

НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ В 2022 ГОДУ

Обнаружен новый фермент – гидропероксидбициклаза CYP5164A3 (ЕС 5.3.99.-), контролирующий превращение гидроперекисей жирных кислот в семейство неизвестных ранее биорегуляторов - гетеробичклических оксипинов «эктокарпинов», у бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus* (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН)

АННОТАЦИЯ

Рекомбинантный белок CYP5164A3 (суперсемейство P450) бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus*, имеющий отдалённое сходство с белками клана CYP74, полученный с помощью гетерологической экспрессии кДНК в *E. coli*, обладает селективной активностью в отношении 13(*S*)-гидропекиси α -линоленовой кислоты (13-НРОТЕ) и 15(*S*)-гидропекиси эйкозапентаеновой кислоты (15-НРЕРЕ). Основными продуктами являются гетеробичклические оксипиновы. Например, 13-НРОТЕ превращается в плазмодиофоролы А, В и С. Плазмодиофоролы А-С недавно описаны как продукты фермента гидропероксидбициклазы CYP50918A1 килы капусты *Plasmodiophora brassicae* (Rhizaria, SAR). Кроме того, обнаружены неизвестные ранее производные 3-пропенил-6-оксабичкло[3.1.0]гексана, образующиеся из 13-НРОТЕ и 15-НРЕРЕ, получившие тривиальные названия «эктокарпины А и В», соответственно. В присутствии CYP5164A3 15-НРЕРЕ превращается также в новые продукты, аналогичные плазмодиофоролам А и В, названные «эктокарпинами С и D». Фермент *E. siliculosus* является первой гидропероксидбициклазой, обнаруженной в бурых водорослях. Очевидно, этот фермент играет ключевую роль в биосинтезе гетеробичклических оксипинов, таких как гибридалактон, эклонилактоны и родственные природные продукты, широко распространенные в бурых водорослях.

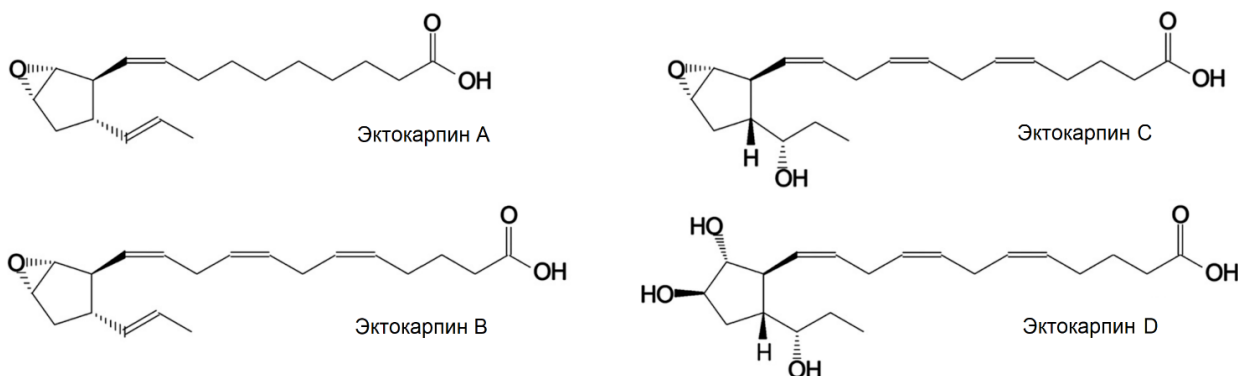


Рис. Структурные формулы новых оксилипинов, синтезируемых гидропероксидбициклазой CYP5164A3 *Ectocarpus siliculosus*

Публикации:

1. Toporkova Y.Y, Smirnova E.O., Mukhtarova L.S., Grechkin A.N. Lipoxygenase pathway in brown algae: The biosynthesis of novel oxylipins 'ectocarpins' by hydroperoxide bicyclase CYP5164A3 of *Ectocarpus siliculosus* // *Biochim Biophys Acta: Mol. Cell Biol. Lipids.* –2022. – V. 1867, №10. 159205. (Q1)

Впервые в лишайниках выявлены этапы меланогенеза, индуцированного УФ радиацией. Обнаружена высокая хелатирующая активность меланина по отношению к тяжелым металлам и синтетическим красителям, обусловленная наличием карбоксильных и гидроксильных групп и ароматических поликонъюгированных структур. Впервые продемонстрированы гигроскопичные свойства этого гидрофобного полимера. Эти особенности меланинов вносят вклад в формирование уникальной стрессовой устойчивости лишайников (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН).

АННОТАЦИЯ

Меланины представляют собой темные пигменты, характерные для представителей всех биологических царств. Естественные меланины являются гетерогенными полимерами, образующимися в результате окисления фенольных/индольных предшественников и последующей полимеризации промежуточных фенолов и хинонов. Особый интерес представляют свойства, морфология и функции меланинов экстремофильных организмов, в том числе лишайников. Обнаружено, что УФ радиация индуцирует синтез меланина в верхнем кортексе таллома. Этот сложный многостадийный процесс характеризуется накоплением меланиновых гранул и утолщением клеточных стенок гиф микобионта. Обнаружено, что меланины лишайников проявляют высокую хелатирующую активность по отношению к тяжелым металлам и синтетическим красителям, вследствие наличия карбоксильных и гидроксильных групп, а также ароматических поликонъюгированных структур. Впервые продемонстрированы гигроскопичные свойства этого гидрофобного полимера. Диэлектрические свойства гидратной воды были использованы в качестве индикатора способности меланинов сорбировать воду. Наши результаты свидетельствуют, что в лишайниках формирование меланинового слоя на поверхности таллома является одним из ключевых механизмов их высокой устойчивости лишайников не только к УФ и свету высокой интенсивности, но и обезвоживанию. Полученные результаты расширяют современное представление о роли меланинов в обеспечении уникальной стрессовой устойчивости лишайников и перспективы их практического применения

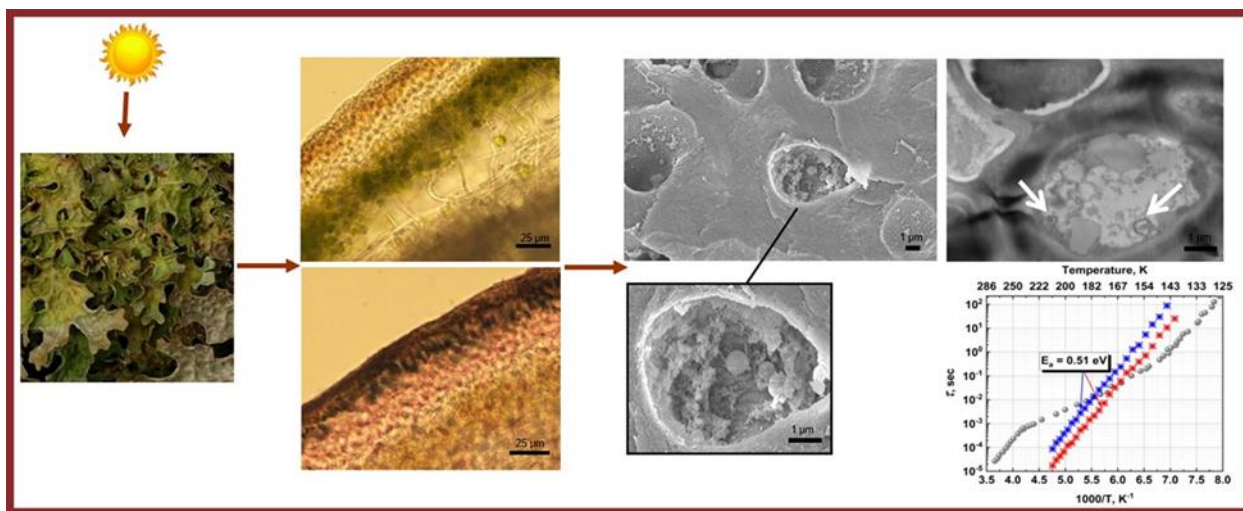


Рис. УФ-индуцированный синтез меланина в талломе лишайника: стадии синтеза меланиновых гранул и формирования меланинового слоя. Характеристики гидратной воды меланинов в сравнении с поведением воды в состоянии льда.

Публикации

1. Daminova A.G., Rogov A.M., Rassabina A.E., Beckett R.P., Minibayeva F.V. Effect of melanization on thallus microstructure in the lichen *Lobaria pulmonaria* // *Journal of Fungi*. – 2022. – V. 8, No. 791. (Q1)
2. Beilinson Y., Rassabina A., Lunev I., Faizullin D., Greenbaum A., Salnikov V., Zuev Y., Minibayeva F., Feldman Y. Dielectric response of hydrated water as a structural signature of nanoconfined lichen melanins // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2022. – V. 24, - P. 22624–22633. (Q1)
3. Ndhlovu N.T., Minibayeva F., Beckett R.P. Melanisation in boreal lichens is accompanied by variable changes in non-photochemical quenching // *Plants-Basel*. – 2022. – V. 11, No 20. (Q1)
4. Хабибрахманова В.Р., Рассабина А.Е., Хайруллина А.Ф., Минибаева Ф.В. Физико-химические характеристики и антиоксидантные свойства меланинов, выделенных из лишайника *Leptogium furfuraceum* (Harm.) // *Химия растительного сырья*. – 2022. – В. 4. – С. 5-16.

Сформулирована концепция восприимчивых ответов растений – комплекса реакций, которые активируются патогенами с целью индукции патологического процесса или преобразования растения в подходящую экологическую нишу при манифестных и бессимптомных типах взаимодействия. Предложен подход для контроля инфекционных заболеваний растений за счет экзогенного регулирования этих реакций (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН)

АННОТАЦИЯ

Согласно сформулированной концепции о восприимчивых ответах растений как о фундаментальной основе их взаимодействия с фитопатогенами, растения не являются *a priori* восприимчивыми к какому-либо фитопатогену даже в случае генетически детерминированной предрасположенности. Патологический процесс и даже бессимптомное взаимодействие паразита и хозяина возможны только при условии индукции восприимчивых ответов растений. Восприимчивые ответы растений – это нормальные физиологические реакции, которые активируются патогенами в рамках тактики манипулирования хозяином.

Подавление восприимчивых ответов приводит либо к неспособности патогена вызывать симптомы заболевания, то есть к развитию бессимптомной инфекции, либо к невозможности растительно-микробного взаимодействия. Восприимчивые ответы растений связаны с такими физиологическими процессами как движение замыкающих клеток устьиц, модификация клеточной стенки, транспорт воды, фотоассимилятов, неорганических соединений, программируемая клеточная смерть, гипертрофия клеток и гиперплазия тканей. Проведена классификация восприимчивых ответов на две основные категории: 1) ответы, которые служат причиной развития патологий, то есть определяют состояние истинной восприимчивости растения и 2) ответы, которые, не приводя к развитию симптомов заболевания, преобразуют организм хозяина в подходящую для патогена экологическую нишу, то есть определяют состояние толерантности растения. Аргументирована перспективность экзогенного регулирования восприимчивых ответов с точки зрения эффективной стратегии контроля инфекционных заболеваний растений: подавление восприимчивых ответов в отличие от индукции защитных ответов не приводит к селективному давлению на патоген и, следовательно, к его быстрой адаптации, сопряженной с восстановлением вирулентности.

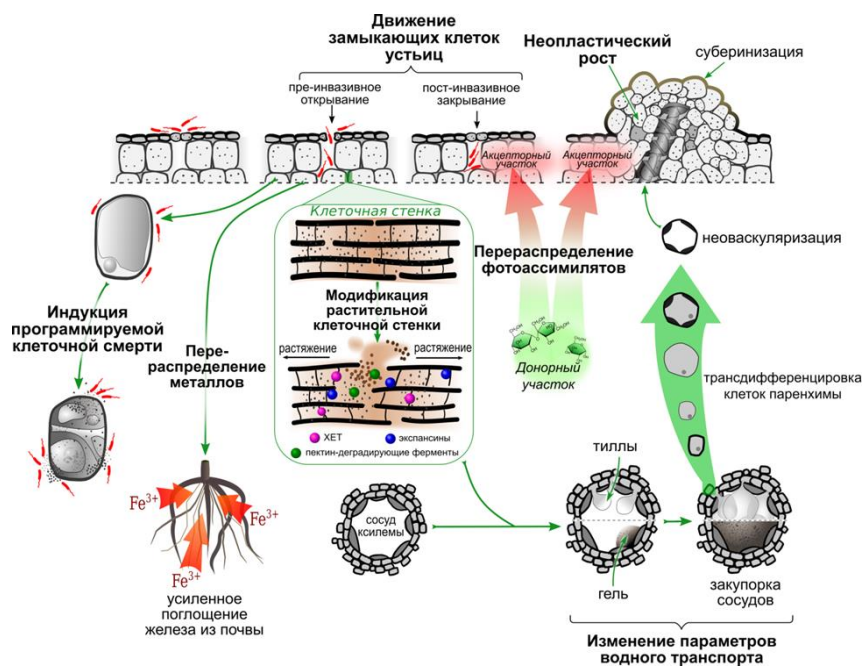


Рис.. Типы восприимчивых ответов растений при взаимодействии с фитопатогенными микроорганизмами.

Публикации

1. Gorshkov, V., & Tsers, I. Plant susceptible responses: The underestimated side of plant–pathogen interactions. // Biological Reviews. – 2022. – V. 97, No. 1. – P. 45-66. (Q1)

2. Gorshkov, V. Y., Toporkova, Y. Y., Tsers, I. D., Smirnova, E. O., Ogorodnikova, A. V., Gogoleva, N. E., Parfirova O.I, Petrova O.E. & Gogolev, Y. V. Differential modulation of the lipoxygenase cascade during typical and latent *Pectobacterium atrosepticum* infections. // *Annals of Botany*. – 2022. – V. 129, No. 3. – P. 271-286. (Q1)
3. Gorshkov, V., Tsers, I., Islamov, B., Ageeva, M., Gogoleva, N., Mikshina, P., Parfirova O.I, Gogoleva O.A, Petrova O.E. Gogolev, Y. The modification of plant cell wall polysaccharides in potato plants during *Pectobacterium atrosepticum*-caused infection. // *Plants*. – 2021. – V. 10, No. 7. – P. 1407. (Q1)
4. Tsers, I., Meshcherov, A., Gogoleva, O., Petrova, O., Gogoleva, N., Ponomareva, M., Gogolev, Y., Korzun V., Gorshkov, V. Alterations in the Transcriptome of Rye Plants following the *Microdochium nivale* Infection: Identification of Resistance/Susceptibility-Related Reactions Based on RNA-Seq Analysis. // *Plants*. – 2021. – V. 10, No. 12. – P. 2723. (Q1)

Показано, что клеточные стенки меристематических клеток злаков обогащены ксилоглюканами и гомогалактуронами – компонентами, характерными для клеточных стенок двудольных растений, но считавшимися нетипичными для злаков. Обнаруженное сходство составов клеточных стенок в меристемах растений различных таксонов указывает на возможную универсальность механизмов инициации роста растяжением (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН).

АННОТАЦИЯ

Клеточные стенки – это оболочки растительных клеток преимущественно углеводной природы. Их механические свойства и архитектура контролируют скорость и направление роста клеток и морфогенез растения в целом. Наиболее значимыми компонентами клеточных стенок у двудольных, которые участвуют в росте клеток растяжением, служат гомогалактуронан и ксилоглюкан. Считается, что для клеточных стенок злаков эти полисахариды нетипичны. В этой связи экстраполяция на злаки актуальных знаний о механизмах роста растительных клеток, полученных в основном на двудольных растениях, затруднена. Основными нецеллюлозными полисахаридами клеточных стенок злаков служат глюкуроноарабиноксилан и глюкан со смешанным типом связей. Все гипотезы о функционировании первичных клеточных стенок злаков ранее строились на базе этого представления. С использованием транскриптомики, работы с базами данных, флуоресцентной микроскопии, иммуноцитохимии и биохимии показано, что на ранних этапах развития клеток злаков они содержат полный набор гликозилтрансфераз, необходимых для синтеза ксилоглюкана и гомогалактуронана, и клеточные стенки обогащены этими полисахаридами. Состав, считавшийся ранее классическим, клеточные стенки злаков приобретают на более поздних стадиях развития. Таким образом, на ранних этапах развития клеток композиция клеточных стенок злаков схожа с таковой у двудольных, что указывает на общность механизмов инициации роста растяжением у представителей этих таксонов. Исследования проведены на кукурузе (*Zea mays*) и ржи (*Secale cereale*), представляющих два крупнейших подсемейства злаков (*Panicoideae* и *Pooideae*, соответственно). Указанная тенденция характерна как для надземных, так и для подземных

осевых органов этих растений. Полученные результаты меняют сложившиеся представления как о механизмах роста клеток злаков, так и о возможных мишенях, которые могут быть использованы для воздействия на этот процесс.

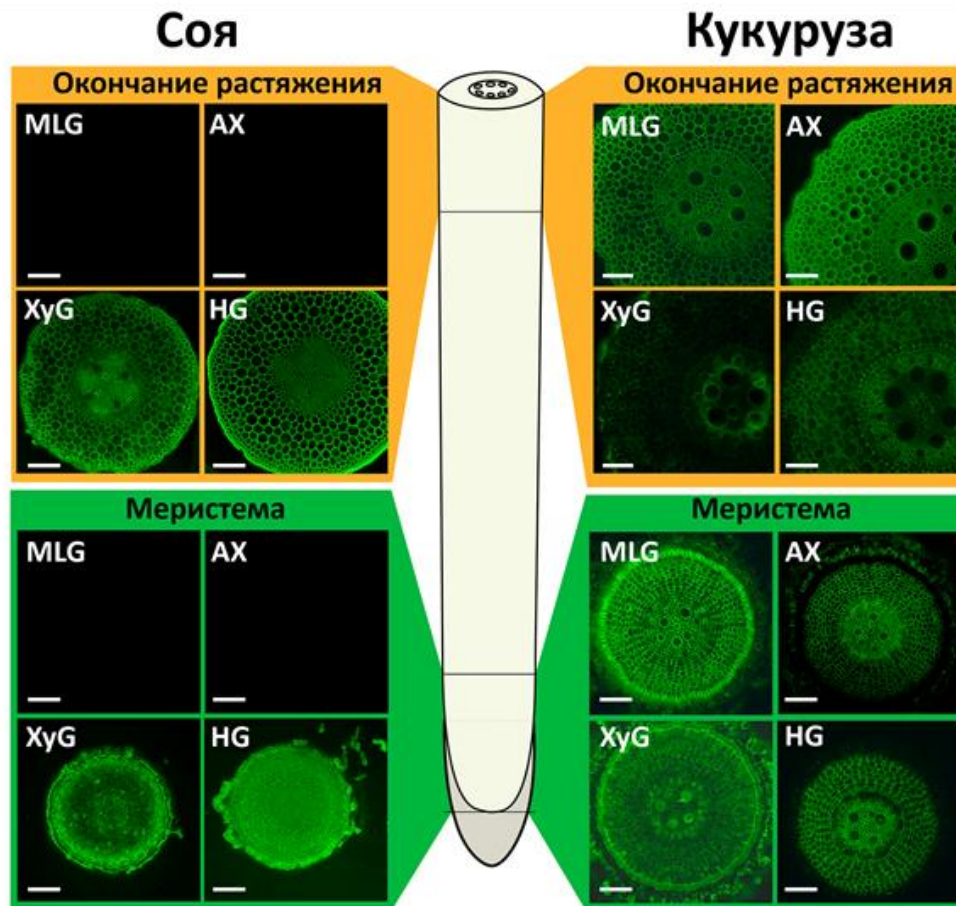


Рис.. Клеточные стенки злаков на ранних этапах развития клеток обогащены ксилоглюканом и гомогалактуронаном, которые ранее считались для них нетипичными. Представлено мечение антителами к различным компонентам клеточных стенок в корне злака (кукуруза) и двудольного растения (соя). MLG – глюкан со смешанным типом связей, AX – арабиноксилан, ХуG – ксилоглюкан, HG – гомогалактуронан. Масштабная линия – 100 мкм.

Публикации:

1. Petrova A., Sibgatullina G., Gorshkova T., Kozlova L. Dynamics of cell wall polysaccharides during the elongation growth of rye primary roots // *Planta*. – 2022. – V. 255. – P. 108. (Q1).
2. Petrova A., Gorshkova T., Kozlova L. Gradients of cell wall nano-mechanical properties along and across elongating primary roots of maize // *Journal of Experimental Botany*. – 2021. – V. 72. – P. 1764-1781. (Q1)
3. Kozlova L., Nazipova A., Gorshkov O., Petrova A., Gorshkova T. Elongating maize root: zone-specific combinations of polysaccharides from type I and type II primary cell walls // *Scientific Reports*. – 2020. – V. 10. – P. 10956. (Q1).

Показано, что природные полисахариды способны восстанавливать нарушенную нативную структуру белков, которые находятся в составе амилоидных фибрилл.

Ключевым фактором, определяющим эту способность, является иммобилизация амилоидных структур на полисахаридной матрице за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий с последующей перегруппировкой белок-белковых контактов. (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН).

АННОТАЦИЯ

Формирование белками нерастворимых агрегатов амилоидных фибрилл связано с широким рядом заболеваний, которые в настоящее время не поддаются лечению. Разработка средств, направленных на ингибирование или дезагрегацию амилоидных фибрилл на любом этапе их роста в организме, является актуальной задачей. На примере модельного белка лизоцима продемонстрировано, что природные полисахариды способны дезагрегировать амилоидные филаменты и ренатурировать белок *in vitro*. Методами ИК-, атомно-силовой микроскопии и флуоресцентной спектроскопии показано, что амилоидные фибриллы при взаимодействии с линейными анионными полисахаридами, такими как κ -каррагинан и альгинат натрия, формируют гели и дезагрегируют амилоидные структуры с последующей ренатурацией белка. По совокупности экспериментальных данных и компьютерного моделирования было предположено, что α -спирали образованы терминальными фрагментами полипептидной цепи лизоцима, которые несут большое количество положительно заряженных остатков и расположены на поверхности протофиламентов. Полученные результаты закладывают основу для разработки новых терапевтических средств для лечения «структурных» заболеваний человека и животных (болезни Альцгеймера, Паркинсона и пр.).

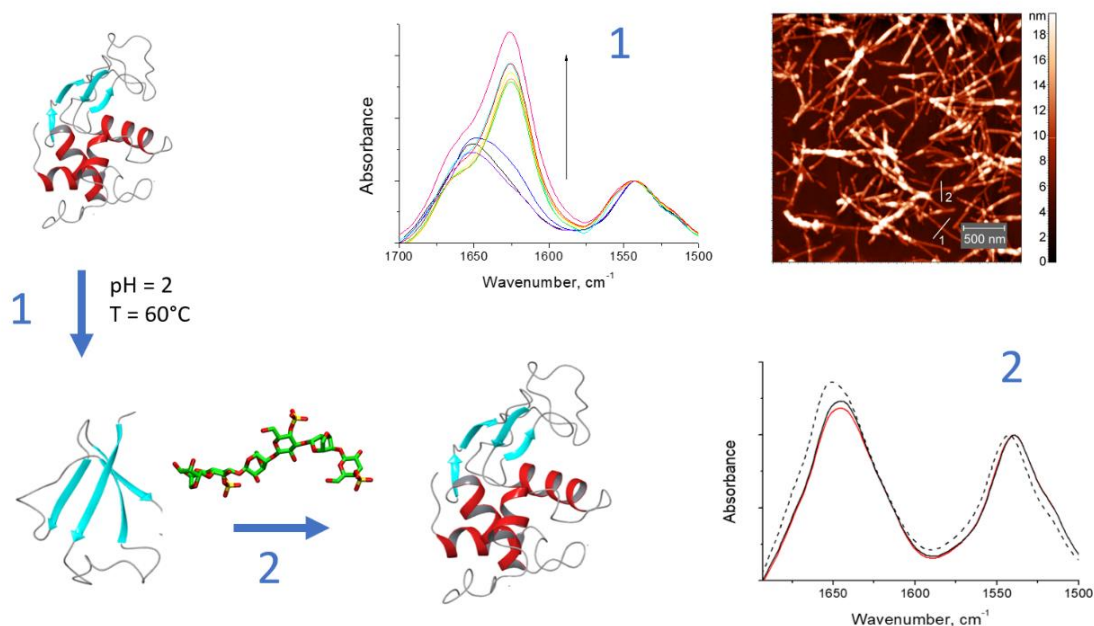


Рис. Схема формирования структур, обогащенных β -слоями, (1) и обратной ренатурации (2) лизоцима при связывании с κ -каррагинаном.

Публикации:

1. Makshakova O., Zuev Y. Interaction-Induced Structural Transformations in Polysaccharide and Protein-Polysaccharide Gels as Functional Basis for Novel Soft-Matter: A Case of Carrageenans (Review) // Gels. – 2022. – V. 8., No. 5. – P. 287. (Q1)
2. Makshakova O.N., Bogdanova L.R., Faizullin D.A., Ermakova E.A., Zuev Yu.F., Sedov I.A. Interaction-induced structural transformation of lysozyme and kappa-carrageenan in binary complexes // Carbohydrate Polymers. – 2021. - V.252. N 117181. (Q1)
3. Ermakova E., Makshakova O., Zuev Yu., Sedov I. Fibril fragments from the amyloid core of lysozyme: An accelerated molecular dynamics study // Journal of Molecular Graphics and Modelling. – 2021. - 107917. (Q2)

Установлено, что одновременное проявление сил отталкивания и притяжения при межмолекулярном взаимодействии частично-неупорядоченных белков подтверждает их реоморфные свойства и свидетельствует об уникальной природной способности структуры неупорядоченных белков реагировать на изменения окружения посредством динамической перестройки подвижного конформационного ансамбля на уровне вторичной или третичной структуры в отличие от структурированных белков, для которых превалирует вклад электростатического отталкивания. (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН).

АННОТАЦИЯ

Одним из общепринятых подходов к оценке белок-белковых взаимодействий в водных растворах является анализ их трансляционной диффузии. Разработанный нами феноменологический подход был применен для анализа концентрационных зависимостей коэффициентов само- и коллективной поступательной диффузии для жёстких сфероидальных белков α -химотрипсина и сывороточного альбумина человека и частично неупорядоченных белков α -казеина и β -лактоглобулина. Для упорядоченных глобулярных белков показано преобладание электростатического отталкивания. Для частично неупорядоченных белков выявлено преобладание сил притяжения в общем потенциале взаимодействия. Притяжение, наблюдаемое для частично-неупорядоченных белков обусловлено их реоморфными свойствами, связанными возможностью пространственно-временной перестройки структуры при взаимодействии с партнерами. Проведенный анализ межмолекулярных взаимодействий упорядоченных и частично неупорядоченных белков в различных условиях показал возможность регулировать тип, направление и интенсивность белок-белковых взаимодействий. Проведенное исследование показало возможность модулировать силу ББВ при терапии таких болезней, как рак, сердечно-сосудистые заболевания, амилоидоз и нейродегенеративные заболевания.

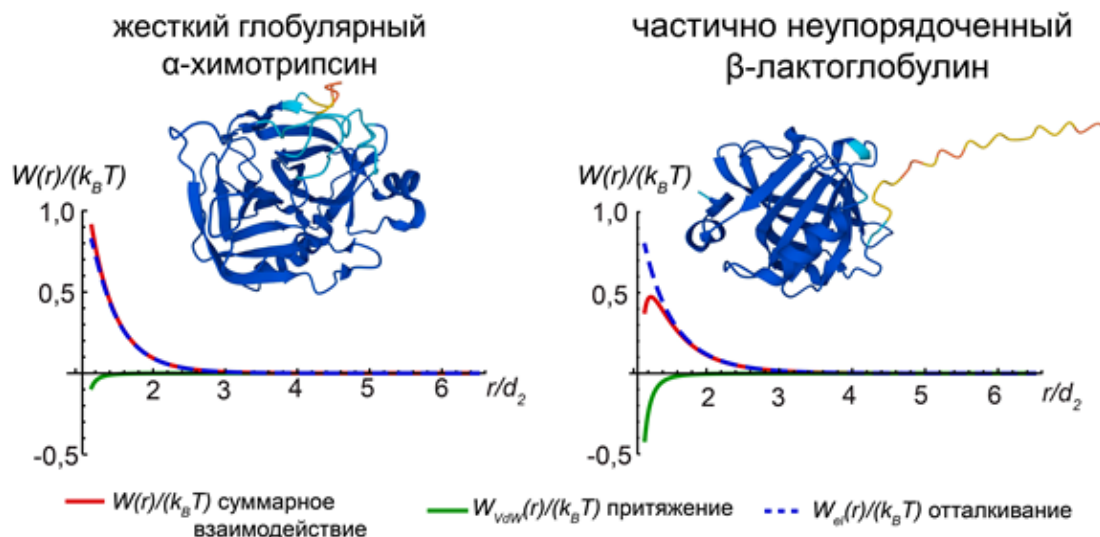


Рис. Суммарный потенциал взаимодействия между белковыми молекулами для химотрипсина (pH =3.5, I =0.01M) и β-лактоглобулина (pH =7.0, I =0.003M).

Публикации:

1. Kusova A.M., Sitnitsky A.E., Zuev Y.F. Impact of intermolecular attraction and repulsion on molecular diffusion and virial coefficients of spheroidal and rod-shaped proteins, . // Journal of Molecular Liquids, 2021, V. 323, N 114927. (Q1)
2. Kusova A.M., Sitnitsky A.E., Uversky V.N., Zuev Yu.F. Effect of protein-protein interactions on translational diffusion of spheroidal proteins, International Journal of Molecular Science, 2022, 23(16), 9240. (Q1)
3. Kusova A. M. Iskhakova A. K., Zuev Yu.F. NMR and dynamic light scattering give different diffusion information for short-living protein oligomers. Human serum albumin in water solutions of metal ions. European Biophysical Journal 2022, 51(4-5), 375-383. (Q3)
4. Kusova A.M., Sitnitsky A.E., Zuev Yu.F. Fibrinogen translational diffusion and intermolecular interactions depending on electrolyte solution. // Proceedings of 19 International School-Conference «Magnetic resonance and its applications, Spinus» – Saint-Peterburg, 2022. – P. 217–219.

Установлено, что активация α2 адренорецепторов влияет на процесс экзоцитоза синаптических везикул в нервно-мышечном соединении диафрагмальной мышцы, переводя его из механизма временного образования поры в синаптической мембране при ритмической активности синапса в механизм полного слияния везикулы с мембраной. Такая модуляция нейросекреции может обеспечивать ограничение перевозбуждения дыхательной системы при стрессе (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН).

АННОТАЦИЯ

Нейромедиатор из окончания мотонейрона выделяется в виде мультимолекулярных порций посредством экзоцитоза. Это происходит в результате слияния синаптической везикулы с пресинаптической мембраной (механизм «полного слияния»), либо образования временной поры между содержимым везикулы и внеклеточной средой (механизм «kiss-and-run»). В стрессовых ситуациях повышение уровня импульсной активности двигательного

нерва приводит к переключению режима выделения медиатора с механизма «полного слияния» на механизм «kiss-and-run». В экспериментах на синапсах диафрагмы (основной дыхательной мышцы у млекопитающих) установлено, что норадреналин и специфический агонист $\alpha 2$ -адренорецепторов дексмедетомидин вызывают переключение режима синаптической активности с механизма «kiss-and-run» на механизм «полного слияния». Таким образом, повышение содержания норадреналина при стрессе ограничивает высвобождение нейромедиатора в ответ на высокочастотную активность путем активации $\alpha 2$ -адренорецепторов и предотвращает гиперстимуляцию дыхательной системы.

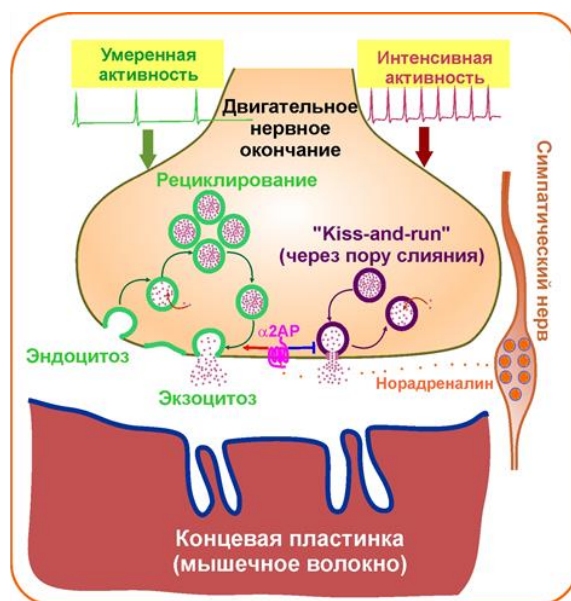


Рис. Схема действия норадреналина на механизм слияния синаптических везикул с мембраной при ритмической активности синапса.

Публикации:

1. Petrov AM, Zakirjanova GF, Kovyazina IV, Tsentsevitsky AN, Bukharaeva EA. Adrenergic receptors control frequency-dependent switching of the exocytosis mode between "full-collapse" and "kiss-and-run" in murine motor nerve terminal. // Life Sci. – 2022. – V. 296. - 120433. (Q1)
2. Gafurova CR, Tsentsevitsky AN, Petrov AM. Frequency-Dependent Engagement of Synaptic Vesicle Pools in the Mice Motor Nerve Terminals. // Cell Mol Neurobiol. – 2022. Feb 3. (Q1)

Производное холестерина - 25-гидроксихолестерин, присутствующий в нейрональных тканях, усиливает мобилизацию синаптических везикул в двигательном нервном окончании, запуская сложную цепь внутриклеточных реакций. В нее включены липидные рафты пресинаптической мембраны, эстрогеновый рецептор α , G-белки, фосфолипаза C и протеинкиназа C. 25-гидроксихолестерин, участвуя в воспалительных реакциях, является модулятором синаптической функции и может быть инструментом для преодоления синаптических дефектов (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН).

АННОТАЦИЯ

Развитие воспалительных реакций вызывает выработку иммунными клетками противовирусного оксистерина 25-гидроксихолестерина. Этот оксистерин является производным холестерина и может участвовать в регуляции синаптической передачи и окислительно-восстановительных процессов. Уровень 25-гидроксихолестерина также возрастает при ряде нейродегенеративных заболеваний, в том числе при боковом амиотрофическом склерозе, поражающим нервно-мышечную систему. Исследования, выполненные на нервно-мышечном препарате мыши показали, что в зависимости от концентрации 25-гидроксихолестерин оказывает двунаправленное действие на процесс мобилизации и интенсивность экзоцитоза синаптических везикул из двигательных нервных окончаний. В низких концентрациях этот оксистерин снижал экзоцитоз, тогда как при более высоких концентрациях, возникающих при воспалении, вызывая возрастание мобилизации синаптических везикул и усиление экзоцитоза. Был раскрыт механизм потенцирующего действия оксистерина, который обусловлен активацией мембранных LX-рецепторов, ассоциированных с липидными рафтами и внутриклеточной цепи, включающей G_i -белок, фосфолипазу C, выход ионов кальция из внутриклеточных депо и стимуляцию протеинкиназы C. Полученные данные свидетельствуют о том, что оксистерин является важным классом нейромодуляторов, которые можно использовать для коррекции нервно-мышечных дисфункций, возникающих при воспалительных и нейродегенеративных процессах.

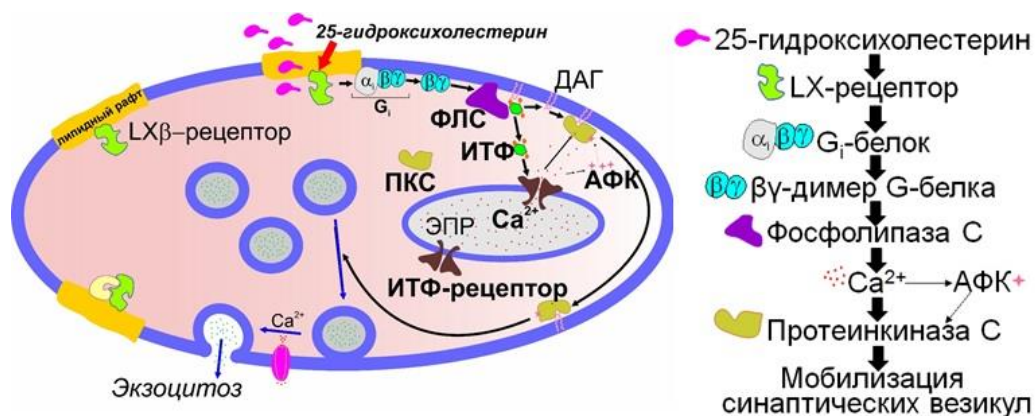


Рис. Механизм действия 25-гидроксихолестерина на вовлечение синаптических везикул в экзоцитоз в нервно-мышечном соединении мыши.

Публикации:

1. Zakyrganova G.F., Tsentsevitsky A.N., Kuznetsova E.A., Petrov A.M. Immune-related oxysterol modulates neuromuscular transmission via non-genomic liver X receptor-dependent mechanism // Free Radical Biology and Medicine – 2021. – V. 174. – P. 121 – 134. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.013. (Q1)
2. Zakyrganova G.F., Gilmutdinov A.I., Tsentsevitsky A.N., Petrov A.M. Olesoxime, a cholesterol-like neuroprotectant restrains synaptic vesicle exocytosis in the mice motor nerve terminals: Possible role of VDACs // Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids. - 2020. - V. 1865, No 9 – a. 158739. doi: 10.1016/j.bbalip.2020.158739. (Q1)