

Keemia ja biotehnoloogia instituut, 2019. aasta teadus- ja arendustegevuse aruanne

Keemia ja biotehnoloogia instituut

Department of Chemistry and Biotechnology

Direktor: professor Ivar Järving, ivar.jarving@ttu.ee, +372 620 4388

Instituudis tegutsevad järgmised uurimisrühmad:

- Analüütiliste ja arvutuskeemiliste meetodite arendamine regulatiivotsuste formuleerimiseks, rühma juht **Vaher, Merike**
- Arvutuskeemia, rühma juht **Tamm, Toomas**
- Asümmeetriline süntees, rühma juht **Lopp, Margus**
- Bakterite süsteemibioloogia, rühma juht **Vilu, Raivo**
- Bioinformaatika, rühma juht **Smolander, Olli-Pekka**
- Biomeditsiin, rühma juht **Spuul, Pirjo**
- Immunoloogia, rühma juht **Rüütel Boudinot, Sirje**
- Jätkusuutlik keemia ja tehnoloogia, rühma juht **Karpichev, Yevgen**
- Katalüüsi uurimisrühm, rühma juht **Kanger, Tõnis**
- Ligniini lagundamise biokeemia uurimisrühm, rühma juht **Lukk, Tiit**
- Lipiidide ja lipoproteiinide metabolism, rühma juht **Samel, Nigulas**
- Metalloproteoomika uurimisrühm, rühma juht **Palumaa, Peep**
- Mikrofluidika, rühma juht **Scheler, Ott**
- Molekulaarse neurobioloogia uurimisrühm, rühma juht **Timmusk, Tõnis**
- Molekulaarteadused ja –tehnoloogia, rühma juht **Starkov, Pavel**
- Neuronite apoptoosi uurimisrühm, rühma juht **Arumäe, Urmas**
- Põlevkivikeemia, rühma juht **Lopp, Margus**
- Reproduktiivbioloogia uurimisrühm, rühma juht **Velthut-Meikas, Agne**
- Supramolekulaarse keemia uurimisrühm, rühma juht **Aav, Riina**
- Taimegeneetika uurimisrühm, rühma juht **Järve, Kadri**
- Taimeviiruste interaktsioonid peremeestega, rühma juht **Olspert, Allan**
- Taim-patogeen interaktsioonid, rühma juht **Sarmiento, Cecilia**
- Toidusüsteemide uurimisrühm, rühma juht **Paalme, Toomas**
- Mikrobioomika uurimisrühm, **Kaarel Adamberg**
- Transkriptsiooniline interferents, rühma juht **Mart Speek**

The Department conducts research within 25 research groups:

- Advancing Analytical and Computational Chemistry Methods for Regulatory Decisions, head of the group **Vaher, Merike**
- Computational Chemistry, head of the group **Tamm, Toomas**
- Asymmetric synthesis, head of the group **Lopp, Margus**
- Systems Biology of Bacteria, head of the group **Vilu, Raivo**
- Bioinformatics, head of the group **Smolander, Olli-Pekka**
- Biomedicine, head of the group **Spuul, Pirjo**
- Immunobiology of Leukocyte Activation, head of the group **Rüütel Boudinot, Sirje**
- Research Group of Catalysis, head of the group **Kanger, Tõnis**
- The Group for the Study of Lignin Biodegradation, head of the group **Lukk, Tiit**

- Lipid Biochemistry Research Group, head of the group **Samel, Nigulas**
- Research Group of Metalloproteomics, head of the group **Palumaa, Peep**
- Sustainable Chemistry and Engineering, head of the group **Karpichev, Yevgen**
- Microfluidics, head of the group **Scheler, Ott**
- Molecular Neurobiology Research Group, head of the group **Timmusk, Tõnis**
- Molecular Science and Engineering, head of the group **Starkov, Pavel**
- Apoptosis of Neurons, head of the group **Arumäe, Urmas**
- Oil Shale Chemistry, head of the group **Lopp, Margus**
- Research Group of Reproductive Biology, head of the group **Velthut-Meikas, Agne**
- Supramolecular Chemistry Group, head of the group **Aav, Riina**
- Genetic and Molecular Aspects of Plant-Microbe Interactions, head of the group **Järve, Kadri**
- Interaction between Plant Viruses and Their Hosts, head of the group **Olspert, Allan**
- Plant-Microbe Interactions, head of the group **Sarmiento, Cecilia**
- Research Group of Food Science and Technology, head of the group **Paalme, Toomas**
- Research group of microbiomics, head of the group **Kaarel Adamberg**
- Transcriptional interference, head of the group **Speek, Mart**

Uurimisrühmade ülevaated

ANALÜÜTILISTE JA ARVUTUSKEEMILISTE MEETODITE ARENDAMINE REGULATIIVOTSUSTE FORMULEERIMISEKS



Merike Vaher'i uurimisrühm

Uurimisrühma juht Merike Vaher, vanemteadur

Liikmed:

Maria Kuhtinskaja, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut
Maria Kulp, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut
Mihkel Koel, juhtivateadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut
Jekaterina Mazina, teadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut
Martin Ruzicka, teadur-järel doktorant, Keemia ja biotehnoloogia instituut
Mihkel Kaljurand, emeriitprofessor
Kristiina Leiman, spetsialist, Keemia ja biotehnoloogia instituut
Piret Saar-Reismaa, Piia Jõul, Tiina Aid, Jelena Jurjeva – Keemia ja biotehnoloogia instituudi doktorandid.

Dawit Firemichael Bebizuh – vahetusdoktorant Addis-Ababa Ülikoolist, Etioopia
Pille-Riin Laanet, Egle Truuman, Riin Tarto, Mareli Leemet - magistrandid, Keemia ja biotehnoloogia instituut;

Võtmesõnad: lahutusmeetodid, kapillaarelektroforees, miniaturiseerimine, fütokemikaalid, antioksidatiivsus, biomass, ioonsed vedelikud, eutektilised segud

Teadustöö ülevaade

Uurimisrühma kompetentsi kuulub erinevate analüütiliste meetodite ning protseduuride väljatöötamine ning kasutamine mitmesuguste ühendite ja segude analüüsiks keerulistes maatriksites. Rühmas on spetsialistid lahutusmeetodite - eelkõige kapillaarelektroforeesi alal juhtivus- ja optilise detekteerimisega, aga ka vedelik ja gaasi kromatograafia alal, kusjuures kasutatakse väga erinevaid detektoreid: UV-Vis, fluorestsents, massi spektromeetria. Rühmas on ka kompetents ning vahendid üle kriitilise ekstraktsiooni läbiviimiseks.

Rühmas on välja arendatud erinevaid poorseid materjale – aergeele, mida kasutatakse põhiliselt adsorbentidena ning katalüsaatoritena elektrokeemias ja veepuhastuses.

2019. aastal jätkati erinevate analüütiliste meetodite (eelkõige kapillaarelektroforeesii (KE) põhinevate) väljatöötamist ja kasutamist mitmesuguste ühendite ja segude (keemiarelvad, narkootikumid, bioaktiivsed ained, biomassi laguproduktid) analüüsiks keerulistes matriksites nagu keskkonnaproovid, kehavedelikud ja taimeekstraktid. Siia lisandus analüütilistes protseduurides vajalike vastavate materjalide väljatöötamine. Saadud tulemusi on plaanis kasutada ekspertsüsteemi väljatöötamiseks QSAR meetodi abil. Seejuures on olulisel kohal kapillaarelektroforeesi aparatuuri miniaturiseerimine, mis võimaldaks KE kasutada *on site*.

Aruandeaastal saadud tulemused:

1. Valideeriti mittevesikeskkonna kapillaarelektroforeesi metoodika kasutades kontaktivaba juhtivusdetektorit keemiliste saasteainete - perfluoroheptaan-, perfluorooktaan- ja perfluorosulfoonhape analüüsiks. Prooviettevalmistamiseks testiti uusi süsinikaerogeelil põhinevaid sorbente.
2. Uuriti metall-seotud (Fe, Ni, Zn, Cu ja Co) orgaaniliste aerogeelide (Me[OA]) fotokatalüütilist aktiivsust saasteainete lagundamisel. Metall-seotud orgaanilised aerogeelid sünteesiti põlevkivitöötlemise fenoolsetest kõrvalproduktidest ja kasutati veepuhastusprotsessis. Tänu uuritud materjalide ainulaadsetele struktuursetele omadustele esineb adsorptsiooni ja fotokatalüütilise oksüdatsiooni sünergiline efekt. Sünteesitud Me[OA]d, välja arvatud Cu[OA] omasid fotokatalüütilist aktiivsust valitud saasteaine, bakteriostaatilise antibiootikumi trimetoprimi lagundamisel.
3. Pikaajaliselt on olnud grupi üks olulisemaid uurimissuundi ravim- ja toidutaimedes leiduvate bioaktiivsete komponentide ekstraktioon ja analüüs. Käesoleval aastal uuriti aed-uniohakas (*Dipsacus fullonum*) sisalduvate iridoid-glükosiidide mõju vähirakkudele. *D. fullonumi* lehtede metanooli ekstraktist eraldati bis-iridoidglükosiide sisaldav fraktsioon. HPLC-MS ja CE analüüsid kinnitasid, et uuritav fraktsioon koosnes põhiliselt III ja IV silvestrosiididist. Uuringu tulemused näitasid iridoidide selektiivset tsütotoksilist toimet erinevatele vähirakkudele, kahjustamata seejuures normaalseid rakke. MCF7 ja MDB-MD-231 rakkude puhul tuvastati märkimisväärne tundlikkus iridoidglükosiidide suhtes, mida hinnati WST-1 testiga, mis näitas mitokondrite funktsiooni langust, aga ka surnud rakkude arvu suurenemist (PI test).
4. Grupi edulooks on portatiivse automatiseeritud kapillaarelektroforeesi instrumendi (Narkotestri prototüüp II, DrugHunter), kuhu on integreeritud fluorestsentsdetektor ergastuslainepikkuste vahemikus 225-255 nm, disainimine ja ehitus koos metoodikate valideerimisega rea natiivset fluorestsentsi omavate narkootiliste ainete (kokaiin, kokaetüleen, amfetamiinid, fentanüül, LSD, terahüdrokannabinool ja kannabidiool) analüüsiks inimese süljes *in situ*. Narkotestri prototüüp I kasutati edukalt narkojoobe tuvastamiseks Muusikafestivalidel „Weekend“ aastatel 2016 – 2018 ja 2019. aastal Viljandi Pärimusmuusika festivalil Viljandis ja Positivus festivalil Salacgrivas (Läti).



Täiendav info

- Seotud AAK prioriteetse suunaga „Keskonnaressursside vääristamine“
- Uurimisrühma tegevusega seotud teadusvaldkonnad Frascati Manuali alusel
 1. Loodusteadused; 1.4. Keemiateadused
 2. Tehnika ja tehnoloogia; 2.4. Keemiatehnika

ETIS KLASSIFIKAATOR: ETIS KLASSIFIKAATOR: 4. Loodusteadused ja tehnika; 4.11. Keemia ja keemiatehnika; TÄPSUSTUS: Analüütiline keemia (kapillaarelektroforees). Bioprotsesside monitooring kapillaarelektroforeesi abil. Analüütiliste meetodite miniaturiseerimine

Bio- ja keskkonnateadused; 1.12. Bio- ja keskkonnateadustega seotud uuringud, näiteks biotehnoloogia, molekulaarbioloogia, rakubioloogia, biofüüsika, majandus- ja tehnoloogiauuringud;

CERCS KLASSIFIKAATOR: P300 Analüütiline keemia ; TÄPSUSTUS: Analüütiliste meetodite arendamine bioaktiivsete ühendite määramiseks looduslikes ja bioloogilistes maatriksites.

- Uurimisrühma liikmete tunnustused : Piret Saar-Reismaa, Tallinna linna Raestipendium
- Osalus T&A-ga seotud välisorganisatsioonide töös : PortASAP COST Action 16215(M.Kaljurand, P. Saar-Reismaa)
GOST Action 18125 (M. Koel)
- Rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevus
 1. LEP18060 „Teadus- ja arendustöö tõendusliku narkotestri prototüübi II väljatöötamiseks (1.01.2018–2.02.2020)“. Arendatud Narkotestrit koos vastavate meetodikate hakatakse kasutama PPA poolt narkojoobe tuvastamiseks kohapeal.
 2. AE20001 "Raskmetallide ja halogeenitud orgaaniliste ühendite leidumine Eesti päritolu puidus (23.12.2019–28.02.2020)". Uuring on aluseks puidujäätmetele jäätmeks oleku lakkamise kriteeriumite väljatöötamisel Keskkonnaministeeriumi poolt.
 3. LLTTI18111 "Lisandväärtuse tõstmine ja toorme tõhusam kasutamine Eesti biomajanduses ja selle sektorites (1.03.2018–28.02.2021)"

Koostööpartnerid:

Füsioloogia ja Biokeemia Instituut, Malta Ülikool, Msida, Malta

Tööstuskeemia ja Reaktsioonitehnoloogia Labor, Åbo Akadeemia, FI-20500 Åbo-Turu, Soome

Politsei- ja Piirivalveamet, EV Siseministeerium, Tallinn, Eesti

EV Kaitseministeerium, Tallinn, Eesti

EV Keskkonnaministeerium, Tallinn Eesti

Okeanoloogia Instituut, Poola Teaduste Akadeemia, Sopot, Poola

Biokeemia Instituut, Tartu Ülikool, Tartu, Eesti

Omic OÜ, Tartu, Eesti

OÜ Smartstuff, Tartu, Eesti

Metsatoodete Keemiatööstuse Instituut, Hiina Metsanduse Akadeemia, Nanjing, Hiina

Advancing analytical and computational chemistry methods for regulatory decisions

Scientific work of the group

Members of the group have competence on development of analytical methods and procedures and use of these on analysis of different compounds and mixtures in complicated matrices. Group has good specialist on separation methods: gas and liquid chromatography and especially on capillary electrophoresis where they use wide variety of detectors: electrical, optical and mass spectrometric.

Group has also competence and means for supercritical extraction for wide range of extraction parameters. Group has recognised results on development of porous materials – aerogels and these are taken into the use as adsorbents in analytical separation and catalyst in electrochemistry and water purification.

The aim of present research was development and application of a variety of analytical methodologies (primarily capillary electrophoresis) for analysis of different classis of compounds (banned chemicals, drugs, polyphenols, fermentable sugars) in complex matrixes such as environmental samples, body fluids, biomass, and herbal extracts. The results obtained will be used to develop an expert system using quantitative structure-activity relationship (QSAR).

Miniaturization of capillary electrophoresis apparatus is an important feature, which provides an opportunity to perform on-site analyzes.

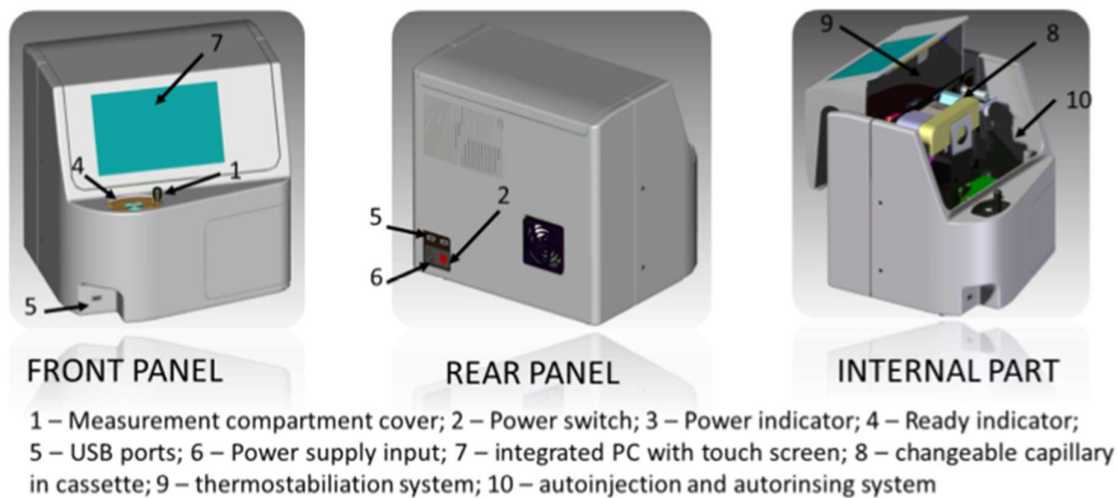
Keywords: separation methods, capillary electrophoresis, miniaturization, phytochemicals, antioxidativity, biomass, ionic liquids, deep eutectic solvents, banned chemicals

Results

1. This year, the non-aqueous capillary electrophoretic (NACE) method with conductivity detection was validated for the determination of chemical pollutants, such as perfluoroheptanoic acid (PFHpA), perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS), found in the environment. Additionally, the applicability of a novel carbon aerogel based SPE and magnetic solid-phase extraction (MSPE) was tested for the extraction of target compounds. Developed method is a rapid, inexpensive and simple, which can be afforded by low budget laboratories. In addition, developed methodology is easily adaptable to a portable instrument that would enable an on-site analysis.
2. The degradation of bacteriostatic antibiotic trimethoprim as environmental pollutant using metal-doped organic aerogels (Me[OA]) were investigated. Organic aerogels produced from Estonian oil shale processing bioproducts and doped with Fe, Ni, Cu, Zn and Co. The Me[OA]s except Cu[OA] have photocatalytic activity. The unique structural features of studied materials allowed achieving the synergistic effect of adsorption and photocatalytic oxidation. Trimethoprim degradation followed oxygenation and demethylation pathways.
3. The effect of bis-iridoid glycosides on cancer cells was under investigations. The bis-iridoid glycoside fraction from the extracts of *D. fullonum* (teasel) leaves was separated and characterised. The HPLC-MS and CE analyses confirmed that the fraction under study consisted essentially of bis-iridoids – the sylvestrosides III and IV. The results of the study have shown selective cytotoxic effects of the iridoids on different cancer cells, without adverse side effects on the normal cells. A significant sensitivity towards the iridoid glycosides from the extracts was detected in the MCF7 and MDB-MD-231 cells, as assessed by the WST-1 assay, which showed a decrease in the mitochondrial function, but also with an increased number of dead cells, as detected by the propidium iodide fluorescence assay.
4. Most important part of the research was connected to the development and evaluation of a austomatic portable capillary electrophoresis instrument, prototype II of Narcotester (DrugHunter). The CE system was coupled to UVC fluorescence detector providing 225-255 nm exitation wavelenght range for the determination of the abuse of illegal drugs in oral fluid *in situ*. This portable Narcotester was employed for determination of natively fluorescing drugs, such as cocaine, cocaethylene, seven amphetamines, fentanyl, LSD, tetrahydrocannabinol and cannabidiol.



Based on this portable apparatus, several electrophoretic methodologies was developed, validated and successfully utilized for the determination of illegal abuse of drugs during „Weekend“ 2016-2018 Music Festivals and Positivus Festival in Salacgriva, Latvia, 2019.



Additional information

- Linked to AAK priority direction of investigation "Improving Environmental Resources"
- Frascat Manual classifier
 1. Natural Sciences: 1.4 Chemical Sciences
 2. Engineering and technology; Chemical engineering
- 1. ETIS CLASSIFICATION: 4. Natural Sciences and Engineering; 4.11. Chemistry and Chemical Technology; SPECIFICATION: Capillary electrophoresis, kinetic studies of biotransformations, analytical system miniaturization (μ TAS), microfluidics, Lab-on-a-Chip
- Biosciences and Environment; 1.12. Biotechnology, Molecular Biology, Cell Biology, Biophysics and Economic and Technological Research relating to Bio- and Environmental Sciences; CERCS CLASSIFICATION:
- P300 Analytical chemistry; SPECIFICATION: Development of new analytical methods for bioactive compounds determination in natural and biological matrixes
- Recognition: Piret Saar-Reismaa – Tallinn Council Scholarship
- Participation in the work of international organizations: PortASAP COST Action 16215 (M.Kaljurand, P. Saar-Reismaa); GOST Action 18125 (M. Koel)
- R&D projects with applied output
 1. LEP18060 "Research and Elaboration of a Drug Abuse Analyzer Prototype II" (1.01.2018–2.02.2020). The developed Narcotester and corresponding methodologies, will be used by the PPA to detect use of abuse of narcotics on site.
 2. AE20001 "Presence of heavy metals and halogenated organic compounds in Estonian wood" (23.12.2019–28.02.2020). The study will serve as a basis for developing criteria for cessation of wood waste.
 3. LLTTI18111 "Maximising added value and efficient use of raw materials in bioeconomy and its sectors in Estonia" (1.03.2018–28.02.2021).

Cooperation:

Inquifor Research Group, Department of Analytical Chemistry, University of Alcalá, Spain

Institute of Biomedicine and Translational Medicine, Department of Biochemistry, University of Tartu, Estonia

Laboratory of Industrial Chemistry and Reaction Engineering, Åbo Akademi University, FI-20500 Åbo-Turku, Finland

Department of Physiology and Biochemistry, University of Malta, Msida, Malta

Police and Border Guard Board, Ministry of the Interior Republic of Estonia

Ministry of Defence Republic of Estonia

Ministry of the Environment

Institute of Oceanology, Polish Academy of Sciences, Sopot, Poland

Omec OÜ, Tartu, Estonia

Smartstuff OÜ, Tartu, Estonia

Institute of Chemical Industry of Forest Products, Chinese Academy of Forestry, Nanjing, China

Ilmunud publikatsioonid:

1. P. Saar-Reismaa, C-A. Brilla, K. Leiman, M. Kaljurand, M. Vaher, M. Kulp, J. Mazina-Šinkar. Use of a newly-developed analyser to detect drugs of abuse in oral fluid: a case study. *Talanta*, 2020, **211**, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120662>
2. P. Saar-Reismaa, A. Tretjakova, J. Mazina-Šinkar, M. Vaher, M. Kaljurand, M. Kulp. Rapid and Sensitive Capillary Electrophoresis Method for the Analysis of Ecstasy in an Oral Fluid, *Talanta*, 2019, **197**, 390-396. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.029>
3. Patentne leiutis: Apparatus and method for determination of illegal drugs, biomarkers, phytochemicals and other banned or regulated compounds (PARC); Omanikud: Tallinna Tehnikaülikool; Autorid: Jekaterina Mazina-Šinkar, Jelena Gorbatšova, Enn Erme, Artur Abels, Jaas Ježov, Merike Vaher, Mihkel Kaljurand; Prioriteedi number: US62/893,871; Prioriteedi kuupäev: 30.08.2019.
4. J. Bolobajev, M. Kask, K. Kreek, M. Kulp, M. Koel, A. Goi. Metal-doped organic aerogels for photocatalytic degradation of trimethoprim. *Chemical Engineering Journal*, 2019, **357**, 120-128.
5. J. Jurjeva, M. Koel. The chemometric approach to identification of residual oil contamination at former primitive asphalt pavement plants. *Oil Shale*, 2019, **36**, 410-430.

ARVUTUSKEEMIA UURIMISRÜHM

Computational chemistry research group

Uurimisrühma juht: Toomas Tamm, professor, 6202810

Liikmed:

Akadeemilisel ametikohal töötavate uurimisrühma liikmete loetelu (nimeliselt):

Andre Lomaka – vanemteadur

Kaie Laane – lektor

Järeldoktorid -

Doktorandid: Aleksandra Zahharova – doktorant

Hanna-Eliisa Luts – doktorant

Võtmesõnad(key words): Arvutuskeemia, tihedusfunktsionaalide teooria, jõuväljad, masinõpe, kukurbituriilid

Computational chemistry, density functional theory, force fields, machine learning, cucurbiturils

Uurimisrühma kompetentside tutvustus (uurimistemaatika, -meetodid, probleemid, mille lahendamise tegeletakse jm).

Arvutuskeemia grupi uuringud keskenduvad reaktsioonimehhanismide ja nõrkade (võõrustaja-külaline) vastasmõjude uurimisele kaasaegsete elektronstruktuuri modelleerimise meetodite (ab initio, DFT) kasutamisega. Omame kompetentsi modelleerimaks nii orgaanilisi kui metallorgaanilisi reaktsioonikomplekse ning nõrgalt seotud süsteeme. Kasutame oma töös kvantkeemia tarkvara, näiteks Gaussian, Turbomole ja Orca. Lisaks tagasihoidlikule kohalikule arvutipargile on meil ligipääs ETAIS arvutusteaduse taristule, millest osa paikneb ka TTÜ linnakus.

Koostöös supramolekulaarse keemia uurimisgrupiga on üheks meie uurimisobjektiks hemikukurbituriilide aineklass, spetsiifiliselt selle tsükloheksüül-variandid. Viimastel aastatel arvutuslikult uuritud nähtuste hulka kuuluvad neutraalsete ja iooniliste külalismolekulide seondumise viisid, võõrustaja-molekuli moodustumine mall-iooni ümber ning vastavate sünteesireaktsioonide mehhanismid.

Koostöös Rootsi Kuningliku tehnikaülikooliga oleme uurinud iriidiumil põhinevate katalüsaatorite toimimist süsinikdioksiidi redutseerimisel. Süsinikdioksiidi kui keemiatööstuse potentsiaalse tooraine uuringud on potentsiaalselt suure rakendusväärtusega. Koostöö raames uuriti vastavate reaktsioonide mehhanisme ja pakuti välja alternatiivseid mudeleid.

--

Research in the computational chemistry group is centred around reaction mechanisms and studies of weak (host-guest) interactions utilizing modern electronic structure methods (ab initio, DFT). We have experience in modelling organic and metal-organic reaction complexes and weakly bound systems. Calculations are carried out with quantum chemistry software, eg Gaussian, Turbomole, Orca. In addition to small in-house computational facilities we have access to the ETAIS national computing infrastructure which is partially located on campus at TalTech.

In collaboration with the supramolecular chemistry research group we are studying the compounds known as hemicucurbiturils, primarily the cyclohexyl variety of these. In recent years we have computationally studied binding modes of neutral and ionic guests, formation of the host around a guest template, and the mechanisms of the relevant synthesis reactions.

In collaboration with Royal Technical University of Sweden we have studied the working of iridium-based catalysts for carbon dioxide reduction. The studies of carbon dioxide as a raw material for chemical industry has potentially wide applications. The collaboration involved study of reaction mechanisms and proposals for alternative models.

Uurimisrühma viimaste aastate rahvusvahelisel tasemel väljapaistvad teadustulemused.
(Midagi värsket ei ole ja vanad on juba natuke vanad...)

Uurimisrühma kohta täiendav info:

- uurimisrühma tegevusvaldkond: 1.4 Keemiateadused/chemical sciences

ASÜMMEETRILISE SÜNTEESI TÖÖRÜHM

Juht: Margus Lopp, professor, 6202808, margus.lope@taltech.ee

Liikmed:

Paju Anne, vanemteadur

Elek Gabor Zoltan, doktorant-nooremteadur

Larin Anni, doktorant-nooremteadur

Lopušanskaja Eleana, doktorant-nooremteadur

Kõllo Marek, insener

Müürisepp Aleksander-Mati, insener

Võtmesõnad: asümmeetriline keemiline analüüs ja katalüüs, bioaktiivsete ja loodusühendite süntees

Teadustöö ülevaade

Uurimused on tihedalt seotud Molekulaarse Rakutehnoloogia Tippkeskuse tematikaga (Center of Excellence in Molecular Cell Engineering, CEMCE).

Näidati tsüklopropanooli võimalikku kasutamist bioaktiivsete tsükliliste aminohapete sünteesil. Viidi läbi bioaktiivse klamüdotsiini, selle (R)-epoksiid-epimeeri ja mitmete klamüdotsiini analoogide süntees, millega kinniti uue lähenemisviisi tõhusust Aoe-, Aoda- ja Asu-sisaldavate HDAC-i pärssivate peptiidide, sealhulgas nende ZBG-ga modifitseeritud analoogide saamiseks. Meetod sobib üldiselt bioaktiivsete molekulaarraamatukogude loomiseks.

Kuna tsüklilised peptiidi histooni deatsetülaasi inhibiitorid on näidanud kõrget aktiivsust vähi ja mitmete bakterite vastu, arendati välja efektiivne (2S,9S)-2-amino-8-okso-9,10- epoksüdekaanhappe (Aoe) ja (S)-2-amino-8-okso-dekaanhappe (Aoda) divergentne süntees, kus ka Aoe ja Aoda skeleti fragmendid omavad bioaktiivsust. Mõlemad aminohapped sünteesiti ühe etapiga, kasutades tsüklopropanooli tsükli avamist. Reaktsioonid viidi läbi suurepäraste saagiste ja stereoselektiivsustega (99:1 dr).

Kirjanduses on viimastel aastatel on ilmunud mitmeid artikleid, kus on näidatud β -naftoolide dearomatiseerimist halogenieerimisel, amineerimisel ning allüüleerimisel. Nendes dearomatiseerimisreaktsioonides kasutatakse erinevaid metallkatalüsaatoreid. Meie uuringud näitasid, et fenoolide ja naftoolide dearomatiseerimiseks toimivad hästi ka elektrofiilse liitumise reaktsioon erinevate orgaaniliste ja anorgaaniliste aluste juuresolekul. Näitasime ka erinevate asendatud α -naftoolide sünteesivõimalust α -naftoolist, aga samuti ka asendatud fenoolide ja naftoolide dearomatiseerumist erinevatel tingimustel.

Publikatsioonid

Elek, G. Z.; Koppel, K.; Zubrytski, D. M.; Konrad, N.; Järving, I.; Lopp, M.; Kananovich, D. G. (2019). Divergent Access to Histone Deacetylase Inhibitory Cyclopeptides via a Late-Stage Cyclopropane Ring Cleavage Strategy. Short Synthesis of Chlamydocin. *Organic Letters*, 21 (20), 8473–8478. [10.1021/acs.orglett.9b03305](https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b03305).

Frascati Manual 1.4 Keemiateadused

Asymmetric synthesis

Margus Lopp, Professor, 6202808, margus.lope@taltech.ee

Paju Anne, senior researcher

Elek Gabor Zoltan, doctoral student-junior researcher

Larin Anni, doctoral student-junior researcher

Lopušanskaja Eleana, doctoral student-junior researcher

Kõllo Marek, engineer

Müürisepp Aleksander-Mati, engineer

Keywords: asymmetric chemical analysis and catalysis, bioactive and nature compounds synthesis
The research is closely related to the Center of Excellence in Molecular Cell Engineering (CEMCE).

The potential use of cyclopropanol for the synthesis of bioactive cyclic amino acids was demonstrated. Synthesis of bioactive chlamydocin, its (R)-epoxide epimer and a number of chlamydocin analogues was carried out, confirming the effectiveness of a novel approach to obtain Aoe, Aoda, and Asu-containing HDAC inhibitory peptides, including their ZBG-modified analogues. The method is generally suitable for creating bioactive molecular libraries.

Because cyclic peptide histone deacetylase inhibitors have shown high activity against cancer and a number of bacteria, efficient (2S, 9S)-2-amino-8-oxo-9,10-epoxydecanoic (Aoe) and (S)-2-amino-8-oxodecanoic acid (Aoda) divergent synthesis were developed, in which the skeletal fragments of Aoe and Aoda also have bioactivity. Both amino acids were synthesized in one-step using a cyclopropanol ring opening. Reactions were performed in excellent yields and stereoselectivities (99: 1 *dr*).

There are several recent articles in the literature showing the dearomatization of β -naphthols by halogenation, amination and allylation. Various metal catalysts were used in these dearomatization reactions. Our studies showed that electrophilic addition reaction in the presence of various organic and inorganic bases also works well for dearomatizing phenols and naphthols. We also demonstrated the possibility of synthesizing various substituted α -naphthols from α -naphthol as well as the dearomatization of the substituted phenols under different conditions.

Elek, G. Z.; Koppel, K.; Zubrytski, D. M.; Konrad, N.; Järving, I.; Lopp, M.; Kananovich, D. G. (2019). Divergent Access to Histone Deacetylase Inhibitory Cyclopeptides via a Late-Stage Cyclopropane Ring Cleavage Strategy. Short Synthesis of Chlamydocin. *Organic Letters*, 21 (20), 8473–8478. [10.1021/acs.orglett.9b03305](https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b03305).

Frascati Manual 1.4 Chemical sciences

BIOINFORMAATIKA GRUPP

Juht: Olli-Pekka Smolander, Professor (Asst.), Akadeemia tee 15, SCI-309, olli-pekka.smolander@taltech.ee, ORCID: 0000-0002-6795-7734

Töögrupi liikmed:

Doktorandid: Immanuel Sanka (ORCID: 0000-0002-0046-8311, Publon: AAF-4785-2019), Airi Rump (ORCID: 0000-0002-2394-1642)

Lisaks on Bioinformaatika rühmaga seotud ka Reproduktiivbioloogia rühma PI Agne Velthut-Meikas ja neil rühmadel on mitu koostööprojekti.

Võtmesõnad: bioinformaatika, arvutusbioloogia, genoomika, transkriptomika, andmete integreerimine

Grupi tegevus: Bioinformaatika ja arvutusmeetodid bioloogias võimaldavad suuremahulisi andmeid analüüsida ja bioloogilisi nähtusi modelleerida, ühendades bioteadused, statistika, rakendusmatemaatika, füüsika ja arvutiteaduse. Neid meetodeid kasutades on võimalik leida uusi teadmisi bioloogiliste süsteemide toimimise kohta erinevatel tasanditel, alates üksikutest geenidest ja rakkudest kuni tervete organismide ja nende vastasmõjudeni.

Rühma teadustöös on laialdased rakendused biotehnoloogias ja biomeditsiinis, eriti taimede ja mikroobide biotehnoloogias ning haiguste genoomikas.

Töörühm juhib praegu järgmiste teemade uurimistööd: 1) arvutusgenoomika ja andmete integreerimine bioteadustesse genoomi skaalal (TTÜ arendusprogramm 2016-2022, kood 2014-2020.4.01.16-0032), 2) genoomsete tegurite tuvastamine puidu moodustumise mõjutamine ülegenoomse lähenemisega (PSG318). 2019. aastal algatas rühm koostöö PERHi dr Kersti Oselini ja dr Anu Plankeniga. Samuti on rühmal mitu koostööprojekti Helsingi ülikooli ja Soome loodusvarade instituudi (LUKE) gruppidega.

Professor Smolander pälvis Eesti Teadusagentuuri personaalse uurimistoetuse (PSG318) mis alustas 2019. aastal. Teda intervjueris ka ERR Novaator inimgenoomi projekti ja isikliku meditsiini teemal. (<https://novaator.err.ee/929927/16-aastat-inimgenoomi-uleskirjutusest-kaugel-oleme-personaalmeditsiinist>, 14.4.2019).

Lisaks tegutseb professor Smolander Helsingi ülikooli doktorandi Ilhan Duru Cemi juhendajana.

Tulemused 2019:

1. Deptula, P., Loivamaa, I., Smolander, O.-P., Laine, P., Roberts, R. J., Piironen, V., Paulin, L., Savijoki, K., Auvinen, P., Varmanen, P. (2019). Red-Brown Pigmentation of *Acidipropionibacterium jensenii* Is Tied to Haemolytic Activity and cyl-Like Gene Cluster. *Microorganisms*, 7 (11), #512.10.3390/microorganisms7110512.
2. Rajendran, J., Purhonen, J., Tegelberg, S., Smolander, O.-P., Morgelin, M., Rozman, J., Gailus-Durner, V., Fuchs, H., de Angelis, M. H., Auvinen, P., Mervaala, E., Jacobs, H. T., Szibor, M., Fellman, V., Kallijarvi, J. (2019). Alternative oxidase-mediated respiration prevents lethal mitochondrial cardiomyopathy. *Embo Molecular Medicine*, 11 (1), ARTN e9456.10.15252/emmm.201809456.
3. Kammonen, J. I., Smolander, O.-P., Paulin, L., Pereira, P. A B, Laine, P., Koskinen, P., Jernvall, J., Auvinen, P. (2019). gapFinisher: A reliable gap filling pipeline for SSPACE-LongRead scaffold output. *PLOS ONE*, 14 (9), e0216885–e0216885.10.1371/journal.pone.0216885.
4. Makinen, M., Kuuskeri, J., Laine, P., Smolander, O.-P., Kovalchuk, A., Zeng, Z., Asiegbu, F. O., Paulin, L., Auvinen, P., Lundell, T. (2019). Genome description of *Phlebia radiata* 79 with comparative genomics analysis on lignocellulose decomposition machinery of phlebioid fungi. *Bmc Genomics*, 20, ARTN 430.10.1186/s12864-019-5817-8.
5. Pentimikko, N., Iqbal, S., Mana, M., Andersson, S., Coggnetta, A. B., III, Suci, R. M., Roper, J., Luopajarvi, K., Markelin, E., Gopalakrishnan, S., Smolander, O.-P., Naranjo, S., Saarinen, T., Juuti, A., Pietilainen, K., Auvinen, P., Ristimäki, A., Gupta, N., Tammela, T., Jacks, T. ... Katajisto, P. (2019). Notum produced by Paneth cells attenuates regeneration of aged intestinal epithelium. *Nature*, 571 (7765), 398–419.10.1038/s41586-019-1383-0.
6. Alonso-Serra, J., Shi, X., Peaucelle, A., Rastas, P., Bourdon, M., Immanen, J., Takahashi, J., Koivula, H., Eswaran, G., Muranen, S., Smolander, O.P., Su, C., Safronov, O., Gerber, L., Salojärvi, J., Hagqvist, R., Mähönen, A.P., Nieminen, K., Helariutta, Y. (2019). ELIMÄKI locus is required for mechanosensing and proprioception in birch trees. *bioRxiv*, p.616474.

Klasifikaatorid: Uurimisrühma töö on seotud prioriteetse suunaga TalTechDigital. Frascati: 1.6 Bioteadused, 2.11 Teised tehnika- ja tehnoloogiateadused

Bioinformatics group

Leader: Olli-Pekka Smolander, Professor (Asst.), Akadeemia tee 15, SCI-309, olli-pekka.smolander@taltech.ee, ORCID: 0000-0002-6795-7734

Members of the group:

PhD students: Immanuel Sanka (ORCID: 0000-0002-0046-8311, Publon: AAF-4785-2019), Airi Rump (ORCID: 0000-0002-2394-1642)

In addition, the PI of Reproductive Biology-group, Agne Velthut-Meikas, is also affiliated with the Bioinformatics-group and the groups have several collaborative projects.

Keywords: bioinformatics, computational biology, genomics, transcriptomics, data integration

Action: Bioinformatics and computational methods in biology allow analysis of large scale data and modeling of biological phenomena by combining the biosciences, statistics, applied mathematics, physics and computer science. Using these methods, it is possible to discover new knowledge on how the biological systems function at different levels, ranging from single genes and cells to whole organisms and their interactions.

The group's research has wide applications in biotechnology and biomedicine, particularly in plant and microbial biotechnology and disease genomics.

The group is currently leading research efforts in the following topics: i) computational genomics and data integration in the life sciences at genome scale (TTÜ development program 2016-2022, code 2014-2020.4.01.16-0032), ii) Identification of genomic factors affecting wood formation with a genomics approach (PSG318). In 2019 the group initiated a collaboration with Dr. Kersti Oselin and Dr. Anu Planken from PERH on a set of cancer samples. The group has also several collaborative projects with groups at University of Helsinki and Natural Resources Institute Finland (LUKE).

Professor Smolander was awarded the personal startup grant (PSG318) by Estonian Research Council which started in the beginning of 2019. He was also interviewed by ERR Novaator (<https://novaator.err.ee/929927/16-aastat-inimgenoomi-uleskirjutusest-kaugel-oleme-personaalmeditsiinist>, 14.4.2019) on Human Genome project and personal medicine.

In addition, professor Smolander is acting as a supervisor at the University of Helsinki for PhD student Ilhan Duru Cem.

Results in 2019:

1. Deptula, P., Loivamaa, I., Smolander, O.-P., Laine, P., Roberts, R. J., Piironen, V., Paulin, L., Savijoki, K., Auvinen, P., Varmanen, P. (2019). Red-Brown Pigmentation of *Acidipropionibacterium jensenii* Is Tied to Haemolytic Activity and *cyl*-Like Gene Cluster. *Microorganisms*, 7 (11), #512.10.3390/microorganisms7110512.
2. Rajendran, J., Purhonen, J., Tegelberg, S., Smolander, O.-P., Morgelin, M., Rozman, J., Gailus-Durner, V., Fuchs, H., de Angelis, M. H., Auvinen, P., Mervaala, E., Jacobs, H. T., Szibor, M., Fellman, V., Kallijarvi, J. (2019). Alternative oxidase-mediated respiration prevents lethal mitochondrial cardiomyopathy. *Embo Molecular Medicine*, 11 (1), ARTN e9456.10.15252/emmm.201809456.
3. Kammonen, J. I., Smolander, O.-P., Paulin, L., Pereira, P. A B, Laine, P., Koskinen, P., Jernvall, J., Auvinen, P. (2019). gapFinisher: A reliable gap filling pipeline for SSPACE-LongRead scaffold output. *PLOS ONE*, 14 (9), e0216885–e0216885.10.1371/journal.pone.0216885.
4. Makinen, M., Kuuskeri, J., Laine, P., Smolander, O.-P., Kovalchuk, A., Zeng, Z., Asiegbu, F. O., Paulin, L., Auvinen, P., Lundell, T. (2019). Genome description of *Phlebia radiata* 79 with comparative genomics analysis on lignocellulose decomposition machinery of phlebioid fungi. *Bmc Genomics*, 20, ARTN 430.10.1186/s12864-019-5817-8.
5. Pentinmikko, N., Iqbal, S., Mana, M., Andersson, S., Cognetta, A. B., III, Suci, R. M., Roper, J., Luopajarvi, K., Markelin, E., Gopalakrishnan, S., Smolander, O.-P., Naranjo, S., Saarinen, T., Juuti, A., Pietilainen, K., Auvinen, P., Ristimäki, A., Gupta, N., Tammela, T., Jacks, T. ... Katajisto, P. (2019). Notum produced by Paneth cells attenuates regeneration of aged intestinal epithelium. *Nature*, 571 (7765), 398–419.10.1038/s41586-019-1383-0.
6. Alonso-Serra, J., Shi, X., Peaucelle, A., Rastas, P., Bourdon, M., Immanen, J., Takahashi, J., Koivula, H., Eswaran, G., Muranen, S., Smolander, O.-P., Su, C., Safronov, O., Gerber, L., Salojärvi, J., Hagqvist, R., Mähönen, A.P., Nieminen, K., Helariutta, Y. (2019). ELIMÄKI locus is required for mechanosensing and proprioception in birch trees. *bioRxiv*, p.616474.

Classifications: The research follows the principles of TalTechDigital initiative. Frascati: 1.6 Biological science, 2.11 Other engineering and technologies

BIOMEDITSIIN

Biomedicine

Uurimisrühma juht: Pirjo Spuul, Sihtrahastusega vanemteadur, Talinna Tehnikaülikool, Keemia ja biotehnoloogia instituut, geenitehnoloogia osakond, Akadeemia tee 15, Tallinn 12618; +372 515 6362, pirjo.spuul@taltech.ee

Pirjo Spuul, Senior Researcher, Tallinn University of Technology, Department of Chemistry and Biotechnology, Division of Gene Technology, Akadeemia Rd 15, Tallinn 12618; +372 515 6362, pirjo.spuul@taltech.ee

Uurimisrühma liikmed:

Olga Smirnova: doktorant, TalTech KBI geenitehnoloogia osakond

Kaisa Roots: doktorant, TalTech KBI geenitehnoloogia osakond

Sadia Khalid: doktorant, TalTech KBI geenitehnoloogia osakond

Elina Rukavitsõna: magistrant, TalTech KBI geenitehnoloogia osakond

Karmen Karniol: magistrant, TalTech KBI geenitehnoloogia osakond

Anastasiia Galitskihh: magistrant, TalTech KBI geenitehnoloogia osakond

Lagle Kasak: insener, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

Uurimisrühma iseloomustavad võtmesõnad: *Helicobacter pylori*, invadosoomid, maksakahjustused, aktiini tsütoskelett

Keywords: *Helicobacter pylori*, invadosomes, liver damage, actin cytoskeleton

Teadustöö ülevaade

Uurimisrühma põhiteemaks on *Helicobacter pylori* (HP)-põhjustatud maksakahjustused. HP on gram-negatiivne bakter, millega on nakatunud rohkem kui pool maailma elanikkonnast. Enamasti saadakse HP nakkus juba lapseas ning meie immunsüsteem pole võimeline bakterit ise likvideerima. Eestis on nakatunud umbes 80% inimestest. HP on klassifitseeritud Maailma Tervishoiuorganisatsiooni poolt klass I kartsinogeeniks, kuna umbes 1%-l nakatunutest areneb mao adenokartsinoom. Mitmed uurimustööd seostavad HP nakkust maksakahjustustega ning ko-infektsioon C-hepatiidi viirusega võib kiirendada kahjustuse kulgu ning vähkkasvaja arenemist. Samas pole teada, milliseid mehhanisme kasutab HP maksarakkude funktsioonide mõjutamiseks ning kahjustuste tekitamiseks.

Patogeenidel on välja arenenud mitmeid erinevaid strateegiad peremeesraku funktsioonide üle võtmiseks ja enda kasuks tööle panemiseks põhjustades raskeid haiguseid, näiteks vähkkasvajad. HP nakkus indutseerib nakatatud maksarakkudes aktiinirikaste struktuuride invadosoomide teket. Meie uurimisgrupi eesmärgiks on välja selgitada, millist rolli mängivad HP tekitatud invadosoomid maksakahjustustes. Grupi esialgsed tulemused näitavad, et erineva patogeensusega tüved tekitavad erinevate tunnusoontega invadosoome. Uuringute konkreetsemaks eesmärgiks on leida HP virulentsusfaktorid, mis reguleerivad invadosoomide eripärasid ning kirjeldada sellest tulenevat kahjustavat mõju peremeesraku funktsioonidele.

Käesolev uurimustöö püüab suurendada meie arusaamist bakter-põhjustatud vähkkasvajate tekkemehhanismidest. Selgitades HP rakulised sihtmärgid ja seostades need erinevate invadosoomide tekitamisega, aitab see paremini mõista maksakahjustusi. Uurimustöö uudseks aspektiks on hepatotsüüte ümbritseva keskkonna analüüsimine, mida mõjutavad HP poolt indutseeritud invadosoomid. Teades HP rakulisi sihtmärke (signaaliradasid ning vähi tekkes osalevaid molekule) võimaldab see välja töötada uudseid ravimeid, millel oleks minimaalne risk resistentsuse tekkeks.

The main research topic of the team is *Helicobacter pylori* (*HP*)-induced liver damages. *HP* is a gram-negative bacterium that colonizes the human gastric epithelium in about half of the world's population. *HP* infection is usually acquired during early childhood and the immune system is not able to clear the bacteria. In Estonia, around 80% of the people are infected. *HP* has been classified as class I carcinogen by World Health Organization as approximately 1% of infected individuals develop gastric adenocarcinoma. Several studies have associated *HP* infection with the progression of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Additionally, coinfection with hepatitis C virus seems to enhance the severity of liver pathology. However, the mechanisms by which *HP* causes liver damage and promotes carcinogenesis remain largely unknown.

Pathogens have developed a wide repertoire of strategies to exploit host cell functions for their own benefit, leading to the development of severe diseases, including cancer. *HP* induces the formation of peculiar cellular structures named invadosomes in infected hepatocytes. The goal of our research is to explore the role of invadosomes induced by *HP* infection to liver damage. Our preliminary results show that different strains, with distinct pathogenic outcomes, induce invadosomes with distinctive features.

The specific aim is to identify the virulence factors that govern invadosomes specificities, then to correlate these findings with the subversion of the host cell functions.

The project is expected to increase our understanding of the mechanisms behind bacteria-induced carcinogenesis. Revealing the cellular functions targeted by *HP* and correlating these findings with the induction of differential invadosomes should help to get new insights into liver diseases. The research explores a novel aspect of *HP* infection as it has a particular focus on matrix damages and associated alterations of *HP*-infected hepatocyte micro-environment caused by the newly discovered invadosomes. Targeting the host signal transduction pathways and key players in carcinogenesis is a first step for the development of novel drugs with reduced risks for emergence of drug resistance.

Uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisemad projektid/lepingud:

PUT1130 (Pirjo Spuul)

B61 (Pirjo Spuul)

Uurimisrühma liikmete publikatsioonid kahel viimasel aastal:

- Chi P.-Y, **Spuul P**, Tseng F.-G, Genot E, Chou C.-F, Taloni A. (2019). Cell Migration in Microfluidic Devices: Invadosomes Formation in Confined Environments. In: C. A. M. La Porta, S. Zapperi (Ed.). Cell Migrations: Causes and Functions (79–103). Springer. (Advances in Experimental Medicine and Biology; 1146).10.1007/978-3-030-17593-1_6
- Alonso F, **Spuul P**, Daubon T, Kramer I, Génot E. (2019). Variations on the theme of podosomes: A matter of context. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1866 (4), 545–553.10.1016/j.bbamcr.2018.12.009
- Georgess D, **Spuul P**, Le Clainche C, Le Nihouannen D, Fremaux I, Dakhli T, Delannoy Loez DM, Deffieux D, Jurdic P, Quideau S and Génot E (2018). Anti-osteoclastic effects of C-glycosidic ellagitannins mediated by actin perturbation; *Eur J Cell Biol* 97(8):533-545
- Alonso F, **Spuul P**, Kramer I, Genot E. (2018). Variations sur le thème des podosomes, une affaire de contexte. *M S-MEDECINE SCIENCES*, 34 (12), 1063–1070.10.1051/medsci/2018296

Muu info

Liitumine COST Action CA18113-ga, *Understanding and exploiting the impacts of low pH on micro-organisms*, Pirjo Spuul on korralduskomitee liige

Joining COST Action CA18113, *Understanding and exploiting the impacts of low pH on micro-organisms*, Pirjo Spuul is part of the Management Committee.

Uurimisrühma seotus AAK prioriteetse suunaga (kuni kaks olulisemat suunda);

- Targad ja energiatõhusad keskkonnad (smart and energy efficient environments) – teadus- ja arendustegevus, mille fookuses on rahvusvaheliselt läbimurdeliste tarkade ja energiatõhusate (tehis)keskkondade loomine, arendamine ning rakendamine Eesti majandusele olulistest valdkondades. Eesmärk on suurendada uudsete IKT-põhiste ja energiatõhusate insenerilahenduste kaudu erasektori (sh tööstuse) väärtusloomet ning rahvusvahelist konkurentsivõimet.

Uurimisrühma tegevusvaldkond: 3.1 Biomeditsiin (Basic medicine) ja 1.6 Bioteadused (Biological Sciences)

Uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös lõppenud aastal:

- Pirjo Spuul osales Erasmus+ õpirände raames Bordeaux Ülikoolis, INSERM U1053, Prantsusmaal koostöö projekti läbiviimisel.
- Sadia Khalid osales Dora Pluss tegevus 1 Lühiajalise õpirände raames Bordeaux Ülikoolis, INSERM U1053, Prantsusmaal koostöö projekti läbiviimisel.

LEUKOTSÜÜTIDE AKTIVATSIOONI IMMUNOBIOLOOGIA

Immunobiology of leukocyte activation

Juht: Sirje Rüütel Boudinot, docent, senior researcher Tallinn University of Technology

Liikmed: Viiu Paalme

Doktorandid: Marina Teras, Airi Rump

Mitteakadeemilised liikmed: Kristel Ratas, Helen Aitai, Jaanus End, Birgit Truumees

Võtmesõnad/Key words: immune regulation, leukocyte activation, RGS16, P2X4, P2X7, Multiple Sclerosis, melanoma

Uurimisrühma kirjeldus

Immunoloogia töögrupi peamine uurimissuund on leukotsüütide aktivatsioon ja selle reguleerimine. See on ülioluline nii terves organismis kui ka immuunvastuse ajal. Nende mehhanismide väärtalitus on võtmeteguriks kasvajate, põletikuliste- ja autoimmuunhaiguste korral ning mõjutab tugevalt ka võimet patogeenidega võidelda.

Oleme uurimiseks valinud kaks regulaatorite perekonda, mille immuunregulaatorseid funktsioone on vähe uuritud – RGS (G valgu signaliseerimise regulaatorid, peamine uurimisobjekt RGS16) ja P2X (puriinergilised retseptorid, peamised uurimisobjektid P2X4 ja P2X7). Kasutades koos nii *in vitro* kui *in vivo* mudeleid, viime läbi funktsiooni kaotamise ja lisamise katseid, et iseloomustada nende geenide poolt vahendatud mehhanisme. Samuti kasutame võrdlusmeetodeid hindamaks nende geenide olulisust immuunsüsteemi evolutsiooni kontekstis. Oleme näidanud, et P2X7 retseptor tekkis P2X4 sarnase retseptori ja ballast domääni ühinemisel (Rump et al 2020)

Iseloomustame mehhanisme, läbi mille RGS16 mõjutab eksperimentaalse autoimmuunse entsefalomüeliidi (EAE), hulgiskleroosi loomudeli, kulgu ja RGS16 poolt reguleeritud signaaliradu. Kirjeldame P2X4 rolli ATP-vahendatud eosinofiilide (ja ka teiste rakutüüpide) aktiveerimisel koostöös PERHi-ga ning P2X4 geeni varieeruvust Eesti populatsioonis koostöös Eesti Geenivaramuga (Ph.D. projekt, kaasjuhendaja O. Smolander). Uurimisgrupis osales järel doktor Jaanus Suurväli, Kölni ülikoolist

Description of the project:

The Immunology group at TTU focuses on the biology of leukocyte activation and its regulation. The control of leukocyte activation is of paramount importance for health, both at steady state and during the immune response, to warrant the resilience of the immune system. Dysfunctions of these critical mechanisms lead to auto-inflammatory and auto-immune diseases and also strongly affect the efficiency of defence against pathogens.

We selected two families of regulators of which functions remain poorly understood, the RGS (Regulator of G protein Signalling; main gene target *rgs16*) and the purinergic receptors (P2X main targets *p2x4* and *p2x7*). We studied control mechanisms of leukocyte activation mediated by these genes in the context of two pathologies: multiple sclerosis and melanoma. Using a combination of *in vitro* and *in vivo* (KO mice) models, we performed gain and loss of function experiments to characterize regulatory mechanisms. We also followed comparative approaches to understand the importance of these genes in the context of the evolution of the immune system.

Main results in 2019:

We have previously identified that RGS16 is involved in the type I IFN response to viral infections and showed that RGS16 mediates the production of multiple pro-inflammatory cytokines in monocytes [Suurväli et al., 2015]. Using a RGS16 KO mouse we were able to show that disruption of *rgs16* confers an acute sensitivity to LPS, and exacerbates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE), the mouse model of multiple sclerosis (Siimut master thesis, Aitai master thesis, manuscript in preparation Rump et al 2020). We also showed in *rgs16* KO mice that the expression of RGS16 by recipient mice inhibited the development of grafted melanoma *in vivo*. [Teras et al., 2018 a]. However, this mechanism was not required for the antitumoral effect of the apoptin protein (ORF3) of the circovirus PCV2, which was based on the induction of apoptosis [Teras et al., 2018 b].

In 2019, we could wrap up two studies on P2X immune functions.

First, we focused on P2X4, a purinergic receptor mainly studied in the nervous system and involved in the microglial reaction, pain, and in multiple sclerosis. We were able to establish that P2X4 is in fact expressed by several leukocyte cell subsets. Strikingly, we demonstrated that eosinophils from human PBL express the highest level of P2X4 among leukocytes. Hence, our work identifies P2X4 as a new surface marker of human eosinophils. This finding is important because the lack of good eosinophil markers has hindered the study of the biology of this cell type (Paalme et al., 2019).

Second, we undertook an evolutionary study of the origin of P2X7, to better understand the basis of its particular functions. Among purinergic receptors, P2X7 is by far the best-known effector of activation during immune responses. Its structure is unique, with a particular intracytoplasmic domain named "ballast". We found that the ballast domain is expressed in genes present across Metazoa, from sponges to vertebrates. Taking advantage of a major work published in 2019 on the structure of human P2X7, we could establish that the *p2x7* gene resulted from the fusion of a *p2x4*-like gene with an exon encoding a ballast domain, which occurred in early vertebrate evolution (Rump et al., 2020).

Finally, in collaboration with PERH we also reported about an approach used to treat melanoma, the Isolated Limb Infusion for In-Transit Metastatic Melanoma Confined to the Limb (Teras et al., 2019; and PhD thesis Marina Teras, collaboration with PERH).

Future projects:

We now plan to characterize the mechanisms by which RGS16 affects the course of EAE, especially in males. Preliminary results suggest that RGS16 also impacts the antiviral response, which will provide additional insights into the pathways involved in RGS16-mediated regulation.

We also aim at understanding the role of P2X4 in the ATP-mediated activation of eosinophils (also mast cells and basophils), using the tools we have developed in collaboration with P Kanellopoulos (University Paris Saclay, France). The genetic diversity of P2X4 in the estonian population, and its functional implications, will be addressed in collaboration with Pr O-P Smolander, and the Estonian genome project (PhD project of Airi Rump, co-supervised with O-P Smolander).

Fields of research: Biological Sciences, Medical and health sciences.

Financial support

Estonian Research Council personal research funding grants PUT685,

Erasmus+ KA103 Learning Mobility of Individuals, Staff Mobility for Training 2019 (SRB)

Campus France travel grant No 885510B (French embassy support for scientific exchange, program from the French Ministère des Affaires Étrangères) (SRB).

I would like to underline here that we need a minimum funding to keep these projects alive and pursue the supervision of TTU students in the team.

Uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös 2019. aastal: COST member: OC-2019-1-23872

References:

- J. Suurvali, M. Pahtma, R. Saar, V. Paalme, A. Nutt, T. Tiivel, M. Saaremaa, C. Fitting, J.M. Cavaillon, and S. Ruutel Boudinot, RGS16 restricts the pro-inflammatory response of monocytes. *Scand J Immunol* 81 (2015) 23-30.
- M. Teras, E. Viisileht, M. Pahtma-Hall, A. Rump, V. Paalme, P. Pata, I. Pata, C. Langevin, and S. Ruutel Boudinot, Porcine circovirus type 2 ORF3 protein induces apoptosis in melanoma cells. *BMC Cancer* 18 (2018a) 1237.
- Teras M, Rump A, Paalme V, Rütel Boudinot S: Porcine Circovirus Type2 ORF3 protein induces apoptoses in melanoma cells (abstract 2018- No P.B1.03.15; Page 221; A-1919-ECI) Amsterdam, 2018b:

https://www.eci2018.org/fileadmin/user_upload/documents/ECI_2018_Abstract_Book_web_21082018.pdf

- Teras J, Kroon HM, John F. Thompson JF, Teras M, Pata P, Mägi A, Teras RM, Rütel Boudinot S. First Eastern European Experience of Isolated Limb Infusion for In-Transit Metastatic Melanoma Confined to the Limb: Is it still an Effective Treatment Option in the Modern Era? *European Journal of Surgical Oncology*, 2019
- Viiu Paalme ^{1#}, Airi Rump ^{1#}, Kati Mädo ², Marina Teras², Kristel Ratas ¹, Chiang Chi-Shiun ³, Aram Ghalali ⁴, Pierre Boudinot⁵, Jean Kanellopoulos ⁶ and Sirje Rütel-Boudinot ^{1,*}, Human peripheral blood eosinophils express high level of the purinergic receptor P2X4. *Frontiers in Immunology* 2019
- Airi Rump¹, Olli Pekka Smolander ², Sirje Rütel Boudinot ¹, Jean Kanellopoulos ^{3*} and Pierre Boudinot ^{4*} Evolutionary origin of the P2X7 C-ter region: capture of an ancient ballast domain by a P2X4-like gene in ancient jawed vertebrates Short title: Origin of P2X7 ballast domain. *Frontiers in Immunology* 2020

JÄTKUSUUTLIKU KEEMIA JA TEHNOLOOGIA UURIMISRÜHM

Research group on sustainable chemistry and engineering

PI: Yevgen Karpichev, PhD, Senior Research Scientist / vanemteadur

Email: yevgen.karpichev@ttu.ee



Postdocs: Zeba Usmani

PhD student: Denys Bondar

PhD students (Dora Pluss visiting scholars): Yevheniia Velihina, Oleksandr Trybrat

Former group member: Illia Kapitanov, Senior research scientist (since 06/2019 – visiting postdoc at pharma company in Germany)

Keywords: Surfactants, Ionic liquids, Chemical decontamination, Biodegradation, Sustainability

Main research activities in 2019

The newly installed team succeeds and develops the good practices of the former ERA Chair of Green Chemistry in the synthesis and application of the novel sustainable chemicals

1. Development of cleaner synthetic methods to prepare surfactants, ionic liquids, and small molecules.
2. Characterisation of novel functional surfactants, their mixtures, and functionalized nanoparticles to explore fundamental properties and application in designing drug-delivery systems.
3. Biodegradation (OECD 301D Closed Bottle Test) study to identify low toxicity / mineralisable transformation products of the of (i) surfactants and ionic liquids bearing natural fragment, (ii) surface-functionalized carbon nanoparticles, (iii) natural deep eutectic solvent mixtures used for extraction of natural bioactive compounds in the process of pomace treatment, and (iv) small molecules of potential importance for pharmaceutical of environmental applications.
4. Development of novel green antidotal and chemical decontamination formulations.
5. Organic chemistry transformations directed by principles of green chemistry and sustainability.

Research output

- Kapitanov, I. V.; Jordan, A.; Karpichev, Y.; Spulak, M.; Perez, L.; Kellett, A.; Kümmerer, K.; Gathergood, N. (2019). Synthesis, self-assembly, bacterial and fungal toxicity, and preliminary biodegradation studies of a series of L-phenylalanine-derived surface-active ionic liquids. *Green Chemistry*, 21 (7), 1777–1794.
- Kusumahastuti, D. K.; Sihtmäe, M.; Karpichev, Y.; Kapitanov, I. V.; Gathergood, N.; Kahru, A. (2019). Toxicity profiling of 24 L-phenylalanine derived ionic liquids based on pyridinium, imidazolium and cholinium cations and varying alkyl chains using rapid screening *Vibrio fischeri* bioassay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172, 556–565.

- S.Pandya, I.Kapitanov, Z. Usmani, R. Sahu, D. Sinha, N. Gathergood, K. K. Ghosh, and Y Karpichev*. An Example of Green Micellar Decon System Based on Inherently Biodegradable IL-derived Amphiphilic Oximes (under review at *Journal of Molecular Liquids*, submitted)
- Gabdrakhmanov, D. R.; Samarkina, D. A.; Krylova, E. S.; Kapitanov, I. V.; Karpichev, Y.; Latypov, S. K.; Semenov, V. E.; Nizameev, I. R.; Kadirov, M. K.; Zakharova, L. Ya. (2019). Supramolecular Systems Based on Novel Amphiphiles and a Polymer: Aggregation and Selective Solubilization. *Journal of Surfactants and Detergents*, 22 (4), 865–874.
- D. Bondar, F. Diniz, J. de Almeida, O. Soukup, D. Jun, T. Costa França, K. Kuča, Y. Karpichev. N-Substituted Arylhydroxamic Acids as Turnover Acetylcholinesterase Reactivators (in preparation).
- Bondar, D.; Velihina, Y.; Karpichev, Y. (2019). Designing N-substituted arylhydroxamic acids as catalytic acetylcholinesterase reactivators. *Book of abstracts: 10th International Conference of Chemistry Toulouse-Kiev, ICTK-10*. Toulouse: Laboratoire de Chimie de Coordination, P27.
- Karpichev, Y. (2019). Designing Antidotes and Sustainable Surfactants: a Green Chemistry Approach. *Book of abstracts: 10th International Conference of Chemistry Toulouse-Kiev, ICTK-10*, Toulouse, France, CO32.

Frascati Classification

1.4. Chemical Sciences

2.10. Nanotechnology

Key Projects:

1. SUSFOOD2 „Innovative (pre)POmace Valorization procEss“ (ImPrOVE)
2. NATO SPS MYP „DEsigning FIRst Responders Versatile Detection and Decontamination Methods“ (DEFIR)
3. January - April 2019, PI: Prof. N. Gathergood (*resigned April 2019*): FP7 ERA Chair of Green Chemistry (TUTIC-Green)

KATALÜÜSI UURIMISRÜHM

Group of catalysis

Juht: Tõnis Kanger, professor, keemia ja biotehnoloogia instituut, loodusteaduskond (tonis.kanger@taltech.ee); Researcher ID: [H-2462-2015](https://orcid.org/0000-0001-5339-9682); ORCID: [0000-0001-5339-9682](https://orcid.org/0000-0001-5339-9682)

Liikmed:

Kadri Kriis, PhD, vanemteadur

Kristin Erkman, PhD, teadur

Mikk Kaasik, doktorant-nooremteadur

Mariliis Kimm, doktorant-nooremteadur

Dmitri Trubitsõn, doktorant-nooremteadur

Aleksandra Murre, doktorant-nooremteadur

Estelle Silm, doktorant-nooremteadur

Kaarel Erik Hunt, doktorant

Võtmesõnad: asümmeetriline süntees, organokatalüüs, katalüüs, kaskaadreaktsioonid, halogeensideme katalüüs

Teadustöö ülevaade

Uurimisrühma laiem tegevusala on asümmeetriline orgaaniline süntees. Tegeldakse nii bioaktiivsete ühendite totaalsünteesi kui ka kitsamalt eri liiki asümmeetriliste kaskaad- ja katalüütiliste reaktsioonide uurimisega. Seejuures keskendutakse asümmeetrilistele organokatalüütilistele reaktsioonidele, pöörates tähelepanu nii kovalentsetel sidemetel põhinevale aminokatalüüsile kui ka mittekovalentsetel interaktsioonidel baseeruvale vesiniksideme ja halogeensideme katalüüsile. Mitmed uuritud reaktsioonidest on kaskaadreaktsioonid, st järjestikku toimub mitu reaktsiooni ja ühes sünteesietapis tekib mitu uut keemilist sidet. See tõstab reaktsioonide aatomefektiivsust, vähendab läbiviidavate etappide arvu ja muudab meetodi keskkonnasõbralikumaks. Metallkatalüüsi korral eelistatakse kasutada laialtlevinud ja vähetoksilist metalli kaltsiumi. Sünteetilist uurimistööd toetavad nii spektroskoopilised, kristallograafilised ja kromatograafilised eksperimendid kui ka teoreetilised kvantkeemilised arvutused. Läbiva teemana iseloomustab uurimistööd jätkusuutliku ja rohelse keemia printsiipide rakendamine asümmeetrilises sünteesis. Uurimine on suunatud reaktsioonide efektiivsuse ja selektiivsuse tõstmisele eelkõige katalüüsi, kaskaadreaktsioonide, 100%-lise aatomefektiivsusega ümberasetusreaktsioonide ja vähetoksiliste metallkatalüüsiaatorite kasutamise läbi.

2019. a olulisemad publikatsioonid:

1. Mariliis Kimm, Maksim Ošeka, Sandra Kaabel, Andrus Metsala, Ivar Järving and Tõnis Kanger. [2,3]-Wittig Rearrangement as a Formal Asymmetric Alkylation of α -Branched Ketones. *Org. Lett.*, **2019**, *21*, 4976-4980.
2. Anna Peterson, Mikk Kaasik, Andrus Metsala, Ivar Järving, Jasper Adamson, Tõnis Kanger. Tunable chiral triazole-based halogen bond donors: assessment of donor strength in solution with nitrogen-containing acceptors. *RSC Advances*, **2019**, *9*, 11718–11721.
3. Kaasik, Mikk; Metsala, Andrus; Kaabel, Sandra; Kriis, Kadri; Järving, Ivar; Kanger, Tõnis. Halo-1,2,3-triazolium salts as halogen bond donors for the activation of imines in dihydropyridinone synthesis. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 4294–4303.

Tegevusvaldkonnad [Frascati]: 1.4 Keemiateadused

Group of catalysis

PI: Professor Tõnis Kanger, Department of Chemistry and Biotechnology (tonis.kanger@taltech.ee).

Researcher ID: [H-2462-2015](https://orcid.org/0000-0001-5339-9682); ORCID: [0000-0001-5339-9682](https://orcid.org/0000-0001-5339-9682);

Group members

Kadri Kriis, PhD, senior researcher

Kristin Erkman, PhD, researcher

Mikk Kaasik, PhD Student, Early Stage Researcher

Mariliis Kimm, PhD Student, Early Stage Researcher

Dmitri Trubitsõn, PhD Student, Early Stage Researcher

Aleksandra Murre, PhD Student, Early Stage Researcher

Estelle Silm, PhD Student, Early Stage Researcher

Keywords: asymmetric synthesis, organocatalysis, catalysis, cascade reactions, halogen-bond catalysis

Overview

The main research object of the group is asymmetric organic synthesis. The research includes a total synthesis of bioactive compounds and specific investigations of cascade and catalytic reactions.

Studies of asymmetric organocatalytic reactions are of importance. Aminocatalysis based on covalently bound compounds as well as hydrogen-bond and halogen-bond catalysis based on noncovalent interactions are the main topics. Several reactions under the study are cascade reactions providing several new chemical bonds in one step. It increases atom-efficiency, decreases the number of steps needed and makes the whole process environmentally more benign (the number of work-up steps and amount of solvent is diminished). In the case of metal catalysis a widely spread and non-toxic calcium salts are used as a metal source. The synthesis is supported by spectroscopic and crystallographic experiments, chromatography and quantum chemical calculations. The characteristic feature of the research is the application of the principles of sustainable and green chemistry in asymmetric synthesis. The main tasks of the studies are increase of efficiency and selectivities of reactions by means of catalysis, cascade reactions and by use of less toxic metal catalysts.

Main publications in 2019:

1. Mariliis Kimm, Maksim Ošeka, Sandra Kaabel, Andrus Metsala, Ivar Järving and Tõnis Kanger. [2,3]-Wittig Rearrangement as a Formal Asymmetric Alkylation of α -Branched Ketones. *Org. Lett.*, **2019**, *21*, 4976-4980.
2. Anna Peterson, Mikko Kaasik, Andrus Metsala, Ivar Järving, Jasper Adamson, Tõnis Kanger. Tunable chiral triazole-based halogen bond donors: assessment of donor strength in solution with nitrogen-containing acceptors. *RSC Advances*, **2019**, *9*, 11718–11721.
3. Kaasik, Mikko; Metsala, Andrus; Kaabel, Sandra; Kriis, Kadri; Järving, Ivar; Kanger, Tõnis. Halo-1,2,3-triazolium salts as halogen bond donors for the activation of imines in dihydropyridinone synthesis. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 4294–4303.

Frascati Manual Classification

1.4 Chemical Sciences

LIGNIINI LAGUNDAMISE BIOKEEMIA UURIMISRÜHM

The group for the study of lignin biodegradation

Juht: Tiit Lukk, vanemteadur, Geenitehnoloogia osakond

Liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kas on doktorant, magistrant);

Kairit Zovo, teadur 0,75, Geenitehnoloogia osakond

Epp Väli, insener, 1,0, Geenitehnoloogia osakond

Eve-Ly Ojangu, insener, 1,0, Geenitehnoloogia osakond

Kaia Kukk, insener, 0,2, Keemia osakond

Tiina Kirsipuu, vanemteadur, 0,2, Geenitehnoloogia osakond

Hegne Pupart, doktorant, nooremteadur, 0,25, Geenitehnoloogia osakond

Melissa Ingela Bramanis, magistrant, insener, 0,25, Geenitehnoloogia osakond

Merli Jõemaa, magistrant, insener, 0.25, Geenitehnoloogia osakond

Võtmesõnad: röntgenkristallograafia, struktuuribioloogia, biomassi väärimine, ensümolooia, ratsionaalne biokatalüsaatorite disain, biokatalüüs

Key words: X-ray crystallography, structural biology, biomass valorization, enzymology, rational design of biocatalysts, biocatalysis

Teadustöö lühikirjeldus.

Uurimisgrupi üks põhisuundi keskendub struktuuribioloogiale ning ensüümide ratsionaalsele disainile punktmutatsioonide abil. Mutageneesiga plaanitakse tõsta nende ensüümide redokspotentsiaale, häälestada aktiivsuseks vajalikku pH vahemikku ning temperatuuri stabiilsust, andes neile võime siduda alternatiivseid siirdemetalli-ioone. Ühtlasi planeeritakse grandiperioodi jooksul analüüsida ligniine erinevatest Eestis kasvavatest puittaimedest ning analüüsida nende biodegradeeritavust mullabakterite ensüümidega. Möödunud aastal karakteriseeriti põhjalikult *Streptomyces coelicolor*'i väikese lakaasi mutante nii kineetiliselt kui ka struktuuribioloogiliselt ning saadud andmete põhjal on valmimas esimene manuskript. Samuti kirjeldati esmakordselt laboris *S. viridosporus*'e väikese lakaasi võimekust töötada puidus enimlevinud siirdemetallide juuresolekul, mille põhjal valmis ka Merli Jõemaa magistritöö. Ühtlasi liitusid tiimiga Kaia Kukk ning Eve-Ly Ojangu, kelle tööd keskenduvad tõrksalt ekspresseeruvate valkude ekspressiooni optimeerimist pärmi süsteemis, ning uuringutel mis puudutavad pinnasebakterite rolli mulla keemia kujunemises.

As one of the major directions of the research group, we focus on the structural biology and rational design of enzymes utilizing point mutations. Site-directed mutagenesis in the near vicinity of the catalytic metal sites of those enzymes will allow the enzymes to be tuned to higher redox potentials, altered pH activity ranges, enhanced temperature stability as well as the ability to bind to alternative transition metal ions. Additionally, the project aims to analyze lignins from various tree species that naturally grow in Estonian forests and analyze their biodegradability with soil bacterial enzymes. In the past year, small laccase mutants from *Streptomyces coelicolor* were thoroughly characterized using structural biology methods as well as enzyme kinetics. A manuscript summarizing those results is in preparation to be submitted to a relevant peer-reviewed journal. Also, for the first time, the small laccase from *S. viridosporus* was tested for its ability to work in the presence of the most common transition metals found in wood, which was also at the center of Merli Jõemaa's master's thesis. The group expanded by two people, Kaia Kukk and Eve-Ly Ojangu, who's goal in the ongoing project is to better the expression of thus far bacterially recalcitrant proteins in the yeast model system, and to study the effect soil bacteria have on the evolution of soil chemistry, respectively.

Uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus.

Uurimisgrupi töö põhisuunad on seotud tehnoloogiatega, millest võidavad tulu tööstusharud, mis on seotud taastuvenergia sektoriga, paberi putmassi pleegitamisega, bio-tervendamise protsessidega ning ligniini väärimisega.

The major research themes of the research group will benefit industries related to renewable energy, paper pulp bleaching, bioremediation processes as well as lignin valorization.

Aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused.

Üheks olulisimaks avastuseks oli lakaasi aktiivsuse määramisel see, et antud multi-vaske oksüdaaside jaoks ei ole vaske kunagi liialt palju, ehk et isegi stöhhiomeetrilise või väikese vase ülehulgaga rekonstrueeritud valk kaotab aktiivsuse oma T1 vasesaidi madala afiinsuse tõttu. Sellest johtuvalt tuleb kõikidesse reaktsioonisegudesse lisada lisavaske. Ühtlasi puidu biokeemiat silmas pidades leidsime, et puidus rohkelt leiduvad siirdemetallid ei inhibeerid, vaid mõnel juhul isegi aktiveerivad ensüümi.

One of the major discoveries during the past year is related to the methodology of measuring the activity of laccases. During experimentation we discovered that the protein that has previously been reconstituted with stoichiometric or with a mild excess of copper loses its activity due to low affinity of the T1 copper binding site. We thus found that every reaction mixture needs additional copper for optimal activity as well as that none of the transition metals abundantly found in woody biomass inhibit laccase activity, an important finding concerning wood biochemistry.

Olulisemad projektid

1. MOBTT60 Aktinomütseteide metalloproteiinide roll ligniini depolümeerimisel ja mulla keemias (01.08.2017 – 31.07.2022)

Koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

2017 aastal alustati koostööd Estonian Cell aktsiaseltsiga, et uurida aktinomütseteide ensüümide kasutamise võimalikkust haava puitmassi pleegitamise hõlbustamisel ning puitmassi jahvatamise energiakulude vähendamisel. Möödunud aastal alustati koostööd uurimaks ka haavapuidu koore väärindamise võimalikkusest kasutades selleks orgaanilis-biokeemilisi meetodeid.

The research group started a collaboration in 2017 with Estonian Cell AS, to study the feasibility of using actinomycete enzymes in enhancing the efficiency of aspen wood paper pulp bleaching and reducing the energy consumption of mechanical pulping processes via enzymatic routes. During the past year, we also started a collaboration with Estonian Cell to find alternative uses to aspen bark to valorize that wood component using bioorganic chemistry methods.

LIPIDIDE BIOKEEMIA UURIMISRÜHM

Uurimisrühma juht: Professor Nigulas Samel, PhD; Keemia ja biotehnoloogia instituut; +372 620 4376; nigulas.samel@taltech.ee

Uurimisrühma liikmed

Aivar Lõokene, PhD, juhtivteadur

Ly Villo, PhD, dotsent

Ivar Järving, PhD, vanemteadur

Gennadi Kobzar, PhD, vanemteadur

Helike Lõhelaid, PhD, teadur (alates 10.2019 järeldoktorant)

Kaia Kukk, PhD, teadur (järeldoktorant)

Priit Eek, PhD, teadur (alates 08.2019 järeldoktorant)

Mart Reimund, nooremteadur/ doktorant (PhD alates 12.2019)

Tarvi Teder, nooremteadur/ doktorant (PhD alates 12.2019)

Kaspar Põldemaa, doktorant

Robert Risti, nooremteadur/ doktorant



Uurimisteema tutvustus

Lipiidel on oluline reguloorne roll paljudes rakuprotsessides nagu metaboolne- ja geeniregulatsioon, energia tootmine ja signaaliülekanne. Lipiidide ja lipoproteiinide sünteesi ja metabolismi eest vastutavad ensüümid ning metaboolsed kaskaadid on molekulaarseteks märklaudadeks ravimiarenduses. Uurimisrühma teadustöö põhieesmärkideks ongi lipiidsete mediaatorite sünteesis osalevate ensüümide struktuursete, katalüütiliste ja reguloorsete aspektide väljaselgitamine ning lipoproteiinide metabolismi ja endoteliaalse lipolüüsi regulaatorsete mehhanismide uurimine.

Uurimistoetus IUT-19-9 "Lipiidide ja lipoproteiinide metabolismi struktuurilised ja reguloorsed aspektid".

Võtmesõnad

struktuuribioloogia, biomolekulaarne interaktoomika, rasvhapete metabolism, tsüklooksügenaas, lipoksügenaas, allenoksiidi süntaas, hüdroperoksiidi lüaas, oksülipiinid, korallide stressivastus, endoteelne lipolüüs, lipoproteiinlipaas, angiopoietiini sarnane valk, pankrease lipaas.

Meetodid ja kompetentsid

lipidoomika, massispektromeetria, struktuuribioloogia (röntgen-kristallograafia, SAXS, mutatsioonanalüüs, keemiline ristsidumine); biomolekulaarne interaktoomika (fluorimeetria, ITC, SPR).

Viimaste aastate olulisemad tulemused

1. 11R-Lipoksügenaasi tertsiar- ja kvaternaarstruktuuri lahendamine ning Ca^{2+} -indutseeritud regulatsiooni mehhanismide kindlakstegemine (Eek et al., *J. Biol. Chem.*, 2012; Eek et al., *Biochem. Biophys. Acta*, 2015; Eek et al., *Biochem. Biophys. Acta*, 2017; Põldemaa et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019).
2. Hüdroperoksiidlüaasi avastamine loomades. See katalaasi-sarnane hemoproteiin katalüüsib taimse tsütokroom P-450 iseloomulikke reaktsioone (Teder et al., *J. Biol. Chem.*, 2015; Teder et al., *PLoS ONE*, 2017; Teder et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 2019).
3. Oksülipiinide, AOS-LOX ja HPL-LOX produktide osaluse näitamine koralli stressivastuses (Löhelaid et al., *PLoS ONE*, 2014; Löhelaid et al., *Coral Reefs*, 2015; Löhelaid et al., *Marine drugs*, 2018).
4. Kõrgtundliku kalorimeetrilise meetodi välja töötamine, mis võimaldab kvantitatiivselt mõõta lipoproteiinlipaasi aktiivsust ning interaktsioone reguloorsete valkudega otse patsientide vereplasmas (Reimund et al. *J. Biol. Chem.*, 2015; Reimund et al., *J. Lipid Res.*, 2017; Villo et al., *Biochim. Biophys. Acta* 2019; Reimund et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019).

Täiendav info

Tegevusvaldkond: 1. Loodusteadused; 1.6 Bioteadused

Uurimisrühma rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevus:

Koostöös Itaalia ravimifirmaga Opocrin SPA oleme välja töötanud testi Sulodexide'i preparaatide kvaliteedi hindamiseks. Sulodexide'i kasutatakse südame.versoonkonna haiguste ravis eesmärgiga vähendada tromboosi riski. Meie test põhineb lipoproteiinlipaasi ja Sulodexide'i interaktsiooni mõõtmisel kasutades pinnaplasminite resonantsi meetodit.

Research group of lipid biochemistry

Principal Investigator: Professor Nigulas Samel, PhD.

Department of Chemistry and Biotechnology; +372 620 4376; nigulas.samel@taltech.ee

Group members:

Aivar Lõokene, PhD, Leading Scientist

Ly Villo, PhD, Docent

Ivar Järving, PhD, Senior Researcher

Gennadi Kobzar, PhD, Senior Researcher

Helike Lõhelaid, PhD, Reasearcher (PostDoc from 10.2019)

Kaia Kukk, PhD, Researcher (PostDoc)

Priit Eek, PhD, Researcher (PostDoc from 08.2019)

Mart Reimund, Junior Researcher/PhD student (PhD from Dec 2019)

Tarvi Teder, Junior Researcher/PhD student (PhD from Dec 2019)

Kaspar Põldemaa, Junior Researcher/PhD student

Robert Risti, Junior Researcher/PhD student

Key words: structural biology, biomolecular interactomics, fatty acid metabolism, cyclooxygenase, lipoxygenase, allenoxide synthase, hydroperoxide lyase, oxylipins, coral stress response, lipoprotein lipase, endothelial lipolysis, angiopoietin-like protein, pancreatic lipase.

Research field

Lipids have shown to play many dynamic roles in regulating a wide array of cellular activities including metabolic and gene regulation, energy production, and signalling pathways. Lipid and lipoprotein producing and metabolizing enzymes, and metabolic cascades have been targeted for drug development. The main goals of the research team are: elucidation of fundamental structural, catalytic and regulatory aspects of enzymes responsible for biosynthesis of lipid mediators, and study of regulatory mechanisms of lipoprotein metabolism and endothelial lipolysis.

Supported by IUT19-9 “Structural and regulatory aspects of lipid and lipoprotein metabolism”.

Methods and Competences

lipidomics, LC-MS, structural biology (X-ray crystallography, SAXS, mutational analysis, chemical crosslinking), biomolecular interactomics (fluorimetry, ITC, SPR).

Most Significant Findings in Recent Years

1. Solving the tertiary and quaternary structures of 11R-lipoxygenase along with elucidating the mechanisms of Ca²⁺-induced regulation (Eek et al., *J. Biol. Chem.*, 2012; Eek et al., *Biochem. Biophys Acta*, 2015; Eek et al., *Biochem. Biophys Acta*, 2017; Põldemaa et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019).
2. Discovery of hydroperoxide lyase (HPL) in animals. This catalase-related hemoprotein catalyses reactions typical to a plant P-450 cytochrome (Teder et al., *J. Biol. Chem.*, 2015; Teder et al., *PLoS ONE*, 2017; Teder et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 2019).
3. Confirmation of involvement of oxylipins in coral stress response (Lõhelaid et al., *PLoS ONE*, 2014; Lõhelaid et al., *Coral Reefs*, 2015; Lõhelaid et al., *Marine drugs*, 2018).

4. Elaboration of highly sensitive calorimetric method for quantitative determination of lipoprotein lipase activity and its interactions with regulatory proteins directly in human plasma (Reimund et al. *J. Biol. Chem.*, 2015; Reimund et al., *J. Lipid Res.*, 2017; Villo et al., *Biochim. Biophys. Acta* 2019; Reimund et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019).

Supplementary information

Research area

1. Natural Sciences; 1.6. Biological Sciences

Applied research and development

In collaboration with the Italian company Opocrin SPA, we have developed an in vitro assay for testing the quality of Sulodexide preparations. Sulodexide is used for treatment of vascular diseases with increased risk of thrombosis. Our assay is based on surface plasmon resonance measurements of the interaction between lipoprotein lipase and Sulodexide.

METALLOPROTEOMIKA UURIMISRÜHM

Group of metalloproteomics

Uurimisrühma juht: Peep Palumaa, proteoomika professor, professor of proteomics, E-mail: peep.palumaa@taltech.ee, Tel: +3725025559

Liikmed

Akadeemilisel ametikohal töötavate uurimisrühma liikmete loetelu:

järeldoktorid;

Vello Tõugu, dotsent
Tiina Kirsipuu, vanemteadur 0,80
Olga Bragina, teadur
Julia Smirnova, teadur
Andra Noormägi, teadur

doktorandid;

Merlin Friedemann, doktorant
Jekaterina Kristal, doktorant
Katrina Laks, doktorant
Kristel Metsla, doktorant
Ekaterina Kabin, doktorant

mitteakadeemilisel ametikohal töötavad uurimisrühma liikmed:

Karin Valmsen, spetsialist

Võtmesõnad: Biometallid, tsink, vask, Alzheimeri tõbi, Wilsoni tõbi.

Keywords: Biometals, zinc, copper, Alzheimer's disease, Wilson's disease.

Uurimisrühma kompetentsid

Metalloproteoomika uurimisrühm keskendub järgmistele teadusteamadele: (i) bioloogiliselt oluliste siirdemetallide tsingi, vase ja raua homeostaasis osalevate valkude struktuursed ja funktsionaalsed uuringud kasutades erinevaid tehnoloogiaid nagu ESI MS, ICP MS, fluorestsents ja UV-VIS spektroskoopia, (ii) biometallide tsingi, vase ja raua roll amüloidsete peptiidide fibrillatsioonile ja rakulisele toksilisusele, mis on seotud Alzheimeri tõvega, (iii) uute metalloione kelateerivate



ligandide väljatöötamine ja nende rakendamine Wilsoni ja Alzheimeri tõve ravimstrateegiate väljatöötamiseks.

Research group of metalloproteomics is focused on the following topics: (i) structural and functional studies of metalloproteins participating in homeostasis of biometals zinc, copper and iron. (ii) role of biometals zinc, copper and iron on fibrillization and cellular toxicity of amyloidogenic peptides linked with Alzheimer's disease, (iii) design of new metal-chelating ligands and elaboration of metal-chelating therapeutic strategies for Wilsons and Alzheimer's disease.

Uurimisrühma viimase aastate rahvusvahelisel tasemel väljapaistvad teadustulemused.

Metalloproteoomika uurimisgrupi viimase aasta väljapaistvamad teadustulemused olid seotud: (i) rakuliste neuronilaadsete mudelsüsteemide väljatöötamisega amüloidsete peptiidide toksilisuse uurimiseks, mis on seotud Alzheimeri tõvega, (ii) amüloidsete peptiidide ja elavhõbeda(II) ionide interaktsiooni termodünaamiliste parameetrite (kompleksi dissotsiatsioonikonstant ja vaba energia) ja mehhanismi väljaselgitamisega ning Hg(II) ionide mõju uurimisega amüloidsete peptiidide fibrillatsioonile.

- (i) Krishtal J, Metsla K, Bragina O, Tõugu V, Palumaa P. Toxicity of Amyloid- β Peptides Varies Depending on Differentiation Route of SH-SY5Y Cells. *J Alzheimers Dis.* 2019;71(3):879-887. doi: 10.3233/JAD-190705
- (ii) Wallin C, Friedemann M, Sholts SB, Noormägi A, Svantesson T, Jarvet J, Roos PM, Palumaa P, Gräslund A, Wärmländer SKTS. Mercury and Alzheimer's Disease: Hg(II) Ions Display Specific Binding to the Amyloid- β Peptide and Hinder Its Fibrillization. *Biomolecules.* 2019 Dec 27;10(1). pii: E44. doi: 10.3390/biom10010044.

The most important achievements of the research group during last year : (i) elaboration of new neuron-like cellular model systems for toxicity studies of amyloidogenic peptides, involved in pathogenesis of Alzheimers disease, (ii) determination of thermodynamic parameters (complex dissociation constant and free energy of formation) and mechanism for interaction of amyloid peptides with mercury(II) ions. Elucidation of the effect of Hg(II) ions on fibrillization of amyloid peptides.

- (iii) Krishtal J, Metsla K, Bragina O, Tõugu V, Palumaa P. Toxicity of Amyloid- β Peptides Varies Depending on Differentiation Route of SH-SY5Y Cells. *J Alzheimers Dis.* 2019;71(3):879-887. doi: 10.3233/JAD-190705
- (iv) Wallin C, Friedemann M, Sholts SB, Noormägi A, Svantesson T, Jarvet J, Roos PM, Palumaa P, Gräslund A, Wärmländer SKTS. Mercury and Alzheimer's Disease: Hg(II) Ions Display Specific Binding to the Amyloid- β Peptide and Hinder Its Fibrillization. *Biomolecules.* 2019 Dec 27;10(1). pii: E44. doi: 10.3390/biom10010044.

Täiendav informatsioon:

- 2019. a. saadud uurimistoetused:
IUT19-8 "Struktuurne ja meditsiiniline metalloproteoomika (1.01.2014–31.12.2019)", PI - Peep Palumaa.
VE16052 "Wilsoni tõve ravimite toimemehhanism (1.09.2016–1.06.2019)", PI - Peep Palumaa.
- uurimisrühma tegevusvaldkonnad:
1.6 Bioteadused 1.6 Biological sciences
3.1 Biomeditsiin 3.1 Basic medicine
- uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös 2019. aastal:

Peep Palumaa – EMBO liige,
Peep Palumaa – member of EMBO

- Rakendusuuringute kirjeldus: 1. uuritakse Wilsoni tõve uute ravimite toimemehhanismi ja rakendatavust; 2. uuritakse Alzheimeri tõve potentsiaalsete ravimite toimemehhanismi ja rakendatavust
- Seos AAK prioriteetsete valdkondadega: Meie tegevusel on seos AAK prioriteetse valdkonnaga nr. 3. Keskkonnaressursside vääristamine: arendus-teadustöö on suunatud looduslike ühendite kasutamisele ravimitena Wilsoni ja Alzheimeri tõve korral.

MIKROFLUIDIKA GRUPP

Juht: Ott Scheler, abiprofessor, Akadeemia tee 15, SCI-214, ott.scheler@taltech.ee, ORCID: 0000-0002-8428-1350, Publon: AAF-5039-2019

Töögrupi liikmed:

- Teadurid: Jelena Gorbatšova
- Järel doktorid: Simona Bartkova (ORCID: 0000-0001-9567-104X, Publon: AAF-5556-2019)
- Doktorandid: Immanuel Sanka (ORCID: 0000-0002-0046-8311, Publon: AAF-4785-2019)
- Insenerid/spetsialistid: Pille Pata (ORCID: 0000-0002-4761-139X, Publon: B-6826-2019), Toomas Teekivi (ORCID: 0000-0001-5413-0597)

Võtmesõnad: mikrofluidika, tilga mikrofluidika, digitaalne mikrofluidika, antibiootikumi resistentsus, mikrobioloogia, analüütika

Grupi tegevus: Mikrofluidika aitab teha keemilisi ja bioloogilisi katseid hästi väikestes vedelike mahtudes. Tavaliselt on nii rakendus- kui alusuuringutes tehtavate katsete mahud laboris vahemikus ühest liitrist mikroliitrini. Mikrofluidika seadmed võimaldavad automatiseerida, kontrollida ja teha katseid veelgi väiksemates mahtudes. Mikrofluidika seadmete konstrueerimine on multidistsiplinaarne valdkond, kuhu panustavad nii mehhaanika, IT, inseneeria, materjaliteadus, keemia, bioloogia ja paljud teised valdkonnad.

Hetkel on grupis käimas järgmised projektid: i) uute mikrofluidika tehnoloogiate arendamine keemias ja bioloogias (TTÜ arenguprogramm aastateks 2016-2022, kood 2014-2020.4.01.16-0032), ii) Tilga mikrofluidikal põhinev tehnoloogia bakteri populatsiooni heterogeensuse uurimiseks ühe raku tasandil (MOBTP109), iii) Raskematellide poolt põhjustatud antibiootikumide hetero- ja kaasresistentsuse uurimine bakterites ühe raku genoomi, transkriptoomi ja fenotüübi tasemel (MOBJD556)

Tulemused 2019:

1. Direct droplet digital PCR (dddPCR) for species specific, accurate and precise quantification of bacteria in mixed samples. *Pacocha, Scheler, Nowak, Derszi, Cichy and Garstecki. Analytical Methods 2019, 11, 5730-5735*
2. CellProfiler: A fit tool for image analysis in droplet microfluidics. *Bartkova, Vendelin, Sanka, Pata and Scheler. biorXiv 2019 doi.org/10.1101/811869*

Lisaks: osalemine COST võrgustiku tegevuses CA18113 „Understanding and exploiting the impacts of low pH on micro-organisms“

Klassifikaatorid: uurimisrühma töö on seotud prioriteetse suunaga TalTechDigital. Frascati: 1.6 Bioteadused, 2.11 Teised tehnika- ja tehnoloogiateadused

Tunnustused: postdoc Simona Bartkova pälvis Eesti teadusagentuuri järel doktorstiipendiumi (MOBJD556)

Rakenduslik väljund: mikrofluidika grupi poolt välja töötatud tehnoloogiaid saab kasutada teadus- ja diagnostika laboratooriumites mikrobioloogia alastes ning üldistes biotehnoloogilistes uuringutes.

Veebileht: <https://taltech.ee/instituut/keemia-ja-biotehnoloogia-instituut/laborid-6/keemia-osakon/mikrofluidika/microfluidics/>

Microfluidics group

Leader: Ott Scheler, assistant professor, Akadeemia tee 15, SCI-214, ott.scheler@taltech.ee, ORCID: 0000-0002-8428-1350, Publon: AAF-5039-2019

Members of the group:

- Researchers: Jelena Gorbatšova
- Postdocs: Simona Bartkova (ORCID: 0000-0001-9567-104X, Publon: AAF-5556-2019)
- PhD students: Immanuel Sanka (ORCID: 0000-0002-0046-8311, Publon: AAF-4785-2019)
- Engineers/specialists: Pille Pata (ORCID: 0000-0002-4761-139X, Publon: B-6826-2019), Toomas Teekivi (ORCID: 0000-0001-5413-0597)

Keywords: microfluidics, droplet microfluidics, digital microfluidics, antibiotic resistance, microbiology, analytics

Action: Microfluidics enables to conduct biological and chemical experiments in very small volumes of fluids. In basic and applied research, the volumes used in experiments usually range from 1 litre to 1 microlitre. Microfluidic devices allow automating, controlling, and performing tests using even smaller volumes. Manufacturing of microfluidic devices is multidisciplinary, including the fields of mechanics, IT, engineering, material science, chemistry, and many others.

We currently pursue research in the following fields: i) general development of novel microfluidic methods in chemistry and biology (TTÜ development program 2016-2022“, code 2014-2020.4.01.16-0032), ii) Droplet microfluidic platform for studying aspects of population heterogeneity in bacteria at single cell level (MOBTP109), iii) Elucidating the heavy metal-induced hetero- and collateral resistance in bacteria to antibiotics at the single-cell genomic, transcriptomic and phenotypic levels (MOBJD556)

Results in 2019:

1. Direct droplet digital PCR (dddPCR) for species specific, accurate and precise quantification of bacteria in mixed samples. *Pacocha, Scheler, Nowak, Derszi, Cichy and Garstecki. Analytical Methods 2019, 11, 5730-5735*
2. CellProfiler: A fit tool for image analysis in droplet microfluidics. *Bartkova, Vendelin, Sanka, Pata and Scheler. biorXiv 2019 doi.org/10.1101/811869*

Extra: participation in the COST network action CA18113 „Understanding and exploiting the impacts of low pH on micro-organisms“

Classificators: the research follows the principles of TalTechDigital initiative. Frascati: 1.6 Biological science, 2.11 Other engineering and technologies

Awards: postdoc Simona Bartkova was awarded a postdoctoral fellowship by Estonian Research Council (MOBJD556)

Applications: tools developed in microfluidic group can be applied in research and diagnostic laboratories for microbiological and general biotechnology related studies

Website: <https://taltech.ee/instituut/keemia-ja-biotehnoloogia-instituut/laborid-6/keemia-osakon/mikrofluidika/microfluidics/>

Geenitehnoloogia osakond

MOLEKULAARSE NEUROBIOLOOGIA UURIMISRÜHM

Molecular neurobiology research group

- **uurimisrühma juht:** Tõnis Timmusk, PhD, molekulaarbioloogia professor
- **uurimisrühma liikmed**

Akadeemilised töötajad: Kaia Palm, PhD, vanemteadur/dotsent; Andres Veske, vanemteadur/dotsent; Eli-Eelika Esvald, doktorant-nooremteadur; Alex Sirp, doktorant-nooremteadur; Mari Sepp, PhD, teadur (tööleping peatatud, järeldoktorantuuris); Indrek Koppel, PhD, teadur (tööleping peatatud, järeldoktorantuuris).

Mitteakadeemilised töötajad: Mari Palgi, PhD, peaspetsialist; Richard Tamme, PhD, insener; Hanna Vihma, PhD, insener; Jürgen Tuvikene, insener ja doktorant; Laura Tamberg, insener ja doktorant; Mariliis Jaago, doktorant; Annela Avarlaid, doktorant; Epp Väli, insener; Kaja Nurm, insener ja doktorant (akadeemilisel puhkusel); Kati Taal, insener ja doktorant (akadeemilisel puhkusel); Helle Sadam, doktorant (akadeemilisel puhkusel).

Magistrandid: Kaie Uustalu, Annika Rähni, Marilis Raud, Andra Moistus, Anastassia Šubina, Carl Sander Kiir, Signe Saarmets, Käthy Rannaste.

Võtmesõnad: neurotrofiinid, BDNF, bHLH transkriptsioonitegurid; TCF4/E2-2; neuraalse aktiivsusega reguleeritud transkriptsioon; Pitt-Hopkinsi sündroom; skisofreenia; neurodegeneratiivsed haigused;

Key words: neurotrophins, BDNF, bHLH transcription factors, TCF4/E2-2, neuronal activity-regulated transcription, Pitt-Hopkins syndrome, schizophrenia, neurodegenerative disorders

Teadustöö lühikirjeldus

Peamiseks uurimisteenaks on geeniekspressiooni ja signaaliülekanne regulatsioon närvisüsteemis ja selle patoloogiates ja onkogeneesis. Uuritakse transkriptsiooni, mRNA ja valkude rakusise lokaliseerimise, translatsiooni, posttranslatsiooniliste modifikatsioonide ja signaaliülekanne molekulaarseid aluseid. Spetsiifiliselt uuritakse (1) Molekulaarseid mehhanisme, mis kontrollivad neurotrofiin BDNFi transkriptsiooni ja translatsiooni; (2) Transkriptsiooni häireid Huntingtoni tõves; (3) TrkB signaaliülekanne (4) Aluselise heeliks-ling-heeliks transkriptsioonifaktori TCF4 funktsioone imetajate ja Drosophila närvisüsteemis ja regulatsiooni häireid Pitt-Hopkinsi sündroomis ja skisofreenias; (5) Neuronites dendriitselt lokaliseeruva Neuralized valgu kui ubiquitineerimise liigaasi ja transkriptsiooni regulaatori sünaptilisi funktsioone.

Our studies focus on the molecular mechanisms of gene expression, including transcription, mRNA and protein subcellular localization, translation, posttranslational modifications, and signaling, in the nervous system health and disease. The main emphasis of the research is on neurotrophins, their receptors and activity-regulated gene expression. Specifically we study (1) Molecular mechanisms controlling neural activity-regulated transcription and translation of the neurotrophin BDNF; (2) Transcriptional deregulation in Huntington's disease; (3) TrkB signaling, and its cross talk with Notch, Hedgehog and Plexin pathways; (4) The basic helix-loop-helix transcription factor TCF4 functions in the nervous system of mammals and Drosophila and its deregulation in Pitt-Hopkins syndrome and schizophrenia; (5) Synaptic functions of the dendritically localized Neuralized1 as an ubiquitination ligase and transcriptional regulator.

2019. aasta kõige olulisemad teadustulemused on järgmised.

Jätkasime närvisüsteemi haigustega ja neuraalse plastilisusega seotud geenide regulatsiooni ja funktsioneerimise uurimist närvirakkudes. (1) Ühe olulisema tulemusena võib välja tuua Neuralized E3 ubiquitiin liigaas 1 (NEURL1) valgu uute regulaatorsete mehhanismide väljaselgitamise. Kasutades

pärmi kaksikhübrid meetodit avastasime, et cGMP-d hüdrolüüsiv fosfodiesteras PDE9A on NEURL1 valgu uus siiani kirjeldamata interaktor ja substraat. Me kinnitasime seda interaktsiooni kasutades immunosadestamise meetodit ja näitasime et NEURL1 valgu mõlemad Neuralized Homologia Korduse Domeenid on võimelised interakteeruma PDE9A-ga. Näitasime ka seda, et NEURL1 võib ubiquitineerida PDE9A, mis viib PDE9A lagundamisele proteosoomis. Meie tulemused viitavad sellele, et NEURL1 toimib kui PDE9A valgu uus regulaator. (2) Teise olulise tulemusena võib välja tuua kokaiini poolt vahendatud DNA metüültransferaaside (DNMT-de) ensümaatilise aktiivsuse uute regulatsioonimehhanismide väljaselgitamist *in vivo*. Paljud varasemad uuringud on näidanud, et epigeneetilised modifikatsioonid, nagu DNA metüleerimine, võivad osaleda psühhostimulantide poolt põhjustatud stabiilsete muutustes närvirakkudes koordineerides geenide võrgustikke, mis omakorda viib välja pikaajalistele käitumuslikele muutustele. Meie tulemused näitasid, et kokaiin põhjustab kahefaasilise muutuse DNMT-de ekspressioonis aju naalduvas tuumas ja et mitteselektiivsed DNMT-de inhiitorid vähendavad neid käitumuslikele muutusi.

In 2019 the most important results are as follows. We continued our studies on regulation and functioning of genes associated with nervous system diseases and neuronal plasticity. (1) One of our most important results was characterization of novel regulatory mechanisms of the Neuralized E3 ubiquitin protein ligase 1 (NEURL1). Using a yeast two-hybrid screen, we have identified a cGMP-hydrolysing phosphodiesterase, PDE9A, as a novel interactor and substrate NEURL1. We confirmed this interaction with co-immunoprecipitation experiments and showed that both Neuralized Homology Repeat domains of NEURL1 can interact with PDE9A. We also demonstrated that NEURL1 can promote ubiquitination of PDE9A that leads to its proteasome-mediated degradation. Our results suggest that NEURL1 acts as a novel regulator of protein levels of PDE9A. (2) In another important finding we evaluated the enzyme activity of DNA methyltransferases (DNMTs) after cocaine treatment and during withdrawal. An increasing number of reports have provided crucial evidence that epigenetic modifications, such as DNA methylation, may be involved in initiating and establishing psychostimulant-induced stable changes at the cellular level by coordinating the expression of gene networks, which then manifests as long-term behavioral changes. Our results showed that cocaine treatment and withdrawal is associated with biphasic changes in DNMT activity in the NAc, and the expression of behavioral sensitization decreases with non-selective inhibition of DNMT but not with selective silencing of Dnmt3a.

2019. a. avaldati järgmised teaduslikud publikatsioonid:

1. Taal K., Rullinkov G., Piirsoo M., Sepp M., Neuman T., Tamme R., Timmusk T. Neuralized1 is a E3 Ubiquitin Ligase for cGMP-specific phosphodiesterase 9A. *Scientific Reports*, 2019, 9:7104.
2. Urb M., Anier K., Matsalu T., Aonurm-Helm A., Tasa G., Koppel I., Zharkovsky A., Timmusk T., Kalda A. Glucocorticoid receptor stimulation resulting from early life stress affects expression of DNA methyltransferases in rat prefrontal cortex. *J Mol Neurosci*, 2019; 68, 99-110.

Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

IUT19-18 "Geeniexpresiooni ja signaaliülekanne regulatsioon närvisüsteemis ja selle patoloogiates (1.01.2014–31.12.2019)", projekti juht Tõnis Timmusk.

TAR16018 "Genoomika ja Siirdemeditsiini Tippkeskus (1.01.2016–1.03.2023)", projekti juht Tõnis Timmusk.

VFP18046 "Skisofreenia varane molekulaadiagnostika (1.01.2017–31.12.2020)", projekti juht Tõnis Timmusk.

VA19035 "TCF4 mRNA ja valgu isovormide ekspresiooni iseloomustamine näriliste ja inimese aju arengus (15.05.2019–15.05.2020)"

Uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

Prof. Eero Vasar, University of Tartu; Gene regulation in psychiatric diseases;

Prof. Anti Kalda, University of Tartu; Gene regulation in addiction and stress;

Prof. Clive Bramham, University of Bergen, Norway; Regulation of BDNF and Arc genes by neuronal activity;

Prof. Derek Blake, Cardiff University, Cardiff, UK; Characterization of TCF4 target genes;

Prof. Moritz Rossner, University Hospital, Ludwig Maximilian University, Munich, Germany; Characterization of TCF4 target genes;

Prof. Natale Belluardo, University of Palermo, Palermo, Italy; Regulation of TCF4 gene by neuronal activity

Uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);

1. Taal K., Rullinkov G., Piirsoo M., Sepp M., Neuman T., Tamme R., Timmusk T. Neuralized1 is a E3 Ubiquitin Ligase for cGMP-specific phosphodiesterase 9A. Scientific Reports, 2019, 9:7104.

2. Urb M., Anier K., Matsalu T., Aonurm-Helm A., Tasa G., Koppel I., Zharkovsky A., Timmusk T., Kalda A. Glucocorticoid receptor stimulation resulting from early life stress affects expression of DNA methyltransferases in rat prefrontal cortex. J Mol Neurosci, 2019; 68, 99-110.

Loetelu uurimisrühma töötajate olulisematest sise- ja välisriiklikest T&A-ga seotud tunnustustest (töötaja nimi, allüksus ning tunnustus).

Tõnis Timmusk, Tallinna Tehnikaülikooli 2018 aasta teadlane (omistatud 2019)

Tõnis Timmusk, Tallinna Tehnikaülikooli Loodusteaduskonna 2018 aasta parim õppejõud 2018 (omistatud 2019)

Loetelu uurimisgrupi liikmetest, kes on riiklike T&A-ga seotud otsustuskogude liikmed (töötaja nimi, ametikoht ning otsustuskogu nimetus ja positsioon otsustuskogus).

Tõnis Timmusk, SA Eesti Teadusagentuuri teadustaristu komisjoni liige.

Loetelu uurimisgrupi liikmetest, kes on välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste T&A-ga seotud välisorganisatsioonide liikmed (töötaja nimi, allüksus ning välisakadeemia või muu olulise T&A-ga seotud välisorganisatsiooni nimetus).

Tõnis Timmusk, ERC (European Research Council) Neurobioloogia stardigrantide hindamispaneeli liige.

Uurimisgrupis osalenud järel doktorite ning TTÜ-st järel doktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järel doktorite nime, päritolumaa ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

Uurimisgrupis osalesid järel doktorid Mari Palgi, PhD, Hanna Vihma, PhD. Uurimisgrupist järel doktorantuuri suundunud töötaja on Hanna Vihma, PhD, University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, USA.

MOLEKULAARTEADUSED JA -TEHNOLOOGIA

Juht: Dr Pavel Starkov, vanemteadur

Veeb: <https://starkov.group>

Uurimisrühma liikmed

Rohit Bhadoria, doktorant

Kefeng Ping, doktorant

Mahboob Alam, doktorant

Ms Johanna Marie Lay, Erasmus magistrant

Mr Sean Kahnert, Erasmus magistrant

Võtmesõnad

Keemilised sondid, rakkudesse sisemine, heterogeensed katalüsaatorid, materjalid, elektrokatalüsaatorid, taastuenergia

Tutvustus

Meie uurimisrühm rakendab teadmisi sünteetilisest keemiast selleks, et disainida võrgustatud molekule. Antud multifunktsionaalsete väikese molekulmassiga ühendite alamhulk tegeleb nii keemiliste kui ka bioloogiliste võrkude mõistetega. Eelkõige kasutame „võrgustatud molekule” selleks, et

1. ehitada ratsionaalselt hästi organiseeritud molekulaarseid maatrikseid ja kasutada neid edukalt materjalidena erinevates valdkondades, sh taastuenergiast ja „liganditeta” katalüüsis;
2. häirida ja/või ümber korraldada bioloogilisi võrke eesmärgiga tekitada uusi rakusiseseid interaktsioone ja jälgida nende sünergilisi koostoimeid.

Sellised ühendid on oma lihtsaimas vormis heterobivalentsete konstruktid, millega täiendavaid funktsionaalseid üksusi liites arendame edasi nende mitmekülgset mõju.

Aastal 2019 on meie uurimistööd toetanud Eesti Teadusagentuur [PUT1290] ja TalTech noorteadlase grant [B62]

Teadustulemused [PS rühma liikmed rasvases kirjas]

- [1] **Ping, K.**; Braschinsky, A.; **Alam, M.**; **Bhadoria, R.**; Mikli, V.; Mere, A.; Aruväli, J.; Vlassov, S.; Kook, M.; Rahn, M.; Sammelselg, V.; Tammeveski, K.; Kongi, N.; **Starkov, P.** Fused hybrid linkers for metal–organic frameworks-derived bifunctional oxygen electrocatalysts. *ACS Appl. Energy Mater.* **2020**, *3*, 152–157. DOI:10.1021/acsaem.9b02039. Originally on *ChemRxiv*: DOI:10.26434/chemrxiv.7687358
- [2] **Bhadoria, R.**; **Ping, K.**; **Lohk, C.**; Järving, I.; **Starkov, P.** A phenotypic approach to probing cellular outcomes using heterobivalent constructs. *Chem. Commun.* **2020**, *in press*. Originally on *ChemRxiv*: DOI:10.26434/chemrxiv.7613213
- [3] **Ping, K.**; **Alam, M.**; Käärik, M.; Leis, J.; Kongi, N.; Järving, I.; **Starkov, P.** Surveying iron–organic framework TAL-1-derived materials in ligandless heterogeneous oxidative catalytic transformations of alkylarenes. *Synlett* **2019**, *30*, 1536. doi:10.1055/s-0037-1611877 [invited]
- [4] **Starkov, P.**; **Ping, K.**; Kongi, N.; Tammeveski, K. Novel catalyst materials. PCT/EP2019/072050; Estimated Publication Date of PCT Application: Feb17–2020.

Tegevusvaldkonnad [Frascati]

- 1.4 Keemiateadused
- 2.5 Materjalitehnika

TalTechi prioriteetsed suunad

- #1. Targad ja energiatõhusad keskkonnad
- #3. Keskkonnaressursside vääristamine

Muu

- 1. COST 18442 Greening – MC Eesti liige ja WP4 [Mõju] kaasjuht
- 2. Mr Christer Lohk, endine BSc tudeng [diplom „Paisumismikroskoopia kui alternatiiv ülikõrglahutusvõimetehnikatele” lõputöö eest 2019. üliõpilaste teadustööde riiklikul konkursil (bio- ja keskkonnateaduste valdkonnas); hetkel jätkab magistrandina biomeditsiinilises tehnikas Pariisi Ülikoolis]

Molecular Science & Engineering

PI: Dr Pavel Starkov, Senior Research Scientist, PI

Website: <https://starkov.group>

Group Members

Mr Rohit Bhadoria, PhD student
Mr Kefeng Ping, PhD student
Mr Mahboob Alam, PhD student
Ms Johanna Marie Lay, Erasmus MSc student
Mr Sean Kahnert, Erasmus MSc student

Keywords

chemical probes, cellular uptake, heterogenous catalysts, materials, electrocatalysts, renewable energy

About

Our group transcends its knowledge in synthetic chemistry to molecularly design and test so-termed **networked molecules**. These are a subset of multifunctional small-molecular-weight compounds that address the notions of chemical as well as biological networks. In particular, we employ our tailored ‘networked molecules’ to

- 1. rationally build up well-organized molecular networks and successfully use them as electrocatalyst/heterogenous catalyst materials for various applications, incl. renewable energy and ‘ligandless’ catalysis;
- 2. disrupt and/or rewire biological networks with a goal of inducing new intracellular interactions and observing synergistic effects.

Such entities in their simplest form are heterobivalent constructs, however, we are looking to install additional moieties that would help extend their multifold performance.

In 2019, our work was funded by the Estonian Research Council [PUT1290] and TalTech Young Investigator Grant [B62].

Research Outputs [PS group members in Bold]

- [1] **Ping, K.**; Braschinsky, A.; **Alam, M.**; **Bhadoria, R.**; Mikli, V.; Mere, A.; Aruväli, J.; Vlassov, S.; Kook, M.; Rähn, M.; Sammelseg, V.; Tammeveski, K.; Kongi, N.; **Starkov, P.** Fused hybrid linkers for metal–organic frameworks-derived bifunctional oxygen electrocatalysts. *ACS Appl. Energy Mater.* **2020**, *3*, 152–157. DOI:10.1021/acsaem.9b02039
Originally on *ChemRxiv*: DOI:10.26434/chemrxiv.7687358
- [2] **Bhadoria, R.**; **Ping, K.**; **Lohk, C.**; Järving, I.; **Starkov, P.** A phenotypic approach to probing cellular outcomes using heterobivalent constructs. *Chem. Commun.* **2020**, *in press*.
Originally on *ChemRxiv*: DOI:10.26434/chemrxiv.7613213
- [3] **Ping, K.**; **Alam, M.**; Käärik, M.; Leis, J.; Kongi, N.; Järving, I.; **Starkov, P.** Surveying iron–organic framework TAL-1-derived materials in ligandless heterogeneous oxidative catalytic transformations of alkylarenes. *Synlett* **2019**, *30*, 1536. doi:10.1055/s-0037-1611877 [invited]
- [4] **Starkov, P.**; **Ping, K.**; Kongi, N.; Tammeveski, K. Novel catalyst materials. PCT/EP2019/072050; Estimated Publication Date of PCT Application: Feb17–2020.

Frascati Manual Classification

- 1.4 Chemical Sciences
- 2.5 Materials Engineering

TalTech Priority Areas

- #1. Smart and energy efficient environments
- #3. Valorisation of natural resources

Other

1. COST 18442 Greening – MC Member for Estonia and co-Leader for WP4 [Impact]
2. Mr Christer Lohk, BSc student/alumni [Diploma for best BSc thesis in National Student Research Competition 2019; currently, is a MSc student in Biomedical Engineering at the University of Paris]

NEURONITE APOPTOOS

Apoptosis of the neurons

Uurimisrühma juht: Urmas Arumäe, dotsent, tel. 6204437, urmas.arumae@taltech.ee, Akadeemia tee 15-131A, 12618, Tallinn

Uurimisrühma liikmed: Jaan Palgi (insener)

Doktorandid: Valentina Božok

Võtmesõnad: Apoptoos, neurotroofsed faktorid, neuronid (apoptosis, neurotrophic factors, neurons)

Uurimisrühma tutvustus

Uurime neuronite, aga ka teiste rakkude programmeeritud surma ja eluspüsimise mehhanisme ja nende protsesside kontrolli neurotroofsete faktorite poolt. Peamine uurimisteema, koostöös Helsingi Ülikooli Biotehnoloogia Instituudiga, on neurotroofsete faktorite MANF ja CDFN toimemehhanism.

Need faktorid toimivad Parkinsoni haiguse loomamudelitel neurorestoratiivselt, s.t. parandavad juba tekkinud neuroloogilisi kahjustusi ja on seega praegu parimad ravimikandidaadid Parkinsoni haiguse raviks, kuid nende toimemehhanism on ebaselge. Oleme varem (Mätlik et al, 2015, Cell Death Dis31;6:e2032) leidnud MANF'is funktsionaalse motiivi CXXC mille muteerimisel inaktiveerub funktsionaalselt kogu valk. Oleme ka näidanud (Bozok et al, Front Cell Dev Biol. 2018;6:106) et CXXC tetrapeptiid on ka ise anti-apoptootilise toimega. Praegu uurime CXXC motiivi rolli Drosophila arengus, kasutades kärbseliine kus see motiiv on muteeritud. Teine uurimisteema hõlmab neonataalseid sümpaatilisi neuroneid mis on programmeeritud rakusurma staadiumis ja vajavad eluspüsimiseks apoptoosi mahasuruvat neurotroofset faktorit NGF. Varasemast mikrokiipuuringust (Raba et al., 2016, Cell. Neurosci. 10:66) oleme leidnud mitmeid huvitavaid gene millede avaldumine neis neuronites arengu jooksul muutub. Keskendume nende geenide rolli uurimisele neuronite apoptoosiprogrammis ja selle blokeerimises NGF-ga. Oleme suutelnud valmistama paljude hiire ja roti primaarneuronite (sümpaatilised, sensoorsed, kortikaalsed, hippokampaalsed jt.) kultuure. Kasvatame ka rakuliine (Jurkat, HEK HeLa jt). Teeme nende rakkudega apoptoosi- ja ellujäämisteste, indutseerides ja blokeerides apoptoosi paljudel viisidel ja hinnates surnud ja elusate rakkude hulka. Suudame ka primaarneuroneid katseliselt manipuleerida, peamiselt uuritavate geenide üleavaldamisega ja mahasurumisega, kasutades lentiviirusvektoreid. Rakukultuure uurime nii mikroskoopiliste kui ka biokeemiliste ja molekulaarbioloogiliste meetoditega.

We study the mechanisms of apoptosis and survival, as well as the control of these processes by neurotrophic factors, on the neurons, but also other cells. Our main research topic, in collaboration with the Institute of Biotechnology, University of Helsinki, is the mechanism of action of neurotrophic factors MANF and CDFN. These factors have neurorestorative activity in the animal models of Parkinson's disease, as they repair the neurological damages and restore the lost motility in the experimental animals, being thus currently the best candidates for the treatment of Parkinson's disease. The mechanism of action of these factors is, however, poorly understood. We described earlier (Mätlik et al, 2015, Cell Death Dis31;6:e2032) a CXXC motif of MANF that is functionally critical for its anti-apoptotic activity, as mutation of this motif inactivates MANF protein functionally. We have also shown (Bozok et al, Front Cell Dev Biol. 2018;6:106) that the CXXC tetrapeptide has anti-apoptotic activity of its own. Currently we are focussing on the role of CXXC motif in the development of Drosophila, using the fly lines where this motif is mutated. Another research topic concerns the neonatal sympathetic neurons that are in the developmental stage of programmed cell death and require a neurotrophic factor NGF to survive. From our earlier microarray study (Raba et al., 2016, Cell. Neurosci. 10:66) we have selected several genes of interest whose expression changes during the development of these neurons. Now we are focussing on the role of these genes in the apoptotic program as well as its repression by neurotrophic factors in the neurons. To that end, we are able to culture several types of primary neurons (sympathetic, sensory, cortical, hippocampal etc.), but also the cell lines (Jurkat, HEK, HeLa etc.). On these cells we perform apoptotic and survival assays, inducing apoptosis and blocking it by several ways, and estimating the amount of survived / dead cells. We are able to manipulate the primary neurons experimentally, overexpressing or silencing the genes of interest via lentiviral vectors. We can study the cultures using variety of microscopic, biochemical as well as molecular biological techniques.

- Uurimisrühma viimaste aastate rahvusvahelisel tasemel väljapaistvad teadustulemused.

Oleme leidnud funktsionaalse motiivi neurotroofse faktori MANF molekulis mis vastutab tema anti-apoptootilise toime eest ja kirjeldanud selle motiivi toimemehhanismi (Mätlik et al, Cell Death Dis31;6:e2032; Bozok et al, Front Cell Dev Biol. 2018;6:106).

- Tegevusvaldkonna klassifikaatorid: 1.6. (bioteadused).

PÕLEVKIVIKEEMIA UURIMISRÜHM

Juht: Margus Lopp, professor, 6202808, margus.lope@taltech.ee

Liikmed:

Uustalu Jaan Mihkel, peaspetsialist

Gert Preegel,

Kaldas Kristiina, doktorant-nooremteadur

Muldma Kati, insener

Aid Tiina, insener

Varlamova Galina, projekti assistent

Võtmesõnad: põlevkivi ja kerogeeni oksüdeerimise meetodid dikarboksüülhapete derivaatideks väärindamiseks

TalTechi TA prioriteetsed suunad: Keskkonnaressursside vääristamine

Tutvustus

Projekti “Uus põlevkivi kerogeeni väärindamise tehnoloogiline platvorm: osaline oksüdatsioon dikarboksüülhapeteks ja edasine muundamine väärtuslikeks dikarboksüülhapete derivaatideks” (Nutika spetsialiseerimise programm, LEP19019) raames uuriti kahte põlevkivi keemilise lõhustamise meetodit – õhuga oksüdeerimist (WAO) ja lämmastikhappega oksüdeerimist. Mõlema meetodiga, nii WAO kui ka lämmastikhappega oksüdeerides saab põlevkivist ja tema kontsentratsioonidest dikarboksüülhappeid (DKH).

WAO protsess annab DKH ligikaudu 10% saagisega. Kirjanduses toodud kõrgemad DKH väärtused on seotud toorprodukti madala kvaliteediga: DKH fraktsioon sisaldab vähem kui 50% individuaalseid puhtaid dikarboksüülhappeid ja analüütiliste meetodite tollases nõrkuses. Kõrgemad kui 10% saagised on saadud äädikhappes, mille kasutamine muudaks aga protsessi kalliks ja reaktiivide kulu seisukohalt ebaotstarbekaks.

WAO protsessi iseloomustab: tehniline keerukus (kõrge rõhk ja väga intensiivne segamine, mis ei ole kasutatav suhteliselt odava produkti suurtootmises); madal saagis; toorprodukti vilets kvaliteet; suur CO₂ emissioon. Kõik need iseloomustavad parameetrid teevad kogu protsessi kasutamise ja edasise arendamise ebaotstarbekaks.

Paljud negatiivsed parameetrid võib kõrvaldada lämmastikhappe tehnoloogia, eriti selle uuel väljatöötatud analoogil. Positiivsed näitajad on: DKH saagised on stabiilselt 40% ja kõrgemad (ligi kolm korda kõrgemad kui WAO korral); toorsegu on suurem kallimate pika ahelaga DKH hulk; reaktsiooni toorsegu on kõrgekvaliteetne; tehnoloogia on tehniliselt lihtne ja seda saab üles ehitada kasutades tuntud ja testitud tööstusoperatsioone ning tehnilisi sõlmi. Protsess on kergesti ülesse skaleeritav.

Loodud tehnoloogia alus on universaalne ja sobib erineva kerogeeni sisaldusega põlevkivile, erinevatele maailma põlevkividele – Jordaania põlevkivist saadud DKH, mitteoptimeeritud saagis–27% kerogeenist on märkimisväärne. Protsess on patenteeritav – esimene patenditaotlus SULFNIT tehnoloogia jaoks on registreeritud Eesti Patendiametis 18.07.2019. Tehnoloogia sobib litsentseerimiseks.

Lämmastikhappe tehnoloogial on järgmised puudused: vajadus käidelda suures koguses lämmastikhapet; CO₂ emissioon (väiksem kui WAO tehnoloogias; CO₂ tuleb neutraliseerida).

Olulisemad artiklid:

Kaldas,K.; Preegel,G.; Muldma,K.; Lopp,M. Reactivity of Aliphatic Dicarboxylic Acids in Wet Air Oxidation Conditions. *Ind. & Eng. Chem. Res.*, **2019**, 58, 25, 10855-10863.

Frascati Manual: 1.4 Keemiateadused, 2.4 Keemiatehnika

Oil Shale Chemistry

Head: Margus Lopp, Professor, 6202808, margus.lopp@taltech.ee

Members:

Uustalu Jaan Mihkel, head specialist

Gert Preegel

Kaldas Kristiina, doctoral student-junior researcher

Muldma Kati, engineer

Aid Tiina, engineer

Varlamova Galina, project assistant

Keywords: methods of oxidation of oil shale and kerogen for the conversion of dicarboxylic acid derivatives

TalTech RD priority directions: valorisation of natural resources

During the implementation of the project “A New Technology Platform for Processing Oil Shale Kerogen: Partial Oxidation to Dicarboxylic Acids and Transformation to Dicarboxylic Acid Derivatives” (Smart Specialization Program, LEP16017) two methods of chemical oil shale cleavage were investigated – WAO and oxidation using nitric acid. Both methods, oxidizing with WAO and nitric acid, allow to get dicarboxylic acids (DCA) from oil shale and its concentrates.

The WAO process gives DCA in about 10% yield. The higher DCA values reported in the literature are related to the low quality of the crude product: the DCA fraction contains less than 50% of individual pure dicarboxylic acids and low analytical capability in the past times. Yields greater than 10% are obtained in acetic acid, the use of which, however, would make the process expensive and inappropriate for the reagents.

The WAO process is characterized by: technical complexity (high pressure and very intense mixing, which is not usable in the production of a relatively inexpensive product); low yield; poor quality of the raw product; high CO₂ emissions. All these characteristic parameters make the use and further development of the whole process ineffective.

Many negative parameters can be eliminated by nitric acid technology, especially by use of its modified version. These positive features are: DCA yields are stable at 40% from kerogen (nearly three times higher than that for WAO); a considerable amount of expensive long chain DCA in the crude mixture; the DCA fraction is relatively free from impurities; the technology is technically simple and can be built using well-known and tested industrial operations and technical units. The process is easily scalable.

The developed technology is universal and suitable for oil shale with varying kerogen content, suitable for Jordan oil shale (non-optimized yield – 27% from kerogen). The process is patentable –

the first patent application for SULFNIT technology was filed with the Estonian Patent Office on 18.07.2019. The technology is suitable for licensing.

Nitric acid technology has the following disadvantages: the need to handle large quantities of nitric acid; CO₂ emissions (quieter than WAO technology; CO₂ must be neutralized).

Publications:

Kaldas, K.; Preegel, G.; Muldma, .; Lopp, M. Reactivity of Aliphatic Dicarboxylic Acids in Wet Air Oxidation Conditions. *Ind. & Eng. Chem. Res.*, **2019**, 58, 25, 10855-10863.

Frascati Manual: 1.4 Chemical sciences; 2.4 Chemical engineering

REPRODUKTIIVBIOLOOGIA UURIMISRÜHM

Uurimisrühma juht: Agne Velthut, PhD. TTÜ KBI dotsent alates 01.01.2017. E-mail: agne.velthut@taltech.ee

Uurimisrühma liikmed;

Ilmatar Rooda, MSc, doktorant.

Kristine Roos, MSc, doktorant.

Birgitta Kaselt, BS, magistrant.

Robyn-Stefany Keif, BS, magistrant.

Uurimisrühma tegevust iseloomustavad võtmesõnad

Reproduktiivbioloogia, viljatus, bioinformaatika

Uurimisteema tutvustus

Viljatus on ülemaailmne probleem, millel on nii meditsiiniline, sotsioökonomiline kui ka psühholoogiline mõõde. Euroopa Reproduktiivbioloogia ja Embrüoloogia Seltsi hinannul vajab meditsiinilist sekkumist oma bioloogilise järglase saamiseks umbes 15% paaridest ning see protsent ei sõltu maailmajaost ega majandustasemest (www.eshre.eu). Enim kasutatud leidnud meetod viljatuse probleemi lahendamiseks on kehaväline viljastamine (*in vitro fertilization* e IVF), mille käigus munarakk ja seemnerakk viiakse kokku katseklaasis ning tekkinud embrüo siiratakse tagasi emakasse. Selle meetodi tulemuslikkus on paraku vaid 30-35% protsenti, mis annab tunnistust, et praegused teadmised inimese reproduktiivbioloogiast ei ole täielikud.

Reproduktiivbioloogia uurimisrühm on keskendunud eelkõige naisepoolsele viljatusele ja uurib munasarjas toimuvaid bioloogilisi protsesse. Peamiseks eesmärgiks on kirjeldada rakkudevahelisi molekulaarseid interaktsioone munasarjas ning leida faktorid, mis võimaldaksid eristada arenguvõimelist munarakku hukkumisele määratudest. Uurimistöös kasutatakse muuhulgas kaasaegseid ülegenoomseid tehnoloogiaid nagu süvasekveneerimine, proteoomika, süsteemibioloogia andmeanalüüsi meetodid jpm. Koostööd tehakse kõikide Eesti viljatusravi kliinikutega, kelle abiga kogutakse bioloogilist materjali (munasarja granuloosa rakud, munasarja biopsiad, follikulaarvedelik, vereproovid) viljakatelt ja viljatutelt naistelt.

2019. aastal jätkus teadustegevus, mis põhines Agne Velthut-Meikase publikatsioonis (Velthut-Meikas et al., 2013) ja Ilmatar Rooda magistritöös (Rooda, 2015) saadud tulemustel. Uuriti mikroRNade sihtmärkgeene ning nende rolle ovulatsioonieeles munasarja folliikulis. Rühmaga liitus tööstusdoktorant Kristine Roos, et uurida rakupopulatsioonide muutusi inimese munasarja folliikulis erineva viljatuse põhjusega naistel.

Uurimisrühma kompetentside tutvustus

Reproduktiivbioloogia uurimisrühm on keskendunud eelkõige naisepoolse viljatuse molekulaarsete tekkepõhjuste ja diagnostika võimaluste uurimisega.

Uurimisteema jaguneb valdavalt kaheks:

- a. Inimese munasarja bioloogia ja munasarjapõhise viljatuse uurimine
- b. Inimese emaka limaskesta bioloogia uurimine ning embrüo pesastumise häirete põhjuste tuvastamine

Koostööd tehakse kõikide Eesti viljatusravi kliinikutega ning Tervisetehnoloogiate Arenduskeskusega. Meetoditena kasutatakse kaasaegseid geeniekspressiooni ja rakupopulatsioonide kirjeldamise suundi: süvasekveneerimine, ühe raku analüüsid, funktsionaalsed katsed rakuliinides ja primaarsete rakkude kultuuris jne. Saadud andmeid analüüsitakse ja tulemusi modelleeritakse bioinformaatiliste algoritmide abil.

Uurimisrühma lõppenud aasta rahvusvahelisel tasemel väljapaistvad teadustulemused.

Teadusartikkel: „Uterine fluid proteins for minimally invasive assessment of endometrial receptivity.“ Kasvandik S, Saarma M, Kaart T, **Rooda I**, **Velthut-Meikas A**, Ehrenberg A, Gemzell K, Lalitkumar PG, Salumets A, Peters M. J Clin Endocrinol Metab. 2019 Sep 12. pii: dgz019. doi: 10.1210/clinem/dgz019.

Konverentsi abstrakt: „Small non-coding RNA profiling from single adult follicles of different stages: proof of concept.“ **Rooda I**, Wagner M, Damdimopoulou P, Smolander OP, Salumets A, **Velthut-Meikas A**. The 6th World Congress of the International Society for Fertility Preservation, November 14-16th, 2019, New York, NY, USA.

Täiendav info

uurimisrühma seotus AAK prioriteetse suunaga (kuni kaks olulisemat suunda);

uurimisrühma tegevusega seotud teadusvaldkond – kuni kaks [alamvaldkonna koodi Frascati Manuali teadusvaldkondade ja -erialade klassifikaatori](#)¹ alusel;

3. Arsti ja terviseteadused, 3.4. Meditsiiniline biotehnoloogia

1 – Loodusteadused, 1.6 – Bioteadused

Uurimisrühma liikmete riiklikul ja rahvusvahelisel tasemel olulised tunnustused lõppenud aastal;

Projekti rahastus EASI Genomics konsortsiumilt.

Projekti rahastus Eesti Teadusagentuurilt aastaks 2020.

Uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös lõppenud aastal.

Koostöö Tervisetehnoloogiate Arenduskeskuse AS-iga projekti EU825100 (EU825100) "Female Reproductive toxicity of EDCs: a human evidence-based screening and Identification Approach (1.01.2019–31.12.2023)" raames.

Info uurimisrühma rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevuse kohta:

Kus käimasolevate projektide/lepingute tulemusi (väljatöötatud tehnoloogiat, uudseid lahendusi ja kompetentse) saab rakendada.

Diagnostikameetodite arendamine biomeditsiini, sh eelkõige reproduktiivbioloogia valdkonnas: ülegenoomne geeniekspressiooni analüüs, 1 raku analüüs, rakuvaba RNA ja DNA analüüs kehavedelikest. Bioinformaatilise töövoore arendamine suuremahuliste ülegenoomsete andmete analüüsiks.

¹ <https://www.etis.eu/Portal/Classifiers/Details/ac88df15-7410-4edb-807b-4766f6702074>

Viited

- Rooda, I. 2015. *Identification of target genes of microRNAs hsa-miR-548ba and hsa-miR-7973 in human ovarian granulosa cell line KGN*. Master of Science (MSc) Master's thesis, Tallinn University of Technology.
- Velthut-Meikas, A., Simm, J., Tuuri, T., Tapanainen, J. S., Metsis, M. & Salumets, A. 2013. Research resource: small RNA-seq of human granulosa cells reveals miRNAs in FSHR and aromatase genes. *Mol Endocrinol*, 27, 1128-1141.

REPRODUKTIIVBIOLOOGIA UURIMISRÜHM

Research Group of Reproductive Biology

Juht: dotsent Agne Velthut-Meikas. PhD. TTÜ KBI dotsent alates 01.01.2017. E-mail:

agne.velthut@taltech.ee

Uurimisteema tutvustus

Viljatus on ülemaailmne probleem, millel on nii meditsiiniline, sotsioökonomiline kui ka psühholoogiline mõõde. Euroopa Reproduktiivbioloogia ja Embrüoloogia Seltsi hinanngul vajab meditsiinilist sekkumist oma bioloogilise järglase saamiseks umbes 15% paaridest ning see protsent ei sõltu maailmajaost ega majandustasemest (www.eshre.eu). Enim kasutatud leidnud meetod viljatuse probleemi lahendamiseks on kehaväline viljastamine (*in vitro fertilization* e IVF), mille käigus munarakk ja seemnerakk viiakse kokku katseklaasis ning tekkinud embrüo siiratakse tagasi emakasse. Selle meetodi tulemuslikkus on paraku vaid 30-35% protsenti, mis annab tunnistust, et praegused teadmised inimese reproduktiivbioloogiast ei ole täielikud.

Reproduktiivbioloogia uurimiserühm on keskendunud eelkõige naisepoolsele viljatusele ja uurib munasarjas toimuvaid bioloogilisi protsesse. Peamiseks eesmärgiks on kirjeldada rakkudevahelisi molekulaarseid interaktsioone munasarjas ning leida faktorid, mis võimaldaksid eristada arenguvõimelist munarakku hukkumisele määratudest. Uurimistöös kasutatakse muuhulgas kaasaegseid ülegenoomseid tehnoloogiaid nagu süvasekveneerimine, proteoomika, süsteemibioloogia andmeanalüüsi meetodid jpm. Koostööd tehakse kõikide Eesti viljatusravi kliinikutega, kelle abiga kogutakse bioloogilist materjali (munasarja granulosa rakud, munasarja biopsiad, follikulaarvedelik, vereproovid) viljakatelt ja viljatutelt naistelt.

2019. aastal jätkus teadustegevus, mis põhines Agne Velthut-Meikase publikatsioonis (Velthut-Meikas et al., 2013) ja Ilmatar Rooda magistritöös (Rooda, 2015) saadud tulemustel. Uuriti mikroRNade sihtmärkgeene ning nende rolle ovulatsioonieeles munasarja folliikulis. Rühmaga liitus tööstusdoktorant Kristine Roos, et uurida rakupopulatsioonide muutusi inimese munasarja folliikulis erineva viljatuse põhjusega naistel.

Uurimiserühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Ilmatar Rooda, MSc, doktorant.

Kristine Roos, MSc, doktorant.

Birgitta Kaselt, BS, magistrant.

Robyn-Stefany Keif, BS, magistrant.

Uurimiserühma tegevust iseloomustavad võtmesõnad (keywords), minimaalselt kolm.

Reproduktiivbioloogia, viljatus, bioinformaatika

Uurimisrühma kompetentside tutvustus

Reproduktiivbioloogia uurimisrühm on keskendunud eelkõige naisepoolse viljatuse molekulaarsete tekkepõhjuste ja diagnostika võimaluste uurimisega.

Uurimisteema jaguneb valdavalt kaheks:

- c. Inimese munasarja bioloogia ja munasarjapõhise viljatuse uurimine
- d. Inimese emaka limaskesta bioloogia uurimine ning embrüo pesastumise häirete põhjuste tuvastamine

Koostööd tehakse kõikide Eesti viljatusravi kliinikutega ning Tervisetehnoloogiate Arenduskeskusega. Meetoditena kasutatakse kaasaegseid geeniekspressiooni ja rakupopulatsioonide kirjeldamise suundi: süvasekvenerimine, ühe raku analüüsid, funktsionaalsed katsed rakuliinides ja primaarsete rakkude kultuuris jne. Saadud andmeid analüüsitakse ja tulemusi modelleeritakse bioinformaatiliste algoritmide abil.

Uurimisrühma lõppenud aasta rahvusvahelisel tasemel väljapaistvad teadustulemused.

Teadusartikkel: „Uterine fluid proteins for minimally invasive assessment of endometrial receptivity.“ Kasvandik S, Saarma M, Kaart T, **Rooda I**, **Velthut-Meikas A**, Ehrenberg A, Gemzell K, Lalitkumar PG, Salumets A, Peters M. J Clin Endocrinol Metab. 2019 Sep 12. pii: dgz019. doi: 10.1210/clinem/dgz019.

Konverentsi abstrakt: „Small non-coding RNA profiling from single adult follicles of different stages: proof of concept.“ **Rooda I**, Wagner M, Damdimopoulou P, Smolander OP, Salumets A, **Velthut-Meikas A**. The 6th World Congress of the International Society for Fertility Preservation, November 14-16th, 2019, New York, NY, USA.

Täiendav info

uurimisrühma seotus AAK prioriteetse suunaga (kuni kaks olulisemat suunda);

uurimisrühma tegevusega seotud teadusvaldkond – kuni kaks [alamvaldkonna koodi Frascati Manuaali teadusvaldkondade ja -erialade klassifikaatori](#)² alusel;

3. Arsti ja terviseteadused, 3.4. Meditsiiniline biotehnoloogia

1 – Loodusteadused, 1.6 – Bioteadused

Uurimisrühma liikmete riiklikul ja rahvusvahelisel tasemel olulised tunnustused lõppenud aastal;

Projekti rahastus EASI Genomics konsortsiumilt.

Projekti rahastus Eesti Teadusagentuurilt aastaks 2020.

Uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös lõppenud aastal.

Koostöö Tervisetehnoloogiate Arenduskeskuse AS-iga projekti EU825100 (EU825100) "Female Reproductive toxicity of EDCs: a human evidence-based screening and Identification Approach (1.01.2019–31.12.2023)" raames.

Info uurimisrühma rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevuse kohta:

- **uurimisrühma senised rakendused ettevõtluses, majanduses, ühiskonnas (viited projektidele, lepingutele, uudistele vms);**
- **kus käimasolevate projektide/lepingute tulemusi (väljatöötatud tehnoloogiat, uudseid lahendusi ja kompetentse) saab rakendada.**

Diagnostikameetodite arendamine biomeditsiini, sh eelkõige reproduktiivbioloogia valdkonnas: ülegenoomne geeniekspressiooni analüüs, 1 raku analüüs, rakuvaba RNA

² <https://www.etis.eu/Portal/Classifiers/Details/ac88df15-7410-4edb-807b-4766f6702074>

ja DNA analüüs kehavedelikest. Bioinformaatilise töövoore arendamine suuremahuliste ülegenoomsete andmete analüüsiks.

Viited

- Rooda, I. 2015. *Identification of target genes of microRNAs hsa-miR-548ba and hsa-miR-7973 in human ovarian granulosa cell line KGN*. Master of Science (MSc) Master's thesis, Tallinn University of Technology.
- Velthut-Meikas, A., Simm, J., Tuuri, T., Tapanainen, J. S., Metsis, M. & Salumets, A. 2013. Research resource: small RNA-seq of human granulosa cells reveals miRNAs in FSHR and aromatase genes. *Mol Endocrinol*, 27, 1128-1141.
-

Research group of reproductive biology

Principal Investigator of the research group: Agne Velthut-Meikas, PhD. Department of Chemistry and Biotechnology, associate professor since 01.01.2017. E-mail: agne.velthut@taltech.ee

Members of the research group;

- Ilmatar Rooda, MSc, PhD student.
- Kristine Roos, MSc, PhD student.
- Birgitta Kaselt, BS, master's student.
- Robyn-Stefany Keif, BS, master's student.

Keywords;

Reproductive biology, infertility, bioinformatics

Description of Research field

Infertility is a world-wide problem with medical, socio-economical as well as psychological aspects. According to the European Society of Human Reproduction and Embryology medical intervention is sought for by 15% of couples who wish to conceive their biological offspring (www.eshre.eu). This rate does not differ by countries. The most widely used method for helping couples with infertility problems is *in vitro* fertilization (IVF). During this procedure, the oocyte and sperm cells are mixed in a cell culture dish and the developing embryos are thereafter transferred back to the uterus. However, the success rate of this method is only about 30-35%, meaning that the general knowledge of human reproductive biology is far from complete.

The research group of reproductive biology is mainly focused on the problems of female infertility and we investigate the biological processes in human ovary. Our main goal is to describe intercellular molecular interactions in the ovary and to find factors that would aid in discriminating between viable and non-viable oocytes. Various genome-wide high-throughput technologies are used in our research: next-generation sequencing, proteomics and data analysis methods in the field of systems biology to mention a few. We collaborate with all infertility clinics in Estonia in order to collect biological samples (ovarian granulosa cells, ovarian biopsies, follicular fluid, and blood samples) from fertile and infertile women.

In 2019 our group carried on research based on the published data by Agne Velthut-Meikas (Velthut-Meikas et al., 2013) and the master's thesis of Ilmatar Rooda (Rooda, 2015). Primarily, the target genes of selected microRNAs and their roles in pre-ovulatory ovarian follicle were investigated. Kristine Roos, an industrial doctoral student, joined the team to investigate the changes in ovarian follicular cell populations in women with different etiologies of infertility.

Description of competences

The research group of reproductive biology is mainly focused on investigating the molecular origins of female infertility and the possibilities for diagnostics in the field.

Our research subjects can be divided into 2 categories:

- a. Research on human ovary and related etiologies of infertility
- b. Research on human endometrium and investigating the molecular disturbances in embryo implantation process.

We collaborate closely with all infertility clinics in Estonia as well as with the Competence Center on Health Technologies.

We use modern gene expression and cell population characterization methods: next generation sequencing, single cell technologies, functional assays in cell-line and primary cell culture models etc. The acquired data is analysed and modelled by bioinformatic algorithms.

International research outcomes.

Original research publication: „Uterine fluid proteins for minimally invasive assessment of endometrial receptivity.“ Kasvandik S, Saarma M, Kaart T, **Rooda I, Velthut-Meikas A**, Ehrenberg A, Gemzell K, Lalitkumar PG, Salumets A, Peters M. J Clin Endocrinol Metab. 2019 Sep 12. pii: dgz019. doi: 10.1210/clinem/dgz019.

Conference abstract: „Small non-coding RNA profiling from single adult follicles of different stages: proof of concept.“ **Rooda I**, Wagner M, Damdimopoulou P, Smolander OP, Salumets A, **Velthut-Meikas A**. The 6th World Congress of the International Society for Fertility Preservation, November 14-16th, 2019, New York, NY, USA.

Supplementary information

- uurimisrühma seotus AAK prioriteetse suunaga (kuni kaks olulisemat suunda);
- uurimisrühma tegevusega seotud teadusvaldkond – kuni kaks [alamvaldkonna koodi Frascati Manuaali teadusvaldkondade ja -erialade klassifikaator](#)³ alusel;

3. Medical and health sciences, 3.4. Medical biotechnology

1. Natural Sciences, 1.6. Biological sciences

International recognition;

Project funding from EASI Genomics consortium.

Project funding from Estonian Research Council for year 2020.

Participation in international projects.

Collaboration with the Competence Center on Health Technologies in the following international project: EU825100 (EU825100) "Female Reproductive toxicity of EDCs: a human evidence-based screening and Identification Approach (1.01.2019–31.12.2023)" raames.

Info uurimisrühma rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevuse kohta:

- uurimisrühma senised rakendused ettevõtluses, majanduses, ühiskonnas (viited projektidele, lepingutele, uudistele vms);
- kus käimasolevate projektide/lepingute tulemusi (väljatöötatud tehnoloogiat, uudseid lahendusi ja kompetentse) saab rakendada.

³ <https://www.etis.eu/Portal/Classifiers/Details/ac88df15-7410-4edb-807b-4766f6702074>

Development of diagnostic methods for biomedicine, especially reproductive medicine: genome-wide gene expression analysis, single cell technologies, cell-free DNA and RNA measurements from body fluids. Development of bioinformatic pipelines for the analysis of high-throughput genome-wide data.

SUPRAMOLEKULAARSE KEEMIA UURIMISRÜHM

Uurimisrühma juht: [Aav, Riina](#), professor,
riina.aav@taltech.ee

Akadeemilised töötajad, sh järel doktor ja doktorandid:

[Borovkov, Victor](#) - vanemteadur;

[Parve, Omar](#) - vanemteadur;

[Kananovich, Dzmitry](#) - vanemteadur;

[Kudrjašova, Marina](#) - dotsent;

[Prigorchenko, Elena](#) - teadur;

[Ustrnul, Lukaš](#) – teadur (järel doktor);

[Kaabel, Sandra](#) – doktorant (kaitses 25.01.2019);

[Mishra, Kamini](#) – doktorant;

[Peterson, Anna](#) – doktorant;

[Dalidovich, Tatsiana](#) – doktorant;

[Shalima, Tatsiana](#) – doktorant;

Konrad, Nele – doktorant;

[Ludvig, Mari-Liis](#) – doktorant



Uurimisrühma tegevust iseloomustavad võtmesõnad: supramolekulaarne keemia, makrotsükliid, retseptorid, võõrustaja-külaline kompleksid, molekulaarsed mahutid, kiraalsus, orgaaniline süntees, keemiline analüüs, tuumamagnetresonants spektroskoopia, monokristall röntgen-difraktsioonanalüüs, spektroskoopia, UV-vis, FS, CD, VCD, NMR.

Uurimisrühma tutvustus:

Supramolekulaarse keemia uurimisrühm tegeleb uute käeliste urea- ja suhkrupõhiste ning aromaatsete molekulaarsete mahutite uurimisega. Täpsemalt nende sünteesi, molekulaarsete ja supramolekulaarsete struktuuride ning molekulidevaheliste vastasmõjude iseloomustamisega. Supramolekulaarne keemia läheneb ainete uurimisele komplekselt, hõlmates nii analüütilise, orgaanilise kui ka füüsikalise keemia valdkondi. Meie poolt uuritavaid ühendeid võib vaadelda kui põhjata ja kaaneta tünnikesi, milles väikesed molekulid püsivad sees elektrostaatiliselt ja geomeetriliselt sobivuse tõttu ning ei ole kovalentselt seotud. Uurime kukurbituriilide perekonda kuuluvaid makrotsükliid – poolkukurbituriile, tsüklodektriinide analooge ja kaliksareenide perekonda kuuluvaid resortsiareene. Makrotsükliidilised võõrustaja-molekulid on rakendatavad materjalitehnoloogias uute omadustega materjalide, hüdrogeelide ja kapslite valmistamisel, samuti on näidatud nende sobivust selektiivsel ravimite transpordil. Meie otsime nendele rakendust uute sensorite loomisel. Uute mahutite disaini abil on võimalik välja töötada uusi rakendusi nii materjali- ja keskkonnateaduses, kui ka toidu-, farmaatsia- ning põllumajandustööstuses.

Valitud teaduspublikatsioonid:

- Ustrnul, L.; Kaabel, S.; Burankova, T.; Martõnova, J.; Adamson, J.; Konrad, N.; Burk, P.; Borovkov, V.; Aav, R. (2019). Supramolecular chirogenesis in zinc porphyrins by enantiopure hemicucurbit[n]urils (n = 6, 8). *Chemical Communications*. **2019**, 55, 14434-14437.

- Prigorchenko, E., Kaabel, S., Narva, T., Baškiri, A., Fomitšenko, M., Adamson, J., Järving, I., Rissanen, K., Tamm, T., Aav, R. Formation and trapping of the thermodynamically unfavoured inverted-hemicucurbit[6]uril *Chemical Communications*. **2019**, 55, 9307.
- Kaabel S., Stein R. S., Fomitsenko M., Jarving I., Friscic T., Aav R., Size-control by anion templating in mechanochemical synthesis of hemicucurbiturils in the solid state, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 6230–6234. Tagakaanepilt: *Angew. Chem. Int. Ed.* 58/2019
- Kaabel, S.; Adamson, J.; Topic, F.; Kiesilä, A.; Kalenius, E.; Öeren, M.; Reimund, M. Prigorchenko, E.; Löökene, A.; Reich, H. J.; Rissanen, K.; Aav, R. Chiral hemicucurbit[8]uril as an anion receptor: selectivity to size, shape and charge distribution *Chemical Science*, **2017**, 8, 2184.
- **Peatükk raamatus** *Comprehensive Supramolecular Chemistry II* (Atwood, J. L., (ed.), vol. 3 (volume ed. Rissanen, K.),: Aav, R.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M. Cucurbiturils: Synthesis, Structures, Formation Mechanisms, and Nomenclature. **2017** pp. 203–220

Teadusprojektid:

- H2020-FETOPEN, 828779, INITIO “INnovative chemical sensors for enantioselective detection of chiral pollutants” (period 01.01.2019- 31.12.2021), Tallinna Tehnikaülikooli uurimisgrupi juht: Riina Aav;
- PRG399, Supramolekulaarsed kohandatavad kiraalsuse sensorid, (period 01.01.2019-31.12.2023), uurimisrühma juht Riina Aav;
- COST CA18112 - Mechanochemistry for Sustainable Industry (võrgustiku juhtkomitee liige ja Eesti esindaja: Riina Aav, period 05.12.2018-12.11.2022).

Lõppenud aasta rahvusvahelisel tasemel väljapaistvad teadustulemused:

1) Mehhanokeemiliste meetodite välja töötamine mall-molekulide abil oligomeersetel makrotsüklite tekkeks. Molekulide iseorganiseerumise indutseerimine tahkes faasis. Avaldatud teadusartiklina: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 6230–6234. Ajakirja poolt ära märgitud kui „Very Important Paper“ ja kaaneillustratsiooniga.

2) Hemikucurbituriilide selektiivsete sünteesimeetodite välja töötamine. Ebasabiilsete hemikucurbituriilide tekke indutseerimine madalate mall-ioonide kontsentratsioonide juures. Esimese pööratud monomeeriga hemikucurbituriili süntees ning selle tekke mehhanismi selgitamine. Avaldatud teadusartiklina: *Chemical Communications*. **2019**, 55, 9307.

3) Näitasime kiraalsuse induktsiooni tasapinnalistele porfüriinidele kiraalsete hemikucurbituriilide abil ringdikroismi signaali tekke kaudu. Selgus, et hemikucurbituriilid on võimelised moodustama stabiilseid komplekse ka väljaspool makrotsükli sisemust. Näitasime interaktsiooni Lewise hapetega ning kuni samaaegselt kuni kolme porfüriini seostumist makrotsüklite erinevate külgedega. Avaldatud teadusartiklina: *Chemical Communications*. **2019**, 55, 14434-14437

Täiendav info:

3.1. Seotus AAK prioriteetsete suundadega:

Suund 1. 1. Targad ja energiatõhusad keskkonnad

Suund 2. 3. Keskkonnaressursside väärastamine

3.2. uurimisrühma tegevusega seotud teadusvaldkond – Frascati Manuaali teadusvaldkondade ja -erialade klassifikaatori alusel – 1.4 ja 2.10;

3.3. uurimisrühma liikmete riiklikul ja rahvusvahelisel tasemel olulised tunnustused lõppenud aastal

Rahvusvahelise tasemel oluline tunnustus on rühma juhi kutsumine suulisi ettekandeid pidama 2019 aastal:

- 6th International Conference on Cucurbiturils ICCB2019, Ohio, USA;
- European Meeting on Physical Organic Chemistry (EMPOC), Spala, Poland.

3.4. uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös lõppenud aastal.

Uurimisrühma juht kutsuti panustama kahe konverentsi korraldamisse paneelijuhina 2019 aastal:

- 6th International Conference on Cucurbiturils ICCB2019, Ohio, USA
- European Meeting on Physical Organic Chemistry (EMPOC), Spala, Poola

Uurimisrühma juht kutsuti alates 2019 aastast erialase teadusajakirja toimetuse kolleegiumisse Taylor & Francis "Supramolecular Chemistry"

Uurimisrühma juhti kutsuti korduvalt retsenseerima Poola Teadusagentuuri uurimisgrante (National Science Center, Poland)

3.5. Info uurimisrühma rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevuse kohta:

Uurimisrühma panustab uute tehnoloogiate välja töötamise üleeuroopalises teadlaste ja ettevõtjate konsortsiumis: <https://www.project-initio.eu/>

Name of research group: **Supramolecular chemistry group**

Principal Investigator: [Aav, Riina](#), professor, riina.aav@taltech.ee

Academic staff, (incl. Postdoc and PhD students):

[Borovkov, Victor](#) – senior researcher;

[Parve, Omar](#) - senior researcher;

[Kananovich, Dzmitry](#) - senior researcher;

[Kudrjašova, Marina](#) - docent;

[Prigorchenko, Elena](#) - researcher;

[Ustrnul, Lukaš](#) – researcher (postdoc);

[Kaabel, Sandra](#) – PhD student (defended 25.01.2019);

[Mishra, Kamini](#) – PhD student;

[Peterson, Anna](#) – PhD student;

[Dalidovich, Tatsiana](#) – PhD student;

[Shalima, Tatsiana](#) – PhD student;

Konrad, Nele – PhD student;

[Ludvig, Mari-Liis](#) – PhD student



Keywords associated with the research group: supramolecular chemistry, macrocycles, receptors, host-guest complexes, molecular containers, chirality, nuclear magnetic resonance spectroscopy, single-crystal X-ray diffraction analysis, spectroscopy, UV-vis, FS, CD, VCD, NMR.

Supramolecular chemistry research group is interested in study of chiral molecular containers, constructed from urea, sugar and aromatic monomers. More specifically we are studying their synthesis, molecular and supramolecular structure and their interactions. Supramolecular chemistry unites approaches of analytical, organic and physical chemistry to study matter in a broader way. Molecular containers are able to form host-guest complexes with other molecules and in a special case of inclusion complexes, the small molecule is fully encapsulated by the macrocycle. These complexes are held together by non-covalent interactions. We are mainly interested in macrocycles that belong to cucurbituril family, the hemicucurbiturils and calixarene derivatives. These type of macrocycles have been applied in material science for example in molecular Velcro, hydrogels and –capsules as well as

in biomedical applications for selective drug-delivery. The first enantiomerically pure members of cucurbituril family were prepared by our group. We explore the potential of new molecular containers in material and environmental science for sensing.

Selected publications:

- Ustrnul, L.; Kaabel, S.; Burankova, T.; Martõnova, J.; Adamson, J.; Konrad, N.; Burk, P.; Borovkov, V.; Aav, R. (2019). Supramolecular chirogenesis in zinc porphyrins by enantiopure hemicucurbit[n]urils (n = 6, 8). *Chemical Communications*. **2019**, 55, 14434-14437.
- Prigorchenko, E., Kaabel, S., Narva, T., Baškir, A., Fomitšenko, M., Adamson, J., Järving, I., Rissanen, K., Tamm, T., Aav, R. Formation and trapping of the thermodynamically unfavoured inverted-hemicucurbit[6]uril *Chemical Communications*. **2019**, 55, 9307.
- Kaabel S., Stein R. S., Fomitsenko M., Jarving I., Friscic T., Aav R., Size-control by anion templating in mechanochemical synthesis of hemicucurbiturils in the solid state, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 6230–6234. Tagakaanepilt: *Angew. Chem. Int. Ed.* 58/2019
- Kaabel, S.; Adamson, J.; Topic, F.; Kiesilä, A.; Kalenius, E.; Öeren, M.; Reimund, M. Prigorchenko, E.; Lõokene, A.; Reich, H. J.; Rissanen, K.; Aav, R. Chiral hemicucurbit[8]uril as an anion receptor: selectivity to size, shape and charge distribution *Chemical Science*, **2017**, 8, 2184.
- **Peatükk raamatus *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*** (Atwood, J. L., (ed.), vol. 3 (volume ed. Rissanen, K.),: Aav, R.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M. Cucurbiturils: Synthesis, Structures, Formation Mechanisms, and Nomenclature. **2017** pp. 203–220

Research projects:

- H2020-FETOPEN, 828779, INITIO “INnovative chemical sensors for enantioselective detection of chiral pollutants” (period 01.01.2019- 31.12.2021), PI of Tallinn University of Technology team: Riina Aav;
- PRG399, Supramolekulaarsed kohandavad kiraalsuse sensorid, (period 01.01.2019- 31.12.2023), PI Riina Aav;
- COST CA18112 - Mechanochemistry for Sustainable Industry (Estonian MCM: Riina Aav, period 05.12.2018-12.11.2022).

Internationally visible research outcome from year 2019:

- 1) Development of mechanochemical methods for self-assembly of macrocycles via templating in solid state. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 6230–6234. Outlined as „Very Important Paper“ and cover graphics by the journal.
 - 2) Development of selective synthetic methods for hemicucurbiturils and formation and trapping of the thermodynamically unfavoured *inverted*-hemicucurbit[6]uril. *Chemical Communications*. **2019**, 55, 9307.
 - 3) Induction of chirality to planar porphyrins by chiral hemicucurbiturils The observed chirogenic phenomenon opens further prospects to utilize the cycHCs’s cavity available for another guest molecule to modulate induced chirality by formation of more complexed supramolecular systems and other molecular networks for sensing and/or catalytic applications. *Chemical Communications*. **2019**, 55, 14434-14437
-

TAIMEGENEETIKA UURIMISRÜHM

Plant Genetics Research Group

Uurimisrühma juht: Kadri Järve, PhD, vanemteadur (+372 6204427, kadri.jarve@taltech.ee)

Uurimisrühma liikmed:

Irena Jakobson – teadur, PhD;

Hilma Peusha – peaspetsialist, PhD;

Galina Sokolova – vanemlaborant

Uurimisrühma tegevust iseloomustavad võtmesõnad: põllukultuuride genotüüpiseerimine, eelaretus
(*key words: genotyping, pre-breeding*)

Uurimisrühma kompetentside tutvustus (*competencies*):

Töörühm tegeleb põllukultuuride resistentsusgeneetikaga, uurimisobjektideks on suvi- ja talinisu ning kartul. Oleme liikidevahelise kaugristamise teel saanud introgressiivsed haiguskindlad nisuliinid ja koostöös Tšehhi Eksperimentaalse Botaanika Instituudiga (dr. M. Valarik, dr. J. Šafář) tegeleme jätkuva projektina jahukastekindluse tekkes prevaleerivat rolli omava uudse resistentsusgeeni *QPm.tut.4A* identifitseerimisega. Seda introgressiooni kandev liin on uue sordina registreerimiseks antud riiklikusse sordivõrdlusesse. Samuti tegeleme nisu agronoomiliselt oluliste tunnuste (saagikus, varajasus, haiguskindlus muude seenhaiguste suhtes) parendamisega.

Riiklikus programmis 'Põllukultuuride geneetilise ressursi fenotüübiline ja molekulaarne iseloomustamine' osaleme teraviljasortide ja –liinide molekulaarse analüüsimisega. 2019. aastal oleme genereerinud mitmed parendatud agronoomiliselt omadustega suvi- ja talinisu genotüübid.

*(We study resistance to fungal diseases in spring and winter wheat and potato. In a multi-annual project we are finalising identification of a novel gene for resistance to powdery mildew in a spring wheat line carrying introgressions from *Triticum militinae*. A line carrying *Triticum militinae* introgression is now being tested as a new spring wheat variety.*

In 2019, we have generated several spring and winter wheat lines showing improved agronomic traits (yield, earliness, resistance to several fungal diseases).

Uurimisrühma tähtsamad teadustulemused aastal 2019 (*scientific results from last year*):

Irena Jakobson kaitses oma doktoritöö teemal "Genetic analysis of powdery mildew resistance in an introgression line of wheat",

Riiklikusse sordivõrdlusesse anti meie nisuliin (koostöös Eesti Taimekasvatuse Instituudiga, kus tehti paljundamised)

Saadi mitmed väga perspektiivikad nisuliinid.

(scientific results from last year:

Irena Jakobson defended her PhD thesis entitled "Genetic analysis of powdery mildew resistance in an introgression line of wheat",

A candidate new variety with improved resistance to powdery mildew was generated, several new lines with improved agronomic traits were generated)

Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

Riiklik sordiaretusprogramm, projekt: Molekulaarsete ja koekultuurimeetodite rakendamine sordiaretuses ja taimse materjali analüüsis (2009-2019, juht K. Järve)

Uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (*partners/collaborations*):

Miroslav Valarik, Institute of Experimental Botany, Olomouc, Czech Republic

Jan Šafář, Institute of Experimental Botany, Olomouc, Czech Republic
Anne Ingver, Eesti Taimekasvatuse Instituut (ETKI)
Reine Koppel, Eesti Taimekasvatuse Instituut

Avaldatud artiklid 2019. aastal (2019 scientific publications):

Eve Runno-Paurson, Terje Tähtjärv, Karmen Tõnismann, Hilma Peusha, Aide Tsahkna, Irena Jakobson, Katrin Kotkas, Kadri Järve & Mati Koppel (2019) Foliar resistance to the late blight pathogen *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in a backcross of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Ando, Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 69:7, 631-640, DOI: [10.1080/09064710.2019.1629621](https://doi.org/10.1080/09064710.2019.1629621)

Loetelu uurimisgrupi liikmetest, kes on riiklike T&A-ga seotud otsustuskogude liikmed:

K. Järve, vanemteadur – Eesti Taimekasvatuse Instituudi teadusnõukogu liige

TAIMEVIIRUSTE INTERAKTSIOONID PEREMEESTEGA

Interaction between plant viruses and their hosts

Uurimisrühma juht: Allan Olsper, sihtrahastusega vanemteadur, allan.olsper@ttu.ee

Uurimisrühma liikmed; Kairi Kärblane, insener/spetsialist

Võtmesõnad: taimeviirused, transkriptsiooniline libisemine, peremees-patogeen interaktsioonid

Keywords: plant viruses, transcriptional slippage, host-pathogen interactions

Uurimisrühma tutvustus

Uurimisgrupis tegeletakse taimeviiruste ning nende peremeeste vaheliste interaktsioonide ning dünaamika determinantide uurimisega. Põhiliseks uurimisobjektiks on positiivse polaarsusega RNA genoomiga viiruste sugukonna Potyviridae liikmed. Nimetatud viirused kasutavad geenide avaldamiseks transkriptsioonilist libisemist, mille tulemusel on kindlas kohas osades viiruse genoomides lisatud üks nukleotiid ning modifitseeritud genoomide alusel avalduvad alternatiivsed lugemisraamid. Nende alternatiivsete lugemisraamide produktid on krutsiaalsed viiruse infektsioonitsüklile. Tingituna erinevustest RNA-des kasutatakse modifitseeritud genoomide puhul ilmselt alternatiivseid radasid ka RNA lagundamiseks ning on takistatud nende paljundamine viiruse poolt, võrreldes muutmata RNA genoomidega. Lisaks võib erineda nende RNA-de translatsioon ning pakkimine. Uurimisrühmas uuritakse detailselt transkriptsioonilise libisemise mehhanismi ennast kui ka selle kaudu produtseeritud RNA-de saatust rakkudes. Täiendavalt uuritakse lisaks transkriptsioonilisele libisemisele ka potyviiruste replikatsiooni ning seda, kas peremeesraku poolt kontrollitavad RNA lagundamise protsessid omavad mõju libisemise käigus avalduvate geenide taseme määramises. Lisaks viirustele võimaldab kasutatud meetodikaga analüüsida ka üldisi RNA lagundamise mehhanisme taimerakkudes ning leida (viraalseid) tegureid nende protsesside mõjutamiseks.

Uurimisgrupi temaatika omab otsest rakenduslikku perspektiivi eelkõige taimekaitses ja põllumajanduses. Samas kasutavad sarnast transkriptsioonilist libisemist ka mitmed meditsiiniliselt olulised inimese patogeenid nagu näiteks leetrite, mumps ja Ebola viirus. Sellest lähtuvalt võib viraalsete polümeraaside libisemise, vigaste või eesmärgipäraselt modifitseeritud genoomide esinemissageduste ning vastavate RNA-de sihtkohtade uurimine aidata kaasa viirushaiguste vastu võitlemisele.

Olulised publikatsioonid

Stewart, H.; **Olspert, A.**; Butt, B. G; Firth, A. E (2019). Propensity of a picornavirus polymerase to slip on potyvirus-derived transcriptional slippage sites. The Journal of general virology, 100, 199–205.10.1099/jgv.0.001189.

Interaction between plant viruses and their hosts

Interactions between plant viruses and their hosts in crop protection and agriculture. The research is focused on positive-strand RNA virus family Potyviridae. These viruses utilize the mechanism of transcriptional slippage for gene expression. Transcriptional slippage produces “edited” RNAs with an additional nucleotide at a specific location in RNA and with different coding capacity. These transcripts are also potentially subjects of alternative RNA decay pathways and are excluded from replication by viral polymerase. There may also be differences in the rates of translation and packaging in comparison to unaltered RNAs. In addition we aim to further characterize the details of potyvirus replication and to elucidate if host RNA surveillance pathways have a significant role in maintaining the desired level of gene expression resulting from slippage. This will also increase our knowledge about RNA decay mechanisms in plant cells in general, and the potential viral modulators of these pathways.

The research has may have an impact beyond agriculture and plant science, as a number of medically important human pathogens such as measles, mumps, and Ebola virus also utilize transcriptional slippage. Therefore, in depth understanding of viral polymerase slippage, polymerase error rates, frequencies and destinations of modified genomes may improve our understanding of and ability to fight against viral diseases in general.

Relevant publications

Stewart, H.; **Olspert, A.**; Butt, B. G; Firth, A. E (2019). Propensity of a picornavirus polymerase to slip on potyvirus-derived transcriptional slippage sites. The Journal of general virology, 100, 199–205.10.1099/jgv.0.001189.

Tegevusvaldkonna klassifikaatorid:

1.6 Loodusteadused, Bioteadused; 4.1 Põllumajandusteadused ja veterinaaria, Põllumajandus, metsandus ja kalandus;

AAK suunad: 3. Keskkonnaressursside väärastamine; 1. Targad ja energiatõhusad keskkonnad

TAIM-PATOGEEN INTERAKTSIOONIDE UURIMISRÜHM

Plant-pathogen interactions research group

Uurimisrühma juht: Cecilia Sarmiento, vanemteadur (+372 6204422, cecilia.sarmiento@taltech.ee)

Uurimisrühma liikmete loetelu:

Erkki Truve – professor
Merike Sõmera – vanemteadur
Lenne Nigul – insener
Signe Nõu – insener
Liina Jakobson (järeldoktor)
Eve-Ly Ojangu (doktorant)

Jelena Mõttus (doktorant)
Tatjana Rodina (magistrant)
Katrin Orro (magistrant)
Mihkel Jaan Balodis (magistrant)

Uurimisrühma tegevust iseloomustavad võtmesõnad (*key words*):

Põllumajanduslikud taimehaigused, taimeviirused, RNA vaigistamise supressorid, CRISPR/Cas9, müosiinid, Eesti biomajandus;
Agricultural crop diseases, plant viruses, RNA silencing suppressors, CRISPR/Cas9, myosins, bioeconomy in Estonia.

Uurimisrühma kompetentside tutvustus (*competencies*)

Uurime taim-patogeen interaktsioonide geneetilisi, molekulaarseid ning rakubioloogilisi aspekte. Selleks kasutame peremeestaimedena eelkõige erinevaid kõrrelisi, samuti ka mudeltaimi müürlooka ja tubakaid. Identifitseerime ja iseloomustame kõrrelisi kultuurtaimi nakatavaid viiruseid Eestis ning naabermaades, kasutades uue põlvkonna sekveneerimismeetodeid.

Molekulaar- ja rakubioloogilises uurimistöös kontsentreerume ühele RNA viiruste perekonnale – sobemoviirustele. Uurime sobemoviiruste liike: nende genoomide organisatsiooni, geenide funktsioone, paljunemise, transpordi ja levimise mehhanisme.

Teine uurimissuund on seotud viirusvastase RNA vaigistamise mehhanismiga. Uurime eelkõige multifunktsionaalseid ABCE valke, mis on ka vaigistamise supressorid. ABCE geenide uurimiseks kasutame CRISPR/Cas9 tehnoloogiat. Koostöös Olli-Pekka Smolanderiga analüüsime bioinformaatiliselt ABCE geenide mitmekesisust erinevates taimeliikides.

Oleme pikalt tegelenud taimeraku tsütoskeleti uurimisega, keskendudes müosiinide rollile müürlooga arengus. Sel teemal kaitses Eve-Ly Ojangu eelmisel aastal doktorikraadi ja me ei plaani lähitulevikus sellega jätkata.

Koostöös Meresüsteemide Instituudiga (Inga Lipsuga) uurime Läänemere planktoniliikide mitmekesisust, kasutades taas uue põlvkonna sekveneerimismeetodeid.

Osaleme ka Eesti biomajanduse olukorda ning väljavaateid käsitlevas uuringus (projekti juht on Jaan Kers, Materjali- ja Keskkonnatehnoloogia Instituut).

Keskkonnaagentuuri tellimisel uurime geneetiliste meetoditega huntide arvukust Mandri-Eestis.

Uurimisrühma tähtsamad teadustulemused aastal 2019 (J):

- Doktorant Eve-ly Ojangu kaitses oma doktoritöö teemal "*The roles of class XI myosins in Arabidopsis development*". Oma töös uuris ta evolutsiooni käigus duplitseerunud ja divergeerunud klass XI müosiinigeenide kunstlikult loodud "*knock-out*" liine, et välja selgitada millised müosiinigeenid on transkriptsiooniliselt aktiivsed erinevates kudedes. Selgus müosiinide XI-K, XI-1 ja XI-2 olulisus auksiinide transpordis ja taimede vananemisel.
- Teraviljapõldude viroloogilise uurimistöös raames tuvastasime 10 erinevat viirushaiguste sümptomeid põhjustavat viiruste liiki, nende seas mitmed olulised teraviljapatogeenid ning mitmed seni molekulaarselt kirjeldamata liigid.
- Võrumaalt Meremäelt saadetud proovides tuvastasime väga olulise teraviljapatogeeni *Wheat dwarf virus* olemasolu.
- Molekulaarselt seni kirjeldamata liikide edasiseks uurimiseks järjestasime esmakordselt meie poolt leitud tundmatu tenuiviiruse genoomi. Selle viiruse peremeeste ringi ja siirutajate bioloogilise kirjeldamise käigus suutsime tõestada, et tegemist on 1950ndal bioloogiliselt kirjeldatud liigiga *European wheat striate mosaic virus* (EWSMV), mida levitavad *Javesella pellucida* liigi tirdid ning mis ühtviisi edukalt nakatab erinevaid teraviljataimede liike (nisu, oder, rukis, kaer, tritikaal).

Rahvusvahelise koostöö käigus õnnestus kindlaks teha, et nii sama viirus on olemas ka Rootis ja Norras.

- Lisaks EWSMV genoomile järjestasime ka teise *Javesella pellucida* poolt siirutatava teraviljaviiruse *Oat sterile dwarf virus* (OSDV) genoomi, mis seni oli vaid osaliselt kirjeldatud.
- Kasutades CRISPR/Cas9 meetodikat oleme loonud esimesed müürlooga liinid, kus on konkreetset ABCE geenid modifitseeritud.

Avaldatud artiklid 2019. aastal (2019 scientific publications):

- **Sõmera, M.**; Kvarnheden, A.; Desbiez, C.; Blystad, D.-R.; Sooväli, P.; Kundu, J. K.; Gantsovski, M.; Nygren, J.; Lecoq, H.; Verdin, E.; Spetz, C.; Tamisier, L.; **Truve, E.**; Massart, S. (2020). Sixty Years after the First Description: Genome Sequence and Biological Characterization of European Wheat Striate Mosaic Virus Infecting Cereal Crops. *Phytopathology*, 110, 68–79.10.1094/PHYTO-07-19-0258-FI. Epub ahead of print Nov29, 2019.
- **Sõmera, M.**; **Truve, E.**; Sooväli, P. (2019). First Report of Wheat dwarf virus in Winter Wheat in Estonia. *Plant Disease*.10.1094/PDIS-11-18-2059-PDN.
- **Ojangu, E.** (2019). **The roles of class XI myosins in Arabidopsis development.** TTÜ Press.
- **Sarmiento, C**; **M. Sõmera**; **Truve, E.** *Solemoviruses (Solemoviridae)*. Encyclopedia of Virology, 4th edition: Kate Miklaszewska-Gorczyca and Surya Suriyan (2020). Oxford. Elsevier (in press).

Väliseadlased, kellega on koostöö (international research collaboration):

- Sébastien Massart, Gembloux AgroBio Tech, Université de Liège, Gembloux, Belgium
- Anders Kvarnheden, Department of Plant Biology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden
- Denis Fargette ja Eugénie Hébrard, Institut de recherche pour le développement, Montpellier, France
- Annette Niehl, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Julius Kühn-Institut, Quedlinburg, Germany

Uurimisrühma kohta täiendav info:

Uurimisrühma seotus AAK prioriteetse suunaga:

3. Keskkonnaressursside vääristamine (*valorisation of natural resources*) – uudsed lahendused Eesti maapõue-, loodus- ja tehisressursside säästvaks ja jätkusuutlikuks kasutamiseks.

Uurimisrühma tegevusega seotud Frascati Manuali teadusvaldkonnad:

1.6 Bioteadused (1.6 *Biological sciences*)

4.1 Põllumajandus, metsandus ja kalandus (4.1 *Agriculture, forestry, and fisheries*)

Uurimisrühma liikmed ei ole lõppenud aastal saanud riiklikul ja rahvusvahelisel tasemel olulisi tunnustusi.

Uurimisrühma liikmete osalus välisriikide akadeemiate ja/või muude oluliste TA&I-ga seotud välisorganisatsioonide töös 2019. aastal:

- *International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*, *Solemoviridae* uurimisrühma liikmed (Erkki Truve ja Merike Sõmera).
- *European Plant Science Organization (EPSO)*, *Agricultural technologies Working Group members* (Cecilia Sarmiento ja Erkki Truve)
- COST Action CA 15223 (*Modifying plants to produce interfering RNA*), *Management Committee members* (Cecilia Sarmiento ja Erkki Truve)
- COST Action CA18111 (*Genome editing in plants*), *Management Committee substitutes* (Cecilia Sarmiento ja Liina Jakobson)

Info uurimisrühma rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevuse kohta:

Rakendusteaduslikud projektid, mis on olnud sõlmitud meie uurimisrühmaga:

- ÜRO Keskkonnaprogramm: "Toetus rahvusliku bioloogilise ohutuse raamistiku rakendamiseks Eestis" (2006-2011)
- AS Vähiuuringute Tehnoloogia Arenduskeskus: „miRNA-de tasemete moduleerimine kasvajakudedes“ (2008-2014)
- Eesti Teadusagentuuri RITA programm: „Eesti biomajanduse ning selle sektorite olukorra ja väljavaadete uuring. Ärimudelite väljatöötamine biomajanduse valitud valdkondades“ (2018-2021)
- Keskkonnaagentuur: „Mandri-Eesti hundipopulatsiooni arvukuse geneetiline uuring (2019-2020)
- Eesti Taimekasvatuse Instituut: „Kogutud põlluproovide ettevalmistamine HTS (*High-throughput sequencing*) raamatukogude sünteesiks“ (2019-2020)

Väljatöötatud tehnoloogiad, kompetentsus, mis saab edaspidi kasutada rakendusliku väljundiga teadus- ja arendustegevuses:

Viiruste monitooring kasutades süvasekveneerimist võimaldab nii põllumajanduses, metsanduses kui ka aianduses välja selgitada oluliste majanduslike mõjudega ohtlikke taimehaigusi.

CRISPR/Cas9 tehnoloogia ja teised geenitehnoloogia meetodid, kus meie kompetentsus on heal tasemel, võimaldavad osaleda projektides, mis on seotud erinevate organismidega ja ökosüsteemidega, mitte ainult taimedega või nende patogeenidega.

Interaction between plant viruses and their hosts

*We study genetic, molecular and cellular aspects of plant-pathogen interactions. As experimental host plant species, we use predominantly different cereals as well as the model plant *Arabidopsis thaliana* and various tobacco species. We identify and characterize, using next-generation sequencing techniques, viruses infecting cereal crops in Estonia and neighbouring countries.*

In our molecular and cell biology research, we concentrate on one RNA virus genus – sobemoviruses – and study their genome organizations, functions of genes, mechanisms of propagation, transport and spread.

Another important research direction is devoted to antiviral RNA silencing mechanism, especially to the multifunctional ABCE proteins that act as suppressors of RNA silencing. Making use of CRISPR/Cas9 technology, we study different ABCE genes. In collaboration with Olli-Pekka Smolander, we analyse bioinformatically the diversity of ABCE genes in different plant species.

*We have studied the plant cytoskeleton for a long time, mainly the role of myosins in *Arabidopsis* development. Eve-Ly Ojangu PhD thesis, defended last year, dealt with this subject and we are not going to continue with this research field in the near future.*

In collaboration with the Marine Systems Institute (Inga Lips) we are determining the biodiversity of plankton in the Baltic Sea, using next-generation sequencing techniques.

We participate in the study on the current state and future perspectives of Estonian bioeconomy (the project leader is Jaan Kers, from the Department of Material and Environmental Technology).

Using genetic tools, we are studying the wolf population in Estonian mainland (contract with the Environment Agency).

Scientific results from last year

- *Eve-Ly Ojangu defended her PhD thesis entitled „The roles of class XI myosins in *Arabidopsis* development“. Using knock-out *Arabidopsis* lines, where specific myosin class XI genes were*

deleted, she studied their activity in different tissues at the transcriptional level. Myosin XI-K, XI-1 and XI-2 turned to be important for the transport of auxin and in the process of plant senescence.

- In the frame of our virological studies of cereal crop fields, we identified 10 different symptoms-causing virus species, among them important crop pathogens and several species that had not been yet characterized at the molecular level.
- In the samples taken from Meremäe (Võru), we identified Wheat dwarf virus, a very important cereal crop pathogen.
- For further studies of yet non-described species, we sequenced the genome of a novel tenuivirus found by us. We proved that this virus matched to the species European wheat striate mosaic virus (EWSMV) found in 1950s. We found that EWSMV is distributed by *Javesella pellucida* and can equally successfully infect different crop-species (wheat, barley, rye, oat, triticale). We then identified the same virus in Sweden and Norway.
 - In addition to EWSMV genome, we have sequenced Oat sterile dwarf virus (OSDV) genome that was only partially characterized. This virus also infects cereals and *J. pellucida* acts as its vector.
 - Using CRIPR/Cas9 technology, we have obtained the first *Arabidopsis* lines containing edited ABCE genes.

TOIDUTEADUSE JA -TEHNOLOOGIA UURIMISGRUPP (Taltech toidu-uuringud)

Research group of food science and technology (TalTech Food Research)

Uurimisrühma juht Toomas Paalme. Professor, 620 2954, toomas.paalme@ttu.ee

Akadeemilisel ametikohaltöötavate uurimisrühma liikmete loetelu

Laos, Katrin, dotsent

Sarand, Inga, vanemteadur/dotsent

Traksmäa, Anna, vanemlektor

Vene, Kristel, vanemlektor

Pitsi, Tagli, vanemlektor

Lõugas, Tiina, lektor

Nisamedtinov, Ildar, sihtrahastusega vanemteadur

Kuldjärv, Rain (külalislektor)

Doktorandid

Kivima, Evelin; Kõrge, Kristi; Rosend, Julia; Taivosalo, Anastassia

Uurimisrühma tegevust iseloomustavad võtmesõnad (key words)

Toit, toitumine, toidumikroobid, fermenteerimine, toidutehnoloogia, toidu-füüsika, toidu analüüs

Food, nutrition, food microbes, food technology, food physics, fermentation, food analysis

TalTech toidu-uuringud tutvustus

Eesmärgid ja uurimistemaatika

1. Uurimisgrupi eesmärgiks on läbi teadus- ja rakendusuuringute ning õpetustegevuse aidata muuta Eesti inimese toitumist tervislikumaks. Toidud peavad olema maitavad ja süües õigetes kogustes

tervist toetavad. Analüüsimise toidusüsteemides toimuvaid protsesse alates toormest, selle käitlemisest kuni inimese tarbimiseelustest ja seedimiseni. Selleks rakendame nii sensoorseid, bioloogilisi, keemilisi, füüsikalisi ja matemaatilisi uurimisvõtteid. Uurimisvõtete paljususe ja kaetuse oma ala ekspertidega võimaldab lahendada laia ringi toidu käitlejate ette kerivateid probleeme.

2. Teaduspõhine toidutööstuse protsesside arendamine suurema väärtuslisandiga tootmise suunas. Tegeleme protsessidega, mis võimaldavad parandada toodete kvaliteeti, suurendada protsessi saagiseid, ning võimaldada kuluefektiivsemat tootmist. Samuti uurime ka uudsete alternatiivsete toidutoormete kasutamist.

Uurimismeetodid

Uuringute läbiviimiseks kasutame komplekselt ja vastavalt vajadusele:

Sensoorsed meetodid s.h. SPME-GC/MS-olfaktomeetria toidu maitse ja aroomi kvantitatiivsel analüüsil ning tarbija eelistusuuringutes.

Bioloogilisi meetodeid mikroobikoosluste uuringutes toidus, käitlemisettevõtetes, inimese seedetraktis ja muudes toidusüsteemides ning nendega seotud probleemide lahendamisel. Näiteks, toitumise ja seedetrakti mikrobiota vaheliste seoste leidmiseks või jämesoolebakterite kiudainete ainevahetuse uurimiseks, aga ka toidus olevate mikroorganismide analüüsil.

Klassikalise biotehnoloogia meetodeid, s.h. kaasaegseid mikroorganismide kultiveerimismeetodeid kääritusprotsessides kasutatavate starterkultuuride omaduste kirjeldamisel, starterkultuuride tootmisprotsessi optimeerimisel ning toidutööstuses kasutatavate lisaainete mikroobse sünteesi optimeerimisel. Kasutame nn. muutuvstaatseid läbivoolukultuure, mis võimaldavad suure läbilaskevõimega uurida keskkonnaparameetrite mõju mikroobirakkude kasvule ja huvipakkuvate ainete sünteesi saagistele.

Füüsikalisi-keemilisi meetodeid kasutame komplekselt nii toidu koostise kui ka sellega seotud protsesside analüüsil. Kasutame kaasaegseid instrumentaalanalüütika meetodeid, s.h. HPLC, GC, UPLC-MS(/MS). Kvantitatiivsuse parandamiseks kasutame sisestandardeid s.h. isotoopmärgistatud. Toidu mikrostruktuuri uuritakse, valgus- ja polarisatsioonimikroskoobiga, voolavusomadusi viskosimeetriga ning mehaanilisi omadusi tekstuuri analüsaatoriga.

Matemaatilised meetodid leiavad kasutust toiduga toimuvate protsesside statistilisel analüüsil ning fermentatsiooniprotsesside modelleerimisel.

Uurimisteemad ja lahendatavad probleemid

Allpool on toodud olulisemad uurimisgrupi teemad. Põhiosalejad erinevates uuringutes kajastuvad viimase perioodi põhiartiklite autorite nimistutes.

- *Seedetrakti mikrobiota seosed inimese toitumise, ainevahetuse ja tervisega.*

Kaasaegne toiduainete tootmine ja muud keskkonnategurid on põhjustanud olulisi muutusi meie seedetrakti mikrobiotas. Terve mikrobiom on aluseks heale tervisele ja oluliselt mõjutatav toitumisega. Toitumine aga on seotud toiduainete tootmisega. Mikrobiota ja toitumise ning inimese poolt mitteseeduvate toidukomponentide (peamiselt kiudainete) lagundamise ja bakterite vaheliste seoste leidmine võimaldab välja töötada personaalseid toitumiskavasid ja arendada toiduainete tehnoloogiaid, mis aitavad vältida düsbioosi seedetraktis ning seeläbi parandada inimese tervist ja heaolu.

Publikatsioonid:

Adamberg, K; Kolk, K; Jaagura, M; Vilu, R; Adamberg, S (2018). The composition and metabolism of faecal microbiota is specifically modulated by different dietary polysaccharides and mucin: an isothermal microcalorimetry study. *Beneficial Microbes*, 1–14. [10.3920/BM2016.0198](https://doi.org/10.3920/BM2016.0198).

Adamberg, K., Adamberg, S. (2018). Selection of fast and slow growing bacteria from fecal microbiota using continuous culture with changing dilution rate. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 29 (1), #1549922. [10.1080/16512235.2018.1549922](https://doi.org/10.1080/16512235.2018.1549922).

- *Vitamiin ko-ensüümide süntees ja kättesaadavus toitumisahelas.*

Inimese seedetraktis toimub lihtvitamiinide (näiteks tiamiini, riboflaviini) absorptsioon, toidutoormes on aga põhiosa B vitamiine mitteabsorbeeritavate liitvitamiinide (ko-ensüümide, vitamiin glükosiidide) kujul. Viimased muutuvad osaliselt toidu töötlemise ja seedimise käigus lihtvitamiinideks. Milline on lihtvitamiinide osakaal toidusedelis ja kuivõrd mõjutab see vitamiinide omastatavust inimese seedetraktis pole selge. Postuleeritakse, et inimese võime kasutada toortoitu, sh. muundada liitvitamiinid lihtvitamiinideks on evolutsiooni käigus oluliselt degradeerunud ja seetõttu tasuks toitumissoovitustes üle minna lihtvitamiinidele. Selleks oleme välja töötanud UPLC-MS-sisestandard meetodi, mis võimaldab määrata toidus üheaegselt erinevaid B-rühma lihtvitamiine.

Publikatsioonid:

Paalme, Toomas; Vilbaste, Allan; Kevvai, Kaspar; Nisamedtinov Ildar (2017). Assessment of bioavailable B vitamin content in food using *in vitro* digestibility assay and LC-MS SIDA Volume: 409 Issue: 27 Pages: 6475-6484

- *Toidu sensoorne ja instrumentaalanalüüs*

Arendasime välja meetodid toidu sensoorse kujunemise ja püsivuse uurimiseks: maitse ja aroomi kujunemist võrtsikilu, mee, siidri, veini ja kalja valmistamise protsessis; kõrvalmaitsetele ja -lõhnade tekke põhjuste tuvastamiseks maitseainetes ja teistes toodetes. Arendasime välja SPME-GC/MS-olfaktomeetria meetodid võõrlõhnade identifitseerimiseks ning meetodi füüsikaliste konstantide (refraktsiooni- ja absorptsiooni indeksite) kasutamiseks toidu kvantitatiivsel analüüsil. Viimane võimaldab kasutades proovi fikseerimiseks ja ekstraheerimiseks sise-standardi (näiteks sipelghappe) lahust ja uuritavate ainete füüsikalisi konstante teostada toidu kvantitatiivset kromatograafilist analüüsi ilma täiendavaid kalibratsiooniprotseduure läbi viimata.

Publikatsioonid:

Laaksonen, Oskar; Kuldjarv, R.; Paalme, T.; Virkki, M , Yang, BR (2017) Impact of apple cultivar, ripening stage, fermentation type and yeast strain on phenolic composition of apple ciders FOOD CHEMISTRY Volume: 233 Pages: 29-37

- *Peptiidide roll pärmide lämmastikuallikana toidu fermentatsiooniprotsessides*

Pärmidega läbiviidavate toidu kääritusprotsesside, s.h. alkoholsete jookide kääritusprotsesside efektiivsus sõltub olulisel määral asendamatute toitekomponentide, s.h lämmastikuühendite piisavast sisaldusest. Pärmile omastatava lämmastiku (ingl. k. Yeast Assimilable Nitrogen ehk YAN) hulka arvestatakse ja määratakse nii ammoonium kui vabad aminohapped. Peptiidide osa YAN sisalduses tööstusprotsessides arvesse ei võeta kuna siiani puudub täpne arusaam, millised on omastatavad peptiidid ning kuidas nende omastatavust keerulistes toorainemaatriksites määrata. Seda hoolimata sellest, et paljud kääritavad toorained (õllevirre, linnasemeski) sisaldavad suurel hulgal peptiide. Lisaks, kasutatakse järjest rohkem lämmastiku limitatsioonis olevate kääritusprotsesside (s.h veinide ning viskimeskide) lisaainetena pärmi autolüsaate, mis lisaks vabadele aminohapetele sisaldavad suurel hulgal peptiide. Käesoleva uurimistöö teaduslik-tehnilisteks väljakutseteks on mõista, milline on peptiidide roll pärmide lämmastikuallikana toidu fermentatsiooniprotsessides ning saada parem ülevaade pärmile omastatavate peptiidide struktuurist, s.h nende suurusest ning aminohappelisest järjestusest

Publikatsioonid:

Kevvai, K.; Kütt, M.-L.; **Nisamedtinov, I.;** Paalme, T. (2016). Simultaneous utilization of ammonia, free amino acids and peptides during fermentative growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of the Institute of Brewing*, 122 (1), 110–115. [10.1002/jib.298](https://doi.org/10.1002/jib.298).

- *Toidu mikroobikooslused ja nende evolutsioon.*

Antud uuringute eesmärgiks on arendada meetodeid ja strateegiaid hapendatud toitude mikroobikoosluste kontrolliks ja kvaliteedi tagamiseks. Põhisuunaks on haputaigas domineerivate tüvede genoomide analüüs ja haputaiga tsükli kiiremat kasvu võimaldavate geenikombinatsioonide tuvastamine, molekulaarmarkerite valideerimine pagaritööstuse hallituseente identifitseerimiseks, hallituseente leviku järgimiseks tootmisahelas ning hallitusvastaste toime määramine piimhappebakteritel *in vitro* ja *in vivo* testide abil. Erinevad mikroorganismid leiduvad toidu tootmise kõikides etappides mõjutades toidu kvaliteeti ja ohutust. Mikrobikoosluste määramine ja liikmete iseloomustamine võimaldab leida nii koosluse tekke mehhanisme kui ka töötada välja meetmeid nende kontrolliks.

Publikatsioonid:

Viiard, E.; Bessmeltseva, M.; Simm, J.; Talve, T.; Aaspõllu, A; Paalme, T.; **Sarand, I.** (2016). Diversity and Stability of Lactic Acid Bacteria in Rye Sourdoughs of Four Bakeries with Different Propagation Parameters. PLoS ONE, e0148325.10.1371/journal.pone.0148325.

- *Toidu kvaliteet ja struktuur*

Toidu struktuur, tekstuur ning tarbijate toote eelistused ja valikud on omavahel tihedalt seotud. Toidu struktuuri muutused, mis on tingitud toidutoormest, tehnoloogiast või säilitamisest, võivad põhjustada muutuseid tekstuuris ja seeläbi mõjutada tarbijate ootusi. Peale bioloogiliste ja keemiliste protsesside mõjutavad toidu kvaliteeti ja säilivust ka füüsikalised protsessid nagu kristalliseerumine, klaasistumine ja difusioon. Selleks, et vältida sellistest termodünaamilistest protsessidest tingitud muutuseid toidu struktuuris, peab mõistma toidusüsteemide faaside käitumist, kristallide nukleatsiooni ja kasvukineetikat ning nii toidutoorme, tootmis- ja säilimistingimuste mõju sellele kineetikale. Uurime jääd struktureerivate valkude mõju jää rekristalliseerumisele, laktoosi kristalliseerumisele jäätes ning üleküllastatud suhkrulahuste kristalliseerumiskineetikat. Samuti uuritakse erinevate toidutoormete, tootmistehnoloogiate ja säilitamistingimuste mõju toidutoodete mikro- ja makrostruktuurile, tekstuurile ja sensorsetele omadustele.

Publikatsioonid:

Kaleda, A.; Tsanev, R.; Klesment, T.; Vilu, R.; **Laos, K.** (2018) Ice cream structure modification by ice-binding proteins. Food Chemistry, 246, 164-171

TalTech Food Research

Objectives

To promote the healthy eating of population through research, development, education and increasing the availability of tastier-healthier foods and beverages. Analyzing the food processing chain starting from raw food and ending with digestion in human GIT. To maintain the core research methods and experts in the field to solve the items aroused by processors

Research Methods

For research and development wide set of comprehensive experimental methods of food research is used.

Sensory methods incl. SPME-GC/MS-olfactometry is used for quantitative flavor analysis and category appraisal. Biological (incl. DNA) methods are used in studies of microbial consortia in food, industry, human GIT and other food systems. Novel cultivation methods (incl. change-stat) are used for culture characterization and optimization of microbial production. Modern methods of instrumental analysis incl. HPLC, GC, UPLC-MS(/MS) are used for food and process characterization. To improve quantification internal standards, incl. isotope labelled are applied. For studies of changes in food microstructure are measured by light- and polarization microscopy, fluidity by

viscometer and mechanical properties with texture analyzer. Food systems are analyzed by using statistical and modelling methods.

Main research items

Below the most outstanding activities of Taltech Food Research are described, people involved are can be found among the authors of main publication(s).

- *Impact of human nutrition on gut microbiota, metabolism and health.*

Healthy human microbiota is a prerequisite for good health. Human microbiota is affected by food security situation, eating habits, food processing and other environmental factors. Dietary fiber in human diet is one of the main drivers enabling adjusting the composition of gut microbiota. Knowing effects of non-absorbable food components on development of it would be possible to give personal dietary recommendations to improve the gut and human health. Unfortunately, the ability of gut bacteria to digest different chemical forms of dietary fiber is poorly studied.

- *The vitamin coenzyme synthesis and bioavailability in food chain.*

In human GIT only simple vitamins (thiamine, riboflavin etc.) are absorbed, however, in raw food the vitamins are in complex forms of coenzymes and vitamin glucosides. The latter ones are converted partly into simple vitamins: first during food processing and secondly during digestion in GIT. We have demonstrated the significance of first step and postulated that due to switching to processed food the ability of human GIT to digest complex vitamins has reduced during evolution and might be very limited among elderly people. Thus to ensure the sufficient B vitamin supply we recommend to include into dietary recommendation the daily amounts of simple vitamins required. To measure the content of B simple vitamins we have developed the LC-MS SIDA method for simultaneous determination of absorbable B vitamins.

- *Food sensory and instrumental analysis.*

We have developed number of sensory protocols for quantitative sensory analysis and applied those for studies of development and stability of different taste and aroma attributes of different food products. For example, we have applied the SPME-GC/MS methods for identification of side aromas in spices and other products. We have developed the novel strategy for extraction of food samples using internal chromatographic standards as fixation agent. We made use of refractive indexes and absorption coefficients available in Handbooks for simultaneous quantification of alcohols, sugars and organic acids without further calibration procedures required.

- *Peptides as source of amino acids in fermentation.*

The efficiency and rate of fermentation processes, incl. alcoholic beverages and fuel ethanol depends on presence of organic nitrogen sources: amino acids and peptides that together with ammonia form the pool of Yeast Assimilable Nitrogen (LAN). The peptides, as those degrees of assimilation are unknown are not accounted planning industrial processes. Fermentation broths based on grains contain however considerable amounts of peptides, in addition often yeast hydrolysates are added to promote the growth of yeast. The aim of present study is to clarify the effect chemical structure on growth promoting effect of peptides in industrial yeast fermentation.

- *Microbial consortia in food*

Several foods are spontaneously fermented. The aim of present studies is to develop methods and strategies for ensuring desired composition and stability of microbial consortia in acid fermented foods. The research includes identification and DNA sequencing of major species in the food consortium and evaluation of traits ensuring that stability in the food systems.

- *Food quality and structure*

Food structure and texture are the important indices of food quality and consumers preference. Among biological and chemical processes, phase transition processes: crystallization, glass transition, melting, diffusion etc. affect the food structure. Our studies are concentrated on phase transition processes: ice recrystallization and lactose crystallization during formation and storage of ice cream.

Although the ice structuring proteins inhibit the recrystallization those promote aggregation of ice crystals.

Key publications:

Adamberg, K; Kolk, K; Jaagura, M; Vilu, R; Adamberg, S (2018). The composition and metabolism of faecal microbiota is specifically modulated by different dietary polysaccharides and mucin: an isothermal microcalorimetry study. *Beneficial Microbes*, 1–14. [10.3920/BM2016.0198](https://doi.org/10.3920/BM2016.0198).

Adamberg, K., Adamberg, S. (2018). Selection of fast and slow growing bacteria from fecal microbiota using continuous culture with changing dilution rate. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 29 (1), #1549922. [10.1080/16512235.2018.1549922](https://doi.org/10.1080/16512235.2018.1549922).

Kevvai, K.; Kütt, M.-L.; **Nisamedtinov, I.**; Paalme, T. (2016). Simultaneous utilization of ammonia, free amino acids and peptides during fermentative growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of the Institute of Brewing*, 122 (1), 110–115. [10.1002/jib.298](https://doi.org/10.1002/jib.298).

Viiard, E.; Bessmeltseva, M.; Simm, J.; Talve, T.; Aaspõllu, A; Paalme, T.; **Sarand, I.** (2016). Diversity and Stability of Lactic Acid Bacteria in Rye Sourdoughs of Four Bakeries with Different Propagation Parameters. *PLoS ONE*, e0148325. [10.1371/journal.pone.0148325](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148325).

Kaleda, A.; Tsanev, R.; Klesment, T.; Vilu, R.; **Laos, K.** (2018) Ice cream structure modification by ice-binding proteins. *Food Chemistry*, 246, 164-171

MIKROBIOOMIKA UURIMISRÜHM

Juht: Kaarel Adamberg, vanemteadur, keemia ja biotehnoloogia instituut, loodusteaduskond (kaarel.adamberg@taltech.ee)

Liikmed:

Signe Adamberg, vanemteadur

Madis Jaagura, doktorant

Grete Raba, doktorant

Võtmesõnad: Kiudained jm mitteseeduvad toidukomponentidega seotud toiduainete tehnoloogiad, toitumine, mikrobiom

Uurimisrühma tegevusala on seotud seedetrakti mikrobioomi seoste leidmisega inimese toitumise, ainevahetuse ja tervisega. Kaasaegne toiduainete tootmine ja muud keskkonnategurid on põhjustanud olulisi muudatusi meie seedetrakti mikrobiotas. Terve mikrobiom on aluseks heale tervisele ja oluliselt mõjutatav toitumisega. Toitumine aga on seotud toiduainete tootmisega. Mikrobiota ja toitumise ning inimese poolt mitteseeduvate toidukomponentide (peamiselt kiudainete) lagundamise ja bakterite vaheliste seoste leidmine võimaldab välja töötada personaalseid toitumiskavasid ja arendada toiduainete tehnoloogiaid, mis aitavad vältida düsbioosi seedetraktis ning seeläbi parandada inimese tervist ja heaolu.

Uurimistöös tegeldakse nii keskkonnatingimuste ja erinevate toidukomponentide mõju uurimisega mikrobiota koostisele ja ainevahetusele kui ka *in silico* meetodite arendamisega koosluste ainevahetusvõrgustike analüüsiks.

2019. a. katselise töö fookuses oli pH mõju uurimine mikrobiota stabiilsusele ja ainevahetusele. Keskkonna happesus on üks keskkonnategureid, mis muutub seedetraktis oluliselt sõltuvalt dieedi koostisest. Seega võimaldavad läbivoolukultiveerimise katsed, milles saab etteantud profiiliga keskkonna happesust muuta, analüüsida detailselt happelise (süivesikute) ja aluselise (valkude) fermentatsiooni mõju mikroobikoosluste dünaamikale. Lisaks sekveneerimismeetoditele, millela saab

määrata bakterite osakaalusid, kasutati ainevahetuse uurimiseks erinevaid metaboolikameetodeid. Tulemused on avaldatud oma valdkonna tuntud ajakirja eriväljaandes.

Mikroobikoosluste ainevahetuse mudeldamises loodi eelmisel aastal 5 põhiainevahetusmudelit (stõhhiomeetriline voogude analüüs), mis iseloomustavad peamisi protsesse seedetrakti kooslustes. Loodud mudelitest konstrueeriti konsortsiumimudelid, milles üksikud erinevate bakterite mudelid on seotud välise metaboliitide võrgustikuga. Antud konsortsiumi mudel on praegu valideerimisel eksperimentaalsete andmetega.

Eelmiste perioodide töödest kirjutati käsikirjad 2 toitumisuuringu kohta, mis ilmuvad eelretsenseeritud ajakirjades lähikuudel.

Publikatsioonid 2019. a.:

Adamberg K., Raba G., Adamberg S. (2020). Use of changestat for growth rate studies of gut microbiota. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*.

Research group of microbiomics (Kaarel Adamberg)

Healthy human microbiota is a prerequisite for good health. Human microbiota is affected by food security situation, eating habits, food processing and other environmental factors such as pH or food transit rate in gastrointestinal tract. Dietary fiber in human diet is one of the main drivers enabling adjusting the composition of gut microbiota. Knowing effects of non-absorbable food components on development of it would be possible to give personal dietary recommendations to improve the gut and human health. Unfortunately, the ability of gut bacteria to digest different chemical forms of dietary fiber is poorly studied.

Omics methods are used in studies of nutrition and human microbial consortia. Novel cultivation methods (incl. change-stat) are used for culture characterization and optimization of microbial production. Modern methods of instrumental analysis incl. HPLC, GC, UPLC-MS(/MS) as well as metabolic modelling are used for characterization of growth and metabolism of consortia.

Last year research focused on the effect of pH on the stability and metabolism of human fecal consortia at two different dilution rates. Environmental acidity is one of the parameters that can be changed significantly depending on the type food digested. We have developed special continuous cultivation method to characterize shifts of composition and metabolism of consortia at smoothly changed pH. Specific growth rate was found to have a more pronounced effect on the microbial composition and function compared to that of pH.

In addition modelling approach is further developed and system composed of five metabolic types of individual bacterial cells was constructed. This model is based on stoichiometric metabolic modelling and flux balance analysis, which enables to calculate cross-feeding flux values between individual bacterial cells. The model is currently in validation using data from continuous cultivation experiments.

Publications 2019:

Adamberg K., Raba G., Adamberg S. (2020). Use of changestat for growth rate studies of gut microbiota. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*.

TRANSKRIPTSIOONILINE INTERFERENTS

Transcriptional interference

Uurimisrühma juht: Mart Speek, vanemteadur (senior scientist)

Uurimisrühma liikmed – Maarja Otsus, insener

Uurimisrühma teadustöö ülevaade (eesti ja inglise keeles),

Alzheimeri haigusega seotud uurimistöö põhiline takistus seisneb amüloid beeta prekursorvalgu (APP) proteolüüsi fundamentaalsete teadmiste puuduses, ehk täpsemini, kuidas reguleeritakse selle valgu tootmist rakus ja miks toimub polüpeptiidi akumulatsioon. Selles protsessis on võtmetähtsusega valk nimega beeta-sekretaas (BACE1). On oluline lisada, et peaaegu midagi ei ole teada kuidas toimub BACE1 geeni regulatsioon. Hiljutised uuringud on näidanud, et antisenss, pikk ja mittekodeeriv RNA (lncBACE1-AS) on oluline selle geeni regulaator ja võib mõjutada BACE1 ekspressiooni mRNA/valgu ülesreguleerimise või lookus-spetsiifilise transkriptsioonilise interferentsi abil. Meie hiljutised tulemused näitasid, et erinevalt varem publikatsioonidest (0,8 kb) on lncBACE1-AS tegelikult ligikaudu 6 kb ja ilmselt ei toeta BACE1 translatsioonilist aktiivsust, vaid osaleb vastava mRNA stabiliseerimises. Ühtlasi kaardistasime lncBACE1-AS transkriptide jaotuse 14 inimese koes, määrasime nende transkriptide heterogeense initsiatsiooni ja terminatsiooni saidid (2), ning määrasime oletatava promotori asukoha BACE1 geeni 3' mittekodeerivas regioonis (ekson 9) vastasahelas. Antud informatsiooni on oluliseks lähtepunktiks järgnevatele uuringutele, mille abiga on võimalik paremini mõista BACE1-AS rolli Alzheimeri haiguses.

A major obstacle in Alzheimer disease research is a lack of basic knowledge in understanding the proteolysis of amyloid beta precursor protein (APP). Accumulation of amyloid beta, a short peptide, derived from APP is critical in AD initiation and progression. A protease, termed beta-secretase, has a key role in this process. However, almost nothing is known about the regulation of beta-secretase gene BACE1. Recent studies suggested that a long noncoding RNA (lnc), containing several retroelements, derived from opposite strand of BACE1 is a key player in regulation of beta-secretase expression. And this RNA could strongly interfere with BACE1 expression. We have recently demonstrated that contrary to previous publications, lncBACE1-AS

is 6 kb long and does not support the expression of BACE1 protein. Instead, it is involved in the stability regulation of BACE1 mRNA. We have mapped lncBACE1-AS transcripts in 14 human tissues and determined the heterogeneous transcription initiation and termination sites (2). We also determined the possible location of AS promoter in the opposite strand of BACE1 3' noncoding region. We believe that this information would help to better understand the functional role of BACE1-AS in Alzheimer disease.

Olulisemad projektid/lepingud

- Retroelementide ja pikkade mitte-kodeerivate RNAde poolt indutseeritud transkriptsioonilise interferentsi molekulaarsed mehhanismid inimese rakkudes – ETAG PUT1221
- Molecular mechanisms of transcriptional interference induced by retroelements and long non-coding RNAs in human cells – ERC PUT1221

Tegevusvaldkonnad [Frascati]

1. Loodusteadused 1.6 Bioteadused 1. (Natural Sciences Biological sciences)