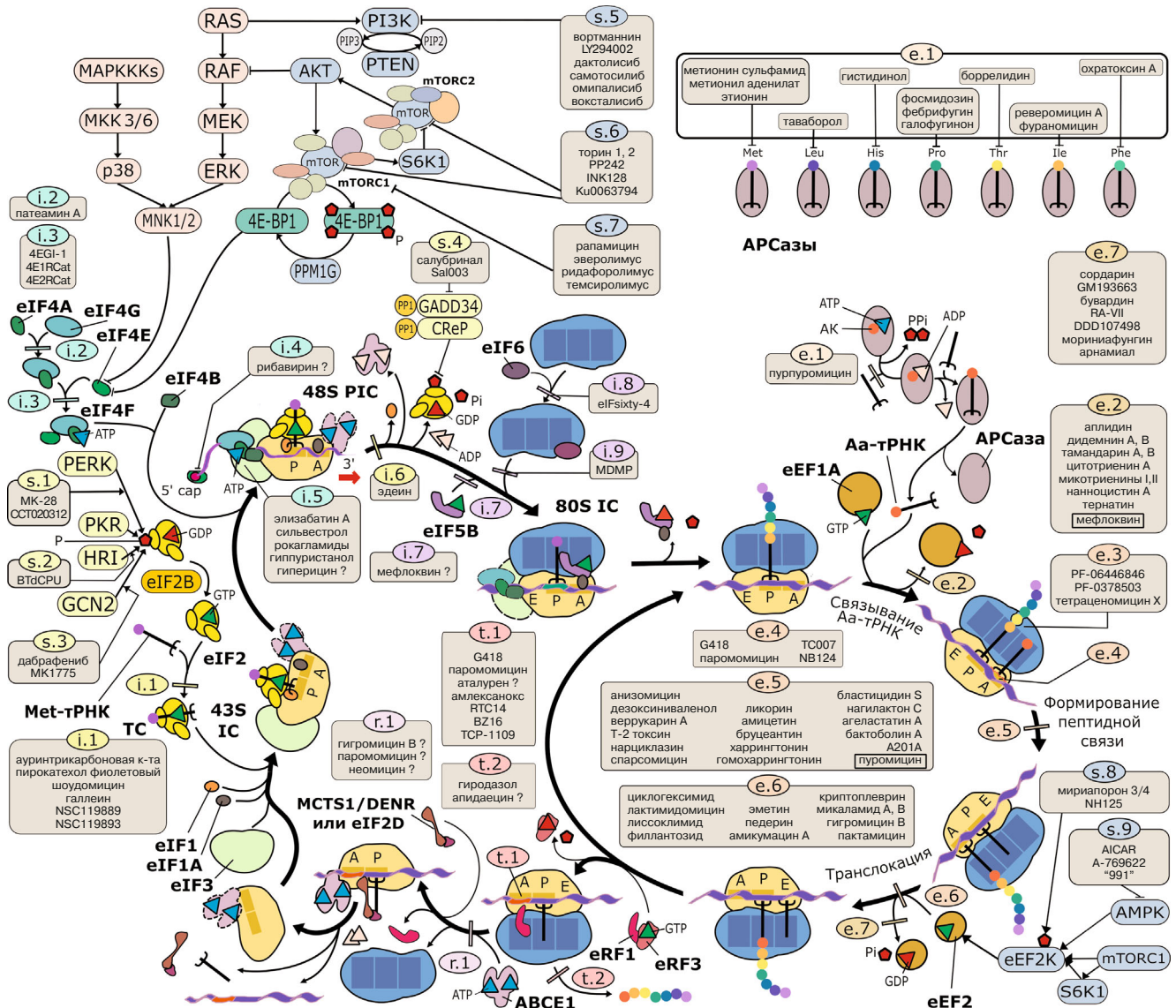


Схема трансляционного цикла эукариот и избранных сигнальных каскадов, регулирующих трансляционную активность, с указанием наиболее широко используемых и хорошо охарактеризованных ингибиторов. Вещества сгруппированы в соответствии со стадиями синтеза белка, в которых участвуют их мишени. Стадии обозначены кодами. Инициация трансляции: i.1 – связывание eIF2 с Met-tPHK, и образование тройственного комплекса eIF2/Met-tPHK/GTP (TC); i.2 – взаимодействие eIF4A и eIF4G; i.3 – взаимодействие eIF4E и eIF4G; i.4 – связывание eIF4E с m⁷G-кепом на 5'-конце мРНК; i.5 – ингибирование геликазной активности eIF4A при посадке eIF4F на мРНК и последующем рибосомном сканировании; i.6 – узнавание AUG-кодона при сканировании; i.7 – взаимодействие eIF5B с 60S субчастицей; i.8 – взаимодействие eIF6 с 60S субчастицей; i.9 – присоединение 60S субчастицы к 48S преинициаторному комплексу (48S PIC) с образованием 80S инициаторного комплекса (80S IC). Элонгация и сопутствующие реакции: e.1 – аминоацелирование тРНК; e.2 – диссоциация eEF1A/GDP после доставки аминоацелированной тРНК (Aa-tPHK); e.3 – продвижение полипептида в рибосомном туннеле; e.4 – декодирование; e.5 – пептидилтрансферазная реакция; e.6 – транслокация; e.7 – диссоциация eEF2/GDP после транслокации. Терминация: t.1 – узнавание стоп-кодона; t.2 – гидролиз пептидил-тРНК. Рециклинг: r.1 – диссоциация 60S субчастицы. Коды модуляторов сигнальных каскадов: s.1–s.3 – активаторы киназы фактора eIF2; s.4 – ингибиторы фосфатазы фактора eIF2; s.5 – ингибиторы киназы PI3K; s.6 – ингибиторы активного центра киназы mTOR; s.7 – аллостерические ингибиторы mTOR в составе комплекса mTORC1. Названия веществ, действующих на ту же стадию, но обладающих принципиально иным механизмом действия, выделены рамкой

Рибосом-направленные ингибиторы элонгации. Подавляющее большинство известных сейчас ингибиторов, мишенью которых является рибосома, действуют на стадии элонгации по-

липептида. К таким веществам относятся ингибиторы пептидилтрансферазной реакции и транслокации, блокаторы пептидного туннеля, индукторы ошибок декодирования и прежде-

Таблица 1. Низкомолекулярные ингибиторы эукариотической рибосомы

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Анизомидин/ флагегидин (anisomycin/ flagecidin)	пирролидин, группа анизомидина	А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.	ингибитор ПТЦ
Деацетиланизомидин (deacetylanisomycin)	– // –	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.?	– // –
Пруссин/L-657,398 (preussin)	– // –	Э	60S	ПТЦ (А)?	Э?		– // –
Калонектрин (calonectrin)	трихотецин А		60S?	ПТЦ (А)?	Э	стаб./разб.	– // –
Неосоланиол (neosolaniol)	– // –	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	– // – ?
Скирпентриол (scirpentriol)	– // –	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.	– // –
Диацетокискирпенол/ангидин (diacetoxyscirpenol/ anguidine)	– // –	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	разб.	– // –
Т-2 токсин (Т-2 toxin)	– // –	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	разб.	– // –
НТ-2 токсин (НТ-2 toxin)	– // –	Э	60S	ПТЦ (А)?	Э?	?	– // – ?
Т-2 триол (Т-2 triol)	– // –	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	– // – ?
Триходермин (trichodermin)	– // –	Э	60S	ПТЦ	Э	стаб./разб.	– // –
Триходермол (trichodermol)	– // –	Э	60S	ПТЦ	Э	стаб.	– // –
Диацетилверрукарол (diacetylverrucarol)	– // –	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	– // – ?
Трихотеколон (trichothecolone)	– // –	Б, А, Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	стаб./разб.	– // – ?
Трихотецин (trichothecin)	трихотецин В	Э	60S	ПТЦ (А)?	Э	стаб./разб.	– // –
Фузаренон Х (fusarenon X)	– // –	Э	60S	ПТЦ	Э	стаб.	– // –
Вомитоксин/ дезоксиниваленол (vomitoxin/ deoxynivalenol)	– // –	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	разб.	– // –
Ниваленол (nivalenol)	– // –	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	разб.	– // – ?
Кротоцин (crotocin)	трихотецин С	Э	60S	ПТЦ	Э, Т?	стаб.	– // – ?

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Сатратоксин G (satratoxin G)	трихотексин D	Э	60S	ПТЦ (А)	Э?	разб.	- // - ?
Роридин А (roridin A)	- // -	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	- // - ?
Миротексин А (myrothecin A)	- // -	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	- // - ?
Веррукарин А/ мукономицин А (verrucarin A/ musonomycin A)	трихотексин D, мукономицин	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.	- // -
Мукономицин В (musonomycin B)	- // -	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	стаб.	- // -
Нарциклазин (narciclasine)	тетрагетероциклический алкалоид	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.	- // -
Изонарциклазин (isonarciclasine)	- // -	Б, А, Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э	стаб.	- // -
Ликорин (lycorine)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	?	- // -
Псевдоликорин (pseudolycorine)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	?	- // -
Гемантамин (haemanthamine)	- // -	А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.	- // -
Гемантидин (haemanthidine)	- // -	А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	(стаб.)	- // -
Булбиспермин/гаман (bulbispermine/hamaune)	- // -	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	(стаб.)	- // -
Претацеттин (pretazettine)	- // -	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	стаб.	- // -
Жонквейлин (jonquailine)	- // -	Э?	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	- // - ?
Кринамин (crinamine)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	(стаб.)	- // -
Агеластатин А (agelastatin A)	гетероциклический алкалоид	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	?	- // -
Цефалотаксин (cephalotaxine)	гетероциклический алкалоид, группа цефалотаксина	(Э)	(60S)	ПТЦ (А)?	(Э)	(стаб.)	- // - (слабый)
Харрингтонин (harringtonine)	- // -	АЭ	60S	ПТЦ (А)	Э	разб.	- // -

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Гомохаррингтонин/омацетаксин мепесукцинат (homoharringtonine/omacetaxine mepesuccinate)	— // —	А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	разб.	— // —
Нагилактон С (nagilactone С)	дитерпеноид	Э	60S	ПТЦ (А)	Э	разб.	— // —
Нагилактон Е (nagilactone E)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э	?	— // — ?
Бруцеантин (bruceantin)	квассиноид	А, Э	60S	ПТЦ (А)	Э	?	— // —
Грандилактон А (grandilactone А)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э	?	— // —
Грандилактон В (grandilactone В)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э	?	— // —
Брусатол (brusatol)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А)	Э?	?	— // — ?
Голакантон (holacanthone)	— // —	Э?	60S	ПТЦ	?	?	— // —
Бакхаринол (baccharinol)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	— // — ?
Айлантинон (ailanthinone)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	— // — ?
Квассин (quassin)	— // —	Э?	60S?	ПТЦ (А)?	Э?	?	— // — ?
Спарсомицин (sparsomycin)	пиримидон, группа спарсомицина	Б, А, Э	60S	ПТЦ (А, Р)	Э	стаб.	— // —
Дигидроксиспарсомицин (deshydroxysparsomycin)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А, Р)?	Э?	?	— // — ?
Октилспарсомицин (octylsparsomycin)	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А, Р)?	Э?	?	— // — ?
Фенолаланин-спарсомицин (phenol-alanine sparsomycin)	— // —	Б, А, Э	60S?	ПТЦ (А, Р)?	Э?	?	— // — ?
MDL 19152	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А, Р)?	Э?	?	— // — ?
MDL 20828	— // —	Э	60S?	ПТЦ (А, Р)?	Э?	?	— // — ?
Антелмицин/хикизимицин (anthelmucyn/hikizimycin)	нуклеозид, пиримидон	Б, А, Э	60S	ПТЦ (Р)	Э	(стаб.)	— // —

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Бластицидин S (blasticidin S)	нуклеозид, группа блас-тицидина	Б, А, Э	60S	ПТЦ (Р)	Э	?	- // -
Гугеротин (gougerotin)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ	Э	разб.	- // -
Багугерамин А,В (bagougeramine А,В)	- // -	Б, А, Э?	60S?	ПТЦ?	Э?	?	- // - ?
Амицетин (amicetin)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ	Э	стаб.	- // -
Бамицетин (bamicetin)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ	Э	?	- // -
Милдиомицин (mildiomycin)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ	Э	?	- // -
Пликацетин (plicacetine)	- // -	Б, А, Э	60S?	ПТЦ?	Э?	?	- // - (слабый)
Аргиномицин (arginomycin)	- // -	Б, А, Э	60S?	ПТЦ?	Э?	?	- // - ?
Пуромицин (puromycin)	аминоацил-нуклеозид	Б, А, Э	60S	А	Э	разб.	вызывает преждевременную терминацию
А201А	- // -	Б, А, Э	60S	А	Э		ингибитор ПТЦ
Бактоболин (bactobolin)	изокумарин	Б, А, Э?	60S	ПТЦ (Р)	Э	?	- // -
Актиноболин (actinobolin)	- // -	Б, А, Э	60S	ПТЦ	Э	?	- // -
Амикумацин А (amicoumascin А)	- // -	Б, А, Э	40S	Е-сайт	Э	?	ингибитор транслокации
Бацифелацин (baciophelacin)	- // -	Б, А, Э	?	?	И?	?	?
Ооспонол (oosponol)	- // -	Б, А, Э?	?	?	?	?	?
АНР-1911	тиопсевдомочевина	Б, А, Э	60S?	ПТЦ?	Э		ингибитор ПТЦ
Тенуазоновая кислота (tenuazonic acid)	пирролин	Э	60S?	ПТЦ (А, Р)	?	стаб.	- // -
Ботромицин А2 (bottromycin А2)	циклический пептид	Б, А, Э?	60S?	ПТЦ?	Э?	стаб.?	- // - ?
Гризеовиридин (griseoviridin)	циклодекси-пептид	Б, А, Э	60S	ПТЦ	Э	?	- // - ?
Циклопиазоновая кислота (cyclopiazonic acid)	эрголиновый алкалоид	Б, А, Э	60S?	?	Э	?	- // - ?
PF-06446846/PF846		Б, А, Э	60S	РПТ	Э	?	затрудняет продвижение пептида в РПТ

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
PF-06378503/PF8503		Э	60S?	РПТ?	Э	?	– // – ?
Тетраценомицин Х (tetracenomycin X)	ароматический поликетид тетраценомицинового ряда	Б, А, Э	60S	РПТ	Э?	?	– // – ?
Тетрациклин Col-3 (tetracycline Col-3)	ароматический поликетид тетрациклинового ряда	Б, А, Э	40S, 60S	РПТ и др.	Э?	?	?
Доксициклин (doxycycline)	– // –	Б, А, Э	40S, 60S	РПТ и др.	Э?	?	?
Тигециклин (tigecycline)	– // –	Б, А, Э	40S? 60S?	?	Э	?	связывание аминокцил-тРНК?
Миноциклин (minocycline)	– // –	Б, А, Э	40S? 60S?	?	Э?	?	?
Доксорубицин (doxorubicin)	ароматический поликетид антрациклинового ряда	Э?	?	?	Т	?	способствует сквозному прочтению стоп-кодонов
Циклогексимид/нарамицин А/актидион (cycloheximide/paramycin A/actidion)	глутаримид	Э	60S	Е-сайт	Э	стаб.	ингибитор транслкации
Нарамицин В (paramycin B)	– // –	Э	60S?	Е-сайт?	?	?	– // – ?
Ацетоксициклогексимид (acetoxycycloheximide)	– // –	Э	60S	Е-сайт?	Э	стаб.	– // – ?
Стрептимидон (streptimidone)	– // –	Э	60S	Е-сайт?	Э	?	– // – ?
Стрептовитацин А (streptovitamin A)	– // –	Э	60S	Е-сайт?	Э?	стаб.	– // – ?
Актифенол (actiphenol)	– // –	Э	60S?	Е-сайт?	Э?	?	– // – ?
Лактимидомицин (lactimidomycin)	– // –	Э	60S	Е-сайт	Э	разб.	– // –
Изомигрататин (isomigrastatin)	– // –	Э	60S?	Е-сайт?	Э?	?	– // – ?
ЕСА-LTM	– // –	Э	60S?	Е-сайт?	Э?	?	– // – ?
Стрептоглутаримид Н (streptoglutarimide H)	– // –	Б, А, Э	60S?	Е-сайт?	Э?	?	– // – ?

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Лиссоклимид (lissoclimide)	лабдановый дитерпеноид	Э	60S	Е-сайт	Э	стаб.	– // –
Хлоролиссоклимид (chlorolissoclimide)	– // –	Э	60S	Е-сайт	Э	стаб.	– // –
Дихлоролиссоклимид (dichlorolissoclimide)	– // –	Э	60S	Е-сайт	Э	стаб.?	– // –
Лиссоклимид С45 (lissoclimide С45)	– // –	Э	60S	Е-сайт	Э	стаб.	– // – ?
Хатерумаимиды А, N, Q (haterumaimides А, N, Q)	– // –	Э	60S?	Е-сайт?	Э	стаб.	– // –
Филлантозид (phyllanthoside)	гликозид	Э	60S	Е-сайт	Э	разб.	– // –
S3'-деацетил филлантозид (S3'-desacetyl phyllanthoside)	– // –	Э	60S?	Е-сайт?	?	?	– // – ?
Педерин (pederine)	поликетид, группа педерина	Э	60	Е-сайт	Э	стаб.	– // –
Псимберин/ирциниастатин А (psymberin/irciniastatin А)	– // –	Э	60S	Е-сайт	Э	?	– // –
Теопедерин В (theopederin В)	– // –	А, Э	60S	Е-сайт	Э	?	– // –
Микаламид В (mucalamide В)	– // –	Б, А, Э	60S	Е-сайт	Э	разб.	– // –
Микаламид А (mucalamide А)	– // –	Б, А, Э	60S	Е-сайт	Э	?	– // –
Оннамид А (onnamide А)	– // –	А? Э	60S	Е-сайт	Э	?	– // –
Теданолид (tedanolide)	поликетид, группа теданолида	А? Э	60S	Е-сайт	Э	?	– // –
13-дезокситеданолид/13-DТ (13-deoxytedanolide)	– // –	А, Э	60S	Е-сайт	Э	?	– // –
Мириапорон 3/4 (muriaropone 3/4)	– // –	А, Э	eEF2?	–	Э	?	(см. табл. 3)
Эметин (emetine)	эметин-подобный пиридоизохинолиновый алкалоид	Э	40S	Е-сайт	Э	стаб.	ингибитор транслкации

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Дегидроэметин (dehydroemetine)	– // –	Э	40S?	Е-сайт?	Э?	(стаб.)	– // –
Цефалин (cephaline)	– // –	Э	40S?	Е-сайт?	Э?	(стаб.)	– // –
Криптоплеврин (cryptopleurine)	эметин-подобный фенантрохинолизидиновый алкалоид	Э	40S, 60S?	Е-сайт	Э	?	– // –
Тилокребрин (tylocrebrine)	– // –	Б? Э	40S?	Е-сайт?	Э	?	– // –
Тубулозин (tubulosine)	– // –	Э	40S, 60S?	Е-сайт?	Э	?	– // –
Тилофорин (tylophorine/ DCB-3500)	– // –	Б? А, Э	40S	Е-сайт?	Э	стаб.	– // –
DCB-3503	– // –	Э	40S?	Е-сайт?	Э	?	– // –
Рас-криптоплеврин (Рас-cryptopleurin)	– // –	Э	40S?	Е-сайт?	Э	?	– // –
УХМ-110	– // –	Э	40S?	Е-сайт?	Э	?	– // –
Пактамицин (ractamycin)	аминоциклопентитол, группа пакта-мицина	Б, А, Э	40S	Е-сайт	Э (И?)	(разб.)	– // –
Де-6-MSA-пактамицин (de-6-MSA-ractamycin)	– // –	Б, А, Э	40S?	Е-сайт?	Э (И?)	?	– // – ?
Залузанин С (zaluzanin C)	сесквитерпеновый лактон	Э	?	?	Э	?	– // –
Гигромицин В (hygromycin B)	2-DOS аминокликозид, неканонический	Б, А, Э	40S?	ДЦ	Э (Р?)	стаб.	– // –
Генетицин/G418 (geneticin)	2-DOS аминокликозид, 4,6-двузамещенный	Б, Э	40S, 60S	ДЦ, РПТ	Э, Т	разб.	вызывает ошибки декодирования, способствует сквозному прочтению стоп-кодонов и ингибирует транслокацию
Гентамицины (gentamycins/gentamicins)	– // –	Б, Э	40S, 60S	ДЦ, РПТ	Э, Т	разб.	– // –
Тобрамицин (tobramycin)	– // –	Б, Э?	40S, 60S?	ДЦ	Э, Т	разб.?	– // –
Амикацин (amikacin)	– // –	Б, Э	40S	ДЦ	Э, Т	разб.	– // –

Продолжение таблицы 1

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
Нетилмицин (netilmicin)	– // –	Б, А, Э?	40S?	ДЦ?	Э?	разб.?	– // –
Паромомицин (paromomycin)	2-DOS аминокликозид, 4,5-двузамещённый	Б, Э	40S, 60S	ДЦ	Э, Т (Р?)	разб.	– // –
Ливидомицин (lividomycin)	– // –	Б, А, Э?	40S?	ДЦ?	Э	?	– // –
Неомицин (neomycin)	– // –	Б, А, (Э)	40S?	ДЦ?	Э, Т (Р?)	?	– // –
ТС007	– // –	Б, Э	40S, 60S	ДЦ, РПТ	Т	?	– // –
NB74	– // –	Б? Э	40S	ДЦ	Э, Т	?	– // –
NB124	– // –	Б? Э	40S	ДЦ?	Э, Т	?	– // –
NB156	– // –, производное NB74	Б? Э	40S	ДЦ	Э, Т	?	– // –
NB157	– // –, производное NB124	Б? Э	40S	ДЦ	Э, Т	?	– // –
Неамин (neamine)	2-DOS аминокликозид, 4-монозамещённый	Б, Э	60S?	ДЦ	Э, Т	разб.?	– // –
Апрамицин (apramycin)	– // –	Б, Э	40S?	ДЦ	Э	?	– // – ?
Негамицин (negamycin)	группа негамицина	Б, А, Э	40S	?	Т	стаб.	– // –
3-эпи-дезоксинегамицин (3-epi-deoxynegamycin)	– // –	Э	?	?	Т	?	– // – ?
ТСР-1109	– // –	Э	40S		Т	?	– // –
Аталурен/РТС124 (ataluren/RTC124)	оксадиазолы	Э	60S?	А?	Т?	?	– // – ?
Амлексанокс (amlexanox)	бензопираны	Э	?	?	Т		– // –
RTC204		Э	?	?	Т	?	– // –
RTC219		Э	?	?	Т	?	– // –
GJ071		Э	?	?	Т	?	– // –
GJ072		Э	?	?	Т	?	– // –

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э) [#]	Взаимодействующая субчастица рибосомы	Место связывания ^{##}	Стадия трансляционного цикла ^{###}	Эффект на полисомы ^{####}	Механизм действия
GJ103		Э	?	?	Т	?	– // –
RTC13	группа тиазоллидинона	Э	40S?	?	Т	?	– // –
RTC14	– // –	Э	?	?	Т	?	– // –
BZ6	– // –	Э	?	?	Т	?	– // –
BZ16	– // –	Э	?	?	Т	?	– // –
CDX5-1	фталимид	?	?	?	?	?	усиливает сквозное прочтение стоп-кодонов, индуцируемое аминокликозидами
Гиродазол/гироллин/RP 49532A (girodazole/girolline)		А, Э	60S	Е-сайт	Т	?	ингибирует высвобождение синтезированного пептида
Сангвинамид В (sanguinamide В)	циклический пептид	Б, А, Э	40S, 60S	uS17, uL3, uL30, др.	?	?	?
Даптомисин (daptomycin)	циклический липопептид	Б, А? Э	40S	eS19	?	?	?
QL-XII-47/QL47	группа QL47	Э	?	?	Э?	?	?
YKL-04-085	– // –	Э	?	?	Э?	?	?
Мефлоквин (mefloquine)	хинолин	Э*	60S	ГАЦ	Э	?	нарушает аккомодацию eEF1A, eEF2
Эдеин А (edein А)		Б, А, Э	40S	Е-сайт	И	?	мешает связыванию или аккомодации инициаторной Met-тРНКi в Р-сайте
Эдеин В (edein В)		Б, А, Э?	40S?	Е-сайт?	И?	?	– // – ?
MDMP		Э	40S? 60S?	?	И	разб.	препятствует присоединению 60S к 48S инициаторному комплексу
eIFsixty-4		Э	60S	?	И	разб.	нарушает связывание eIF6 с 60S субчастицей

Примечание. Буквенные коды:

[#] Б – бактерии, А – археи, Э – эукариоты. (*) обозначает более узкую группу организмов (например, грибы или простейшие).

^{##} ПТЦ (А) – А-сайт ПТЦ, ПТЦ (Р) – Р-сайт ПТЦ, остальные сокращения – как в основном тексте.

^{###} И – инициация, Э – элонгация, Т – терминация, Р – рециклинг.

^{####} Стаб. – стабилизирует полисомы, Разб. – разбирает полисомы, Стаб. / Разб. – стабилизирует или разбирает в зависимости от концентрации.

Знак «?» обозначает «предположительно» (по аналогии с химически сходным веществом, по аналогии с другими организмами либо на основании спорных данных). В скобках – явление, которое менее выражено, чем основное.

временной терминации, а также некоторые другие типы ингибиторов с нестандартными механизмами действия.

Ингибиторы пептидилтрансферазного центра. В силу своей консервативности ПТЦ большой субчастицы рибосомы является наиболее уязвимым местом белоксинтезирующего аппарата — именно там связывается, пожалуй, наибольшее число ингибиторов как у про-, так и у эукариот (рисунок, е.5). Эти ингибиторы могут относиться к разным типам химических соединений и по-разному препятствовать работе рибосомы.

Так, некоторые из них мешают посадке или аккомодации аминокил-тРНК в А-сайте. К этому типу относятся, например классический АЭ-специфичный ингибитор анизомицин, который связывается в А-сайте ПТЦ и дестабилизирует аминокил-тРНК [14–17]. С тем же участком связываются эукариот-специфичные трихотечиновые микотоксины (производимые паразитическими грибами Т-2 токсин, дезоксиниваленол, веррукарин А и, вероятно, ещё более трёх десятков подобных им соединений, имеющих в своей основе сложный четырёхчленный гетероцикл [14, 17–19]); тетрагетероциклические растительные алкалоиды нарциклазин, ликорин и гемантамин [14, 20] и, предположительно, их многочисленные производные — изонарциклазин, псевдоликорин, претацеттин и другие [21, 22]; а также харрингтонин [23], широко используемый в методике рибосомного профайлинга [24], и близкий к нему гомохаррингтонин [14, 23, 25, 26]. Гомохаррингтонин в форме полусинтетического препарата омацетаксина мепесукцината является одним из очень немногих трансляционных ингибиторов, получивших одобрение как европейского, так и американского медико-биологических агентств (EMA и FDA), он применяется для лечения хронических миелолейкозов [27]. Кроме того, он вошёл в число перспективных лекарств для антивирусной терапии при COVID-19 [28].

Особенностью харрингтонина и гомохаррингтонина является то, что они могут связаться лишь с вакантной рибосомой, только что собравшейся из субчастиц и приступившей к трансляции, и останавливают её сразу (или вскоре) после старта [23]. При этом ранее инициировавшие рибосомы продолжают транслировать, и в итоге на мРНК остаётся только одна 80S рибосома в районе начала кодирующей части [25, 29]. Это позволяет использовать харрингтонин для картирования стартовых кодонов [24].

Нужно заметить, что подобное свойство (неспособность связываться с активно транслирующими полисомами) не является редкостью

для ингибиторов элонгации, поэтому на нём стоит остановиться особо. Добавление таких веществ к клеткам приводит не к стабилизации, а к разборке полисом, поэтому в литературе их иногда ошибочно причисляют к ингибиторам инициации [25, 29]. Помимо харрингтонина, подобное влияние на полисомы оказывают, например, некоторые из упоминавшихся выше трихотечиновых микотоксинов [25]. В последнем случае это выглядит особенно интригующе: так, Т-2 токсин, веррукарин А, ниваленол и калонектрин разбирают полисомы, а трихотецин, триходермин и скирпентриол их стабилизируют [19, 30, 31]. Были даже найдены конкретные химические радикалы, положение которых в определённых позициях по отношению к ядру трихотечинового антибиотика определяет тот или иной эффект [19, 30, 32]. Впрочем, в случае некоторых микотоксинов эффект может зависеть от концентрации: так, диацетоксискирпенол и фузаренон Х, которые в норме разбирают полисомы, при увеличении концентрации на два порядка начинают их стабилизировать [30, 33]. Способность связываться лишь с вакантной рибосомой и разбирать полисомы присуща и некоторым ингибиторам транслокации — например, лактимидомицину [34], который будет рассмотрен в соответствующем разделе, — на его примере мы и рассмотрим предположительный механизм данного явления.

А-сайт ПТЦ является мишенью и для других соединений, в химическом плане не имеющих практически ничего общего с вышеперечисленными, — веществ природного происхождения — нагилактона С [14, 35] и агеластина А [36], а также бруцеантина, представителя обширного класса квазииндолов, среди которых много потенциальных антираковых препаратов [26, 37, 38]. Не исключено, что такой же механизм действия имеет нагилактон Е, у которого недавно методами системной биологии была обнаружена активность ингибитора элонгации [39]. Аккомодацию аминокил-тРНК в А-сайте нарушает также универсальный антибиотик А201А, имеющий нуклеозид-подобный участок, который напоминает ССА-конец тРНК [13, 40].

Некоторые вещества связываются не с А-, а с Р-сайтом ПТЦ. Примерами таких соединений являются универсальные ингибиторы пептидилтрансферазной реакции: бактоболин А (производное изокумарина) [41, 42] и бластицидин S из группы нуклеозидных антибиотиков [14, 17, 43, 44]. Интересно, что в случае бактерий бластицидин S ингибирует не столько элонгацию, сколько терминацию трансляции [45], однако в эукариотической системе его эффект связан всё же именно с подавлением элонгации [46]. Ма-

лоизученные нуклеозидные антибиотики, похожие на бластицидин, — антелмицин (хикизимицин), гугеротин, амицетин, бамицетин и другие [47–49] — также ослабляют связывание аминоксил-тРНК и препятствуют транспептидации [43].

Ещё один нуклеозидный аналог, также взаимодействующий с ПТЦ и сложным образом влияющий на связывание и аккомодацию лигандов, — спарсомицин [17, 18]. Структура его комплекса с эукариотической рибосомой пока недоступна, но есть структурные данные, характеризующие его взаимодействие с большой субчастицей архей [44]. На основании их можно предположить, что антибиотик образует множественные контакты с ССА-концом тРНК в Р-сайте, одновременно препятствуя связыванию аминоксил-тРНК.

Следует признать, что ввиду недостатка структурных и функциональных данных зачастую нельзя сказать однозначно, связан ли механизм действия конкретного ингибитора ПТЦ с нарушением связывания или аккомодации лигандов или же с конформационными перестройками в самом ПТЦ, делающими невозможным эффективный катализ. Поэтому обычно не принято подразделять ингибиторы этого типа на более узкие подгруппы согласно стадии, на которой они блокируют элонгационный цикл. Ситуация ещё более усложняется недавно открывшимся фактом аминокислотной специфичности ингибиторов ПТЦ. Например, структурные данные говорят о том, что харрингтонин и его производные, а также трихотециновые микотоксины должны мешать посадке аминоксил-тРНК или как минимум аккомодации аминоксил-тРНК в А-сайте [14, 26]; однако данные ту-принтинга и рибосомного профайлинга [50–52] говорят о том, что эти вещества допускают несколько элонгационных циклов, прежде чем рибосома остановится на определённой позиции, зависящей от аминокислотного остатка на С-конце пептидил-тРНК, расположенной в Р-сайте. Остаётся неясным, как рибосома может синтезировать фрагмент полипептида длиной несколько аминокислот, когда её ПТЦ оккупирован крупной молекулой антибиотика, и почему одни аминокислоты при этом могут встраиваться, а на других происходит остановка синтеза. Аминокислотная специфичность ингибиторов ПТЦ была впервые задокументирована в 2013 году для харрингтонина [50]: методом ту-принтинга было показано, что он предпочтительно останавливает транслирующую рибосому, когда последней аминокислотой, присоединённой к пептидил-тРНК и находящейся в Р-сайте, является лизин, аргинин или

тирозин. Позднее толерантность к одним аминокислотным остаткам на С-конце растущего пептида и чувствительность к другим была выявлена для многих классических ингибиторов ПТЦ, в том числе анизомицина, спарсомицина, бластицидина S и ряда трихотециновых микотоксинов [51]. Аналогичное наблюдение было сделано и для некоторых антибиотиков, блокирующих ПТЦ бактериальной рибосомы [53], хотя в этом случае специфичность касалась аминокислотного остатка, предшествующего тому, что находился в Р-сайте: трансляцию останавливал преимущественно аланин (и в меньшей степени серин и треонин) в положении «–1» пептидил-тРНК. Данное явление меняет представления о механизме действия ингибиторов ПТЦ и требует дальнейшего изучения [54].

Ингибиторы, связывающиеся в пептидном туннеле. Специфичность по отношению к последовательности синтезируемого пептида особенно ярко проявляется в случае группы ингибиторов, местом связывания которых служит РПТ. Для бактериальных рибосом таких веществ известно довольно много, их классическим примером являются антибиотики-макролиды [55, 56]. Интересно, что механизм их действия также, по-видимому, связан с угнетением работы ПТЦ: связываясь в пептидном туннеле, макролиды распространяют аллостерическое влияние далеко за его пределы, индуцируя конформационные перестройки внутри 50S субчастицы [57]. Хотя с рибосомами архей некоторые макролиды связать удаётся, и связывание происходит примерно с тем же участком, что и у бактерий [58–60], ни один из известных на данный момент антибиотиков этого типа не способен действовать по такому же механизму на эукариотическую рибосому [56]; известен неканонический макролид 13-дезокситетранолид, который связывается с 60S субчастицей [61], но совсем в другом месте (см. ниже). Тем не менее ингибиторы, связывающиеся в пептидном туннеле 60S субчастицы, недавно были обнаружены среди других классов веществ (рисунок, е.3). Здесь нельзя не упомянуть о двух необычных ингибиторах, PF-06446846 и PF-06378503, проявляющих настолько высокую селективность по отношению к аминокислотной последовательности цепи в пептидном туннеле, что при всём многообразии человеческих белков они блокируют лишь синтез буквально нескольких из них [62, 63]. Структурное исследование комплекса PF-06446846 с рибосомой [64] показало локализацию места связывания в пептидном туннеле и арест транслирующей рибосомы в одном из претранслокационных состояний. Совсем недавно был обнаружен и ещё один тип ингибиторов,

блокирующих белковый синтез в клетках эукариот путём взаимодействия с пептидным туннелем, — ароматические поликетиды: связывание тетраценомицина X с РПТ рибосомы человека было показано структурными методами, подтверждено в *in vitro* системе и на культивируемых клетках человека [65], а тетрациклинов Col-3 и доксициклина — определено биохимически [66]. Есть также указания и на активность в эукариотической системе некоторых других тетрациклинов: тигециклина [67, 68] и миноциклина [69, 70]; последний может использоваться для лечения аутоиммунных расстройств, нейропатий и вирусных инфекций, а также выступает потенциальным геропротектором. В обоих случаях места связывания с эукариотической рибосомой остаются неизвестными. При этом классический тетрациклин Tet, широко применяемый в медицине как антибактериальный препарат, не блокирует трансляцию в эукариотической системе, а с бактериальной рибосомой связывается совсем в другом месте, чем тетраценомицин X, доксициклин и Col-3 [7].

Ингибиторы транслокации. Вещества, которые блокируют рибосому на стадии транслокации, представляют существенную долю ингибиторов эукариотической рибосомы (рисунок, е.б). Здесь речь также может идти о нескольких механизмах. Классический эукариот-специфичный ингибитор циклогексимид (он же актидион или нарамицин А) препятствует транслокации, оккупируя E-сайт 60S субчастицы и, по-видимому, мешая перемещению туда деацелированной тРНК из P-сайта [14, 17, 25, 71–75] — хотя в литературе обсуждался также и другой механизм действия [34, 76]. Циклогексимид широко используется для определения времени полужизни белков, для стабилизации полисом при анализе полисомных профилей в градиенте сахарозы, а также при анализе генной экспрессии методами рибосомного профайлинга и аффинного выделения транслирующих рибосом (TRAP) [77]. Он принадлежит к группе веществ, называемых глутаримидами, среди которых есть и другие ингибиторы биосинтеза белка, изученные гораздо хуже (например, стрептимидон, активфенол, ацетоциклогексимид, стрептовитацин и изомиграсатин) [78–80]. К этой же группе относится лактимидомицин [34, 81], который связывается с тем же местом в E-сайте, но имеет дополнительное лактонное кольцо, затрудняющее аккомодацию его молекулы [14]. В отличие от циклогексимиды, лактимидомицин не способен связываться с активно транслирующими рибосомами, поэтому его добавление к клеткам приводит к разборке полисом [34]. В этом он похож на упоминав-

шийся ранее харрингтонин, и его тоже используют в рибосомном профайлинге для картирования стартовых кодонов [82]. По-видимому, неспособность лактимидомицина эффективно вытеснять тРНК из E-сайта связана именно с медленной аккомодацией его крупного бокового радикала [14]. Возможно, эта же причина объясняет и другие случаи, когда ингибиторы элонгации и другие успешно взаимодействующие с вакантными субчастицами, неактивны по отношению к уже транслирующим рибосомам в полисоме.

Практически с тем же местом на 60S субчастице, что и глутаримидные антибиотики, связываются лиссоклимиды (в частности, хлоролиссоклимид и C45), получаемые из морских моллюсков, — по механизму действия они, вероятно, аналогичны глутаримидам, на которые немного похожи структурно [83–85]. Это же место является мишенью и для другого ингибитора трансляции, имеющего совершенно иную химическую структуру, — филлантозида [14]. Точный механизм его действия неясен [35], однако, скорее всего, он ингибирует именно транслокацию. Его уникальной особенностью является то, что при связывании он, по-видимому, образует ковалентную связь с E-сайтом рибосомы, вызывая её необратимое повреждение. Здесь же связываются, по-видимому, ингибиторы из обширного класса поликетидов — например, педерин, вырабатываемые симбионтами некоторых ядовитых жуков и морских беспозвоночных: педерин, теопедерин А, оннамид А, микаламида псимберин и другие [17, 86, 87], хотя надёжные структурные данные были получены только для одного представителя этой группы веществ, микаламида А [60]. Все они также являются ингибиторами транслокации [17, 87, 88]. Другие представители поликетидов — своеобразные макролиды теданолид и 13-дезокситеданолид — также блокируют транслокацию путём связывания с тем же участком в E-сайте на большой субчастице, что и педерин [61, 89], а вот действие близких им по структуре мирапоронов [90], хотя также происходит на стадии элонгации [91], но опосредуется, как ни странно, не прямым связыванием с рибосомой, а фосфорилированием фактора элонгации eEF2 [92].

Эукариот-специфичные ингибиторы эметин и родственный ему криптоплеврин, а также универсальные антибиотики амикумацин А и пактамицин взаимодействуют с одним и тем же местом на рибосоме — оно тоже находится в районе связывания тРНК в E-сайте, однако в данном случае речь идёт о малой субчастице [14, 93–97]. Отсутствие структурных данных по их комплексам с эукариотической рибосомой в

присутствии лигандов затрудняет понимание механизма их действия, но он явно отличается от такового для глутаримидов. О способности эметина и криптоплеврина ингибировать транслокацию известно ещё с 70-х годов [17, 25, 98]. Химически сходные с ними цефалин, тилофорин, тилокребрин, тубулозин, DCB-3503 и УХМ-110 также являются известными ингибиторами транслокации и связываются, по-видимому, с тем же участком 40S субчастицы [95–97, 99–101]. Эметин уже больше века используется в медицине как антипротозойное (в частности, антиамёбное и противомаларийное) и антигельминтное средство, а недавно он вошёл в список перспективных препаратов для борьбы с коронавирусной инфекцией, вызываемой SARS-CoV-2 [28].

Амикумацин А, действующий на ту же стадию рибосомного цикла, имеет перспективы в борьбе с онкологическими заболеваниями [93]. На бактериальных комплексах было показано, что этот ингибитор, взаимодействуя одновременно с мРНК и рРНК [102], препятствует перемещению рибосом при транслокации. Поэтому для эукариот, где движение транскрипта в мРНК-канале важно не только при элонгации, но и на стадии сканирования 5'-нетранслируемой области, можно было бы ожидать угнетения инициации трансляции, однако функциональные тесты показали, что это не так: амикумацин А является типичным ингибитором элонгации [93].

Не до конца понятным механизмом действия на эукариотическую рибосому обладает взаимодействующий с тем же участком пактамицин [14, 18, 25]: долгое время существовала неопределённость в том, действует ли он на инициацию или на элонгацию (см. обсуждение в [7, 103]). В конце концов, в случае бактериальной рибосомы было показано, что пактамицин ингибирует транслокацию [104], и наши данные свидетельствуют об аналогичном механизме в эукариотической системе [51]. Кстати, другой антибиотик, связывающийся примерно с тем же районом малой субчастицы, эдеин [14], действительно ингибирует инициацию, и о нём будет рассказано в соответствующем разделе.

Иным механизмом подавления транслокации обладает атипичный аминогликозид гигромицин В. Структурные данные по его связыванию с эукариотической рибосомой отсутствуют, но в случае бактерий он связывается с малой субчастицей в районе декодирующего центра (ДЦ) в спирали h44 и вызывает конформационные изменения, которые препятствуют перемещению мРНК и тРНК между А- и Р-сайтами [103, 105]. В эукариотических системах он имеет

аналогичную активность [73, 106]. Другие аминогликозиды, несмотря на связывание в этом же участке, имеют иной механизм действия (описанный ниже), однако в высоких концентрациях некоторые из них также вызывают транслокационный блок. Этот феномен хорошо задокументирован для бактериальных рибосом [107, 108] и может быть связан как с закориванием тРНК в А-сайте при связывании в «классическом» месте посадки аминогликозидов в спирали h44, так и со связыванием в альтернативных участках – в спирали H69 большой субчастицы или в других местах [109, 110]. В эукариотической системе блок транслокации удаётся отследить методом ту-принтинга только при очень высоких концентрациях паромомицина и G418 [51].

В данном разделе можно было бы упомянуть также вещества, блокирующие транслокацию путём нарушения работы фактора элонгации eEF2 (например, сордарин), однако поскольку местом их связывания не является непосредственно рибосома, они будут рассмотрены в отдельном разделе.

Вещества, вызывающие ошибки декодирования. Отдельный класс ингибиторов – вещества, которые уменьшают точность работы рибосомы, вызывая ошибки при встраивании аминокислот (рисунок, е.4). Классическим примером этого типа является обширный класс аминогликозидных антибиотиков [111]. Их основное место связывания на эукариотической рибосоме – спираль h44 в ДЦ малой субчастицы [14, 110]. Это связывание вызывает стабилизацию той конформации, которую рибосома должна принимать лишь при наличии «правильной» аминоксил-тРНК в А-сайте [7]. В результате реакция транспептидации может произойти, даже если там находится не соответствующая кодону тРНК, и в растущий полипептид встраивается неверная аминокислота. Аминогликозиды также индуцируют сквозное прочтение стоп-кодонов, что придаёт им потенциал для терапии заболеваний, вызываемых нонсенс-мутациями (см. ниже).

Наиболее высокую активность против рибосом эукариотического типа демонстрируют аминогликозиды с 4,6- или 4,5-двузамещённым 2-дезоксистрептаминовым (2-DOS) кольцом: прежде всего – генетицин (G418, широко применяющийся для генетической селекции при культивировании эукариотических клеток) и менее активные паромомицин, ливидомицины, гентамицины и амикацин [112–117]. Высокую активность имеют также менее токсичные аналоги G418 и паромомицина – NB50, NB54, NB74, NB84, NB124, NB156, NB157 и другие

[118, 119], а также новый перспективный аминогликозид TC007 [110, 120]. Сходное химическое устройство аминогликозидов иногда приводит к путанице (как это случилось с гентамицином В1 [121]). Тем не менее большинство других известных антибиотиков этого типа, по-видимому, бактериоспецифичны, что определяется особенностями в структуре спирали h44 ДЦ эукариот [14, 110, 122, 123]. Однако это не делает их безопасными для эукариотической клетки, поскольку они могут подавлять белковый синтез в митохондриях и вызывать серьёзные побочные эффекты (в первую очередь нефро- и ототоксичность), что ограничивает их использование в медицине в качестве антибактериальных препаратов [124, 125]. Как было сказано выше, при повышенных концентрациях некоторые аминогликозиды становятся ингибиторами транслокации.

Прочие механизмы нарушения элонгации. Уникальным механизмом действия обладает универсальный антибиотик пуромицин: он является молекулярным миметиком аминоацилированного ССА-конца тРНК и, попадая в А-сайт, вызывает преждевременную бесфакторную терминацию синтеза полипептида [7, 11]. Его действие настолько хорошо изучено, что реагенты на основе пуромицина с добавленными к нему флуорофорами и биотином широко применяются в современных методах визуализации и количественного анализа новосинтезируемых белков, таких как PUNCH-P, SUnSET, PurolA, RiboLase и RPM, а также используются в мРНК-дисплее [126]. Обработка клеток пуромицином в сочетании с циклогексимидом приводит к накоплению рибосом на стартовых кодонах, что позволяет идентифицировать их методом рибосомного профайлинга [127]. С другой стороны, эффекты от сочетания разных антибиотиков с пуромицином зависят от соотношения их концентраций и не всегда предсказуемы, что может приводить к артефактам [128, 129]. Частично сходную с пуромицином структуру имеет упоминавшийся выше антибиотик A201A [13, 40], однако он не может являться акцептором пептидной связи и лишь ингибирует пептидилтрансферазную реакцию.

Среди ингибиторов бактериальной трансляции есть целый класс антибиотиков, связывающихся с большой субчастицей рибосомы в центре посадки трансляционных ГТФаз, называемом ГТФаза-активирующим центром (ГАЦ), и нарушающих работу этих факторов. Примерами таких веществ являются ортосомицины и тиопептиды (эвернимидин, тиострептон, микрококцин и другие), они нарушают аккомодацию трансляционных факторов на рибосоме [7]. Для

эукариот же на данный момент известен лишь один ингибитор с предположительно таким же механизмом действия — это противомаларийный препарат мефлоквин (рисунок, е.2). Он связывается с рибосомным белком uL13 и участком ES13 28S рРНК в непосредственной близости от ГАЦ [130]. Хотя это место не идентично участку связывания ортосомицинов и тиопептидов, скорее всего, он действует аналогичным образом.

ГАЦ является мишенью для ингибиторов ещё одного типа — растительных, грибных и бактериальных токсинов, именуемых «рибосоминактивирующими белками» и «риботоксинами», которые апуринизируют или расщепляют конкретные положения в сарцин-рициновой петле 28S рРНК [131, 132]. Однако поскольку это высокомолекулярные ингибиторы, их рассмотрение выходит за рамки данного обзора. Кроме того, работу трансляционных ГТФаз, связывающихся с ГАЦ, нарушают также вещества, взаимодействующие непосредственно с самими этими белками; их мы рассмотрим в одном из следующих разделов обзора.

Рибосом-направленные ингибиторы инициации трансляции. Необычный механизм действия имеет универсальный ингибитор эдеин (рисунок, i.6) [18]. Он связывается с 40S субчастицей в районе Е-сайта [14], однако, в отличие от описанных выше пактамицина, эметина и подобных им ингибиторов транслокации, препятствует узнаванию стартового кодона при сканировании [133, 134]. Скорее всего, эдеин мешает связыванию или аккомодации инициаторной Met-тРНК в Р-сайте, как это было показано для бактерий [7]. Считается, что в адекватных концентрациях он не мешает элонгации, и поэтому его можно применять для анализа механизма инициации трансляции, хотя иногда эта точка зрения оспаривается [135]. Использование эдеина при изучении инициации трансляции затрудняет то, что в норме он не проникает в клетки млекопитающих [136].

Вещество, сокращённо именуемое MDMP, действует на завершающую стадию инициации трансляции — присоединение 60S субчастицы (рисунок, i.9), не препятствуя другим этапам трансляционного цикла [137–140]. Мишенью для него является, по-видимому, сама рибосома [141], однако детали его связывания и ингибирующего действия пока остаются загадкой.

Не исключено, что на этапе eIF5B-опосредованного присоединения 60S субчастицы может действовать и рассмотренный в одном из предыдущих разделов мефлоквин, поскольку место его связывания с рибосомой предполагает, что вещество может препятствовать связыва-

нию не только элонгационных факторов, но и этого фактора инициации (рисунок, i.7). По крайней мере, функционально сходные с ним тиопептиды ингибируют связывание IF2 (ортолога eIF5B) на аналогичном этапе инициации трансляции у бактерий [7, 8].

Совсем недавно в направленном скрининге была идентифицирована группа веществ, препятствующих взаимодействию 60S субчастицы с фактором инициации eIF6 (рисунок, i.8) — eIFsixty-1 (клофазимин), eIFsixty-4 и eIFsixty-6, второй из которых оказывал наиболее действенный эффект на трансляцию и рост клеток [142]. Фактор eIF6 участвует в подготовке новосинтезированных рибосом, поступивших из ядра, к вступлению в первый трансляционный раунд, но также, вероятно, может принимать участие и в трансляционных событиях [143]. К сожалению, из-за отсутствия структурных данных нельзя сделать вывод о том, является ли мишенью этих веществ 60S субчастица или же сам фактор.

Рибосомные ингибиторы, влияющие на терминацию. Потенциальную роль в терапии наследственных и онкологических заболеваний, связанных с нонсенс-мутациями в важных генах или онкосупрессорах, играют вещества, влияющие на терминацию трансляции. Однако специфичных ингибиторов этой стадии с хорошо охарактеризованным механизмом действия известно очень немного (рисунок, t.2). Описанный выше пептидилтрансферазный ингибитор бластицидин S, с некоторой специфичностью блокирующий терминацию в бактериях [45], в эукариотической системе всё-таки воздействует в первую очередь на стадию элонгации [46]. Другой антибиотик, апидаецин (продуцируемый насекомыми антимикробный пептид), связывается с бактериальной рибосомой в начале пептидного туннеля и останавливает её перед стоп-кодоном [144], однако про его активность в эукариотической системе пока ничего не известно. Существуют данные о специфичном влиянии на терминацию антиракового агента гиродазола (он же гиролин или RP 49532A), который взаимодействует с 60S субчастицей в районе E-сайта и препятствует высвобождению пептида в экспериментах *in vitro* [89, 145, 146]. Высокая токсичность помешала использовать его в качестве лекарства [147], и дальнейшее изучение этого ингибитора не проводилось.

Гораздо больше известно веществ, которые действуют не собственно на освобождение пептида, а на предыдущую стадию — узнавание стоп-кодона, индуцируя его сквозное прочтение (рисунок, t.1). Более 10% наследственных заболеваний связаны с наличием нонсенс-мутаций в

важных генах, а многие случаи рака — с возникновением преждевременных стоп-кодонов в генах-супрессорах [148, 149]. Нонсенс-супрессорная терапия направлена на повышение частоты aberrантного встраивания аминокислоты вместо гидролиза пептидил-тРНК на стоп-кодоне [150, 151]. Эффективные и нетоксичные индукторы сквозного прочтения могли бы быть востребованы для лечения сразу многих наследственных и онкологических заболеваний.

Хорошо охарактеризованными ингибиторами этого класса являются уже рассмотренные выше аминогликозиды (в частности, G418, паромомицин и гентамицин X2): вызываемое ими снижение точности декодирования приводит заодно и к пониженной частоте узнавания стоп-кодонов [110, 111, 113, 115, 152]. Некоторые аминогликозиды (например, G418), будучи взятыми в определённых концентрациях, могут индуцировать сквозное прочтение, не приводя к серьёзному снижению общей точности белкового синтеза и сильным изменениям в экспрессии генов [113, 115, 117]. Много усилий направлено на разработку синтетических производных аминогликозидов, повышающих частоту сквозного прочтения, но обладающих невысокой токсичностью. Примером такого вещества является NB124 [114, 119].

Тем не менее полностью избежать побочных эффектов при применении аминогликозидов всё же не удаётся: долговременная терапия связана с рисками нефро- и ототоксичности [111, 153–155]. Поэтому большие усилия направлены на поиск индукторов сквозного прочтения неаминогликозидной природы. Наиболее известным таким веществом является аталурен (RTC124), на который возлагались большие надежды в терапии муковисцидоза и других наследственных заболеваний, вызываемых нонсенс-мутациями [156]. К сожалению, клинические испытания не дали желаемого эффекта [157, 158]. Более того, его активность в качестве индуктора сквозного прочтения была подвергнута сомнению, поскольку выяснилось, что вещество влияет также на стабильность репортерного белка [159]. Помимо аталурена, известен ещё целый ряд природных и синтетических индукторов сквозного прочтения неаминогликозидной природы с неизвестным пока механизмом действия — GJ071, GJ072, RTC13, RTC14, VZ16, амлексанокс и другие, найденные в высокопроизводительных биохимических скринингах [150, 160]. Аналогичное действие, вероятно, может вызывать вещество TSP-1109 [161, 162] — производное антибактериального дипептида негамицина; последний связывается с бактериальной 30S субчастицей неподалёку от ДЦ и вызывает ошибки

декодирования, нарушение элонгации и терминции (см. [163] и ссылки в ней). Эффект нонсенс-супрессии в эукариотической системе был показан также для доксорубицина [152].

Крайне любопытная находка, сделанная относительно недавно, состоит в том, что некоторые вещества усиливают действие аминогликозидов на терминцию. Так, фталимидное производное CDX5-1, а также уже упоминавшееся вещество мефлоквин (и ряд других производных хирина) на два порядка повышают эффективность сквозного прочтения, индуцируемого G418 [164, 165]. Это позволяет добиваться достаточного количества полноразмерного продукта при низких концентрациях аминогликозида, которые не вызывают серьёзных побочных эффектов.

Ингибиторы рибосомного рециклинга. Последняя стадия трансляционного цикла – рибосомный рециклинг, связанный с высвобождением рибосом после гидролиза полипептида на стоп-кодоне [166]. Факторы рибосомного рециклинга и механизмы, лежащие в его основе, различаются у бактерий и эукариот [167], а веществ, которые бы специфично действовали на эту стадию, пока обнаружено не было. Тем не менее в случае бактерий влияние на рециклинг оказывают, в частности, аминогликозиды [168], причём структурные основы этого эффекта [109] подразумевают возможность подобных воздействий и на эукариотическую рибосому. Действительно, было показано [169, 170], что паромомицин, неомицин и гигромицин препятствуют диссоциации дрожжевых рибосом после терминции (рисунок, г.1). Аналогичный эффект оказывают и ингибиторы транслокации – циклогексимид и лактимидомицин [169, 170]. Кроме того, некоторый эффект на диссоциацию субчастиц у дрожжей, как и у бактерий, могут иметь вещества, нарушающие цикл работы транслоказы eEF2, описанные в следующем разделе [169, 171]. Это вызывает некоторое удивление, поскольку сейчас считается, что участие транслоказы – это специфика бактериального, а не эукариотического типа рибосомного рециклинга [167]. Нельзя исключать, что некоторые из этих наблюдений связаны со специфической системой, использованной авторами для изучения рециклинга в дрожжах [169].

ИНГИБИТОРЫ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

В данном разделе мы опишем ингибиторы, мишенью и местом связывания которых являются трансляционные факторы (табл. 2). Это

связывание может происходить как в растворе, так и на рибосоме во время трансляционного цикла – в этом случае вещества могут контактировать одновременно и с фактором, и с рибосомными компонентами, однако мы всё же решили рассматривать их отдельно.

Ингибиторы элонгационных факторов. Большая группа химически разнородных веществ, выделяемых, как правило, из морских организмов (как бактерий, так и эукариот), атакует фактор элонгации eEF1A [172, 173]. Они связываются с определённым местом на поверхности белка, модулируя динамику его конформационных изменений, в результате чего eEF1A лишается способности диссоциировать с рибосомы после гидролиза GTP (рисунок, e.2) и блокирует элонгацию. Непонятно, почему этот этап оказался особенно уязвимым для ингибиторов, но один и тот же механизм действия имеют малопохожие циклические депсипептиды из группы дидемнинов [174] (например, дидемнины А, В, С и М [175, 176], аплидин/плитидепсин [177], тамандарины А и В [178]), ансамицины (цитотриенин А [179] и сходные с ним триеномицины, хинотриериксины и ансатриенины А и В, по-другому называемые микотриенинами I и II [173, 180]), а также циклический пептид тернатин [173]. Более сложное устройство, но такой же механизм действия имеет и ещё одно макроциклическое соединение, нанноцистин А [181]. Все эти вещества являются, по сути, эукариот-направленными функциональными аналогами антибактериального антибиотика кирромицина, который стабилизирует комплекс аминоксил-тРНК с EF1 α на рибосоме [7].

Отдельная группа ингибиторов продельывает аналогичный трюк с другим элонгационным фактором, транслоказой eEF2 (рисунок, e.7). Классическим примером является фунгицид сордарин и его многочисленные аналоги (мориниафунгин, GM193663, GR135402 и азасордарины), действующие на eEF2 некоторых грибов, но безопасные для человеческих клеток [182–185]. Связываясь с eEF2 [186, 187], они препятствуют его диссоциации с рибосомы и таким образом замораживают элонгационный комплекс в состоянии незавершённой транслокации [188]. Принцип действия сордарина напоминает механизм работы известного противобактериального антибиотика фузидовой кислоты, хотя в деталях взаимодействия с фактором есть различия [188]. Сама фузидовая кислота в эукариотической системе, по-видимому, неспособна влиять на транслокацию, хотя может иметь некие неспецифичные эффекты [189].

Интересно, что для функционирования сордарина нужна уникальная АЭ-специфичная мо-

Таблица 2. Ингибиторы трансляционных факторов и APCаз

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э)	Мишень	Стадия трансляционного цикла	Механизм действия
Галлин (gallin)	ксантен	Б? А?, Э	40S? тРНК? мРНК?	И(Э)	ингибитор связывания мРНК и тРНК с рибосомой
Ауринтрикарбоновая кислота (aurintricarboxylic acid)	трифенилметан	Б, А, Э	40S? тРНК? мРНК?	И(Э)	ингибитор формирования комплекса eIF2-GTP-Met-тРНК _i (и связывания мРНК и тРНК с рибосомой)
Пирокатехиновый фиолетовый (pyrochatechol violet)	- // -	Б? А?, Э	40S? тРНК? мРНК? 60S?	И(Э)	- // -
Галлеин (gallein)	ксантен, аналог флуоресцеина / галлина	Э?	40S? тРНК? мРНК?	И?	- // -
NSC119893	- // -	Э?	eIF2-GTP-Met-тРНК _i ?	И*	- // -
NSC119889	- // -	Э?	eIF2-GTP-Met-тРНК _i ?	И*	- // -
Шоудомисин (showdomycin)	аналог уридина	Б, А, Э	eIF2, eEF2?	И, Э	- // -, ингибитор eEF2?
Дидемнин В (didemnin В)	циклический пептид	Э	eEF1A	Э	удерживает eEF1A в комплексе с Аа-тРНК на рибосоме после гидролиза GTP
Аплидин/плитидипсин/дегидродидемнин В (aplidine/plitidipsin/dehydrodidemnin В)	- // -	Э	eEF1A	Э	- // -
Нанноцистин А (nannocystin А)	- // -	Э	eEF1A	Э	- // -
Цитотриенин А (cytotrienin А)	- // -	Э	eEF1A	Э	- // -
Тамандарин А, В (tamandarin А,В)	- // -	Э	eEF1A	Э	- // -
Ансатриенин А/микотриенин I (ansatrienin А/ mucotrienin I)	циклический пептид, ансамицин	Э	eEF1A	Э	- // -
Ансатриенин В/микотриенин II (ansatrienin В/ mucotrienin II)	- // -	Э	eEF1A?	Э?	- // -
Триеномицин А (trienomycin А)	- // -	Э	eEF1A?	Э	- // -
Моноеномицин (monoenomycin)	- // -	?	eEF1A?	Э?	- // - ?
Триеномицины J-L (trienomycins J-L)	- // -	?	eEF1A?	Э?	- // - ?

Продолжение таблицы 2

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э)	Мишень	Стадия трансляционного цикла	Механизм действия
Триериксин (trierixin)	— // —	Э	eEF1A?	Э	— // —
Хинотриериксин (quinotrierixin)	— // —	Э	eEF1A?	Э	— // —
Тернатин (ternatin)	дитерпеновый алкалоид	Э	eEF1A	Э	— // —
Тозилфенилаланилхлорометан (tosylphenylalanylchloromethane)	хлорметил кетон	Б, А, Э?	eEF1A?	Э	— // —
Бувардин (bouvardin)	циклический пептид, группа бувардина	Э	eEF2	Э	блокирует диссоциацию eEF2 с рибосомы
SVC112	— // —	Э	eEF2?		— // — ?
RA-VII	— // —	Э	eEF2?	Э	— // — ?
DDD107498	производное хинолина	Э*	eEF2	Э	— // —
Сордарин (sordarin)	циклический дитерпеновый гликозид, группа сордарина	Э*	eEF2	Э	— // —
GM193663	— // —	Э*	eEF2	Э	— // —
GR135402	— // —	Э*	eEF2	Э	— // —
Мориниафунгин (moriniafungin)	— // —	Э*	eEF2	Э	— // —
Дигидроармиллилоселлинат/DAO (dihydroarmillylorsellinate)	поликетид-сесквитерпен	Э	eEF2		— // —
Арнамиал (arnamial)	— // —	Э	eEF2		— // —
Фузидовая кислота (fusidic acid)	стероид	Б, А, (Э)	(eEF2)	Э	ингибитор транслокации? (вероятно, неспецифично)
Аллолауринтерол (allolaurinterol)	сесквитерпен	Э	eIF4A	И	ингибирует АТФазную активность eIF4A
Элизабатин А (elisabatin A)	— // —	Э	eIF4A	И	— // —
Сильвестрол (silvestrol)	флаваглин	Э	eIF4A	И	ингибирует хеликазную активность eIF4A
Патеамин А (pateamine A)	макродиолид	Э	eIF4A	И	нарушает связывание eIF4A с eIF4G
Гиппуристанол (hippuristanol)	стероид	Э	eIF4A	И	аллостерический ингибитор eIF4A
Рокагламиды (rocaglamides)	флаваглин	Э	eIF4A	И	ингибирует хеликазную активность eIF4A и связывание eIF4F с мРНК

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э)	Мишень	Стадия трансляционного цикла	Механизм действия
Рибавирин (ribavirin)	аналог m ⁷ G	Э	eIF4E?	И	возможно, в некоторых условиях может конкурировать с m ⁷ G-кепом за связывание eIF4E?
4EGI-1		Э	eIF4E–eIF4G	И	связывается с eIF4E, препятствуя взаимодействию с eIF4G
4E1RCat		Э	eIF4E–eIF4G	И	– // –
4E2RCat		Э	eIF4E–eIF4G	И	– // –
Гефирионовая кислота (gephyronic acid)	поликетид	Э	(eIF2)	И	связывается с eIF2 и влияет на его активность?
СМ16	бета-карболин	Э	eIF1AХ, eIF3	И	ингибирует eIF1AХ и eIF3?
Охратоксин А (ochratoxin A)	изокумарин	Б, А, Э	Phe-тРНК-синтетаза	Э	ингибитор Phe-тРНК-синтетазы
Боррелидин (borrelidin)	поликетид	Б, А, Э	Thr-тРНК-синтетаза	Э	ингибитор Thr-тРНК-синтетазы
Реверомицин А (reveromycin A)	– // –	Э	Phe-тРНК-синтетаза	Э	ингибитор Phe-тРНК-синтетазы
Спирофунгин А (spirofungin A)	– // –	Э	Phe-тРНК-синтетаза	Э	– // –
Фураномицин (furanomycin)	аналог Phe	Б? А? Э	Phe-тРНК-синтетаза		– // –
Метионин сульфамид (methionine sulfamide)	аналог Met	Б, А, Э	Met-тРНК-синтетаза	Э	ингибитор Met-тРНК-синтетазы
Метионил аденилат (methionyl adenylate)	– // –	Б, А, Э	Met-тРНК-синтетаза	Э	– // –
Метионин гидроксамат 20 (methionine hydroxamate 20)	– // –	Б, А, Э	Met-тРНК-синтетаза	Э	– // –
Этионин (ethionine)	– // –	Б, А, Э	Met-тРНК-синтетаза	И, Э	– // –
Таваборол (AN2690, tavaborole)	оксаборол	Э	Leu-тРНК-синтетаза	Э	ингибитор Leu-тРНК-синтетазы
Гистидинол (histidinol)	аналог His	Б, А, Э	His-тРНК-синтетаза	Э	ингибитор His-тРНК-синтетазы и биосинтеза His
Фосмидозин (phosmidosine)	нуклеозидный амидофосфит	Э	Pro-тРНК-синтетаза?	Э	ингибитор Pro-тРНК-синтетазы
Фебрифугин (febrifugine)	хиназолиноновый алкалоид	?	Pro-тРНК-синтетаза	Э	– // –
Галофугинон (halofuginone)	хиназолиноновый алкалоид, аналог фебрифугина	?	Pro-тРНК-синтетаза	Э	– // –

Окончание таблицы 2

Название	Класс, группа веществ	Специфичность (Б, А, Э)	Мишень	Стадия трансляционного цикла	Механизм действия
Пурпурамицин (puirugomycin)	поликетид	Б, А, Э	тРНК	Э	связывает любые тРНК, препятствуя их аминоацилированию
GC7	аналог спермидина	Б, А, Э	DHPS/eIF5A	Э	ингибитор синтеза гипузина, необходимого для работы eIF5A
Семапимод/CNI1493 (semapimod)	анилид	Э	– // –	Э	– // –
Дезокиспергуалин/гусперимус (deoxyspergualin/gusperimus)		Э	– // –	Э	– // –
DHSI-15		Э	– // –	Э	– // –
Циклопирокс/лопрокс (ciclopirox/lorprox)	производное пиридона	Э	DOHN/eIF5A	Э	ингибитор синтеза гипузина, необходимого для работы eIF5A (хелатор железа)
Деферипрон (deferiprone)	– // –	Э	– // –	Э	– // –
Мимозин (mimosine)	– // –	Э	– // –	Э	– // –

Примечание. Буквенные коды и обозначения – как в табл. 1.

дификация eEF2 – дифтаמיד [190]. Эта же аминокислота является мишенью для большой группы бактериальных белковых токсинов (дифтерийного и других), которые инактивируют eEF2 путём ADF-рибозилирования дифтамида, однако поскольку белковые ингибиторы не являются предметом данного обзора, заинтересованному читателю можно порекомендовать ознакомиться с другими обзорами на эту тему [191].

Вопрос о наличии аналога сордарина, который бы действовал на клетки млекопитающих, пока остаётся открытым. Скорее всего, такой механизм действия можно приписать противоопухолевому препарату, циклическому пептиду бувардину и его производным: RA-VII, SVC112 и другим [192, 193]. Ранее сообщалось, что похожим образом может действовать пурпурамицин [194], однако впоследствии оказалось, что его эффекты связаны с ингибированием аминоацилирования (см. ниже). Зато недавно был открыт нетоксичный для клеток человека противомаларийный препарат DDD107498, мишенью которого является eEF2 малярийного плазмодия [195]. Интересно, что в его состав входит хинолиновый гетероцикл, как и в состав вышеописанного противомаларийного препарата мефлоквина. Не исключено, что вещества наподобие хинина, применяемые для лечения маля-

рии, все так или иначе направлены на нарушение взаимодействия факторов элонгации с рибосомой [130].

Мишенью для ингибиторов может служить также ещё один фактор элонгации (ранее ошибочно считавшийся фактором инициации) – eIF5A, точнее, уникальная модификация одного из его аминокислотных остатков, гипузина, необходимая для его работы [196]. Вещества, блокирующие разные стадии превращения консервативного остатка лизина eIF5A в гипузин, приводят к накоплению в клетке неактивного фактора. К таким ингибиторам относятся GC7, семапимод (CNI1493), дезокиспергуалин (гусперимус), DHSI15, а также циклопирокс, деферипрон и мимозин (см. обзор в [196]). Однако эти вещества не являются высокоспецифичными: некоторые из них влияют на работу других ферментов, участвующих в метаболизме и транспорте полиаминов или других молекул, а последние три и вовсе являются хелаторами железа. Кстати, для мимозина ранее в качестве вторичной мишени был идентифицирован и другой трансляционный фактор – eIF3: это вещество приводит к специфичному снижению экспрессии гена одной из его субъединиц, eIF3a [197].

Ингибиторы инициаторных факторов. В отличие от относительно консервативных элонгаци-

онных факторов, многие компоненты инициаторного аппарата эукариот появились в эволюции с возникновением сканирования и являются эукариот-специфичными. В первую очередь это относится к факторам инициации группы eIF4, которые помогают мРНК связаться с рибосомой и участвуют в сканировании [1]. Небольшой кеп-связывающий белок eIF4E «заякоривает» трёхсубъединичный комплекс eIF4F, компонентом которого он является, на m⁷G-кепированном 5'-конце клеточных мРНК, а его партнёр, мРНК-связывающий фактор eIF4G, выполняет роль платформы для посадки на мРНК АТФ-зависимой РНК-хеликазы eIF4A и служит «мостиком» между мРНК и факторами, входящими в состав рибосомного 43S преинициаторного комплекса [1].

В направленном высокопроизводительном скрининге [198] было найдено вещество 4EGI-1, которое связывается с белком eIF4E и аллостерически нарушает его ассоциацию с eIF4G (рисунок, i.3), одновременно усиливая его взаимодействие с ингибитором 4E-BP1 [199, 200]. Тем самым 4EGI-1 подавляет кеп-зависимую трансляцию мРНК, не влияя на работу транскриптов, использующих неканонические механизмы инициации трансляции (например, вирусных мРНК с участками внутреннего связывания рибосомы (IRES-элементами) или клеточных мРНК с кеп-независимыми трансляционными энхансерами (CITE-элементами) [201]). В другом скрининге были идентифицированы ещё два вещества с аналогичным механизмом действия, 4E1RCat [202] и 4E2RCat [203], последнее из которых показало мощную противовирусную активность, подавляя развитие коронавируса.

Есть предположение, что сходным образом могут действовать некоторые сердечные гликозиды — например, убаин [204]. Интересно, что транскрипционный паттерн клеток, обработанных кардиогликозидами, сильно напоминает картину, вызываемую классическими ингибиторами элонгации (циклогексимидом, анизомицином, эметином и др.) [205], и в работе Perne et al. [206] было показано угнетение белкового синтеза этими веществами. Однако, скорее всего, речь здесь идёт всё же о вторичных или временных эффектах, поскольку сходство транскрипционных паттернов, ярко выраженное на 6-м часу обработки, к 24 часам исчезает [205]. Возможно, они ингибируют сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR [207], о котором речь пойдёт ниже, или фактор eIF4A [208]. Однако в опытах по прямому влиянию на трансляцию репортерных мРНК в бесклеточной системе из клеток млекопитающих сердечные гликозиды не пока-

зали значимой ингибирующей активности (Лашкевич, Дмитриев, персональное сообщение).

Взаимодействие eIF4E с m⁷G-кепом на 5'-конце мРНК также очень важно. В работе Kentsis et al. [209] было заявлено, что это взаимодействие можно нарушить конкурентным ингибитором (рисунок, i.4) — противовирусным препаратом рибавирином (и его трифосфорилированной формой), напоминающим по своей структуре m⁷G-кеп. Однако это утверждение было оспорено сразу двумя группами [210, 211], хотя авторы оригинальной работы остались при своём мнении [212]. Позднее было также показано влияние рибавирина на сигнальный путь Akt [213], которое, возможно, и объясняет его эффекты.

Благодаря работам группы Pelletier et al. был открыт целый ряд новых ингибиторов, мишенью которых является другой компонент комплекса eIF4F — РНК-хеликаза eIF4A [214, 215]. Так, стероид гиппуристанол связывается и аллостерически ингибирует eIF4A (рисунок, i.5) [216], а патеамин А препятствует её взаимодействию с eIF4G (рисунок, i.2), усиливая связывание eIF4A с мРНК [217, 218]. Несколько хуже охарактеризован механизм действия рокаглатов, в том числе Roc-A, силвестрола и других веществ из группы флаваглинов, также приводящих к нарушению работы eIF4A (рисунок, i.5) [219–221]. С помощью рибосомного профайлинга было показано, что некоторые из них имеют специфичность к нуклеотидной последовательности 5'-нетранслируемой области, на которой происходит останковка сканирования из-за угнетения функции eIF4A (см. обсуждение в [221]), а последнее исследование выявило двойное действие этих ингибиторов: на стадию посадки фактора eIF4F и инициаторного комплекса на 5'-кеп, а также на последующее рибосомное сканирование [221]. Для некоторых из этих ингибиторов eIF4A получены и охарактеризованы многочисленные производные с целью их использования в противоопухолевой терапии [221, 222]. Недавно был проведён ещё один скрининг, в котором были выявлены два новых высокоспецифичных АТФ-конкурентных ингибитора eIF4A — элизабатин А и аллолауринтерол [223]. Известны и другие ингибиторы трансляционных РНК-хеликаз (не только eIF4A, но и DDX3) — например, вещества нуклеозидной природы, такие как гиперипин, однако они действуют менее специфично [214].

Универсальными ингибиторами, действующими преимущественно на инициацию трансляции и широко использовавшимися на заре

изучения механизмов биосинтеза белка, являются ауринтрикарбоновая кислота (АТА) и сходные с ней трифенилметановые и ксантеновые красители: галлин, пирокатехиновый фиолетовый и ряд других [18, 224, 225]. Однако специфичность действия этих соединений вызывает вопросы, поскольку в зависимости от концентрации они могут ингибировать разные стадии белкового синтеза (см. обсуждение в [10]). АТА и подобные ей соединения, по всей вероятности, являются умеренно специфичными разобщителями РНК-белковых контактов [226, 227], и их действие на фактор-опосредованное и бесфакторное связывание тРНК с рибосомой *in vitro* [228] вызвано нарушением этих взаимодействий (рисунок, i.1). Кроме того, использование данных веществ затрудняет то, что они не проникают в клетки млекопитающих [229]. По этой причине в наши дни они почти не используются для изучения эукариотической трансляции.

Тем не менее в 2004 году при поиске новых трансляционных ингибиторов было обнаружено несколько похожих соединений (производных галлеина и флуоресцеина), которые показали интересное мРНК-специфичное воздействие на трансляцию репортерных транскриптов [230]. Их добавление в бесклеточную систему подавляло кеп-зависимую трансляцию, но почти не сказывалось на трансляции, направляемой IRES-элементом вируса гепатита С (HCV). Этот IRES, помимо прочих своих особенностей, известен тем, что в определённых условиях способен обеспечивать eIF2-независимую инициацию трансляции [231, 232]. Более подробное изучение веществ NSC 119889 и NSC 119893 (последнее из которых оказалось способно проникать в культивируемые клетки млекопитающих) показало, что они препятствуют связыванию инициаторной Met-тРНК_i с eIF2 (рисунок, i.1) и тем самым блокируют образование 43S преинициаторного комплекса [232], обязательного интермедиата канонической инициации трансляции.

Некоторые другие трансляционные факторы (например, eIF1A и eIF3 [197, 233]) также были идентифицированы в качестве мишеней для низкомолекулярных ингибиторов, но пока эта тема недостаточно изучена. Кроме того, фактор-опосредованные функции можно заблокировать также негидролиземыми аналогами рибонуклеозидтрифосфатов (инициацию, элонгацию и терминацию трансляции — аналогами GTP (например, GMPPNP или GMPPCP), а инициацию и рециклинг — ещё и аналогами ATP). Однако эти ингибиторы, разумеется, не являются специфичными и, кроме того, как правило, не проникают в клетку [229].

ИНГИБИТОРЫ АМИНОАЦИЛ-тРНК-СИНТЕТАЗ

Помимо рибосом- и фактор-направленных ингибиторов, высокоспецифичное влияние на биосинтез белка могут оказывать вещества, блокирующие вспомогательные компоненты трансляционной машинерии — в первую очередь ингибиторы аминоксил-тРНК-синтетаз (АРСаз), примеры которых также приведены в табл. 2 и на рисунке, e.1. Сульфамиды, гидроксаматы и прочие производные аминокислот и пептидов, а также эфиры и гидроксаматы аминоксил-аденилатов ингибируют синтез соответствующих аминоксил-тРНК. Например, L-метионинол, метионилсульфамид, L-метионилгидроксамат и разные варианты метионил-аденилатов специфично подавляют синтез Met-тРНК [234, 235], а 6-фтортриптофан, антагонист Trp, ингибирует реакцию активации Trp при синтезе аминоксил-аденилата [236]. Работ, в которых описаны такие производные, существует великое множество [10], и их число быстро растёт благодаря современным методам компьютерного дизайна веществ [237–239]. В редких случаях аналоги аминокислот (например, этионин — S-этиловый аналог метионина) не только ингибируют АРСазы, но и могут встраиваться в белки, быстро приводя к пагубным для клетки последствиям [240].

Большинство вышеописанных веществ являются универсальными ингибиторами биосинтеза белка и обладают свойством свободно проникать в клетки эукариот, однако из-за сходства с аминокислотами они могут влиять и на другие процессы, а их эффективные концентрации обычно находятся в относительно высоком (миллимолярном) диапазоне. Большой аффинностью к мишеням обладают высокоспецифичные ингибиторы АРСаз, вырабатываемые некоторыми организмами. Так, боррелидин, производимый некоторыми морскими бактериями, является высокоспецифичным ингибитором треонил-тРНК-синтетазы [241], охратоксин А из плесневых грибов поражает фенилаланил-тРНК-синтетазу [242], фебрифугин и галофугинон ингибируют пролиловую [243, 244], а таваборол — лейциловую АРСазы [245]. Спирофунгин А [246] и реверомицин А [247, 248] действуют на изолейцил-тРНК синтетазу, причём последний в некоторых тестах показывает специфичность по отношению к определённому типу клеток [249]. Немного особняком стоит необычный ингибитор пурпуромидин, способный связываться с любой тРНК и препятствовать её аминоксилации; при этом на связывание аминоксиллированных тРНК с факторами элон-

гации, рибосомой и другими трансляционными компонентами он никак не влияет [250].

Многие ингибиторы АРСаз имеют важное медицинское значение, поскольку обладают иммуносупрессорным эффектом, применяются в антимикробной, противоопухолевой и антипаразитарной терапии [239, 251]. Их действие на клетку обычно опосредовано не только угнетением белкового синтеза, но и запуском особого типа стрессового ответа [252], вызываемого накоплением в цитоплазме деацелированных тРНК и столкновениями транслирующих рибосом (см. ниже).

ИНГИБИТОРЫ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ, СВЯЗАННЫХ С РЕГУЛЯЦИЕЙ ТРАНСЛЯЦИИ

Как и любой другой сложный процесс в клетке, биосинтез белка тонко регулируется на разных уровнях. В частности, у эукариот существует несколько сигнальных каскадов, заканчивающихся специализированными ферментами, модифицирующими трансляционные компоненты [253, 254]. Эти сигнальные каскады могли бы стать темой для отдельного обзора, поэтому мы не будем останавливаться на них подробно — однако было бы неправильно не упомянуть хотя бы некоторые из наиболее важных мишеней — компонентов таких каскадов — и направленных на них ингибиторов (табл. 3 и рисунок).

Ингибиторы киназы mTOR и сигнального каскада PI3K/Akt/mTOR. Крайне важным сигнальным путём является регуляторный каскад PI3K/Akt/mTOR, интегрирующий сигналы от инсулина, ряда ростовых факторов и информацию о доступности аминокислот [255, 256]. Одна из непосредственных мишеней киназы mTOR — уже упоминавшийся белок-ингибитор 4E-BP1, который при фосфорилировании становится неактивным и не мешает кеп-связывающему фактору eIF4E выполнять свою функцию [256]. Но если mTOR инактивирована, 4E-BP1 вытесняет eIF4G из комплекса с eIF4E, в результате трансляция в клетке в целом становится гораздо менее интенсивной, а особый класс мРНК, содержащих на 5'-конце олигопиримидиновый тракт (5'-TOP), и вовсе почти перестаёт транслироваться [201, 255]. 5'-TOP мРНК кодируют в основном компоненты трансляционного аппарата (рибосомные белки, факторы трансляции и так далее) [257, 258], поэтому их трансляция особенно важна для активно делящейся и метаболизирующей клетки — например, раковой [259]. Активность этого пути также сильно меняется с возрастом

[260], а его отдельные компоненты тесно связаны с продолжительностью жизни [261]. К мишеням mTOR также относятся киназы S6K1/2, фосфорилирующие рибосомный белок eS6 (RPS6), фактор инициации трансляции eIF4B, белок PDCD4 (ингибитор eIF4A), а также — опосредованно — eEF2 [253, 254]. Всё это делает mTOR привлекательной мишенью для новых клинически значимых ингибиторов [259]. На данный момент таких ингибиторов найдено уже довольно много (наиболее известные из них приведены в табл. 3). Их можно разделить на два типа: прямые АТР-конкурентные ингибиторы активного центра киназы mTOR (рисунок, s.6) и аллостерические, действующие опосредованно через белок FKBP12 (рисунок, s.7) — компонент киназного комплекса mTORC1 (мишенями этого комплекса как раз и являются вышеперечисленные трансляционные факторы). К первому типу относятся такие широко используемые ингибиторы, как торин 1, торин 2, INK128, AZD-8055, OSI-027, WYE-132, Ku0063794, PP242 и другие [255, 262], ко второму — природный макролид рапамицин (сиролимус) и его синтетические аналоги, именуемые «рапалогами», — эверолимус, темсиролимус и ридафоролимус [255, 259]. Рапалоги давно и успешно применяются для иммуносупрессии при пересадке органов, а также в противораковой терапии. В последнее время всё больше внимания уделяется ингибиторам mTOR как перспективным геропротекторам, поскольку на многих животных моделях была показана их способность увеличивать продолжительность жизни [261].

Некоторые вещества, хорошо зарекомендовавшие себя в качестве ингибиторов кеп-зависимой трансляции, направлены не на саму киназу mTOR, а на вышерасположенные компоненты каскада PI3K/Akt/mTOR (рисунок, s.5). С продвижением вверх по каскаду, разумеется, увеличивается и спектр воздействия данных веществ, а специфичность эффектов уменьшается. Тем не менее довольно часто для подавления кеп-зависимой трансляции используют ингибиторы PI3K — например, вортманин или LY294002, тем более что киназные домены PI3K и mTOR относятся к одному семейству и часто подвержены действию одних и тех же ингибиторов [263]. В проведённом недавно поиске веществ, направленных на избирательное подавление трансляции 5'-TOP мРНК [264], в число наилучших вошли ингибиторы каждого из компонентов каскада, а также, весьма неожиданно, киназы GCN2, о которой будет сказано ниже. Возможно, что с той или иной специфичностью ингибиторами пути PI3K/Akt/mTOR являются также сердечные гликозиды [207].

Тем не менее нужно помнить, что у киназы mTOR насчитывается не один десяток мишеней, многие из которых не имеют никакого отношения к трансляции. Поэтому о высокоточном влиянии её ингибиторов на белковый синтез речь идти не может. То же самое можно сказать и о киназах MAPK-каскадов (Ras/ERK/RSK и p38MAPK/Mnk1/2), частично пересекающихся с путём PI3K/Akt/mTOR [253, 254]; хотя их мишенями служат в том числе eIF4E, eIF4B, eEF2 и другие общие факторы трансляции, однозначного мнения о том, как они влияют на биосинтез белка в целом, пока нет, а их воздействие на клетку носит широкий характер.

Модуляторы фосфорилирования eIF2. Куда более специфичное действие имеют киназы фактора инициации eIF2, которых у млекопитающих насчитывается четыре: GCN2, HRI, PERK и PKR [265, 266]. eIF2 доставляет инициаторную Met-тРНК_i в Р-сайт 40S субчастицы и обеспечивает сканирование [5], он является ключевым фактором, необходимым всем эукариотическим мРНК за исключением тех редчайших случаев, когда стартовый кодон мРНК оказывается в Р-сайте рибосомы без сканирования [267]. Фосфорилирование α -субъединицы eIF2 нарушает его диссоциацию из комплекса с eIF2B фактором обмена GDP на GTP, в результате eIF2 выводится из игры. До недавних пор считалось, что для каждой из упомянутых киназ фактор eIF2 – единственная мишень; сейчас известно, что это не совсем так [265, 268], однако нет никаких сомнений в том, что основное их назначение – именно регуляция трансляции. Поэтому вещества, модулирующие работу этих киназ, нельзя не рассмотреть в данном разделе.

VTdCPU и другие производные N,N'-диарилмочевины являются специфическими активаторами киназы HRI (рисунок, s.2) и рассматриваются как перспективные антираковые препараты [269]. SST020312 и МК-28 – фармакологические активаторы PERK (рисунок, s.1) с потенциалом применения в лечении нейропатий [270, 271]. Вопрос о специфичных активаторах киназы GCN2 (рисунок, s.3) пока недостаточно изучен, однако в недавнем скрининге были определены два кандидата – низкомолекулярные вещества дабрафениб и МК1775 [264]. Интересно, что их действие на клетку приводит к подавлению трансляции 5'-ТОР мРНК и напоминает таким образом действие ингибиторов mTOR. Механизм этого не был установлен, однако в более раннем исследовании была показана связь GCN2 и 5'-ТОР мРНК, опосредованная белками TIA-1/TIAR [272].

Резко повысить уровень фосфорилирования eIF2 можно также путём нарушения работы спе-

цифичных для eIF2 комплексов фосфатазы PP1. Так, салубринал (и его водорастворимое производное Sal003) инактивирует стресс-индуцируемый комплекс GADD34/PP1 и конститутивно активный комплекс CReP/PP1 (рисунок, s.4), вызывая угнетение биосинтеза белка в клетке [273, 274]. Сообщалось также о фосфорилировании eIF2 при обработке клеток омега-3-полиненасыщенной жирной кислотой, ингибитором фосфатазы PP2A [275], однако этот эффект, возможно, носит неспецифичный характер, поскольку eIF2 α считается мишенью PP1, а не PP2A [276]. Тем не менее обе фосфатазы играют большую роль в регуляции трансляционных факторов [277], поэтому они представляют собой важные мишени для низкомолекулярных веществ.

Что касается ингибиторов, а не активаторов четырёх киназ eIF2, которые также известны в большом количестве, то в обычных условиях они, как правило, слабо влияют на эффективность синтеза белка в клетке, но способны препятствовать падению уровня трансляции при соответствующем стрессе. Поскольку временный трансляционный блок является важной частью антистрессового ответа на многие воздействия, его нарушение зачастую имеет пагубные последствия для стрессированной клетки. Однако рассмотрение этих специфических эффектов, имеющих значение для антивирусной терапии, при лечении неврологических расстройств и в онкологии для усиления действия химиотерапевтических препаратов выходит за рамки данного обзора; интересующимся этой темой можно порекомендовать обзор Joshi et al. [268].

Тем не менее одно вещество с очень любопытным механизмом действия хотелось бы упомянуть. Речь о малой молекуле *транс*-ISRIB [278], которая способна связываться с eIF2B и до определённых пределов поддерживать GDP/GTP-обменивающую активность по отношению к eIF2 при его фосфорилировании [279]. Поскольку усиление трансляции в нейронах головного мозга может положительно влиять на консолидацию кратковременной памяти в долговременную, ISRIB способен улучшать память и когнитивные способности животных [278].

Говоря об ингибирующем эффекте фосфорилирования eIF2, нельзя не упомянуть несколько веществ, которые очень часто используются для его опосредованной индукции. К таким веществам относятся туникамицин (ингибитор гликозилирования белков, вызывающий стресс эндоплазматического ретикулаума), тапсигаргин (индуктор высвобождения ионов Ca²⁺ из внутриклеточных депо) и дитиотреитол (нарушающий тиольный обмен, что запускает стрессовый каскад ответа на несвернутые белки, известный

Таблица 3. Ингибиторы основных сигнальных путей, регулирующих биосинтез белка в клетках эукариот

Название	Класс, группа веществ	Мишень	Стадия трансляционного цикла	Механизм действия
Рапамицин (rapamycin)	макролид, группа рапамицина	mTORC1 (FKBP12)	И (Э)	аллостерический ингибитор mTOR; активация 4E-BP1 и подавление кеп-зависимой трансляции, в первую очередь 5'-ТОР мРНК
Эверолимус (everolimus)	макролид, группа рапамицина (рапалог)	mTORC1 (FKBP12)	И (Э)	– // –
Темсиролимус (temsirolimus)	– // –	mTORC1 (FKBP12)	И (Э)	– // –
Ридафоролимус (ridaforolimus)	– // –	mTORC1 (FKBP12)	И (Э)	– // –
Торин 1 (torin 1)	пиридинонехинолин	mTOR	И (Э)	АТФ-конкурентный ингибитор mTOR; активация 4E-BP1 и подавление кеп-зависимой трансляции, в первую очередь 5'-ТОР мРНК
Торин 2 (torin 2)	– // –	mTOR	И (Э)	– // –
Торкиниб/PP242 (torkinib)	пиразолопиримидин	mTOR	И (Э)	– // –
Сапанисертиб/MLN0128/INK128/ТАК-228 (sapanisertib)	бензоксазол	mTOR	И (Э)	– // –
Вистусертиб/AZD2014 (vistusertib)	фенилпиридин, группа вистусертиба	mTOR	И (Э)	– // –
AZD8055	– // –	mTOR	И (Э)	– // –
Дактолисиб/NVP-BEZ235 (dactolisib)	фенилхинолин	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Воксталисиб/SAR245409/XL765 (vixtalisisb)	пиразолилпиридин	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Самотосилиб/LY3023414 (samotosilib)	имидазохинолин	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Омипалисиб/GSK2126458 (omipalisib)	хинолин	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Вортманин (wortmannin)	стероид	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
LY294002	производное морфолина	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Бимиралисиб/PQR309 (bimiralisib)	пиридинамин	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Гедатолисиб/PKI-587/PF-05212384 (gedatolisib)	бензоидпиперидин	PI3K/mTOR	И (Э)	– // –
Адавосертиб/МК1775 (adavosertib)	пиперазин	GCN2?	И	активатор GCN2? приводит к подавлению трансляции 5'-ТОР мРНК
Дабрафениб (dabrafenib)	сульфанилид	GCN2?	И	– // –
VTdCPU	N,N'-диарилмочевина	HRI	И	активатор HRI, приводит к фосфорилированию и инактивации eIF2

Окончание таблицы 3

Название	Класс, группа веществ	Мишень	Стадия трансляционного цикла	Механизм действия
ССТ020312	хинолин	PERK	И	активатор PERK, приводит к фосфорилированию и инактивации eIF2
МК-28	метиламипентанамид	PERK	И	– // –
Салубринал (salubrinal)	хинолин, группа салубринала	GADD34/PP1?, CReP/PP1?	И	ингибитор eIF2-специфичных комплексов фосфатазы PP1 (GADD34/PP1, CReP/PP1), приводит к инактивации eIF2
Sal003	– // –	GADD34/PP1?, CReP/PP1?	И	– // –
Окадаиновая кислота (okadaic acid)	поликетинное производное C ₃₈ -жирной кислоты	PP2A	И	ингибитор фосфатазы PP2A, приводит к фосфорилированию и инактивации eIF2
ISRIB	циклогексилацетамид	eIF2B	И	модулятор активности eIF2B, препятствует подавлению трансляции
Мириапорон 3/4 (myriaporone 3/4)	поликетид, аналог теданолида (см. табл. 1)	eEF2K?	Э	индуцирует фосфорилирование и инактивацию eEF2
Нелфинавир/вирацепт/1UN (nelfinavir/viracept)		eEF2K?	Э	– // –
NH125	иодид метилимидазолия	eEF2K?	Э	– // –
A-484954	пиримидин-6-карбоксамид	eEF2K	Э	ингибитор eEF2K, препятствует подавлению трансляции

Примечание. Буквенные коды и обозначения – как в табл. 1.

как UPR) – эти вещества вызывают опосредованную активацию PERK. Широко используются арсенит натрия (также, по-видимому, действующий через SH-группы некоторых белков, но более избирательно, что приводит к активации HRI); неспецифичные окислители типа перекиси водорода (вероятно, тоже посредством HRI); длинная двухцепочечная РНК (активатор PKR); некоторые из уже упоминавшихся аналогов аминокислот – ингибиторов APCаз (активирующие GCN2). Фосфорилирование eIF2 также индуцируют блокаторы дыхательной цепи митохондрий, гликолиза или АТФ-синтазы (миксотиазол, 2-дезоксиглюкоза, олигомицин) и прочие ингибиторы энергетике и метаболизма. Однако мы не станем их подробно рассматривать, поскольку их действие неспецифично, а ингибирование трансляции является лишь одной из ветвей многопланового интегрированного стрессового ответа (ISR), который клетка разворачивает при подобных воздействиях [265, 266].

Индукторы фосфорилирования eEF2. Ингибирующему фосфорилированию подвержен также фактор элонгации eEF2. Его активность регулируют, вероятно, несколько киназ, но основной является специализированная киназа eEF2K. Будучи мишенью S6K и mTOR, она находится под негативным контролем каскада PI3K/Akt/mTOR: eEF2K активируется, а eEF2 частично теряет активность, когда этот путь подавлен [253]. Ингибиторы eEF2K не оказывают заметного воздействия на клетки [280], в то время как активаторы могут существенно снижать эффективность трансляции (рисунок, s.8). Например, поликетид мириапорон 3/4, напоминающий описанные выше рибосомные ингибиторы теданолид и 13-дезокситеданолид [90], индуцирует фосфорилирование eEF2 [92] и таким образом негативно воздействует на трансляцию [91]. Такой же эффект имеют антивирусный препарат нелфинавир [281] и вещество NH125 (ранее ошибочно считавшееся ингибитором eEF2K),

хотя в последнем случае связь эффекта с киназой не так очевидна [269, 282]. Модуляторы киназы eEF2K привлекают всё большее внимание исследователей в связи с её ролью в развитии депрессии, эпилепсии и нейродегенеративных заболеваний [283].

В контексте фосфорилирования eEF2 стоит упомянуть ещё одну киназу, активно вовлечённую в регуляцию биосинтеза белка, — АМРК. Она является сенсором дефицита энергии в клетке и при активации способствует снижению скорости элонгации путём передачи сигнала на eEF2K и фосфорилирования eEF2 [253]. Существует множество низкомолекулярных веществ, активирующих АМРК (рисунок, s.9) как опосредованно, путём истощения АТФ (например, 2-дезоксиглюкоза, олигомицин и антидиабетический препарат метформин), так и напрямую (А-769622, бензимидазоловое производное «991» и, наверное, самый известный активатор АМРК — АICAR, используемый недобросовестными спортсменами в качестве допинга [284]). Все эти вещества индуцируют фосфорилирование eEF2, снижая эффективность трансляции [285]. Конечно, как и в случае с каскадом PI3K/Akt/mTOR (с которым у этого пути есть «пересекающиеся мишени»), действие активаторов АМРК на клетку носит широкий характер и не ограничивается подавлением трансляции [254].

РИБОТОКСИЧЕСКИЙ СТРЕСС И ДРУГИЕ ВИДЫ СТРЕССОВЫХ ОТВЕТОВ, СВЯЗАННЫХ С ТРАНСЛЯЦИЕЙ

Говоря об эффектах трансляционных ингибиторов, невозможно не коснуться явлений, происходящих в эукариотической клетке в ответ на полную или частичную остановку белкового синтеза. В клетках эукариот существует несколько специальных механизмов, связанных с отслеживанием общего состояния биосинтеза белка: доступности аминокислот, нарушений ко-трансляционного фолдинга, адресации продуктов и так далее, а также с контролем качества трансляции отдельных транскриптов каждой рибосомой [6, 286]. В конце прошлого века стало известно, что под действием анизомицина и некоторых других ингибиторов элонгации в клетке запускается особый вид клеточного ответа, который был назван риботоксическим стрессом [287]. Интересно, что при одной и той же степени подавления синтеза одни ингибиторы (анизомицин, дезоксиниваленол) вызывали резкую активацию сигнального пути JNK/p38MAPK, что приводило к разрезанию рРНК и уходу клетки в апоптоз, в то время как другие (например,

пактамицин) были начисто лишены такой способности [287–290]. Дальнейшие исследования показали, что иногда даже химически близкие вещества, имеющие одинаковый механизм действия, могут принципиально отличаться по этому параметру. Например, близкое производное того же анизомицина, диацетиланизомицин, не вызывает активации стрессового каскада [288], а разные представители трихотециновых микотоксинов, различающиеся лишь боковыми радикалами, сильно разнятся по этому параметру [288, 291, 292], хотя все они, как было описано выше, относятся к ингибиторам ПТЦ. Теопедерин, оннамид А и 13-дезокситетранолид связываются с другим местом на рибосоме и ингибируют транслокацию, однако активируют риботоксический стресс, аналогичный анизомициновому [86, 293]. Циклогексимид же является относительно слабым индуктором стресса [287, 294], в то время как другой глутаримид, лактимидомицин, вызывает сильную активацию p38MAPK [294]. Риботоксический стресс вызывает и упоминавшийся выше цитотриенин А, хотя его мишень — фактор eEF1A [295], а также некоторые аминокликозиды, известная ототоксичность которых может быть связана, в том числе, именно с индукцией этого стресса [296].

До недавнего времени механизм запуска риботоксического стресса представлял загадку, хотя промежуточные компоненты каскада — киназы JNK и p38MAPK — были идентифицированы ещё в первой работе по этой теме [287], а позднее кандидатами в посредники или первичные индукторы назывались киназы PKR и HSK [287–290]. Недавно исследователи обратили внимание на то, что некоторые ингибиторы элонгации, запускающие риботоксический стрессовый ответ, перестают быть индукторами при увеличении концентрации [67]. Это навело на мысль, что в основе данного явления лежит активация специфических сигнальных каскадов двумя или тремя столкнувшимися рибосомами: в условиях, когда элонгация частично блокируется каким-либо антибиотиком, такие случаи резко учащаются, что приводит к запуску генерализованного клеточного ответа, в то время как при одновременной остановке всех рибосом такие столкновения становятся невозможны. Данная гипотеза блестяще подтвердилась в недавнем исследовании, проведённом группой Green [67]. Авторам удалось показать, что детекция столкнувшихся рибосом лежит в основе запуска трёх разных молекулярных механизмов, ранее казавшихся независимыми. В случае единичных событий сталкивания срабатывают механизмы рибосомного контроля качества, RQC [6, 286], разбирающие конкретный «застрав-

ший» элонгационный рибосомный комплекс без последствий для клетки в целом; если таких событий больше (что наблюдается, например при недостатке аминокислот), то связывающиеся со столкнувшимися рибосомами белки GCN1, GCN20 и MAP3K-киназа ZAK активируют киназу GCN2, и та фосфорилирует eIF2 (см. выше); при резко возрастающем числе таких событий (например, при обработке антибиотиком или облучении ультрафиолетом) связавшаяся с рибосомами ZAK активирует сигнальный каскад JNK/p38MAPK, включая риботоксический стрессовый ответ [67, 294]. Действительно, давно известно, что риботоксический стресс можно частично подавить низкомолекулярными ингибиторами DHP-2, сорафенибом и нилотинибом, мишенью которых является ZAK [297–299]. Это открытие, вероятно, поможет также объяснить недавнее наблюдение, что реакция клетки на ингибиторы APCаз (см. выше) принципиально отличается от изменений, вызываемых простым аминокислотным голоданием [252]: ведь доступность аминокислот «вычисляется» каскадом взаимодействий с участием киназы mTOR [300] и развивается по одному сценарию (см. выше), в то время как ответ на деацилированную тРНК и участвовавшие столкновения рибосом использует другие сигнальные пути, включая активацию GCN2 и/или каскада стрессовых MAPK-киназ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биосинтез белка — один из главных метаболических процессов, жизненно необходимый для поддержания всех функций организма. В активно пролиферирующих клетках на него расходуется существенная часть энергии, а нарушение трансляции приводит к неизбежной остановке деления и клеточной смерти. Неудивительно, что биосинтез белка является «ахиллесовой пятой» опухолевых клеток и активно размножающихся в клетке вирусов [136, 203, 259, 301, 302]. Разработка методов специфического воздействия на биосинтез белка с помощью низкомолекулярных ингибиторов имеет большое значение для борьбы с раком, в иммуносупрессорной терапии, лечении наследственных, вирусных и грибковых заболеваний, в неврологии, паразитологии и гериатрии, в решении задач продления жизни, а также в сельском хозяйстве, ветеринарии и других областях [8, 27, 132, 148, 151, 155, 214, 259, 261, 301, 302]. Тем не менее в медицине их использование пока ограничено из-за побочных эффектов, вызываемых цитотоксичностью этих препаратов. Однако

ускоренное развитие технологий высокопроизводительного скрининга [303], а также машинного обучения [304] и компьютерного моделирования в сочетании с современными методами структурного анализа и химического синтеза [84, 237–239] позволяет надеяться на быстрый прогресс в разработке новых производных с усовершенствованными терапевтическими свойствами. Будет набирать обороты и поиск новых ингибиторов методами системной биологии — например, путём анализа клеточных транскрипционных паттернов, характеризующих воздействия новых или ранее известных веществ [39, 205]. Большие перспективы, на наш взгляд, имеет также разработка комбинированной терапии с использованием ингибиторов разного типа [164, 165]. Помимо прикладного использования, благодаря разнообразным принципам работы эти ингибиторы могут также широко применяться в фундаментальных исследованиях для изучения регуляции биосинтеза белка в разных условиях [4, 16, 24, 82, 127, 134, 267, 305].

В данном обзоре мы попытались упомянуть основные типы низкомолекулярных ингибиторов эукариотической трансляции. Однако количество известных на данный момент веществ с подобной активностью, даже если рассматривать лишь ингибиторы с хорошо охарактеризованным механизмом действия, составляет несколько сотен, поэтому рассмотреть их все в рамках одной статьи не представляется возможным. Кроме того, этот список постоянно пополняется новыми веществами. Поэтому нами была разработана обновляемая база данных низкомолекулярных ингибиторов биосинтеза белка — «EuPSIC» (от *англ.* Eukaryotic Protein Synthesis Inhibiting Compounds). В ней содержатся дополнительные поля, облегчающие машинную обработку данных, такие как номера PubChem и ссылки на литературные источники в PubMed. База данных размещена по адресу <http://eupsic.belozersky.msu.ru/>.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-14-00291).

Благодарности. Авторы благодарят Максима Лашкевича за помощь в подготовке таблиц и административную поддержку сервера НИИ ФХБ МГУ за помощь в размещении базы данных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Pelletier, J., and Sonenberg, N. (2019) The organizing principles of eukaryotic ribosome recruitment, *Annu. Rev. Biochem.*, **88**, 307-335, doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-111042.
- Yusupova, G., and Yusupov, M. (2014) High-resolution structure of the eukaryotic 80S ribosome, *Annu. Rev. Biochem.*, **83**, 467-486, doi: 10.1146/annurev-biochem-060713-035445.
- Weisser, M., and Ban, N. (2019) Extensions, extra factors, and extreme complexity: ribosomal structures provide insights into eukaryotic translation, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **11**, a032367, doi: 10.1101/cshperspect.a032367.
- Andreev, D. E., O'Connor, P. B., Loughran, G., Dmitriev, S. E., Baranov, P. V., and Shatsky, I. N. (2017) Insights into the mechanisms of eukaryotic translation gained with ribosome profiling, *Nucleic acids Res.*, **45**, 513-526, doi: 10.1093/nar/gkw1190.
- Hinnebusch, A. G. (2017) Structural insights into the mechanism of scanning and start codon recognition in eukaryotic translation initiation, *Trends Biochem. Sci.*, **42**, 589-611, doi: 10.1016/j.tibs.2017.03.004.
- Schuller, A. P., and Green, R. (2018) Roadblocks and resolutions in eukaryotic translation, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 526-541, doi: 10.1038/s41580-018-0011-4.
- Wilson, D. N. (2009) The A-Z of bacterial translation inhibitors, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **44**, 393-433, doi: 10.3109/10409230903307311.
- Lin, J., Zhou, D., Steitz, T. A., Polikanov, Y. S., and Gagnon, M. G. (2018) Ribosome-targeting antibiotics: modes of action, mechanisms of resistance, and implications for drug design, *Annu. Rev. Biochem.*, **87**, 451-478, doi: 10.1146/annurev-biochem-062917-011942.
- Yusupova, G., and Yusupov, M. (2017) Crystal structure of eukaryotic ribosome and its complexes with inhibitors, *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.*, **372**, 20160184, doi: 10.1098/rstb.2016.0184.
- Vazquez, D. (1979) Inhibitors of protein biosynthesis, *Mol. Biol. Biochem. Biophys.*, **30**, 1-312, doi: 10.1007/978-3-642-81309-2.
- Pestka, S. (1971) Inhibitors of ribosome functions, *Annu. Rev. Microbiol.*, **25**, 487-562, doi: 10.1146/annurev.mi.25.100171.002415.
- Pestka, S. (1974) The use of inhibitors in studies on protein synthesis, *Methods Enzymol.*, **30**, 261-282, doi: 10.1016/0076-6879(74)30030-4.
- Jiménez, A., and Vázquez, D. (1983) *Novel Inhibitors of Translation in Eukaryotic Systems, in Modes and Mechanisms of Microbial Growth Inhibitors* (Hahn, F. E. ed.), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 248-254.
- Garreau de Loubresse, N., Prokhorova, I., Holtkamp, W., Rodnina, M. V., Yusupova, G., and Yusupov, M. (2014) Structural basis for the inhibition of the eukaryotic ribosome, *Nature*, **513**, 517-522, doi: 10.1038/nature13737.
- Barbacid, M., and Vazquez, D. (1974) (3H)anisomycin binding to eukaryotic ribosomes, *J. Mol. Biol.*, **84**, 603-623, doi: 10.1016/0022-2836(74)90119-3.
- Wu, C. C., Zinshteyn, B., Wehner, K. A., and Green, R. (2019) High-resolution ribosome profiling defines discrete ribosome elongation states and translational regulation during cellular stress, *Mol. Cell*, **73**, 959-970 e955, doi: 10.1016/j.molcel.2018.12.009.
- Barbacid, M., Fresno, M., and Vazquez, D. (1975) Inhibitors of polypeptide elongation on yeast polysomes, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **28**, 453-462, doi: 10.7164/antibiotics.28.453.
- Fresno, M., Carrasco, L., and Vazquez, D. (1976) Initiation of the polypeptide chain by reticulocyte cell-free systems. Survey of different inhibitors of translation, *Eur. J. Biochem.*, **68**, 355-364, doi: 10.1111/j.1432-1033.1976.tb10822.x.
- Cundliffe, E., Cannon, M., and Davies, J. (1974) Mechanism of inhibition of eukaryotic protein synthesis by trichothecene fungal toxins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 30-34, doi: 10.1073/pnas.71.1.30.
- Pellegrino, S., Meyer, M., Zorbas, C., Bouchta, S. A., Saraf, K., Pelly, S. C., Yusupova, G., Evidente, A., Mathieu, V., Kornienko, A., Lafontaine, D. L. J., and Yusupov, M. (2018) The amaryllidaceae alkaloid haemanthamine binds the eukaryotic ribosome to repress cancer cell growth, *Structure*, **26**, 416-425 e414, doi: 10.1016/j.str.2018.01.009.
- Baez, A., and Vazquez, D. (1978) Binding of [3H]narciclasine to eukaryotic ribosomes. A study on a structure-activity relationship, *Biochim. Biophys. Acta*, **518**, 95-103, doi: 10.1016/0005-2787(78)90119-3.
- Jimenez, A., Santos, A., Alonso, G., and Vazquez, D. (1976) Inhibitors of protein synthesis in eukaryotic cells. Comparative effects of some amaryllidaceae alkaloids, *Biochim. Biophys. Acta*, **425**, 342-348, doi: 10.1016/0005-2787(76)90261-6.
- Fresno, M., Jimenez, A., and Vazquez, D. (1977) Inhibition of translation in eukaryotic systems by harringtonine, *Eur. J. Biochem.*, **72**, 323-330, doi: 10.1111/j.1432-1033.1977.tb11256.x.
- Ingolia, N. T., Lareau, L. F., and Weissman, J. S. (2011) Ribosome profiling of mouse embryonic stem cells reveals the complexity and dynamics of mammalian proteomes, *Cell*, **147**, 789-802, doi: 10.1016/j.cell.2011.10.002.
- Tscherne, J. S., and Pestka, S. (1975) Inhibition of protein synthesis in intact HeLa cells, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **8**, 479-487, doi: 10.1128/aac.8.4.479.
- Gurel, G., Blaha, G., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2009) U2504 determines the species specificity of the A-site cleft antibiotics: the structures of tiamulin, homoharringtonine, and bruceantin bound to the ribosome, *J. Mol. Biol.*, **389**, 146-156, doi: 10.1016/j.jmb.2009.04.005.
- Winer, E. S., and DeAngelo, D. J. (2018) A review of omacetaxine: a chronic myeloid leukemia treatment resurected, *Oncol. Ther.*, **6**, 9-20, doi: 10.1007/s40487-018-0058-6.
- Wang, Z., and Yang, L. (2020) Turning the tide: natural products and natural-product-inspired chemicals as potential counters to SARS-CoV-2 infection, *Front. Pharmacol.*, **11**, 1013, doi: 10.3389/fphar.2020.01013.
- Huang, M. T. (1975) Harringtonine, an inhibitor of initiation of protein biosynthesis, *Mol. Pharmacol.*, **11**, 511-519.
- Carter, C. J., and Cannon, M. (1977) Structural requirements for the inhibitory action of 12,13-epoxytrichothecenes on protein synthesis in eukaryotes, *Biochem. J.*, **166**, 399-409, doi: 10.1042/bj1660399.
- Cannon, M., Jimenez, A., and Vazquez, D. (1976) Competition between trichodermin and several other sesquiterpene antibiotics for binding to their receptor site(s) on eukaryotic ribosomes, *Biochem. J.*, **160**, 137-145, doi: 10.1042/bj1600137.
- Ehrlich, K. C., and Daigle, K. W. (1987) Protein synthesis inhibition by 8-oxo-12,13-epoxytrichothecenes, *Biochim. Biophys. Acta*, **923**, 206-213, doi: 10.1016/0304-4165(87)90005-5.
- Carter, C. J., and Cannon, M. (1978) Inhibition of eukaryotic ribosomal function by the sesquiterpenoid antibiotic

- fusarenon-X, *Eur. J. Biochem.*, **84**, 103-111, doi: 10.1111/j.1432-1033.1978.tb12146.x.
34. Schneider-Poetsch, T., Ju, J., Eyler, D. E., Dang, Y., Bhat, S., Merrick, W. C., Green, R., Shen, B., and Liu, J. O. (2010) Inhibition of eukaryotic translation elongation by cycloheximide and lactimidomycin, *Nat. Chem. Biol.*, **6**, 209-217, doi: 10.1038/nchembio.304.
 35. Chan, J., Khan, S. N., Harvey, I., Merrick, W., and Pelletier, J. (2004) Eukaryotic protein synthesis inhibitors identified by comparison of cytotoxicity profiles, *RNA*, **10**, 528-543, doi: 10.1261/rna.5200204.
 36. McClary, B., Zinshteyn, B., Meyer, M., Jouanneau, M., Pellegrino, S., Yusupova, G., Schuller, A., Reyes, J. C. P., Lu, J., Guo, Z., Ayinde, S., Luo, C., Dang, Y., Romo, D., Yusupov, M., Green, R., and Liu, J. O. (2017) Inhibition of eukaryotic translation by the antitumor natural product agelastatin A, *Cell Chem. Biol.*, **24**, 605-613 e605, doi: 10.1016/j.chembiol.2017.04.006.
 37. Cuendet, M., and Pezzuto, J. M. (2004) Antitumor activity of bruceantin: an old drug with new promise, *J. Nat. Prod.*, **67**, 269-272, doi: 10.1021/np030304+.
 38. Fresno, M., Gonzales, A., Vazquez, D., and Jimenez, A. (1978) Bruceantin, a novel inhibitor of peptide bond formation, *Biochim. Biophys. Acta*, **518**, 104-112, doi: 10.1016/0005-2787(78)90120-x.
 39. Zhang, L. L., Guo, J., Jiang, X. M., Chen, X. P., Wang, Y. T., Li, A., Lin, L. G., Li, H., and Lu, J. J. (2020) Identification of nagilactone E as a protein synthesis inhibitor with anticancer activity, *Acta pharmacol. Sin.*, **41**, 698-705, doi: 10.1038/s41401-019-0332-7.
 40. Polikanov, Y. S., Starosta, A. L., Juette, M. F., Altman, R. B., Terry, D. S., Lu, W., Burnett, B. J., Dinos, G., Reynolds, K. A., Blanchard, S. C., Steitz, T. A., and Wilson, D. N. (2015) Distinct tRNA accommodation intermediates observed on the ribosome with the antibiotics hygromycin A and A201A, *Mol. Cell*, **58**, 832-844, doi: 10.1016/j.molcel.2015.04.014.
 41. Amunts, A., Fiedorczuk, K., Truong, T. T., Chandler, J., Greenberg, E. P., and Ramakrishnan, V. (2015) Bactobolin A binds to a site on the 70S ribosome distinct from previously seen antibiotics, *J. Mol. Biol.*, **427**, 753-755, doi: 10.1016/j.jmb.2014.12.018.
 42. Hori, M., Suzukake, K., Ishikawa, C., Asakura, H., and Umezawa, H. (1981) Biochemical studies on bactobolin in relation to actinobolin, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **34**, 465-468, doi: 10.7164/antibiotics.34.465.
 43. Cerna, J., Rychlik, I., and Lichtenthaler, F. W. (1973) The effect of the aminoacyl-4-aminoheoxosyl-cytosine group of antibiotics on ribosomal peptidyl transferase, *FEBS Lett.*, **30**, 147-150, doi: 10.1016/0014-5793(73)80639-8.
 44. Hansen, J. L., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2003) Structures of five antibiotics bound at the peptidyl transferase center of the large ribosomal subunit, *J. Mol. Biol.*, **330**, 1061-1075, doi: 10.1016/s0022-2836(03)00668-5.
 45. Svidritskiy, E., Ling, C., Ermolenko, D. N., and Korostelev, A. A. (2013) Blastidicin S inhibits translation by trapping deformed tRNA on the ribosome, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 12283-12288, doi: 10.1073/pnas.1304922110.
 46. Lashkevich, K. A., Shlyk, V. I., Kushchenko, A. S., Gladyshev, V. N., Alkalaeva, E. Z., and Dmitriev, S. E. (2020) CTELS: a cell-free system for the analysis of translation termination rate, *Biomolecules*, **10**, 911, doi: 10.3390/biom10060911.
 47. Gonzalez, A., Vazquez, D., and Jimenez, A. (1979) Inhibition of translation in bacterial and eukaryotic systems by the antibiotic anthelmicycin (hikizimycin), *Biochim. Biophys. Acta*, **561**, 403-409, doi: 10.1016/0005-2787(79)90148-5.
 48. Sikorski, M. M., Cerna, J., Rychlik, I., and Legocki, A. B. (1977) Peptidyl transferase activity in wheat germ ribosomes. Effect of some antibiotics, *Biochim. Biophys. Acta*, **475**, 123-130, doi: 10.1016/0005-2787(77)90346-x.
 49. Leviev, I. G., Rodriguez-Fonseca, C., Phan, H., Garrett, R. A., Heilek, G., Noller, H. F., and Mankin, A. S. (1994) A conserved secondary structural motif in 23S rRNA defines the site of interaction of ampicillin, a universal inhibitor of peptide bond formation, *EMBO J.*, **13**, 1682-1686.
 50. Dmitriev, S. E., Akulich, K. A., Andreev, D. E., Terenin, I. M., and Shatsky, I. N. (2013) The peculiar mode of translation elongation inhibition by antitumor drug harringtonin, *FEBS J.*, **280**, 51-51.
 51. Akulich, K. A., Sinitcyn, P. G., Lomakin, I. B., Andreev, D. E., Terenin, I. M., Smirnova, V. V., Mironov, A. A., Shatsky, I. N., and Dmitriev, S. E. (2017) Peptidyl transferase inhibitors arrest the ribosome at specific amino acid codons: insights from an integrated approach, *FEBS J.*, **284**, 296-296, doi: 10.1111/febs.14174.
 52. Michel, A. M., Andreev, D. E., and Baranov, P. V. (2014) Computational approach for calculating the probability of eukaryotic translation initiation from ribo-seq data that takes into account leaky scanning, *BMC Bioinform.*, **15**, 380, doi: 10.1186/s12859-014-0380-4.
 53. Marks, J., Kannan, K., Roncase, E. J., Klepacki, D., Kefi, A., Orelle, C., Vazquez-Laslop, N., and Mankin, A. S. (2016) Context-specific inhibition of translation by ribosomal antibiotics targeting the peptidyl transferase center, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 12150-12155, doi: 10.1073/pnas.1613055113.
 54. Vazquez-Laslop, N., and Mankin, A. S. (2018) Context-specific action of ribosomal antibiotics, *Ann. Rev. Microbiol.*, **72**, 185-207, doi: 10.1146/annurev-micro-090817-062329.
 55. Kannan, K., Kanabar, P., Schryer, D., Florin, T., Oh, E., Bahroos, N., Tenson, T., Weissman, J. S., and Mankin, A. S. (2014) The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 15958-15963, doi: 10.1073/pnas.1417334111.
 56. Mankin, A. S. (2008) Macrolide myths, *Curr. Opin. Microbiol.*, **11**, 414-421, doi: 10.1016/j.mib.2008.08.003.
 57. Vazquez-Laslop, N., Thum, C., and Mankin, A. S. (2008) Molecular mechanism of drug-dependent ribosome stalling, *Mol. Cell*, **30**, 190-202, doi: 10.1016/j.molcel.2008.02.026.
 58. Tu, D., Blaha, G., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2005) Structures of MLSBK antibiotics bound to mutated large ribosomal subunits provide a structural explanation for resistance, *Cell*, **121**, 257-270, doi: 10.1016/j.cell.2005.02.005.
 59. Hansen, J. L., Ippolito, J. A., Ban, N., Nissen, P., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2002) The structures of four macrolide antibiotics bound to the large ribosomal subunit, *Mol. Cell*, **10**, 117-128, doi: 10.1016/s1097-2765(02)00570-1.
 60. Gurel, G., Blaha, G., Steitz, T. A., and Moore, P. B. (2009) Structures of triacetyloleandomycin and mycalamide A bind to the large ribosomal subunit of *Haloarcula marismortui*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**, 5010-5014, doi: 10.1128/AAC.00817-09.
 61. Nishimura, S., Matsunaga, S., Yoshida, M., Hirota, H., Yokoyama, S., and Fusetani, N. (2005) 13-Deoxytetracycline, a marine sponge-derived antitumor macrolide, binds to the 60S large ribosomal subunit, *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 449-454, doi: 10.1016/j.bmc.2004.10.012.
 62. Lintner, N. G., McClure, K. F., Petersen, D., Londregan, A. T., Piotrowski, D. W., Wei, L., Xiao, J., Bolt, M., Loria, P. M., Maguire, B., Geoghegan, K. F., Huang, A., Rolph, T.,

- Liras, S., Doudna, J. A., Dullea, R. G., and Cate, J. H. (2017) Selective stalling of human translation through small-molecule engagement of the ribosome nascent chain, *PLoS Biol.*, **15**, e2001882, doi: 10.1371/journal.pbio.2001882.
63. Liaud, N., Horlbeck, M. A., Gilbert, L. A., Gjoni, K., Weissman, J. S., and Cate, J. H. D. (2019) Cellular response to small molecules that selectively stall protein synthesis by the ribosome, *PLoS Genet.*, **15**, e1008057, doi: 10.1371/journal.pgen.1008057.
64. Li, W., Ward, F. R., McClure, K. F., Chang, S. T., Montabana, E., Liras, S., Dullea, R. G., and Cate, J. H. D. (2019) Structural basis for selective stalling of human ribosome nascent chain complexes by a drug-like molecule, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 501-509, doi: 10.1038/s41594-019-0236-8.
65. Osterman, I. A., Wieland, M., Maviza, T. P., Lashkevich, K. A., Lukianov, D. A., Komarova, E. S., Zakalyukina, Y. V., Buschauer, R., Shiriaev, D. I., Leyn, S. A., Zlamal, J. E., Biryukov, M. V., Skvortsov, D. A., Tashlitsky, V. N., Polshakov, V. I., Cheng, J., Polikanov, Y. S., Bogdanov, A. A., Osterman, A. L., Dmitriev, S. E., Beckmann, R., Dontsova, O. A., Wilson, D. N., and Sergiev, P. V. (2020) Tetracenomycin X inhibits translation by binding within the ribosomal exit tunnel, *Nat. Chem. Biol.*, **16**, 1071-1077, doi: 10.1038/s41589-020-0578-x.
66. Mortison, J. D., Schenone, M., Myers, J. A., Zhang, Z., Chen, L., Ciarlo, C., Comer, E., Natchiar, S. K., Carr, S. A., Klaholz, B. P., and Myers, A. G. (2018) Tetracyclines modify translation by targeting key human rRNA substructures, *Cell Chem. Biol.*, **25**, 1506-1518 e1513, doi: 10.1016/j.chembiol.2018.09.010.
67. Wu, C. C., Peterson, A., Zinshteyn, B., Regot, S., and Green, R. (2020) Ribosome collisions trigger general stress responses to regulate cell fate, *Cell*, **182**, 404-416 e414, doi: 10.1016/j.cell.2020.06.006.
68. Jenner, L., Starosta, A. L., Terry, D. S., Mikolajka, A., Filonava, L., Yusupov, M., Blanchard, S. C., Wilson, D. N., and Yusupova, G. (2013) Structural basis for potent inhibitory activity of the antibiotic tigecycline during protein synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 3812-3816, doi: 10.1073/pnas.1216691110.
69. Solis, G. M., Kardakar, R., Valentine, E. R., Bar-Peled, L., Chen, A. L., Blewett, M. M., McCormick, M. A., Williamson, J. R., Kennedy, B., Cravatt, B. F., and Petrascheck, M. (2018) Translation attenuation by minocycline enhances longevity and proteostasis in old post-stress-responsive organisms, *eLife*, **7**, doi: 10.7554/eLife.40314.
70. Garrido-Mesa, N., Zarzuelo, A., and Galvez, J. (2013) Minocycline: far beyond an antibiotic, *Br. J. Pharmacol.*, **169**, 337-352, doi: 10.1111/bph.12139.
71. Obrig, T. G., Culp, W. J., McKeehan, W. L., and Hardesty, B. (1971) The mechanism by which cycloheximide and related glutarimide antibiotics inhibit peptide synthesis on reticulocyte ribosomes, *J. Biol. Chem.*, **246**, 174-181.
72. Klinge, S., Voigts-Hoffmann, F., Leibundgut, M., Arpagaus, S., and Ban, N. (2011) Crystal structure of the eukaryotic 60S ribosomal subunit in complex with initiation factor 6, *Science*, **334**, 941-948, doi: 10.1126/science.1211204.
73. Dmitriev, S. E., Pisarev, A. V., Rubtsova, M. P., Dunaevsky, Y. E., and Shatsky, I. N. (2003) Conversion of 48S translation preinitiation complexes into 80S initiation complexes as revealed by toeprinting, *FEBS Lett.*, **533**, 99-104, doi: 10.1016/s0014-5793(02)03776-6.
74. Budkevich, T., Giesebrecht, J., Altman, R. B., Munro, J. B., Mielke, T., Nierhaus, K. H., Blanchard, S. C., and Spahn, C. M. (2011) Structure and dynamics of the mammalian ribosomal pretranslocation complex, *Mol. Cell*, **44**, 214-224, doi: 10.1016/j.molcel.2011.07.040.
75. Myasnikov, A. G., Kundhavai Natchiar, S., Nebout, M., Hazemann, I., Imbert, V., Khatter, H., Peyron, J. F., and Klaholz, B. P. (2016) Structure-function insights reveal the human ribosome as a cancer target for antibiotics, *Nat. Commun.*, **7**, 12856, doi: 10.1038/ncomms12856.
76. Pestova, T. V., and Hellen, C. U. (2003) Translation elongation after assembly of ribosomes on the Cricket paralysis virus internal ribosomal entry site without initiation factors or initiator tRNA, *Gen. Dev.*, **17**, 181-186, doi: 10.1101/gad.1040803.
77. Iwasaki, S., and Ingolia, N. T. (2017) The growing toolbox for protein synthesis studies, *Trends Biochem. Sci.*, **42**, 612-624, doi: 10.1016/j.tibs.2017.05.004.
78. Park, Y., Koga, Y., Su, C., Waterbury, A. L., Johnny, C. L., and Liao, B. B. (2019) Versatile synthetic route to cycloheximide and analogues that potently inhibit translation elongation, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **58**, 5387-5391, doi: 10.1002/anie.201901386.
79. Landsman, D., Srikantha, T., and Bustin, M. (1988) Single copy gene for the chicken non-histone chromosomal protein HMG-17, *J. Biol. Chem.*, **263**, 3917-3923.
80. Zhang, D., Yi, W., Ge, H., Zhang, Z., and Wu, B. (2019) Bioactive streptoglutaramides A-J from the marine-derived *Streptomyces* sp. ZZ741, *J. Nat. Prod.*, **82**, 2800-2808, doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b00481.
81. Sugawara, K., Nishiyama, Y., Toda, S., Komiyama, N., Hatori, M., Moriyama, T., Sawada, Y., Kamei, H., Konishi, M., and Oki, T. (1992) Lactimidomycin, a new glutarimide group antibiotic. Production, isolation, structure and biological activity, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **45**, 1433-1441, doi: 10.7164/antibiotics.45.1433.
82. Lee, S., Liu, B., Lee, S., Huang, S. X., Shen, B., and Qian, S. B. (2012) Global mapping of translation initiation sites in mammalian cells at single-nucleotide resolution, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, E2424-2432, doi: 10.1073/pnas.1207846109.
83. Pellegrino, S., Meyer, M., Konst, Z. A., Holm, M., Voora, V. K., Kashinskaya, D., Zanette, C., Mobley, D. L., Yusupova, G., Vanderwal, C. D., Blanchard, S. C., and Yusupov, M. (2019) Understanding the role of intermolecular interactions between lissoclimides and the eukaryotic ribosome, *Nucleic Acids Res.*, **47**, 3223-3232, doi: 10.1093/nar/gkz053.
84. Konst, Z. A., Szklarski, A. R., Pellegrino, S., Michalak, S. E., Meyer, M., Zanette, C., Cencic, R., Nam, S., Voora, V. K., Horne, D. A., Pelletier, J., Mobley, D. L., Yusupova, G., Yusupov, M., and Vanderwal, C. D. (2017) Synthesis facilitates an understanding of the structural basis for translation inhibition by the lissoclimides, *Nat. Chem.*, **9**, 1140-1149, doi: 10.1038/nchem.2800.
85. Robert, F., Gao, H. Q., Donia, M., Merrick, W. C., Hamann, M. T., and Pelletier, J. (2006) Chlorolissoclimides: new inhibitors of eukaryotic protein synthesis, *RNA*, **12**, 717-725, doi: 10.1261/rna.2346806.
86. Lee, K. H., Nishimura, S., Matsunaga, S., Fusetani, N., Horinouchi, S., and Yoshida, M. (2005) Inhibition of protein synthesis and activation of stress-activated protein kinases by onnamide A and theopederin B, antitumor marine natural products, *Cancer Sci.*, **96**, 357-364, doi: 10.1111/j.1349-7006.2005.00055.x.
87. Brega, A., Falaschi, A., De Carli, L., and Pavan, M. (1968) Studies on the mechanism of action of pederine, *J. Cell Biol.*, **36**, 485-496, doi: 10.1083/jcb.36.3.485.
88. Jacobs-Lorena, M., Brega, A., and Baglioni, C. (1971) Inhibition of protein synthesis in reticulocytes by antibiotics. V. Mechanism of action of pederine, an inhibitor of initiation and elongation, *Biochim. Biophys. Acta*, **240**, 263-272.

89. Schroeder, S. J., Blaha, G., Tirado-Rives, J., Steitz, T. A., and Moore, P. B. (2007) The structures of antibiotics bound to the E site region of the 50 S ribosomal subunit of *Haloarcula marismortui*: 13-deoxytetracycline and girodazole, *J. Mol. Biol.*, **367**, 1471-1479, doi: 10.1016/j.jmb.2007.01.081.
90. Taylor, R. E. (2008) Tetracycline and the evolution of polyketide inhibitors of eukaryotic protein synthesis, *Nat. Prod. Rep.*, **25**, 854-861, doi: 10.1039/b805700c.
91. Hines, J., Roy, M., Cheng, H., Agapakis, C. M., Taylor, R., and Crews, C. M. (2006) Myriaporone 3/4 structure-activity relationship studies define a pharmacophore targeting eukaryotic protein synthesis, *Mol. Biosyst.*, **2**, 371-379, doi: 10.1039/b602936a.
92. Muthukumar, Y., Roy, M., Raja, A., Taylor, R. E., and Sasse, F. (2013) The marine polyketide myriaporone 3/4 stalls translation by targeting the elongation phase, *Chembiochem*, **14**, 260-264, doi: 10.1002/cbic.201200522.
93. Prokhorova, I. V., Akulich, K. A., Makeeva, D. S., Osterman, I. A., Skvortsov, D. A., Sergiev, P. V., Dontsova, O. A., Yusupova, G., Yusupov, M. M., and Dmitriev, S. E. (2016) Amicoumacin A induces cancer cell death by targeting the eukaryotic ribosome, *Sci. Rep.*, **6**, 27720, doi: 10.1038/srep27720.
94. Wong, W., Bai, X. C., Brown, A., Fernandez, I. S., Hanssen, E., Condron, M., Tan, Y. H., Baum, J., and Scheres, S. H. (2014) Cryo-EM structure of the *Plasmodium falciparum* 80S ribosome bound to the anti-protozoan drug emetine, *eLife*, **3**, doi: 10.7554/eLife.03080.
95. Chang, S., and Wasmuth, J. J. (1983) Construction and characterization of Chinese hamster cell EmtA EmtB double mutants, *Mol. Cell. Biol.*, **3**, 761-772, doi: 10.1128/mcb.3.5.761.
96. Grant, P., Sanchez, L., and Jimenez, A. (1974) Cryptopleurine resistance: genetic locus for a 40S ribosomal component in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Bacteriol.*, **120**, 1308-1314, doi: 10.1128/JB.120.3.1308-1314.1974.
97. Gupta, R. S., and Siminovich, L. (1977) Mutants of CHO cells resistant to the protein synthesis inhibitors, cryptopleurine and tylocrebrine: genetic and biochemical evidence for common site of action of emetine, cryptopleurine, tylocrebrine, and tubulosine, *Biochemistry*, **16**, 3209-3214, doi: 10.1021/bi00633a026.
98. Bucher, K., and Skogerson, L. (1976) Cryptopleurine—an inhibitor of translocation, *Biochemistry*, **15**, 4755-4759, doi: 10.1021/bi00667a001.
99. Carrasco, L., Jimenez, A., and Vazquez, D. (1976) Specific inhibition of translocation by tubulosine in eukaryotic polysomes, *Eur. J. Biochem.*, **64**, 1-5, doi: 10.1111/j.1432-1033.1976.tb10268.x.
100. Wang, Y., Wong, H. C., Gullen, E. A., Lam, W., Yang, X., Shi, Q., Lee, K. H., and Cheng, Y. C. (2012) Cryptopleurine analogs with modification of e ring exhibit different mechanism to rac-cryptopleurine and tylophorine, *PloS One*, **7**, e51138, doi: 10.1371/journal.pone.0051138.
101. Donaldson, G. R., Atkinson, M. R., and Murray, A. W. (1968) Inhibition of protein synthesis in Ehrlich ascites-tumour cells by the phenanthrene alkaloids tylophorine, tylocrebrine and cryptopleurine, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **31**, 104-109, doi: 10.1016/0006-291x(68)90037-5.
102. Polikanov, Y. S., Osterman, I. A., Szal, T., Tashlitsky, V. N., Serebryakova, M. V., Kusochev, P., Bulkley, D., Malanicheva, I. A., Efimenko, T. A., Efremenkova, O. V., Konevega, A. L., Shaw, K. J., Bogdanov, A. A., Rodnina, M. V., Dontsova, O. A., Mankin, A. S., Steitz, T. A., and Sergiev, P. V. (2014) Amicoumacin A inhibits translation by stabilizing mRNA interaction with the ribosome, *Mol. Cell*, **56**, 531-540, doi: 10.1016/j.molcel.2014.09.020.
103. Brodersen, D. E., Clemons, W. M., Jr., Carter, A. P., Morgan-Warren, R. J., Wimberly, B. T., and Ramakrishnan, V. (2000) The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit, *Cell*, **103**, 1143-1154, doi: 10.1016/s0092-8674(00)00216-6.
104. Dinos, G., Wilson, D. N., Teraoka, Y., Szaflarski, W., Fucini, P., Kalpaxis, D., and Nierhaus, K. H. (2004) Dissecting the ribosomal inhibition mechanisms of edeine and pactamycin: the universally conserved residues G693 and C795 regulate P-site RNA binding, *Mol. Cell*, **13**, 113-124, doi: 10.1016/s1097-2765(04)00002-4.
105. Borovinskaya, M. A., Shoji, S., Fredrick, K., and Cate, J. H. (2008) Structural basis for hygromycin B inhibition of protein biosynthesis, *RNA*, **14**, 1590-1599, doi: 10.1261/rna.1076908.
106. Gonzalez, A., Jimenez, A., Vazquez, D., Davies, J. E., and Schindler, D. (1978) Studies on the mode of action of hygromycin B, an inhibitor of translocation in eukaryotes, *Biochim. Biophys. Acta*, **521**, 459-469, doi: 10.1016/0005-2787(78)90287-3.
107. Misumi, M., Nishimura, T., Komai, T., and Tanaka, N. (1978) Interaction of kanamycin and related antibiotics with the large subunit of ribosomes and the inhibition of translocation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **84**, 358-365, doi: 10.1016/0006-291x(78)90178-x.
108. Cabanas, M. J., Vazquez, D., and Modolell, J. (1978) Inhibition of ribosomal translocation by aminoglycoside antibiotics, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **83**, 991-997, doi: 10.1016/0006-291x(78)91493-6.
109. Borovinskaya, M. A., Pai, R. D., Zhang, W., Schuwirth, B. S., Holton, J. M., Hirokawa, G., Kaji, H., Kaji, A., and Cate, J. H. (2007) Structural basis for aminoglycoside inhibition of bacterial ribosome recycling, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 727-732, doi: 10.1038/nsmb1271.
110. Prokhorova, I., Altman, R. B., Djumagulov, M., Shrestha, J. P., Urzhumtsev, A., Ferguson, A., Chang, C. T., Yusupov, M., Blanchard, S. C., and Yusupova, G. (2017) Aminoglycoside interactions and impacts on the eukaryotic ribosome, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, E10899-E10908, doi: 10.1073/pnas.1715501114.
111. Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., and Connolly, L. E. (2016) Aminoglycosides: an overview, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, **6**, doi: 10.1101/cshperspect.a027029.
112. Wilhelm, J. M., Pettitt, S. E., and Jessop, J. J. (1978) Aminoglycoside antibiotics and eukaryotic protein synthesis: structure-function relationships in the stimulation of misreading with a wheat embryo system, *Biochemistry*, **17**, 1143-1149, doi: 10.1021/bi00600a001.
113. Howard, M., Frizzell, R. A., and Bedwell, D. M. (1996) Aminoglycoside antibiotics restore CFTR function by overcoming premature stop mutations, *Nat. Med.*, **2**, 467-469, doi: 10.1038/nm0496-467.
114. Kandasamy, J., Atia-Glikin, D., Shulman, E., Shapira, K., Shavit, M., Belakhov, V., and Baasov, T. (2012) Increased selectivity toward cytoplasmic versus mitochondrial ribosome confers improved efficiency of synthetic aminoglycosides in fixing damaged genes: a strategy for treatment of genetic diseases caused by nonsense mutations, *J. Med. Chem.*, **55**, 10630-10643, doi: 10.1021/jm3012992.
115. Wangen, J. R., and Green, R. (2020) Stop codon context influences genome-wide stimulation of termination codon readthrough by aminoglycosides, *eLife*, **9**, doi: 10.7554/eLife.52611.
116. Kuang, L., Hashimoto, K., Huang, E. J., Gentry, M. S., and Zhu, H. (2020) Frontotemporal dementia nonsense mutation of progranulin rescued by aminoglycosides,

- Hum. Mol. Genet.*, **29**, 624-634, doi: 10.1093/hmg/ddz280.
117. Sabbavarapu, N. M., Shavit, M., Degani, Y., Smolkin, B., Belakhov, V., and Baasov, T. (2016) Design of novel aminoglycoside derivatives with enhanced suppression of diseases-causing nonsense mutations, *ACS Med. Chem. Lett.*, **7**, 418-423, doi: 10.1021/acsmchemlett.6b00006.
 118. Shalev, M., and Baasov, T. (2014) When proteins start to make sense: fine-tuning aminoglycosides for PTC suppression therapy, *Medchemcomm.*, **5**, 1092-1105, doi: 10.1039/C4MD00081A.
 119. Bidou, L., Bugaud, O., Belakhov, V., Baasov, T., and Namy, O. (2017) Characterization of new-generation aminoglycoside promoting premature termination codon readthrough in cancer cells, *RNA Biol.*, **14**, 378-388, doi: 10.1080/15476286.2017.1285480.
 120. Mattis, V. B., Rai, R., Wang, J., Chang, C. W., Coady, T., and Lorson, C. L. (2006) Novel aminoglycosides increase SMN levels in spinal muscular atrophy fibroblasts, *Hum. Genet.*, **120**, 589-601, doi: 10.1007/s00439-006-0245-7.
 121. Baradaran-Heravi, A., Niesser, J., Balgi, A. D., Choi, K., Zimmerman, C., South, A. P., Anderson, H. J., Strynadka, N. C., Bally, M. B., and Roberge, M. (2017) Gentamicin B1 is a minor gentamicin component with major nonsense mutation suppression activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 3479-3484, doi: 10.1073/pnas.1620982114.
 122. Fan-Minogue, H., and Bedwell, D. M. (2008) Eukaryotic ribosomal RNA determinants of aminoglycoside resistance and their role in translational fidelity, *RNA*, **14**, 148-157, doi: 10.1261/rna.805208.
 123. Recht, M. I., Douthwaite, S., and Puglisi, J. D. (1999) Basis for prokaryotic specificity of action of aminoglycoside antibiotics, *EMBO J.*, **18**, 3133-3138, doi: 10.1093/emboj/18.11.3133.
 124. Wargo, K. A., and Edwards, J. D. (2014) Aminoglycoside-induced nephrotoxicity, *J. Pharm. Pract.*, **27**, 573-577, doi: 10.1177/0897190014546836.
 125. Nguyen, T., and Jeyakumar, A. (2019) Genetic susceptibility to aminoglycoside ototoxicity, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, **120**, 15-19, doi: 10.1016/j.ijporl.2019.02.002.
 126. Aviner, R. (2020) The science of puromycin: from studies of ribosome function to applications in biotechnology, *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, **18**, 1074-1083, doi: 10.1016/j.csbj.2020.04.014.
 127. Fritsch, C., Herrmann, A., Nothnagel, M., Szafranski, K., Huse, K., Schumann, F., Schreiber, S., Platzer, M., Krawczak, M., Hampe, J., and Brosch, M. (2012) Genome-wide search for novel human uORFs and N-terminal protein extensions using ribosomal footprinting, *Genome Res.*, **22**, 2208-2218, doi: 10.1101/gr.139568.112.
 128. Hobson, B. D., Kong, L., Hartwick, E. W., Gonzalez Jr, R. L., and Sims, P. A., (2020) Elongation inhibitors do not prevent the release of puromycylated nascent polypeptide chains from ribosomes, *Elife*, **9**, e60048, doi: 10.7554/eLife.60048.
 129. Enam, S. U., Zinshteyn, B., Goldman, D. H., Cassani, M., Livingston, N. M., Seydoux, G., and Green, R. (2020) Puromycin reactivity does not accurately localize translation at the subcellular level, *Elife*, **9**, e60303, doi: 10.7554/eLife.60303.
 130. Wong, W., Bai, X. C., Sleeb, B. E., Triglia, T., Brown, A., Thompson, J. K., Jackson, K. E., Hanssen, E., Marapana, D. S., Fernandez, I. S., Ralph, S. A., Cowman, A. F., Scheres, S. H. W., and Baum, J. (2017) Mefloquine targets the *Plasmodium falciparum* 80S ribosome to inhibit protein synthesis, *Nat. Microbiol.*, **2**, 17031, doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.31.
 131. Shi, W. W., Mak, A. N., Wong, K. B., and Shaw, P. C. (2016) Structures and ribosomal interaction of ribosome-inactivating proteins, *Molecules*, **21**, 1588, doi: 10.3390/molecules21111588.
 132. Olombrada, M., Lazaro-Gorines, R., Lopez-Rodriguez, J. C., Martinez-Del-Pozo, A., Onaderra, M., Maestro-Lopez, M., Lacadena, J., Gavilanes, J. G., and Garcia-Ortega, L. (2017) Fungal ribotoxins: a review of potential biotechnological applications, *Toxins*, **9**, 71, doi: 10.3390/toxins9020071.
 133. Kozak, M., and Shatkin, A. J. (1978) Migration of 40 S ribosomal subunits on messenger RNA in the presence of edeine, *J. Biol. Chem.*, **253**, 6568-6577.
 134. Vassilenko, K. S., Alekhina, O. M., Dmitriev, S. E., Shatsky, I. N., and Spirin, A. S. (2011) Unidirectional constant rate motion of the ribosomal scanning particle during eukaryotic translation initiation, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 5555-5567, doi: 10.1093/nar/gkr147.
 135. Kozak, M. (2007) Some thoughts about translational regulation: forward and backward glances, *J. Cell. Biochem.*, **102**, 280-290, doi: 10.1002/jcb.21464.
 136. Contreras, A., and Carrasco, L. (1979) Selective inhibition of protein synthesis in virus-infected mammalian cells, *J. Virol.*, **29**, 114-122, doi: 10.1128/JVI.29.1.114-122.1979.
 137. Baxter, R., Knell, V. C., Somerville, H. J., Swain, H. M., and Weeks, D. P. (1973) Effect of MDMP on protein synthesis in wheat and bacteria, *Nat. New Biol.*, **243**, 139-142, doi: 10.1038/newbio243139a0.
 138. Mokas, S., Mills, J. R., Garreau, C., Fournier, M. J., Robert, F., Arya, P., Kaufman, R. J., Pelletier, J., and Mazroui, R. (2009) Uncoupling stress granule assembly and translation initiation inhibition, *Mol. Biol. Cell*, **20**, 2673-2683, doi: 10.1091/mbc.E08-10-1061.
 139. Weeks, D. P., and Baxter, R. (1972) Specific inhibition of peptide-chain initiation by 2-(4-methyl-2,6-dinitroanilino)-N-methylpropionamide, *Biochemistry*, **11**, 3060-3064, doi: 10.1021/bi00766a018.
 140. Baxter, R., and McGowan, J. E. (1976) MDMP action: degradative effects on polyribosomes from wheat roots and the inhibition of protein initiation, *J. Exp. Bot.*, **27**, 525-531, doi: 10.1093/jxb/27.3.525.
 141. Gritz, L. R., Mitlin, J. A., Cannon, M., Littlewood, B., Carter, C. J., and Davies, J. E. (1982) Ribosome structure, maturation of ribosomal RNA and drug sensitivity in temperature-sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Gen. Genet.*, **188**, 384-391, doi: 10.1007/BF00330038.
 142. Pesce, E., Miluzio, A., Turcano, L., Minici, C., Cirino, D., Calamita, P., Manfrini, N., Oliveto, S., Ricciardi, S., Grifantini, R., Degano, M., Bresciani, A., and Biffo, S. (2020) Discovery and preliminary characterization of translational modulators that impair the binding of eIF6 to 60S ribosomal subunits, *Cells*, **9**, doi: 10.3390/cells9010172.
 143. Brina, D., Miluzio, A., Ricciardi, S., and Biffo, S. (2015) eIF6 anti-association activity is required for ribosome biogenesis, translational control and tumor progression, *Biochim. Biophys. Acta*, **1849**, 830-835, doi: 10.1016/j.bbagr.2014.09.010.
 144. Florin, T., Maracci, C., Graf, M., Karki, P., Klepacki, D., Berninghausen, O., Beckmann, R., Vazquez-Laslop, N., Wilson, D. N., Rodnina, M. V., and Mankin, A. S. (2017) An antimicrobial peptide that inhibits translation by trapping release factors on the ribosome, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 752-757, doi: 10.1038/nsmb.3439.
 145. Colson, G., Rabault, B., Lavelle, F., and Zerial, A. (1992) Mode of action of the antitumor compound girodazole (RP 49532A, NSC 627434), *Biochem. Pharmacol.*, **43**, 1717-1723, doi: 10.1016/0006-2952(92)90701-j.

146. Lavelle, F., Zerial, A., Fizames, C., Rabault, B., and Curaudeau, A. (1991) Antitumor activity and mechanism of action of the marine compound girodazole, *Invest. New Drugs*, **9**, 233-244, doi: 10.1007/bf00176976.
147. Catimel, G., Coquard, R., Guastalla, J. P., Merrouche, Y., Le Bail, N., Alaki, M. K., Dumortier, A., Foy, M., and Clavel, M. (1995) Phase I study of RP 49532A, a new protein-synthesis inhibitor, in patients with advanced refractory solid tumors, *Cancer chemother. Pharmacol.*, **35**, 246-248, doi: 10.1007/BF00686555.
148. Bordeira-Carrico, R., Pego, A. P., Santos, M., and Oliveira, C. (2012) Cancer syndromes and therapy by stop-codon readthrough, *Trends Mol. Med.*, **18**, 667-678, doi: 10.1016/j.molmed.2012.09.004.
149. Mort, M., Ivanov, D., Cooper, D. N., and Chuzhanova, N. A. (2008) A meta-analysis of nonsense mutations causing human genetic disease, *Hum. Mut.*, **29**, 1037-1047, doi: 10.1002/humu.20763.
150. Keeling, K. M., Xue, X., Gunn, G., and Bedwell, D. M. (2014) Therapeutics based on stop codon readthrough, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, **15**, 371-394, doi: 10.1146/annurev-genom-091212-153527.
151. Lee, H. L., and Dougherty, J. P. (2012) Pharmaceutical therapies to recode nonsense mutations in inherited diseases, *Pharmacol. Ther.*, **136**, 227-266, doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.07.007.
152. Ng, M. Y., Zhang, H., Weil, A., Singh, V., Jamiolkowski, R., Baradaran-Heravi, A., Roberge, M., Jacobson, A., Friesen, W., Welch, E., Goldman, Y. E., and Cooperman, B. S. (2018) New *in vitro* assay measuring direct interaction of nonsense suppressors with the eukaryotic protein synthesis machinery, *ACS Med. Chem. Lett.*, **9**, 1285-1291, doi: 10.1021/acsmchemlett.8b00472.
153. Floquet, C., Rousset, J. P., and Bidou, L. (2011) Readthrough of premature termination codons in the adenomatous polyposis coli gene restores its biological activity in human cancer cells, *PLoS One*, **6**, e24125, doi: 10.1371/journal.pone.0024125.
154. Prayle, A., and Smyth, A. R. (2010) Aminoglycoside use in cystic fibrosis: therapeutic strategies and toxicity, *Curr. Opin. Pulm. Med.*, **16**, 604-610, doi: 10.1097/MCP.0b013e32833eebf.
155. Zingman, L. V., Park, S., Olson, T. M., Alekseev, A. E., and Terzic, A. (2007) Aminoglycoside-induced translational read-through in disease: overcoming nonsense mutations by pharmacogenetic therapy, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **81**, 99-103, doi: 10.1038/sj.clpt.6100012.
156. Lentini, L., Melfi, R., Di Leonardo, A., Spinello, A., Barone, G., Pace, A., Palumbo Piccionello, A., and Pibiri, I. (2014) Toward a rationale for the PTC124 (Ataluren) promoted readthrough of premature stop codons: a computational approach and GFP-reporter cell-based assay, *Mol. Pharm.*, **11**, 653-664, doi: 10.1021/mp400230s.
157. Konstan, M. W., VanDevanter, D. R., Rowe, S. M., Wilschanski, M., Kerem, E., Sermet-Gaudelus, I., DiMango, E., Melotti, P., McIntosh, J., and De Boeck, K. (2020) Efficacy and safety of ataluren in patients with nonsense-mutation cystic fibrosis not receiving chronic inhaled aminoglycosides: The international, randomized, double-blind, placebo-controlled Ataluren Confirmatory Trial in Cystic Fibrosis (ACT CF), *J. Cyst. Fibros.*, **19**, 595-601, doi: 10.1016/j.jcf.2020.01.007.
158. Zainal Abidin, N., Haq, I. J., Gardner, A. I., and Brodrie, M. (2017) Ataluren in cystic fibrosis: development, clinical studies and where are we now? *Exp. Opin. Pharmacother.*, **18**, 1363-1371, doi: 10.1080/14656566.2017.1359255.
159. Auld, D. S., Thorne, N., Maguire, W. F., and Ingles, J. (2009) Mechanism of PTC124 activity in cell-based luciferase assays of nonsense codon suppression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 3585-3590, doi: 10.1073/pnas.0813345106.
160. Altamura, E., Borgatti, M., Finotti, A., Gasparello, J., Gambari, R., Spinelli, M., Castaldo, R., and Altamura, N. (2016) Chemical-induced read-through at premature termination codons determined by a rapid dual-fluorescence system based on *S. cerevisiae*, *PLoS One*, **11**, e0154260, doi: 10.1371/journal.pone.0154260.
161. Hamada, K., Omura, N., Taguchi, A., Baradaran-Heravi, A., Kotake, M., Arai, M., Takayama, K., Taniguchi, A., Roberge, M., and Hayashi, Y. (2019) New negamycin-based potent readthrough derivative effective against TGA-type nonsense mutations, *ACS Med. Chem. Lett.*, **10**, 1450-1456, doi: 10.1021/acsmchemlett.9b00273.
162. Arakawa, M., Shiozuka, M., Nakayama, Y., Hara, T., Hamada, M., Kondo, S., Ikeda, D., Takahashi, Y., Sawa, R., Nonomura, Y., Sheykhleslami, K., Kondo, K., Kaga, K., Kitamura, T., Suzuki-Miyagoe, Y., Takeda, S., and Matsuda, R. (2003) Negamycin restores dystrophin expression in skeletal and cardiac muscles of mdx mice, *J. Biochem.*, **134**, 751-758, doi: 10.1093/jb/mvg203.
163. Olivier, N. B., Altman, R. B., Noeske, J., Basarab, G. S., Code, E., Ferguson, A. D., Gao, N., Huang, J., Juette, M. F., Livchak, S., Miller, M. D., Prince, D. B., Cate, J. H., Buurman, E. T., and Blanchard, S. C. (2014) Negamycin induces translational stalling and miscoding by binding to the small subunit head domain of the *Escherichia coli* ribosome, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 16274-16279, doi: 10.1073/pnas.1414401111.
164. Ferguson, M. W., Gerak, C. A. N., Chow, C. C. T., Rastelli, E. J., Elmore, K. E., Stahl, F., Hosseini-Farahabadi, S., Baradaran-Heravi, A., Coltart, D. M., and Roberge, M. (2019) The antimalarial drug mefloquine enhances TP53 premature termination codon readthrough by aminoglycoside G418, *PLoS One*, **14**, e0216423, doi: 10.1371/journal.pone.0216423.
165. Baradaran-Heravi, A., Balgi, A. D., Zimmerman, C., Choi, K., Shidmoosavee, F. S., Tan, J. S., Bergeaud, C., Krause, A., Flibotte, S., Shimizu, Y., Anderson, H. J., Mouly, V., Jan, E., Pfeifer, T., Jaquith, J. B., and Roberge, M. (2016) Novel small molecules potentiate premature termination codon readthrough by aminoglycosides, *Nucleic Acids Res.*, **44**, 6583-6598, doi: 10.1093/nar/gkw638.
166. Nurenberg-Goloub, E., and Tampe, R. (2019) Ribosome recycling in mRNA translation, quality control, and homeostasis, *Biol. Chem.*, **401**, 47-61, doi: 10.1515/hsz-2019-0279.
167. Buskirk, A. R., and Green, R. (2017) Ribosome pausing, arrest and rescue in bacteria and eukaryotes, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **372**, 20160183, doi: 10.1098/rstb.2016.0183.
168. Hirokawa, G., Kiel, M. C., Muto, A., Selmer, M., Raj, V. S., Liljas, A., Igarashi, K., Kaji, H., and Kaji, A. (2002) Post-termination complex disassembly by ribosome recycling factor, a functional tRNA mimic, *EMBO J.*, **21**, 2272-2281, doi: 10.1093/emboj/21.9.2272.
169. Kurata, S., Shen, B., Liu, J. O., Takeuchi, N., Kaji, A., and Kaji, H. (2013) Possible steps of complete disassembly of post-termination complex by yeast eEF3 deduced from inhibition by translocation inhibitors, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 264-276, doi: 10.1093/nar/gks958.
170. Kurata, S., Nielsen, K. H., Mitchell, S. F., Lorsch, J. R., Kaji, A., and Kaji, H. (2010) Ribosome recycling step in yeast cytoplasmic protein synthesis is catalyzed by eEF3 and ATP, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 10854-10859, doi: 10.1073/pnas.1006247107.
171. Borg, A., Pavlov, M., and Ehrenberg, M. (2016) Mechanism of fusidic acid inhibition of RRF- and EF-G-dependent splitting of the bacterial post-termination ribo-

- some, *Nucleic Acids Res.*, **44**, 3264-3275, doi: 10.1093/nar/gkw178.
172. Sanchez-Murcia, P. A., Cortes-Cabrera, A., and Gago, F. (2017) Structural rationale for the cross-resistance of tumor cells bearing the A399V variant of elongation factor eEF1A1 to the structurally unrelated didemnin B, ternatin, nannocystin A and ansatrienin B, *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **31**, 915-928, doi: 10.1007/s10822-017-0066-x.
 173. Carelli, J. D., Sethofer, S. G., Smith, G. A., Miller, H. R., Simard, J. L., Merrick, W. C., Jain, R. K., Ross, N. T., and Taunton, J. (2015) Ternatin and improved synthetic variants kill cancer cells by targeting the elongation factor-1A ternary complex, *eLife*, **4**, doi: 10.7554/eLife.10222.
 174. Lee, J., Curran, J. N., Carroll, P. J., and Joullie, M. M. (2012) Didemnins, tamandarins and related natural products, *Nat. Prod. Rep.*, **29**, 404-424, doi: 10.1039/c2np00065b.
 175. SirDeshpande, B. V., and Toogood, P. L. (1995) Mechanism of protein synthesis inhibition by didemnin B *in vitro*, *Biochemistry*, **34**, 9177-9184, doi: 10.1021/bi00028a030.
 176. Shao, S., Murray, J., Brown, A., Taunton, J., Ramakrishnan, V., and Hegde, R. S. (2016) Decoding mammalian ribosome-mRNA states by translational GTPase complexes, *Cell*, **167**, 1229-1240 e1215, doi: 10.1016/j.cell.2016.10.046.
 177. Losada, A., Munoz-Alonso, M. J., Garcia, C., Sanchez-Murcia, P. A., Martinez-Leal, J. F., Dominguez, J. M., Lillo, M. P., Gago, F., and Galmarini, C. M. (2016) Translation elongation factor eEF1A2 is a novel anticancer target for the marine natural product plitidepsin, *Sci. Rep.*, **6**, 35100, doi: 10.1038/srep35100.
 178. Adrio, J., Cuevas, C., Manzanares, I., and Joullie, M. M. (2007) Total synthesis and biological evaluation of tamandarin B analogues, *J. Org. Chem.*, **72**, 5129-5138, doi: 10.1021/jo070412r.
 179. Lindqvist, L., Robert, F., Merrick, W., Kakeya, H., Fraser, C., Osada, H., and Pelletier, J. (2010) Inhibition of translation by cytotrienin A—a member of the ansamycin family, *RNA*, **16**, 2404-2413, doi: 10.1261/rna.2307710.
 180. Yamada, Y., Tashiro, E., Taketani, S., Imoto, M., and Kataoka, T. (2011) Mycotrienin II, a translation inhibitor that prevents ICAM-1 expression induced by pro-inflammatory cytokines, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **64**, 361-366, doi: 10.1038/ja.2011.23.
 181. Krastel, P., Roggo, S., Schirle, M., Ross, N. T., Perruccio, F., Aspesi, P., Jr., Aust, T., Buntin, K., Estoppey, D., Liechty, B., Mapa, F., Memmert, K., Miller, H., Pan, X., Riedl, R., Thibaut, C., Thomas, J., Wagner, T., Weber, E., Xie, X., Schmitt, E. K., and Hoepfner, D. (2015) Nannocystin A: an Elongation Factor 1 Inhibitor from Myxobacteria with Differential Anti-Cancer Properties, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **54**, 10149-10154, doi: 10.1002/anie.201505069.
 182. Justice, M. C., Hsu, M. J., Tse, B., Ku, T., Balkovec, J., Schmatz, D., and Nielsen, J. (1998) Elongation factor 2 as a novel target for selective inhibition of fungal protein synthesis, *J. Biol. Chem.*, **273**, 3148-3151, doi: 10.1074/jbc.273.6.3148.
 183. Dominguez, J. M., Kelly, V. A., Kinsman, O. S., Marriott, M. S., Gomez de las Heras, F., and Martin, J. J. (1998) Sordarins: a new class of antifungals with selective inhibition of the protein synthesis elongation cycle in yeasts, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, 2274-2278, doi: 10.1128/AAC.42.9.2274.
 184. Basilio, A., Justice, M., Harris, G., Bills, G., Collado, J., de la Cruz, M., Diez, M. T., Hernandez, P., Liberator, P., Nielsen Kahn, J., Pelaez, F., Platas, G., Schmatz, D., Shastry, M., Tormo, J. R., Andersen, G. R., and Vicente, F. (2006) The discovery of moriniafungin, a novel sordarin derivative produced by *Morinia pestalozzioides*, *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 560-566, doi: 10.1016/j.bmc.2005.08.046.
 185. Herreros, E., Almela, M. J., Lozano, S., Gomez de las Heras, F., and Gargallo-Viola, D. (2001) Antifungal activities and cytotoxicity studies of six new azasordarins, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 3132-3139, doi: 10.1128/AAC.45.11.3132-3139.2001.
 186. Jorgensen, R., Ortiz, P. A., Carr-Schmid, A., Nissen, P., Kinzy, T. G., and Andersen, G. R. (2003) Two crystal structures demonstrate large conformational changes in the eukaryotic ribosomal translocase, *Nat. Struct. Biol.*, **10**, 379-385, doi: 10.1038/nsb923.
 187. Soe, R., Mosley, R. T., Justice, M., Nielsen-Kahn, J., Shastry, M., Merrill, A. R., and Andersen, G. R. (2007) Sordarin derivatives induce a novel conformation of the yeast ribosome translocation factor eEF2, *J. Biol. Chem.*, **282**, 657-666, doi: 10.1074/jbc.M607830200.
 188. Spahn, C. M., Gomez-Lorenzo, M. G., Grassucci, R. A., Jorgensen, R., Andersen, G. R., Beckmann, R., Penczek, P. A., Ballesta, J. P., and Frank, J. (2004) Domain movements of elongation factor eEF2 and the eukaryotic 80S ribosome facilitate tRNA translocation, *EMBO J.*, **23**, 1008-1019, doi: 10.1038/sj.emboj.7600102.
 189. Malkin, M., and Lipmann, F. (1969) Fusidic acid: inhibition of factor T2 in reticulocyte protein synthesis, *Science*, **164**, 71-72, doi: 10.1126/science.164.3875.71.
 190. Botet, J., Rodriguez-Mateos, M., Ballesta, J. P., Revuelta, J. L., and Remacha, M. (2008) A chemical genomic screen in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a role for diphthamidation of translation elongation factor 2 in inhibition of protein synthesis by sordarin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **52**, 1623-1629, doi: 10.1128/AAC.01603-07.
 191. Yates, S. P., Jorgensen, R., Andersen, G. R., and Merrill, A. R. (2006) Stealth and mimicry by deadly bacterial toxins, *Trends Biochem. Sci.*, **31**, 123-133, doi: 10.1016/j.tibs.2005.12.007.
 192. Stichel, S. A., Gomes, N. P., Frederick, B., Raben, D., and Su, T. T. (2015) Bouvardin is a radiation modulator with a novel mechanism of action, *Radiat. Res.*, **184**, 392-403, doi: 10.1667/RR14068.1.
 193. Zalacain, M., Zaera, E., Vazquez, D., and Jimenez, A. (1982) The mode of action of the antitumor drug bouvardin, an inhibitor of protein synthesis in eukaryotic cells, *FEBS Lett.*, **148**, 95-97, doi: 10.1016/0014-5793(82)81250-7.
 194. Rambelli, F., Brigotti, M., Zamboni, M., Denaro, M., Montanaro, L., and Sperti, S. (1989) Effect of the antibiotic purpuromycin on cell-free protein-synthesizing systems, *Biochem. J.*, **259**, 307-310, doi: 10.1042/bj2590307.
 195. Baragana, B., Hallyburton, I., Lee, M. C., Norcross, N. R., Grimaldi, R., et al. (2015) A novel multiple-stage anti-malarial agent that inhibits protein synthesis, *Nature*, **522**, 315-320, doi: 10.1038/nature14451.
 196. Turpaev, K. T. (2018) Translation factor eIF5A, modification with hypusine and role in regulation of gene expression. eIF5A as a target for pharmacological interventions, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 863-873, doi: 10.1134/S0006297918080011.
 197. Dong, Z., and Zhang, J. T. (2003) EIF3 p170, a mediator of mimosine effect on protein synthesis and cell cycle progression, *Mol. Biol. Cell*, **14**, 3942-3951, doi: 10.1091/mbc.e02-12-0784.
 198. Moerke, N. J., Aktas, H., Chen, H., Cantel, S., Reibarkh, M. Y., Fahmy, A., Gross, J. D., Degterev, A., Yuan, J., Chorev, M., Halperin, J. A., and Wagner, G. (2007) Small-molecule inhibition of the interaction between the translation initiation factors eIF4E and eIF4G, *Cell*, **128**, 257-267, doi: 10.1016/j.cell.2006.11.046.

199. Sekiyama, N., Arthanari, H., Papadopoulos, E., Rodriguez-Mias, R. A., Wagner, G., and Leger-Abraham, M. (2015) Molecular mechanism of the dual activity of 4EGI-1: dissociating eIF4G from eIF4E but stabilizing the binding of unphosphorylated 4E-BP1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E4036-E4045, doi: 10.1073/pnas.1512118112.
200. Papadopoulos, E., Jenni, S., Kabha, E., Takroui, K. J., Yi, T., Salvi, N., Luna, R. E., Gavathiotis, E., Mahalingam, P., Arthanari, H., Rodriguez-Mias, R., Yefidoff-Freedman, R., Aktas, B. H., Chorev, M., Halperin, J. A., and Wagner, G. (2014) Structure of the eukaryotic translation initiation factor eIF4E in complex with 4EGI-1 reveals an allosteric mechanism for dissociating eIF4G, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, E3187-3195, doi: 10.1073/pnas.1410250111.
201. Shatsky, I. N., Dmitriev, S. E., Andreev, D. E., and Terenin, I. M. (2014) Transcriptome-wide studies uncover the diversity of modes of mRNA recruitment to eukaryotic ribosomes, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **49**, 164-177, doi: 10.3109/10409238.2014.887051.
202. Cencic, R., Hall, D. R., Robert, F., Du, Y., Min, J., Li, L., Qui, M., Lewis, I., Kurtkaya, S., Dingleline, R., Fu, H., Kozakov, D., Vajda, S., and Pelletier, J. (2011) Reversing chemoresistance by small molecule inhibition of the translation initiation complex eIF4F, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 1046-1051, doi: 10.1073/pnas.1011477108.
203. Cencic, R., Desforges, M., Hall, D. R., Kozakov, D., Du, Y., Min, J., Dingleline, R., Fu, H., Vajda, S., Talbot, P. J., and Pelletier, J. (2011) Blocking eIF4E-eIF4G interaction as a strategy to impair coronavirus replication, *J. Virol.*, **85**, 6381-6389, doi: 10.1128/JVI.00078-11.
204. Cao, J., He, L., Lin, G., Hu, C., Dong, R., Zhang, J., Zhu, H., Hu, Y., Wagner, C. R., He, Q., and Yang, B. (2014) Cap-dependent translation initiation factor, eIF4E, is the target for Ouabain-mediated inhibition of HIF-1 α , *Biochem. Pharmacol.*, **89**, 20-30, doi: 10.1016/j.bcp.2013.12.002.
205. Huang, C. T., Hsieh, C. H., Oyang, Y. J., Huang, H. C., and Juan, H. F. (2018) A large-scale gene expression intensity-based similarity metric for repositioning, *iScience*, **7**, 40-52, doi: 10.1016/j.isci.2018.08.017.
206. Perne, A., Muellner, M. K., Steinrueck, M., Craig-Mueller, N., Mayerhofer, J., Schwarzhinger, I., Sloane, M., Uras, I. Z., Hoermann, G., Nijman, S. M., and Mayerhofer, M. (2009) Cardiac glycosides induce cell death in human cells by inhibiting general protein synthesis, *PLoS One*, **4**, e8292, doi: 10.1371/journal.pone.0008292.
207. Hossan, M. S., Chan, Z. Y., Collins, H. M., Shipton, F. N., Butler, M. S., Rahmatullah, M., Lee, J. B., Gershkovich, P., Kagan, L., Khoo, T. J., Wiart, C., and Bradshaw, T. D. (2019) Cardiac glycoside cerberin exerts anticancer activity through PI3K/AKT/mTOR signal transduction inhibition, *Cancer Lett.*, **453**, 57-73, doi: 10.1016/j.canlet.2019.03.034.
208. Howard, C. M., Estrada, M., Terrero, D., Tiwari, A. K., and Raman, D. (2020) Identification of cardiac glycosides as novel inhibitors of eIF4A1-mediated translation in triple-negative breast cancer cells, *Cancers*, **12**, doi: 10.3390/cancers12082169.
209. Kentsis, A., Topisirovic, I., Culjkovic, B., Shao, L., and Borden, K. L. (2004) Ribavirin suppresses eIF4E-mediated oncogenic transformation by physical mimicry of the 7-methyl guanosine mRNA cap, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 18105-18110, doi: 10.1073/pnas.0406927102.
210. Westman, B., Beeren, L., Grudzien, E., Stepinski, J., Worch, R., Zuberek, J., Jemielity, J., Stolarski, R., Darzynkiewicz, E., Rhoads, R. E., and Preiss, T. (2005) The antiviral drug ribavirin does not mimic the 7-methyl-guanosine moiety of the mRNA cap structure *in vitro*, *RNA*, **11**, 1505-1513, doi: 10.1261/rna.2132505.
211. Yan, Y., Svitkin, Y., Lee, J. M., Bisailon, M., and Pelletier, J. (2005) Ribavirin is not a functional mimic of the 7-methyl guanosine mRNA cap, *RNA*, **11**, 1238-1244, doi: 10.1261/rna.2930805.
212. Kentsis, A., Volpon, L., Topisirovic, I., Soll, C. E., Culjkovic, B., Shao, L., and Borden, K. L. (2005) Further evidence that ribavirin interacts with eIF4E, *RNA*, **11**, 1762-1766, doi: 10.1261/rna.2238705.
213. Tan, K., Culjkovic, B., Amri, A., and Borden, K. L. (2008) Ribavirin targets eIF4E dependent Akt survival signaling, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **375**, 341-345, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.07.163.
214. Chu, J., and Pelletier, J. (2015) Targeting the eIF4A RNA helicase as an anti-neoplastic approach, *Biochim. Biophys. Acta*, **1849**, 781-791, doi: 10.1016/j.bbagr.2014.09.006.
215. Naineni, S. K., Itoua Maiga, R., Cencic, R., Putnam, A. A., Amador, L. A., Rodriguez, A. D., Jankowsky, E., and Pelletier, J. (2020) A comparative study of small molecules targeting eIF4A, *RNA*, **26**, 541-549, doi: 10.1261/rna.072884.119.
216. Cencic, R., and Pelletier, J. (2016) Hippuristanol – a potent steroid inhibitor of eukaryotic initiation factor 4A, *Translation*, **4**, e1137381, doi: 10.1080/21690731.2015.1137381.
217. Bordeleau, M. E., Matthews, J., Wójnar, J. M., Lindqvist, L., Novac, O., Jankowsky, E., Sonenberg, N., Northcote, P., Teesdale-Spittle, P., and Pelletier, J. (2005) Stimulation of mammalian translation initiation factor eIF4A activity by a small molecule inhibitor of eukaryotic translation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 10460-10465, doi: 10.1073/pnas.0504249102.
218. Low, W. K., Dang, Y., Schneider-Poetsch, T., Shi, Z., Choi, N. S., Merrick, W. C., Romo, D., and Liu, J. O. (2005) Inhibition of eukaryotic translation initiation by the marine natural product pateamine A, *Mol. Cell*, **20**, 709-722, doi: 10.1016/j.molcel.2005.10.008.
219. Iwasaki, S., Iwasaki, W., Takahashi, M., Sakamoto, A., Watanabe, C., Shichino, Y., Floor, S. N., Fujiwara, K., Mito, M., Dodo, K., Sodeoka, M., Imataka, H., Honma, T., Fukuzawa, K., Ito, T., and Ingolia, N. T. (2019) The translation inhibitor rocaglamide targets a bimolecular cavity between eIF4A and polypurine RNA, *Mol. Cell*, **73**, 738-748 e739, doi: 10.1016/j.molcel.2018.11.026.
220. Cencic, R., Carrier, M., Galicia-Vazquez, G., Bordeleau, M. E., Sukarieh, R., Bourdeau, A., Brem, B., Teodoro, J. G., Greger, H., Tremblay, M. L., Porco, J. A., Jr., and Pelletier, J. (2009) Antitumor activity and mechanism of action of the cyclopenta[b]benzofuran, silvestrol, *PLoS One*, **4**, e5223, doi: 10.1371/journal.pone.0005223.
221. Chu, J., Zhang, W., Cencic, R., O'Connor, P. B. F., Robert, F., Devine, W. G., Selznick, A., Henkel, T., Merrick, W. C., Brown, L. E., Baranov, P. V., Porco, J. A., Jr., and Pelletier, J. (2020) Rocaglates induce gain-of-function alterations to eIF4A and eIF4F, *Cell Rep.*, **30**, 2481-2488 e2485, doi: 10.1016/j.celrep.2020.02.002.
222. Low, W. K., Li, J., Zhu, M., Kommaraju, S. S., Shah-Mittal, J., Hull, K., Liu, J. O., and Romo, D. (2014) Second-generation derivatives of the eukaryotic translation initiation inhibitor pateamine A targeting eIF4A as potential anticancer agents, *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 116-125, doi: 10.1016/j.bmc.2013.11.046.
223. Tillotson, J., Kedzior, M., Guimaraes, L., Ross, A. B., Peters, T. L., Ambrose, A. J., Schmidlin, C. J., Zhang, D. D., Costa-Lotufo, L. V., Rodriguez, A. D., Schatz, J. H., and Chapman, E. (2017) ATP-competitive, marine derived natural products that target the DEAD box helicase,

- eIF4A, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 4082-4085, doi: 10.1016/j.bmcl.2017.07.045.
224. Stewart, M. L., Grollman, A. P., and Huang, M. T. (1971) Aurintricarboxylic acid: inhibitor of initiation of protein synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 97-101, doi: 10.1073/pnas.68.1.97.
225. Huang, M. T., and Grollman, A. P. (1973) Pyrocatechol violet: an inhibitor of initiation of protein synthesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **53**, 1049-1059, doi: 10.1016/0006-291x(73)90571-8.
226. Gonzalez, R. G., Blackburn, B. J., and Schleich, T. (1979) Fractionation and structural elucidation of the active components of aurintricarboxylic acid, a potent inhibitor of protein nucleic acid interactions, *Biochim. Biophys. Acta*, **562**, 534-545, doi: 10.1016/0005-2787(79)90116-3.
227. Liao, L. L., Horwitz, S. B., Huang, M. T., Grollman, A. P., Steward, D., and Martin, J. (1975) Triphenylmethane dyes as inhibitors of reverse transcriptase, ribonucleic acid polymerase, and protein synthesis. Structure-activity relationships, *J. Med. Chem.*, **18**, 117-120, doi: 10.1021/jm00235a029.
228. Leader, D. P. (1972) Aurintricarboxylic acid inhibition of the binding of phenylalanyl-tRNA to rat liver ribosomal subunits, *FEBS Lett.*, **22**, 245-248, doi: 10.1016/0014-5793(72)80055-3.
229. Contreras, A., Vazquez, D., and Carrasco, L. (1978) Inhibition, by selected antibiotics, of protein synthesis in cells growing in tissue cultures, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **31**, 598-602, doi: 10.7164/antibiotics.31.598.
230. Novac, O., Guenier, A. S., and Pelletier, J. (2004) Inhibitors of protein synthesis identified by a high throughput multiplexed translation screen, *Nucleic Acids Res.*, **32**, 902-915, doi: 10.1093/nar/gkh235.
231. Terenin, I. M., Dmitriev, S. E., Andreev, D. E., and Shatsky, I. N. (2008) Eukaryotic translation initiation machinery can operate in a bacterial-like mode without eIF2, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **15**, 836-841, doi: 10.1038/nsmb.1445.
232. Robert, F., Kapp, L. D., Khan, S. N., Acker, M. G., Kolitz, S., Kazemi, S., Kaufman, R. J., Merrick, W. C., Koromilas, A. E., Lorsch, J. R., and Pelletier, J. (2006) Initiation of protein synthesis by hepatitis C virus is refractory to reduced eIF2.GTP.Met-tRNA(i)(Met) ternary complex availability, *Mol. Biol. Cell*, **17**, 4632-4644, doi: 10.1091/mbc.e06-06-0478.
233. Carvalho, A., Chu, J., Meinguet, C., Kiss, R., Vandenbussche, G., Masereel, B., Wouters, J., Kornienko, A., Pelletier, J., and Mathieu, V. (2017) A harmine-derived beta-carboline displays anti-cancer effects in vitro by targeting protein synthesis, *Eur. J. Pharmacol.*, **805**, 25-35, doi: 10.1016/j.ejphar.2017.03.034.
234. Lee, J., Kang, S. U., Kang, M. K., Chun, M. W., Jo, Y. J., Kwak, J. H., and Kim, S. (1999) Methionyl adenylate analogues as inhibitors of methionyl-tRNA synthetase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 1365-1370, doi: 10.1016/s0960-894x(99)00206-1.
235. Lee, J., Kang, M. K., Chun, M. W., Jo, Y. J., Kwak, J. H., and Kim, S. (1998) Methionine analogues as inhibitors of methionyl-tRNA synthetase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 3511-3514, doi: 10.1016/s0960-894x(98)00642-8.
236. Nevinsky, G. A., Favorova, O. O., Lavrik, O. I., Petrova, T. D., Kochkina, L. L., and Savchenko, T. I. (1974) Fluorinated tryptophans as substrates and inhibitors of the ATP-(32P)PPI exchange reaction catalysed by tryptophanyl tRNA synthetase, *FEBS Lett.*, **43**, 135-138, doi: 10.1016/0014-5793(74)80985-3.
237. Zhao, Y., Meng, Q., Bai, L., and Zhou, H. (2014) *In silico* discovery of aminoacyl-tRNA synthetase inhibitors, *Int. J. Mol. Sci.*, **15**, 1358-1373, doi: 10.3390/ijms15011358.
238. Lux, M. C., Standke, L. C., and Tan, D. S. (2019) Targeting adenylate-forming enzymes with designed sulfonadenosine inhibitors, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **72**, 325-349, doi: 10.1038/s41429-019-0171-2.
239. Francklyn, C. S., and Mullen, P. (2019) Progress and challenges in aminoacyl-tRNA synthetase-based therapeutics, *J. Biol. Chem.*, **294**, 5365-5385, doi: 10.1074/jbc.REV118.002956.
240. Alix, J. H. (1982) Molecular aspects of the *in vivo* and *in vitro* effects of ethionine, an analog of methionine, *Microbiol. Rev.*, **46**, 281-295.
241. Fang, P., Yu, X., Jeong, S. J., Mirando, A., Chen, K., Chen, X., Kim, S., Francklyn, C. S., and Guo, M. (2015) Structural basis for full-spectrum inhibition of translational functions on a tRNA synthetase, *Nat. Commun.*, **6**, 6402, doi: 10.1038/ncomms7402.
242. el Khoury, A., and Atoui, A. (2010) Ochratoxin a: general overview and actual molecular status, *Toxins*, **2**, 461-493, doi: 10.3390/toxins2040461.
243. Keller, T. L., Zocco, D., Sundrud, M. S., Hendrick, M., Edenius, M., Yum, J., Kim, Y. J., Lee, H. K., Cortese, J. F., Wirth, D. F., Dignam, J. D., Rao, A., Yeo, C. Y., Mazitschek, R., and Whitman, M. (2012) Halofuginone and other febrifugine derivatives inhibit prolyl-tRNA synthetase, *Nat. Chem. Biol.*, **8**, 311-317, doi: 10.1038/nchembio.790.
244. Sundrud, M. S., Koralov, S. B., Feuerer, M., Calado, D. P., Kozhaya, A. E., Rhule-Smith, A., Lefebvre, R. E., Unutmaz, D., Mazitschek, R., Waldner, H., Whitman, M., Keller, T., and Rao, A. (2009) Halofuginone inhibits TH1 cell differentiation by activating the amino acid starvation response, *Science*, **324**, 1334-1338, doi: 10.1126/science.1172638.
245. Sarkar, J., Mao, W., Lincecum, T. L., Jr., Alley, M. R., and Martinis, S. A. (2011) Characterization of benzoxaborole-based antifungal resistance mutations demonstrates that editing depends on electrostatic stabilization of the leucyl-tRNA synthetase editing cap, *FEBS Lett.*, **585**, 2986-2991, doi: 10.1016/j.febslet.2011.08.010.
246. Marjanovic, J., and Kozmin, S. A. (2007) Spirofungin A: stereoselective synthesis and inhibition of isoleucyl-tRNA synthetase, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **46**, 8854-8857, doi: 10.1002/anie.200702440.
247. Shimizu, T., Usui, T., Machida, K., Furuya, K., Osada, H., and Nakata, T. (2002) Chemical modification of reveromycin A and its biological activities, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 3363-3366, doi: 10.1016/s0960-894x(02)00782-5.
248. Miyamoto, Y., Machida, K., Mizunuma, M., Emoto, Y., Sato, N., Miyahara, K., Hirata, D., Usui, T., Takahashi, H., Osada, H., and Miyakawa, T. (2002) Identification of *Saccharomyces cerevisiae* isoleucyl-tRNA synthetase as a target of the G1-specific inhibitor Reveromycin A, *J. Biol. Chem.*, **277**, 28810-28814, doi: 10.1074/jbc.M203827200.
249. Woo, J. T., Kawatani, M., Kato, M., Shinki, T., Yonezawa, T., Kanoh, N., Nakagawa, H., Takami, M., Lee, K. H., Stern, P. H., Nagai, K., and Osada, H. (2006) Reveromycin A, an agent for osteoporosis, inhibits bone resorption by inducing apoptosis specifically in osteoclasts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 4729-4734, doi: 10.1073/pnas.0505663103.
250. Kirillov, S., Vitali, L. A., Goldstein, B. P., Monti, F., Semenov, Y., Makhno, V., Ripa, S., Pon, C. L., and Gualerzi, C. O. (1997) Purpuromycin: an antibiotic inhibiting tRNA aminoacylation, *RNA*, **3**, 905-913.
251. Van de Vijver, P., Ostrowski, T., Sproat, B., Goebels, J., Rutgeerts, O., Van Aerschot, A., Waer, M., and Herdewijn, P. (2008) Aminoacyl-tRNA synthetase inhibitors as potent and synergistic immunosuppressants, *J. Med. Chem.*, **51**, 3020-3029, doi: 10.1021/jm8000746.

252. Kim, Y., Sundrud, M. S., Zhou, C., Edenius, M., Zocco, D., Powers, K., Zhang, M., Mazitschek, R., Rao, A., Yeo, C. Y., Noss, E. H., Brenner, M. B., Whitman, M., and Keller, T. L. (2020) Aminoacyl-tRNA synthetase inhibition activates a pathway that branches from the canonical amino acid response in mammalian cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 8900-8911, doi: 10.1073/pnas.1913788117.
253. Proud, C. G. (2019) Phosphorylation and Signal Transduction Pathways in Translational Control, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **11**, a033050, doi: 10.1101/cshperspect.a033050.
254. Roux, P. P., and Topisirovic, I. (2012) Regulation of mRNA translation by signaling pathways, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **4**, a012252, doi: 10.1101/cshperspect.a012252.
255. Thoreen, C. C. (2017) The molecular basis of mTORC1-regulated translation, *Biochem. Soc. Trans.*, **45**, 213-221, doi: 10.1042/BST20160072.
256. Siddiqui, N., and Sonenberg, N. (2015) Signalling to eIF4E in cancer, *Biochemical Soc. Trans.*, **43**, 763-772, doi: 10.1042/BST20150126.
257. Andreev, D. E., Dmitriev, S. E., Loughran, G., Terenin, I. M., Baranov, P. V., and Shatsky, I. N. (2018) Translation control of mRNAs encoding mammalian translation initiation factors, *Gene*, **651**, 174-182, doi: 10.1016/j.gene.2018.02.013.
258. Cockman, E., Anderson, P., and Ivanov, P. (2020) TOP mRNPs: molecular mechanisms and principles of regulation, *Biomolecules*, **10**, doi: 10.3390/biom10070969.
259. Hua, H., Kong, Q., Zhang, H., Wang, J., Luo, T., and Jiang, Y. (2019) Targeting mTOR for cancer therapy, *J. Hematol. Oncol.*, **12**, 71, doi: 10.1186/s13045-019-0754-1.
260. Anisimova, A. S., Meerson, M. B., Gerashchenko, M. V., Kulakovskiy, I. V., Dmitriev, S. E., and Gladyshev, V. N. (2020) Multifaceted deregulation of gene expression and protein synthesis with age, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 15581-15590, doi: 10.1073/pnas.2001788117.
261. Anisimova, A. S., Alexandrov, A. I., Makarova, N. E., Gladyshev, V. N., and Dmitriev, S. E. (2018) Protein synthesis and quality control in aging, *Aging*, **10**, 4269-4288, doi: 10.18632/aging.101721.
262. Schenone, S., Brullo, C., Musumeci, F., Radi, M., and Botta, M. (2011) ATP-competitive inhibitors of mTOR: an update, *Curr. Med. Chem.*, **18**, 2995-3014, doi: 10.2174/092986711796391651.
263. Brunn, G. J., Williams, J., Sabers, C., Wiederrecht, G., Lawrence, J. C., Jr., and Abraham, R. T. (1996) Direct inhibition of the signaling functions of the mammalian target of rapamycin by the phosphoinositide 3-kinase inhibitors, wortmannin and LY294002, *EMBO J.*, **15**, 5256-5267.
264. Li, B. B., Qian, C., Gameiro, P. A., Liu, C. C., Jiang, T., Roberts, T. M., Struhl, K., and Zhao, J. J. (2018) Targeted profiling of RNA translation reveals mTOR-4EBP1/2-independent translation regulation of mRNAs encoding ribosomal proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, E9325-E9332, doi: 10.1073/pnas.1805782115.
265. Donnelly, N., Gorman, A. M., Gupta, S., and Samali, A. (2013) The eIF2alpha kinases: their structures and functions, *Cell. Mol. Life Sci.*, **70**, 3493-3511, doi: 10.1007/s00018-012-1252-6.
266. Wek, R. C. (2018) Role of eIF2alpha kinases in translational control and adaptation to cellular stress, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **10**, doi: 10.1101/cshperspect.a032870.
267. Akulich, K. A., Andreev, D. E., Terenin, I. M., Smirnova, V. V., Anisimova, A. S., Makeeva, D. S., Arkhipova, V. I., Stolboushkina, E. A., Garber, M. B., Prokofjeva, M. M., Spirin, P. V., Prassolov, V. S., Shatsky, I. N., and Dmitriev, S. E. (2016) Four translation initiation pathways employed by the leaderless mRNA in eukaryotes, *Sci. Rep.*, **6**, 37905, doi: 10.1038/srep37905.
268. Joshi, M., Kulkarni, A., and Pal, J. K. (2013) Small molecule modulators of eukaryotic initiation factor 2alpha kinases, the key regulators of protein synthesis, *Biochimie*, **95**, 1980-1990, doi: 10.1016/j.biochi.2013.07.030.
269. Chen, T., Ozel, D., Qiao, Y., Harbinski, F., Chen, L., Denoyelle, S., He, X., Zvereva, N., Supko, J. G., Chorev, M., Halperin, J. A., and Aktas, B. H. (2011) Chemical genetics identify eIF2alpha kinase heme-regulated inhibitor as an anticancer target, *Nat. Chem. Biol.*, **7**, 610-616, doi: 10.1038/nchembio.613.
270. Ganz, J., Shacham, T., Kramer, M., Shenkman, M., Eiger, H., Weinberg, N., Iancovici, O., Roy, S., Simhaev, L., Da'adoosh, B., Engel, H., Perets, N., Barhum, Y., Portnoy, M., Offen, D., and Lederkremer, G. Z. (2020) A novel specific PERK activator reduces toxicity and extends survival in Huntington's disease models, *Sci. Rep.*, **10**, 6875, doi: 10.1038/s41598-020-63899-4.
271. Stockwell, S. R., Platt, G., Barrie, S. E., Zoumpoulidou, G., Te Poele, R. H., Aherne, G. W., Wilson, S. C., Sheldrake, P., McDonald, E., Venet, M., Soudy, C., Elustondo, F., Rigoreau, L., Blagg, J., Workman, P., Garrett, M. D., and Mittnacht, S. (2012) Mechanism-based screen for G1/S checkpoint activators identifies a selective activator of EIF2AK3/PERK signalling, *PLoS One*, **7**, e28568, doi: 10.1371/journal.pone.0028568.
272. Damgaard, C. K., and Lykke-Andersen, J. (2011) Translational coregulation of 5'TOP mRNAs by TIA-1 and TIAR, *Genes Dev.*, **25**, 2057-2068, doi: 10.1101/gad.17355911.
273. Costa-Mattoli, M., Gobert, D., Stern, E., Gamache, K., Colina, R., Cuello, C., Sossin, W., Kaufman, R., Pelletier, J., Rosenblum, K., Krnjevic, K., Lacaille, J. C., Nader, K., and Sonenberg, N. (2007) eIF2alpha phosphorylation bidirectionally regulates the switch from short- to long-term synaptic plasticity and memory, *Cell*, **129**, 195-206, doi: 10.1016/j.cell.2007.01.050.
274. Boyce, M., Bryant, K. F., Jousse, C., Long, K., Harding, H. P., Scheuner, D., Kaufman, R. J., Ma, D., Coen, D. M., Ron, D., and Yuan, J. (2005) A selective inhibitor of eIF2alpha dephosphorylation protects cells from ER stress, *Science*, **307**, 935-939, doi: 10.1126/science.1101902.
275. Kim, S. M., Yoon, S. Y., Choi, J. E., Park, J. S., Choi, J. M., Nguyen, T., and Kim, D. H. (2010) Activation of eukaryotic initiation factor-2 alpha-kinases in okadaic acid-treated neurons, *Neuroscience*, **169**, 1831-1839, doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.06.016.
276. Wakula, P., Beullens, M., van Eynde, A., Ceulemans, H., Stalmans, W., and Bollen, M. (2006) The translation initiation factor eIF2beta is an interactor of protein phosphatase-1, *Biochem. J.*, **400**, 377-383, doi: 10.1042/BJ20060758.
277. Kolupaeva, V. (2019) Serine-threonine protein phosphatases: Lost in translation, *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.*, **1866**, 83-89, doi: 10.1016/j.bbamcr.2018.08.006.
278. Sidrauski, C., Acosta-Alvear, D., Khoutorsky, A., Vedantham, P., Hearn, B. R., Li, H., Gamache, K., Gallagher, C. M., Ang, K. K., Wilson, C., Okreglak, V., Ashkenazi, A., Hann, B., Nader, K., Arkin, M. R., Renslo, A. R., Sonenberg, N., and Walter, P. (2013) Pharmacological brake-release of mRNA translation enhances cognitive memory, *eLife*, **2**, e00498, doi: 10.7554/eLife.00498.
279. Rabouw, H. H., Langereis, M. A., Anand, A. A., Visser, L. J., de Groot, R. J., Walter, P., and van Kuppeveld, F. J. M. (2019) Small molecule ISRIB suppresses the integrated stress response within a defined window of activation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 2097-2102, doi: 10.1073/pnas.1815767116.

280. Chen, Z., Gopalakrishnan, S. M., Bui, M. H., Soni, N. B., Warrior, U., Johnson, E. F., Donnelly, J. B., and Glaser, K. B. (2011) 1-Benzyl-3-cetyl-2-methylimidazolium iodide (NH125) induces phosphorylation of eukaryotic elongation factor-2 (eEF2): a cautionary note on the anticancer mechanism of an eEF2 kinase inhibitor, *J. Biol. Chem.*, **286**, 43951-43958, doi: 10.1074/jbc.M111.301291.
281. De Gassart, A., Demaria, O., Panes, R., Zaffalon, L., Ryazanov, A. G., Gilliet, M., and Martinon, F. (2016) Pharmacological eEF2K activation promotes cell death and inhibits cancer progression, *EMBO Rep.*, **17**, 1471-1484, doi: 10.15252/embr.201642194.
282. Devkota, A. K., Tavares, C. D., Warthaka, M., Abramczyk, O., Marshall, K. D., Kaoud, T. S., Gorgulu, K., Ozpolat, B., and Dalby, K. N. (2012) Investigating the kinetic mechanism of inhibition of elongation factor 2 kinase by NH125: evidence of a common in vitro artifact, *Biochemistry*, **51**, 2100-2112, doi: 10.1021/bi201787p.
283. Beretta, S., Gritti, L., Verpelli, C., and Sala, C. (2020) Eukaryotic elongation factor 2 kinase a pharmacological target to regulate protein translation dysfunction in neurological diseases, *Neuroscience*, **445**, 42-49, doi: 10.1016/j.neuroscience.2020.02.015.
284. Niederberger, E., King, T. S., Russe, O. Q., and Geisslinger, G. (2015) Activation of AMPK and its impact on exercise capacity, *Sports Med.*, **45**, 1497-1509, doi: 10.1007/s40279-015-0366-z.
285. Johanns, M., Pyr Dit Ruys, S., Houddane, A., Vertommen, D., Herinckx, G., Hue, L., Proud, C. G., and Rider, M. H. (2017) Direct and indirect activation of eukaryotic elongation factor 2 kinase by AMP-activated protein kinase, *Cell. Signal.*, **36**, 212-221, doi: 10.1016/j.cellsig.2017.05.010.
286. Sitron, C. S., and Brandman, O. (2020) Detection and degradation of stalled nascent chains via ribosome-associated quality control, *Annu. Rev. Biochem.*, **89**, 417-442, doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-110729.
287. Iordanov, M. S., Pribnow, D., Magun, J. L., Dinh, T. H., Pearson, J. A., Chen, S. L., and Magun, B. E. (1997) Ribotoxic stress response: activation of the stress-activated protein kinase JNK1 by inhibitors of the peptidyl transferase reaction and by sequence-specific RNA damage to the alpha-sarcin/ricin loop in the 28S rRNA, *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 3373-3381, doi: 10.1128/mcb.17.6.3373.
288. Shifrin, V. L., and Anderson, P. (1999) Trichothecene mycotoxins trigger a ribotoxic stress response that activates c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase and induces apoptosis, *J. Biol. Chem.*, **274**, 13985-13992, doi: 10.1074/jbc.274.20.13985.
289. He, K., Zhou, H. R., and Pestka, J. J. (2012) Targets and intracellular signaling mechanisms for deoxynivalenol-induced ribosomal RNA cleavage, *Toxicol. Sci.*, **127**, 382-390, doi: 10.1093/toxsci/kfs134.
290. He, K., Zhou, H. R., and Pestka, J. J. (2012) Mechanisms for ribotoxin-induced ribosomal RNA cleavage, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **265**, 10-18, doi: 10.1016/j.taap.2012.09.017.
291. Yang, G. H., Jarvis, B. B., Chung, Y. J., and Pestka, J. J. (2000) Apoptosis induction by the satratoxins and other trichothecene mycotoxins: relationship to ERK, p38 MAPK, and SAPK/JNK activation, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **164**, 149-160, doi: 10.1006/taap.1999.8888.
292. Li, M., and Pestka, J. J. (2008) Comparative induction of 28S ribosomal RNA cleavage by ricin and the trichothecenes deoxynivalenol and T-2 toxin in the macrophage, *Toxicol. Sci.*, **105**, 67-78, doi: 10.1093/toxsci/kfn111.
293. Lee, K. H., Nishimura, S., Matsunaga, S., Fusetani, N., Ichijo, H., Horinouchi, S., and Yoshida, M. (2006) Induction of a ribotoxic stress response that stimulates stress-activated protein kinases by 13-deoxydanolide, an antitumor marine macrolide, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 161-171, doi: 10.1271/bbb.70.161.
294. Vind, A. C., Snieckute, G., Blasius, M., Tiedje, C., Krogh, N., Bekker-Jensen, D. B., Andersen, K. L., Nordgaard, C., Tollenaere, M. A. X., Lund, A. H., Olsen, J. V., Nielsen, H., and Bekker-Jensen, S. (2020) ZAKalpha recognizes stalled ribosomes through partially redundant sensor domains, *Mol. Cell*, **78**, 700-713 e707, doi: 10.1016/j.molcel.2020.03.021.
295. Yamada, Y., Taketani, S., Osada, H., and Kataoka, T. (2011) Cytotrienin A, a translation inhibitor that induces ectodomain shedding of TNF receptor 1 via activation of ERK and p38 MAP kinase, *Eur. J. Pharmacol.*, **667**, 113-119, doi: 10.1016/j.ejphar.2011.05.072.
296. Francis, S. P., Katz, J., Fanning, K. D., Harris, K. A., Nicholas, B. D., Lacy, M., Pagana, J., Agris, P. F., and Shin, J. B. (2013) A novel role of cytosolic protein synthesis inhibition in aminoglycoside ototoxicity, *J. Neurosci.*, **33**, 3079-3093, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3430-12.2013.
297. Jandhyala, D. M., Ahluwalia, A., Obrig, T., and Thorpe, C. M. (2008) ZAK: a MAP3Kinase that transduces Shiga toxin- and ricin-induced proinflammatory cytokine expression, *Cell. Microbiol.*, **10**, 1468-1477, doi: 10.1111/j.1462-5822.2008.01139.x.
298. Wang, X., Mader, M. M., Toth, J. E., Yu, X., Jin, N., Campbell, R. M., Smallwood, J. K., Christe, M. E., Chatterjee, A., Goodson, T., Jr., Vlahos, C. J., Matter, W. F., and Bloem, L. J. (2005) Complete inhibition of anisomycin and UV radiation but not cytokine induced JNK and p38 activation by an aryl-substituted dihydropyrrrolopyrazole quinoline and mixed lineage kinase 7 small interfering RNA, *J. Biol. Chem.*, **280**, 19298-19305, doi: 10.1074/jbc.M413059200.
299. Sauter, K. A., Magun, E. A., Iordanov, M. S., and Magun, B. E. (2010) ZAK is required for doxorubicin, a novel ribotoxic stressor, to induce SAPK activation and apoptosis in HaCaT cells, *Cancer Biol. Ther.*, **10**, 258-266, doi: 10.4161/cbt.10.3.12367.
300. Wolfson, R. L., and Sabatini, D. M. (2017) The dawn of the age of amino acid sensors for the mTORC1 pathway, *Cell Metab.*, **26**, 301-309, doi: 10.1016/j.cmet.2017.07.001.
301. Bhat, M., Robichaud, N., Hulea, L., Sonenberg, N., Pelletier, J., and Topisirovic, I. (2015) Targeting the translation machinery in cancer, *Nat. rev. Drug Discov.*, **14**, 261-278, doi: 10.1038/nrd4505.
302. Gilles, A., Frechin, L., Natchiar, K., Biondani, G., Loeffelholz, O. V., Holvec, S., Malaval, J. L., Winum, J. Y., Klaholz, B. P., and Peyron, J. F. (2020) Targeting the human 80S ribosome in cancer: from structure to function and drug design for innovative adjuvant therapeutic strategies, *Cells*, **9**, 629, doi: 10.3390/cells9030629.
303. Osterman, I. A., Bogdanov, A. A., Dontsova, O. A., and Sergiev, P. V. (2016) Techniques for screening translation inhibitors, *Antibiotics*, **5**, 22, doi: 10.3390/antibiotics5030022.
304. Ivanenkov, Y. A., Zhavoronkov, A., Yamidanov, R. S., Osterman, I. A., Sergiev, P. V., Aladinskiy, V. A., Aladinskaya, A. V., Terentiev, V. A., Veselov, M. S., Ayginin, A. A., Kartsev, V. G., Skvortsov, D. A., Chemeris, A. V., Baimiev, A. K., Sofronova, A. A., Malyshev, A. S., Filkov, G. I., Bezrukov, D. S., Zagribelnyy, B. A., Putin, E. O., et al. (2019) Identification of novel antibacterials using machine learning techniques, *Front. Pharmacol.*, **10**, 913, doi: 10.3389/fphar.2019.00913.
305. Blanchard, S. C., Cooperman, B. S., and Wilson, D. N. (2010) Probing translation with small-molecule inhibitors, *Chem. Biol.*, **17**, 633-645, doi: 10.1016/j.chembiol.2010.06.003.

**A QUICK GUIDE TO SMALL-MOLECULE INHIBITORS
OF EUKARYOTIC PROTEIN SYNTHESIS*****Review****S. E. Dmitriev^{1,2,3**}, D. O. Vladimirov², and K. A. Lashkevich¹**¹ *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia; E-mail: sergey.dmitriev@belozersky.msu.ru*² *Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia*³ *Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia*

Received August 26, 2020

Revised October 04, 2020

Accepted October 04, 2020

The eukaryotic ribosome and cap-dependent translation machinery are attractive targets for antitumor, antiviral, anti-inflammatory, and antiparasitic therapies. A wide range of small molecule drugs specifically inhibiting protein biosynthesis in eukaryotic cells is currently known. A large number of such compounds are found among the well-studied ribosome-targeting antibiotics, which include drugs inhibiting translocation, blocking the peptidyltransferase center or the ribosomal peptide tunnel, inducing miscoding, premature termination and stop codon readthrough, or modulating ribosomal binding of translation machinery components. Small molecule inhibitors of aminoacyl-tRNA synthetases, translation factors, and translation associated signaling pathways, including mTOR kinase, are also in focus. Ribosome-targeting inhibitors are widely used in gene expression analysis by ribosome profiling, in cell culture techniques, as fungicides in agriculture, as anthelmintic and antifungal agents in medicine. Substances that affect the accuracy of stop codon recognition are promising drugs for nonsense-suppression therapy of hereditary diseases and for restoring the function of tumor suppressors in cancer cells. Some translation inhibitors have geroprotective properties. In this review, we present a list of both well-studied and less well known inhibitors of eukaryotic protein synthesis (with the exception of translation in mitochondria and plastids), supplemented by information on their direct targets and a brief description of their mechanisms of action. We also present a continuously updated database, currently containing information on 370 compounds inhibiting eukaryotic protein synthesis: <http://eupsic.belozersky.msu.ru/>.

Keywords: small molecular drugs, 40S and 60S ribosomal subunits, 4E-BP1, eIF2 phosphorylation, ribotoxic stress, cycloheximide, harringtonine, trichothecene mycotoxins, aminoglycosides, rapamycin