



VIII

**Ежегодная научная конференция
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук
14-16 февраля 2022**

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Москва

ПЛАНКТОМИЦЕТЫ ГРУППЫ WD2101: УСКОЛЬЗАЮЩИЕ ОТ МИКРОБИОЛОГОВ КОЛОНИЗАТОРЫ НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Дедыш С.Н.¹, Белецкий А.В.², Иванова А.А.¹, Куличевская И.С.¹, Ракитин А.Л.², Марданов А.В.², Равин Н.В.²

¹ ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² ИНБ ФИЦ Биотехнологии РАН

WD2101 – это филогенетическая ветвь планктомицетов уровня порядка, которая до недавнего времени имела статус «некультивируемой» группы-кандидата. Свое условное название (WD2101) она унаследовала от номера клонированной последовательности гена 16S рРНК (номер депонирования в ГенБанке AJ292687), полученной в 2001 году в одной из первых работ по молекулярному анализу микробного разнообразия в почве. С введением молекулярных методов в практику микробиологических исследований увеличение числа депонированных в ГенБанк последовательностей группы WD2101 приобрело лавинообразный характер. Подавляющее большинство этих последовательностей были получены из почв и торфов, из-за чего в англоязычной литературе эту группу планктомицетов адресуют как «soil group WD2101». Несмотря на такое широкое распространение, получить представителей этих почвенных микроорганизмов в культурах долгое время не удавалось. В настоящем докладе будет представлена работа, посвященная исследованию экологии, физиологии, ультраструктуры клеток и геномного потенциала первого культивируемого представителя этой группы планктомицетов из торфяных почв – штамма M1803. Наиболее интересной находкой, сделанной в ходе исследования штамма M1803, было обнаружение в клетках этого планктомицета специализированных микрокомпартментов – метаболосом. Последние предназначены для структурного обособления метаболических реакций, в ходе которых образуются токсичные метаболиты, такие как альдегиды. Одним из примеров является аэробная деградация некоторых сахаров, входящих в состав клеточной стенки растений, таких как фукоза и рамноза. Оперон, кодирующий клеточные микрокомпартменты у штамма M1803, был подобен таковому у ранее исследованного *Planctomyces limnophilus* Mū290, который, однако, относится к другому классу планктомицетов – Planctomycetia. Применение электронной микроскопии для анализа клеток штамма M1803 позволило выявить многочисленные микрокомпартменты, которые были наиболее ярко выражены в клетках, выращенных на L-рамнозе. Данные геномного и филогеномного анализов, а также детальная ультраструктурная и физиологическая характеристика штамма M1803 позволили описать его в качестве нового рода и вида планктомицетов – *Humisphaera borealis* gen. nov., sp. nov. Новые данные о физиологии этих бактерий дают ключ к дальнейшему расширению исследованного разнообразия планктомицетов ранее некультивируемой группы WD2101.

Работа поддержана грантами РНФ 16-14-10210 и РФФИ 19-29-05059.

Публикация:

Dedysh S.N., Beletsky A.V., Ivanova A.A., Kulichevskaya I.S., Suzina N.E., Philippov D.A., Rakitin A.L., Mardanov A.V., Ravin N.V. Wide distribution of *Phycisphaera*-like planctomycetes from WD2101 soil group in peatlands and genome analysis of the first cultivated representative // **Environmental Microbiology**. 2021. V. 23 (5). P. 1510–1526. Doi: 10.1111/1462-2920.15360

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ АНТИБИОТИКА С ОТСУТСТВИЕМ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Рябова О.Б.¹, Монахова Н.С.¹, Егорова А.П.¹, Лепешкин А.Ю.¹, Казакова Е.С.¹, Макаров В.А.¹, Speer A.², Bitter W.², Cole S.³

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Медицинский Центр Университета Амстердама, Нидерланды

³ Институт Пастера, Париж, Франция

Работа направлена на комплексное изучение возможностей новой стратегии ингибирования бактерий, в частности *M. Tuberculosis*, путем подавления их вирулентности с целью разработки оригинальных подходов к созданию нового поколения противоинфекционных препаратов с отсутствием развития резистентности. Известно, что для нормальной жизнедеятельности микобактерий туберкулеза им требуются системы секреции белков, таких как Sec, Tat и ESX, необходимых бактериям для выживания и вирулентности внутри клетки хозяина, в то время как в условиях роста *in vitro* эти факторы не являются существенными для выживания микобактерий. В основе нашей идеи лежит информация о хорошо известной аттенуированной вакцине *M. bovis* BCG (БЦЖ), у которой отсутствуют функции системы ESX-1 вследствие делеции соответствующей геномной области.

Нами предприняты попытки провести дизайн, синтез и исследование малых молекул, способных ингибировать системы секреции ESX бактерий, что открывает возможность создания препаратов, направленных на подавление вирулентности. Соответствующие эксперименты были проведены в моделях инфекции макрофагов и у животных. Нам удалось идентифицировать два класса малых молекул, которые не оказывая прямого бактерицидного действия, блокируют факторы вирулентности бактерий, что в итоге приводит к их гибели. На примере инфекции микобактерий туберкулеза было показано, что данный подход реализуется не только в опытах *ex vivo*, но и на моделях животных.

Так же мы показали, что ингибиторы вирулентности, не вызывают, как минимум, быстрого развития резистентности у бактерий, поскольку их действие направлено не на прямое уничтожение патогена, а на снижение его вирулентности.

Работа была поддержана грантом РФФИ и Горизонт 2025 (Nactar).

Публикации:

1. Trespidi G., Scoffone V. C., Barbieri G., Marchesini F., Abualshar A., Coenye T., Ungaro F., Makarov V., Migliavacca R., De Rossi E., Buroni S., Anti-staphylococcal activity of the FtsZ inhibitor C109. // **Pathogens**, 2021, 10, 886. Doi: 10.3390/pathogens10070886
2. Egorova A., Jackson M., Gavriluk V., Makarov V. Pipeline of anti-Mycobacterium abscessus small molecules: Repurposable drugs and promising novel chemical entities. // **Medicinal Research Reviews**, 2021, 41. 2350. doi: 10.1002/med.21798
3. Donlin M., Lane T., Riabova O., Lepioshkin A., Xu E., Lin J., Makarov V., Ekins S. Discovery of 5-nitro-6-thiocyanatopyrimidines as inhibitors of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. // **ACS Medicinal Chemistry Letters**, 2021, 12(5), 774-78. doi: 10.1021/acsmchemlett.1c00038.
4. Monakhova N., Korduláková J., Vocat A., Egorova A., Lepioshkin A., Salina E. G., Nosek J., Repková E., Zemanová J., Jurdáková H., Górová R., Roh J., Degiacomi G., Sammartino J. C., Pasca M. R., Cole S. T., Mikušová K., Makarov V. Design and synthesis of pyran[3,2-b]indolones showing antimycobacterial activity. // **ACS Infectious Diseases**, 2021, 7(1), 88-100. doi: 10.1021/acsinfectdis.0c00622

ПРИМЕНЕНИЕ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ МАЛЫХ РНК ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСОВ И ВИРОИДОВ ВИНОГРАДА В РОССИИ

Навроцкая Э.В.¹, Поротикова Е.В.¹, Юрченко Е.Г.², Галбакс Ж.Н.³, Вараллай Е.³, Виноградова С.В.¹

¹ ИНБ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия

³ Венгерский университет сельского хозяйства и естественных наук, Венгрия

Применение технологии секвенирования нового поколения (NGS) позволило значительно продвинуться в идентификации множества вирусов и их генетических вариантов. В данном исследовании мы использовали платформу NGS для секвенирования малых РНК (sRNA) винограда для изучения вирома. Выделение РНК осуществляли из симптоматичных лоз, отобранных с коммерческих виноградников Краснодарского края в 2017-2018 гг. Для определения вирома виноградных насаждений применяли комплексный подход, который сочетал в себе компьютерный анализ результатов секвенирования малых РНК и молекулярный метод ОТ-ПЦР, что позволило обнаружить 13 вирусов: Grapevine leafroll-associated virus -1 (GLRaV-1), Grapevine leafroll-associated virus -2 (GLRaV-2), Grapevine leafroll-associated virus -3 (GLRaV-3), Grapevine leafroll-associated virus -4 (GLRaV-4), Grapevine fleck virus (GFkV), Grapevine virus T (GVT), Grapevine Pinot gris virus (GPGV), Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV), Grapevine rupestris vein feathering virus (GRVfV), Grapevine virus A (GVA), Grapevine Syrah Virus-1 (GSyV 1), Grapevine fanleaf virus (GFLV), Raspberry bushy dwarf virus (RBDV) и 4 вириода: Hop Stunt viroid (HSVd), Australian grapevine viroid (AGVd), Grapevine yellow speckle viroid 1 (GYSVd-1), Grapevine yellow speckle viroid 2 (GYSVd-2). В 37 из 38 проанализированных образцов была обнаружена смешанная инфекция 4-11 вирусов, что свидетельствует о высокой вирусной нагрузке. Анализ полученных последовательностей фрагментов геномов вирусов позволил выявить рекомбинации у GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4, GVT, GPGV, GRSPaV, GVA и GFLV. Проведен филогенетический анализ последовательностей обнаруженных вирусов и выявлено наличие GVA - I, II и IV групп, GRSPaV - I, II, III, VII, VIII групп, GVT - I, IV, V групп, GLRaV-1 - II группы, GLRaV-2 - H4 CNP группы, GLRaV-3 - I группы и HSVd - Нор и Plum-Нор/Cit3 группы. Полученные результаты свидетельствуют о широком распространении вирусов и их генетическом разнообразии на виноградниках Краснодарского края и подчеркивают острую необходимость разработки и реализации долгосрочных стратегий контроля вирусных заболеваний винограда.

Публикация:

Navrotskaya, E.; Porotikova, E.; Yurchenko, E.; Galbacs, Z.N.; Varallyay, E.; Vinogradova, S. High-Throughput Sequencing of Small RNAs for Diagnostics of Grapevine Viruses and Viroids in Russia // *Viruses*, 2021, 13, 2432. <https://doi.org/10.3390/v13122432>. ИФ = 5,048

СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ZAD-ДОМЕНОВ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ АРХИТЕКТУРНЫХ БЕЛКОВ – ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ БЫСТРОГО ФОРМИРОВАНИЯ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Бойко К.М.¹, Николаева А.Ю.^{1,2}, Бурцева А.Д.^{1,3}, Бончук А.Н.⁴, Георгиев П.Г.⁴, Попов В.О.^{1,2}

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

³ Московский Физико-Технический Институт,

⁴ Институт биологии гена РАН

Пространственная архитектура генома сложна, динамична и имеет ключевое значение для корректной регуляции генов. Структурная организация хроматина контролируется особым классом сложных мультидоменных архитектурных белков, к числу которых относятся белки, содержащие т.н. ZAD-(Zinc Finger Associated) домены. Такие домены, широко распространенные у членистоногих, но обнаруженные также и у животных (в т.ч. у человека), присутствуют на N-конце многих белков, имеющих в своем составе цинковые пальцы типа C2H2, и участвуют в высокоспецифичной димеризации. Несмотря на большой объем молекулярно-биологической информации в этой области, структурные данные о ZAD-доменах немногочисленны – так к моменту начала работ была установлена лишь одна структура представителя ZAD-доменов из транскрипционного фактора Grauzone D.melanogaster. Нами установлен ряд новых пространственных структур ZAD-доменов и показано, что несмотря на крайне низкую степень гомологии по первичной последовательности (не более 20% в среднем) все они имеют сходную пространственную укладку. Выявленные при этом тонкие отличия в структуре определяют специфичность взаимодействия ZAD-доменов, что определяет, по-видимому, механизмы регуляции процессов установления и поддержания пространственной организации хроматиновых доменов.

Данная работа проведена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-74-10099) и Федерального космического агентства (проект КЭ (ЦР) «Кристаллизатор»).

Публикации:

1. Artem N. Bonchuk, Konstantin M. Boyko, Alena Y. Nikolaeva, Anna D. Burtseva, Vladimir O. Popov and Pavel G. Georgiev. Structural Insights Into Highly Similar Spatial Organization of Zinc-Finger Associated Domains (ZAD) With a Very Low Sequence Similarity. // **Structure**, 2022, major revision.
2. Artem Bonchuk, Konstantin Boyko, Anna Fedotova, Alena Nikolaeva, Sofya Lushchekina, Anastasia Khrustaleva, Vladimir Popov and Pavel Georgiev. Structural basis of diversity and homodimerization specificity of zinc-finger-associated domains in Drosophila. // **Nucleic Acids Research**, 2021, 49(4):2375-2389. doi: 10.1093/nar/gkab061.
3. К. М. Бойко, А. Ю. Николаева, А. Н. Бончук, П. Г. Георгиев, В. О. Попов. Кристаллизация и предварительное рентгеноструктурное исследование ZAD-домена белка Serendipity-d из Drosophila melanogaster // **Кристаллография**, 2020, том 65, № 4, с. 605–607.

НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННОГО САМОСОБИРАЮЩЕГОСЯ ПЕПТИДА, СОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИД M2E И КОНСЕРВАТИВНЫЙ УЧАСТОК ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСА ГРИППА, ИНДУЦИРУЮТ ГУМОРАЛЬНЫЙ И Т-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ЗАЩИЩАЮТ ОТ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Зыкова А.А.¹, Блохина Е.А.¹, Степанова Л.А.², Шуклина М.А.², Цыбалова Л.М.², Куприянов В.В.¹, Равин Н.В.¹

¹ ИИБ ФИЦ Биотехнологии РАН

² НИИ Гриппа им. А.А.Сморodinцева

Внеклеточный домен белка M2 (M2e) и консервативная область второй субъединицы гемагглютиниона (HA2) могут быть использованы для разработки вакцин широкого спектра действия против гриппа А. Мы получили и охарактеризовали рекомбинантные мозаичные белки, содержащие тандемные копии M2e и HA2 слитые с искусственным самособирающимся пептидом (SAP). Включение SAP пептидов в гибридные белки обеспечило их сборку *in vitro* в сферические частицы размером 30-50 нм. Интраназальная иммунизация мышей этими частицы без дополнительных адъювантов индуцировала сильный гуморальный иммунный ответ против M2e и целого вируса. Частицы, несущие одновременно M2e и HA2, индуцировали антиген-специфические многофункциональные CD4⁺ эффекторные Т-клетки памяти. Иммунизация обеспечивала защиту мышей от заражения летальной дозой вируса гриппа А различных субтипов. Полученные самособирающиеся наночастицы могут быть использованы для разработки универсальной противогриппозной вакцины. Работа поддержана грантом РФФИ 21-34-70038 и Минобрнауки РФ.

Публикация:

Zykova AA, Blokhina EA, Stepanova LA, Shuklina MA, Tsybalova LM, Kuprianov VV, Ravin NV. (2022) Nanoparticles based on artificial self-assembling peptide and displaying M2e peptide and stalk HA epitopes of influenza A virus induce potent humoral and T-cell responses and protect against the viral infection // **Nanomedicine**. 39: 102463. Epub 2021 Sep 26.

АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ НАЗЕМНЫХ ГРЯЗЕВЫХ ВУЛКАНОВ

Слободкин А.И., Меркель А.Ю., Ратникова Н.М., Слободкина Г.Б., Фролова А.А., Хомякова М.А., Черных Н.А., Бонч-Осмоловская Е.А.

ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Грязевой вулканизм – значимое геологическое явление, оказывающее влияние на баланс атмосферного метана, и связанное с месторождениями углеводородов. Грязевые вулканы изливают потоки вещества с глубины 1–3 км и, таким образом, служат «окнами в подземную биосферу». Присутствие в грязевом флюиде различных неорганических и органических соединений, которые могут быть использованы в качестве доноров и акцепторов электронов в энергетическом метаболизме, позволяет развиваться микроорганизмам с различной физиологией. Нами описано 5 новых таксонов анаэробных бактерий, выделенных из наземных грязевых вулканов полуострова Тамань. Филогенетическое положение, физиология и возможная экологическая роль новых изолятов разнообразна. Микроорганизмы цикла серы включают сульфатвосстанавливающую бактерию *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus*, sp. nov. и сероокисляющего факультативного анаэроба *Sulfurimonas crateris* sp. nov. Представитель нового рода *Pelomicrobium methylotrophicum* gen. nov., sp. nov. обладает широкими метаболическими возможностями, включая нитратредукцию, литоавтотрофию и метилотрофию. Фирмикуты *Anaerotalea alkaliphila* gen. nov., sp. nov. и *Alkalibaculum sporogenes* sp. nov. способны разлагать сложные органические вещества. Большинство выделенных микроорганизмов являются экстремофилами – *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus* и *Anaerotalea alkaliphila* – алкалифилы, а *Pelomicrobium methylotrophicum* умеренный термофил. Мы также использовали метагеномный подход для изучения микробного сообщества грязевого вулкана Карabetова гора. Мы обнаружили уникальное сообщество с высоким содержанием анаэробных метанооксиляющих архей, принадлежащих к группе ANME-3 (39% всех прочтений гена 16S рРНК). Анализ геномов, собранных из метагенома, показал, что бактериальные члены сообщества представлены автотрофными, нитратредуцирующими, сероокисляющими и бродильными микроорганизмами. Геном археи, принадлежащей к группе ANME-3, содержит полный набор генов метаногенеза и не кодирует белки участвующие в диссимиляционной нитрат- или сульфатредукции. Наличие генов мультигеновых цитохромов с-типа предполагает, что ANME-3 могут сочетать окисление метана с восстановлением оксидов металлов или с межвидовым переносом электронов к бактериальному партнеру. Наши исследования расширяют современные знания о филогенетическом и метаболическом разнообразии прокариот наземных грязевых вулканов.

Публикации:

- Frolova A.A., Merkel A.Y., Kuchierskaya A.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus*, sp. nov., an alkaliphilic sulfate-reducing bacterium isolated from a terrestrial mud volcano // **Antonie van Leeuwenhoek**. 2021. V. 114. P. 1387–1397.
- Merkel A.Y., Chernyh N.A., Pimenov N.V., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. Diversity and metabolic potential of the terrestrial mud volcano microbial community with a high abundance of archaea mediating the anaerobic oxidation of methane // **Life**. 2021. V. 11. 953.
- Frolova A., Merkel A.Yu., Novikov A.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. *Anaerotalea alkaliphila* gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic, anaerobic, fermentative bacterium isolated from a terrestrial mud volcano // **Extremophiles**. 2021. V. 25. P. 301–309.
- Khomyakova M.A., Merkel A.Y., Petrova D.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. *Alkalibaculum sporogenes* sp. nov., isolated from a terrestrial mud volcano and emended description of the genus *Alkalibaculum* // **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2020. V. 70. P. 4914–4919.
- Ratnikova N.M., Slobodkin A.I., Merkel A.Y., Kopitsyn D.S., Kevbrin V.V., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkina G.B. *Sulfurimonas crateris* sp. nov., a facultative anaerobic sulfur-oxidizing chemolithoautotrophic bacterium isolated from a terrestrial mud volcano // **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2020. V. 70. P. 487–492.
- Slobodkina G.B., Merkel A.Y., Novikov A.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. *Pelomicrobium methylotrophicum* gen. nov., sp. nov. a moderately thermophilic, facultatively anaerobic, lithoautotrophic and methylotrophic bacterium isolated from a terrestrial mud volcano // **Extremophiles**. 2020. V. 24. P. 177–185.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ *ESCHERICHIA COLI* ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ АЭРОБНОЙ КОНВЕРСИИ ГЛЮКОЗЫ В ФУМАРОВУЮ КИСЛОТУ

Скороходова А.Ю., Гулевич А.Ю., Дебабов В.Г.

ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Фумаровая кислота является одним из удобных “строительных блоков”, способных служить предшественниками в синтезе широкого спектра промышленно-значимых веществ с высокой добавленной стоимостью. В настоящее время, фумаровую кислоту получают нефтехимическим синтезом в ходе цис-транс изомеризации малеиновой кислоты. Однако, являясь консервативным интермедиатом центрального метаболизма множества организмов, фумаровая кислота может быть получена из возобновляемого сырья в результате микробиологического синтеза. Природной способностью к биосинтезу и секреции фумаровой кислоты при утилизации сахаров растительной биомассы обладают мицелиальные грибы рода *Rhizopus*. Тем не менее, морфологические свойства соответствующих представителей рода *Rhizopus* служат серьезным препятствием для успешной реализации промышленных процессов биотехнологического получения фумаровой кислоты с использованием этих грибов в качестве продуцентов. Вместе с тем, с использованием подходов направленной метаболической инженерии, эффективные рекомбинантные продуценты фумаровой кислоты могут быть созданы на основе, в частности, *Escherichia coli*, бактерии традиционно и успешно применяемой в промышленной биотехнологии для крупнотоннажного синтеза полезных метаболитов.

В настоящей работе, клетки *E. coli*, природно не способной к секреции значимых количеств фумаровой кислоты при утилизации каких-либо источников углерода, были подвергнуты направленной инженерии с целью обеспечения эффективной аэробной конверсии глюкозы в целевое соединение по оксидативной ветви ЦТК. Применен новый дизайн отдельных стадий биосинтеза ключевых предшественников конечного продукта, предполагающий формирование оксалоацетата из пирувата и искусственное туннелирование 2-кетоглутарата к янтарной кислоте через промежуточное образование сукцинат полуальдегида. В качестве исходного штамма использован ранее сконструированный штамм MSG1.0 (Δ ackA-pta, Δ proxB, Δ ldhA, Δ adhE, Δ ptsG, P_L-glk, P_{tac}-galP), лишенный путей смешанно-кислотного брожения и обладающий модифицированной системой транспорта и фосфорилирования глюкозы. Основные изоферменты фумаразы были инактивированы в базовом рекомбинанте за счет делеции генов *fumA*, *fumB* и *fumC*. Для обеспечения возможности превращения пирувата в оксалоацетат в штамме был экспрессирован ген пируват карбоксилазы *pusA* *Bacillus subtilis*. Формирование сукцинат полуальдегида было обеспечено при экспрессии гена 2-кетоглутарат декарбоксилазы *kgd* *Mycobacterium tuberculosis*. Финальный рекомбинант был способен аэробно превращать глюкозу в фумаровую кислоту с выходом 0,86 моль/моль, составляющим 86% от теоретического максимума. Полученные результаты продемонстрировали высокий потенциал реализованной стратегии для создания эффективных штаммов продуцентов фумаровой кислоты.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (№18-29-08059).

Публикация:

Skorokhodova A.Yu., Gulevich A.Yu., Debabov V.G. Engineering *Escherichia coli* for efficient aerobic conversion of glucose to fumaric acid // **Biotechnology Reports**, 2022, 33, e00703, doi: 10.1016/j.btre.2022.e00703.

ОТ СОВМЕСТНОГО РАСПИТИЯ ПИВА К ПАЛЕОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИСТОРИИ КАВКАЗА ВРЕМЕН РАННЕЙ БРОНЗЫ

Жур К.¹, Трифонов В.², Петров Д.³, Савельева Л.⁴ Прохорчук Е.¹

1. ИИБ ФИЦ Биотехнологии» РАН

2. Институт истории материальной культуры РАН

3. Северо-восточный комплексный научно-исследовательский институт им. Н.А.Шило ДВО РАН

4. Института наук о Земле СПбГУ

Майкопский курган эпохи бронзы — один из самых богато украшенных доисторических курганов Северного Кавказа. При его раскопках в 1897 году был обнаружен набор золотых и серебряных трубок с замысловатыми наконечниками и декоративными фигурками быков. Изначально предполагалось, что трубки длиной более метра могли выполнять функцию скипетра или использоваться для поддержки балдахина в похоронной процессии. Повторное обследование этих объектов позволило выдвинуть гипотезу о том, что трубки могли использоваться для распития пива. Если гипотеза верна, то исследованные объекты представляют собой самые ранние вещественные доказательства использования длинных металлических трубок в качестве соломинок для группового распития алкогольных напитков во время пиршеств - практики, ставшей общепринятой в погребальном обряде в период 3-2 тысячелетия до н.э. на Ближнем Востоке.

Помимо материальных артефактов нами исследованы костные останки людей, захороненных в Майкопских курганах. Показана генетическая разница между древними людьми, захороненными в богатых «царских» и в более бедных курганах. Анализ литературных источников и собственные экспериментальные данные позволили выделить семь особенностей общей палеогенетической картины региона Майкопских курганов:

1. Формирование генотипа кавказских охотников-собирателей не позднее 12 тыс. до н. э. и его раннее распространение за пределы Кавказа.
2. Существование на Кавказе непрерывной генетической преемственности с эпохи верхнего палеолита.
3. Появление кавказского и связанного с ним переднеазиатского (иранского и анатолийского) генетического компонента в степном генетическом пуле не позднее 6 тыс. до н. э.
4. Сохранение генетических различий между населением Кавказа и открытой степи на протяжении всей эпохи энеолита - бронзы.
5. Существование вдоль северных склонов Кавказа генетической буферной зоны, которую, в зависимости от исторических и климатических условий, занимали степняки или кавказцы.
6. Односторонняя проводимость потока генов через Кавказ только в направлении с юга на север.
7. Преобладание культурного разнообразия над генетическим.

Отмечается, что проблемы культурно-исторической трактовки генетических данных связаны в разной степени с несогласованностью генетической и археологической таксономиями, недооценкой генетиками археологического контекста и наивной интерпретацией археологами различий в ДНК как культурных атрибутов.

Публикации:

1. Trifonov, V., Petrov, D., & Savelieva, L. Party like a Sumerian: Reinterpreting the «sceptres» from the Maikop kurgan // **Antiquity**. – 2022. – P. 1-18. <https://doi.org/10.15184/aqu.2021.22>
2. Трифонов В. А., Прохорчук Е. Б., Жур К. В. Генетическое разнообразие древних народов Кавказа и сопредельной степи в эпоху энеолита - бронзы (5-2 тыс. до н.э.): основные результаты и проблемы культурно-исторической интерпретации // **Краткие сообщения Института археологии** - 2021. - В. 262. – С. 95-114.
3. Жур К.В., Трифонов В.А., Прохорчук Е.Б. Достижения и перспективы эписгенетических исследований древней ДНК // **Биохимия**. – 2021. - Т. 86. – В. 12. – С. 1808–1817.

СТРАТЕГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КАНДИДАТНОГО ВАКЦИННОГО ШТАММА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ

Карпов Д.С.^{1,2}, Гончаренко А.В.², Усачев Е.В.³, Васина Д.В.^{1,3}, Дивисенко Е.В.³, Чаленко Я.М.³, Почтовый А.А.³, Овчинников Р.С.³, Макаров В.В.⁴, Юдин С.М.⁴, Ткачук А.^{1,3}, Гушчин В.А.^{1,3}

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии,

² ИМБ им. В.А.Энгельгардта РАН,

³ НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи,

⁴ Центр стратегического планирования ФМБА России

Примерно 1/6 человечества подвержена высокому риску возникновения эпидемий холеры. Природные нетоксигенные изоляты *V. cholerae* представляют собой основу для получения новых рекомбинантных безопасных вакцинных штаммов. Однако генетическая инженерия штаммов *V. cholerae* дикого типа затруднена, и эти штаммы генетически нестабильны из-за их высокой гомологичной рекомбинационной активности. Два изолята *V. cholerae* были охарактеризованы путем секвенирования генома, биоинформатического анализа, микроскопических и биохимических исследований. Был создан синтетический хромопротеин-экспрессирующий репортерный оперон. Этот оперон был использован для улучшения подхода геномной инженерии *V. cholerae* и мониторинга стабильности генетических конструкций. На основе одного из нетоксигенных штаммов *V. cholerae* был получен стабильный штамм, несущий делецию *recA* и экспрессирующий β субъединицу токсина холеры, который можно рассматривать как кандидатный штамм для профилактики холеры. Таким образом, была разработана стратегия быстрого создания генетически стабильных вакцинных штаммов-кандидатов. Эта стратегия может быть применена не только к *V. cholerae*, но и к другим важным бактериальным патогенам человека.

Публикация:

Karpov DS, Goncharenko AV, Usachev EV, Vasina DV, Divisenko EV, Chalenko YM, Pochtovyi AA, Ovchinnikov RS, Makarov VV, Yudin SM, Tkachuk AP, Gushchin VA. A Strategy for the Rapid Development of a Safe *Vibrio cholerae* Candidate Vaccine Strain. // **International Journal of Molecular Sciences**. 2021, 22(21): 11657. doi: 10.3390/ijms222111657. Q1, IF 5,924

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВАМПИРА: ‘*CANDIDATUS ABSCONDITICOCCUS PRAEDATOR*’

Якимов М.М.¹, Меркель А.Ю.², Gaisin³ V.A., Pilhofer³ M., Messina⁴ E., Hallsworth⁵ J.E., Ключкина А.А.², Тихонова Е.Н.², Горленко В.М.²

¹ *Institute of Polar Sciences, ISP-CNR, Messina, Italy*

² *ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН*

³ *Institute of Molecular Biology and Biophysics, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Switzerland*

⁴ *Institute for Marine Biological Resources and Biotechnology, IRBIM-CNR, Messina, Italy*

⁵ *Institute for Global Food Security, School of Biological Sciences, Queen's University Belfast, UK*

Halorhodospira halophila – наиболее ксерофильная пурпурная серобактерия (ПСБ), обитающая в щелочных гиперсоленых озерах. В нашей работе мы обнаружили дополнительный биотический фактор стресса в жизни этого экстремофильного, облигатно анаэробного, фототрофного микроорганизма. Это ультрамалая бактерия – эпибионт, относящаяся к филуму Patescibacteria, который ранее обозначался как Candidate Phyla Radiation (CPR). Новую бактерию мы назвали ‘*Ca. Absconditicoccus praedator*’. Она осуществляет хищнический образ жизни по отношению к *H. halophila*. ‘*Ca. Abs. praedator*’ – первый стабильно культивируемый вид в ассоциации с хозяином из филогенетической линии уровня класса *Gracilibacteria* порядка *Absconditabacterales*. Микроскопические исследования, включая криоэлектронную томографию, предоставили возможность изучить строение клеток эпибионтов и восстановить картину воздействия хищников на клетки пурпурных серобактерий. Эпибионты имеют клеточную стенку грамположительного типа, поверхностный слой бактерии структурирован как S-слой. Обнаружены тонкие отростки – пили. Хищники прикрепляются к поверхности жертвы и воздействуют на нее, не проникая в цитоплазму, при этом клетка жертвы увеличивается в размере, и цитоплазма становится гомогенной. Нам удалось получить полный кольцевой геном ‘*Ca. Abs. praedator*’, который оказался очень мал (1.1 Мб), что указывает на зависимость ‘*Ca. Abs. praedator*’ от хозяина. В геноме отсутствуют гены гликолитического и пентозофосфатного пути, а также пути Энтнера–Дудорова, которые могли бы генерировать окислительно-восстановительные эквиваленты, производить элементы центрального углеродного метаболизма и АТФ. ‘*Ca. Abs. praedator*’ имеет ряд общих черт с недавно описанным, но некультивируемым ‘*Ca. Vampiricosoccus lugosii*’, который также относится к линии *Absconditabacterales* и ведет облигатный паразитический образ жизни, поглощая цитоплазму хозяина (ПСБ *Halochromatium* sp). Общность их геномного состава дает основание предположить, что вся линия *Absconditabacterales* состоит из хищных вампироподобных видов, которые уничтожают популяции бактерий-хозяев. Культивирование ассоциаций вампир–хозяин дает возможность пролить свет на важнейшие аспекты их метаболизма, а также на динамику экосистем в экстремальных условиях щелочных гиперсоленых озер.

Вывод. Впервые удалось культивировать и исследовать бинарную культуру хищника-эпибионта группы CPR и экстремально галофильных пурпурных бактерий, *Halorhodospira halophila*. Описанный нами организм ‘*Ca. Absconditicoccus praedator*’ обладает минимальным геномом, что указывает на его зависимость от хозяина. Вампироподобные бактерии CPR могут играть важную экологическую роль, контролируя размер популяции первичных продуцентов в системах с высокой плотностью биоты, включая гиперсоленые и щелочные среды обитания.

Публикация:

Yakimov M.M., Merkel A.Y., Gaisin V.A., Pilhofer M., Messina E., Hallsworth J.E., Klyukina A.A., Tikhonova E.N., Gorlenko V.M. Cultivation of a vampire: ‘*Candidatus Absconditicoccus praedator*’ // **Environmental Microbiology**. 2021. doi:10.1111/1462-2920.15823.

НОНСЕНС МУТАЦИИ МОГУТ РАДИКАЛЬНО УВЕЛИЧИВАТЬ ЧАСТОТУ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПРИОНА/АМИЛОИДА

Дергалева А.А., Ураков В.Н., Агафонов М.О., Александров А.И. и Кушников В.В.

ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Амилоиды - фибриллярные агрегаты некоторых белков, растворимых в норме. Образование амилоидов является причиной обширной группы неизлечимых заболеваний. Амилоиды катализируют присоединение мономерного белка и поэтому иногда могут проявляться, как прионы - инфекционные агенты у животных или наследуемые генетические элементы у дрожжей. Распространение амилоидов существенным образом ограничено первичным возникновением амилоидной укладки. Одна из популярных теорий возникновения амилоидозов предполагает, что амилоиды появляются в небольшом количестве клеток и затем могут распространяться по тканям. Некоторые сообщения указывают на важную роль соматических мутаций в этом процессе, но конкретные типы таких мутаций неизвестны. Чтобы выявить мутации, способные увеличивать появление амилоидов *de novo*, мы искали такие мутации в дрожжевом прионогенном белке Sup35. Мы ввели в дрожжевые клетки дополнительную копию гена *SUP35* с мутированным амилоидогенным доменом и обнаружили, что существенное повышение частоты появления приона связано с одним типом мутаций - с нонсенс мутациями. Мы провели мутационное сканирование гена *SUP35* и обнаружили, что частота появления приона возрастает в несколько тысяч раз при завершении белка в районе кодона 112. По нашим данным протеазного картирования, в этом районе заканчивается амилоидогенная область 2 белка Sup35. Таким образом, расположение амилоидогенной области на краю белка радикально увеличивает частоту прионного превращения. Сопоставив частоту соматических мутаций и количество клеток в организме, мы рассчитали, что в теле человека могут находиться миллионы клеток с нонсенс мутациями, предрасполагающими к возникновению амилоидов, способных затем распространяться по организму, приводя к спорадическому амилоидному заболеванию. Правда, наши наблюдения также позволяют предполагать, что амилоид, возникающий на усеченном белке, не всегда может передаваться на полноразмерный белок. В настоящее время мы проверяем, насколько и при каких условиях это верно.

Публикация:

Dangerous Stops: Nonsense Mutations Can Dramatically Increase Frequency of Prion Conversion. A.A. Dergalev, V.N. Urakov, M.O. Agaphonov, A.I. Alexandrov and V.V. Kushnikov. // **International Journal of Molecular Sciences**. 2021, 22(4), 1542; <https://doi.org/10.3390/ijms22041542>. Q1, IF=5.9

ИДЕНТИФИКАЦИЯ В ГЕНОМЕ ЧЕСНОКА *ALLIUM SATIVUM* L. СВЯЗАННЫХ С ПАТОГЕНЕЗОМ ГЕНОВ И ИХ РОЛЬ В ОТВЕТЕ НА ЗАРАЖЕНИЕ ГРИБОМ *FUSARIUM PROLIFERATUM*

Филюшин М.А., Анисимова О.К., Щенникова А.В., Кочиева Е.З.

ИНБ ФИЦ Биотехнологии РАН

Одним из основных и наиболее вредоносных заболеваний чеснока в мире является фузариозная гниль, поражающая чеснок как в период вегетации, так и в период хранения. Несмотря на повсеместную встречаемость данного заболевания в РФ, исследований и детального анализа возбудителей фузариозной гнили и ответных реакций растений чеснока не проводилось. Целью работы было: (1) определение видового/расового состава возбудителей фузариозной гнили в Московской области; (2) идентификация в геноме чеснока *Allium sativum* L. связанных с патогенезом генов семейств PR1-PR5 и определение их профилей экспрессии в ответ на заражение фузариозной гнилью.

В результате проведенной работы было определено, что гниль луковиц чеснока при хранении вызывает гриб *Fusarium proliferatum*, а во время роста растений – грибы *F. proliferatum* и *F. oxysporum* f. sp. *seae*. Данные фитопатогенные грибы были выделены в чистые культуры и охарактеризованы. В геноме чеснока были впервые идентифицированы связанные с патогенезом гены семейств PR1 (САР-белки), PR2 (β -1,3-глюконазы), PR3 (хитиназы), PR4 (Вагвин-белки) и PR5 (тауматины) и определены профили их экспрессии в ответ на заражение *F. proliferatum* у двух сортов чеснока, контрастных по устойчивости к фузариозной гнили. У устойчивого сорта Сармат в корнях и/или донце наблюдалась значительная активация экспрессии отдельных генов семейств PR1, PR2, PR3 и PR5, в то время как у восприимчивого сорта Стрелец транскрипция анализируемых генов либо снижалась, либо была сопоставима с контролем. Полученные результаты дают представление о роли PR генов в ответе растений чеснока на инфекцию *F. proliferatum* и могут быть использованы в селекционных программах для отбора исходных форм для создания новых сортов, устойчивых к фузариозной гнили.

Публикации:

1. Filyushin M.A.; Anisimova O.K.; Kochieva E.Z.; Shchennikova A.V. Genome-Wide Identification and Expression of Chitinase Class I Genes in Garlic (*Allium sativum* L.) Cultivars Resistant and Susceptible to *Fusarium proliferatum*. **Plants**. 2021. V. 10. Article 720. Q1, ИФ = 3,935
2. Anisimova O.K., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z., Filyushin M.A. Pathogenesis-Related Genes of PR1, PR2, PR4 and PR5 Families Are Involved in the Response to *Fusarium* Infection in Garlic (*Allium sativum* L.). **International Journal of Molecular Sciences**. 2021. V. 22. Article 6688. Q1, ИФ = 5,923
3. Anisimova O.K., Seredin T.M., Danilova O.A., Filyushin M. First Report of *Fusarium proliferatum* Causing Garlic clove Rot in Russian Federation. **Plant Disease**. 2021 Apr 9. doi: 10.1094/PDIS-12-20-2743-PDN. Q1, ИФ = 4,438
4. Филюшин М.А., Данилова О.А., Середин Т.М. Идентификация патогенных грибов в луковицах чеснока при хранении и в корневой сфере в период роста растений. **Овощи России**. 2021; (3):105-109.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ СИСТЕМА ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖАХ *P. PASTORIS*

Филькин С.Ю., Чертова Н.В., Князева К.Э., Цедилин А.М., Липкин А.В., Федоров А.Н.

ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Разработана система по созданию штаммов- продуцентов рекомбинантных ферментов для нужд промышленности. Подобраны условия для высокоэффективной экспрессии рекомбинантных ферментов в метилотрофных дрожжах *Pichia pastoris*. Получен набор штаммов *Pichia pastoris*, продуцирующих более 250 мг/л фосфолипазы А2 *Streptomyces violaceoruber* и 400 мг/л прохимозина *Bos taurus*. При создании экспрессионных каскадов были протестированы различные промоторы, включая рАОХ1, рGAP, рG1, а также различные варианты секреторных последовательностей. Отработаны протоколы выделения, очистки и концентрирования рекомбинантных фосфолипазы А2 и химозина, удовлетворяющие требованиям промышленного производства. Охарактеризованы физико- химические свойства выделенных функционально-активных ферментов.

Помимо использования традиционных молоко-свертывающих ферментов (химозина быка и верблюда), идет активный поиск альтернативных молоко-свертывающих ферментов. Химозин *Delphinapterus leucas* обладает уникальными физико-химическими свойствами, так как способен эффективно сворачивать молоко белухи, обладающее высокой жирностью. В *Pichia pastoris* нами был получен штамм- продуцент рекомбинантного химозина белухи с продуктивностью 50 мг/л. Однако, удельная активность этого фермента на коровьем молоке оказалась недостаточной для промышленного использования.

Коэкспрессия транскрипционных факторов является одним из подходов к увеличению продукции рекомбинантных ферментов при экспрессии в *Pichia pastoris*. Один из таких факторов, HAC1 – основной регулятор клеточного ответа на неправильное сворачивание белков. Коэкспрессия sHAC1 существенно повысила выход рекомбинантного химозина быка. Проведен сравнительный анализ метаболомов штамма дикого типа и штаммов-продуцентов химозина при коэкспрессии sHAC1, выявлены механизмы, лежащие в основе увеличения продуктивности секреторных белков при коэкспрессии sHAC1.

Публикации:

1. Филькин С.Ю., Чертова Н.В., Зацепин С.С., Садыхов Э.Г., Фёдоров А.Н., Липкин А.В. Получение химозина белухи (*Delphinapterus leucas*) в метилотрофных дрожжах *Komagataella phaffii* и характеристика рекомбинантного фермента // **Прикладная биохимия и микробиология**. 2021. Т. 57. № 3. С. 228-234.
2. Tomashevsky A., Kulakovskaya E., Trilisenko L., Kulakovskiy I.V., Kulakovskaya T., Fedorov A., Eldarov M. VTC4 Polyphosphate Polymerase Knockout Increases Stress Resistance of *Saccharomyces cerevisiae* cells. **Biology**, 2021, 10, 487.
3. Филькин С.Ю., Чертова Н.В., Вавилова Е.А., Зацепин С.С., Эльдаров М.А., Садыхов Э.Г., Фёдоров А.Н., Липкин А.В. Оптимизация метода получения рекомбинантного химозина в метилотрофных дрожжах *Komagataella phaffii* // **Прикладная биохимия и микробиология**, 2020. Т. 56. С. 571-576.
4. Filkin S.Y., Lipkin A.V., Fedorov A.N. Phospholipase superfamily: structure, functions, and biotechnological applications // **Biochemistry-Moscow**, 2020. v. 85. № Suppl., p. 177-195.
5. Filkin S.Y., Chertova N.V., Zenin V.A., Lipkin A.V., Sadykhov E.G., Popov V.O., Fedorov A.N., Sichev A.A., Bityak D.S. Expression, purification and biophysical characterization of recombinant *Streptomyces violaceoruber* phospholipase PLA2 overproduced in *Pichia pastoris* // **Preparative Biochemistry and Biotechnology**. 2020. v. 50. № 6. p. 549-555.
6. Способ очистки рекомбинантного ферментного препарата фосфолипазы А2 из штамма продуцента *Pichia pastoris* Филькин С.Ю., Зенин В.А., Чертова Н.В., Липкин А.В., Федоров А.Н. **Патент РФ**, 2746563, С1, 15.04.2021.

О-АНТИГЕНЫ *E. COLI* И ЛИЗОГЕНИЗАЦИЯ УМЕРЕННЫМИ БАКТЕРИОФАГАМИ

Летаров А.В., Ефимов А.Д., Кузнецов А.С., Куликов Е.Е., Голомидова А.К., Летарова М.А., Иванов П.А.

ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

И умеренные, и вирулентные бактериофаги начинают свой жизненный цикл с распознавания рецепторов клеточной поверхности бактерий. При этом у грамотрицательных хозяев первичным рецептором могут служить как молекулы, расположенные непосредственно на поверхности внешней мембраны (ОМ), например, белки или кор-олигосахариды ЛПС, так и полисахаридные структуры, удаленные от поверхности на некоторое расстояние, в числе которых можно назвать капсульные экзополисахариды или О-антигены ЛПС.

Наши предшествующие исследования продемонстрировали, что О-антигены большинства серотипов *E. coli* служат эффективным неспецифическим барьером, препятствующим прямому взаимодействию рецептор-связывающих белков бактериофагов с рецепторами на поверхности ОМ. В большинстве случаев колифаги, способные распознавать консервативные рецепторы, имеют, тем не менее, ограниченный спектр хозяев, что связано с необходимостью специфического взаимодействия для проникновения через вариабельные структуры О-антигена. Необходимо отметить, однако, что рост бактериофага с образованием бляшек требует высокой эффективности инфекции, тогда как для образования заметного числа лизогенов достаточно и сильно пониженной адсорбции.

Возникновение вторичных лизогенов за счет инфекции комменсальной *E. coli* Stx-конвертирующими фагами рассматривается как один из путей возникновения STEC-штаммов. Мы показали, что при лизогенизации природных изолятов *E. coli* Stx-фагом phi24B образуются преимущественно лизогены, лишенные способности синтезировать О-антиген (rough мутанты). Эти лизогены обладают чувствительностью к бактериофагам, инфицирующим через прямое распознавание белковых рецепторов на ОМ, а также обладают резко повышенной чувствительностью к комплементу сыворотки крови.

Мы также исследовали противоположную ситуацию – эффект лизогенизации *E. coli* О-антиген-специфичным фагом Hf4s. Этот вирус кодирует GTR-кластер, вызывающий дополнительное гликозилирование звеньев О-антигена, что предотвращает суперинфекцию фагом Hf4s, но также влияет и на чувствительность к некоторым вирулентным фагам.

Таким образом, неспецифический барьер О-антигенов играет существенную роль не только в модуляции литической фаговой инфекции, но и детерминирует спектр лизогенизации умеренными бактериофагами.

Публикации:

- Kulikov E.E., Golomidova A.K., Efimov A.D., Belalov I.S., Letarova M.A., Zdrovenko E.L., Knirel Y.A., Dmitrenok A.S., Letarov A.V. Equine intestinal O-seroconverting temperate coliphage Hf4s: genomic and biological characterization // **Applied and Environmental Microbiology**. 2021. doi: 10.1128/AEM.01124-21
- Golomidova A.K., Efimov A.D., Kulikov E.E., Kuznetsov A.S., Belalov I.S., Letarov A.V. O-antigen restricts lysogenization of non-O157 *Escherichia coli* strains by Stx-converting bacteriophage phi24B // **Scientific Reports**. 2021. V. 11 (1). 3035. doi: 10.1038/s41598-021-82422-x

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПЕРЕСТРОЙКА В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *ENDOMYCES MAGNUSII* В ХОДЕ ДОЛГОВРЕМЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Дергачева Д.И.¹, Исакова Е.П.¹, Гесслер Н.Н.¹, Кляйн О.И.¹, Дерябина Ю.И.¹, Терешина В.М.², Матушкина И.Н.³, Попова Т.Н.³, Семенихина А.В.³, La Porta N.⁴, Saris N.-E. L.⁵, Kieliszek M.⁶

¹ ИНБИ, ФИЦ Биотехнологии РАН;

² ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН;

³ Воронежский государственный университет;

⁴ IASMA Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach, Italy;

⁵ University of Helsinki, Viikki Biocenter, Finland;

⁶ Warsaw University of Life Sciences, Poland

В работе проведен анализ метаболического профиля облигатно аэробных дрожжей *Endomyces magnusii* в ходе продолжительного культивирования на субстратах двух типов – ферментативного и окислительного. Исследовали активность антиоксидантных систем, ферментов глутатионовой системы, основных ферментов, поддерживающих уровень НАДФН в клетках (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ+-изоцитратдегидрогеназы), динамику глутатиона, интермедиатов ЦТК, диеновых конъюгатов и АФК в клетках на разных стадиях роста (от 18 до 168 часов). Результаты выявили сходные тенденции в изменении активности всех исследованных ферментов, которая возрастала в 2-4 раза при старении. Высокие уровни диеновых конъюгатов и АФК наблюдались в клетках в поздней и глубокой стационарных фазах. Содержание метаболитов ЦТК (оксалоацетата, изоцитрата и пирувата) увеличивалось на поздней стационарной стадии, тогда как уровни α -кетоглутарата, фумарата и сукцината значительно снижались. Старение клеток после ассимиляции субстрата, способствующего активному окислительному фосфорилированию в митохондриях (глицерина), приводило к стимуляции антиоксидантных систем (каталазы, супероксиддисмутазы и ферментов глутатионовой системы) и синтеза НАДФН. Сделано предположение, что высокая метаболическая активность клеток *E. magnusii* при утилизации субстрата окислительного типа может быть связана с усилением функций митохондрий в поздних фазах роста и модификациями их липидного состава. В липидах мембран митохондрий этих клеток преобладали кардиолипин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин и стеролы. Индекс степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов значительно снижался за счет уменьшения доли линолевой кислоты и увеличения количества пальмитиновой и олеиновой кислот. Сделано заключение, что при длительном культивировании дрожжей, утилизирующих глицерин, большое значение в сохранении высокого метаболического потенциала имеют следующие факторы: 1) снижение степени ненасыщенности жирных кислот липидов; (2) падение уровня длинноцепочечных жирных кислот; (3) высокая активность митохондриальной альтернативной оксидазы; (4) продукция физиологических доз АФК, способствующих адаптации к окислительному стрессу и увеличению продолжительности жизни дрожжевых клеток.

Публикации:

Elena P. Isakova, Irina N. Matushkina, Tatyana N. Popova, Darya I. Dergacheva, Natalya N. Gessler, Olga I. Klein, Anastasya V. Semenikhina, Yulia I. Deryabina, Nicola La Porta and Nils-Eric L. Saris. Metabolic Remodeling during Long-Lasting Cultivation of the *Endomyces magnusii* Yeast on Oxidative and Fermentative Substrates. // **Microorganisms**, 2020, 8(1), 91; <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010091>

Elena P. Isakova, Natalya N. Gessler, Daria I. Dergacheva, Vera M. Tereshina, Yulia I. Deryabina and Marek Kieliszek. Lipid Remodeling in the Mitochondria upon Ageing during the Long-Lasting Cultivation of *Endomyces magnusii*. // **Applied Sciences**, 2021, 11(9), 4069; <https://doi.org/10.3390/app11094069>.

ВЫЯВЛЕНИЕ МЕЖФИЛУМНОГО ПЕРЕНОСА ГЕНОВ СИНТЕЗА МАГНЕТОСОМ У МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ

Узун М.М., Козяева В.В., Дзюба М.В.

ИНБ ФИЦ Биотехнологии РАН

Бактерии, способные к синтезу магнетосом – магнитотактические бактерии (МТБ), – представлены в различных филумах: *Thermodesulfobacteriota* (бывш. *Desulfobacterota*), *Nitrospirota* и др. Магнетосомы – это кристаллы магнетита или грейгита, покрытые липопротеиновой мембраной. Синтез магнетосом контролируется генетически магнетосомным геномным кластером (МГК). Вопрос происхождения и эволюции МТБ до сих пор малоизучен. Считается, что бактерии, близкие к последнему общему бактериальному предку могли быть способны к биоминерализации магнетосом. Вероятно, такие бактерии могли принадлежать филуму *Nitrospirota*. Также предполагается, что преимущественно происходило вертикальное наследование МГК с множественными независимыми потерями в разных филогенетических группах. В поддержку такого сценария говорит отсутствие данных о межфилумных горизонтальных переносах МГК. Для МТБ филума *Nitrospirota* характерны уникальные *man* гены, которые недавно были детектированы в нескольких геномах филума *Thermodesulfobacteriota*. Поэтому наследование генов МГК среди *man*-содержащих МТБ является актуальным вопросом.

В этой работе было проведено метагеномное секвенирование магнитной фракции озера Белое Бордуковское (Московская область). В результате секвенирования было получено 115 589 666 коротких парных чтений (MGI, 14.9 млрд п.о.) и 308 996 длинных чтений (Oxford Nanopore Technologies, 2.1 млрд п.о). Длинные и короткие чтения далее использовались для получения гибридной метагеномной сборки и для реконструкции геномов. В результате, было получено 3 новых генома МТБ: LBB01, LBB02 и LBB04. Было выявлено, что геномы LBB01 и LBB02, принадлежали филуму *Nitrospirota*. Для генома LBB01 была получена первая кольцевая сборка, ставшая первой кольцевой сборкой МТБ филума *Nitrospirota*. Анализ филогенетического положения и рассчитанных геномных индексов (ANI, dDDH, AAI и POCP) выявил принадлежность LBB01 к новому роду и виду семейства *Ca. Magnetobacteraceae*. Данной бактерии было предложено имя *Ca. Magnetomonas plexicatena* LBB01. Геном LBB02 принадлежал новому виду рода *Ca. Magnetominusculus* и был назван *Ca. Magnetominusculus linsii* LBB02. Геном LBB04 принадлежал классу *Syntrophia* филума *Thermodesulfobacteriota*. Для полученных геномов были проанализированы МГК. В результате, у LBB04 были детектированы гены *man2* и *man3*, характерные для МГК филума *Nitrospirota*. Кроме того, расположение генов в МГК у трех исследуемых геномов, несмотря на принадлежность к разным филумам, было идентичным. Далее, с целью исследования эволюционных путей среди МТБ филумов *Nitrospirota* и *Thermodesulfobacteriota* проводилась реконструкция. Для этого были построены филогенетические деревья для белков МГК и для конкатенированных последовательностей 120-ти маркерных белков. Анализ полученных результатов выявил первый случай межфилумного переноса генов синтеза магнетосом. Возможность межфилумного переноса магнетосомных генов ставит под вопрос теорию о древнем происхождении МТБ. Таким образом, следует более внимательно относиться к теориям о происхождении МТБ.

Публикации:

1. Gareev KG, Grouzdev DS, Kharitonskii P V., Kirilenko DA, Kosterov A, Koziaeva V., et al. Magnetic properties of bacterial magnetosomes produced by *Magnetospirillum caucaseum* SO-1. **Microorganisms**, 2021; 9. ИФ = 4,128.
2. Gareev KG, Grouzdev DS, Kharitonskii P V., Kosterov A, Koziaeva V., Sergienko ES, et al. Magnetotactic bacteria and magnetosomes: Basic properties and applications. **Magnetochemistry** 2021; 7: 1–22. ИФ = 2,193
3. Zwiener T, Dziuba M, Mickoleit F, Rückert C, Busche T, Kalinowski J, et al. Towards a ‘chassis’ for bacterial magnetosome biosynthesis: genome streamlining of *Magnetospirillum gryphiswaldense* by multiple deletions. **Microbial Cell Factories**, 2021; 20: 1–17. ИФ = 5,328
4. Zwiener T, Mickoleit F, Dziuba M, Rückert C, Busche T, Kalinowski J, et al. Identification and elimination of genomic regions irrelevant for magnetosome biosynthesis by large-scale deletion in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. **BMC Microbiology**, 2021; 21: 1–13. ИФ = 3,605
5. Dziuba M, Riese CN, Borgert L, Wittchen M, Busche T, Kalinowski J, et al. The Complex Transcriptional Landscape of Magnetosome Gene Clusters in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. **mSystems**, 2021; 6: 1–17. ИФ = 6,496

ПОДХОДЫ К СНИЖЕНИЮ РИСКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ XV-XVI ВВ. ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ

Жгун А.А.¹, Авданина Д.А.¹, Потапов М.П.¹, Нураева Г.К.¹, Троян Е.В.², Любавская Е.А.², Шумихин К.В.², Александрова Л.А.³, Хомутов А.Р.³, Макаров В.А.⁴, Шагдарова Б.Ц.¹, Ильина А.В.¹, Варламов В.П.¹, Симоненко Н.П.⁵, Волков И.А.⁶, Иванов В.В.⁶, Шитов М.В.²

¹ ИИБ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Государственная Третьяковская галерея, Москва

³ ИИБ РАН

⁴ ИИБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

⁵ ИОНХ РАН

⁶ МФТИ

Микроорганизмы являются одним из основных факторов, приводящих к разрушению объектов культурного наследия, в частности, произведений изобразительного искусства. Условия хранения в Государственной Третьяковской галерее (ГТГ), строгое соблюдение температурно-влажностного режима угнетает развитие микроорганизмов-деструкторов. Однако разовые локальные отклонения могут приводить к их нежелательному пробуждению. В связи с этим особую актуальность приобретает поиск новых антисептиков широкого спектра действия, селективно подавляющих рост микроорганизмов и не оказывающих воздействие на изобразительные материалы. С разрешения Т.С. Городковой, главного хранителя музейных предметов ГТГ, с экспонатов и поверхностей залов древнерусского искусства (56, 57 и 61) мы отобрали свыше 100-та проб. Характеристику микроорганизмов в исходных пробах и полученных на их основе культурах провели после метагеномного секвенирования гипервариабельных районов рДНК бактерий (V3/V4) и грибов (ITS2) на платформе Illumina, номер доступа BioProject: PRJNA606688, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA606688>. Доминантными плесневыми грибами оказались представители семейств *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Simplicillium* и *Microascus*. Эти микроорганизмы выделили в чистые линии; показали, что они представляют потенциальную опасность для экспонатов, поскольку в экспериментах с созданными макетами на основе материалов, используемых в темперной живописи, эффективно разрушают большинство из них. Методом ИК-Фурье спектроскопии показали принципиальную возможность неинвазивной детекции невидимых количеств микроорганизмов-деструкторов. Затем провели серию работ по поиску эффективных антисептиков широкого спектра действия на основе алкилнуклеозидов, хитозана, фосфорсодержащих аналогов аминокислот и аналогов циклических гидроксамовых кислот, избирательно воздействующих на доминантные для микробиома ГТГ грибы. Подобранные действующие концентрации могут быть использованы для дальнейших работ по созданию таргетированных антисептиков для превентивной и экстренной обработки произведений темперной живописи.

Публикации:

1. Alexandrova L.A., Jasko M.V., Negrya S.D., Solyev P.N., Shevchenko O.V., Solodinin A.P., Kolonitskaya D.P., Karpenko I.L., Efremenkova O.V., Glukhova A.A., Boykova Y.V., Efimenko T.A., Kost N.V., Avdanina D.A., Nuraeva G.K., Volkov I.A., Kochetkov S.N., Zhgun A.A. Discovery of novel N⁴-alkylcytidines as promising antimicrobial agents // **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2021. V. 215, 113212. IF=6.18.
2. Zhgun A., Avdanina D., Shumikhin K., Simonenko N., Lyubavskaya E., Volkov I., Ivanov V. Detection of potential biodeterioration risks for tempera painting in 16th century exhibits from State Tretyakov Gallery // **PLoS One**. 2020. V. 15 (4), e0230591. IF=3.24.
3. Zhgun, A.A., Avdanina D.A., Shagdarova B.T., Troyan E.V., Nuraeva G.K., Potapov M.P., Il'ina A.V., Shitov M.V., Varlamov V.P. Search for Efficient Chitosan-Based Fungicides to Protect the 15th–16th Centuries Tempera Painting in Exhibits from the State Tretyakov Gallery // **Microbiology (Russian Fed.)**. 2020. V. 89. P. 750–755. IF=1.156

ЦИКЛИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ МИНЕРАЛОВ ЖЕЛЕЗА, ОСУЩЕСТВЛЯЕМАЯ АНАЭРОБНЫМИ ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫМИ ПРОКАРИОТАМИ

Заварзина Д.Г.¹, Кочеткова Т.В.¹, Меркель А.Ю.¹, Чистякова Н.И.², Антонова А.В.², Перевалова А.А.¹, Жилина Т.Н.¹, Кокшаров Ю.А.², Грачева М.А.², Чернов М.С.³, Бычков А.И.³, Бонч-Осмоловская Е.А.^{1,4}, Гаврилов С.Н.¹

¹ ИНИИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² МГУ им. М.В.Ломоносова, Физический факультет

³ МГУ им. М.В.Ломоносова, Геологический факультет

⁴ МГУ им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет

Развитие анаэробных экстремофильных прокариот, способных получать энергию за счет окисления или восстановления железа тесно связано с преобразованием минералов, т.к. железо практически нерастворимо в восстановленных нейтральных или щелочных условиях. Несмотря на растущий интерес микробиологов и геологов к биогеохимическому циклу железа, многие вопросы биогенной трансформации минералов железа в анаэробных условиях остаются малоизученными. Целью наших экспериментов, было исследовать возможность преобразования окисленных (ферригидрит $\text{Fe}^{3+}_{10}\text{O}_{14}(\text{OH})_2$) и восстановленных (сидерит FeCO_3) минералов железа консорциумами экстремофильных анаэробов при повышенных значениях pH или температуры. Мы изучили анаэробную трансформацию ферригидрита и сидерита в присутствии этанола за счет жизнедеятельности бинарной культуры, состоящей из окисляющего этанол облигатного синтрофа *Candidatus* “Contubernalis alkalaceticum” и факультативного литотрофа *Geotalkalibacter ferrihydriticus*, способного как к диссимиляционному восстановлению Fe(III) за счет окисления водорода, этанола или ацетата, так и карбонат-зависимому окислению Fe(II). В присутствии ферригидрита *G. ferrihydriticus* сначала восстанавливал Fe(III) с этанолом, как донором электронов, затем переключаясь на синтрофный гомоацетогенез, обеспечивая рост облигатного синтрофа на этаноле. В присутствии же сидерита образование ацетата осуществлялось *G. ferrihydriticus* за счет одновременного использования двух доноров электронов – Fe(II) и водорода. Относительная численность взаимодействующих бактерий и скорость образования ацетата при их совместном росте в значительной степени определялись термодинамическими преимуществами, которые *G. ferrihydriticus* получал от окислительно-восстановительных преобразований железа. Магнетит (Fe_3O_4) являлся основным продуктом трансформации как ферригидрита, так и сидерита. Также, в результате последовательных пересевов проб осадков горячего источника Солнечный (Узон), была получена устойчивая микробная ассоциация, состоящая из термофильных прокариот, способных развиваться без каких-либо внешних органических источников углерода, используя сидерит в качестве основного первичного источника энергии. Было доказано, что в результате деятельности этого специализированного сообщества происходит циклическая трансформация гидротермального сидерита в биогенный сидерит, приводящая к накоплению промежуточных продуктов – магнетита и ацетата. Таким образом, было показано, что метастабильное состояние минералов железа может использоваться анаэробными экстремофильными прокариотами для осуществления их циклической трансформации, что может иметь принципиальное значение для решения вопроса генезиса железисто-кремнистых формаций докембрия и позволяет по-новому взглянуть на функционирование древней биосферы Земли. **Работа поддержана грантом РФФ №17-74-30025.**

Публикации:

1. Zavarzina D.G., Gavrilov S.N., Chistyakova N.I., Antonova A.V., Gracheva M.A., Merkel A.Yu., Perevalova A.A., Chernov M.S., Zhilina T.N., Bychkov A.Yu., Bonch-Osmolovskaya E.A. Syntrophic growth of alkaliphilic anaerobes controlled by ferric and ferrous minerals transformation coupled to acetogenesis // **ISME Journal**. 2020. V. 14. P. 425–436. Doi: 10.1038/s41396-019-0527-4
2. Zavarzina D.G., Kochetkova T.V., Chistyakova N.I., Gracheva M.A., Antonova A.V., Merkel A.Yu., Perevalova A.A., Chernov M.S., Koksharov Yu.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Gavrilov S.N., Bychkov A.Yu. Siderite-based anaerobic iron cycle driven by autotrophic thermophilic microbial consortium // **Scientific Reports**. 2020. V. 10. Art. 21661. Doi: 10.1038/s41598-020-78605-7

ПРИМЕНЕНИЕ БИОИНФОРМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Доценко А.С.¹, Денисенко Ю.А.¹, Рожкова А.М.^{1,2}, Зоров И.Н.^{1,2}, Синецын А.П.^{1,2}

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН,

² МГУ им. М.В.Ломоносова, Химический факультет

Ферменты – биологические катализаторы, способные ускорять различные химические реакции. Ферменты обладают высокой эффективностью и специфичностью действия, поэтому они активно применяются в различных областях промышленности. Наиболее востребованными ферментами являются карбогидразы, липазы и протеазы. Эти ферменты составляют более 80% производимых и используемых в промышленных масштабах ферментов.

Улучшение термостабильности ферментов в соответствии с условиями проведения конкретных промышленных процессов необходимо для увеличения эффективности этих процессов и снижения стоимости получаемых продуктов. Рациональный дизайн с применением биоинформатических методов позволяет прогнозировать изменение термостабильности ферментов при изменении аминокислотной последовательности.

Расчет влияния аминокислотных замен на изменение свободной энергии $\Delta\Delta G$, подвижность отдельных участков аминокислотной цепи, плотность упаковки белковой глобулы позволяет выбрать аминокислотные замены, увеличивающие термостабильность. Дополнительное использование методов множественного выравнивания аминокислотных последовательностей, а также выравнивания пространственных структур позволяет учитывать экспериментальные данные исследований других гомологичных ферментов. Применение методов машинного обучения и использование нейронных сетей для прогнозирования изменения свойств ферментов позволяет обнаруживать общие закономерности влияния аминокислотных замен на свойства ферментов в результате анализа больших массивов данных, накопленных за все время исследований свойств различных ферментов.

В данной работе биоинформатические методы были применены для улучшения термостабильности экзоинулиназы *Aspergillus awamori*, ксиланазы E *Penicillium canescens*, целлобиогидролазы I и эндоглюканазы II *Penicillium verruculosum*.

Публикации:

1. Dotsenko A.S., Denisenko Y.A., Rozhkova A.M., Zorov I.N., Korotkova O.G., Sinitsyn A.P. Enhancement of thermostability of GH10 xylanase E *Penicillium canescens* directed by $\Delta\Delta G$ calculations and structure analysis. // **Enzyme and Microbial Technology**, 2021, 152, 109938.
2. Dotsenko A.S., Dotsenko G.S., Rozhkova A.M., Zorov I.N., Sinitsyn A.P. Rational design and structure insights for thermostability improvement of *Penicillium verruculosum* Cel7A cellobiohydrolase. // **Biochimie**, 2020, 176, 103 – 109.
3. Contreras F., Thiele M.J., Pramanik S., Rozhkova A.M., Dotsenko A.S., Zorov I.N., Sinitsyn A.P., Davari M.D. KnowVolution of a GH5 cellulase from *Penicillium verruculosum* to improve thermal stability for biomass degradation. // **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, 2020, 8 (33), 12388 – 12399.
4. Anna S. Dotsenko, Aleksandra M. Rozhkova, Ivan N. Zorov, Arkady P. Sinitsyn. Protein surface engineering of endoglucanase *Penicillium verruculosum* for improvement in thermostability and stability in the presence of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid. // **Bioresource Technology**, 2020, 296, 122370.

ИСТОЧНИКИ УГЛЕРОДА КАК ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ АКТИВНОСТЬ БИООКИСЛЕНИЯ СУЛЬФИДНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ

Булаев А.Г.¹, Елкина Ю.А.², Нечаева А.В.², Бодуэн А.Я.³, Меламуд В.С.¹

¹ ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² ИНБ, ФИЦ Биотехнологии РАН

³ Санкт-Петербургский государственный университет

Реакторное биоокисление – это биогидрометаллургическая технология, широко используемая для извлечения металлов из сульфидных концентратов. Поскольку доступность углерода является одним из ключевых факторов, влияющих на микробные сообщества, она также может определять скорость биоокисления сульфидных концентратов. В данной работе исследовали влияние источников углерода на биоокисление сульфидных золотосодержащих концентратов в разных условиях.

В периодических условиях исследовали процесс биоокисления концентрата, содержащего 56% пирита и 14% арсенопирита при температурах 40 и 50°C. В пульпу первого реактора подавали CO₂, а в пульпу второго реактора добавляли 0.02% мелассы, в контрольном эксперименте дополнительные источники углерода не использовались. При 40°C в первом реакторе окислилось 77% пирита и 98% арсенопирита, во втором – 73% пирита и 98% арсенопирита, а в контрольном реакторе – 27% пирита и 93% арсенопирита. При 50°C в первом реакторе окислилось 94% пирита и 99% арсенопирита, во втором – 21% пирита и 94% арсенопирита, а в контрольном реакторе – 10% пирита и 92% арсенопирит. Таким образом, использование CO₂ в большей степени повлияло на процесс биоокисления, чем применение мелассы, и эффект был более выражен при высокой температуре.

В непрерывном режиме исследовали возможность повышения эффективности биоокисления сульфидного концентрата, содержавшего 28% пирита, 16% арсенопирита и 62 г/т золота, при 45°C с использованием дополнительных источников углерода (углекислого газа и мелассы). Использование CO₂ позволило повысить эффективность биоокисления – степень окисления сульфидной серы (S_s) и извлечения золота составили 79 и 84% соответственно. Биоокисление в контрольном эксперименте (без дополнительных источников углерода) и при использовании мелассы позволило достичь степени окисления S_s 39 и 66 %, а также извлечения золота 73 и 81% соответственно.

Анализ микробных популяций, формирующихся в реакторах биоокисления, методами NGS показал, что источники углерода влияли на их состав.

Таким образом, проведенные исследования показали, что дополнительные источники углерода могут применяться для регуляции активности процессов биоокисления сульфидных концентратов и снижения негативного эффекта повышения температуры пульпы реакторов, что является актуальной проблемой для промышленных предприятий.

Публикации:

1. Bulaev A., Nechaeva A., Elkina Y., Melamud V. Effect of Carbon Sources on Pyrite-Arsenopyrite Concentrate Bio-Oxidation and Growth of Microbial Population in Stirred Tank Reactors. **Microorganisms**. 2021. V. 9. Art. 2350. Doi: 10.3390/microorganisms9112350.
2. Bulaev A., Boduen A. Carbon Sources as a Factor Determining the Activity of Microbial Oxidation of Sulfide Concentrate at Elevated Temperature // **Minerals**. 2022. V. 12. Art. 110. Doi: 10.3390/min12020110.

РОЛЬ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ МОД В ФОРМИРОВАНИИ КРАСНЫХ СОСТОЯНИЙ АНТЕННОГО ХЛОРОФИЛЛА В PSI ИЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Пищальников Р.Ю.¹, Шубин В.В.², Разживин А.П.³

¹ *Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН.*

² *ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН*

³ *МГУ им. М.В.Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского*

Фотосистема I (PSI) цианобактерий состоит из мономерных и тримерных пигмент-белковых комплексов, чьи оптические свойства характеризуются наличием длинноволновых полос поглощения. Несмотря на многочисленные экспериментальные исследования, природа этих полос до сих пор остается дискуссионной и требует интенсивного теоретического анализа. Собрав вместе данные линейной спектроскопии и одномолекулярной спектроскопии (SMS) PSI из цианобактерии *Arthrospira platensis*, мы провели квантовое моделирование оптического отклика на основе теории молекулярных экситонов (ET) и модели многомодового броуновского осциллятора (MBOM). Применяя MBOM, спектры красного состояния антенны рассчитывались с учетом определенной для каждого красного состояния настройки низкочастотных вибронных мод. В рамках нашей экситонной модели PSI было показано, что энергия связи между антенными хлорофиллами не может быть фактором формирования красных состояний, поэтому длинноволновые полосы рассчитывались без отнесения к так называемым антенным красным хлорофиллам. С помощью коэффициентов Хуанга-Риса и частот для низших вибронных мод мы смогли воспроизвести эффекты сильной и слабой электрон-фононной связи, экспериментально наблюдаемые в SMS спектрах красных состояний антенны. На основании наших теоретических расчетов, а также анализа существующих кристаллических структур цианобактериальных PSI, мы предположили, что длинноволновые Chls могут быть локализованы в периферийных белковых субъединицах, содержащих одну или две молекулы пигмента.

Публикация:

Roman Y Pishchalnikov, Vladimir V Shubin, Andrei P Razjivin The role of vibronic modes in formation of red antenna states of cyanobacterial PSI. **Photosynthesis Research**, 2020. V.1 46(1-3). P.75-86. doi: 10.1007/s11120-020-00779-y

АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ ГОРЮЧИЕ ГАЗЫ, ОБРАЗУЮЩИЕСЯ ПРИ ПОДЗЕМНОМ ГОРЕНИИ УГОЛЬНЫХ ПЛАСТОВ

Кадников В.В.¹, Марданов А.В.¹, Белецкий А.В.¹, Карначук О.В.², Равин Н.В.¹

¹ ИИБ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Томский государственный университет

Явления подземного горения угольных пластов распространены в природе и могут длиться веками и даже тысячелетиями. В условиях ограниченного доступа кислорода в присутствии воды горение угля сопровождается выделением большого количества газов, включающих в основном CO₂, водород и CO. В районах, где образующиеся при подземном горении угля горячие газы выходят на поверхность, могут формироваться специфические термофильные микробные сообщества. Целью работы является изучение микробных сообществ грунтов в районах подземного горения угля методами метагеномики. Объектами исследования были угольные месторождения Кемеровской области и Забайкалья.

Проведено секвенирование метагенома микробного сообщества образца горячего (72С) грунта, отобранного в Кузбассе. Определены последовательности геномов 18 микроорганизмов-членов сообществ, в том числе полные кольцевые геномы бактерий родов *Hydrogenobacter*, *Thermoflexus*, *Thermus* и кандидатного рода UBA11096 (филум *Aquificae*). К наиболее многочисленным представителям микробного сообщества относились две бактерии филума *Firmicutes*, анализ геномов которых показал, что способны получать энергию за счет окисления водорода и монооксида углерода. Новый представитель кандидатного рода UBA11096 является хемолитоавтотрофом, способным получать энергию за счет окисления водорода и соединений серы в процессе аэробного дыхания, а в анаэробных условиях осуществлять все стадии денитрификации. В другом образце из Кузбасса доминировали представители *Ktedonobacteria* (филум *Chloroflexi*), способные окислять водород и CO. Термофильные *Firmicutes* составляли небольшую часть сообщества, также были обнаружены термофильные представители филумов *Aquificae*, *Deinococcus-Thermus* и *Bacteroidetes*. Из метагенома грунта, отобранного в районе подземного горения угля в Бурятии, собрано 40 геномов микроорганизмов. В сообществе доминировали *Firmicutes*, среди которых были обнаружены представители *Hydrogenibacillus*, *Carbobacillus*, *Thermicanus*, *Brockia*, и *Kyrgidia*. Анализ геномов показал, что эти микроорганизмы могут расти в аэробных условиях за счет окисления молекулярного водорода и/или CO, содержащихся в угольных газах.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-74-00142.

Публикации:

1. Kadnikov VV, Mardanov AV, Beletsky AV, Grigoriev MA, Karnachuk OV, Ravin NV. (2021) Thermophilic Chloroflexi dominate in the microbial community associated with coal-fire gas vents in the Kuznetsk coal basin, Russia. **Microorganisms**. 9(5): 948.
2. Кадников В.В. Марданов А.В., Белецкий А.В., Карначук О.В., Равин Н.В. (2021) Метагеномный анализ микробного сообщества в районе подземного горения угля в Кемеровской области выявил доминирование термофильных бактерий филумов *Deinococcus-Thermus*, *Aquificae* и *Firmicutes*. **Микробиология**. т. 90, №5, с. 543–552.

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ШАПЕРОНОВ НА МЕХАНИЗМ АГРЕГАЦИИ БЕЛКОВ. МАНТИАГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА АЛЬФА-Б-КРИСТАЛЛИНА (HSPB5) В УСЛОВИЯХ МОЛЕКУЛЯРНОГО КРАУДИНГА

Чеботарева Н.А., Роман С.Г., Борзова В.А., Еронина Т.Б., Михайлова В.В., Курганов Б.И.

ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Работа посвящена исследованию механизма функционирования альфа-Б-кристаллина (HspB5) в условиях молекулярного краудинга. Было показано влияние краудинга на олигомерное состояние HspB5. Предложен способ количественной оценки влияния краудинга на антиагрегационную активность HspB5. Параметр Kagg, характеризующий ускорение процесса агрегации белка на стадии нуклеации, был выбран для количественной оценки влияния краудинга. Было показано, что добавление отдельных краудинг-агентов или их смесей к раствору белка-мишени гликогенфосфорилазы b (ФБ) приводит к уменьшению времени нуклеации и росту параметра Kagg как в отсутствие, так и в присутствии HspB5. Поскольку параметр Kagg увеличивается в 13,7–55 раз в присутствии разных краудеров, то, изменяя комбинацию различных краудинг-агентов, можно регулировать активность белкового шаперона. Методом DLS показано, что краудинг ускоряет агрегацию ФБ в присутствии HspB5, т.е. снижает его активность. Однако данные AUC указывают на присутствие небольших комплексов, образованных диссоциированными формами HspB5 и белка-мишени, в течение двух часов, т.е. свидетельствуют о частичном сохранении активности HspB5. Это исследование обеспечило более глубокое понимание механизма функционирования малых белков теплового шока в условиях краудинга.

Работа поддержана грантом РФФ № 16-14-10055П.

Публикация:

Chebotareva N.A., Roman S.G., Borzova V.A., Eronina T.B., Mikhaylova V.V., Kurganov B.I. Chaperone-like activity of HSPB5: The effects of quaternary structure dynamics and crowding. **International Journal of Molecular Sciences**, 2020, 21(14):E4940. doi:10.3390/ijms21144940. (IF = 4.556). Q1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛА СПЕЙСЕРОВ В CRISPR-CAS СИСТЕМАХ И ЭКОЛОГИЯ ФАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Павлова Е.С.¹, Морозов А.Ю.², Paez-Espino D.³, Белалов И.Ш.^{4,5}

¹Департамент математики Колледжа Паломар, Сан-Маркос, Калифорния, США

²Департамент математики Университета Лестера, Лестер, Великобритания

³Объединенный геномный институт министерства энергетики США, Калифорния, США

⁴МГУ им. М.В.Ломоносова, Механико-математический факультет

⁵ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Проведен анализ 3 858 метагеномов (2 189 103 CRISPR-кассет и 11 724 296 спейсеров) и установлено, что статистическое распределение количества спейсеров в CRISPR-кассетах подчиняется степенному закону распределения вероятностей с экспоненциальным затуханием. Степенные законы распределения вероятностей обладают так называемыми «тяжелыми хвостами»: события, происходящие с низкой вероятностью вносят большой вклад в среднее значение по выборке. Математическая модель, составленная нами на основе экспериментальных данных воспроизводит наблюдаемые распределения и объясняет их появление. В случае спейсеров в CRISPR-кассетах, тяжелые хвосты говорят о высокой вероятности существования микроорганизмов-хозяев, устойчивых ко множеству вирусов. Эти сверхиммунные клетки потенциально могут пережить инфекцию гораздо большим числом типов вирусов и стать прародителями новых популяций в случае масштабного вторжения фагов. В связи с негативным влиянием длинных CRISPR-кассет на скорость репликации микроорганизмов, клетки, утрачивающие спейсеры, делятся чаще. В результате большинство CRISPR-кассет содержит менее 10 спейсеров. Таким образом, в «динамику черной королевы» вовлекается менее иммунная, имеющая меньше спейсеров часть бактериальных популяций. В то же время в популяции микроорганизмов продолжают присутствовать клетки, которые устойчивы ко множеству фагов, но очень медленно размножаются. Это можно наблюдать как в изолированных экосистемах, так и в целых биомах, в масштабах континентов, океанов, и всей планеты.

Публикация:

Pavlova Y.S., Paez-Espino D., Morozov A.Y., Belalov I.S. Searching for fat tails in CRISPR-Cas systems: Data analysis and mathematical modeling // **PLoS Computational Biology**. 2021. V. 17 (3). e1008841. Doi: 10.1371/journal.pcbi.1008841

РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ЦИСТЕИНА В АЛЛОСТЕРИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ ФОТОТРАНСФОРМАЦИИ ХРОМОФОРА БИФОТОХРОМНОГО БЕЛКА SAASoti

Гавшина А.В.¹, Марынич Н.К.¹, Хренова М.Г.^{1,2}, Соловьев И.Д.¹, Савицкий А.П.^{1,2}

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН,

² МГУ им. М.В.Ломоносова, Химический факультет

Бифотохромный флуоресцентный белок SAASoti содержит пять а.о. цистеина, а точечная замена V127T привела его к мономерной форме, mSAASoti. Остатки цистеина находятся на отдалении от хромофора и их замена, скорее всего, будет вызывать некие аллостерические эффекты. В ходе данной работы изучали влияние единичных, двойных и тройных замен остатков цистеинов на флуоресцентные параметры и реакции фототрансформации (фотоконверсия из зеленого в красный и обратимое фотопереключение) в белке mSAASoti. Мутантные формы C21N, C117S, C71V, C105V, C175A, C21N/C71V, C21N/C175A, C21N/C71G/C175A были получены методом сайт-направленного мутагенеза. В ходе работы было установлено, что вариант C21N существует в мономерной форме даже при более высоких концентрациях, замена C71V ускоряет фотоконверсию в красную форму, а форма C105V быстрее всего фотопереключается в темное состояние. Кинетика фотопереключения мутантных форм SAASoti, содержащих замену C175A, отличается от всех остальных случаев, при этом наблюдается снижение фотостабильности при последовательном выключении-включении одного и того же образца. Согласно расчетам классического молекулярно-динамического моделирования, боковая цепь F177, расположенная вблизи хромофора, значительно более гибкая в случае mSAASoti по сравнению с вариантом C175A, что может являться объяснением экспериментально наблюдаемого замедления скорости термической релаксации, т.е. транс-цис-изомеризации хромофора в mSAASoti при замещении C175A.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 1914-00373.

Публикация:

Gavshina, A.V., Marynich, N.K., Khrenova, M.G. et al. The role of cysteine residues in the allosteric modulation of the chromophore phototransformations of biphotochromic fluorescent protein SAASoti. // **Scientific Reports**, 11, 24314 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03634-9>.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДОРОДА ИЗ СУБСТРАТОВ С РАЗНЫМ БИОПОЛИМЕРНЫМ СОСТАВОМ В ПРОЦЕССЕ ТЕМНОВОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ

Литти Ю.В.¹, Вишнякова А.В.¹, Русскова Ю.И.¹, Ножевникова А.Н.¹, Паршина С.Н.¹, Журавлева Е.А.¹, Бочкова Е.А.¹, Меркель А.Ю.¹, Катраева И.В.², Ковалев Д.А.³, Ковалев А.А.³

¹ ИНМИФИЦ Биотехнологии РАН

² Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет

³ Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ

Процесс темновой ферментации (ТФ) органических отходов с образованием биоводорода (H_2) является перспективным методом получения безуглеродного биотоплива и одновременного снижения антропогенной нагрузки на окружающую среду. Биополимерный состав ферментируемого субстрата оказывает существенное влияние на состав водородпродуцирующего микробного сообщества и характеристики процесса ТФ. В качестве субстратов для получения биоводорода в работе использовали ряд простых (крахмал, подсолнечное масло, пептон и их смесь) и комплексных (корм для собак, комбикорм для свиней, осадок сточных вод (ОСВ)) субстратов. Для лучшего отражения процессов в реальных условиях, инокулят (ОСВ) не подвергали предварительной обработке (например, нагреванию, способствующему отбору спорообразующих микроорганизмов). ТФ пептона и подсолнечного масла характеризовалась минимальной продукцией H_2 . Удельный выход H_2 в расчете на разложенный крахмал составил 1.55 моль/моль гексозы. Добавление пептона и подсолнечного масла к крахмалу снижало удельный выход H_2 из крахмала на 23%. Удельный выход H_2 из корма для собак составил 46.5 мл/г ХПК или 143.4 мл/г углеводов, из комбикорма для свиней – 32.1 мл/г ХПК или 91.6 мл/г углеводов, а из ОСВ – 9,3 мл/г ХПК или 98.0 мл/г углеводов. Возможные взаимосвязи между биополимерным составом субстратов, характеристиками процесса ТФ и микробным составом были проанализированы с применением коэффициентов ранговой корреляции Спирмена. Концентрация углеводов была основным фактором, влияющим на высокий удельный выход H_2 , его содержание в биогазе, а также соотношение H_2 /растворимые метаболиты. Концентрация белков оказывала статистически значимое положительное влияние на накопление ацетата и сукцината, а углеводов – на накопление капроната. Независимо от биополимерного состава субстратов, в микробном сообществе доминировали представители *Firmicutes* (67–100%), что говорит о крайне важной роли этого филума для процесса ТФ. При использовании субстратов, богатых углеводами, микробное разнообразие было низким и в основном представлено родами *Ruminococcus* (26–90%) и *Thermoanaerobacterium* (6–67%). Представители рода *Ruminococcus*, предположительно, внесли основной вклад в производство H_2 .

Публикации:

1. Litti Y.V., Kovalev A.A., Kovalev D.A., Katraeva I.V., Parshina S.N., Zhuravleva E.A., Botchkova E.A. Characteristics of the process of biohydrogen production from simple and complex substrates with different biopolymer composition // **International Journal of Hydrogen Energy**. 2021. V. 46. № 52. P. 26289-26297.
2. Litti Y.V., Kovalev D.A., Kovalev A.A., Merkel A.Y., Vishnyakova A.V., Russkova Y.I., Nozhevnikova A.N. Auto-selection of microorganisms of sewage sludge used as an inoculum for fermentative hydrogen production from different substrates // **International Journal of Hydrogen Energy**. 2021. V. 46. № 58. P. 29834-29845.

ГАДОБУТРОЛ – КОНТРАСТНЫЙ И ПРОСВЕТЛЯЮЩИЙ КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ ДЛЯ БИМОДАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

Жердева В.В.¹, Казачкина Н.И.¹, Меерович И.Г.¹, Сайдашева А.Н.¹, Соловьев И.Д.¹, Тучина Д.К.,^{2,3}
Савицкий А.П.¹, Тучин В.В.,^{1,2,3,4} Богданов А.А.,мл.^{1,5}

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН;

² Саратовский государственный университет;

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет;

⁴ Институт точной механики и управления РАН, Саратов;

⁵ Медицинская школа UMASS Chan, отделение радиологии, Вустер, Массачусетс, США.

Проникновение света в живые ткани ограничено собственным рассеянием и поглощением света, причем коэффициент рассеяния света в коже превышает коэффициент поглощения на 1–2 порядка. Использование оптических просветляющих (ОП) агентов является критически важным, особенно при тераностических подходах, основанных на взаимодействии света с живой тканью. Наиболее полную информацию о процессах в норме и патологии предоставляет мультимодальные подходы, в том числе и сочетание магнитно-резонансного и флуоресцентного имиджинга с использованием ОП. До сих пор данный подход успешно применялся в исследованиях *ex vivo*. Целью нашего исследования было изучение эффектов МР-контрастного вещества гадобутрола (ГБ) и его сочетания с другими веществами в качестве возможного компонента смесей для ОП флуоресцирующих белков *in vivo*, а также апробировать метод МРТ для визуализации эффектов ОП при местном или системном применении ГБ [1].

Методы

В качестве моделей использовали подкожные ксенотрансплантаты опухолей человека, экспрессирующих красный флуоресцентный белок TagRFP в атимусных мышцах. МР-визуализацию выполняли с помощью 1Т МР томографа с использованием последовательностей T1w-3D градиент-эха с получением зависящих от времени изменений интенсивности МР-сигнала, с последующим анализом области интереса сегментированных изображений. Флуоресцентную визуализацию опухолей проводили на планарной системе UVP iBox studio (Analytik Jena AG (возбуждение: 502-547нм, эмиссия: 570-640 нм).

Результаты

Местное применение 1,0 М или 0,7 М ОП смеси, содержащей ГБ, воду и диметилсульфоксид (ДМСО) приводило к увеличению интенсивности флуоресценции опухоли на 30-40% в течение первых 15 мин. В течение последующих 15–60 мин наблюдался устойчивый рост флуоресценции, отношения сигнал/фон, но только для 0,7 М смеси. В случае с 1,0 М ГБ интенсивность флуоресценции снижалась с течением времени. Использование T1-взвешенных последовательностей МР импульсов показало, что концентрация 1,0 М ГБ приводила к потере МР-сигнала кожи из-за высокой магнитной восприимчивости, потеря сигнала во времени совпадала с эффектом ОП. Внутривенное введение 0,3 ммоль ГБ/кг приводило к быстрому кратковременному увеличению интенсивности флуоресценции опухолей на 40%. В целом, МРТ позволила наблюдать за ОП эффектов смесей, содержащих ГБ, на поверхности кожи и в опухолевой ткани, и исследовать корреляцию увеличения интенсивности флуоресценции *in vivo* во времени.

Заключение

Таким образом, применение ГБ в составе смесей для ОП приводил к оптическому просветлению тканей *in vivo*, в том числе, и при внутривенном введении. Данные свойства ГБ могут быть успешно применены при разработке систем бимодальной (мультимодальной) визуализации. При этом регистрация оптических и магнитно-резонансных (МР) изображений проводится в одном и том же объеме ткани, в котором ГБ может выступать в роли контрастного агента не только для МРТ, но и флуоресцентного имиджинга. Улучшение детекции флуоресцентных сигналов низкой интенсивности в свою очередь способствует улучшению регистрации МРТ и флуоресцентных изображений.

Публикация:

Kazachkina, NI, Zherdeva VV, Meerovich IG, Saydasheva AN, Solovyev ID, Tuchina DK, Savitsky AP, Tuchin VV, Bogdanov AA Jr. MR and fluorescence imaging of gadobutrol-induced optical clearing of red fluorescent protein signal in an *in vivo* cancer model. // *NMR in Biomedicine*. (2022), accepted 31.01.2022 . Q1 IF4,044. Online ISSN:1099-1492

KAISO РЕГУЛИРУЕТ ГОМЕОСТАЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

Каплун Д.С.^{1,2,†}, Старшин А.С.^{1,†}, Шарко Ф.С.¹, Гайнова К.М.³, Филонова Г.Е.¹, Жигалова Н.А.¹, Мазур А.М.^{1,2}, Прохорчук Е.Б.^{1,2} и Женило С.В.^{1,2}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН,

²Институт биологии гена РАН,

³Центр стратегического планирования ФМБА России.

†Равный вклад

Метилирование ДНК в клетках представляет собой динамический процесс, стремящийся к равновесию. Многие факторы участвуют в поддержании баланса между метилированием и деметилированием ДНК. Известно, что метил-ДНК-связывающий белок Kaiso влияет на деацетилирование гистонов, привлекая репрессивные комплексы NCoR, SMRT. С другой стороны, появляются данные, что Kaiso может участвовать в установлении и поддержании метилирования определенных локусов. Так, дефицит Kaiso приводит к снижению метилирования ICR в локусе H19/Igf2. Однако на сегодняшний день неизвестно, может ли Kaiso влиять на метилирование ДНК на уровне генома. Для определения вклада Kaiso в установление и поддержание метилирования ДНК в полногеномном масштабе мы получили линию клеток рака почки человека с дефицитом Kaiso с помощью CRISPR/CAS9B системы редактирования. В нокаутных клетках по Kaiso наблюдается умеренное увеличение метилирования ДНК, которое определяется по всему геному и особенно заметно в областях, способных связываться с инсуляторным белком CTCF. Такое равномерное распределение гиперметилированных CpG по геному позволяет предположить, что это неспецифический эффект, который, возможно, связан со снижением транскрипции диоксигеназы TET1 в Kaiso -дефицитных клетках. Также мы нашли участки генома, которые деметируются при отсутствии экспрессии Kaiso. К таким участкам относятся ряд энхансеров и области с низким уровнем модификаций гистонов. Деметилирование ДНК при удалении Kaiso также затронуло участки связывания плюрипотентных факторов Oct4 и Nanog. На мышинной модельной системе эмбриональных фибробластов нам удалось показать, что нокаут по гену Kaiso приводит к снижению уровня метилирования промотора гена Oct4. По всей видимости, это способствует более быстрой активации Oct4 при репрограммировании клеток, что приводит к более быстрому формированию клонов индуцированных плюрипотентных стволовых клеток при отсутствии Kaiso. Впервые мы показали, что Kaiso иммунопреципитирует с *de novo* ДНК-метилтрансферазами DNMT3a/3b, но не с поддерживающей метилтрансферазой DNMT1, а значит, Kaiso может быть вовлечен в установление метилирования при развитии организма. Таким образом, Kaiso может регулировать гомеостаз метилирования ДНК различными способами: привлекая *de novo* ДНК-метилтрансферазы, влияя на транскрипцию диоксигеназы TET1.

Публикация:

Kaplun, D, Starshin, A, Sharko, F, Gainova, K, Filonova, G, Zhigalova, N, Mazur, A, Prokhortchouk, E, Zhenilo, S. Kaiso regulates DNA methylation homeostasis. // **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22(14), # 7587, doi:10.1101/2020.12.09.417576. ИФ = 5,923

ЭКСПРЕССНАЯ ДЕТЕКЦИЯ РНК/ДНК-СОДЕРЖАЩИХ АНАЛИТОВ С ВЫСОКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАЗНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ, CRISPR-Cas СИСТЕМЫ И МЕМБРАННЫХ ТЕСТ-ПОЛОСОК

Сафенкова И.В., Иванов А.В., Зверева Е.А., Поправко Д.С., Буркин К.М., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.

ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Высококчувствительные, экспрессные и простые биосенсорные системы – крайне востребованный инструмент для выявления РНК/ДНК-содержащих аналитов, прежде всего относящихся к патогенным вирусам и бактериям. Эффективное выполнение этих требований обеспечивает амплификация РНК/ДНК мишени при одном температурном режиме с последующей детекцией ее продуктов (ампликонов) тест-системами с визуальной или фотометрической оценкой результатов. В докладе представлены работы по созданию и изучению закономерностей функционирования таких биосенсорных систем.

Оптимальным выбором для реализации анализа в сочетании с иммунохроматографическими (ИХ) тестами является рекомбиназная полимеразная амплификация (РПА), проводимая за 15-20 мин при постоянной температуре (37-42 °С) с использованием только одной пары праймеров и коммерчески доступной смеси ферментов [1]. В результате РПА получается гомогенный продукт в виде двухцепочечного (дц) фрагмента ДНК заданной длины, в который введены метки, специфично распознаваемые на тест-полоске. Мы сравнили два подхода, отличающиеся способом введения меток и формированием ампликонов: с использованием только меченых праймеров и с дополнительными компонентами – эндонулеазой pfo и олигонуклеотидный зонд с тетрагидрофурановым основанием в центральной части, меткой на 5'-конце и блокирующей 3'-фосфатной группой [2]. Установлено, что чувствительность первого, более простого подхода на два порядка выше при сохранении селективности. При рассмотрении условий подготовки проб растительного и животного происхождения показано, что для РПА с последующей ИХ детекцией не требуется изоляция РНК/ДНК от матрикса (в отличие от ПЦР, ингибируемой компонентами матрикса); подготовка пробы может быть осуществлена ее мацерированием в буфере [2, 3]. Для одновременного выявления трех РНК аналитов предложено использование бифункциональных праймеров из двух частей А и В, разделенных полиэтиленгликолиевым спейсером С9. Часть А является прямым праймером для амплификации, часть В, называемая баркод, остается одноцепочечной (оц) и распознается комплементарной последовательностью (анти-баркодом) [4]. Благодаря С9 спейсеру ферменты РПА не включают часть В в двухцепочечную структуру ампликона. На основании этих подходов разработаны РПА-ИХ тест-системы для детекции возбудителя черной ножки картофеля (*Dickeya solani*) [5], вириода скрученности листьев картофеля [6], вируса мозаики люцерны [2], мультиплексная система для выявления Y-, S-вирусов картофеля и вируса скручивания листьев картофеля [4], а также система для контроля присутствия недеklarированного свиного или куриного сырья в мясных пищевых продуктах [3].

Для повышения специфичности и чувствительности анализа использовали РНК-зависимую эндонуклеазу Cas12a. В этом случае высокая специфичность достигается благодаря избирательному связыванию комплекса РНК-Cas12a с дцДНК ампликонами, полученными в результате РПА. Образующийся тройной комплекс приобретает транс-эндонуклеазную активность в отношении любых оцДНК фрагментов (ДНК-зондов). Включение в состав оцДНК-зонда компонента, детектируемого на тест-полоске (IgG или меченый олигонуклеотид), позволяет регистрировать каталитическую активность Cas12a. Для реализации CRISPR-Cas биосенсорных систем проведен выбор длины ДНК-зонда для транс-нуклеазной активности Cas12a, оптимум которой составил 160-300 нт для микропланшета и 80-300 нт для магнитных частиц-носителей. Предложен универсальный ДНК-IgG зонд для CRISPR-Cas ИХ систем. С его использованием разработана платформа DIRECT², обеспечивающая прямую зависимость аналит – сигнал теста, определяемую только транс-нуклеазной активностью Cas12a.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности и высоком конкурентном потенциале сочетания РПА, CRISPR-Cas системы и мембранных тест-систем для обеспечения высокой чувствительности, специфичности и экспрессности анализа.

Публикации:

1. A.V. Ivanov, I.V. Safenkova, A.V. Zherdev, B.B. Dzantiev. The potential use of isothermal amplification assays for in-field diagnostics of plant pathogens. **Plants**, 10 (2021) 2424. IF 3,935.
2. A.V. Ivanov, I.V. Safenkova, A.V. Zherdev, B.B. Dzantiev. Recombinase polymerase amplification assay with and without nuclease-dependent-labeled oligonucleotide probe. **International Journal of Molecular Sciences**, 22 (2021) 11885. IF 5,923.
3. A.V. Ivanov, D.S. Popravko, I.V. Safenkova, E.A. Zvereva, B.B. Dzantiev, A.V. Zherdev. Rapid full-cycle technique to control adulteration of meat products: Integration of accelerated sample preparation, recombinase polymerase amplification, and test strip detection. **Molecules**, 26 (2021) 6804. IF 4,412.
4. A.V. Ivanov, I.V. Safenkova, A.V. Zherdev, B.B. Dzantiev. Multiplex assay of viruses integrating recombinase polymerase amplification, barcode / anti-barcode pairs, blocking anti-primers, and lateral flow assay. **Analytical Chemistry**, 93 (2021) 13641. IF 6,986.
5. A.V. Ivanov, I.V. Safenkova, N.V. Drenova, A.V. Zherdev, B.B. Dzantiev. Development of lateral flow assay combined with recombinase polymerase amplification for highly sensitive detection of *Dickeya solani*. **Molecular and Cellular Probes**, 53 (2020) 101622. IF 2,365.
6. A.V. Ivanov, I.V. Shmyglya, A.V. Zherdev, B.B. Dzantiev, I.V. Safenkova. The challenge for rapid detection of high-structured circular RNA: Assay of potato spindle tuber viroid based on recombinase polymerase amplification and lateral flow tests. **Plants**, 9 (2020) 1369. IF 3,935.

ГЕНЕРАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК

Складнев Д.А.¹, Сорокин В.В.¹, Алексеева А.П.², Саакян С.В.²

¹ ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² НМИЦ ГБ им. Гельмгольца Минздрава РФ, Москва

В данном сообщении авторы информируют о разработке новых вариантов применения предложенного нами ранее метода оценки метаболической активности живых клеток по их способности формировать биогенные наночастицы металлов из восстановленных катионов. Данный метод назван DBNG (Detection of Biogenic Nanoparticles Growth/Generation).

Основа метода – природная способность метаболически активных клеток восстанавливать катионы металлов (Me^{n+}) до нуль-валентного состояния (Me^0), что запускает процесс самосборки *in situ* сначала нанокластеров восстановленных атомов (Me^0NCs), а затем и более крупных наночастиц (Me^0NPs). Формирующаяся за минуты твёрдая нанокристаллическая фаза чётко детектируется физическими методами. При отсутствии в тестируемых растворах метаболически активных клеток восстановление катионов тормозится и наночастицы не формируются.

Эффективность метода DBNG была продемонстрирована на различных микробных объектах, выделенных при исследовании природных микробных сообществ криолитозоны Якутии, а также в исследованиях по оценке активности аскомицетных дрожжей *Yarrowia lipolytica* в ходе делительного культивирования их в гелевой среде в условиях 3D-биопринтинга. На основании оценки формирования наночастиц серебра получены обнадеживающие результаты по детектированию и дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей в офтальмоонкологических исследованиях.

Публикации:

1. Skladnev D.A., Vasilyeva L.V., Berestovskaya Yu.Yu., Kotsyurbenko O.R., Kalenov S.V., Sorokin V.V. Detection of microorganisms in low-temperature water environments by *in situ* generation of biogenic nanoparticles // **Frontiers Astronomy and Space Sciences**. 2020. 7:59. Doi: 10.3389/fspas.2020.00059
2. Vyazmin A., Pokusaev B., Karlov S., Skladnev D., Shumova N., Volkova E. Features of biogenic nanoparticle formation in agarose gels and their effect on cell growth during bulk cultivation // **Chemical Engineering Transactions**. 2021. V. 84. P. 73–78. Doi: 10.3303/CET2184013

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА ЗАЩИЩАЮТ ГЕМОГЛОБИН ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ

Космачевская О.В.¹, Насыбуллина Э.И.¹, Шумаев К.Б.¹, Новикова Н.Н.², Топунов А.Ф.¹

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² НИЦ «Курчатовский институт»

Гемоглобин (Hb) эритроцитов часто подвергается действию активных форм кислорода и азота при окислительном и карбонильном стрессе. Нами была изучена способность динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), как низкомолекулярных, так и связанных с гемоглобином (Hb-ДНКЖ), защищать Hb от окислительной модификации, вызванной пероксинитритом (ONOO⁻).

Динитрозильные комплексы железа являются одной из физиологических форм оксида азота (NO) и функционируют в качестве доноров NO. Низкомолекулярные ДНКЖ с тиольными лигандами в организме существуют в равновесии с белок-связанными ДНКЖ, которые формируются при участии тиоловых и некоторых других групп белков. Помимо способности депонировать и переносить NO, эти соединения могут действовать как антиоксидантные и антирадикальные агенты.

С использованием спектроскопии ЭПР установлено, что пероксинитрит дозозависимо разрушает Hb-ДНКЖ. При этом ДНКЖ ингибируют окисление триптофановых и тирозиновых остатков, а также образование карбонильных производных в белковой части гемопroteина. Также эти комплексы препятствуют формированию ковалентных сшивок между субъединицами Hb и предотвращают деградацию гемовой группы. Обнаруженные эффекты могут быть связаны с восстановлением оксоферрильной формы гема, а также со способностью ДНКЖ непосредственно перехватывать ONOO⁻ и свободные радикалы, возникающие при его гомолизе. Возможен ещё один механизм взаимодействия ДНКЖ с пероксинитритом, основанный на антиоксидантных свойствах, как NO, так и входящих в комплекс ионов железа. На первом этапе образуется комплекс, содержащий связанный пероксинитрит (R₂-Fe-(ONOO)(NO)). Этот комплекс превращается в оксоферрильный интермедиат (R₂-Fe^{IV}=O(NO)), который далее восстанавливается NO с образованием нитрита.

Показанное в работе защитное действие ДНКЖ по отношению к гемоглобину позволяет рассматривать эти комплексы в качестве протекторов миокарда при ишемии/реперфузии, когда образуются высокие концентрации пероксинитрита.

Публикации:

1. Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Novikova N.N., Topunov A.F. Protective effect of dinitrosyl iron complexes bound with hemoglobin on oxidative modification by peroxynitrite. // **International Journal of Molecular Sciences**. 2021. V. 22. N 24. e13649. DOI: 10.3390/ijms222413649
2. Kosmachevskaya O.V., Novikova N.N., Topunov A.F. Carbonyl stress in red blood cells and hemoglobin. // **Antioxidants**. 2021. V. 10. N 2. e253. DOI: 10.3390/antiox10020253.
3. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Неферментативные реакции в метаболизме: роль в эволюции и адаптации. // **Прикладная биохимия и микробиология**. 2021. Т. 57. № 5. С. 417-431. DOI: 10.31857/S055510992105010X.

НОВЫЙ ПОДХОД ДЛЯ СИНТЕЗА КАТИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА В РЕЗУЛЬТАТЕ КАТАЛИЗИРУЕМОГО МЕДЬЮ АЗИД-АЛКИНОВОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ (CUACC) ПОД ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКА

Луньков А.П.¹, Шагдарова Б.Ц.¹, Лялина Т.С.¹, Дубинный М.А.^{2,3}, Карпова Н.В.¹, Лопатин С.А.¹, Ильина А.В.¹, Варламов В.П.¹

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, ИНБ, лаборатория инженерии биополимеров

² ИБХ РАН, лаборатория биомолекулярной ЯМР-спектроскопии

³ МФТИ

В результате реакции азид-алкинового [3+2] циклоприсоединения синтезированы новые катионные производные хитозана со степенями замещения 18-76%. Структура синтезированных соединений подтверждена методами ¹H ЯМР, ¹H-¹³C 2D ЯМР, ИК-спектроскопии. Синтез осуществляли в результате формирования Cu(I) in situ под действием ультразвука (35 кГц, 100 Вт) в присутствии уксусной кислоты и медной стружки (Cu⁰) в водном растворе. Анализ продукта реакции методом АЭС-ИСП показал значительно меньшее содержание остаточной меди (0.0031 масс %) в сравнении со стандартным протоколом синтеза в присутствии CuSO₄•5H₂O и последующим диализом с ЭДТА (0.224 масс %). Процесс синтеза производных соответствует ряду принципов «зелёной химии»: водная среда, высокая селективность реакции (каталитический процесс), экономия атомов. Новые производные характеризовались повышенной растворимостью и наличием антибактериальной (*E. coli*, *S. epidermidis*) и фунгицидной активности (*F. oxysporum*). Предложенный подход открывает широкие перспективы для синтеза новых производных хитозана.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 19-33-90011 «Аспиранты»)

Выражаем благодарность ЦКП «Промышленные биотехнологии» ФИЦ Биотехнологии РАН за анализ низкомолекулярных веществ на масс-спектрометре высокого разрешения Impact II (Bruker Daltonik). Тютюнник О.А., к.х.н., с.н.с лаборатории геохимии и аналитической химии благородных металлов ГЕОХИ РАН за определение содержания меди в образцах методом АЭС-ИСП.

Публикации:

1. Lunkov A.P., Shagdarova B.Ts., Lyalina T.S., Dubinnyi M.A., Karpova N.V., Lopatin S.A., Il'ina A.V., Varlamov V.P. Simple method for ultrasound assisted «click» modification of azido-chitosan derivatives by CuAAC // **Carbohydrate Polymers**. – 2022. – V.282. – 119109. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119109
2. Varlamov V.P., Il'ina A.V., Shagdarova B.T., Lunkov A.P., Mysyakina I.S. Chitin/Chitosan and Its Derivatives: Fundamental Problems and Practical Approaches // **Biochemistry** (Moscow). – 2020. – V. 85. – P. 154–176. DOI: 10.1134/S0006297920140084

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА С ПОТЕНЦИАЛАМИ КМ/ММ: НОВЫЕ ЗНАНИЯ О ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ И ФОТОРЕЦЕПТОРНЫХ СИСТЕМАХ

Хренова М.Г.^{1,2}, Кривицкая А.В.¹, Немухин А.В.^{2,3}

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² МГУ имени М.В.Ломоносова, Химический факультет

³ ИБХФ имени Н.М.Эмануэля РАН

Современные методы молекулярного моделирования позволяют описывать химические реакции в рамках комбинированного метода квантовой механики / молекулярной механики. Качественный скачок, связанный с применением этого метода в последние годы, вызван появлением нового программного обеспечения, в котором метод Кона-Шэма эффективно реализован на графических ускорителях. Это позволяет не только проводить поиск стационарных точек на поверхности потенциальной энергии, но и анализировать динамическое поведение системы, в частности, той области, где протекает химическая реакция. Зачастую конформационная динамика биомолекулярных систем оказывает существенное влияние на протекание химической реакции в активных центрах. Также динамическое поведение необходимо учитывать, если речь идет о системах в водных растворах, поскольку необходимо учитывать вклады от постоянно меняющегося окружения. В докладе будут приведены примеры задач, в которых исследование конформационного многообразия систем позволило получить качественно новые результаты.

Публикации:

1. A.V. Krivitskaya, M.G. Khrenova, A.V. Nemukhin, Two Sides of Quantum-Based Modeling of Enzyme-Catalyzed Reactions: Mechanistic and Electronic Structure Aspects of the Hydrolysis by Glutamate Carboxypeptidase // **Molecules**, 26 (2021) 6280.
2. M.G. Khrenova, B.L. Grigorenko, A.V. Nemukhin, Molecular modeling reveals the mechanism of Ran-RanGAP-catalyzed guanosine triphosphate hydrolysis without an arginine finger // **ACS Catalysis**, 11(2021) 8985–8998.
3. M.G. Khrenova, A.M. Kulakova, A.V. Nemukhin, Light-Induced Change of Arginine Conformation Modulates the Rate of Adenosine Triphosphate to Cyclic Adenosine Monophosphate Conversion in the Optogenetic System Containing Photoactivated Adenylyl Cyclase // **Journal of Chemical Information and Modeling**, 61 (2021) 1215–1225.
4. A.V. Krivitskaya, M.G. Khrenova, Boronic Acids as Prospective Inhibitors of Metallo- β -Lactamases: Efficient Chemical Reaction in the Enzymatic Active Site Revealed by Molecular Modeling // **Molecules**, 26 (2021) 2026.

НОВЫЕ БИОКОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Николаев Ю.А.¹, Эль-Регистан Г.И.¹, Демкина Е.В.¹, Лойко Н.Г.¹, Борзенков И.А.¹, Иванова А.Е.¹, Канапацкий Т.А.¹, Галуза О.А.¹, Ильичёва Е.А.¹, Соколова Д.Ш.¹, Ружицкий А.О.¹, Перминова И.В.², Константинов А.И.², Воликов А.Б.², Хрептугова А.Н.², Близнак И.В.³

¹ ИИМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² МГУ им. М.В.Ломоносова, Химический факультет

³ ЗАО БНТ, Технопарк МГУ

Повышение стабильности биопрепаратов углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ), используемых для биоремедиации объектов окружающей среды загрязненных нефтепродуктами является актуальной задачей. В настоящем исследовании разработаны новые биокондитивные материалы для иммобилизации УОМ на поверхности микрокапсул (МК) из: полимочевины чистой или модифицированной хитозаном или желатином; МК из полимолочной или полигликолевой кислот; а также включения в гели из силанольных производных гуминовых кислот. Использование МК на основе полимочевины с хитозаном (но не чистой полимочевины или с желатином) повышало численность жизнеспособных клеток (КОЕ/мл) в 2–5 раз по сравнению с контрольными вариантами (без МК) как в свежесозданных культурах, так и культурах длительно (до 7 мес.) хранящихся при комнатной температуре и доступе воздуха. При хранении в течение 1 мес. при комнатной температуре варианта с МК из полимолочной кислоты выживало на 3 порядка больше клеток, чем в контроле (без МК). Наиболее эффективным было включение УОБ в гели из силанольных производных гуматов: в таких препаратах после 7–12 мес. хранения титр КОЕ был выше, чем в контрольном варианте до 100 раз. Биопрепараты на основе новых биокондитивных материалов с иммобилизованными УОМ обладали высокой метаболической активностью, окисляя углеводороды. Важными для практического применения свойствами новых биокондитивных материалов являются: пролонгирование жизнеспособности клеток УОМ при длительном (до 12 мес.) хранении; гомогенность культур в период их применения; наличие дополнительных субстратов роста, также используемых для соокисления углеводородов. Обсуждаются причины обнаруженного неестественно длительного выживания микроорганизмов в силанольно-гуматных гелях.

Публикации:

1. Николаев Ю.А., Демкина Е.В., Перминова И.В., и др. Роль гуминовых веществ в пролонгировании жизнеспособности клеток углеводородокисляющих бактерий // **Микробиология**. 2019. Т. 88. С. 725–729. Doi: 10.1134/S0026365619060120
2. Николаев Ю.А., Лойко Н.Г., Демкина Е.В., и др. Функциональная активность гуминовых веществ в пролонгировании выживания популяции углеводородокисляющей бактерии *Acinetobacter junii* // **Микробиология**. 2020. Т. 89. С. 74–87. Doi: 10.31857/S0026365620010103
3. Nikolaev Y.A., Demkina E.V., et al. Role of the structure of humic substances in increasing bacterial survival // **Journal of Microbiolog and Biotechnology**. 2020. V. 5 (4). Art. 000174. Doi: 10.23880/OAJMB-16000174
4. Николаев Ю.А., Борзенков И.А., Демкина Е.В., и др. Новые биокондитивные материалы, включающие углеводородокисляющие микроорганизмы, и их потенциал для деградации нефтепродуктов // **Микробиология**. 2021. Т. 90. № 6. С. 692–705. Doi: 10.31857/S0026365621060112
5. Николаев Ю.А., Борзенков И.А., и др. Способ получения биопрепаратов живых микроорганизмов с продленным сроком сохранения высокого титра жизнеспособных клеток. **Патент РФ** 2751360, 2020.
6. Николаев Ю.А., Борзенков И.А., и др. Способ получения биопрепаратов живых микроорганизмов с продленным сроком сохранения высокого титра жизнеспособных клеток путём иммобилизации в гели на основе силанольных производных гуминовых веществ. **Патент РФ** 2757600, 2021
7. Николаев Ю.А., Лойко Н.Г., Демкина Е.В., и др. Высокоперсистентные штаммы углеводородокисляющих бактерий как основа для повышения количества жизнеспособных клеток при длительном хранении // **Микробиология**. 2021. Т. 90. № 6. С. 763–768. Doi: 10.31857/S0026365621060124
8. Nikolaev Yu., Borzenkov I., et al. Immobilization of cells of hydrocarbon-oxidizing bacteria for petroleum bioremediation using new materials // **International Journal of Environmental Research**. 2021. P. 1–14. Doi 10.1007/s41742-021-00367-5

МЕХАНИЗМЫ ДЕСТРУКЦИИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ ГРИБАМИ БЕЛОЙ ГНИЛИ: POLYPORALES (ПОЛИПОРОВЫЕ) VS RUSSULALES (СЫРОЕЖКОВЫЕ)

Моисеенко К.В., Глазунова О.А., Савинова О.С., Федорова Т.В.

ИНБИ ФИЦ «Биотехнологии» РАН

Базидиомицеты колонизируют или населяют разнообразный растительный материал в лесах, лугах, сельскохозяйственных угодьях и компосте. Дереворазрушающие базидиальные грибы белой гнили являются наиболее эффективными деструкторами древесной биомассы. Понимание механизмов, которые данные базидиомицеты используют для разложения полисахаридов растений, на сегодняшний день находится в зачаточном состоянии. Поскольку ферментативный комплекс базидиомицетов, вероятно, отражает их адаптацию к уникальным природным нишам, данные грибы обладают огромным потенциалом для применения в различных отраслях промышленности, который до сих пор остается в значительной степени малоизученным, или не изученным вовсе.

В настоящем исследовании было проведено сравнение экзопротеомов (секретомов) первичного ксилотрофа *Trametes hirsuta* порядка Полипоровые (Polyporales) и вторичного ксилотрофа *Peniophora lycii* порядка Сыроежковые (Russulales) при их росте на средах, содержащих различные типы древесных опилок (береза, ольха и сосна).

Показано значительное различие профилей секретируемых белков для *T. hirsuta* и *P. lycii*, причем наиболее существенные отличия обнаружены для ферментов лигнолитического комплекса. Для *T. hirsuta* основными секретируемыми ферментами являлись пероксидазы (марганец MnP5 и версатил VP2 пероксидазы). Экзопротеомы *P. lycii* характеризовались полным отсутствием лигнолитических пероксидаз, и на всех средах наблюдалась преобладающая секреция FAD-binding domain-containing protein – ранее не описанного белка, который предположительно является основным лигнолитическим ферментом для данного гриба. Также, на ряде сред наблюдалась секреция разных изоферментов лакказ. Данные изоферменты были выделены из культуральной жидкости и охарактеризованы.

В результате анализа секретомов гриба *T. hirsuta* при росте на средах с добавлением крафт-лигнина, установлено, что основными лигнолитическими ферментами, участвующими в деструкции лигнина, у данного вида базидиальных грибов являются пероксидазы. Также процесс модификации крафт-лигнина грибом *T. hirsuta* был исследован с методом ESI FT-ICR MS, и были выявлены группы систематически изменяющихся соединений. В процессе культивирования гриб имеет тенденцию постепенно разрушать больше восстановленных соединений и продуцировать больше окисленных. Однако этот процесс не был постепенным – существенный разрыв наблюдался между 6-м и 10-м днями культивирования. Одновременно секреция лигнолитических пероксидаз грибом изменялась каскадным образом – к смеси уже секретируемых добавлялись новые изоферменты, а при появлении нового изофермента увеличивалось как его относительное количество, так и число изоформ по мере культивирования. Было высказано предположение, что более поздние секретируемые пероксидазы обладают более высоким субстратным сродством к некоторым фенольным соединениям и действуют более специализированным образом, чем ранние секретируемые.

Представленные в работе данные являются базой для дальнейших исследований, направленных на понимание различных аспектов деградации лигноцеллюлозы грибами белой гнили.

Публикации:

1. Glazunova O.A., Moiseenko K.V., Savinova O.S., Fedorova T.V. / Purification and Characterization of Two Novel Laccases from *Peniophora lycii* // **Journal of Fungi** – 2020 – Vol. 6, No. 4 – 340; doi: 10.3390/jof6040340 (IF 5.816; Q1).
2. Moiseenko K.V., Glazunova O.A., Savinova O.S., Vasina D.V., Zhrebker A.Ya., Kulikova N.A., Nikolaev E.N., Fedorova T.V. Relation between lignin molecular profile and fungal exo-proteome during kraft lignin modification by *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 // **Bioresource Technology** – 2021 – Vol. 335 – 125229; doi: 10.1016/j.biortech.2021.125229 (IF 9.642; Q1).

СТРУКТУРА ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ И СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ ДРЕВНЕГО ЛЕДОВОГО КОМПЛЕКСА МАМОНТОВОЙ ГОРЫ (ЦЕНТРАЛЬНАЯ ЯКУТИЯ)

Ракитин А.Л.¹, Марданов А.В.¹, Белецкий А.В.¹, Груздев Д.С.¹, Колганова Т.В.¹, Сургучева Н.А.², Сорокин В.В.², Деткова Е.Н.², Гальченко В.Ф.², Филиппова С.Н.², Чербунина М.Ю.³, Брушков А.В.³, Мулюкин А.Л.²

¹ИНБ, ФИЦ Биотехнологии РАН

²ИНМИ, ЦКП «Коллекция UNIQEM», ФИЦ Биотехнологии РАН

³Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Геологический ф-т

Представленный цикл работ суммирует результаты комплексных микробиологических исследований малоизученных повторно-жильных льдов, широко распространенных в зоне вечной мерзлоты и отличающихся от других типов ледовых систем по свойствам и генезису. С помощью высокопроизводительного секвенирования генов 16S рРНК тотальной ДНК выявлены различия в структуре прокариотных сообществ верхнего сезонно-талого слоя и нижележащих древних (13–19 тыс. лет и ~40 тыс. лет) горизонтов жильного льда Мамонтовой горы (Центральная Якутия). Так, в верхнем слое наиболее распространены представители следующих филумов: “*Acidobacteria*” (31,81%), “*Actinobacteria*” (18,29%), “*Proteobacteria*” (18,14%), “*Gemmatimonadetes*” (7,3%), Candidatus “*Parcubacteria*” (7,13%) и “*Bacteroidetes*” (6,49%). В разнообразном по составу сообществе жильного льда (13–19 тыс. лет) преобладали представители “*Actinobacteria*”, а в самых древних льдах выявлены представители лишь трех филумов: “*Firmicutes*” (54,48%), “*Proteobacteria*” (31,42%) и “*Bacteroidetes*” (7,92%). Археи составляли минорную часть. С применением классических микробиологических методов анализа образцов талых повторно-жильных льдов выявлена существенная фракция аэробных гетеротрофных бактерий (10^3 до 10^4 КОЕ/мл), а показатели общей численности интактных клеток (10^6 – 10^7 кл./мл) в этих объектах выше, чем во многих ледовых системах. Выделенные из повторно-жильных льдов изоляты гетеротрофных бактерий были представлены филумами “*Actinobacteria*”, “*Firmicutes*” и “*Proteobacteria*”. Основной особенностью большинства изолятов был температурный диапазон роста 8–20°C, характерный для психротолерантных бактерий, и чувствительность к широкому спектру антибиотиков. По совокупности фенотипических и хемотаксономических признаков и результатам филогенетического и полногеномного анализа и ДНК-ДНК гибридизации, один из изолятов – штамм КЗ-2Г – был валидно описан как представитель нового вида – *Serinibacter arcticus*. Выявленные различия в структуре прокариотных сообществ повторно-жильных льдов могут отражать особенности их стратиграфии, а физико-химические условия и длительное действие отрицательных температур – обеспечивать длительное выживание адаптированных к ним микроорганизмов.

Публикации:

1. Rakitin A., Beletsky A., Mardanov A., Surgucheva N., Sorokin V., Cherbunina M., Brouchkov A., Mulyukin A., Filippova S. Prokaryotic community in Pleistocene ice wedges of Mammoth Mountain // **Extremophiles**. 2020. V. 24 (1). P. 93–105. Doi: 10.1007/s00792-019-01138-z
2. Filippova S.N., Surgucheva N.A., Detkova E.N., Rakitin A.L., Beletsky A.V., Grouzdev D.S., Kolganova T.V., Mulyukin A.L. *Serinibacter arcticus* sp. nov., isolated from a thawing ancient ice wedge // **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2020. V. 70 (2). P. 929–934. Doi: 10.1099/ijsem.0.003848
3. Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Колганова Т.В., Чербунина М.Ю., Брушков А.В., Мулюкин А.Л., Гальченко В.Ф. Выделение и идентификация бактерий из образцов жильного льда ледового комплекса Мамонтовой горы (Центральная Якутия) // **Известия РАН. Серия биологическая**. 2019. № 3. С. 246–254. Doi: 10.1134/S0002332919030020

ИДН-НЕЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В КЛЕТКАХ РАКА ПОЧКИ ПРИ ИНАКТИВАЦИИ VHL

Артемов А.В.^{1, 2}, Женило С.В.¹, Каплун Д.С.¹, Старшин А.С.¹, Соколов А.¹, Мазур А.М.¹, Szpotan J.^{3,4}, Gawronski M.³, Modrzejewska M.³, Gackowski D.³, Прохорчук Е.Б.¹

¹ ИИБ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Department of Neuroimmunology, Center for Brain Research, Medical University of Vienna, Vienna, Austria.

³ Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Bydgoszcz, Poland.

⁴ Department of Human Biology, Institute of Biology, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Poland.

Гиперметилирование генов опухолевых супрессоров и другие изменения метилирования ДНК в опухолях играют существенную роль в прогрессировании рака. На метилирование ДНК могут влиять различные условия окружающей среды, включая гипоксию. Ответ на гипоксию в основном достигается за счет активации программы транскрипции, связанной с фактором транскрипции HIF1A. Инактивация гена супрессора опухоли фон Хиппеля-Линдау (VHL) генетическими или эпигенетическими событиями, которая также вызывает аномальную активацию HIF1A, является наиболее частым драйвером рака почки. С помощью полногеномного бисульфитного секвенирования и ЖХ-МС мы продемонстрировали, что инактивация VHL индуцирует глобальное гиперметилирование генома в клетках рака почки человека в нормоксических условиях. Этот эффект устранялся экзогенной экспрессией VHL дикого типа. Мы показали, что глобальное гиперметилирование генома у мутантов VHL может быть объяснено транскрипционными изменениями в генах MDH и L2HGDH, которые вызывают накопление 2-гидроксиглутарата - метаболита, ингибирующего деметилирование ДНК ферментами TET. В отличие от известных случаев гиперметилирования ДНК при раке, 2-гидроксиглутарат накапливался в клетках с изоцитратдегидрогеназами дикого типа. Все эти данные указывают на новый механизм гиперметилирования в клетках рака почки, который не зависит от условий гипоксии, мутаций в гена IDH, а вызван исключительно инактивацией гена VHL.

Публикация:

Artemov, AV, Zhenilo, S, Kaplun, D, Starshin, A, Sokolov, A, Mazur, AM, Szpotan, J, Gawronski, M, Modrzejewska, M, Gackowski, D, Prokhortchouk, EB. An IDH-independent mechanism of DNA hypermethylation upon VHL inactivation in cancer. // *Epigenetics*. 2021, Sep 8;1-12. doi: 10.1080/15592294.2021.1971372

СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫЙ КАРОТИНОИД-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ASTAP – МИНИАТЮРНЫЙ МОДУЛЬ ДОСТАВКИ КАРОТИНОИДОВ

Слонимский Ю. Б.^{1,2}, Егоркин Н. А.^{1,2}, Лунегова Д.А.^{1,2}, Фридрих Т.³, Максимов Е. Г.^{1,2}, Случанко Н.Н.¹

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН,

² МГУ им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет,

³ Технический Университет Берлина

Фотосинтетические организмы вынуждены адаптироваться к сочетанию неблагоприятных факторов среды. У микроводорослей семейства *Scenedesmaceae* совсем недавно был открыт уникальный механизм устойчивости к факторам высокой освещенности и солености среды, связанный с суперэкспрессией каротиноид-связывающего белка AstaP (Astaxanthin-binding protein). Белок AstaP, выделенный из нативного источника, содержал преимущественно каротиноид астаксантин и обладал ярко выраженной антиоксидантной активностью. Впоследствии было обнаружено множество каротиноид-связывающих гомологов белка AstaP, разделенных по своим физико-химическим свойствам на две группы: AstaP-Orange и AstaP-Pink. Однако пространственная структура, олигомерное состояние и механизм связывания лигандов у этих каротиноид-связывающих белков оставались не изученными. Мы впервые получили представителя группы AstaP-Orange в рекомбинантном виде и показали его способность связывать не только аутентичный лиганд – астаксантин, но и каротиноиды зеаксантин, кантаксантин и бета-каротин, имеющие важное значение для здоровья человека. AstaP-Orange оказался мономером с массой 21 кДа, способным связывать каротиноид в стехиометрии 1:1. Мы показали, что белок AstaP-Orange способен эффективно передавать каротиноиды в мембраны липосом, а также в неродственные цианобактериальные белки OCP (Orange Carotenoid Protein) и CTDH (C-terminal Domain Homolog). Согласно спектроскопии кругового дихроизма, AstaP-Orange является α/β -складчатым белком с высокой долей (~50%) разупорядоченных элементов. Применение нейросети AlphaFold2 для последовательности белка AstaP-Orange позволяет выделить у него центральный фасцилин-подобный домен и протяженные разупорядоченные N- и C-концевые сегменты. С помощью ряда усеченных вариантов AstaP-Orange мы продемонстрировали, что удаление N- и C-концевых сегментов не приводит к потере белком способности связывать каротиноиды, однако дестабилизирует его. Ввиду наличия разупорядоченных элементов, шансы кристаллизовать полноразмерный AstaP-Orange невелики, поэтому мы начали работу по расшифровке его структуры методом ЯМР совместно с коллегами из ИБХ. Наше исследование открывает возможности применения белка AstaP-Orange как миниатюрного модуля доставки каротиноидов. Связывание каротиноидов усеченным вариантом белка AstaP Orange локализует сайт связывания каротиноидов в предсказываемом фасцилин-подобном домене.

Публикация:

Slonimskiy YB, Egorkin NA, Friedrich T, Maksimov EG, Sluchanko NN. Microalgal protein AstaP is a potent carotenoid solubilizer and delivery module with a broad carotenoid binding repertoire // **FEBS Journal**. 2021 Sep 28. doi: 10.1111/febs.16215. Epub ahead of print. PMID: 34582628.

ОСМОЛИТЫ И МЕМБРАННЫЕ ЛИПИДЫ В АДАПТИВНОМ ОТВЕТЕ АЛКАЛОФИЛЬНОГО ГРИБА *SODIOMYCES TRONII* НА ХОЛОДОВОЙ, ТЕПЛОВОЙ И ОСМОТИЧЕСКИЙ ШОКИ

Данилова О.А.¹, Януцевич Е.А.¹, Бондаренко С.А.^{1,2}, Терешина В.М.¹

¹ ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² МГУ имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет

Ранее нами впервые было показано, что алкалофильные грибы, в отличие от алкалотолерантных, используют трегалозную защиту для адаптации к щелочным условиям. Для того чтобы проверить, является ли высокий уровень трегалозы достаточным для защиты от других стрессорных воздействий, нами были исследованы изменения состава осмолитов, запасных и мембранных липидов и их жирных кислот в условиях действия холодового (ХШ), теплового (ТШ) и осмотического (ОШ) шоков на примере алкалофильного гриба *Sodiomyces tronii*.

В оптимальных условиях углеводы *S. tronii* представлены трегалозой (80% от суммы сахаров), глюкозой (15%), а также полиолами маннитом и арабитом в минорных количествах. Мембранные липиды *S. tronii* представлены, в основном, фосфатидилхолинами (ФХ), фосфатидилэтаноламинами (ФЭ), фосфатидными кислотами (ФК) и стеринами. К минорным компонентам относятся кардиолипины, фосфатидилсерины, фосфатидилинозиты, лизофосфатидилэтаноламины и сфинголипиды. Доминирующими жирными кислотами фосфолипидов являются линолевая (C18:2n6c) (44% от суммы), олеиновая (C18:1n9c) (24%) и пальмитиновая (C16:0) (20%).

ХШ в течение 6 ч не оказывал существенного влияния на состав углеводов и полиолов цитозоля, а также мембранных липидов, однако, в отличие от ТШ и ОШ, приводил к повышению степени ненасыщенности (СН) фосфолипидов за счет увеличения доли линолевой кислоты (до 54%) на фоне снижения олеиновой и пальмитиновой.

ТШ в течение 3 и 6 ч приводил к увеличению уровня трегалозы в 1.5 и 1.8 раза соответственно на фоне постоянства уровня глюкозы и полиолов, а также к повышению доли ФЭ на фоне снижения вдвое доли ФК.

В отличие от ХШ и ТШ, осмотический шок (0.5 М NaCl) в течение 6 ч приводил к увеличению общего количества углеводов и полиолов в мицелии гриба в 1.8 раза за счет накопления маннита и арабита (до 43% от суммы сахаров), при этом количество трегалозы не снижалось. При увеличении концентрации NaCl до 1 М, количество полиолов снижалось, а уровень трегалозы возрастал в 1.5 раза по сравнению с контрольным вариантом. Количество глюкозы оставалось неизменным при всех концентрациях NaCl. Соотношение мембранных липидов при ОШ не менялось, но, в отличие от ХШ и ТШ, снижалось их количество.

Результаты показывают, что трегалозная защита используется *S. tronii* не только для адаптации к фактору pH, но и к ХШ, ТШ (количество трегалозы удваивается) и ОШ (количество трегалозы не снижается, но требуется дополнительный синтез полиолов). Состав мембранных липидов остается постоянным под действием ХШ и ОШ, тогда как в условиях ТШ немного повышается доля ФЭ на фоне снижения ФК. Механизм изменения степени ненасыщенности участвует в адаптации только к ХШ. В совокупности эти данные показывают ключевую роль осмолитной системы как в адаптации к фактору pH, так и к действию холодового, теплового и окислительного стрессорных факторов, что является биохимической основой полиэкстремотолерантности гриба.

Публикация:

Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Bondarenko S.A., Tereshina V.M. Membrane lipid and osmolyte readjustment in the alkaliphilic micromycete *Sodiomyces tronii* under cold, heat and osmotic shocks // **Microbiology (SGM)**. 2021. V. 167. № 11. doi: 10.1099/mic.0.001112.

ПРОТЕОМИКА ПОКОЯЩИХСЯ, НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФОРМ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Никитушкин В.Д.¹, Шлеева М.О.¹, Логинов Д.С.^{2,3,4}, Дычка Ф.², Sterba J.², Капрельянц А.С.¹.

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН,

² Faculty of Science, University of South Bohemia,

³ BioCeV—Institute of Microbiology of the CAS, Czech Republic,

⁴ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича

Покоящиеся клетки *Mycobacterium tuberculosis*, помимо низкой метаболической активности и высокого уровня лекарственной устойчивости, характеризуются «некультивируемостью» – специфическим обратимым состоянием неспособности таких клеток расти на твердых средах. До настоящего времени, биохимическая характеристика данного физиологического состояния остается лишь поверхностной, поскольку остаются не изучены метаболические процессы, протекающие в подобных клетках. В настоящем исследовании, используя методы протеомного профилирования и методы биоинформатики, мы провели анализ белков, накопленных в «некультивируемых» клетках *M. tuberculosis*, образующихся в условиях имитирующих состояние персистенции *in vivo*. Данный подход выявил сохранение 1379 белков в клетках после 5 месяцев хранения в состоянии покоя (исходные данные доступны на ProteomeXchange с идентификатором PXD028849); среди них 468 белков статистически отличались от таковых в активно растущих клетках ($p < 0.05$) и имели большую представленность в состоянии покоя (fold change – FC > 0). Дифференциальный анализ выявил белки рН-зависимой регуляторной системы PhoP и позволил реконструировать реакции центрального углеродно-глицеринового обмена, а также выявить запасные пути биосинтеза микотиола и UMP, тем самым выявить ферменты, обеспечивающие выживание микобактерий в условиях покоя. В частности, аннотированные пути (особенно выявление метилцитратного и глиоксилатного путей) отражают метаболическую адаптацию микобактерий к условиям жизни в макрофагах, богатых липидами. Таким образом, применяемая *in vitro* модель отражает биохимическую адаптацию микобактерий к персистенции *in vivo*. Сравнительный анализ с ранее-опубликованными белками-антигенами МТВ, позволяет выявить среди сохраняемых в состоянии покоя, иммунореактивные белки, к которым могут относиться специфические антигены, которые могут быть интересны для разработки иммунодиагностических тестов для выявления латентного туберкулеза. Кроме того, среди запасенных белков можно выделить группу ферментов, принадлежащих к классам оксидоредуктаз и гидролаз, способных активировать пролекарства, что создает предпосылки для создания подходов эрадикации латентных форм туберкулеза.

Работа поддержана грантами РФФ 19-15-00324; РФФ 16-15-00245.

Публикации:

1. Nikitushkin V.D., Shleeva M.O., Loginov D., Dyčka F., Sterba J., Kaprelyants A. Shotgun proteomic profiling of dormant, ‘non-culturable’ *Mycobacterium tuberculosis*. <https://doi.org/10.1101/2021.08.06.455493>.
2. Trutneva K.A., Avdienko V.G., Demina G.R., Shleeva M.O., et al. Immunoreactive Proteins of Dormant *Mycobacterium tuberculosis* Cells // **Applied Biochemistry and Microbiology**, 2021 Mar 1;57(2):170–9.
3. Trutneva K.A., Shleeva M.O., Demina G.R., Vostroknutova G.N., Kaprelyants A.S. One-Year Old Dormant, “Non-culturable” *Mycobacterium tuberculosis* Preserves Significantly Diverse Protein Profile // **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2020, v.10(26), #26, DOI:10.3389/fcimb.2020.00026

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХИТИНА, ХИТОЗАНА И ИХ МЕЛАНИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ИЗ *HERMETIA ILLUCENS*

Хайрова А.Ш., Лопатин С.А., Варламов В.П.

ИНБ ФИЦ Биотехнологии РАН

В настоящее время в мире активно развивается технология по утилизации органических отходов с помощью личинок насекомого черная львинка (*Hermetia illucens*). Помимо кормового белка, жира и зоогумуса насекомое может служить источником биополимеров – хитина, образуемого в экзоскелете членистоногих, и его дезацетилированного производного хитозана. Отличительной особенностью насекомого является его доступность в качестве источника природных полимеров на всех стадиях онтогенеза – личинках, куколках, имаго. Более того, в отличие от других промышленно разводимых насекомых, таких как пчела и тутовый шелкопряд, черная львинка на более поздних стадиях развития может служить уникальным источником ковалентно связанного хитозан-меланинового комплекса.

В ходе исследований были разработаны методы по получению хитина, хитозана и их комплексов с меланином на разных этапах развития *Hermetia illucens*, изучены физико-химические свойства и различные виды биологической активности этих природных конъюгатов. Исследован гидролиз высокомолекулярного хитозана с помощью рекомбинантных штаммов хитинолитических ферментов с целью получения низкомолекулярных хитозанов с заданными молекулярными массами. В результате изучения бактерицидной и фунгицидной активностей установлена высокая противогрибная активность низкомолекулярного хитозана из черной львинки, превышающая аналогичную активность хитозана из панцирей ракообразных. Впервые охарактеризованы ковалентно связанные хитин- и хитозан-меланиновые комплексы и изучен ряд их свойств (сорбционных для радионуклидов, фотопротекторных, антиоксидантных). В результате исследования фотопротекторной и антиоксидантной активностей был показан синергический эффект хитозана и меланина в комплексе. В качестве примера практического применения были разработаны рецептуры солнцезащитного и антивозрастного кремов с хитозан-меланиновым комплексом и исследован их эффект на кожу.

Публикации:

1. Khayrova A., Lopatin S., Varlamov V. Obtaining Chitin/Chitosan-Melanin Complexes from Black Soldier Fly *Hermetia Illucens* // **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. 2020. №809(1). P. 012020.
2. Khayrova A., Lopatin S., Varlamov V. Obtaining chitin, chitosan and their melanin complexes from insects // **International Journal of Biological Macromolecules**. 2021. №167. P. 1319–1328.
3. Khayrova A., Lopatin S., Varlamov V. Obtaining and study of physicochemical properties of chitin/chitosan-melanin complexes from *Hermetia illucens* // **Journal of Physics: Conference Series**. 2021. №1942. P. 012003.
4. Хайрова А.Ш., Лопатин С.А., Варламов В.П., Богданова С.А., Шигабиева Ю.А., Князев А.А. Хитозан-меланиновый полимерный комплекс – перспективный ингредиент эмульсионных композиций // **Все материалы. Энциклопедический справочник**. 2021. №10. С. 35–40.
5. Khayrova A., Lopatin S., Shagdarova B., Sinitsyna O., Sinitsyn A., Varlamov V. Evaluation of Antibacterial and Antifungal Properties of Low Molecular Weight Chitosan Extracted from *Hermetia illucens* Relative to Crab Chitosan // **Molecules**. 2022. №27. P. 577.

ДИНАМИКА МИКРОБИОТЫ МЕХАНИЧЕСКИ СОРТИРОВАННОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ТВЕРДЫХ КОММУНАЛЬНЫХ ОТХОДОВ ПРИ КОМПОСТИРОВАНИИ

Вантеева А.В., Миронов В.М., Соколова Д.Ш., Меркель А.Ю., Николаев Ю.А.

ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

Механико-биологическая обработка твердых коммунальных отходов (ТКО) способствует снижению нагрузки на полигоны. Впервые было проведено исследование последовательного изменения состава, функций и разнообразия прокариотической и грибной микробиоты при компостировании механически сортированной органической фракции ТКО (мс-ОФТКО). Применены методы физического моделирования в экспериментальной установке в течение 98 сут, аналитической химии и высокопроизводительного секвенирования микробного сообщества. Установлено, что мс-ОФТКО содержит полностью функциональное микробное сообщество, которое последовательно развивается под воздействием факторов среды и эффективно разлагает органическое вещество отходов. В течение 35 дней компостирования происходило интенсивное выделение CO_2 (макс. $129,4 \text{ мг } \text{CO}_2 \text{ кг}^{-1} \text{ ч}^{-1}$), NH_3 (макс. $0,245 \text{ мг } \text{NH}_3 \text{ кг}^{-1} \text{ ч}^{-1}$) и выделение тепла (макс. $4,28 \text{ кДж } \text{кг}^{-1} \text{ ч}^{-1}$), что указывает на интенсивную микробную активность. В отходах, направляемых на компостирование, преобладали восемь родов молочнокислых бактерий и грибы родов *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Agaricus* и *Candida*. Когда температура повышалась до 60°C и выше, микробное биоразнообразие уменьшалось. В связи с изменением условий основные микробные деструкторы в мс-ОФТКО также изменились: семейство *Vacillaceae*, роды *Planifilum*, *Thermobifida* и *Streptomyces*, а также роды грибов *Thermomyces* и *Microascus* были вовлечены в процессы минерализации органического вещества на высокотемпературной и более поздних стадиях. Зоны анаэробной деградации образовались в отходах при значительном потреблении кислорода в условиях высокой микробной активности, что подтверждается эмиссией метана и наличием генов его метаболизма в микробиоме, а также присутствием анаэробных гидролитических бактерий, в т.ч. родов *Tepidimicrobium* и *Caldicoprobacter*, в сообществе. Потенциально высокое функциональное разнообразие прокариотического сообщества мс-ОФТКО может быть использовано для выделения микроорганизмов-биодеструкторов ксенобиотиков (например, пластика) и создания микробных консорциумов для интенсификации компостирования мс-ОФТКО.

Исследование было поддержано РФФИ - проект мк-18-29-25035.

Публикации:

1. Mironov V., Vanteeva A., Sokolova D., Merkel A., Nikolaev Y. Microbiota dynamics of mechanically separated organic fraction of municipal solid waste during composting // **Microorganisms**. 2021. V. 9. Art. 1877. Doi:10.3390/microorganisms9091877
2. Миронов В.В., Потокина В.В., Бочкова Е.А., Вантеева А.В., Загустина Н.А., Паршина С.Н. Активность метаногенных архей при компостировании органических отходов // **Прикладная биохимия и микробиология**. 2021. Т. 57. № 6. С. 583–593. Doi: 10.31857/S0555109921060106

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСЛЕНИЯ АНТИРАКОВОЙ АКТИВНОСТИ ДОКСОРУБИЦИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИНЗЕНОЗИДА Rh2

Полозников А.А.¹, Хушпулян Д.М.¹, Газарян И.Г.², Атрошенко Д.Л.², Тишков В.И.^{2,3}, Попов А.⁴

¹ Высшая школа экономики, Факультет биологии и биотехнологии;

² МГУ имени М.В.Ломоносова, Химический факультет;

³ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

⁴ Институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, ДВО РАН, Владивосток

Доксорубицин – широко используемый противораковый препарат, в том числе в качестве превентивной терапии после удаления твердой опухоли. В нашей работе была использована его комбинация с одним из гликозидов женьшеня, т.н. Rh2, который отличается способностью перфорировать клеточные мембраны и генерировать окисленные формы кислорода. Rh2 отдельно также сильно снижает размер опухоли, однако уступает по эффективности немного уступает доксорубицину. Как оказалось, комбинация Rh2 с доксорубицином действительно уменьшает размеры твердой опухоли у животных в большей степени, чем отдельно доксорубицин. Но, что оказалось более интересным и неожиданным, так это то, что если инъекции начинать на следующий день после инокуляции опухоли, в случае комбинированного использования препаратов, опухоль вообще не формируется, в то время как доксорубицин и Rh2 по отдельности такого эффекта не дают. Полученные результаты указывают на то, что использование Rh2 в сочетании с доксорубицином компрометирует способность раковых клеток к адгезии, что и было подтверждено в отдельном эксперименте на клеточной культуре. В плане практической терапии метастазирующих вариантов рака предложенная комбинация доксорубицина с Rh2 является очень перспективным и высокоэффективным методом для предотвращения возникновения в организме новых очагов болезни.

Работа выполнена в рамках проектов РФФИ 20-04-00921 и РФФИ 20-04-00943.

Публикация:

Popov A., Klimovich A., Styshova O., Tsybulsky A., Hushpulian D., Osipyants A., Khristichenko A., Kazakov S., Ahuja M., Kaidery N., Thomas B., Tishkov V., Brown A., Gazaryan I., Poloznikov A. Probable mechanisms of doxorubicin antitumor activity enhancement by ginsenoside Rh2 // **Molecules**, 2022, v. 27, paper 628. Publication date 19.01.2022. DOI: 10.3390/molecules27030628. <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/3/628>

МИКРОБНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ВОЗМОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПОДЗЕМНЫХ ВОДАХ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НИТРАТАМИ И РАДИОНУКЛИДАМИ

Бабич Т.Л.¹, Соколова Д.Ш.¹, Турова Т.П.¹, Полтараус А.Б.², Груздев Д.С.¹, Сафонов А.В.³, Захарова Е.В.³, Калмыков С.Н.⁴, Като К.⁵, Назина Т.Н.¹

¹ ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² ИМБ РАН

³ ИФХЭ РАН

⁴ МГУ им. М.В.Ломоносова, Химический факультет

⁵ Университет Шизуоки, Япония

Длительное время оз. Карачай использовалось для захоронения жидких радиоактивных отходов (РАО). Радиоактивные и другие компоненты РАО фильтровались через проницаемое ложе водоема и концентрировались в подземных водах. Целью работы было определение физико-химических и радиохимических условий, численности и филогенетического разнообразия микроорганизмов, выделение доминирующих бактерий и оценка возможности их использования для *in situ* биоремедиации подземных вод от нитрат-ионов и радионуклидов. Пробы подземных вод, отобранные глубины 20–100 м на расстоянии 2.2–4.0 км от озера Карачай, содержали высокие концентрации ацетата, оксалата, нитрата и сульфата, а также радионуклидов. Из-за окислительных условий подземные воды были населены аэробными бактериями (105 кл/мл). Присутствовали также бродильные (до 105 кл/мл), денитрифицирующие (до 104 кл/мл) и железоредуцирующие бактерии (до 103 кл/мл), в то время как численность и активность сульфатредуцирующих и метаногенных прокариот была низка. С использованием методов, основанных на анализе гена 16S рРНК, показано, что микробные сообщества исследованных проб воды из загрязненной зоны характеризовались преобладанием протеобактерий, некультивируемых бактерий филумов *Microgenomates* (OP11), *Parcubacteria* (OD1) и *Gracilibacteria* (GN02) и аммонийоокисляющих архей филума *Thaumarchaeota* ('*Candidatus Nitrosopumilus koreensis*', '*Candidatus Nitrosotalea devanaterre*'). Из подземных вод выделено в чистую культуру более 50 штаммов аэробных органотрофных и анаэробных денитрифицирующих и железоредуцирующих бактерий, принадлежащих к 23 родам и 44 видам. Бактерии родов *Pseudomonas*, *Pusillimonas*, *Rhizobium*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Roseomonas*, *Pantoea* и *Dechloromonas* восстанавливали нитраты до нитритов и/или молекулярного азота. Потенциал микробной денитрификации *in situ* был подтвержден детекцией генов *nirS/nirK* денитрифицирующих бактерий в исследуемых пробах воды. В геномах штаммов родов *Pusillimonas* и *Roseomonas* выявлены гены, детерминирующие восстановление нитратов, устойчивость к тяжелым металлам и металлоидам. Бактерии родов *Shewanella* и *Pantoea* восстанавливали Fe(III), U(VI) и Np(V) в средах с ацетатом или лактатом. Из подземных вод выделены ультрамикробактерии и ультрамикрорформы, принадлежащие к родам *Microbacterium*, *Salinibacterium* и *Chryseobacterium*. Показано, что микроорганизмы из подземных вод восстанавливали нитраты, снижали окислительно-восстановительный потенциал среды, что в свою очередь может способствовать росту бактерий, восстанавливающих радионуклиды, и снижению миграции радионуклидов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 11-04-92116, 13-04-92105), РФФ (17-17-01212) и Минобрнауки РФ.

Публикации:

1. Nazina T., Babich T., Kostryukova N., Sokolova D., Abdullin R., Tourova T., Kadnikov V., Mardanov A., Ravin N., Grouzdev D., Poltaraus A., Kalmykov S., Safonov A., Zakharova E., Novikov A., Kato K. Ultramicrobacteria from nitrate- and radionuclide-contaminated groundwater // **Sustainability**. 2020. V. 12. Art. 1239. doi:10.3390/su12031239
2. Safonov A.V., Perepelov A.V., Babich T.L., Popova N.M., Grouzdev D.S., Filatov A.V., Shashkov A.S., Demina L.I., Nazina T.N. Structure and gene cluster of the O-polysaccharide from *Pseudomonas veronii* A-6-5 and its Uranium Bonding // **International Journal of Biological Macromolecules**. 2020. V. 165. Part B.P. 2197–2204. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.038

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ В ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV-2 И ЕГО КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА

Воробьев И.И.¹, Орлова Н.А.¹, Синегубова М.В.¹, Ковнир С.В.¹, Колесов Д.Э.¹, Даянова Л.К.^{1,2}, Сафенкова И.В.¹, Должикова И.В.³

¹ *ФИЦ Биотехнологии РАН*

² *Институт биоорганической химии РАН*

³ *НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи МЗ РФ*

Массовое определение уровней связывающих антител к различным антигенам вируса SARS-CoV-2 и уровня нейтрализующих антител к белку S необходимо для точной оценки размеров групп индивидов, развивших гуморальный иммунный ответ на введенные вакцины, а также прошедших заражение вирусом вне зависимости от тяжести симптомов заболевания. Чувствительность и специфичность иммунодиагностических тестов в значительной степени определяется чистотой и степенью мультимеризации используемого белкового антигена.

Для случая нуклеопротеина вируса SARS-CoV-2, получаемого при помощи бактериальной системы экспрессии в растворимом состоянии, нами было впервые обнаружено, что его иммунореактивность в отношении набора стандартных сывороток крови больных COVID-19 существенно увеличивается, если из препарата нуклеопротеина была полностью удалена примесь РНК. Одновременно с этим такой препарат нуклеопротеина слабее реагировал с сыворотками крови, полученными от доноров до 2019 г. В тестах ИФА с препаратами очищенного от РНК нуклеопротеина и нуклеопротеина, полученного по стандартной методике, было продемонстрировано статистически достоверное различие в отношении сигналов от позитивных и негативных стандартных образцов.

Рецептор-связывающий домен шиповидного белка вируса SARS-CoV-2 (RBD) является иммунодоминантным антигеном вируса, титр антител к нему в наибольшей степени коррелирует с уровнем вирус-нейтрализующих антител. Нами было продемонстрировано, что RBD может быть получен в больших количествах в преимущественно мономерной форме в клетках CHO, очищен до гомогенности при помощи одной стадии металлохелатной хроматографии и использован в иммунодиагностических наборах ИФА и ИХ.

Внеклеточная часть рецептора вируса SARS-CoV-2 - ангиотензин-превращающего фермента-2 (ACE2) также может быть получена в больших количествах при помощи клеток CHO и применена для разработки тестов суррогатной вирус-нейтрализации (sVNT) в формате ИФА. Нами было впервые продемонстрировано, что данный тест предпочтительно проводить, используя иммобилизованный на микропланшетах RBD и зонд ACE2-HRP. Такой формат проведения sVNT обеспечивает высокую корреляцию его результатов с результатами теста на вирус-нейтрализацию с живым вирусом, значительно большую прецизионность определения, чем для теста с иммобилизованным ACE2, и легкость адаптации процедуры к замене RBD исходного вируса на RBD новых вариантов SARS-CoV-2.

Публикации:

1. Kolesov DE, Sinigubova MV, Safenkova IV, Vorobiev II, Orlova NA. 2022. Antigenic properties of the SARS-CoV-2 nucleoprotein are altered by the RNA admixture. **PeerJ**. 10: e12751
2. Sinigubova MV, Orlova NA, Kovnir SV, Dayanova LK, Vorobiev II. High-level expression of the monomeric SARS-CoV-2 S protein RBD 320-537 in stably transfected CHO cells by the EEf1A1-based plasmid vector. **PLoS One**. 2021 Feb 2;16(2):e0242890. doi: 10.1371/journal.pone.0242890.
3. Kolesov DE, Sinigubova MV, Dayanova LK, Dolzhikova IV, Vorobiev II, Orlova NA. 2022. Fast and Accurate Surrogate Virus Neutralization Test Based on Antibody-Mediated Blocking of the Interaction of ACE2 and SARS-CoV-2 Spike Protein RBD. **Diagnostics**. Accepted for publication 31.01.22 .

ЭКОЛОГИЯ, БИОГЕОГРАФИЯ И ТАКСОНОМИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО КЛАСТЕРА «МОРСКИЕ *GEITLERINEMA*»

Самылина О.С.¹, Синетова М.А.², Куприянова Е.В.², Турова Т.П.¹

¹ ИНМИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН

При изучении микробного разнообразия в содовых и солёных щелочных озерах юга Сибири мы обнаружили, что в них в широком диапазоне общей солёности (25-200 г/л) распространены нитчатые негетероцистные цианобактерии, морфологически соответствовавшие виду *Phormidium* (ранее *Oscillatoria*) *tambii*. Этот морфотип встречался во всех исследованных нами содовых и солёных щелочных озёрах и первоначально был идентифицирован по анализу последовательности гена 16S рПНК как *Geitlerinema* sp. из филогенетического кластера «морские *Geitlerinema*». К началу нашего таксономического расследования представители этого кластера были широко известны в международной литературе, но их аффилиация оставалась хаотичной: *Phormidium*, *Microcoleus*, *Geitlerinema*, *Oscillatoria*, просто «Phormidiaceae cyanobacterium» или «Oscillatoriales cyanobacterium». В 2018 г. был валидирован новый род и вид *Sodalinema komarekii* Cellamare, Duval, Touibi, Djediat & Bernard, относительно близкий к BBD-штаммам «морских *Geitlerinema*», но филогенетическая позиция этого рода в составе кластера показана не была.

Мы провели таксономическую ревизию кластера «морские *Geitlerinema*» с использованием генетических (16S рПНК, 16S-23S ITS, *rpoB*, *gyrB*, *nifH*), биохимических (состав жирных кислот) и фенотипических (морфология, ультраструктура клеток) критериев, а также соотнесли филогению с экологическим и географическим распространением представителей этого кластера, в результате чего:

- описали новый род и вид *Baaleninema simplex* gen. et sp. nov.;
- показали принадлежность рода *Sodalinema* к кластеру «морские *Geitlerinema*», скорректировали диагноз этого рода и описали три новых вида (*Sodalinema gerasimenkoe* sp. nov., *Sodalinema orleanskyi* sp. nov. и *Sodalinema stali* sp. nov.).

Представители рода *Sodalinema* распространены в широком диапазоне общей солёности и карбонатной щёлочности: от миксогалинных/миксосалинных/морских ($\leq 30-35$ г/л) до гиперсолёных (200–250 г/л) условий в содовых, солёных щелочных и солёных местообитаниях (морских и озёрных). Для всех исследованных представителей рода *Sodalinema* вне зависимости от экологического и географического распространения характерно наличие *nifH*-генов “*desulfo*”-типа, полученных предположительно путём горизонтального переноса *nif*-оперона (*nifHDKENB*) от представителей *Deltaproteobacteria*.

Публикации:

- 1/ Samylina O.S., Sinetova M.A., Kupriyanova E.V., Starikov A.Yu., Sukhacheva M.V., Dziuba M.V., Tourova T.P. Ecology and biogeography of the ‘marine *Geitlerinema*’ cluster and a description of *Sodalinema orleanskyi* sp. nov., *Sodalinema gerasimenkoe* sp. nov., *Sodalinema stali* sp. nov. and *Baaleninema simplex* gen. et sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria) / **FEMS Microbiology Ecology**. 2021. fiab104. doi: 10.1093/femsec/fiab104
- 2/ Самылина О.С. Фототрофные сообщества содовых озёр Кулундинской степи (Алтайский край): история альгологических исследований и современные данные // **Вопросы современной альгологии**. 2021. № 2 (26). С. 53–62. Doi: 10.33624/2311-0147-2021-2(26)-53-62

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ГЛУБОКИЕ ЭВТЕКТИЧЕСКИЕ РАСТВОРИТЕЛИ КАК СРЕДА ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО СИНТЕЗА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Хлупова М.Е.¹, Морозова О.В.¹, Шумакович Г.П.¹, Васильева И.С.¹, Ярополов А.И.¹, Зайцева Е.А.², Чертков В.А.², Шестакова А.К.³

¹ ИНБИ ФИЦ Биотехнологии РАН

² МГУ им. М.В.Ломоносова, Химический факультет

³ Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений

Биодеградируемые и нетоксичные глубокие эвтектические растворители (ГЭР) являются альтернативой традиционным органическим растворителям и ионным жидкостям. В работе проведена ферментативная полимеризация флавоноидов таксифолина и (+)катехина в ГЭР бетаин/глицерин (молярные соотношения компонентов 1:2) с добавлением 40 об.% буфера. Грибная лакказы *Trametes hirsuta* являлась катализатором реакции, а атмосферный кислород – окислителем. Оптимизированы состав ГЭР и условия проведения синтеза. Различными физико-химическими методами (УФ-видимая, ИК- спектроскопия с преобразованием Фурье, ¹H, ¹³C и двумерный ЯМР) получены данные о структуре синтезированных соединений. Методом гель-проникающей хроматографии определены среднemasовые молекулярные массы олигомеров и их индексы полидисперсности. Показано, что продукты полимеризации таксифолина в ГЭР-буферной смеси отличаются от продуктов, полученных с участием лакказы в водно-спиртовой смеси. Олигомеры (+)-катехина обладали ~ в 100 раз более высокой ингибирующей активностью (IC₅₀ ~ 8 мкг/мл) по сравнению с мономером катехина в отношении α-глюкозидазы. Полученные олигомеры катехина могут являться перспективной субстанцией для предотвращения развития сахарного диабета 2-го типа.

Публикации:

1. M. Khlupova, I. Vasil'eva, G. Shumakovich, E. Zaitseva, V. Chertkov, A. Shestakova, O. Morozova, A. Yaropolov. Enzymatic Polymerization of Dihydroquercetin (Taxifolin) in Betaine-Based Deep Eutectic Solvent and Product Characterization. // **Catalysts**, 2021, V.11, № 5. Article number: 639.
2. М.Е. Хлупова, О.В. Морозова, И.С. Васильева, Г.П. Шумакович, Е.А. Зайцева, В.А. Чертков, А.К. Шестакова, А.И. Ярополов. Полимеризация (+)катехина в глубоком эвтектическом растворителе с использованием грибной лакказы: физико-химические свойства продуктов и ингибирование α-глюкозидазы. // **Прикладная биохимия и микробиология**, 2021, Т 57, № 6, С. 556–562.

Программа

VIII Научной конференции ФИЦ Биотехнологии РАН, 2022

№№	Время	ФИО докладчика	Название доклада, авторы	Лаборатория (по докладчику)
Конференция будет проходить в Zoom.				
14 февраля, понедельник				
0	10-30	Открытие научной Конференции Центра		
1	10-40	Дедыш Светлана Николаевна	ПЛАНКТОМИЦЕТЫ ГРУППЫ WD2101: УСКОЛЬЗАЮЩИЕ ОТ МИКРОБИОЛОГОВ КОЛОНИЗАТОРЫ НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ Дедыш С.Н., Белецкий А.В., Иванова А.А., Куличевская И.С., Ракитин А.Л., Марданов А.В., Равин Н.В.	Лаборатория молекулярной экологии и филогеномики бактерий
2	11-00	Макаров Вадим Альбертович	ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ АНТИБИОТИКА С ОТСУТСТВИЕМ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ Рябова О.Б., Монахова Н.С., Егорова А.П., Лепешкин А.Ю., Казакова Е.С. Макаров В.А., Speer A., Bitter W., Cole S.	Лаборатория биомедицинской химии
3	11-20	Виноградова Светлана Владимировна	ПРИМЕНЕНИЕ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ МАЛЫХ РНК ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСОВ И ВИРОИДОВ ВИНОГРАДА В РОССИИ Навроцкая Э.В., Поротикова Е.В., Юрченко Е.Г., Галбакс Ж.Н., Вараллай Е., Виноградова С.В.	Группа биоинженерии растений
4	11-40	Бойко Константин Михайлович	СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ZAD-ДОМЕНОВ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ АРХИТЕКТУРНЫХ БЕЛКОВ –ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ БЫСТРОГО ФОРМИРОВАНИЯ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ Бойко К.М., Николаева А.Ю., Бурцева А.Д., Бончук А.Н., Георгиев П.Г., Попов В.О.	Лаборатория инженерной энзимологии
5	12-00	Зыкова Анна Андреевна	НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННОГО САМОСОБИРАЮЩЕГОСЯ ПЕПТИДА, СОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИД M2e и КОНСЕРВАТИВНЫЙ УЧАСТОК ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСА ГРИППА, ИНДУЦИРУЮТ ГУМОРАЛЬНЫЙ И Т-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ЗАЩИЩАЮТ ОТ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ Зыкова А.А., Блохина Е.А., Степанова Л.А., Шуклина М.А., Цыбалова Л.М., Куприянов В.В., Равин Н.В.	Отдел молекулярной биологии микроорганизмов
6	12-20	Слободкин Александр Игоревич	АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ НАЗЕМНЫХ ГРЯЗЕВЫХ ВУЛКАНОВ Слободкин А.И., Меркель А.Ю., Ратникова Н.М., Слободкина Г.Б., Фролова А.А., Хомякова М.А., Черных Н.А., Бонч-Осмоловская Е.А	Лаборатория разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов
7	12-40	Гулевич Андрей Юрьевич	МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ESCHERICHIA COLI ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ АЭРОБНОЙ КОНВЕРСИИ ГЛЮКОЗЫ В ФУМАРОВУЮ КИСЛОТУ Скороходова А.Ю., Гулевич А.Ю., Дебабов В.Г.	Группа метаболической инженерии бактерий
8	13-00 - 13-20	Жур Кристина Валерьевна	ОТ СОВМЕСТНОГО РАСПИТИЯ ПИВА К ПАЛЕОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИСТОРИИ КАВКАЗА ВРЕМЕН РАННЕЙ БРОНЗЫ Жур К., Трифонов В., Петров Д., Савельева Л. Прохорчук Е.	Лаборатория геномики и эпигеномики позвоночных

13-20 – 14-00 ПЕРЕРЫВ

№№	Время	ФИО докладчика	Название доклада, авторы	Лаборатория (по докладчику)
9	14-00	Гончаренко Анна Владимировна	СТРАТЕГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КАНДИДАТНОГО ВАКЦИННОГО ШТАММА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ Карпов Д.С., Гончаренко А.В., Усачев Е.В., Васина Д.В., Дивисенко Е.В., Чаленко Я.М., Почтовый А.А., Овчинников Р.С., Макаров В.В., Юдин С.М., Ткачук А., Гущин В.А.,	Группа редактирования геномов микроорганизмов
10	14-20	Горленко Владимир Михайлович	КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВАМПИРА: 'CANDIDATUS ABSCONDITICOCCUS PRAEDATOR' Якимов М.М., Меркель А.Ю., Gaisin V.A., Pilhofer M., Messina E., Hallsworth J.E., Клюкина А.А., Тихонова Е.Н., Горленко В.М.	Лаборатория экологии и геохимической деятельности микроорганизмов
11	14-40	Кушников Виталий Владимирович	НОНСЕНС МУТАЦИИ МОГУТ РАДИКАЛЬНО УВЕЛИЧИВАТЬ ЧАСТОТУ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПРИОНА/АМИЛОИДА Дергалева А.А., Ураков В.Н., Агафонов М.О., Александров А.И. и Кушников В.В.	Лаборатория молекулярной генетики
12	15-00	Филюшин Михаил Александрович	ИДЕНТИФИКАЦИЯ В ГЕНОМЕ ЧЕСНОКА ALLIUM SATIVUM L. СВЯЗАННЫХ С ПАТОГЕНЕЗОМ ГЕНОВ И ИХ РОЛЬ В ОТВЕТЕ НА ЗАРАЖЕНИЕ ГРИБОМ FUSARIUM PROLIFERATUM Филюшин М.А., Анисимова О.К., Щенникова А.В., Кочиева Е.З.	Лаборатория системной биологии растений
13	15-20	Филькин Сергей Юрьевич	ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ СИСТЕМА ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖАХ P. PASTORIS Филькин С.Ю., Чертова Н.В., Князева К.Э., Цедилин А.М., Липкин А.В., Федоров А.Н.	Лаборатория молекулярной биотехнологии
14	15-40	Летаров Андрей Викторович	О-АНТИГЕНЫ E. COLI И ЛИЗОГЕНИЗАЦИЯ УМЕРЕННЫМИ БАКТЕРИОФАГАМИ Летаров А.В., Ефимов А.Д., Кузнецов А.С., Куликов Е.Е., Голомидова А.К., Летарова М.А., Иванов П.А.	Лаборатория вирусов микроорганизмов
15	16-00	Дергачева Дарья Игоревна	МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПЕРЕСТРОЙКА В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ ENDOMYCES MAGNUSII В ХОДЕ ДОЛГОВРЕМЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Дергачева Д.И., Исакова Е.П., Гесслер Н.Н., Кляйн О.И., Дерябина Ю.И., Терешина В.М., Матушкина И.Н., Попова Т.Н., Семенихина А.В., La Porta N., Saris N.-E. L., Kieliszek M.	Лаборатория экологической и эволюционной биохимии
16	16-20 - 16-40	Узун Мария Михайловна	ВЫЯВЛЕНИЕ МЕЖФИЛУМНОГО ПЕРЕНОСА ГЕНОВ СИНТЕЗА МАГНЕТОСОМ У МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ Узун М.М., Козяева В.В., Дзюба М.В.	ЦКП «Биоинженерия»

15 февраля, вторник				
№№	Время	ФИО докладчика	Название доклада, авторы	Лаборатория (по докладчику)
17	10-30	Жгун Александр Александрович	ПОДХОДЫ К СНИЖЕНИЮ РИСКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ XV-XVI вв. ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ Жгун А.А., Авданина Д.А., Потапов М.П., Нураева Г.К., Троян Е.В., Любавская Е.А., Шумихин К.В., Александрова Л.А., Хомутов А.Р., Макаров В.А., Шагдарова Б.Ц., Ильина А.В., Варламов В.П., Симоненко Н.П., Волков И.А., Иванов В.В., Шитов М.В.	Группа генетической инженерии грибов
18	10-50	Заварзина Дарья Георгиевна	ЦИКЛИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ МИНЕРАЛОВ ЖЕЛЕЗА, ОСУЩЕСТВЛЯЕМАЯ АНАЭРОБНЫМИ ЭКСТРЕОФИЛЬНЫМИ ПРОКАРИОТАМИ Заварзина Д.Г., Кочеткова Т.В., Меркель А.Ю., Чистякова Н.И., Антонова А.В., Перевалова А.А., Жилина Т.Н., Кокшаров Ю.А., Грачева М.А., Чернов М.С., Бычков А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Гаврилов С.Н.	Лаборатория метаболизма экстремофильных прокариот
19	11-10	Доценко Анна Сергеевна	ПРИМЕНЕНИЕ БИОИНФОРМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ФЕРМЕНТОВ Доценко А.С., Денисенко Ю.А., Рожкова А.М., Зоров И.Н., Сеницын А.П.	Лаборатория биотехнологии ферментов
20	11-30	Булаев Александр Генрихович	ИСТОЧНИКИ УГЛЕРОДА КАК ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ АКТИВНОСТЬ БИООКИСЛЕНИЯ СУЛЬФИДНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ Булаев А.Г., Елкина Ю.А., Нечаева А.В., Бодуэн А.Я., Меламуд В.С.	Лаборатория хемолитотрофных микроорганизмов
21	11-50	Шубин Владимир Вениаминович	РОЛЬ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ МОД В ФОРМИРОВАНИИ КРАСНЫХ СОСТОЯНИЙ АНТЕННОГО ХЛОРОФИЛЛА В PS1 ИЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ Пищальников Р.Ю., Шубин В.В., Разживин А.П.	Лаборатория биоэнергетики
22	12-10	Кадников Виталий Валерьевич	АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ ГОРЮЧИЕ ГАЗЫ, ОБРАЗУЮЩИЕСЯ ПРИ ПОДЗЕМНОМ ГОРЕНИИ УГОЛЬНЫХ ПЛАСТОВ Кадников В.В., Марданов А.В., Белецкий А.В., Карначук О.В., Равин Н.В.	Отдел молекулярной биологии микроорганизмов
23	12-30	Борзова Вера Александровна	"Антиагрегационная активность малого белка теплового шока альфа-Б-кристаллина (HspB5) в условиях молекулярного краудинга Н.А. Чеботарева, С.Г. Роман, В.А. Борзова, Т.Б. Еронина, В.В. Михайлова, Б.И. Курганов	Лаборатория структурной биохимии белка
24	12-50 - 13-10	Белалов Илья Шамильевич	РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛА СПЕЙСЕРОВ В CRISPR-CAS СИСТЕМАХ И ЭКОЛОГИЯ ФАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ Павлова Е.С., Морозов А.Ю., Paez-Espino D., Белалов И.Ш.,	Лаборатория вирусов микроорганизмов

13-10 – 13-50 ПЕРЕРЫВ

№№	Время	ФИО докладчика	Название доклада, авторы	Лаборатория (по докладчику)
25	13-50	Гавшина Александра Васильевна	РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ЦИСТЕИНА В АЛЛОСТЕРИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ ФОТОТРАНСФОРМАЦИИ ХРОМОФОРА БИФОТОХРОМНОГО БЕЛКА SAASoti Гавшина А.В., Марынич Н.К., Хренова М.Г., Соловьев И.Д., Савицкий А.П.	Лаборатория физической биохимии
26	14-10	Литти Юрий Владимирович	МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДОРОДА ИЗ СУБСТРАТОВ С РАЗНЫМ БИОПОЛИМЕРНЫМ СОСТАВОМ В ПРОЦЕССЕ ТЕМНОВОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ Литти Ю.В., Вишнякова А.В., Русскова Ю.И., Ножевникова А.Н., Паршина С.Н., Журавлева Е.А., Бочкова Е.А., Меркель А.Ю., Катраева И.В., Ковалев Д.А., Ковалев А.А.	Лаборатория микробиологии антропогенных мест обитания
27	14-30	Жердева Виктория Вячеславовна	ГАДОБУТРОЛ - КОНТРАСТНЫЙ И ПРОСВЕТЛЯЮЩИЙ КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ ДЛЯ БИМОДАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ Жердева В.В., Казачкина Н.И., Меерович И.Г, Сайдашева А.Н., Соловьев И.Д., Тучина Д.К., Савицкий А.П., Тучин В.В., Богданов А.А.,мл.,	Лаборатория молекулярного имиджинга
28	14-50	Каплун Дарья Сергеевна	KAISO РЕГУЛИРУЕТ ГОМЕОСТАЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК Каплун Д.С., Старшин А.С., Шарко Ф.С., Гайнова К.М., Филонова Г.Е., Жигалова Н.А., Мазур А.М., Прохорчук Е.Б. и Женило С.В.,	Лаборатория геномики и эпигеномики позвоночных
29	15-10	Сафенкова Ирина Викторовна	ЭКСПРЕССНАЯ ДЕТЕКЦИЯ РНК/ДНК-СОДЕРЖАЩИХ АНАЛИТОВ С ВЫСОКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАЗНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ, CRISPR-Cas СИСТЕМЫ И МЕМБРАННЫХ ТЕСТ-ПОЛОСОК Сафенкова И.В., Иванов А.В., Зверева Е.А., Поправко Д.С., Буркин К.М., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.	Лаборатория иммунобиохимии
30	15-30	Складнев Дмитрий Анатольевич	ГЕНЕРАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК Складнев Д.А., Сорокин В.В., Алексеева А.П., Саакян С.В.	Лаборатория выживаемости микроорганизмов
31	15-50	Космачевская Ольга Владимировна	ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА ЗАЩИЩАЮТ ГЕМОГЛОБИН ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Шумаев К.Б., Новикова Н.Н., Топунов А.Ф.	Лаборатория биохимии азотфиксации и метаболизма азота
32	16-10 - 16-30	Луньков Алексей Павлович	НОВЫЙ ПОДХОД ДЛЯ СИНТЕЗА КАТИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА В РЕЗУЛЬТАТЕ КАТАЛИЗИРУЕМОГО МЕДЬЮ АЗИД-АЛКИНОВОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ (CuACC) ПОД ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКА Луньков А.П., Шагдарова Б.Ц., Лялина Т.С., Дубинный М.А., Карпова Н.В., Лопатин С.А., Ильина А.В., Варламов В.П.	Лаборатория инженерии биополимеров

16 февраля, среда				
№№	Время	ФИО докладчика	Название доклада, авторы	Лаборатория (по докладчику)
33	10-30	Хренова Мария Григорьевна	МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА С ПОТЕНЦИАЛАМИ КМ/ММ: НОВЫЕ ЗНАНИЯ О ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ И ФОТОРЕЦЕПТОРНЫХ СИСТЕМАХ Хренова М.Г., Кривицкая А.В., Немухин А.В.,	Группа молекулярного моделирования
34	10-50	Николаев Юрий Александрович	НОВЫЕ БИОКОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ Николаев Ю.А., Эль-Регистан Г.И., Демкина Е.В., Лойко Н.Г., Борзенков И.А., Иванова А.Е., Канапацкий Т.А., Галуза О.А., Ильичёва Е.А., Соколова Д.Ш., Ружицкий А.О., Перминова И.В., Константинов А И., Воликов А.Б., Хрептугова А.Н., Близнец И.В.	Лаборатория выживаемости микроорганизмов
35	11-10	Моисеенко Константин Валерьевич	МЕХАНИЗМЫ ДЕСТРУКЦИИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ ГРИБАМИ БЕЛОЙ ГНИЛИ: POLYPORALES (ПОЛИПОРОВЫЕ) VS RUSSULALES (СЫРОЕЖКОВЫЕ) Моисеенко К.В., Глазунова О.А., Савинова О.С., Федорова Т.В.	Лаборатория молекулярных основ биотрансформаций
36	11-30	Мулюкин Андрей Львович	СТРУКТУРА ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ И СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ ДРЕВНЕГО ЛЕДОВОГО КОМПЛЕКСА МАМОНТОВОЙ ГОРЫ (ЦЕНТРАЛЬНАЯ ЯКУТИЯ) Ракитин А.Л., Марданов А.В., Белецкий А.В., Груздев Д.С., Колганова Т.В., Сургучева Н.А., Сорокин В.В., Деткова Е.Н., Гальченко В.Ф., Филиппова С.Н., Чербунина М.Ю., Брушков А.В., Мулюкин А.Л.	ЦКП «Коллекция UNIQEM»
37	11-50	Артемов Артем Владимирович	IDN-НЕЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В КЛЕТКАХ РАКА ПОЧКИ ПРИ ИНАКТИВАЦИИ VHL Артемов Артем, Женило Светлана, Каплун Дарья, Старшин Алексей, Соколов Алексей, Мазур Александр, Justyna Szpotan , Maciej Gawronski, Martyna Modrzejewska, Daniel Gackowski, Прохорчук Егор	Лаборатория геномики и эпигеномики позвоночных
38	12-10	Слонимский Юрий Борисович	СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫЙ КАРОТИНОИД-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ АСТАР – МИНИАТЮРНЫЙ МОДУЛЬ ДОСТАВКИ КАРОТИНОИДОВ Слонимский Ю.Б., Егоркин Н.А., Лунегова Д.А., Фридрих Т., Максимов Е.Г., Случанко Н.Н.	Группа «Белок-белковые взаимодействия»
39	12-30	Данилова Ольга Александровна	ОСМОЛИТЫ И МЕМБРАННЫЕ ЛИПИДЫ В АДАПТИВНОМ ОТВЕТЕ АЛКАЛОФИЛЬНОГО ГРИБА SODIOMYCES TRONII НА ХОЛОДОВОЙ, ТЕПЛОВОЙ И ОСМОТИЧЕСКИЙ ШОКИ Данилова О.А., Януцевич Е.А., Бондаренко С.А., Терешина В.М.	Группа экспериментальной микологии

12-50 – 13-30 ПЕРЕРЫВ

№№	Время	ФИО докладчика	Название доклада, авторы	Лаборатория (по докладчику)
40	13-30	Никитушкин Вадим Дмитриевич	ПРОТЕОМИКА ПОКОЯЩИХСЯ, НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФОРМ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Никитушкин В.Д., Шлеева М.О., Логинов Д.С., Душка F., Sterba J., Капрельянец А.С.	Лаборатория биохимии стрессов микроорганизмов
41	13-50	Хайрова Аделя Шамильевна	ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХИТИНА, ХИТОЗАНА И ИХ МЕЛАНИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ИЗ HERMETIA ILLUCENS А.Ш. Хайрова, С.А. Лопатин, В.П. Варламов	Лаборатория инженерии биополимеров
42	14-10	Вантеева Анна Вячеславовна	ДИНАМИКА МИКРОБИОТЫ МЕХАНИЧЕСКИ СОРТИРОВАННОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ТВЕРДЫХ КОММУНАЛЬНЫХ ОТХОДОВ ПРИ КОМПОСТИРОВАНИИ Вантеева А.В., Миронов В.М., Соколова Д.Ш., Меркель А.Ю., Николаев Ю.А.	Группа микробных процессов конверсии органических отходов
43	14-30	Тишков Владимир Иванович	ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСЛЕНИЯ АНТИРАКОВОЙ АКТИВНОСТИ ДОКСОРУБИЦИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИНЗЕНОЗИДА Rh2 Полозников А.А., Хушпулян Д.М., Газарян И.Г., Атрошенко Д.Л., Тишков В.И., Попов А.	Лаборатория молекулярной инженерии
44	14-50	Бабич Тамара Леонидовна	МИКРОБНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ВОЗМОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПОДЗЕМНЫХ ВОДАХ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НИТРАТАМИ И РАДИОНУКЛИДАМИ Бабич Т.Л., Соколова Д.Ш., Турова Т.П., Полтараус А.Б., Груздев Д.С., Сафонов А.В., Захарова Е.В., Калмыков С.Н., Като К., Назина Т.Н.	Лаборатория нефтяной микробиологии
45	15-10	Воробьев Иван Иванович	ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ В ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV- И ЕГО КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА И.И. Воробьев, Н.А. Орлова, М.В. Синегубова, С.В. Ковнир, Д.Э. Колесов, Л.К. Даянова, И.В. Сафенкова, И.В. Должикова.	Лаборатория биоинженерии клеток млекопитающих
46	15-30	Самылина Ольга Сергеевна	ЭКОЛОГИЯ, БИОГЕОГРАФИЯ И ТАКСОНОМИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО КЛАСТЕРА «МОРСКИЕ GEITLERINEMA» Самылина О.С., Синетова М.А., Куприянова Е.В., Турова Т.П.	Лаборатория реликтовых микробных сообществ
47	15-50 - 16-10	Ярополов Александр Иванович	БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ГЛУБОКИЕ ЭВТЕКТИЧЕСКИЕ РАСТВОРИТЕЛИ КАК СРЕДА ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО СИНТЕЗА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ Хлупова М.Е., Морозова О.В., Шумакович Г.П., Васильева И.С., Ярополов А.И., Зайцева Е.А., Чертков В.А., Шестакова А.К.	Лаборатория химической энзимологии
	16-10	Заккрытие научной Конференции Центра		