

гомологичных белкам, изученным у модельных организмов. В настоящей работе были использованы неаннотированные транслированные транскриптоммы *P. minimum* CCMP1329 и CCMP2233 из базы данных проекта «Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project». В качестве последовательностей запроса использовали аминокислотные последовательности представителей высших растений, дрожжей и альвеолят из базы данных белковых последовательностей National Center for Biotechnology Information или геномной базы данных *Saccharomyces* Genome Database. Поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью алгоритма BLASTP. Учитывали только те результаты, для которых статистический параметр *e-value* не превышал $1e-10$. Далее отобранные последовательности *P. minimum* использовали в качестве запроса для поиска соответствия в избыточной базе данных белковых последовательностей NCBI с использованием алгоритма BLASTP. Наличие консервативных доменов и мотивов в аминокислотных последовательностях проверяли с использованием инструмента CD-Search. В результате были отобраны только те последовательности *P. minimum*, которые прошли все этапы проверки.

Проведенный анализ транскриптомов *P. minimum* выявил аминокислотные последовательности, представляющие собой гомологи белка HAP2, который экспрессируется в гаметях и участвует в слиянии клеточных мембран. Также были обнаружены гомологи ряда белков, обеспечивающих различные этапы мейоза. Согласно полученным данным этот вид динофлагеллят обладает структурными белками-элементами когезинового комплекса, компонентами аппарата процессинга двухцепочечных разрывов, белком-переносчиком односторонних концов ДНК между рекомбинирующими молекулами и участниками событий, приводящих к кроссинговеру, ферментами репарации ошибочно спаренных нуклеотидов, некоторыми регуляторными белками.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-34-00907).

С.С. Бутенко^{1,2}, Д.М. Есюнина¹, М.А. Простова¹
ИССЛЕДОВАНИЕ КОРОТКИХ БЕЛКОВ-АРГОНАВТОВ ПРОКАРИОТ

¹ Институт Молекулярной Генетики РАН, Москва, Россия

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Московская область, Россия

S.S. Butenko^{1,2}, D.M. Eshynina¹, M.A. Prostova¹
RESEARCH OF SHORT PROKARYOTIC ARGONAUTE PROTEINS

¹ Institute of Molecular Genetics RAS, Moscow, Russia

² Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Moscow Region, Russia

butenkonew@gmail.com

Белки-аргонавы эукариот играют ключевую роль в процессе РНК-интерференции. В комплексе с некодирующими РНК они регулируют экспрессию генов, а также способны подавлять активность мобильных генетических элементов. В отличие от белков-аргонавов

эукариот, о прокариотических белках-аргонавах известно очень мало.

Белки-аргонавы прокариот значительно более разнообразны, чем белки-аргонавы эукариот по строению и функциям. Так называемые короткие белки-аргонавы не содержат N- и PAZ- доменов. PAZ-домен ответствен за взаимодействие с 3' концом направляющей нуклеиновой кислоты, а N-домен облегчает расплетание РНК-дуплекса во время загрузки гида в эукариотические аргонавы. Также короткие аргонавы каталитически неактивны, так как не содержат ключевых каталитических остатков в PIWI-доме. Исследования геномов прокариот показали, что такие белки-аргонавы могут быть ассоциированы с белками с предсказанной нуклеазной активностью, которая может компенсировать отсутствие нуклеазной активности самого аргонава.

В нашей работе впервые начаты исследования короткого бактериального белка-аргонава и ассоциированной с ним нуклеазы из мезофильной азотфиксирующей бактерии. Созданы плазмиды для экспрессии белка-аргонава, ассоциированной с ним нуклеазы и их совместной экспрессии в *E.coli*. Подобраны условия экспрессии и очистки этих белков. В настоящее время проводится ряд экспериментов для установления природы ассоциированных с аргонавом нуклеиновых кислот, а также проверки активности комплекса белка-аргонава и ассоциированной с ним нуклеазы *in vitro*. Эти исследования позволят в дальнейшем ответить на вопрос о функциях короткого белка-аргонава и ассоциированной с ним нуклеазы в клетке хозяина.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 18-29-07086-мк.

Е.Н. Волкова¹, А.А. Кудрявцев^{1,2}

МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ АМЕБ *NEOPARAMOEBA*, *PARAMOEBA* (*AMOEBOZOA*, *DACTYLOPODIDA*), *JANICKINA* (*INCERTAE SEDIS*) И ИХ СИМБИОНТА *PERKINSELA*-ПОДОБНОГО ОРГАНИЗМА

¹ Лаборатория Клеточной и Молекулярной Протистологии, ЗИН РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Кафедра Зоологии Беспозвоночных, СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

E.N. Volkova¹, A.A. Kudryavtsev^{1,2}

MOLECULAR-PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *NEOPARAMOEBA*, *PARAMOEBA* (*AMOEBOZOA*, *DACTYLOPODIDA*), *JANICKINA* (*INCERTAE SEDIS*) AND THEIR SYMBIONT *PERKINSELA*-LIKE ORGANISM

¹ Laboratory of Cellular and Molecular Protistology, ZIN, RAS, Saint-Petersburg, Russia

² Department of Invertebrate Zoology, SPbSU, Saint-Petersburg, Russia

arcellinidae@gmail.com

Neoparamoeba и *Paramoeba* — морские и эстуарные амёбы, содержащие внутриклеточный кинетопластидный симбионт, *Perkinsela*-подобный организм (PLO). Некоторые представители рода *Neoparamoeba* способны переходить к паразитированию на промысловых видах рыб и морских беспозвоночных, в то время как амёбы рода *Paramoeba* известны как исключительно

свободноживущие организмы. Наличие у простейших такого эукариотического нефотосинтезирующего внутриклеточного кинетопластидного симбионта как PLO — явление уникальное, характерное только для амёб родов *Neoparamoeba* и *Paramoeba*. Более того, долгое время считалось, что присутствие в клетке PLO — таксономический признак, позволяющий отличить неопарамиб и парамиб от близкого им рода *Korotnevella*. Помимо *Neoparamoeba* и *Paramoeba* существует два других вида амёб, содержащих PLO — *Janickina pigmentifera* и *Janickina chaetognathi*, известные как паразиты морских беспозвоночных — щетинкочелюстных (*Chaetognatha*). Из литературы известно, что морфология *Janickina* крайне необычна для других Амёбозоа. Последнее исследование *Janickina* было сделано 40 лет назад, и тогда же роду был присвоен статус *incertae sedis*; молекулярно-филогенетических данных ни о самой амёбе, ни об её симбионте с тех пор не появилось. *Janickina* по-прежнему не изучена на современных светооптическом и молекулярном уровнях. Наше исследование направлено на изучение, в первую очередь, филогенетических взаимоотношений *Neoparamoeba*, *Paramoeba*, *Janickina* и их симбионтов PLO. Мы представляем новые данные к сравнению эволюционных сценариев симбионта и хозяина, которые противоречат полученным ранее представлениям о коэволюции в данной группе. Нами впервые отмечен факт, по-видимому, вторичной утраты симбионта у представителей рода *Paramoeba*. Мы также получили первые молекулярно-филогенетические данные для *Janickina pigmentifera* и её симбионта, позволяющие сделать вывод о филогенетическом положении этого вида в системе Амёбозоа.

Работа выполнена в рамках темы госзадания АААА-А19-119031200042-9 и частично поддержана грантом РФФИ 18-34-00726-мол_а.

А.В. Герцен¹, К.П. Чаленко¹, Д.Д. Недорезова¹,
Д.М. Колпашиков^{1,2}, Е.И. Кошель¹

РАЗРАБОТКА СТРАТЕГИИ БОРЬБЫ С АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДНК — НАНОМАШИН

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

² Университет Центральной Флориды, Орlando, США

A.V. Gertsen¹, K.P. Chalenko¹, D.D. Nedorezova¹,
D.M. Kolpashnikov^{1,2}, E.I. Koshel¹

DEVELOPMENT OF A STRATEGY TO COMBAT ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF BACTERIA BASED ON THE USE OF DNA — NANOMACHINES

¹ ITMO University, Saint-Petersburg, Russia

² University of Central Florida, Orlando, USA

gertsen@scamt-itmo.ru

Антибиотикорезистентность является одной из самых опасных угроз для человечества в современной международной системе здравоохранения. По некоторым оценкам, к 2050 году ежегодно 10 миллионов человек будут умирать из-за отсутствия эффективного лечения бактериальных инфекций [1]. Поскольку бактерии вырабатывают устойчивость к антибиотикам быстрее,

чем новые лекарства выходят на рынок, существует потребность в появлении новых подходов к решению этой проблемы.

Настоящая работа посвящена изучению возможности использования ДНК-наномашин на основе дезоксирибозимов (Дз) в качестве антимикробных агентов направленного действия. Дз представляет собой одноцепочечную молекулу ДНК, способную к специфическому узнаванию и разрезанию РНК молекул. В качестве модельного организма был выбран штамм *E. coli* CC118 со встроенной кассетой устойчивости к стрептомицину (SmR), находящейся на плазмиде pKNG 101. Для проведения *in vitro* экспериментов синтезирован 47-нуклеотидный РНК субстрат, соответствующий участку кассеты антибиотикорезистентности. Дз был сконструирован для узнавания определенного G-U сайта в пределах этого участка. Для увеличения каталитической активности на основе Дз разработана ДНК — наномашина (НМ). В ее составе помимо Дз присутствуют дополнительные участки связывания с РНК, обуславливающие увеличение расплетающей способности вторичной структуры субстрата.

Дз и соответствующая ему НМ были протестированы в 15% полиакриламидном гель-электрофорезе. Для этого исследуемые ДНК — структуры инкубировались на протяжении суток с РНК субстратом с контролем временных точек. Максимально достигнутая каталитическая активность составила 56% для НМ по истечении 24 часов.

Для проверки эффективности ДНК — структур на бактериальной культуре клеток разработан дизайн модифицированной НМ, в которой некоторые связи между нуклеотидами, за исключением участка каталитического ядра, были заменены с фосфодиэфирных на фосфоротиоатные. Такая модификация должна помочь противостоять воздействию рестриктаз [2] внутри клетки.

Дз представляют собой перспективный инструмент для борьбы с устойчивостью к антибиотикам среди резистентных штаммов. На данный момент уже показана эффективность Дз в отношении некоторых микроорганизмов и вирусов [3]. Поскольку Дз по своей природе являются нуклеиновыми кислотами, они не обладают выраженной токсичностью и могут стать альтернативой применению антибиотиков.

Литература:

3. de Kraker M. E. A., Stewardson A. J., Harbarth S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? // PLoS medicine. — 2016. — Т. 13. — №. 11.
4. Schubert S. et al. RNA cleaving '10–23'DNAzymes with enhanced stability and activity // Nucleic acids research. — 2003. — Т. 31. — №. 20. — С. 5982–5992.
5. Baum D. A., Silverman S.K. Deoxyribozymes: useful DNA catalysts in vitro and in vivo // Cellular and molecular life sciences. — 2008. — Т. 65. — №. 14. — С. 2156–2174.