

# Keemia ja biotehnoloogia instituut, 2016. aasta teadus- ja arendustegevuse aruanne

## 1. Struktuuriüksuse struktuur 2017. a

Keemia ja biotehnoloogia instituut

Department of Chemistry and Biotechnology

Ivar Järving, [ivar.jarving@ttu.ee](mailto:ivar.jarving@ttu.ee), +372 620 4388

## 2. Teadus- ja arendustegevuse ülevaade uurimisrühmade lõikes

Struktuuriüksusesse kuuluvad uurimisrühmad (kooskõlastatult struktuuriüksuse direktoriga).

## 2.1 Geenitehnoloogia osakond

### 2.1.1 Merike Kelve uurimisrühm

Merike Kelve's research group

Uurimisrühma juht: Merike Kelve, PhD, TTÜ GTI juhtivateadur

Uurimisrühma liikmed:

Annika Lopp, PhD, TTÜ GTI vanemteadur

Tõnu Reintamm, TTÜ GTI teadur/assistent

Nele Aas-Valleriani, TTÜ GTI doktorant

Liisi Karlep, TTÜ GTI doktorant

Uurimisrühma teadustöö ülevaade (eesti ja inglise keeles)

Põhitulemused

- 1) Meie poolt käsnades identifitseeritud desoksünukleotiid-5-fosfaat-N-glükosidaasi (DNPH1) lõplik biokeemilise iseloomustamise lõpuleviimine ja saadud andmete alusel varem esitatud artikli käsikirja täiendamine.
- 2) DNPH1 geenide fülogeneetiline *in silico* analüüs; valminud on artikli käsikiri.
- 3) Uut tüüpi ensüümi - ATP N-glükosidaasi – aktiivsust kandva valgu identifitseerimine mageveekäsna *Ephydatia muelleri*. Vastava valgu ekspresseerimine pärmirakkude süsteemis; valgu ensümaatilise aktiivsuse iseloomustamine. Saadud andmed on piisavad artikli vormistamiseks.
- 4) ATP N-glükosidaasi kodeeriva geeni otsingud merekäsna *Axinella polypoides* (bioinformaatiline analüüs, *A. polypoides*'e transkriptoomi sekveneerimine). Kandidaatvalgude ekspresseerimine.
- 5) 2',5'-fosfodiesterisidest spetsiifiliselt lagundav uut tüüpi ribonukleaas: austri *Crassostrea gigas* ekstraktist ensümaatilisel aktiivse fraktsiooni eraldamine; selles sisalduvate peptiidide/valgude analüüs massispektromeetria meetodil ribonukleaasse aktiivsuse kandja identifitseerimise eesmärgil.
- 6) Jätkatud hulkraksete loomade 2',5'-oligoadenülaatsüntetaaside (OAS) ekspresseerimist, ensümaatilise aktiivsuse iseloomustamist ja vastavate geenistruktuuride väljaselgitamist eesmärgiga vormistada artikkel käsna-alatüüpi OASde esindatuse kohta hulkraksete loomade seas.
- 7) Puriinide põhiainevahetuse evolutsioonilised aspektid: puriinide *in vivo* biosünteesi raja spetsiifiliste ensüümide puudumine mõnedes elupuu harudes (*Demospongia*, *Ctenophora*). Vastavasisuline artikkel saadeti ajakirja toimetusest tagasi soovitusena seda oluliselt lühendada. Artikli uus variant on valmimas.
- 8) Mageveekäsna *Ephydatia muelleri* metagenoomi analüüs; üks eesmärk oli puriinide *in vivo* biosünteesi jaoks vajalikke spetsiifilisi ensüüme kodeerivate geenide otsimine *E. muelleri* genoomist. Tulemused kinnitavad meie varasemat järeldust puriinide *in vivo* biosünteesi puudumise kohta päriskäsnades.

Main results of scientific research

- 1) Additional biochemical characterization of deoxynucleotide-5-phosphate-N-glycosidase (DNPH1); resubmission of the paper containing the additional data.
- 2) The phylogenetical *in silico* analysis of DNPH1 genes; paper almost ready for submission.

- 3) Identification of the protein with novel ATP N-glycosidase activity in the freshwater sponge *Ephydatia muelleri*. Expression of this protein in yeast system, characterization of the enzymatic activity of the protein. The obtained data are sufficient for writing a paper.
- 4) The search of genes coding for ATP N-glycosidase in marine sponge *Axinella polypoides* (bioinformatical analysis, sequencing of the *A. polypoides* transcriptome). Expression of the candidate genes.
- 5) The novel type of ribonuclease which specifically degrades 2',5'-phosphodiester bond: isolation of enzymatically active fraction from the extract of the oyster *Crassostrea gigas*; the analysis of the peptides/proteins in this fraction, using the method of mass-spectrometry to identify the carrier of the ribonuclease activity.
- 6) 2',5'-oligoadenylate synthetases (OAS) in Metazoa: expression, characterization of their enzymatic activities, establishing their gene structures. These data will be used for writing a paper about the presence of sponge-type OASs among Metazoa.
- 7) Evolutionary aspects of purine metabolism: the absence of the enzymes specific to the purine *de novo* biosynthesis pathway in several braches of Tree of Life (Demospongia, Ctenophora). The paper on this topic was returned by the journal editor with the recommendations concerning its extent. We will resubmit a shortened version of the paper.
- 8) The metagenomic analysis of the freshwater sponge *Ephydatia muelleri*. One of the aims of the analysis was the search of genes of *E. muelleri* coding for the specific enzymes of purine *in vivo* biosynthesis pathway. The results coincide with our previous conclusions about the lack of purine *in vivo* biosynthesis in demosponges.

Projektid:

TTÜ on EC VII raamprogrammi projekti BluePharmTrain(1.09.2013-31.08.2017) partner (VFP599), projekti vastutav täitja M. Kelve

Koostöö:

Taani Tehnikaülikool, Biotehnoloogia ja Biomeditsiini instituut, dots. Mogens Kilstrup

### 2.1.2 Tõnis Timmuski uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus;

Molekulaarse neurobioloogia uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus inglise keeles;

Molecular neurobiology research group

- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht;

Tõnis Timmusk, professor

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

Kaia Palm, PhD, vanemteadur; Mari Palgi, PhD, teadur; Mari Sepp, PhD, teadur; Richard Tamme, PhD, insener; Kaur Jaanson, PhD, insener; Kristi Luberg, doktorant; Hanna Vihma, doktorant; Kaja Nurm, doktorant; Kati Taal, doktorant; Jürgen Tuvikene, doktorant; Laura Tamberg, doktorant; doktorant Helle Sadam; Epp Väli, insener; Kaisa Roots, magistrant; Mariliis Jaago, magistrant; Eli-Eelika Esvald, magistrant; Annela Avarlaid, magistrant; Nadezda Pupina, magistrant.

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamise)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

Peamiseks uurimisteemaks oli geeniekspressiooni ja signaaliülekanne regulatsioon närvisüsteemis ja selle patoloogiates ja onkogeneesis. Uuriti transkriptsiooni, mRNA ja valkude rakusisese lokaliseerimise, translatsiooni, posttranslatsiooniliste modifikatsioonide ja signaaliülekanne molekulaarseid aluseid. Spetsiifiliselt uuriti (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 ligaasi ja transkriptsiooni regulaatori sünaptilisi funktsioone. Avaldati rida teaduslikke publikatsioone:

1. Sadam H., Liivas U., Kazantseva A., Pruunsild P., Kazantseva J., Timmusk T., Neuman T., Palm K. GLI2 cell-specific activity is controlled at the level of transcription and RNA processing: Consequences to cancer metastasis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016, 1862, 46-55.
2. Tuvikene J., Pruunsild P., Orav E., Esvald E.E., Timmusk T. AP-1 transcription factors mediate BDNF-positive feedback loop in cortical neurons. *J. Neurosci.*, 2016, 36, 1290-1305.
3. Vihma H., Luhakooder M., Pruunsild P., Timmusk T. Regulation of different human NFAT isoforms by neuronal activity. *J. Neurochem.*, 2016, 137, 394-408.
4. Slomnicki L.P., Malinowska A., Kistowski M., Palusinski A., Zheng J.J., Sepp M., Timmusk T., Dadlez M., Hetman M. Nucleolar enrichment of brain proteins with critical roles in human neurodevelopment. *Mol. Cell. Proteomics*, 2016, 15, 2055-2075.
5. Kharbanda, M., Kannike, K., Lampe, A., Berg, J., Timmusk, T., Sepp, M. Partial deletion of TCF4 in three generation family with non-syndromic intellectual disability, without features of Pitt-Hopkins syndrome. *Eur. J. Med. Genet.*, 2016, 59, 310-314.
6. Tammiku-Taul J., Park R., Jaanson K., Luberg K., Dobchev D. A., Kananovich D., Noole A., Mandel M., Kaasik A., Lopp M., Timmusk T., Karelson M. Indole-like Trk receptor antagonists. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, 121, 541-552.
7. Jaagura M., Taal K., Koppel I., Tuvikene J., Timmusk T., Tamme R. Rat NEURL1 3'UTR is alternatively spliced and targets mRNA to dendrites. *Neurosci. Lett.*, 2016, 635, 71-76.
8. Lindström R, Lindholm P, Kallijärvi J, Palgi M, Saarma M, Heino TI. Exploring the Conserved Role of MANF in the Unfolded Protein Response in Drosophila melanogaster. *PLoS One*, 2016,11(3):e0151550.
9. Kazantseva J, Sadam H, Neuman T, Palm K. Targeted alternative splicing of TAF4: a new strategy for cell reprogramming. *Sci Rep.*, 2016, 6:30852.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

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

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

VA16017 "TCF4 transkriptsioonilise aktiivsuse regulatsioon neuronites (1.01.2016–31.12.2017)", projekti juht Tõnis Timmusk.

EMP128 " Sünaptilise plastilisuse võtmegeenide BDNF ja Arc aktiivsusest sõltuv regulatsioon (1.01.2014–31.12.2016)", projekti juht Tõnis Timmusk.

uurimisrühma liikmete koostöö<sup>1</sup> teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

Prof. Margus Lopp, Tallinn University of technology; Development of Trk receptor antagonists.

Prof. Eero Vasar, Prof. Allen Kaasik, prof. Mati Karelson, University of Tartu; Gene regulation in psychiatric diseases; Development of Trk receptor antagonists;

Dr Mira Kharbanda, Southern General Hospital, Glasgow, UK; Characterization of TCF4 mutations in Pitt-Hopkins syndrome;

Prof. Brady Maher, Lieber Institute for Brain Development, Johns Hopkins Medical Campus, USA; Characterization of TCF4 functions in developing brain;

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

Prof. Michal Hetman, University of Louisville, USA, Regulation and function of TCF4 in the nucleoli of developing brain.

---

<sup>1</sup> Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

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

Tuvikene J., Pruunsild P., Orav E., Esvald E.E., Timmusk T. AP-1 transcription factors mediate BDNF-positive feedback loop in cortical neurons. *J. Neurosci.*, 2016, 36, 1290-1305.

Sadam H., Liivas U., Kazantseva A., Pruunsild P., Kazantseva J., Timmusk T., Neuman T., Palm K. GLI2 cell-specific activity is controlled at the level of transcription and RNA processing: Consequences to cancer metastasis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016, 1862, 46-55.

Vihma H., Luhakooder M., Pruunsild P., Timmusk T. Regulation of different human NFAT isoforms by neuronal activity. *J. Neurochem.*, 2016, 137, 394-408.

- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Ei ole.

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

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

Jürgen Tuvikene, Priit Pruunsild, Ester Orav, Eli-Eelika Esvald, Tõnis Timmusk, Tallinna Tehnikaülikooli 2016 aasta parim teadusartikkel loodus-, täppis- ja terviseteaduste valdkonnas (AP-1 transcription factors mediate BDNF-positive feedback loop in cortical neurons. *J. Neurosci.*, 2016, 36, 1290-1305.)

Tõnis Timmusk, PI ja Mari Sepp, Co-PI; pälvisid USA Pennsylvania ülikooli harvikaiguste keskusest teadusgrandi.

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

Tõnis Timmusk, ETAG Hindamisnõukogu liige.

2.4 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

2.5 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 doktori nime, päritolumaa ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

Uurimisgrupis osalevad järel doktorid Mari Palgi, PhD, Mari Sepp PhD ja Kaur Jaanson, PhD

Indrek Koppel, PhD, suundus järel doktorantuuri, Weizmann Institute of Science, Iisrael

Soovi korral esitatakse muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

### 2.1.3 Erkki Truve uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus – E. Truve uurimisrühm;
- uurimisrühma nimetus inglise keeles – E. Truve lab;
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht – Erkki Truve, professor;
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Cecilia Sarmiento – dotsent, vanemteadur

Merike Sõmera – vanemteadur

Ljudmilla Timofejeva - vanemteadur

Jelena Gerassimenko – doktorant

Kristjan Kamsol – doktorant  
Grete Nummert - doktorant  
Kristiina Talts – doktorant  
Lenne Nigul – assistent, insener  
Eve-Ly Ojangu – insener  
Signe Nõu – insener  
Anna Akkerman – magistrant  
Mark Gavronski – magistrant  
Jorgen Holm – magistrant  
Agnes Kivistik – magistrant  
Jan Raidloo – magistrant  
Tatjana Rodina – magistrant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

Uurime taim-patogeen interaktsioonide geneetilisi, molekulaarseid ning rakubioloogilisi aspekte. Kontsentreerume ühele RNA viiruste perekonnale – sobemovirustele, samuti uurime raku tsütoskeleti ning mõnede tolmukaspetsiifiliste geenide arengubioloogilist rolli maisis. Lisaks oleme alustanud Eesti kõrrelisi nakatavate viiruste identifitseerimist, kasutades uue põlvkonna sekveneerimismeetodeid. Uuritavate (peremees)taimedena kasutamegi eelkõige erinevaid kõrrelisi, samuti ka mudeltaimi müürlooka ja tubakaid. Uurime järgmisi taim-patogeen interaktsioonide aspekte: 1. Sobemoviruste liigid, genoomide organisatsioon, geenide funktsioonid, paljunemise, transpordi ja levimise mehhanismid; 2. Viraalsed ja endogeensed RNA vaigistamise supressorid kui ühed põhilised taimepatogeenide infektsiooni kontrollivad valgud; 3. Müosiinide roll müürlooga arengus ning taim-patogeen interaktsioonides; 4. Tolmukate arengul ning meiootilisel jagunemisel olulised geenid maisis; 5. Kõrrelisi nakatavad viirused Eestis.

2016. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:

Meie rühma töö on oluline mõistmaks fütopatoloogiaga ning taimede arengubioloogiaga seotud fundamentaalseid aspekte, samas võimaldab see ka jälgida ja kontrollida kliimamuutustest tulenevat uute fütopatogeenide levimist.

1. Me avastasime, et arhede ja eukarüootide hulgas kõrgelt konserveerunud valk ABCE1 on lisaks oma rollile translatsioonifaktorina ning RNA vaigistamise supressorina võimeline reguleerima ka inimese rakutsükli S faasi progresseerumist.
2. Demonstreerisime, et mitmete müürlooga müosiinide geenide samaaegsel nokauteerimisel muutub taimede käitumine muutuva gravitatsioonivälja suhtes.
3. Kirjeldasime ühe caliciviiruse ja ühe noroviiruse VPg valkude keemilisi sidemeid viraalse RNAGA.

We study genetic, molecular and cellular aspects of plant-microbe interactions. We concentrate on one RNA virus genus – sobemoviruses, but study also the roles of cytoskeleton and some anther-specific genes in maize development. In addition, we have started to identify viruses infecting cereals in Estonia, using next-generation sequencing techniques. As experimental (host) plant species we use predominantly different cereals as well as model plant *Arabidopsis thaliana* and various tobaccos. We study the following aspects of plant-microbe interactions: 1. Characterization of different species of the *Sobemovirus* genus, their genome organizations, functions of genes, mechanisms of propagation, transport and spread; 2. Viral and endogenous suppressors of RNA silencing as the major players to control the infections in plants; 3. Role of myosins in *Arabidopsis* development and plant-microbe interactions; 4. Novel genes determining the development of anthers as well as in meiotic cell divisions in corn; 5. Viruses infecting cereals in Estonia.

Our work is important to understand fundamental aspects of plant-microbe interactions as well as developmental mechanisms of plants. At the same time it enables to monitor and control the spread of novel plant pathogens due to climate change.

Most important results in 2016 were the following:

1. We discovered that protein ABCE1, highly conserved among archae and eucaryotes, is, besides its function as a translation factor and RNA silencing suppressor, able to regulate the progression of the S phase of human cell cycle.
2. We demonstrated that the simultaneous knockdown of several different *Arabidopsis* myosin genes leads to abnormal reaction of plants to changing gravitational field.
3. We described the chemical bonds between the viral VPg and genomic RNA for one calicivirus and one norovirus.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

IUT19-3 „Taim-patogeen molekulaarsed interaktsioonid“

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

Valerian Dolja, Oregon State University, Portland, OR

Denis Fargette, Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier

Ian Goodfellow, University of Cambridge

Mati Koppel & Pille Sooväli, Eesti Taimakasvatuse Instituut, Jõgeva

Anders Kvarnheden, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala

Wojtek Pawlowski, Cornell University, Ithaca, NY

Virginia Walbot, Stanford University, CA

Rachel Wang, Institute of Plant and Microbial Biology, Academia Sinica, Taipei

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

#### 2.1.4 Peep Palumaa uurimisrühm

- nimetus eesti keeles: Metalloproteoomika uurimisrühm
- nimetus inglise keeles: Group of metalloproteomics
- juhi nimi, ametikoht ja allüksus: Peep Palumaa, genoomika ja proteoomika professor, Geenitehnoloogia osakond
- liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kas on doktorant, magistrant);

1. Vello Tõugu, dotsent 0,75/vanemteadur 0.25, Geenitehnoloogia osakond
2. Tiina Kirsipuu, vanemteadur 0,5, Geenitehnoloogia osakond
3. Olga Bragina, teadur, Geenitehnoloogia osakond
4. Julia Smirnova, teadur, Geenitehnoloogia osakond
5. Tiit Lukk, teadur, Geenitehnoloogia osakond
6. Karin Valmsen, spetsialist, Geenitehnoloogia osakond
7. Andra Noormägi, spetsialist 0,25, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
8. Merlin Friedemann, spetsialist, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
9. Katrina Laks, spetsialist, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
10. Jekaterina Kristal, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
11. Kaarel Kõivupuu, Geenitehnoloogia osakond, doktorant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused
  - Teadustöö lühikirjeldus.

Metalloproteoomika uurimisgrupi 2016. aasta uurimisprojektid olid fokuseeritud rakuliste mudelsüsteemide testimisele amüloidsete peptiidide toksilisuse uurimiseks ning Wilsoni tõve ravimitena kasutatavate metalle kelateerivate ühendite vask(I) ionide sidumisomaduste määramisele.

During year 2016 we focused our studies on the testing of cellular model systems for toxicity studies of amyloidogenic peptides and on determination of copper-binding properties of metal-chelating drugs of Wilson's disease.

- Uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus.

Uurimisteemad olid seotud aktuaalsete tervishoiuprobleemide nagu Alzheimeri ja Wilsoni tõbi fundamentaalteaduslike probleemide lahendamisega.

Study projects have been connected with solving of fundamental problems of actual healthcare issues like Alzheimer's and Wilson's disease.

- Aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused.

Amüloid- $\beta$  (A $\beta$ ) peptiidide deponeerumine ekstratsellulaarseteks amüloidseteks agregaatideks on Alzheimeri tõve kriitiliseks patoloogiliseks sündmuseks. Me viisime sisse uudse rakulise testsüsteemi A $\beta$  peptiidide toksilisuse uurimiseks, mis kujutas endast retinoolhappe ja BDNF-i abil diferentseeritud SH SY5Y rakuliini. Uuriti peptiidi kontsentratsiooni ja inkubatsiooniaja mõju diferentseeritud rakkude elulemusele ja morfoloogiale. Tulemuste analüüs näitab, et uues mudelsüsteemis osutus toksilisteks ainult A $\beta$ 42, mis kattis rakud paksu A $\beta$  fibrillide kihiga, mõjutas neuriitide morfoloogiat ja põhjustas apoptoosi (artikli käsikiri on esitatud *Neuroscience Letters* toimetusele).

Kasutades ESI TOF MS tehnoloogiat, määrati Wilsoni tõve ravimitena kasutatavate metalle kelateerivate ühendite vask(I) ionide sidumisomadused, mis on fundamentaals tähtsusega nende ravitoimes (artikli käsikiri on valmimisel).

The amyloid deposition in the form of extracellular fibrillar aggregates of amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) peptide is a critical pathological event in Alzheimer's disease. We have introduced novel cellular system for studies of toxicity of A $\beta$  peptides *in vitro*, which consisted from SH SY5Y cell line differentiated with retinoic acid and BDNF. The effects of peptide concentration and incubation time on viability and morphology of the neuron-like differentiated cells has been determined. The analysis show that only A $\beta$ 42 was toxic in new model system by covering the cells with tight coat of fibrillar A $\beta$ , causing beading of neurites and inducing apoptosis (manuscript submitted to *Neuroscience Letters*).

By using of ESI TOF MS technology a copper-binding properties of metal-chelating drugs of Wilson's disease have been determined, which are of fundamental importance in their therapeutic action (manuscript in preparation).

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;
  1. IUT 19-8 Struktuurne ja meditsiiniline metalloproteoomika (01.01.2014 – 31.12.2019)
  2. VE16052 Wisoni tõve ravimite toimemehhanism (01.09.2016 – 31.12.2016)
- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

2016. a. teostati teaduskoostööd Rootsi ravimfirma „Wilson Therapeutics AB“ teadlastega.

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

1. Laks K, Kirsipuu T, Dmitrijeva T, Salumets A, Palumaa P. Assessment of blood contamination in biological fluids using MALDI-TOF MS. *Protein Journal* (2016), 35 (3), 171-176.

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

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

2.8 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).

Peep Palumaa – EMBO liige

2.9 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 doktori nime, päritolumaa ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

### 2.1.5 Kadri Järve uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus – K. Järve uurimisrühm;
- uurimisrühma nimetus inglise keeles – K. Järve lab;
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht – Kadri Järve, vanemteadur,
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht inglise keeles – Kadri Järve, Senior Research Scientist,
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Irena Jakobson – teadur, doktorant;

Jelena Tsõmbalova – peaspetsialist;

Hilma Peusha - peaspetsialist;

Karmen Tõnismann – insener, doktorant;

Galina Sokolova – vanemlaborant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääri vad teadustulemused
  - Töörühm tegeleb põllukultuuride (kartul, nisu) resistentsusgeneetikaga. Oleme liikidevahelise kaugristamise teel saanud introgressiivse jahukastekindla nisuliini ja jätkuva projektina tegeleme koostöös Tšehhi Eksperimentaalse Botaanika Instituudiga (dr. M. Valarik, dr. J. Šafář) selle liini jahukastekindluses prevaleerivat rolli omava uudse resistentsusgeeni *QPm.tut.4A* identifitseerimisega.



Riiklikus programmis 'Põllukultuuride geneetilise ressursi fenotüübiline ja molekulaarne iseloomustamine' osaleb töörühm teraviljasortide ja –liinide kogumise ja molekulaarse analüüsimisega.

- 2016. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:
  - a) 4AL spetsiifilise BAC raamatukogu analüüsimise ('chromosome walking') teel lokaliseeriti *QPm.tut.4A* 650 kb pikkuses kromosoomipiirkonnas, mis kodeerib ca 80 erinevat valku.
  - b) *QPm.tut.4A* on üle kantud Eesti suvinisudest suurima kasvupinnaga sordile 'Mooni', mille peamiseks puuduseks on seni olnud vastuvõtlikkus jahukastele. Saadi haiguskindel 'Mooni' analoog.
  - c) Tuvastasime Põhjamaade (+Eesti) heksaploidses nisus prevaleeriva haplotüübi, mida iseloomustab deletsioon 4AL kromosoomiõla distaalses osas. Markerina iseloomustab see deletsioon spetsiifilise päritoluga nisuliine. Kuna kirjeldatud haplotüübi 4A kromosoomi distaalse osa võime rekombineeruda teiste haplotüüpidega on väga madal, siis on selle haplotüübi päritolu võimalik jälgida pika ajavahemiku kestel ja kasutada seda 'sondina' nisu ja Euroopa speldi päritolu uurimisel.
- We study genetic and molecular aspects of plant-microbe interactions. We concentrate on crop (potato, spring wheat) resistance to fungal diseases. In a wide cross with a wild species we have generated a resistant to powdery mildew spring wheat line and, in an ongoing project, in collaboration with Dr. M. Valarik and Dr. J. Šafář (Czech Republic), we are working on identification of the novel gene for resistance (*QPm.tut.4A*), originating from *T. militinae* and located on chromosome 4A.  
We are participating in the state programme for 'Conservation of genetic resources for food and agriculture' by generating, collecting and analyzing (SSR markers + phenotyping) collections of wheat and potato.

Most important results in 2016 were the following:

- a) we localized the *QPm.tut.4A* gene on a 640 kb fragment coding for appr. 80 genes (by chromosome walking).
- b) *QPm.tut.4A* was carried over to the Estonian elite spring wheat variety 'Mooni'.
- c) We identified a prevailing in Nordic spring wheat cultivars haplotype of hexaploid wheat carrying a large (3% of the chromosome) deletion in the distal end of chromosome. As the recombination rate for the 4AL chromosome arm carrying the deletion is extremely low, the deletion might be useful in heritage studies of hexaploid wheat in Northern Europe.

Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

Projekt: Molekulaarsete ja koekultuurimeetodite rakendamine sordiaretuses ja taimse materjali analüüsis (Riiklik sordiaretusprogramm 2009-2019)

- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest):
  - Miroslav Valarik, Institute of Experimental Botany, Olomouc, Czech Republic
  - Jan Šafář, Institute of Experimental Botany, Olomouc, Czech Republic
  - Michal Abrouk, Institute of Experimental Botany, Olomouc, Czech Republic
  - Anne Ingver, Eesti Taimakasvatuse Instituut
  - Mati Koppel, Eesti Taimakasvatuse Instituut
- Uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);

1. **Tsõmbalova J, Karafiátová M, Vrána J, Kubaláková M, Peuša H, Jakobson I, Järve M, Valárik M, Doležel J, Järve K** (2016) A haplotype specific to North European wheat (*Triticum aestivum* L.) Genetic Resources and Crop Evolution, doi:10.1007/s10722-016-0389-9
2. **Abrouk, M., Balcárková, B., Šimková, H., Komínková, E., Martis, M.M., Jakobson, I., Timofejeva, L., Rey, E., Vrána, J., Kilian, A., Järve, K., Doležel, J. and Valárik, M.** (2016) The *in silico* identification and characterization of a bread wheat/*Triticum militinae* introgression line. Plant Biotechnol. J., doi: [10.1111/pbi.12610](https://doi.org/10.1111/pbi.12610)
3. **Ivaničová, Z.; Jakobson, I.; Reis, D.; Šafář, J.; Milec, Z.; Abrouk, M.; Doležel, J.; Järve, K.; Valárik, M.** (2016) Characterization of new allele influencing flowering time in bread wheat introgressed from *Triticum militinae*. New Biotechnology [33\(5\)B](https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.05.003): 718–727.

Uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Puuduvad

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

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

-

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

K. Järve, vanemteadur – Eesti Taimekasvatuse Instituudi teadusnõukogu liige

2.4 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).

-

2.5 Uurimisgrupis osalenud järel doktorite ning TTÜ-st järel doktorantuuri suundunud uurimis grupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel)

2.6 näidates ära järel doktorite nime, päritolumaad ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

### 2.1.6 Urmas Arumäe uurimisrühm

Neuronite surma ja eluspüsimise mehhanismid ja nende kontroll neurotroofiliste faktorite poolt

Mechanisms of neuronal death and survival and their control by neurotrophic factors

Rühmajuh: Urmas Arumäe, PhD, dotsent, Geenitehnoloogia Instituut, Molekulaarbioloogia õppetool

Rühmaliikmed (kõik Geenitehnoloogia Instituut, Molekulaarbioloogia õppetool): Jaan Palgi, nooremteadur, Valentina Božok, doktorant, Mikk Raba, magistrant, Mikk Narusk, magistrant

2016 aastal keskendusime vastündinud ja täiskasvanud hiirte sümpaatiliste neuronite transkriptomide võrdlusele mikrokiip-uuringuga, et leida geene mis muutuvad oluliselt nende neuronite küpsemise käigus. Neuronite sünnijärgne küpsemine, kus paljud olulised tunnused kinnistuvad ja jäävad püsivaks, on üldse väheuuritud protsess. Meie rühma temaatika seisukohast on huvitav, et sümpaatilised neuronid on vastündinud loomadel nn. programmeeritud rakusurma staadiumis kus ligi pooled neuronid surevad loomulikku apoptootilist surma. Rakusurma periood lõpeb spontaanselt ja seda nii in vivo kui ka in vitro sama ajaskaala järgi, seega sisemise geneetilise programmi järgi. See programm, nagu ka muud neuronite küpsemisemist juhtivad programmid on praktiliselt uurimata. Oma mikrokiip-analüüsil leidsime terve paneeli geene millede tase neuronite küpsemisel oluliselt muutus. Huvitaval kombel ei leidunud nende hulgas klassikalisi apoptoosigeene mis viitab uutele, seni uurimata mehhanismidele. Oleme valinud potentsiaalselt huvitavaid geene ja tahame nende rolli neuronite küpsemisel edasi uurida. See uurimus on avaldatud ajakirjas *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Kaks projekti toimusid koostöös Helsingi Ülikooliga.

Esiteks uurisime uue neurotroofilise faktori CDNF saatust pärast tema süstimist roti aju striatumisse. Oleme näidanud et CDNF kõrvaldatakse ajust kiiresti ja osa temast internaliseeritakse neuronite poolt. Muu hulgas transporditakse CDNF striatumist dopamiinergilisi aksoneid pidi nende neuronite kehadesse. Ilmselt avaldab CDNF oma Parkinsoni haigust ravivat toimet just selle mehhanismi kaudu. Teiseks oleme uurinud kahe proteiinkinaas C modulaatori toimet Jurkat-rakkude apoptoosile ja näidanud et mõlemad blokeerivad efektiivselt surmareseptori Fas indutseeritud apoptoosi. Proteiinkinaas C rolli apoptoosis on vähe uuritud, tahame edasistes uuringutes sellele keskenduda. Mõlemad koostööprojektid jätkuvad. Koostöös Helsingi Biomeedikumi Minerva Instituudiga uurisime ka neurotrofiinide retseptori p75NTR toimemehhanismi mis on avaldatud ajakirjas Journal of Biological Chemistry.

In 1916 we focussed on the gene chip study to compare the transcriptomes in the newborn and adult murine sympathetic neurons and identify the genes that change significantly during maturation of these neurons. Postnatal maturation of neurons includes strengthening of many significant neuronal features but is virtually not studied. Of interest to our group, the newborn sympathetic neurons are in the state of programmed cell death where about half of the neurons die naturally by apoptosis. This period ends spontaneously both in vivo and in vitro with the same time schedule and is thus genetically determined. However, almost nothing is known of this genetic program. Our gene chip analysis identified a panel of genes whose levels significantly changed during neuronal maturation. Of note, the classical apoptotic genes were not significantly changed, suggesting new, uncharacterized maturational mechanisms. We have selected several potentially interesting genes whose levels changed significantly, and are currently studying their roles in the neuronal maturation. This study is published in *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Two projects were performed in collaboration with the University of Helsinki. First, we studied the fate of novel neurotrophic factor CDNF after its injection into the rat striatum. We showed that CDNF is rapidly removed from the brain, and part of it is internalized by the neurons. Of note, CDNF is retrogradely transported via dopaminergic neurons to the somae of these neurons. Most probably this is the way how striatally injected CDNF protects the dopaminergic neurons in the animal models of Parkinson's disease. Second, we have studied the effect of two protein kinase C modulators on the death receptor Fas-induced apoptosis in Jurkat cells, and shown that both significantly inhibit this apoptosis. The role of protein kinase C in the apoptosis is poorly known and we are currently pursuing the studies on that line. Both collaborations are ongoing. In collaboration with Minerva Foundation Institute, Biomedicum Helsinki, we also studied the mechanism of action of neurotrophin receptor p75NTR, which is published in *Journal of Biological Chemistry*.

Raba M, Palgi J, Lehtivaara M, Arumäe U. (2016) Microarray Analysis Reveals Increased Transcriptional Repression and Reduced Metabolic Activity but Not Major Changes in the Core Apoptotic Machinery during Maturation of Sympathetic Neurons. *Front. Cell. Neurosci.* 10:66

Pham DD, Do HT, Bruelle C, Kukkonen JP, Eriksson O, Mogollón I, Korhonen LT, Arumäe U, Lindholm D. (2016) p75 neurotrophin receptor signaling activates sterol regulatory element-binding protein-2 in hepatocyte cells via p38 mitogen-activated protein kinase and caspase-3. *J. Biol Chem*, pii: jbc.M116.722272

### 2.1.7 Sirje Rüütel Boudinot uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus; Immunoloogia
- uurimisrühma nimetus inglise keeles; Immunology
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; **Sirje Rüütel Boudinot, TTÜ GTI MD van.teadur, dots**
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);  
Sirje Rüütel Boudinot, vanemteadur, dotsent, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm  
Viiu Paalme, teadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm  
Dr Marina Teras, Ida Tallinna Keskhaigla, doktorant  
Helen Aitai, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm, magistant  
Airi Rump, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm, magistant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused
  - Hiljutised uuringud näitavad et RGS16 osaleb neuroinflammatoonis ja viirus infektsioonis. Nii geneetiline link kui nende haiguste otsene mõju inflammatoorsetele signaaliradadele –kaasa arvatud interferooni vastus-näitab et RGS16 on oluline regulaatorvalk selliste patoloogiate progressioonis. Meie uurimisgrupp on keskendunud RGS16 osaluse välja selgitamisele autoimmuunsetes patoloogiates, kasutades MS patsientidelt saadud proove ning MS'i hiire mudelit EAE.
  - Meil on vivaariumis RGS16 KO hiirte koloonia ja meie esialgsed andmed näitavad et RGS16 on oluline EAE tekkes ning haiguse tekke tugevus sõltub eelkõige hiire soost. Leidsime, et RGS16'l on soospetsiifiline roll humoraalse vastuse reguleerimisel: Täheldati, et metsik-tüüpi emased hiired toodavad rohkem MOG-i vastaseid antikehi võrreldes RGS16<sup>-/-</sup> emaste hiirtega. Lisaks võib RGS16 olla seotud kannabinoidretseptorite signaaliülekanandes.
  - Paralleelselt viisime läbi RGS16 ekspressiooni uuringud MS patsientide perifeerse vere rakkudel ning sekveneerisime RGS16 geeni koostöös Eesti juhtivate neuroloogidega Dr Toomas Toomsoo (Ida Tallinna Keskhaigla) ja Dr Katrin Gross Pajuga (Lääne Tallinna Keskhaigla). Oleme teinud üle 40 patsiendi uuringu, jagades need vastavalt saadud ravile ja haiguse kulule. MS patsientide RGS16 geenis haigusega seonduvaid polümorfisme ei leitud. Meie tulemused näitavad et G valkude signaalraja komponendi RGS16 mRNA ekspressioonitase võib olla potentsiaalselt kasutatud varase Sclerosis Multiplex'i diagnosteerimisel. Samadest patsientidest analüüsisime veel kolm G valkude raja komponenti: VAV1, RGS1 ning CXCR4, mis on kõik juba ka varasemates töodes seotud SM'iga. Meie tulemustest järeldub, et IFN-β ravimite ja kopaksooni (Copaxone) erinev mõju geenidele: IFNβ ravi alandab RGS1, VAV1 ekspressiooni CXCR4 kuid kopaksooni ravi mitte.
  - **Impact of regulators of G protein signaling 16 in autoimmune pathologies of the Central Nervous System, focusing on Multiple Sclerosis (MS).**
  - A number of recent reports support the implication of RGS16 in neuro-inflammation and viral infection. Genetic associations with such diseases and direct implication of inflammatory pathways – including the interferon (IFN) response – strongly suggest that RGS16 is a key regulators of the progression of such pathologies. We are **investigating the impact of RGS16 on autoimmune pathologies of the CNS, focusing on the EAE model in the mouse and on MS in human patients.** Currently no curative treatment for MS exists, however several disease modifying and symptomatic treatments are available
  - We have established a colony of *Rgs16* KO mice in our facilities and our preliminary analyses showed that RGS16 had a critical role in EAE, with a significant gender difference.
  - We demonstrated that ablation of Regulator of G-protein Signalling 16 (RGS16) does have an effect on the clinical course of EAE in female but not in male mice. It was also shown that RGS16 does not augment nor restrict phytocannabinoid treatment effects in C57/BL6 mice. In addition it was found that RGS16 could be involved in the humoral response in vivo: the effect of RGS16 on auto-antibody production was significantly gender dependent.
  - In parallel, we have also undertaken the study of RGS16 expression in PBMCs, and of the *RGS16* haplotype sequences in MS patients, in collaboration with Dr Toomas Toomsoo (East Tallinn Hospital) and Dr Katrin Gross-Paju (West Tallinn central Hospital). We have analysed modest numbers of patients (<40 patients), depending on treatment and clinical course of the disease. While no SNP was identified, expression studies showed a trend towards lower expression of RGS16, in untreated patients. We also looked at the effects of G protein signalling pathway components RGS16, RGS1, VAV1, and CXCR4, on immune cell migration and its regulation of various cytokines.

IFN $\beta$  treatment significantly downregulates RGS1, VAV1 and CXCR4 expression while Copaxone treatment did not cause different expression of RGS1, VAV1 and CXCR4 compared to healthy controls.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;  
PUT685: Impact of regulators of G protein signaling 16 in autoimmune pathologies of the Central Nervous System, focusing on Multiple Sclerosis (Sirje Rüütel Boudinot)
- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

We have established a tight collaboration with the group of Dr Kirk Druey from National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH, USA, who has provided us a RGS16 knock-out mouse line. Also we keep a tight scientific cooperation with Prof Jean Marc Cavaillon from Pasteur Institute, Paris and Prof Jean Kanellopoulos, Université Paris-Sud, Orsay. We have cooperation with Jacques Robert (Department of Microbiology and Immunology, University of Rochester, Medical Center, Rochester, NY 14642) and Pierre Boudinot (INRA, Molecular Virology and Immunology, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy en Josas, France). We have initiated collaboration with **Dr Simon Fillatreau** from Immune Regulation group of DRFZ, Berlin to investigate the role of RGS16 in EAE. We are collaborating with **Dr. Toomas Toomsoo** and Dr Katrin Gross Paju to investigate the role of RGS proteins in Multiple sclerosis and its mouse model (EAE). We started cooperation with professor Chi-Shiun Chiang, from National Tsing Hua University, Taiwan about Impact of RGS16 in tumor invasiveness in a model of astrocytoma to radiation therapy.

uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1):

(1.1) Järveots, T.; Saar, T.; Põdersoo, D.; Rüütel Boudinot, S.; Sütt, S.; Tummeleht, L.; Suuroja, T.; Lindjärv, R. (2016). Lawsonia intracellularis and Porcine Circovirus type-2 infection in Estonia. Polish Journal of Veterinary Sciences, 19 (2), 291–301.

(1.2) Kärsti, L.; Nutt, A.; Suurväli, J.; Siimut, S. E.; Põdersoo, D.; Saar, T.; Tiivel, T.; Rüütel Boudinot, S. (2016). Significant impact of Rh blood group and gender on influenza infection in Estonia. The Proceedings of the Estonian Academy of Sciences., 7

- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISEs.

-

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

2016, Sirje Rüütel Boudinot, diploma from the Estonian Ministry of Education and Research for supervising J.Suurväli research paper (PhD theses), the second award winner of a state contest

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

-

2.9 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).

-

2.10 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 doktori nime, päritolumaa ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

Jaanus Suurväli. Järeldoktor Saksamaal, 2 aastat, juhendajad Maria Leptin ja Thomas Wiehe, Institute for Genetics, University of Cologne, Zùlpicher Str. 47a, 50674 Cologne, Germany

Soovi korral esitatakse muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

Erasmus + Stuff Mobility for Training (Sirje Rùutel Boudinot)

Campus France fellowship nr 885510B (Sirje Rùutel Boudinot)

### 2.1.8 Lilian Järvekùlje uurimisrùhm

- uurimisrùhma nimetus; L.Järvekùlg'i MD uurimisrùhm
- uurimisrùhma nimetus inglise keeles; L.Järvekùlg's MD research group
- uurimisrùhma juhi nimi, ametikoht; **Lilian Järvekùlg, TTÜ GTI MD professor**
- uurimisrùhma liikmed (nimi, ametikoht ja allùksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);  
Viiu Paalme, MSc, TTÜ GTI teadur

Piret Peterson, MSc, TTÜ GTI doktorant

L.Järvekùlg - juhendamine/kaasjuhendamine 2016: doktorandid – Piret Peterson (TTÜ), Kairi Värvi (TTÜ/TAI) ja Anna-Liisa Kubo (TTÜ/KBFI). L.Järvekùlg'i juhendamisel 2016.a.kaitstud MSc tööd: Vladislav Grigorjev, Maria Vikentjeva, Jelena Knjazeva ja BSc töö Maria Bubina.

- **uurimisrùhma teadustöö ülevaade** (kokku kuni 1,5 lehekùlge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrùhma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ùhiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ùhiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

### Potyviirustega seotud fundamentaal- ja rakendusuuringud

- **Lilian Järvekùlg** uurib potyviiruste (kartuliviirused PVY ja PVA) näitel (taime)viiruse ja peremehe interaktsioone, viiruse struktuuri, struktuuri ja funktsiooni seoseid ning rakendusuuringute aspektist selliseid olulisi teemasid nagu viiruse PVY uute, rekombinantsete Eestis levivate tüvede tuvastamine, iseloomustamine ning kompleksdiagnostika väljatöötamine.
- Viimasel kümnendil on maailma eri paikades täheldatud, et potyviiruse PVY tüvede hulgast on ära kadumas n-ö „klassikalised“ nõrga ja keskmise virulentsusega tüved O ja N ning nende asemele on võrdlemisi kiiresti ilmunud uued, rekombinantset PVY<sup>NTN</sup> ja PVY<sup>NW</sup> tüüpi tüved, mis nakkuse algstaadiumis on tihti sümptoomituid ja tavameetoditega raskesti diagnoositavad ning mille põhjustatud saagikadu kartulikasvatuses võib ulatuda isegi 90–100 protsendini. Alates 2010. aastast on PVY paigutunud viie ohtlikuima taimeviiruse hulka. Kartuliviirus A (PVA) on viirusele PVY üsna lähedane sugulane, kuid tõvestusvõimelt leebem. Oma uuringutes oleme mõlemat viirust (PVY ja PVA) kasutanud mudelsüsteemina pikema aja jooksul.
- **Töö ülesanded 2016.** 1. Viia lõpule kartuliviiruste leviku analüüs Eestis kasvatatavas seemnekartulis ja hinnata siin enim kasvatatud kartulisortide vastuvõtlikkust/resistentsust PVY tüvede suhtes. 2. Jätkata PVA virioni ja kattevalgu (CP) subühikute füüsikalise-keemiliste omaduste ja partiklite assambleerumise iseloomustamist. 3. Jätkata uuringuid PVA CP VLPde kasutatavuse kohta melanoomivastase vaktsiini kandidaadina, analüüsida tulemusi ja valmistada ette trükis avaldamiseks.
- **Töö tulemused.** 1. Saadi ammendav ülevaade kartuliviiruste levikust Eestis kasvatatavas seemnekartulis. Levinuim viirus oli PVY ja selle suhtes resistentsem oli kartulisort „Laura“. Valminud on kartuliviiruste levikut Eestis käsitlev artikkel ja ettevalmistamisel on siin levinud PVY rekombinantsete tüvesid tutvustav artikkel. Viidi lõpule kolmel eri meetodil (Biotest, ELISA, RT-PCR) põhinev kompleksuuring Eestis levivate PVY tüvede identifitseerimiseks ja iseloomustamiseks ning selgitati välja, et levinuimad Eesti seemnekartulis on PVY<sup>WILGA</sup> ja PVY<sup>NTN</sup>. Kartuliviiruste uurimise teemat jätkatakse esialgu ELI Eupresco projekti 2015-B-148 "Ringtest for improved potato virus

strain detection" (2016-2018) raames. 2. Analüüsid PVA CP struktuuri SAXS-meetodi, fluorestsents- spektroskoopia ja elektronmikroskoopia abil, demonstreeriti esmakordselt PVA CP ebaharilikke omadusi ja võimet moodustada (lisaks kepikesekujulistele lühikestele partiklitele) ka erinevaid sfäärilisi viiruslaadseid partikleid (VLP), mille kohta on üks artikkel avaldatud 2016, teise käsikiri on avaldamisel. Võimalik, et neid PVA CP omadusi saab edukalt kasutada nimetatud viiruslaadsetel partiklidel põhinevate vaktsiinikandidaatide väljatöötamiseks. 3. Artikli materjal PVA CP VLPde (nano-carriers) kasutatavuse kohta melanoomivastase vaktsiini kandidaadina (PVA CP VLP-mel) on läbi töötatud (põhiliselt VTAK projekti 1.7 andmed) ja käsil on artikli vormistamine.

– **Potato potyvirus (PVY and PVA) in fundamental and applied research**

Potato virus Y (PVY) is the most important and widespread virus infecting potato (*Solanum tuberosum*), and belongs to top 5 economically most influential plant viruses. Recently, new recombinant genotypes of PVY have appeared and their incidence is increasing throughout the world. In Estonia, the non-recombinant PVY<sup>O</sup> strain used to be most common, but it now seems to have been replaced by the recombinant genotypes, as has been reported for many European countries. To study the present genetic diversity of PVY in Estonian potato, about 300 potato samples from different parts of Estonia were selected for characterization of the infecting PVY genotypes using serology, RT-PCR, sequence analyses and biotests.

Potato virus A (PVA), is closely related to PVY but is not so harmful. Both viruses have been used as model systems in the L.Järvekülg group's studies for a long time. We investigate potyvirus (PVY and PVA) from the aspect of plant virus-host interactions, virus structure, the relationships of the virus structure and function. As applied research, identification and characterization of new recombinant strains of PVY in Estonia is being carried out.

- **Tasks 2016.** 1. To complete the analysis of potato virus spread in Estonian seed potatoes. To assess the susceptibility/resistance of the most grown potato varieties to PVY strains. 2. To continue the study of physicochemical properties of PVA CP, formation of virus-like particles (VLPs) and assembly process of PVA virions. 3. To analyze the study results gained from developing an epitope presentation system based on PVA CP VLPs as a carrier for melanoma-associated peptide(s). To prepare the manuscript for publication.

**Results 2016.** 1. The spread of potato viruses in seed potato cultivated in Estonia from 2005–2013 has been investigated with the results demonstrating PVY as the virus prevailing in seed potato and 'Laura' as the potato variety most resistant to PVY infection. An article discussing with potato viruses spread in Estonia is ready for publication and another on new, recombinant strains of PVY detected in Estonia is being written. Identifying and characterizing PVY strains present in Estonia seed potato has been done based on complex diagnostics ((Biotest, ELISA, RT-PCR). It appeared that PVY<sup>Wlga</sup> and PVY<sup>NTN</sup> proved to be the most spread PVY recombinants here. It can be concluded that PVY<sup>O</sup> in Estonia mainly has been replaced by recombinant genotypes mentioned above. Apart from these, some PVY recombinants specific to Estonia were identified. At present time, the study of new PVY recombinant strains continues under the framework of Euphresco Project 2015-B-148 "Ringtest for improved potato virus strain detection" (2016-2018).

- 2. When analyzing PVA CP structure by means of SAXS analysis, fluorescence spectroscopy and electron microscopy, unusual properties of PVA CP and the ability to form short virus-like particles of different shape (including rod-shaped and also spherical ! particles) was demonstrated (Ksenofontov et al. 2016a; Ksenofontov et al. 2016b (submitted)). It is possible that these properties of PVA CP are applicable in the development of vaccine candidates based on the virus-like particles.
- 3. An analysis of material on the possibility to use PVA CP VLPs as nano-carriers for the development of anti-melanoma vaccine candidate PVA CP VLP-mel (VTAK project 1.7, finished) is almost complete, the drawing up of an article is underway.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

**Projektid:** Euphresco Project 2015-B-148 "Ringtest for improved potato virus strain detection" (2016-2018).

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

**Koostööd:** eelkõige tudengite lõputööd/juhendamised/ k.a. doktoritööd/ ühispublikatsioonid: Tervise Arengu Instituut (TAI) viroloogia ja immunoloogia/kantserogeneesi osakonnad; Põllumajandusuuringute Keskus (PMK) –taimervise/patoloogia osakond; KBFI (A.Kahru toksikoloogia osak.). Mujalt: Moskva Riiklik Ülikool (MRÜ) prof.L.Baratova kromatograafia osakond; Uppsala Ülikool, viroloogia osakond.

- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);
  1. (1.1) Ksenofontov, A.L#.; Dobrov, E. N.; Fedorova, N. V.; Paalme, V.; Serebryakova, M. V.; Prusov, A. N.; Baratova, L. A.; **Paalme, V., Järvekülg, L.#** (2016). Isolated Potato Virus A coat protein possesses unusual properties and forms different short virus-like particles (Structural study by small angle X-ray scattering and complementary methods)(submitted). Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 35 (xx), xx–xx [submitted]. (# Ksenofontov and Järvekülg equally corresponding authors)
  - 2 (1.1.) Ksenofontov, A.L#.; Parshina, E.Y.; Fedorova, N. V.; Arutyunyan, A. M.; **Rumvolt, R.; Paalme, V.;** Baratova, L. A.; **Järvekülg, L#.**; Dobrov, E. N. (2016). Heating-induced transition of Potyvirus Potato Virus A coat protein into  $\beta$ -structure. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 34 (2), 250–258, doi:10.1080/07391102.2015.1022604. (# Ksenofontov and Järvekülg equally corresponding authors)
- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

-

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

-

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

-

2.13 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).

-

2.14 Uurimisgrupis osalenud järeldoktorite ning TTÜ-st järeldoktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järeldoktori nime, päritolumaa ja asutuse, järeldoktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järeldoktorit rahastatakse).

Soovi korral esitatakse muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

Lisa:

Peterson, P.; Järvekülg, L. (2016). Viruses in Estonian seed potatoes; Strains of Potato Virus Yn. *16th Triennial Meeting of the EAPR Virology section of the European Association of Potato Research & 8th Annual meeting of PVY wide organization, May 31- June3, 2016 Slovenia*. Ljubljana: Slovenia Acad Press, 217.

Ksenofontov, A.; Dobrov, E.; Fedorova, N.; Golanikov, A.; Järvekülg, L.; Baratova, L. (2016). Potyvirus Potato virus A coat protein posses unusual properties and forms short virus-like particles. *6th European Congress of Virology, Hamburg, Germany, October 19-22, 2016. Special Issues [OMICS Journals], 375.*

### 2.1.9 Pirjo Spuuli uurimisrühm



- uurimisrühma nimetus; **Pirjo Spuuli uurimisrühm**
- uurimisrühma nimetus inglise keeles; Research team of Pirjo Spuul
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; Pirjo Spuul, teadur
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);  
Elina Rukavitsõna: magistrant, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond  
Kertu Kadastik: bakalaureuse üliõpilane, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond  
Kersti Rand: bakalaureuse üliõpilane, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond
- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

*Helicobacter pylori* (HP) on gram-negatiivne bakter, mis koloniseerib rohkem kui poole maailma elanikkonna mao limaskestasid. Eestis on nakatunud umbes 80% inimestest. HP on klassifitseeritud Maailma Tervishoiuorganisatsiooni poolt klass I kartsinogeeniks, kuna umbes 1%-l nakatunutest areneb mao adenokartsinoom. Patogeenidel on välja arenenud mitmeid erinevaid strateegiad peremeesraku funktsioonide üle võtmiseks ja enda kasuks tööle panemiseks põhjustades raskeid haiguseid, näiteks vähkkasvajad. Mitmed uurimustööd seostavad HP nakkust maksa tsirroosi ja maksa vähi arenemisega. Lisaks võib suurendada ko-infektsioon C-hepatiidi viirusega maksa kahjustuse ulatust. Hoolimata nendest teadmistest pole selge, milliseid mehhanisme kasutab HP maksa kahjustuste tekitamiseks ja vähi arenemiseks.

Käesoleva projekti eesmärgiks on välja selgitada, millist rolli mängivad HP tekitatud invadosoomid maksakahjustustes. Nende eriomaste rakustruktuuride indutseerimine maksarakkudes toob esile HP nakkuse uued aspektid. Erineva patogeensusega tüved tekitavad erinevate tunnusoontega invadosoome. Minu uuringute konkreetsemaks eesmärgiks on leida HP virulentsusfaktorid, mis reguleerivad invadosoomide eripärasid ning kirjeldada sellest tulenevat kahjustavat mõju peremeesraku funktsioonidele. Projekti konkreetsemad küsimused on järgnevad:

- Millised HP virulentsusfaktorid määravad ära invadosoomide omadused ning kuidas see korreleerub põletikuliste tsütokiinide ülesregulatsiooniga maksarakkudes?
- Kuidas erinevat tüüpi invadosoomid mõjutavad maksaraku käitumist?
- Millised HP aktiveeritud signaaliülekanerajad reguleerivad invadosoomide rakusisest organisatsiooni?

Käesolev uurimustöö püüab suurendada meie arusaamist bakter-põhjustatud vähkkasvajate tekkemehhanismidest. Selgitades HP rakulised sihtmärgid ja seostades need erinevate invadosoomide tekitamisega, aitab see paremini mõista maksa kahjustusi. Uurimustöö uudeks 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 uudeid ravimeid, millel oleks minimaalne risk resistentsuse tekkeks.

Uurimisrühm alustas tööd 2016 aasta alguses. Sisse on seatud uus ohuklass 2 labor (BSL2) ja Tööinspektsioonilt on saadud vastav luba inimese patogeenidega töötamiseks. BSL2 laboris on alustatud HP kultiveerimisega ning esialgsed tulemused viitavad sellele, et erinevad invadosoomid mõjutavad erinevalt raku migratsiooni. On ka testitud potentsiaalse virulentsusfaktori CagA positiivseid ja negatiivseid tüvesid ning tulemused näitavad, et CagA osaleb rakkude kuju muutmisel ning rakkudevaheliste kontaktide lõhkumisel.

*Helicobacter pylori* (HP) is a gram-negative bacterium that colonizes the human gastric epithelium in about half of the world's population. 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. 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. Several studies have associated *HP* infection with the progression of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). 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.

The goal of this study is to explore the role of a recently uncovered aspect of *HP* infection to liver damage. *HP* induces the formation of peculiar cellular structures named invadosomes in infected hepatocytes. Different strains, with distinct pathogenic outcomes, induce invadosomes with distinctive features. My 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 specific questions are:

- What are the virulence factors of *HP* governing invadosome characteristics and how do they correlate with the upregulation of inflammatory cytokines in hepatocytes?
  - How these various types of invadosomes alter the behavior of hepatocytes?
  - What are the signaling pathways activated by *HP* that control the subcellular organisation of invadosomes?

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.

Research team has started the work in the beginning of 2016. We have set up a biosafety level 2 (BSL2) laboratory and permission to work with human pathogens has been granted by the Labor Inspectorate. Cultivating *HP* has been started in the BSL2 lab and preliminary results show that invadosomes with distinct characteristics affect cell migration differentially. We have also tested the *HP* strains that possess or lack the potential virulence factor CagA and it seems that CagA is involved in changes in cell shape and destroying the cell-cell contacts.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest; PUT1130 (Pirjo Spuul)  
B61 (Pirjo Spuul)
- uurimisrühma liikmete koostöö<sup>2</sup> teiste T&A asutuste ja ettevõtete (sh välisriikidest); Bordeaux Ülikool
- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);
  - 1) 1.1. 2016 **Spuul, P.**; Chi, PY.; Billottet, C.; Chou, CF.; Génot, E. (2016). Microfluidic devices for the study of actin cytoskeleton in constricted environments: Evidence for podosome formation in endothelial cells exposed to a confined slit. *Methods*, 94, 65–74, j.ymeth.2015.09.001.
  - 2) 1.1. 2016 **Daubon, T.**; **Spuul, P.**; Alonso, F.; Fremaux, I.; Genot, E. (2016). VEGF-A stimulates podosome-mediated collagen-IV proteolysis in microvascular endothelial cells. *Journal of Cell Science*, 129 (13), 2586–2598, 10.1242/jcs.186585.
  - 3) 1.1. 2016 **Spuul, P.**; Daubon, T.; Pitter, B.; Alonso, F.; Fremaux, I.; Kramer, I.; Montanez, E.; Genot, E. (2016). VEGF-A/Notch-Induced Podosomes Proteolyse Basement Membrane Collagen-IV during Retinal Sprouting Angiogenesis. *Cell Reports*, 17 (2), 484–500, 10.1016/j.celrep.2016.09.016.

a. uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISEs.

---

<sup>2</sup> Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

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

Pirjo Spuul, Geenitehnoloogia osakond, G.F. Parrot Eesti-Prantsuse koostööprogrammi reisigrant, mis hõlmab aastaid 2017-2018

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

2.17 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).

2.18 Uurimisgrupis osalenud järeldoktorite ning TTÜ-st järeldoktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järeldoktori nime, päritolumaa ja asutuse, järeldoktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järeldoktorit rahastatakse).

Soovi korral esitatakse muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

#### **2.1.10 Agne Velthut-Meikase uurimisrühm**

- uurimisrühma nimetus;  
**Agne Velthut-Meikase - Reproduktiivbioloogia uurimisrühm**
- uurimisrühma nimetus inglise keeles;  
**Research group of reproductive biology of Agne Velthut-Meikas**
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht;  
Agne Velthut-Meikas, PhD. TTÜ KBI dotsent alates 01.01.2017.
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);  
Ilmatar Rooda, MSc. Doktorant.
- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

Viljatus on ülemaailmne probleem, millel on nii meditsiiniline, sotsioökonomiline kui ka psühholoogiline mõõde. Euroopa Reproduktiivbioloogia ja Embrüoloogia Seltsi hinangul vajab meditsiinist sekkumist oma bioloogilise järglase saamiseks umbes 15% paaridest ning see protsent ei sõltu maailmajaost ega majandustasemest ([www.eshre.eu](http://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 hukkamisele 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.

2016. aastal jätkus teadustegevus, mis põhines Agne Velthut-Meikase publikatsioonis (Velthut-Meikas et al., 2013) ja Ilmatar Rooda magistritöös (Rooda, 2015) saadud tulemustel. Uuriti eelkõige mikroRNAde sihtmärkgeene ning nende rolle ovulatsioonieeles munasarja folliikulis.

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](http://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 2016 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.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

Puuduvad

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

Koostöö Tervisetehnoloogiate Arenduskeskusega. Agne Velthut-Meikas osales Tervisetehnoloogiate Arenduskeskuse teadlastega kahe publikatsiooni loomises, mis on hetkel esitatud avaldamiseks 1.1 kategooria teadusajakirjadesse:

1. „Meta-signature of human endometrial receptivity: a meta-analysis and validation study of transcriptomic biomarkers“ Altmäe S, Koel M, Võsa U, Adler P, Suhorutšenko M, Laisk-Podar T, Kukushkina V, Saare M, **Velthut-Meikas A**, Krjutskov K, Aghajanova L, Lalitkumar L, Gemzell-Danielsson K, Giudice L, Simón C, Salumets A (submitted).
2. „DNA methylation changes in endometrium and correlation with gene expression during the transition from pre-receptive to receptive phase“ Kukushkina V, Modhukur V, Suhorutšenko M, Peters M, Magi R, Rahmioglu N, **Velthut-Meikas A**, Altmäe S, Esteban FJ, Vilo J, Zondervan K, Salumets A, Laisk-Podar T (submitted)

2016. aastal oli Agne Velthut-Meikasel tööleping Tervisetehnoloogiate Arenduskeskusega teaduri ametikohal ning Ilmatar Roodal laborandi ametikohal.

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

Kuna uurimisrühm alustas tööd augustis 2016, siis ei ole esitada hetkel ühtegi avaldatud artiklit.

- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Puuduvad

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

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

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

2.21 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).

2.22 Uurimisgrupis osalenud järeldoktorite ning TTÜ-st järeldoktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järeldoktori nime, päritolumaa ja asutuse, järeldoktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järeldokorit rahastatakse).

Soovi korral esitatakse muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

## 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.

### 2.1.11 Allan Olsper'ti uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus; Olsper'ti rühm
- uurimisrühma nimetus inglise keeles; Olsper't group
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; Allan Olsper't, teadur
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant); Kairi Kärblane, insener
- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääri vad teadustulemused

Uurimisgrupis taimeviiruste ning nende peremeeste vaheliste interaktsioonide ning dünaamika determinantide uurimisega. Positiivse polaarsusega RNA genoomiga viiruste perekonnas Potyviriidae kasutatakse geenide avaldumiseks 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 infektsioonitsükli le. 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 potyviriuste 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 rakenduslikku perspektiivi eelkõige taimekaitses ja põllumajanduses. Samas kasutavad sarnast transkriptsioonilist libisemist ka mitmed meditsiiniliselt olulised inimese patogeendid

nagu näiteks leetrite, mumpsi ja Ebola viirus. Sellest lähtuvalt võib viraalsete polümeraaside libisemise, vigaste või eesmärgipäraselt modifitseeritud genoomide esinemissageduste ning vastavate RNA-de sihtkohtade uurimine omada täiendavat mõju.

Uurimisrühm on loodud 2016 aastal. Sellest lähtuvalt on seni põhiliselt tegeletud TTÜs uurimustöö aluseks olevate meetodikate ja süsteemide välja töötamise ning testimisega. Selle käigus avastati regioone potyviiiruste genoomi 5' otsas, mis erinevalt varasematele tulemustele pole viiruse infektsioonil ja replikatsioonil vajalikud. Töörühma liikmete varasemate avaldatud andmete ja täiendavate tulemuste põhjal on õpitud tundma transkriptsioonilise libisemise mehhanismi determinante. Tuvastatud on libisemist mõjutavad nukleotiidid ning tegeletakse nende toimemehhanismide täpsema kirjeldamisega.

The research is focused on the interaction between plant viruses and their hosts. In positive-strand RNA virus family Potyviridae, the mechanism of transcriptional slippage is used for the regulation of 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 perspective wider impact in crop protection and agriculture. Furthermore, 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 have implications beyond the fore-mentioned fields.

The research group was established in 2016. Preliminary work has focused on establishing credible methodology and experimental setup to tackle the scientific questions at hand. During this we have found regions in the 5' area of potyviral genome that in contrast to the earlier results are not necessary for replication and viral infection. Based on the published data and additional experiments we have described the determinants and characteristics of transcriptional slippage. We have found key nucleotide positions involved in modulating slippage rate a testing the method of action of these nucleotides.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest; TTÜ noorteadlase baasfinantseerimine
  - uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest); Dr. Andrew E. Firth, University of Cambridge, UK
  - uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);
    1. Olspert, Allan.; Hosmillo, Myra.; Chaudry, Yasmine.; Peil, Lauri; Truve, Erkki; Goodfellow, Ian. (2016). Protein-RNA linkage and posttranslational modifications of feline calicivirus and murine norovirus VPg proteins. *PeerJ*, 4, e2134, 10.7717/peerj.2134.
    2. Untiveros, Milton; Olspert, Allan; Artola, Katrin; Firth, Andrew E; Kreuze, Jan F; Valkonen, Jari P T (2016). A novel sweet potato potyvirus open reading frame (ORF) is expressed via polymerase slippage and suppresses RNA silencing. *Molecular plant pathology*, 17 (7), 1111–1123, 10.1111/mpp.12366.
    3. Olspert, Allan; Carr, John P; Firth, Andrew E (2016). Mutational analysis of the Potyviridae transcriptional slippage site utilized for expression of the P3N-PIPO and P1N-PISPO proteins. *Nucleic acids research*, 44 (16), 7618–7629, 10.1093/nar/gkw441.
  - uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).
- 1.1 Loetelu uurimisrühma töötajate olulisematest sise- ja välisriiklikest T&A-ga seotud tunnustustest (töötaja nimi, allüksus ning tunnustus). -

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

1.3 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). -

1.4 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 doktori nime, päritolumaa ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse). -

#### 2.1.12 Mart Speek'i uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus; Transkriptsiooniline interferents
- uurimisrühma nimetus inglise keeles; Transcriptional interference
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; Mart Speek, dotsent (assistant professor)
- uurimisrühma liikmed - puuduvad
- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamise)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääri vad teadustulemused

Geeni transkriptsiooni reguleeritakse läbi kromatiini remodelleerijate, epigeneetiliste modifikatsioonide ja RNA polümeraasi vastastikku mõjuvate interaktsioonide võrgustiku. Kromatiini struktuuri või RNA polümeraasi liikluse hälb ed võivad põhjustada geeniekspressioonis olulisi muutusi. Hiljuti näitasime, et introonsed L1 retrotransposoonid ja mitte-kodeeriva RNA geenid põhjustavad transkriptsioonilist interferentsi (TI) paljudes inimese geenides. Seda uudset geeniregulatsiooni kontseptsiooni iseloomustab intronite splaissimata jätmine, sunnitud eksonisatsioon ja krüptiline polüadenüleerimine. Nende efektide molekulaarsed seosed nii normaalses kui haiguslikus olukorras on teadmata. Antud projektis uurime TI molekulaarseid aluseid kasutades nukleosoomide skaneerimist, RNA polümeraasi profileerimist jt meetodeid. TI mehhanisme on oluline selgitada selleks, et uurijad mõistaksid paremini erinevate inimese haiguste molekulaarseid aluseid ja töötaksid välja efektiivseid geeniteraapiaid.

Alzheimeri haigusega seotud uurimistö o põhiline takistus seisneb amüloid beeta prekursorvalgu proteolüüsi fundamentaalsete teadmiste puuduses, ehk täpsemini, kuidas reguleeritakse selle valgu tootmist rakus ja miks toimub polüpeptiidi akumulatsioon. Selles protsessis osalevad kaks proteaasi, beeta- ja gamma-sekretaasid, kusjuures esimene neist (BACE1) on määrava tähtsusega proteolüüsi kiirust reguleeriv valk. On oluline lisada, et peaaegu midagi ei ole teada kuidas toimub BACE1 regulatsioon. Hiljutised uuringud on näidanud, et antisens, pikk ja mittekodeeriv RNA (BACE1-AS) on oluline selle regulaator ja võib oluliselt mõjutada BACE1 eksressiooni läbi transkriptsioonilise interferentsi. Meie näitasime hiljuti, et pikad mittekodeerivad RNAd võivad olla seotud suure hulga inimese geenide regulatsiooniga (Kaer et al., PLoS One. 2011;6(10):e26099). Seejuures pakkusime välja, et BACE1 regulatsioon võib toimuda kromatiini tasandil läbi RNA polümeraasi terminatsiooni, nukleosoomide okupatsiooni ja epigeneetilist märkide. Projekti algusfaasis määrasime BACE1-AS transkriptide jaotuse 14 inimese koes. Kaardistasime transkriptsiooni initsiatsiooni ja terminatsiooni saidid, ning määrasime oletatavate promootorite asukohad. Usume, et antud informatsiooni on oluliseks lähtepunktiks järgnevatele uuringutele, mille abiga on võimalik paremini mõista BACE1-AS rolli Alzheimeri haiguses.

-----  
(ingl k-s)

Gene transcription is regulated by complex interplay of interactions between chromatin remodelers, histone and DNA chemical modifications and RNA polymerase II. Perturbations in chromatin structure or RNA polymerase traffic could result in changes or disruption of gene expression. We have recently

demonstrated that intronic L1 retrotransposons and long non-coding RNA genes cause transcriptional interference (TI) in large number of human genes. This novel concept of gene regulation is characterized by intron retention, forced exonization and cryptic polyadenylation. However the molecular details of these effects in normal as well as disease conditions are unknown. We plan to study the molecular basis of TI by using nucleosome scanning, RNA polymerase profiling by ChIP and various other techniques. We believe that deciphering the molecular mechanisms of TI is important to understand the molecular basis of different human diseases in order to develop effective strategies for gene therapy.

A major obstacle in Alzheimer disease (AD) 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. Two proteases, termed beta- and gamma-secretase, are directly involved in this process. Importantly, a rate limiting step in accumulation of amyloid beta is proteolysis by beta-secretase. However, almost nothing is known about the regulation of beta-secretase gene BACE1. Recent studies suggested that a noncoding RNA, 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 long noncoding RNAs are involved in transcriptional interference of large number of human genes (Kaer et al., PLoS One. 2011;6(10):e26099). We propose that studies on the BACE1 regulation at chromatin level (nucleosome occupation, RNA polymerase elongation, epigenetic marks, promoter analysis, etc) would help to reveal the critical role of anti-BACE1 noncoding RNA (AS) in AD. In the initial phase of study, we determined distribution of BACE1-AS transcripts in 14 different human tissues. We also mapped transcription initiation and termination sites of these transcripts and determined the locations of putative promoters. This information would help to better understand the functional role of BACE1-AS in Alzheimer disease.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

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

- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);
  - puudub
- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);
  1. Mölder, T.; Speek, M. (2016). Accelerated RNA-RNA hybridization by concentrated guanidinium thiocyanate solution in single-step RNA isolation. *Biotechniques*, 61 (2), 61–66, 10.2144/000114441.
  2. Tee, M. K.; Speek, M.; Legeza, B.; Modi, B.; Teves, M. E.; McAllister, J. M.; Strauss, J. F. 3rd; Miller, W. L. (2016). Alternative splicing of DENND1A, a PCOS candidate gene, generates variant 2. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 434, 25–35, 10.1016/j.mce.2016.06.011.
- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).
  - puuduvad

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

2.23 - 1.7 – puudub (ei ole midagi lisada)

### 2.1.13 Andres Valkna uurimisrühm



- uurimisrühma nimetus – Angiogeneesi uurimisrühm;
- uurimisrühma nimetus inglise keeles – Angiogenesis research group;
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht – Andres Valkna, dotsent;
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Taavi Päll, PhD – vanemteadur, lektor

Anne Pink, PhD – vanemteadur

Marianna Školnaja – doktorant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

Uute veresoonte moodustumine olemasolevatest ehk angiogenees on normaalne füsioloogiline protsess. Kus kasvufaktorite vahendusel moduleeritakse tasakaalu veresooni moodustavate endoteelirakkude proliferatsiooni ja apoptoosi vahel. Angiogenees on oluline ka patoloogiates, k.a. kasvaja arengus

Oleme hiljuti näidanud, et hüaluroonhappe (HA) retseptorvalgu CD44 lahustuv ekstratsellulaarne domään on võimeline inhibeerima veresooni moodustavate endoteelirakkude proliferatsiooni, kirjeldatud efekt realiseerub in vivo tuumorimudelites tuumori kasvukiiruse olulises vähenemises.

Uurimistöö eesmärgiks on täpsemalt kirjelda mehhanisme, mis vahendavad seda fenomeni, kasutades erinevaid funktsionaalgenoomika ja transkriptomika meetodeid. Uurime ka angiogeneesi laiemat.

Meie rühma töö on oluline avardamaks meie teadmisi angiogeneesi molekulaarsetest mehhanismidest ja CD44 osast selles ja üldisemalt CD44 füsioloogilistest efektidest. Saadud tulemustel võiks olla ka praktiline rakendus uute angiogeneesi moduleerivate ravimite arenduses.

2016. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:

Eelmisel aastal publitseerisime tulemused, kus näitasime, et CD44 KO hiirtes on veresoonte areng vastuseks pro-angiogeneetilistele kasvufaktoritele oluliselt kiirenenud võrdluses WT hiirtega. Nimetatud tulemus korreleerub väga hästi meie eelnevate tulemustega ning on annavad aluse arvata, et CD44 ja CD44 lahustunud vormid on füsioloogilised angiogeneesi alla suruvad molekulid. CD44 rekombinantselt toodetud vormid (CD44-3MUT) jäljendavad eelpoolnimetatud füsioloogilist efekti ja seega võiksid leida kasutust angiogeneesi inhibiitoritena.

Angiogenesis, a formation of new blood vessels from pre-existing vessels is a normal physiological process that is closely linked with cell proliferation and apoptosis of vascular endothelial cells. It is a fundamental step in transition of benign tumors to malignant.

We have recently discovered that soluble extracellular domain of CD44, a cell surface protein functioning as a receptor for hyaluronan (HA), is capable to inhibit vascular endothelial cell proliferation. This effect ultimately realizes in inhibition of tumor growth in vivo.

The aim of the research is to further investigate the molecular mechanism of CD44-mediated angiogenesis inhibition and angiogenesis wider. We will exploit it using traditional methods in cell- and molecular biology but also using of functional genomics and transcriptomics.

Our work is important to understand fundamental aspects of Angiogenesis. Realization of the research will widen the basic understanding of the mechanisms of angiogenesis and could lead to a development of new anti-angiogenic drugs

Most important results in 2016 were the following:

Our recently published results show that CD44 KO mice display significantly higher blood vessel growth in response to angiogenesis stimulation in vivo than wild type mice. This strongly supports our previous results and suggests that CD44 and/or its soluble forms could function as physiological angiogenesis inhibitors. Systemic delivery of CD44-3MUT most probably mimics the effect of endogenous sCD44.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest; PUT 698 (Eesti Teadusagentuur) „ CD44: uus angiogeneesi mehhanism ja ravimärklaud: “

- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest); Prof. Andres Salumets, Tartu Ülikool, Meditsiiniteaduste valdkond, Bio- ja siirdemeditsiini instituut,

- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit

1. Pink, A.; Skolnaja, M.; Päll, T.; Valkna, A. (2016). CD44 Controls Endothelial Proliferation and Functions as Endogenous Inhibitor of Angiogenesis. bioRxiv, -, **10.1101/049494** (ETISE klassifikaator 6.6).

- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

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

-

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

Andres Valkna:

Vähiuuringute teadus- ja arenduskeskuse nõukogu liige

2.26 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).

2.27 Uurimisgrupis osalenud järeldoktorite ning TTÜ-st järeldoktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järeldoktori nime, päritolumaa ja asutuse, järeldoktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järeldoktorit rahastatakse).

## 2.2 Keemia osakond

### 2.2.1 D. Kananovich'i uurimisrühm

Report of research grant/project financed under base-line funding

Project title and number	<b>Smart synthesis with small cycles: exploring chemistry of the activated cyclopropanes, B58</b>
Head of the research group	Dzmitry Kananovich

Project start	01/09/2016
Project end	01/09/2019
Faculty	Faculty of Science
Department	Department of Chemistry and Biotechnology

Activities/outcomes in the reporting year	Added at the end of the document
-------------------------------------------	----------------------------------

### Staff involved (2017)

Name	Position / doctoral candidate / master`s candidate	Work load in project
Dzmitry Kananovich	Senior research scientist	1.0
Marina Kudrjashova	Senior research scientist	0.5
Yevgen Karpichev	Senior research scientist	0.5
Victor Borovkov	Senior research scientist	0.5
Irina Osadchuk	PhD student	0.5
Nele Konrad	Bachelor student	1.0
Yuri Ermolovich	Research scientist	1.0
Gabor Zoltan Elek	PhD student	1.0
Yulia Konik	visiting PhD student	1.0

### Activities/outcomes in 2016

(1<sup>st</sup> September 2016 – 31<sup>st</sup> December 2016)

#### 1. Supervision activities and building a research team

A small research group has been created. The members of the research group in 2016 are:

1. Dr. Dzmitry Kananovich – head of the group and principal investigator;
2. Post-doctoral researcher Dr Yuri Ermolovich has joined the group in October 2016. His tasks currently include investigation of cyclopropane C-H activation reactions as one of the principal goals of the current project.
3. PhD student Gabor Zoltan Elek (1<sup>st</sup> year). The supervisors are: Dr. Dzmitry Kananovich and Prof. Margus Lopp. Gabor Elek joined the group in September 2016. The main task of Gabor Elek work is a „pioneering“ of a new research area - combining benefits of metal catalysis, organocatalysis and green chemistry, using activated cyclopropanes as substrates.
4. Visiting PhD student Yulia Konik (Belarusian State University) has joined the group for the short scientific mission (September 2016 – February 2017). Supervisor – Dr. Dzmitry Kananovich. Her task is developing of novel route to distally fluorinated ketones from cyclopropanols.
5. BSc student Nele Konrad (2<sup>nd</sup> year). The main tasks of her work are: synthesis of starting materials for the project; studying of host-guest interactions using UV, CD and NMR spectroscopy. The supervisors are: Dr. Dzmitry Kananovich, Dr. Riina Aav. Nele Konrad is expected to continue her studies as a Master student after 1.09.2017 (supervisor – Dr. Kananovich).
6. PhD student Irina Osadchuk (supervisor – Prof. Toomas Tamm). Her task is to support our research by quantum chemistry calculations.

#### 2. Publication activities

a) *Published papers:*

##### Design and validation of novel chikungunya virus protease inhibitors

Pratyush Kumar Das, Laura Puusepp, Finny S. Varghese, Age Utt, Tero Ahola, Dzmitry G. Kananovich, Margus Lopp, Andres Merits and Mati Karelson, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2016**, doi: 10.1128/AAC.01421-16.

<http://aac.asm.org/content/early/2016/09/20/AAC.01421-16.abstract>

Chikungunya virus (CHIKV, genus Alphavirus) is the causative agent of chikungunya fever. CHIKV replication can be inhibited by some broad-spectrum antiviral compounds; in contrast there is very little information about compounds specifically inhibiting the enzymatic activities of CHIKV replication proteins. These proteins are translated in the form of a nonstructural (ns) P1234 polyprotein precursor from the CHIKV positive-strand RNA genome. Active forms of replicase enzymes are generated using the autoproteolytic activity of nsP2. The available 3D-structure of nsP2 protease has made it a target for *in silico* drug design; however, thus far there is little evidence that the designed compounds indeed inhibit the protease activity of nsP2 and/or suppress CHIKV replication. Here, a set of 12 compounds, predicted to interact with the active center of nsP2 protease, was designed using target-based modeling. The majority of these compounds were shown to inhibit the ability of nsP2 to process recombinant protein and synthetic peptide substrates. Furthermore, all compounds found to be active in these cell-free assays also suppressed CHIKV replication in cell culture; the effective concentration 50 (EC<sub>50</sub>) of the most potent inhibitor being ~1.5 μM. Analysis of stereo-isomers of one compound revealed that inhibition of both the nsP2 protease activity and CHIKV replication depended on the conformation of the inhibitor. Combining the data obtained from different assays also indicates that some of the analyzed compounds may suppress CHIKV replication using more than one mechanism.

b) *Submitted manuscript:*

**Synthesis of stereochemically pure (*E*)- and (*Z*)-alkenoic acids and their methyl esters from bicyclo[n.1.0]alkan-1-ols. Application to the synthesis of insect pheromones.**

Dzmitry M. Zubrytski, Evgenij A. Matjushenkov and Dzmitry G. Kananovich. Submitted to: *Russ. J. Org. Chem.* The oxidative cleavage of exo- and endo-alkyl and hydroxyalkyl substituted bicyclo[n.1.0]alkan-1-ols with phenyliodine(III) diacetate in methanol leading to methyl alkenoic esters with exclusive formation of (*E*)- or (*Z*)-double carbon-carbon bond was employed as a key step in the synthesis of stereochemically pure components of pheromones of insect pests: (*E*)-dodec-9-en-1-yl acetate (European pine shoot moth *Rhyacionia buoliana*), (*Z*)-tetradec-11-en-1-yl acetate (European oak leafroller *Tortrix viridana*), (3*E*,8*Z*,11*Z*)-tetradeca-3,8,11-trien-1-yl acetate (tomato leaf miner *Tuta absoluta*).

c) *Manuscript in preparation:*

**Facile Two-step Conversion of Carboxylic Esters into Distally Fluorinated Ketones via Ring Cleavage of Cyclopropanol Intermediates**

Yulia A. Konik, Marina Kudrjashova, Nele Konrad, Nicholas Gathergood, Margus Lopp and Dzmitry G. Kananovich; to be submitted in February 2017.

In this paper, we describe novel copper-catalyzed oxidative ring-opening reaction of tertiary cyclopropanols leading to synthetically valuable fluorinated ketones. Easily available sodium triflinate (Langlois reagent) and related sulfinates have been utilized as sources of fluorinated groups.

**Facile and environmentally benign aerobic cascade oxidation of substituted cyclopentane-1,2-diones using metalloporphyrin catalysts**

Karolin Maljutenko, Victor Borovkov, Dzmitry Kananovich and Margus Lopp; to be submitted in January 2017.

Herein we report a new facile and environmentally benign method for the aerobic cascade oxidation of cyclopentane-1,2-diones by using metal porphyrins as catalysts, yielding products of important biologically active compounds. This method is operationally simple, does not require the use of harmful oxidants and reductants, and can be employed under ambient conditions.

**Alkyltitanium ate complexes generated from Grignard reagents and titanium(IV) TADDOLates: NMR and computational study**

Dzmitry G. Kananovich, Yulia A. Konik, Jasper Adamson, Marina Kudrjashova, Indrek Reile, Irina Osadchuk, Toomas Tamm, Margus Lopp, Victor Snieckus and Oleg G. Kulinkovich; to be submitted in 2017.

In this work, we present the results of variable temperature NMR and a computational study of pentacoordinated alkyltitanium ate complexes which are intermediate species in the asymmetric variant of Kulinkovich cyclopropanation.

### 3. Conference presentations

a) *Poster:*

#### **Alkyltitanium ate complexes as intermediates in asymmetric Kulinkovich reaction: NMR and computational study**

Dzmitry G. Kananovich, Jasper Adamson, Irina Osadchuk. Presented at: *9<sup>th</sup> Asian-European Symposium on Metal-Mediated Efficient Organic Synthesis (AES-2016)* – Stockholm, Sweden, 4 – 7 September 2016.

b) *Oral presentation:*

#### **Quest for asymmetric generation of titanacyclopropane reagents: chasing enantioselectivity in cyclopropanation of carboxylic esters**

Dzmitry G. Kananovich. Presented at: *C-H Activation in Organic Synthesis (CHAOS) COST Action Meeting*, Vienna, Austria, 26 – 28 September 2016.

### 4. International Networking

Dr. Kananovich is a managing committee member to represent Estonia in COST Action CA15106 “*C-H Activation in Organic Synthesis*” (CHAOS).

Dr. Kananovich attended COST Action meeting in Vienna, 26-28 September 2016. He presented oral talk to describe his scientific work (see above) as well as other activities at the Chairs of Green and Organic Chemistry, which are relevant to the objectives of the Action.

As a part of international cooperation, it was proposed to host 1<sup>st</sup> training school of the CHAOS COST Action in Tallinn in August 2017. Dr. Kananovich was elected as a training school coordinator for the whole term of the current COST Action.

Inside of the action, the following cooperation links have been established:

- 1) Prof. Zoltán Novák (Eötvös Loránd University, Hungary) – in the field of application of hypervalent iodine reagents for cyclopropane ring cleavage; Prof. Novak send us a sample of novel hypervalent iodine compound for initial testing.
- 2) Prof. Timothy Noel (Eindhoven University of Technology) – discussed possible applications of flow chemistry and photoredox catalysis. Prof. Noel will visit Tallinn in August 2017 to give a talk during the training school.
- 3) Prof. Alexander Kirillov (Instituto Superior Técnico, University of Lisbon, Portugal). Possible cooperation in the field of copper catalysis.
- 4) Prof. Eric Clot (Institut Charles Gerhardt in Montpellier, France) – possible STSM and cooperation in the field of computational chemistry.

Outside the action, we continue collaboration with Prof. Victor Snieckus (Queens University, Canada) who is very interested in our recent results concerning directed metalation of cyclopropanes.

We have a connection with the Department of Organic Chemistry at the Belarusian State University (Minsk, Belarus), well known for the development of cyclopropane chemistry. Visit of Ms. Yulia Konik (PhD student) from BSU is a part of collaboration. Prof. Andrei Bekish from the same university also visited our group in December in order to discuss possible joint projects.

### 5. Cooperation activities inside Estonia and TUT

Inside TUT, we have strong connections with the Chair of Organic Chemistry. The ongoing study in collaboration with Prof. Margus Lopp includes catalytic aerobic oxidation reactions of cyclopropanols, cyclobutanols and cyclopenta-1,2-diones.

As a part of joint research project with Dr. Victor Borovkov (Chair of Green Chemistry), we explore reactions catalyzed by metal porphyrins.

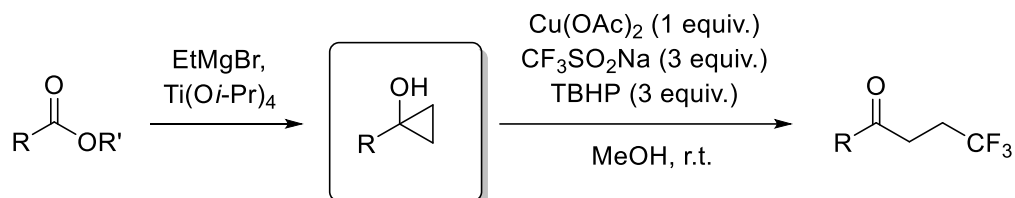
A computational chemistry project (study of alkyltitanium ate complexes) is performed in collaboration with Prof. Toomas Tamm group (chair of inorganic chemistry, TUT).

Additionally, NMR investigations are performed in collaboration with Dr. Jasper Adamson at the National Institute of Chemistry and Biophysics.

## 6. Current progress in implementation of the project tasks

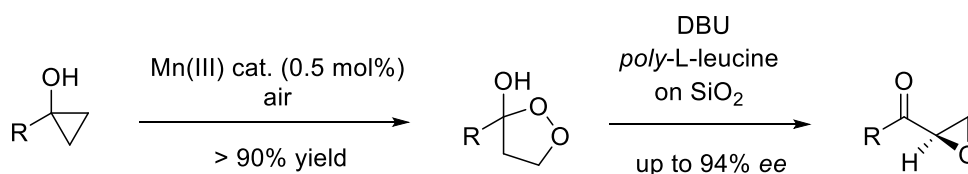
During 4 months of the ongoing project, a considerable progress has been achieved in realization of several project tasks.

1. Yulia Konik has developed facile two-step conversion of carboxylic esters into distally fluorinated ketones via intermediate formation of tertiary cyclopropanols, as depicted on scheme below:



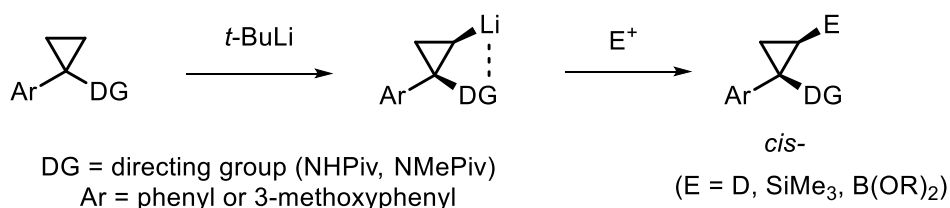
The approach is based on oxidation of sulfinate salts (e.g. sodium triflinate and analogues) with tert-butyl hydroperoxide in presence of copper catalyst. This generate active high valent trifluoromethyl copper species which enable cyclopropanol ring cleavage. The mechanism of the reaction has been studied and intermediate formation of trifluoromethyl copper species has been confirmed by  $^{19}\text{F}$  NMR spectroscopy. The method is suitable for preparation of  $\beta$ -trifluoromethyl ketones as well as similar compounds, e.g. difluoromethyl and difluoroethyl ketones. The manuscript of the paper will be submitted for publication soon (see above).

2. Gabor Elek has elaborated a novel approach for highly enantioselective synthesis of epoxyketones via aerobic oxidation of cyclopropanols. Enantiomerically pure epoxyketones are valuable building blocks for production of pharmaceuticals and bioactive compounds. One of the most effective methods to synthesize epoxyketones is based upon the Weitz-Scheffer epoxidation. However, despite of extensive development of its asymmetric versions in recent decades, there are still several practical shortcomings, e.g. a limited scope of substrates. For example, vinyl ketones cannot be transformed into the corresponding epoxides.



To fill this gap, we have developed a novel facile two-step approach for asymmetric synthesis of epoxyketones from easily available cyclopropanols. Aerobic oxidation of cyclopropanols proceeds readily in the presence of Mn(III) catalysts to afford 1,2-dioxalane-3-ols in high yield (>90%). The latter can be further transformed into the corresponding enantiomerically enriched epoxyketons (with up to 94% ee) by treatment with organic base (DBU) in the presence of immobilized poly-L-leucine catalyst.

3. Dr. Yuri Ermolovich has realized remote metalation of cyclopropanes. Remarkable, that it can be performed selective at cyclopropane C-H bonds even in the presence of neighboring aryl groups.



As we anticipated, the reaction is completely diastereoselective, i.e. occurs at C-H bond from the side of directing group. Lithiated cyclopropane species are configurationally stable, so we expect that elaboration of enantioselective version is also possible. Reactions of metalated species with electrophiles (e.g.  $\text{D}_2\text{O}$ , TMSCl,  $\text{B}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ ) proceed with retention of strained three-carbon ring making this method suitable for

cyclopropane functionalization. We continue screening of appropriate metalation conditions and directing groups, as well as reactions of metalated species with various electrophiles, to determine scope of the method and its limitations. The proposed approach is a useful supplement to recently developed methods of cyclopropane C-H-activation by the means of transition metal catalysis

### 2.2.2 Pavel Starkovi uurimisrühm

uurimisrühma nimetus; Dr P. Starkov'i uurimisrühm

uurimisrühma nimetus inglise keeles; Starkov Group

uurimisrühma juhi nimi, ametikoht;

Dr Pavel Starkov, teadur

Dr Pavel Starkov, Research Scientist (Principal Investigator)

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

1. Dr Pavel Starkov

Teadur (Uurimisrühma juht), Keemia ja biotehnoloogia instituut

2. Mr Rohit Bhadoria

Nooremteadur-doktorant, Kseemia ja biotehnoloogia instituut

uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:

- teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
- uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
- aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused

Dr P Starkov joined Tallinn University of Technology (TTÜ) in 2016 to establish a well-equipped research group in Chemistry. In 2016, he was awarded Estonian Research Council Starting Grant and TTÜ Young Investigator Funding to pursue his independent investigations.

The focus of our group is on **translating** advances in synthetic organic chemistry to the fields of Catalysis, Chemical Biology and Materials Science by means of delivering alternative and/or significantly improved solutions. The work we have embarked on, focusses on development of new frameworks for organocatalysis and transition metal-catalysed processes; extending boron chemistry to create new boron-based reactions, reagents and catalysts; development of new boron-based frameworks for 2D materials and organic cages. Additionally, we work on rewiring innate and aberrant cell signalling processes within the context of a living cell by designing cell-permeable small molecule-based bifunctional constructs. In all these approaches, we rely on growing expertise of our own research group at TTÜ.

In 2016, we initiated several research programmes with a single aim of obtaining strong preliminary and publishable results in order to submit funding applications under the H2020 programme ERC Starting Grant, which is due in late 2017.

We have gained some early insights into new boron-based catalysts and reactions and obtained a new boroxoaromatic building block for the use in 2D framework and organic cages.

We have started work on both cell biology and synthetic chemistry section of our bifunctional small-molecules section. We have created an iterative protocol for efficient preparation of short, medium and

potentially very long linkers of controlled size and carrying orthogonal functionalities for use in our molecular/chemical biology studies.

We prepared a cross-linker equipped version of SU6668, a nonspecific protein kinase inhibitor, for the use in biochemical/mass-spec studies by research groups at the University of Tartu.

Dr P. Starkov liitus Tallinna Tehnikaülikooliga 2016. aastal selleks, et luua interdistsiplinaarse fookusega uurimisrühm, mis spetsialiseerub keemiale. 2016. aastal sai Dr P. Starkov rahastuse SA Eesti Teadusagentuurilt ja TTÜlt noorte teadulaste konkursi raames selle sõltumatu uurimisrühma loomiseks.

Meie uurisrühm tegeleb sünteetilise orgaanilise keemia edusammude rakendusega (translational organic chemistry; siirdeorgaaniline keemia) suurema lisandväärtusega valdkondades - nt katalüüs, keemiline bioloogia ja materjaliteadus - pakkudes oluliselt täiustatud ja/või alternatiivsed lahenduseid. 2016. a. oleme alustanud uute, booril põhinevate raamistikute (frameworks) loomisega 2D materjalide ja orgaaniliste puuride (organic cages) jaoks. Loomes uut tüüpi katalüsaatoreid organokatalüütiliste protsesside jaoks, siirdemetallidega katalüüsitud protsesse ja booril põhinevaid uusi keemilisi transformatsioone. Lisaks sellele arendame bifunktsionaalseid molekule, mis on võimelised interakteerima kahe erineva valguga elusa raku sees ning kasutame muutusi fenotüübis otseste anduritena niisuguse aktiivsuse määramiseks. Kõikides oma projektides toetume arusaamale, et tugev TTÜ uurimisrühm peab kasvatama oma potentsiaali TTÜ juures, vajadusel läbi koostöö välisülikoolide uurimisrühmadega.

Alustasime ka mitme teadussuuna uurimisega selleks, et koguda tugevaid alusandmeid (preliminary data) 2017. aasta lõpus ERC Starting Grant'i taotlemiseks. 2017. aasta jooksul avaldame ka oma uurimisrühma esimesed tulemused artikli(te) näol.

Selle aastaga saime alusandmed booril põhinevate uute katalüsaatorite ja reaktsioonide väljatöötamiseks ning saime kätte uue boroksoaromaatsel ühendil baseeruva ehituskivi, mida kavatsime rakendada uutes 2D raamistikutes (2D frameworks) ja orgaanilistes puurides (organic cages).

Meie bifunktsionaliseeritud molekulide projekti raames oleme alustanud tööd rakubioloogia ja sünteetilise keemia vallas. Oleme loonud meetodi kontrollitud suurusega lühikeste, keskmiste ja potentsiaalselt väga pikkade linkerite tõhusaks sünteesiks. Nad on ortogonaalselt modifitseeritud selleks, et võimaldada selektiivset edasist modifitseerimist.

Oleme valmistanud cross-linker'iga varustatud versiooni mittespetsiifilise proteiinkinaasi inhibiitorist SU6668. Selle keemilise proovi (chemical probe) võtavad kasutusele uurimisrühmad TTÜs ja TÜs ning kasutavad edaspidistes biokeemilistes ja mass-spektromeetrilistes uuringutes.

#### **loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;**

Dr P. Starkov:

– **Estonian Research Council Starting Grant (PUT1290)**

*A Chemical Approach to Protein–Protein Interactions*

EUR 55 200 pa (Duration: 4 years; Starting from 2016)

– **TTÜ Young Investigator Grant (B62)**

*New Avenues in Translational Organic Chemistry*

EUR 20 850 pa (Duration: 3 years; Starting from 2016)

Dr P. Starkov:



– **SA Eesti Teadusagentuur (PUT1290)**

*Uudne lähenemine valk–valk interaktsioonidele keemilise bioloogia abil*

EUR 55 200 aastas (Kestvus: 4 a; 2016–2019)

– **TTÜ noorteadlase toetuse konkurs (B62)**

*Uued suunad siirdeorgaanilises keemias*

EUR 20 850 aastas (Kestvus: 3 a; 2016–2019)

**uurimisrühma liikmete koostöö<sup>1</sup> teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest)**

In regard to our own independent research initiatives along the Chemistry–Biology Interface (incl. Medicinal Chemistry and Chemical Biology), we have established close collaborative network with the following group leaders:

Dr P Spuul	TTÜ	Dept of Chem & Biotech
Dr DJ Mann	Imperial College London	Dept of Life Sci
Prof US Eggert	King’s College London	Randall Div of Mol Cell Biophysics

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

Lanigan, R. M.; Karaluka, V.; Sabatini, M.; **Starkov, P.**; Badland, M.; Boulton, L.; Sheppard, T. D. *Chem. Commun.* **2016**, 52, 8846. DOI: 10.1039/C6CC01289B

(highlighted in *Synfacts 09/2016* and *American Chemical Society Cutting Edge Chemistry*)

**uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).**

Not applicable

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

Not applicable

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

**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 välisorganistatsiooni nimetus).**

From 2016 onwards, Dr P. Starkov is a Member of Management Committee of COST Action 15135 – Multi-target paradigm for innovative ligand identification in the drug discovery process (MuTaLig).

**Uurimisgrupis osalenud järeldoktorite ning TTÜ-st järeldoktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järeldoktori nime, päritolumaa ja asutuse, järeldoktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järeldoktorit rahastatakse).**

Not applicable

Soovi korral esitatakse muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

### 2.2.3 Margus Loppi uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus; oksüdatsiooni uurimisrühm
- uurimisrühma nimetus inglise keeles; research group of oxidation
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; Margus Lopp, professor
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Anne Paju, vanemteadur

Aleksander- Mati Müürisepp, vanemteadur

Dzmitry Kananovich O.25, teadur

Karolin Maljutenko, doktorant teadur,

Gabor Elek, doktorant, nooremteadur

Marek Kõllo, doktorant, teadur

Eleana Lopušanskaja, magistrant

Tööstuskeemia allrühm (subgroup industrial chemistry):

Gert Preegel, teadur

Allan Niidu, teadur

Kristiina Lips, insener

Tiina Aid, doktorant, teadur

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles),

Tegeldakse peamiselt asümmeetriliste katalüütiliste oksüdatsioonireaktsioonide uurimisega. Uuritakse nii organokatalüütilisi kui ka metallkatalüütilisi reaktsioone. Metallkatalüüsil uuritakse erinevaid metalle ja nende komplekse mitmete liganditega oksüdatsiooni katalüsaatoritena. Organokatalüütilistest reaktsioonidest pööratakse tähelepanu erinevate kiraalsete katalüsaatorite ja faasiülekande ligandite kasutamisevõimaluste. Uuritakse asümmeetriliste reaktsioonide kasutamist loodustlike ja teiste bioaktiivsete ühendite sünteesiks. Tööstuskeemia allrühm uurib erinevte loodusliku biomassi ja organislte maavarade muundamist kasulikeks keemiaproduktideks. Saadud tähtsamad tulemused:

- 1) Bioaktiivsete ühendite struktuur-aktiivsus seoste selgitamisel sünteesiti rida uusi struktuure, mis testiti nende viirusevastaste Trk retseptorite antogonistide omaduste järgi. 1
- 2) Leiti huvitav ratseemiliste epoksiidide kineetilise lahutamise viis kiraalsete Ti- kompleksidega.
- 3) Uuriti bioloogilise massi katalüütilise degradeerimise võimalusi taastuvate tooraineresursside kasutamiseks keemiatööstuse sisendtoorainetena

The main research objects of the group is asymmetric catalytic oxidation reactions. Both, organocatalytic and metal-catalyzed reactions are studied. From metal-catalyzed reactions different metal complexes and ligands for asymmetric oxidation reactions were studied. From organocatalytic reactions use of chiral catalysts and phase transfer catalysts were studied. Also, use of different asymmetric chemistry methods in the synthesis of natural and other bioactive compounds is studied. The industrial chemistry subgroup is studying biomass degradation possibilities and oil shale kerogen oxidation possibilities in order to obtain necessary valuable chemicals. The main results are:

1. New bioactive compounds were synthesized and tested on their anti-viral and on Trk receptor antagonist activity. Structure- activity relationship was elucidated.

2. A new method to perform kinetic resolution of several racemic epoxides with chiral Ti-complexes was developed
3. The possibilities to transform biomass to necessary chemicals and methodology to analyze the results was studied and developed.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

Margus Lopp:

IUT 19-32 juht; Molekulaarse Rakutehnoloogia Tippkeskuse (TK143) keemilise sünteesi rühma juht; Leping Cambrex AS-iga SS283;

Allan Niidu:

Galv-Est AS, Lep. 16029

- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest); koostöö Tartu Ülikooliga (prof. Merits, prof. Tenson, prof. Karelson)
- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);

1. Pratyush Kumar Das, Laura Puusepp, Finny S. Varghese, Age Utt, Tero Ahola, Dzmitry G. Kananovich, Margus Lopp, Andres Merits and Mati Karelson. Design and Validation of Novel Chikungunya Virus Protease Inhibitors, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2016**, 7382-7395.
2. Tammiku-Taul, J.; Park, R.; Jaanson, K.; Luberg, K.; Dobchev, D.A.; Kananovich, D., Noole, A.; Mandel, M.; Kaasik, A.; Lopp M.; Indole-like Trk receptor antagonists, *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 541-552.
3. Maljutenko, Karolin; Paju, Anne; Jaerving, Ivar; Margus Lopp et al. Kinetic resolution of epoxy alcohols with the Sharpless Ti-isopropoxide/tartaric ester complex 608-613 .

Tööstuskeemia allrühm:

- 1 Aid, Tiina; Paist, Loore; Lopp Margus; et al An optimized capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of biomass degradation products in ionic liquid containing samples. *J. Chromatography A*, **2016**, 141-147.

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

Gert Preegel, Riiklik teadustööde konkurss, Loodusteaduste valdkonnas, doktoritööde II koht.

Kristiina Lips, Riiklik teadustööde konkurss, Loodusteaduste valdkonnas, magistritööde II koht.

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

M.Lopp, professor – TTÜ Kuratoorimi liige

M.Lopp Keemia ja biotehnoloogia instituudi nõukogu liige;

M.Lopp, professor - riikliku programmi „Eestikeelsed kõrgkooliõpikud 2013-2017 juhtkomitee liige

M.Lopp, Eesti Keemiatööstuse Liidu juhatuse liige;

M.Lopp, Säästliku arengu komisjoni liige

M.Lopp. Nutika Spetsialiseerumise hindamiskomisjoni liige

M.Lopp, valitsuse Kõrghariduse reformi rakkerühma liige,

M.Lopp, Teeme+ hindamiskomisjoni 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).

M. Lopp, Eesti Teaduste Akadeemia liige, Akadeemia peasekretär,

M.Lopp, EASAC juhatuse liige

G.Preegel, Eesti Noorte Teaduste Akadeemia asutajaliige

2.28 Uurimisgrupis osalenud järeldoktorite ning TTÜ-st järeldoktorantuuri suundunud uurimisgrupi töötajate loetelu (nii ETIS-e kaudu esitatud taotluste kui muude meetmete alusel näidates ära järeldoktori nime, päritolumaa ja asutuse, järeldoktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järeldoktorit rahastatakse).

Allan Niidu, Chicaga Ülikool, Fulbright'i stipendium

#### 2.2.4 Raivo Vilu uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus – R. Vilu uurimisrühm;
- uurimisrühma nimetus inglise keeles – R. Vilu lab;
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht – Raivo Vilu, professor;
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Peep Pitk - projektijuht

Andrus Seiman – insener

Taivo Lints – insener

Henri Ingelman – nooremteadur, doktorant

Kättrin Karu – nooremteadur, doktorant

Georg Arju – nooremteadur, doktorant

Olga Gavrilova – teadur

Reimo Priidik – insener, magistrant

Kaia Kolk - doktorant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)
  - uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)
  - aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriivad teadustulemused

Labori uurimistöö põhisuundadeks on bakterite süsteemibioloogia, bakterite metabolismi modelleerimiseks mudelite väljatöötamine ning tarkvara arendamine, oomikameetodite arendamine, toidutehnoloogiaalased rakendusuuringud, keskkonnatehnoloogilised uuringud ning toitumisalased uuringud.

2016. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:

1. Töötati välja tarkvarakeskkonna prototüüp bakterirakkude uut tüüpi mudelite kasutamiseks. Arendustöö tarkvarakeskkonna loomisel jätkub.
2. Töötati välja isothermiline kalorimeetria meetod bakterikoosluste uurimiseks fekaaliproovides. Meetod võimaldab koos oomikameetoditega (metaboloomika) hinnata mikroobikoosluste funktsionaalseid omadusi. Meetod on oluline inimeste tervise hindamisel saadud andmete interpreteerimisel. Meetodi arendamine jätkub.
3. Kasutades MS-põhist proteoomikat loodi termofiilsete juuretistega valmistatud juustude kaseiini hüdrolüüsi mudel ning töötati välja arvutusmeetodid hüdrolüüsi kvantitatiivseks kirjeldamiseks.
4. 2016.a. alustati tervet rida uusi projekti, doktorantuuri võeti vastu Henri Ingelman, Kättrin Karu, Georg Arju.

Main directions of research in the lab are as follows: systems biology of bacteria, development of models and software for the studies of metabolism of bacteria, development of omics-methods (metabolomics etc.) for the studies of microbial consortia, carrying out applied research in food technologies and nutritional studies.

Most important results in 2016 were the following:

1. Prototype software environment for running novel metabolic models was developed and introduced into laboratory practice.
2. Isothermal microcalorimetry method was developed for the functional characterization of complex microbial consortia. The method was applied in the study of human fecal consortia. The method together with omics-methods is a unique tool for the functional studies of microbiomes not only from fecal samples but from very different sources.
3. A model of casein hydrolysis for the cheeses produced using thermophilic starter bacteria using MS-based proteomics was developed, and computational methods for the quantitative description of hydrolysis processes were worked out.
4. Several new projects were started in 2016. Henri Ingelman, Kättrin Karu, Georg Arju were admitted to the doctoral studies.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

IUT19-27A „Süsteemibioloogia rakendused toiduteaduses ja -tehnoloogias“

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

Peter Neubauer, Stefan Junne etc. Technical University, Berlin, Germany

Egils Stalidzans, Agris Pentjuss etc. Latvian University of Agriculture, Liepaja, Latvia

Uldis Kalnenieks, Latvian University, Riga, Latvia

Drew Endy, Stanford University, CA, USA

Terhi Aaltonen, Soila Kananen, Valio R&D, Helsinki, Finland

Natalja Part, Irina Stulova, etc., TFTA, Eesti

Arvi Jõers, Niilo Kaldalu etc. Tartu Ülikool, Eesti

Toomas Tenno, Ivar Zekker etc. Tartu Ülikool, Eesti

Claus Lindvald Johansen, etc. DuPont, Taani

Heikki Ojamo, Aalto University, Helsinki, Finland

Juhani Soin, Turku University of Applied Sciences, Turku, Finland

Leo Gros etc., Fresenius University of Applied Sciences, Idstein, Germany

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

1. Kaldalu, Niilo; Jõers, Arvi; Ingelman, Henri; Tenson, Tanel (2016). A General Method for Measuring Persister Levels in Escherichia coli Cultures.. *Methods in molecular biology*, 1333, 29–42, 10.1007/978-1-4939-2854-5\_3
2. Zekker, I.; Rikmann, E.; Mandel, A.; Raudkivi, M.; Kroon, K.; Loorits, L.; Seiman, A.; Fritze, H.; Vabamäe, P.; Tenno, T.; Tenno, T. (2017). Increased Nitrogen Removal in Cold Deammonification Biofilm Reactor (9-15°C) By Smooth Temperature Decreasing. *Environmental and Ecological Engineering*, 2, x-x [ilmumas].

- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISe klassifikaator 2.1).

Puuduvad.

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

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

-

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

-

2.31 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).

Raivo Vilu (Member of the Management Board), Peep Pitk (Member), Olga Gavrilova (Member)

EU COST Action TD1203: Food waste valorisation for sustainable chemicals, materials & fuels (EUBis)

2.32 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 doktori nime, päritolumaad ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

-

### 2.2.5 Nigulas Sameli uurimisrühm

- **nimetus eesti keeles** - Lipiidide ja lipoproteiinide metabolism
- **nimetus inglise keeles** – Metabolism of lipids and lipoproteins
- **juhi nimi, ametikoht ja allüksus** – Nigulas Samel, professor, bioorgaanilise keemia õppetool
- **liikmed** (kõik bioorgaanilise keemia õppetoolist):
  - Aivar Lõokene, juhtivteadur
  - Ly Villo, dotsent
  - Ivar Järving, vanemteadur
  - Külliki Varvas, vanemteadur
  - Gennadi Kobzar, vanemteadur
  - Helike Lõhelaid, teadur
  - Vilja Mardla, teadur
  - Kaia Kukk, nooremteadur/ doktorant
  - Priit Eek, nooremteadur/ doktorant
  - Mart Reimund, nooremteadur/ doktorant
  - Tarvi Teder, nooremteadur/ doktorant
  - Kaspar Põldemaa, magistrant/doktorant
  - Miina Martin, doktorant
  - Stina Sistok, magistrant
  - Liina Roosileht, magistrant
  - Robert Risti, magistrant
  - Marianna Köster, magistrant
  - Annamaria Rahumeel, magistrant
  - Mari Västra, magistrant
  - Vassili Kiritsenko, magistrant

- **teadustöö ülevaade** (kokku kuni 1 lehekülj):
- **teadustöö lühikirjeldus** (eesti ja inglise keeles)

Lipiidel ja lipoproteiinidel on oluline regulatoorne roll paljudes rakuprotsessides nagu metaboolne- ja geeniregulatsioon, energia tootmine ja signaaliülekanne. Lipiidseid mediaatoreid (prostaglandiinid, leukotrieenid ja teised oksülipiinid) seostatakse immuun- ja põletikuvastusega, raku proliferatsiooni ja apoptoosiga, samuti on neil määrav roll paljudes patoloogilistes protsessides, nagu diabeet, vähkkasvajad ning kardiovaskulaarsed ja neurodegradatiivsed haigused. Lipiidide ja lipoproteiinide sünteesi ja metabolismi eest vastutavad ensüümid ning lipiidreguleeritavad metaboolsed kaskaadid on sihtmärkideks ravimiarenduses. Uurimisrühma teadustöö põhieesmärkideks ongi lipiidmediaatorite sünteesis osalevate ensüümide struktuursete, katalüütiliste ja regulatoorsete aspektide väljaselgitamine ning lipoproteiinide metabolismi ja endoteliaalse lipolüüsi regulaatorsete mehhanismide uurimine

Lipids and lipoproteins 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 mediators (prostaglandins, leukotrienes and other oxylipins) have been linked to the immune and inflammatory responses, cell proliferation and apoptosis, as well as shown to be essential determinants in many pathologies, including diabetes, cancer, cardiovascular and neurodegenerative disorders. Lipid and lipoprotein producing and metabolizing enzymes and lipid-regulating 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.

- **aruandeaastal saadud kõige olulisemad teadustulemused** (eesti ja inglise keeles)

1. An improved method of production of recombinant hPGHS-2 in the yeast *Pichia pastoris* was elaborated. The His<sub>8</sub>-tagged hPGHS-2 was expressed intracellularly in *P. pastoris* under the control of a constitutive or methanol-inducible promoter. For protein purification a novel elution method, treatment of the affinity resin with bovine carboxypeptidase A, was employed.

Töötati välja efektiivne meetod inimese rekombinantse PGHS-2 tootmiseks pärmis *Pichia pastoris*. His<sub>8</sub>-märgisega hPGHS-2 ekspresseeriti pärmis intratsellulaarselt, kasutades kas konstitutiivset või metanool-indutseeritavat promootorit. Valgu puhastamisel kasutati uudset elueerimismeetodit, mille puhul afiinsuskandjat töödeldi veise karboksüpeptidaas-A abil.

Avaldatud: Kukk et al., *J. Biotechnol.*, 10, 224-231.

2. Välja on töötatud kalorimeetriline meetod lipoproteiinlipaasi aktiivsuse ja interaktsioonide uurimiseks inimese vereplasmas. Näidati, kuidas regulaatorvalgud apolipoproteiinid ja angiopoietiinisarnased valgud mõjutavad lipoproteiinlipaasi vereplasmas. Seda meetodit saab kasutada nii hüperlipideemsete ja normaalsete vereplasmade omaduste võrdlemiseks kui ka lipoproteiinlipaasi süsteemi mõjutavate ravimikandidaatide testimiseks.

A calorimetric method has been developed for determination of lipoprotein lipase activity and ligand interactions in human plasma. It was shown how apolipoproteins and angiopietin-like proteins influence lipoprotein lipase in human plasma. The method can also be used for comparisons of the properties of plasma samples from hyperlipidemic patients and control subjects as well as for testing of drug candidates developed with the aim to affect the lipoprotein lipase system.

Avaldatud: Reimund et al., *J. Lipid Res.*, 2016

- **koostöö teiste TA asutuste ja ettevõtetega** (sh välisriikidest)

Prof. Alan R. Brash (Vanderbilti Ülikool, Nashville, TN)

Prof. Gunilla Olivecrona (Umea Ülikool, Rootsi)

Prof. Arvi Freiberg (Tartu Ülikool)

Sergo Kasvandik (Tartu Ülikool)

- **kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit**

- Kukk, K.; Samel N. (2016). Enhanced expression of human prostaglandin H synthase-2 in the yeast *Pichia pastoris* and removal of the C-terminal tag with bovine carboxypeptidase A. *Journal of Biotechnology*, 10, 224-231.
- Reimund, M.; Kovrov, O.; Olivecrona, G.; Löökene, A. (2017). Lipoprotein lipase activity and interactions studied in human plasma by isothermal titration calorimetry. *Journal of Lipid Research*, 58, 279–288. First Published on November 14, 2016.
- Patentne leiutis: Method for calorimetric determination of the lipoprotein lipase activity in human plasma; Omanikud: Tallinna Tehnikaülikool; Autorid: Aivar Löökene, Mart Reimund, Oleg Kovrov, Gunilla Olivercon; Prioriteedi number: US62/350,747; Prioriteedi kuupäev: 16.06.2016.

### 2.2.6 Merike Vaher'i uurimisrühm (Mihkel Kaljurand, Maria Kulp liikmetena)

Uurimisrühm IUT 3320

- Analüütiliste ja arvutuskeemiliste meetodite arendamine regulatiivotsuste formuleerimiseks;
- Advancing analytical and computational chemistry methods for regulatory decisions;
- Merike Vaher, vanemteadur; Loodusteaduskond, Keemia ja biotehnoloogia instituut;
- Liikmed:

Mihkel Kaljurand, professor, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Maria Kuhtinskaja, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Andre Lomaka, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Iiris Kahn, teadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Maria Kulp, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Jekaterina Mazina, nooremteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Heidi Lees, Tiina Aid, Piret Saar-Reismaa, Piia Jõul – Keemia ja biotehnoloogia instituudi doktorandid.

Anastassia Spiljova, Kristiina Leiman – magistrandid, Keemia ja biotehnoloogia instituut;

#### Teadustöö ülevaade

Töö eesmärgiks oli jätkata erinevate analüütiliste meetodite (eelkõige kapillaarelektroforeesi (KE)) väljatöötamist ja kasutamist mitmesuguste ühendite ja segude (keemiarelvad, narkootikumid, bioaktiivsed ained, biomassi laguproduktid) analüüsiks keerulistes maatriksites nagu keskkonnaproovid, kehavedelikud ja taimeekstraktid. Saadud tulemusi on plaanis kasutada ekspertsüsteemi väljatöötamiseks QSAR meetodi abil. Seejuures on olulisel kohal kapillaarelektroforeesi aparatuuri miniaturiseerimine, mis võimaldaks KE kasutada *on site*.

1. 2016. aastal uuriti kapillaarelektroforeesi rakendamise võimalusi biomassi laguproduktide identifitseerimiseks. Töötati välja meetodika erinevate aineklasside analüüsiks ühe katse jooksul. Testiti erinevaid kromofoore (2,6-püridiindikarboksüülhape, maleiinhape, ftaalhape) ja elektroendoosmootse voo modifikaatoreid (3-tetradetsüül-1-butüülimidiasoolim kloriid, CTAB) taustelektrolüüdi komponentidena. Optimeeritud tingimustel õnnestus ühe analüüsi käigus mõõta derivatiseerimata mono- ja oligosahhariidide, äädik- ja levuliinhappe ning 5-HMF sisaldused.
2. Uuriti puidu eeltöötlemise efektiivsust ionsete vedelikega (IL) erinevatel temperatuuridel. Talinisu põhu puhul järgnes eeltöötlemisele IL-ga ensümaatiline hüdroolüüs, et mõista, kuidas eeltöötlus mõjutab tselluloosi hüdroolüüsi (ensüümi juurdepääsu tselluloosi ahelatele). Vaatluse alla võeti Põhja-Euroopa tööstuslikult tähtsamad puuliigid (kuusk, mänd, kask) eesmärgiga välja selgitada, kuidas mõjutab IL töötlus erinevate puuliikide puhul fermenteeritavate suhkrute ja nende laguprodukti 5-HMF, mis on tuntud kui väärtuslik platvormkemikaal, saagiseid. Selgus, et kuuse puhul oli domineeriv sahhariid glükoos ja männi puhul ksüloos. Kõige kõrgem glükoosi sisaldus saadi kuusepuu pindmisest osast ja arabinosi sisaldus männipuul sisemisest osast. Kõige kõrgema saagisega saadi 5-HMF-i kuusepuu pindmisest osast pikaajalisel (100 tundi) töötlemisel IL-ga kõrgel temperatuuril.
3. Ioonsete vedelike omaduste QSPR/QSAR modelleerimiseks implementeeriti tarkvara, mis võimaldab arvutada kvantkeemiliselt tuletatud elektrostaatilisest molekulaardeskriptoreid nagu Politzer-Murray deskriptorid ja pinna elektrostaatilisest potentsiaali histogrammid. Arendati teoreetilistel deskriptoritel põhinevad ristliikmetega mittelineaarsed mudelid, et ennustada ioonvedelike Kamlet-Tafti (K-T) solvatokroomseid parameetreid, mis kirjanduse andmetel on leidnud kasutust biomassi eeltöötlemiseks sobivate ioonvedelike disainimisel. Uuringu üheks põhieesmärgiks võeti uute tselluloosi lahustavate ioonvedelike leidmine. Kuna üldist korrelatsiooni



K-T solvatokroomsete parameetrite ja kirjanduses avaldatud tselluloosi lahustuvuse andmete vahel polnud võimalik tuvastada, otsiti sobivaid ioonvedelikke sarnasuse põhiselt, kus sarnasuse aluseks võeti molekulaarse pinna potentsiaalhistogrammid. Kirjanduse põhjal moodustati ioonvedelike kationide ja anioonide andmebaas 822 katiooni ja 154 aniooniga. Sarnasusotsing teostati üle 126588 võimaliku ioonikombinatsiooni kasutades võrdlusühenditena 7 parimat tuntud ioonvedelikku, kus tselluloosi (Avicel) lahustuvus > 50 g/mol. Otsingu tulemusena koostati tabel määratud sarnasusastmega ioonvedelikest, mille jaoks kirjanduse andmetel ei ole tselluloosi lahustuvust varem mõõdetud.

Kõige olulisemateks tulemusteks oli kapillaarelektroforeesi tehnoloogial baseeruva kaasaskantava narkotestri maketi disainimine/valmistamine ja sellele lahutusprotokollide väljatöötamine ning nende valideerimine laia spektri narkootiliste ainete määramiseks inimese süljes. Aparati testiti narkojoobe kahtlusega inimeste süljeproovide analüüsimisel elektroonse muusikafestivali ajal (Baltic Weekend 2016) Pärnus. Kogutud 45-st süljeproovist 17-s tuvastati amfetamiine, 23-s *Ecstasy*'t, 5 süljeproovis leiti koos amfetamiinidega ka kokaiini, 5 proovi puhul tuvastati kanepi suitsetamise jälgi.

Töö valmis koostöös Politsei- ja Piirivalveametiga. Hankeleping nr 1-11-9/250-1 „Välitingimustes kasutatava tõendusliku narkotestri väljatöötamise võimalikkuse uurimine“. Uuringut kaasrahastas Euroopa Liit Sisejulgeoleku fondi kaudu ja EV Siseministerium.

Koostööpartnerid:

Füsioloogia ja Biokeemia Instituut, Malta Ülikool, Msida, Malta

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

Politsei- ja Piirivalveamet, EV Siseministerium, Tallinn, Eesti

EV Kaitseministerium, Tallinn, Eesti

Okeanoloogia Instituut, Poola Teaduste Akadeemia, Sopot, Poola

Biokeemia Instituut, Tartu Ülikool, Tartu, Eesti

Omic OÜ, Tartu, Eesti

The aim of present research was development and application of a variety of analytical methodologies (primarily capillary electrophoresis) for analysis of different classes 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).

1. An indirect capillary electrophoresis method for a quantitative determination of mono-, di- and oligosaccharides was developed to investigate biomass degradation, the isomerization of glucose into fructose and conversion of fructose to 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) in ionic liquids (ILs). Three chromophores (2,6-pyridinedicarboxylic-, maleic-, phthalic acids) were used to perform indirect detection. The simultaneous separation of the underivatized mono-, di- and oligosaccharides was performed using four cellodextrin oligomers (cellotriose, cellotetraose, cellopentaose, cellohexaose), eight carbohydrates (xylose, fructose, glucose, galactose, lactose, cellobiose, raffinose, sucrose), two organic acids (acetic acid, levulinic acid) and 5-HMF.
2. The pretreatment efficiency of ILs combined with heat for woody biomass consisting of spruce, birch and was investigated. The winter wheat straw was used as a comparison and with the aim to enhance its digestibility during enzymatic hydrolysis whereby the influence of IL-treatment to cellulose resistance for hydrolysis was investigated. Considering the woodspecies, the most common and industrially important wood species in Northern Europe were chosen in the present work and the goal was to obtain fermentable sugars and their degradation product, i.e. (5-HMF), which is known valuable platform chemical. Further, the differences in the yields of IL-obtainable carbohydrates between these species were studied. The highest sugar yields were obtained to glucose in the case of spruce and arabinose in the case of pine sapwood. The highest 5-HMF yield was obtained for spruce heartwood with longer treatment time (100 h). However, regarding woody biomass, the present work was focused more on the study and analysis of the IL-containing liquid

part, wood hydrolysate, after IL-treatment aiming to answer the analysis challenges related to this fraction.

3. In order to model ionic liquid properties with QSPR/QSAR methodology, our inhouse software was augmented by a set of quantum chemically derived electrostatic molecular descriptors including Politzer-Murray descriptors and surface potential histograms. Nonlinear models with cross-terms based on theoretical descriptors were developed for the prediction of Kamlet-Taft (K-T) solvatochromic parameters that, according to the literature, are often used to guide the rational selection of ionic liquids for biomass pretreatment. One of the main goals of the study was to search for ionic liquids that are good solvents of cellulose. Since a general correlation between K-T solvatochromic parameters and published cellulose solubility values could not be established, similarity searches based on surface potential histograms were performed to find new ionic liquids suitable for cellulose dissolution. A database containing 822 cations and 154 anions of known ionic liquids was collected from the literature. Similarity search across 126588 possible combinations of ions was performed by taking 7 best known IL solvents having cellulose (Avicel) solubilities > 50 g/mol as reference structures. As a result, a list of ionic liquids was proposed whose cellulose dissolution ability had not been experimentally determined according to the scientific literature.

**The most important outcome** was the design/making of the model of portable narcotic tester based on capillary electrophoresis technology, the development and validation of methodology for determination of broad spectrum of illicit substances in human saliva.

The apparatus was evaluated during electronic music festival (Baltic Weekend 2016, Pärnu) by testing the saliva samples taken from people suspected of drug intoxication. As a result, the 45 saliva samples were collected. Amphetamines were determined in 17 samples, Ecstasy – in 23, amphetamines as well as cocaine were found in 5 samples and in 5 cases cannabis smoking was detected. The work was completed in collaboration with the Police and Border Guard Board. Contract No. 1-11-9 / 250-1 "The development of narcotic tester for on-site analysis". The study was co-funded by the European Union through the Internal Security Fund and the Ministry of the Interior Republic of Estonia.

#### **Cooperation:**

Institute of Biomedecine 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

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

Omic OÜ, Tartu, Estonia

#### **Ilmunud publikatsioonid:**

1. T. Aid, L. Paist, M. Lopp, M. Vaher. An optimized capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of biomass degradation products in ionic liquid containing samples. *Journal of Chromatography A*, 2016, **1447**, 141-147.
2. T. Aid, S. Hyvärinen, M. Vaher, M. Koel, J.-P. Mikkola. Saccharification of lignocellulosic biomasses via ionic liquid pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 2016, **92**, 336-341.
3. M. Vaher. *Ionic liquids in capillary electrophoresis*. In: Analytical applications of ionic liquids. Ed. M. Koel, World Scientific, 2016, pp. 105-136.

#### **2.2.7 Mihkel Koeli uurimisrühm**

- ESTAG grant PUT-391 Aerogeelid materjalidena keemilise analüüsi jaoks
- Grant from Estonian Research Council PUT 391(2014-16) Aerogels as materials for chemical analysis
- Mihkel Koel, juhtivteadur, TTÜ keemianstituudi analüütilise keemia õppetool;
- Jelena Gorbatšova - teadur; Kristiina Kreek – doktorant; Lüüli Keskküla – magistrant; Mari Sulg – magistrant;
- teadustöö ülevaade (*eesti ja inglise keeles*):

Peatähelepanu oli koondunud komposiit-materjalide väljatöötamisele.

Jätkus resortsinool-formaldhüüd orgaaniliste aerogeelide baasil saadud süsinik aerogeelide arendamine metallide ja metalli komplekside lülitamiseks aerogeelide koostisse ning lämmastiku sisseviimine söe struktuuridesse. Räni aerogeelide juures kasutati tselluloosi siduva polümeerina, samuti uuriti lantaniidide sisseviimist räni aerogeelidesse. Vaadeldi ionsete vedelike võimalusi komposiit-materjalide saamisel: tselluloosi lahuse ionsetes vedelikes ja anorgaanilise geeli sobivates vahetades segamise teel

Uuriti:

1. Anorgaaniliste aerogeelide (räni ja süsinik) kombineerimine ionsetes vedelikes lahustatud tselluloosiga saamaks elastseid poorseid materjale;
2. Aerogeelide metallidega ja lämmastikuga modifitseerimise võimalusi;
3. Saadud materjalide füüsikaline ja keemiline analüüs.

On saanud selgeks, et ioonised vedelikud on suurpärased ühendid komposiit-materjalide saamiseks aerogeelide baasil. Saadud materjalidel on mitmeid kasutusalasid.

On kogunenud suur hulk eksperimentaalset materjali, mille põhjal valmistatakse ette publikatsioone ajakirjades.

Under the consideration are composite materials based on silica aerogel and modified carbon aerogels. The modification of organic aerogels with metals and nitrogen using different methods for that was studied. Under the study are silica aerogel-based composite materials where cellulose could be the composite making polymer. Also use of ionic liquids and solvent for this type of composite materials was studied.

1. Experiments on combine inorganic (silica and carbon) aerogels with cellulosic material to obtain flexible porous materials;
2. Experiments to incorporate different metals and nitrogen into the structure of aerogels;
3. Obtained aerogels were analysed against their physical, optical and electrochemical properties.

It is become clear that ionic liquids can be used for making composite materials based on aerogels. These materials can be used for preparation of sensor materials. Obtained is some experimental material, based on what the material for publication are prepared.

Doktorant Kristiina Kreek kaitses oma doktoritöö „Metal-Doped Aerogels Based on Resorcinol Derivatives (Resortsinooli Derivaatidel Põhinevad Metallid Sisaldavad Aerogeelid)“

- aruandeaastal saadud kõige olulisemad teadustulemused:

Avaldatud on kaks artiklit, koostöös Tartu Ülikooli Keemia Instituudiga ja Soome Abo Akademi Ülikooliga :

1. F.Elhi, T.Aid, M.Koel, Ionic liquids as solvents for making composite materials from cellulose, Proc.Est.Acad. Sci., 65,3(2016) 255–266
2. T.Aid, S. Hyvärinen, M. Vaher, M.Koel, J-P.Mikkola, Saccharification of lignocellulosic biomasses via ionic liquid pretreatment, Ind. Crops Products, 92( 2016)336-341

Avaldatud on kaks peatükki raamatutes:

1. J.Torop , A-L.Peikolainen, A.Aabloo, Mihkel Koel, K.Asaka, R.H. Baughman, Electrochemically Driven Carbon-Based Materials as EAPs: Fundamentals and Device Configurations (439-454). Chapter in Electromechanically active polymers, Ed. F.Carpi, Springer (2016)

2. M.Koel, Future prospects (405-409), Chapter in Analytical Applications of Ionic Liquids, Ed. M.Koel, World Scientific (2016)

Esineti suuliste ettekannetega rahvusvahelistel üritustel:

1. M.Koel, Perspectives of ionic liquids in analytical chemistry, EUCHEM2016 –Conference on Molten Salts and Ionic Liquids, Vienna, Austria; July 3-8, 2016.
2. M.Koel, Alternative solvents in oil shale studies, International Symposium Oil Shale 100 years, Tallinn, Estonia; Sept 20-23, 2016.
3. M.Koel, M.Vaher, Application of ionic liquids as specific additives in separation methods, Ecobalt 2016, Tartu, Estonia; October 9-12, 2016.
4. M.Koel, Extractables from plants; Institute of Chemical Industry of Forest Products, Chinese Academy of Forestry, Nanjing, Hiina, 27.oktoober 2016, suuline ettekanne seminaril Natural Products.

Raamatu toimetaja "Analytical Applications of Ionic Liquids" (World Scientific, London, 2016, 416pp.)

- Loetelu struktuuriüksuse töötajatest, kes on riiklike T&A-ga seotud otsustuskogude liikmed:

Mihkel Koel - ETag hindamisnõukogu loodusteaduste ja tehnika ekspertkomisjoni liige

- Loetelu struktuuriüksuse töötajatest, kes on välisriikide akadeemiate või muude oluliste T&A-ga seotud välisorganisatsioonide liikmed:

Mihkel Koel on Ameerika Keemia Seltsi liige (American Chemical Society, USA) ja Kuningliku Keemia Seltsi vanemliige (Fellow of the Royal Society of Chemistry, UK).

### 2.2.8 Riina Aava uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus: **Supramolekulaarse keemia uurimisrühm;**
- uurimisrühma nimetus: Supramolecular chemistry group;
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht: Riina Aav, dotsent;
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant):
  - Omar Parve, vanemteadur, KBI, ERA - rohelise keemia õppetool;
  - Elena Prigorchenko, doktorant, KBI (lapsehoolduspuhkusel);
  - Maia Fomitšenko, doktorant, KBI;
  - Sandra Kaabel, doktorant, KBI;
  - Anna Peterson, doktorant, KBI, KBFI nooremteadur
  - Kamini Antindrakumar Mishra, doktorant, nooremteadur KBI;
  - Madli Kruusamägi, magistrant, KBI;
  - Mari-Liis Kasemets, magistrant, KBI;
  - Andre Roden, magistrant, KBI;
- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:
  - teadustöö lühikirjeldus (tuua välja, millistele sisulistele uurimisvaldkondadele/-temaatikale on uurimisrühma T&A keskendunud)

Supramolekulaarse keemia grupp tegeleb uute käeliste urea-põhiste ja aromaatsete molekulaarsete mahutite uurimisega. Täpsemalt nende sünteesi, molekulaarsete ja supramolekulaarsete struktuuride ning molekulidevaheliste vastasmõjude uurimisega. Supramolekulaarne keemia läheneb ainete uurimisele komplekselt, hõlmates nii orgaanilise, analüütilise 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 makrotsükleid – poolkukurbituriile ja kaliksareenide perekonda kuuluvaid resortsiareene. Makrotsükliilise võõrustaja-molekulid on rakendatavad materjalitehnoloogias uute omadustega materjalide, hüdrogeelide ja kapslite valmistamisel, samuti on näidatud nende sobivust

selektiivsel ravimite transpordil. Uute mahutite disaini abil on võimalik leida uusi rakendusi materjaliteaduses ja meditsiinis.

- uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamise)

Riina Aav on panustanud eksperdina Terviseameti Kemikaaliohutuse osakonna biotsiidi omaduste hindamisse.

Oleme üks esimesi teadusgruppe Eestis supramolekulaarse keemia valdkonnas, mistõttu oleme ühiskonda panustanud valdkonda populariseerivate artiklite ja saatega:

Margus Lopp ja Riina Aav, „Kõige väiksemad masinad, Nobeli keemiapreemia 2016 "molekulaarmasinade konstrueerimise ja sünteesi eest““ *Horisont* 6, 2016, lk 32-33.

Maria Fomitšenko, Eesti Teaduste Akadeemia kolme minuti loengute konkursi finaalist, ERR Kolme minuti teadusvideote sarjas „Tünn-molekul“

Riina Aav „Nanorobotid elusorganismis ja inimnaha liim - see on supramolekulaarne keemia“ *Inseneeria* 10, 2015, lk. 30-32;

- aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused
  - Loodi kukurbituriilide nimetamise nomenklatuur.
  - Uuriti uue kiraalse 8-ühikulise makrotsükli (all-R)-tsükloheksanopoolkukurbit[8]uriili (cycHC[8]) käitumist molekulaarse mahutina. CycHC[8] on võimeline väga konkureerivas protoonses keskkonnas selektiivselt siduma anioone, kusjuures anioonid kapseldatakse täielikult makrotsükli õõnsusse 1:1 sidumis-stõihhiomeetriaga. Kirjeldatud uute molekulaarsete mahutite disain on oluline keskkonnakaitsele ja bioloogiliste süsteemidele suunatud rakenduste uurimises.
  - Määrati mitmete uute ainete kristallstruktuurid.
  - Tegeletakse meetodite välja töötamisega homoloogide ning isomeeride lahutamiseks, kvantitatiivseks ning stereokeemiliseks analüüsiks.
  - Kolm magistranti kaitsesid edukalt oma magistritööd:  
Mari-Liis Kasemets, magistrikraad, 2016, (juh) Riina Aav; Sandra Kaabel, Tsükloheksanopoolkukurbit[8]uriili kompleksid anioonidega metanoolis, Tallinna Tehnikaülikool, Matemaatika-loodusteaduskond, Keemiainstituut.  
Madli Kruusamägi, magistrikraad, 2016, (juh) Riina Aav, Poolkukurbituriilide isomeeride ja homoloogide süntees, Tallinna Tehnikaülikool, Matemaatika-loodusteaduskond, Keemiainstituut.  
Anna Peterson, magistrikraad, 2016, (juh) Riina Aav, Poolkukurbituriilide homoloogide ja isomeeride analüüs, Tallinna Tehnikaülikool, Matemaatika-loodusteaduskond, Keemiainstituut.

- Overview of group interests:
- Our supramolecular chemistry research group is interested in study of chiral urea-based molecular containers. More specifically we are studying their synthesis, molecular and supramolecular structure and their interactions. Supramolecular chemistry unites approaches of organic, analytical 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, 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. Cucurbiturils are non-toxic compounds and 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. Hemicucurbiturils are more dynamic than normal cucurbiturils and their binding properties differ from other macrocycles, therefore they have high potential to be applied in material science and medicine.
- Most important result in 2016:
  - Nomenclature of cucurbiturils was developed and published in *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*.

- We showed that the chiral (*all-R*)-cyclohexanohemicucurbit[8]uril (**cycHC[8]**) binds anions in purely protic solvent with remarkable selectivity. The **cycHC[8]** portals open and close to fully encapsulate anions in 1:1 ratio, resembling a molecular Pacman. Comprehensive gas, solution and solid phase studies prove that the binding is governed by the size, shape and charge distribution of the bound anion. The octameric **cycHC[8]** offers a unique example of template-controlled design of an electroneutral host for binding large anions in a competitive polar solvent.
- Work on separation of isomers and homologues and their quantitative and stereochemical analysis is continued.
- Several crystal structures of new compounds were determined.
- Three students defended their MSc theses.

Mari-Liis Kasemets, Master's Degree, 2016, (sup) Riina Aav; Sandra Kaabel, Cyclohexanohemicucurbit[8]uril anion complexes in methanol, Tallinn University of Technology Faculty of Science, Department of Chemistry.

Madli Kruusamägi, Master's Degree, 2016, (sup) Riina Aav, Synthesis of isomers and homologues of hemicucurbiturils, Tallinn University of Technology Faculty of Science, Department of Chemistry.

Anna Peterson, Master's Degree, 2016, (sup) Riina Aav, Analysis of homologues and isomers of hemicucurbiturils, Tallinn University of Technology Faculty of Science, Department of Chemistry.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;
  - PUT692 "Uute molekulaarsete mahutite arendamine (1.01.2015–31.12.2018)".
  - B25 "Uued käelised poolkukurbituriidid (1.09.2013–1.09.2016)".
- uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest):
  - Rahvusvahelise koostöö raames külastas TTÜ keemiainstituuti ja pidasid avaliku loengu Soome akadeemia professor **Kari Rissanen** (12.05.2016, „Halogen Bonds and Anion Pi-interactions, Old or New Supramolecular Interactions?“).
  - Avaldati teadustöö koos Soome Jyväskylä Ülikooli Prof. **Kari Rissaneni** ja Prof. **Elina Kalenius** gruppidega ja USA Wisconsin Ülikooli Prof. **Hans J. Reich**'iga. Koostöö jätkub.
  - Jätkub koostöö Hiina Guizhou Ülikooli teadusgrupiga Dr. **Hang Cong**'i juhtimisel;
  - Jätkub koostöö KBFI-ga tuumamagnetresonants spektroskoopia alal Jasper Adamson ja Tõnis Pehk;
- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);
  - Kaabel, S.; Adamson, J.; Topić, F.; Kiesilä, A.; Kalenius, E.; Öeren, M.; Reimund, M.; Prigorchenko, E.; Löökene, A.; Reich, H. J.; Rissanen, K.; Aav, R. (2017). Chiral hemicucurbit[8]uril as an anion receptor: selectivity to size, shape and charge distribution. *Chemical Science*, xx-xx, 10.1039/C6SC05058A.
  - Aav, R.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M. (2017). Cucurbiturils: Synthesis, Structures, Formation Mechanisms, and Nomenclature. In: Rissanen, K., Gokel, G. (Ed.). *Comprehensive Supramolecular Chemistry II* (300008). ELSEVIER. (3) [ilmumas].
  - Ošeka, M.; Kimm, M.; Kaabel, S.; Järving, I.; Rissanen, K.; Kanger, T. (2016). Asymmetric Organocatalytic Wittig [2,3]-Rearrangement of Oxindoles. *Organic Letters*, 18 (6), 1358–1361, 10.1021/acs.orglett.6b00291.

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

2016, Sandra Kaabel, **ISMSC stipendium** osalemiseks konverentsil ISMSC-2016, Seoul Lõuna Korea

2016, Sandra Kaabel, **Dora Pluss** lühiajalise õpirände **stipendium** konverentsil osalemiseks ISMSC-2016, Seoul Lõuna Korea

2016, Sandra Kaabel, **Synfacts posterettekande auhind** konverentsil BOS 2016, Riia, Läti

2016, Sandra Kaabel, **Organic & Biomolecular Chemistry posterettekande auhind** konverentsil BOS 2016, Riia, Läti

2016, Sandra Kaabel, **Organic Chemistry Frontiers posterettekande auhind** konverentsil ISMSC-2016, Seoul, Lõuna-Korea

2016, Sandra Kaabel, **IUCr Noore Teadlase Auhind**, 3rd European Crystallography School

2015, Sandra Kaabel, SA Arcimedes poolt väljastatud **Kristjan Jaagu** välislahetuse **stipendium** konverentsil ECM29 osalemiseks

2015, Sandra Kaabel, **IUCr Noore Teadlase Auhind**, ECM29

2015, Maria Fomitšenko, Eesti Teaduste Akadeemia **kolme minuti loengute konkursi finaalist**, teadusvideo Tünn-molekul

2014, Sandra Kaabel, **DoRa T6 Stipendium** Jyväskylä Ülikoolis uurimisprojekti teostamiseks.

2011, Elena Prigorchenko, Tallinna Tehnikaülikooli Üliõpilaste **Teadustööde Konkursi I koht** bakalaureusetöoga „Uus Kiraalne Poolkukurbit[6]uriil“.

2010, Omar Parve, InnoCentive Ülesande No. 5628706 "Isomeerne puhtus" **innovaatiliste lahenduste konkursi võitja** (USA; auhind kätte antud 22.02.2010)

2008, Riina Aav, **Fulbright külalisteduri grant** teadustöö teostamiseks USA-s, Illinoisi Ülikoolis Urbana-Champaignis

2008, Riina Aav, **Synfacts Posterit Auhind** konverentsil BOS2008

2007, Riina Aav, SA Arcimedes poolt väljastatud **Kristjan Jaagu** välislahetuse **stipendium**, konverentsil ESOC2007 osalemiseks

2003, Riina Aav, Tallinna Tehnikaülikooli **Arengufondi stipendium**

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

Riina Aav - ETAgil üliõpilaste teadustööde hindamiskomisjoni liige

Riina Aav TTÜ Matemaatika-loodusteaduskonna ja keemiasstituudi nõukogu liige

### 2.2.9 Tõnis Kangeri uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus; katalüüsi uurimisrühm
- uurimisrühma nimetus inglise keeles; research group of catalysis
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; Tõnis Kanger, professor
- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);

Kadri Kriis, vanemteadur

Kristin Lippur, teadur

Maksim Ošeka, doktorant

Mikk Kaasik, doktorant

Kärt Reitel, doktorant

Estelle Silm, doktorant

Mariliis Kimm, magistrant

Ilona Juhanson, magistrant

Dmitri Trubitsõn, magistrant

Aleksandra Murre, magistrant

Maria Volkhova, magistrant

- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles),

Tegeldakse peamiselt asümmeetriliste katalüütiliste reaktsioonide uurimisega. Uuritakse nii organokatalüütilisi kui ka metallkatalüütilisi reaktsioone. Organokatalüütilistest reaktsioonidest pööratakse tähelepanu kahele reaktsioonitüübile: vesiniksideme katalüüsil põhinevad ja aminokatalüütilised reaktsioonid. 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 (väheneb vahetöötuste arv ja solvendikulu). Metallkatalüüsi korral kasutati laialtlevinud ja vähetoksilist metalli kaltsiumi.

Uudse teemana alustati halogeensideme katalüütiliste reaktsioonide uurimist.

Saadud tähtsamad tulemused saab jagada kolmeks:

- 4) 1,2,3-triasendatud piperidiinide asümmeetriline süntees. Eesmärkühendite saamiseks töötati välja nii aminokatalüütiline kui vesiniksideme katalüüsi meetod.
- 5) Leiti uus vesiniksidemete katalüütiline meetod Wittigi [2,3]-sigmatroopse ümberasetuse jaoks ja rakendati seda allüüloksüoksindoolide derivaatidega, saades vastavaid homoallüülalkohole heade saagiste ja enantiomeerse puhtusega.
- 6) Kvantkeemiliste arvutustega näidati isatiini asa-Michaeli reaktsiooni kemo- ja stereoselektiivsuse põhjused. Leiti, et lisaks vesiniksidemetele on reaktsioonis olulised mitmed mittekovalentsed interaktsioonid, nagu aromaatsete tuumade  $\pi$ - $\pi$  ja väävel- $\pi$  interaktsioon.

The main research objects of the group are asymmetric catalytic reactions. The organocatalytic and metal-catalyzed reactions were studied. From organocatalytic reactions two types of catalysis – aminocatalysis and hydrogen bond catalysis were studied. Several reactions investigated were 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).

Widely spread and non-toxic calcium was used in metal-catalyzed reactions.

The investigation of halogen bond catalytic reactions was started as a new topic.

There were three main results:

- 1) Asymmetric synthesis of 1,2,3-trisubstituted piperidines. Aminocatalytic and hydrogen bond catalyzed reactions were elaborated and applied for the synthesis of target compounds.
- 2) A new hydrogen bond catalytic method of asymmetric [2,3]-sigmatropic rearrangement was elaborated. Derivatives of homoallyl alcohols were obtained by this method from allyloxy oxindole derivatives in high yields and enantiomeric purities.
- 3) The origin of high chemo- and stereoselectivity of aza-Michael reaction of isatin was shown by means of DFT calculations. It was found that in addition to hydrogen bond several other non-covalent interactions, such as  $\pi$ - $\pi$  interactions of aromatic rings and sulfur- $\pi$  interactions are of importance.

- loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;
- uurimisrühma liikmete koostöö<sup>3</sup> teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);  
koostöö Molekulaarse Rakutehnoloogia Tippkeskuse (TK143) raames  
koostöö prof. Kari Rissaneniga (Jyväskylä ülikool)  
prof. Ago Rinke (Tartu Ülikool)
- uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit (ETISE klassifikaator 1.1, erandjuhul 3.1);

Kriis, Kadri; Melnik, Triin; Lips, Kristiina; Juhanson, Ilona; Kaabel, Sandra; Järving, Ivar; Kanger, Tõnis. Asymmetric Synthesis of 2,3,4-Trisubstituted Piperidines. *Synthesis*, **2017**, 49, 604-614. DOI: 10.1055/s-0036-1588299 (**highlighted in Synfacts: Synfacts 2016**, 12, 1233. Nominated for *Synthesis/Synlett* best paper award)

Andrus Metsala, Sergei Žari, and Tõnis Kanger. Aza-Michael reactions of isatin imines: deeper insight and origin of the stereoselectivity. *ChemCatChem.*, **2016**, 2961 – 2967.

Maksim Ošeka, Mariliis Kimm, Sandra Kaabel, Ivar Järving, Kari Rissanen, and Tõnis Kanger. Asymmetric Organocatalytic Wittig [2,3]-Rearrangement of Oxindoles. *Org. Lett.*, **2016**, 18, 1358–1361.

- uurimisrühma liikmete (kaas)autorsuses ilmunud monograafiad (ETISE klassifikaator 2.1).

Kõik esitatud publikatsioonid peavad olema kajastatud ETISes.

---

<sup>3</sup> Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.



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

T.Kanger – Eesti Vabariigi teaduspreemia keemia ja molekulaarbioloogia alal

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

T. Kanger, professor – EV teaduspreemiate komisjoni liige

T. Kanger, professor - riikliku programmi „Eestikeelsed kõrgkooliõpikud 2013-2017“ keemia- ja molekulaarbioloogia valdkonna ekspertkomisjoni esimees

2.37 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).

2.38 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 doktori nime, päritolumaa ja asutuse, järel doktorantuuri perioodi ning meetme, mille alusel järel doktorit rahastatakse).

Sergie Žari, Michigani ülikooli järel doktorant, kohalik rahastus

## 2.2.10 Aivar Auväart'i uurimisrühm (2016. a tulemusi pole kajastatud)

Chair of Green Chemistry

- *Short summary of the institution (formation, activities and role in the Estonian R&D)*  
*The FP7-ERACHairs-Pilot Call-2013 programme awarded the project TUTIC Green with 2.4 million EUR over five years for world-renowned researchers and their teams to establish ambitious research programmes at Tallinn University of Technology. The main objectives of the TUTIC-Green project are to facilitate structural changes in order to foster excellent research in the area of green chemistry for sustainable development by establishing an ERA Chair position at the Department of Chemistry of Tallinn University of Technology (TUTIC), and to bring this entire topic in the Department of Chemistry under one strategic lead. Today, TUTIC is one of the leading centres of teaching and chemical research in Estonia. TUTIC's mission is to provide instruction, research and innovation services at an internationally competitive level with an emphasis on sustainable development in Estonia.*  
*Summary of R&D infrastructure*  
*Prof Gathergood was elected by Council of TTU (18.11. 2014). Recruitent of 6 senior researchers was initiated in 2015. 4 senior researchers joined the Chair by 2015 (with the remaining 2 positions filled in 2016). Two small organic synthesis laboratories are utilised by the group. Equipment purchased includes a H-Cube which combines safer hydrogen generation and flow chemistry.*
- *Sufficiency of resources from the sustainability and potential point of view*  
*Additional laboratory and office space was required for new group members arriving from 2016 onwards. While some space was secured for new Phd students cosupervised with other groups (for example, with Chair of Organic, Chair of Biotechnology and KBFI), there still remains a need for additional laboratory and office space for the Chair of Green Chemistry projects.*
- *Summary of R&D in the corresponding field*  
*Our green and sustainable chemistry research group follows a 'benign by design' philosophy. This includes using biorenewable starting materials, developing cleaner and greener alternative synthetic procedures and studying new catalytic methodologies. In addition toxicity, ecotoxicity and biodegradation assessment of the novel compounds prepared enables priority of preferred more environmentally friendly chemicals. Classes of our groups target molecules range from ionic liquids, surfactants, macrocycles, cyclopropanes,  $\gamma$ -hydroxy-carboxylic acids, opiates and supramolecular compounds. Host-guest interactions are an important aspect of our research. Sensor applications, drug delivery and chiral recognition are all areas of interest. By studying in tandem, green toxicology, green chemistry and drug discovery, we propose that progress in these three fields is possible simultaneously. This concept is underpinned by medicinal chemistry projects studied by our group, with collaborators throughout Europe, developing new antimicrobials, analgesics and cancer therapeutics.*
- *Main research directions in the corresponding R&D field during 2015*
  - (1) *Development of chiral derivatizing agents suitable for simultaneous stereochemical analysis of  $\gamma$ -acyloxy- and  $\gamma$ -hydroxy-alkanoic acid salts, derivatized from the same sample. The approach under study is based on the use of simply obtainable in very high enantiomeric purity (S)- as well as (R)-1,2-dodecanediols which afforded selectively corresponding 1-haloacetoxo-2-benzoyloxy-dodecane. The method allows overcoming of problems caused by relactonization.*
  - (2) *Development of chemoenzymatic methods for the synthesis as well as separation of stereoisomers of chiral building blocks (diols, tetrols,  $\gamma$ -hydroxy-carboxylic acid derivatives, diamines) to be used in the synthesis of supramolecular extended-chain as well as macrocyclic compounds: ester conjugates (also macrolactones of a novel type) and urea-based compounds.*
  - (3) *Development of cleaner synthetic methods to prepare ionic liquids and surfactant compounds was achieved. A reduction in solvent volumes and a method replacing chlorinated solvents in the key step was developed.*

- (4) Investigations to identify low toxicity and mineralisable transformation products formed during ionic liquid biodegradation (Closed Bottle Test) studies was performed. Synthesis of authentic samples to assist transformation product identification and toxicity assessment was undertaken.
- (5) Synthesis of opiate derivatives for study in host guest applications, DNA binding studies and as analgesics.
- (6) High throughput screening of opiate receptor signalling based on a Luciferase reporter assay in development.
- R&D relation to doctoral studies in the corresponding field  
The R&D effort was supported by 9 PhD students doctoral studies during 2015.
  - R&D outcomes with highest impact (assessment by the institution)  
Discovery of a novel cascade of enzymatic and spontaneous reactions leading to formation of macrocyclic lactones (12 and 15 membered rings). A high atom economy and efficient green synthesis of ionic liquids based on aminoacids was demonstrated. Fully mineralisable pyridinium and choline derived ionic liquids were discovered. Low microbial toxicity ionic liquids from mandelic acid were synthesised. C2- and C3-symmetry chiral hosts successfully prepared by a short and efficient synthesis from sustainable natural alkaloids. Prof. Gathergood was co-supervisor of four PhD students that graduated from DCU in November 2015.  
Three significant papers published in 2015 were;  
1. Jordan, A.; Gathergood, N. (2015) Biodegradation of ionic liquids – a critical review *Chem. Soc. Rev.*, 44, 8200–8237 (IF =34.0)  
2. Deng, Y.; Beadham, I.; Ghavre, M.; Costa Gomes, M.F.; Gathergood, N.; Husson, P.; Légeret, B.; Quilty, B.; Sancelme, M.; Besse-Hoggan, P. (2015). When can ionic liquids be considered readily biodegradable? Biodegradation pathways of pyridinium, pyrrolidinium and ammonium-based ionic liquids. *Green Chemistry*, 17, 1479–1491. (IF =8.5)  
3. Parve, Jaan; Vares, Lauri; Reile, Indrek; Pehk, Tõnis; Villo, Ly; Parve, Omar (2015). Separation of (S)-1,2-Dodecanediol from Racemic Mixture by Lipase-Catalyzed Resolution and Simultaneous Selective Crystallization. *Nuno Candeias (Toim.). Comprehensive Organic Chemistry Experiments for the Laboratory Classroom (1 - 7)*. London: Royal Soc Chemistry.
  - Highest societal impact of research (assessment by the institution)  
The words green, sustainable, toxicity and biodegradable are often poorly defined or incorreced applied by the public media. The reason for this is twofold, 1) these terms are complex and span a broad scope of issues and 2) a dearth of clear and unambiguous guidelines. While great efforts by green chemists over the last 20 years have improved our understanding of the concepts of green chemistry and sustainability, there still is much work to be done. As our work develops greener and cleaner chemistry, we define how to substantiate these claims, which leads to a clearer understanding of the project as a whole. This facilitates dissemination of the results to a wider audience.
  - Significant additional facts which indicate the sustainability and potential of R&D (assessment by the institution)  
Many leading research groups in Europe, the USA, India and Japan have established collaborations with the Chair of Green Chemistry at TUT. This has resulted in several successful grant proposals to support research and training initiatives at TUT. In addition 4 PhD students started in Sept 2016, undertaking research in biodegradation, toxicity, catalysis and biorenewables, with anticipated completion dates in 2020.

## 2.3 Toidutehnologia osakond

### 2.3.1 Toomas Paalme uurimisrühm (Loreida Timberg, Signe Adamberg liikmetena)

#### Toidugrupp (*Food research group*)

**Uurimisrühma juht: Toomas Paalme, professor**

**Uurimisrühma liikmed:**

Kaarel Adamberg, van. teadur (0.5)  
Signe Adamberg, van.teadur 1  
Katrín Laos, dotsent 1  
Anna Traksmäa, van. teadur (0.25)  
Kristel Vene, van. teadur (0.25)  
Loreida Timberg, van teadur, dotsent (0.25, 0.75)  
Ildar Nisamedtinov, van teadur (0.5)  
Inga Sarand, van teadur, dotsent (0.75, 0.25)  
Tagli Pitsi, dotsent (0.5)  
Tiina Lõugas, lektor 1

**Doktorandid:**

Rain Kuldjärv, Kärt Kontram, Tiina Klesment, Aleksei Kaleda, Kristi Kõrge Sirli Rosenvald, Julia Rosend, Marianna Surženko, Allan Vilbaste, Anastassia Taivosalo, Evelin Kivimaa, Madis Jaagura

**Teadustöö lühiülevaade**

Grupp viib läbi toidu alus- ja rakendusuringuid kasutades biotehnoloogia ja süsteemibioloogia meetodeid; uurib toidu stabiilsust ja kvaliteeti; maitset ja aroomi; toitumist ja seedimist; protsesse toidu käitlemise ja toitumise võrgustiku vahel. Lühiülevaade põhilistest uurimissuundadest on toodud allpool.

**Vitamiinide ainevahetus toidu käitlemis- ja toitumisvõrgustikus** (Dr. I. Nisamedtinov, Prof. T. Paalme, doktorandid Allan Vilbaste, Rain Kuldjärv). Töö põhisuunaks on arendada välja B rühma vitamiinide samaaegse määramise meetodid toidus ning uurida vitamiin-kofaktorite ainevahetust toidukäitlemise ja -tarbimise võrgustikus. Näidati, et toidutoormes leiduvate vitamiinide ja kofaktorite muundumine inimese sooles absorbeeritavateks vitameerideks toimub suures osas juba toidu käitlemise käigus. Uuriti sea peensoole harjasmembraanist eraldatud ensüümpreparaadi toimet kofaktorite hüdroolüüsile ning selle kasutusvõimalusi bioloogiliselt kättesaadavate B rühma üldvitamiinide kontsentratsiooni määramiseks toidus. Lisaks uuritakse vitamiinide ja teiste bioaktiivsete ühendite mõju kääritusprotsessidele. Uurimistöö toimub koostöös TFTAK töötajatega Dr. K. Kevvai ja Dr. K. Hälvin

**Mikroobide poolt lagundatavad kiudained toidus ja nende ainevahetus soolebakterite kooslustes** (Dr. K. Adamberg, Dr. S. Adamberg, doktorant Madis Jaagura, Anastassia Taivosalo). Töö põhisuunaks on kiudainete mõju uurimine jämesoole mikroobikoosluste, ainevahetusele ja seoste leidmine inimese toitumise, jämesoole mikroobikoosluste ning pikemas perspektiivis tervisenäitajate vahel. Uuritakse erinevusi normaalkaalus ja ülekaalus laste fekaalide mikroobikoosluste dünaamikas, polüsahhariidide ainevahetuses ning energeetikas. Uuritakse rafinoosi levaani, selle substraatide ja sünteesisegu ainevahetust nii fekaalide mikroobikooslustes kui ka *B. thetaiotaomicron*'i kultuuris. Publitseerimisel on *in vitro* uuringute tulemused süsivesikute mõjust fekaali mikroobikoosluste ning *in vitro* uuringute tulemused tärglise ja kiudainete rikka dieedi mõjust pankreasevähki põdevate hiirte soolestiku mikroobikooslusele.

**Toidu mikroobikooslused ja nende evolutsioon** (Dr. I. Sarand, doktorandid Kärt Kontram ja Marianna Surženko). Antud uuringute eesmärgiks on arendada meetodeid ja strateegiaid spontaanselt hapendatud toitude mikroobikoosluste kontrolliks ja kvaliteedi tagamiseks. Põhisuunaks on haputaigas domineerivate tüvede genoomide analüüs ja haputaigna tsükli kiiremat kasvu võimaldavate geenikombinatsioonide tuvastamine, molekulaarmarkerite valideerimine pagaritööstuse hallitussüsteemide identifitseerimiseks, hallitussüsteemide leviku järgimiseks tootmisahelas ning hallitussüsteemide toime määramine piimhappebakteritel *in vitro* ja *in vivo* testide abil.

**Piimhappebakterite süsteemibioloogia** (Dr. K. Adamberg, Prof. R. Vilu). Uuringute eesmärgiks on energiat tootvate ja tarbivate mehhanismide väljaselgitamine piimhappebakterites, et välja töötada efektiivsemaid (kõrgema saagisega) juuretiste tüvesid ja tootmisprotsesse. Keskendutakse valgu ainevahetuse energeetilistele aspektidele. Juuretisebakterite happekindluse selekteerimiseks töötati välja nn. kiirendatud evolutsiooni meetod, mille abil saadud rikastuskultuurist isoleeriti kuni 20 % suurema hapendamiskiirusega bakterid. Samuti juurutati ja rakendati kaasaegseid geeni mutatsiooni meetodeid hapete tootmise mehhanismide uurimiseks.

**Toidu struktuur ja reoloogia** (Dr. Laos, Dr. Traksmäe, doktorandid Tiina Klesment, Aleksei Kaleda, Kristi Kõrge, Evelin Kivimaa). Uuritakse kuidas toidutoore, tehnoloogia ja säilitamine mõjutab toidu struktuuri: näiteks leiva vananemist ja kondiitritoodete säilivust, mee kristalliseerumist, geeli moodustavaid omadusi, jää rekristallisatsiooni kiirust. Jätkatakse jää rekristalliseerumise aeglustamisvõimaluste jääd struktureerivate valkude (ISP) abil. ISP olemasolu tuvastati Eesti kaladest ainult kilus ja räimes. Uuriti ISP mõju jää kristallilisele struktuurile ning temperatuuri ja valgu mõju laktoosi väljakristalliseerumisele jäätises. Lisaks analüüsiti säilitustingimuste mõju šokolaadikommide säilimisele ning tootmistehnoloogia mõju furtsellaraani geelide kvaliteedile.

**Toidu sensoorne ja instrumentaalanalüüs** (Dr. K. Vene, Dr. L. Timberg, doktorandid Rain Kuldjärv, Sirli Rosenvald, Julia Rosend). Arendatakse meetodeid toidu sensorsete kujunemise ja püsivuse uurimiseks. Uuritakse maitse ja aroomi kujunemist siidri, veini kalja valmistamise protsessis; kõrval-maitsetele ja -lõhnade tekke põhjuseid maitseainetes ja teistes toodetes ning mee aroomi. Aroomiuuringute läbiviimiseks arendatakse SPME-GC/MS-olfaktomeetria meetodeid.

**Peptiidide roll tööstuslike pärmitüvede lämmastiku ainevahetuses** (Dr. I. Nisamedtinov, magistrandid Kaspar Mooses ja Johanna-Maria Laos). Käesolev projekt uurib peptiidide rolli erinevate bio- ja toiduainetehnoloogias kasutatavate pärmitüvede (nii *S. cerevisiae* kui ka mitte-*Saccharomyces* liikide tüved) lämmastiku vajaduse katmisel. Välja on arendatud meetod, mis baseerub: i) puhaste valkude proteolüüsi *in*

*silico* modelleerimisel erineva spetsiifilisusega proteaasidega, ii) sobivate peptiidide segu tootmisel laboris ning iii) nende peptiidisegude kasutamisel lämmastiku allikana fermentatsioonikatsetes (siider, vein, bioetanol). Peptiidide tarbimist analüüsime kasutades massispektromeetriat. Oleme näidanud erinevate pärmi tüvede puhul olulist erinevust peptiidide tarbimisvõimes, sõltuvalt lihtsamate lämmastikuallikate (NH<sub>3</sub>, vabad aminohapped) kontsentratsioonist kui ka peptiidide koostisest. Kavas on uurida ka peptiidide transportvalkude avaldumist erinevatel ja/või pidevalt muutuvatel keskkonnatingimustel. Lisaks pakub huvi ka suurema molekulaaluga (s.o. 5+ aminohapet sisaldavate) rakkude kasvu inhibeerivate peptiidide struktuurianalüüs. Uurimistöö toimub koostöös TFTAKi ning Lallemand, Inc. ja selles osaleb lisaks ka TFTAKi teadur Dr. K. Kevvai.

**Eesti rahvastiku toitumise uuring** koostöös Tervise Arengu Instituudiga (Dr. T. Pitsi). Uuritakse nii laste kui täiskasvanute toitumisharjumusi kui ka tervisekäitumist – näiteks kui palju saadakse toiduenergiat, tarbitakse vitamiine ja mineraalaineid ning erinevaid lisaaineid. Uuritakse kuivõrd inimeste tegelik söömine on kooskõlas toidu- ja toitumissoovitustega, et selle põhjal kujundada riiklikku toidupoliitikat.

### **Short description of scientific work**

*The activities the food research group cover the studies of food biotechnology and systems biology; flavor and aroma; stability and quality; nutrition and digestion; the food production and nutrition network.*

**Vitamins and other bio actives in food and yeast** (Dr. I. Nisamedtinov, Prof. T. Paalme, PhD students Allan Vilbaste). *The main objectives of research are development of simultaneous determination methods for B group of vitamins and studies of vitamin and cofactor metabolism in food processing and nutrition network. It was shown that digestion of cofactors into absorbable in gut vitamers starts already during processing. The brush boarder membrane fraction was isolated from porcine duodenum and perspectives of using it for determination of bioavailable vitamins was studied. In addition the effects of vitamins and other bioactive compounds on fermentation processes were evaluated. The research is carried out in cooperation with Dr. K. Kevvai and Dr. K.Hälvin from CFFFT (Tallinn).*

**Digestion and metabolism of dietary fiber by intestinal bacteria** (Dr. K. Adamberg, Dr. S. Adamberg, PhD student Madis Jaagura, Anastassia Taivosalo). *The effects of dietary fiber on microbial composition (microbiota) of large intestine, its metabolism and health effects were studied. The peculiarities in polysaccharide metabolism, energetics and in composition of fecal microbiota were correlated with overweight of children. The growth and metabolism of B. thetaiotaomicron was studied in the artificial environment simulating the large intestine. The papers on in vitro interactions of carbohydrates and fecal microbiota and on effects of starch and dietary fiber rich diet on microbiota of mice with pancreatic cancer have been submitted for publication.*

**Composition and evolution of microbial consortia in food** (Dr. I. Sarand, PhD students Kärt Kontram and Marianna Surženko). *The objective of the study is developing methods for ensuring quality of spontaneously fermented foods. This includes development analytical methods for establishment of composition of microbial consortia as well as identification of gene combinations ensuring the strain and the process stability in technological conditions applied. The second goal is to develop the methods for tracing the spoilage organisms in production chain, particularly fungi. Studies are carried out using sourdough breads as model system.*

**Systems biology of lactic acid bacteria** (Dr. K. Adamberg, Prof. R. Vilu). *The objective of the study is development of high yield processes of production of lactic acid starter cultures by optimizing the protein production expenses. For increasing acid tolerance the accelerated evolution method which enabled to improve the acidification rate for 20% was developed. To study the molecular mechanisms of acid production the site directed gene mutations were introduced.*

**The role of peptides in nitrogen nutrition of industrial yeasts** (Dr. I. Nisamedtinov, MSc students Kaspar Mooses, Johanna-Maria Laos). *This project studies the role of peptides as nitrogen source for yeast strains (both S. cerevisiae and non-Saccharomyces strains) used in various industrial fermentation processes. We have developed a research platform which is based on i) in silico modelling of hydrolysis of proteins of defined structure using proteases with different specificity, ii) following production of peptide mixtures of suitable composition and iii) application of these peptide mixtures as a nitrogen source in different fermentation processes (cider, wine, bioethanol). Peptide consumption is analyzed by mass spectrometry.*

*The results obtained so far indicate a big variation in capability of different yeasts to consume peptides, depending on the presence of simple nitrogen sources (e.g. NH<sub>3</sub> or free amino acids) as well as on the composition of peptides. Our further research plans include also the analysis of peptide transporters expression under changing in response to different environmental conditions occurring during batch fermentations. The structure analysis of growth inhibiting higher MW peptides (those containing 5+ amino acids) is also underway. The project is run in collaboration with Center of Food and Fermentation Technologies (Dr. Kaspar Kevvai) and Lallemand Inc.*

**Food structure and reology** (Dr. Laos, Dr. Traksmaa, PhD students Tiina Klesment, Aleksei Kaleda Kristi Kõrge, Evelin Kivimaa). *The effects raw materials, technology and preservation methods on food structure and quality are studied. The main items are bread staling, lactose crystallization and ice recrystallization, gelling properties of furcellaran. The ice structuring proteins (ISP) were isolated from Baltic sprats and herring and those effect on microcrystalline structure of ice cream tested. Also the effects of protein content and temperature on lactose crystallization in ice cream; effects of storage conditions of chocolate candies; and effects of production technology on quality of furcellaran.*

**Food sensory and instrumental analysis** (Dr. K. Vene, Dr. L. Timberg, PhD students Sirli Rosenvald, Julia Rosend, Rain Kuldjärv). *The methods for studies of food sensory profiles and stability are developed. Studies concentrate on development of off-flavors and aroma, for example in herbs. Aroma profiles of food are studied using SPME and GC/MS-O methods. The development of aroma and taste during cider, wine and kvass fermentation is studied.*

**Uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus** (seostatus aktuaalsete majanduse, keskkonna, ühiskondlike probleemide lahendamisega)

Toidu tehnoloogia areng, sidumine toidu- ja toitumisteadustega on vältimatu nii igapäevase kõrge toiteväärtusega toidu kättesaadavuse tagamisel kui ka inimeste tervislike toitumisharjumiste kujunemisel. Tarbija jaoks üha olulisemaks muutuvad toidu omadused ja kvaliteet, selle püsivus, väärtuslike toitainete säilimine toidu käitlemisel ning toidus leiduvate toitainete bioloogiline kättesaadavus. Uuringugrupi tegevuse kaugem eesmärk on muuta eesti toit ja elu palju paremaks.

### **Aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused**

Toidus leiduvate inimese poolt omastavate B-vitamiinide samaaegse määramismeetodi väljaarendamine

Ülekaaluliste laste jämesoole mikroobikooslusi iseloomustab võrreldes normaalkaaluliste lastega nende jämesoole mikroobikoosluste metaboolne passiivsus ja teatud aktinobakterite puudumine.

Leiti, et kuigi ISP lisamine pidurdab jää rekristallisatsiooni, põhjustab see olulise negatiivse muutuse jäätise mikrostruktuuris: jää kristallid agregeerivad jäigaks kolmedimensionaalseks võrgustikuks põhjustades tekstuuri tugevnemise ja kareda suutunde.

Teostati *Lactobacillus helveticus* ja *Lactobacillus brevis* tüvede genoomide analüüs ning toodi välja võimalikud rukkijuuretise kasvukeskkonnaga seotud geneetilised adapteerumise mehhanismid

Doktoritöö kaitsesid Kadri Aller (Juh. Raivo Vilu, Kaarel Adamberg) *Lactococcus lactis* söötmete optimeerimise ja Kaspar Kevvai (Juh. Ildar Nisamedtinov, Toomas Paalme) pärmiuuringute alal

### **Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;**

**IUT 19-27** „Toidu süsteemibioloogia ja tehnoloogia“ (Toomas Paalme)

**EAS arendusosak** (taotlus EU50171, taotleja AS Solbritt), "Imikupiimasegude koostise modifitseerimine vastavalt viimastele teadustulemustele põhirõhuga piimarasva kasutamisel", Lep16071 (Signe Adamberg), Tallinna Tehnikaülikool, Loodusteaduskond, Keemia ja biotehnoloogia instituut,

**Teadusteenuse leping** AS Solbritt'ga, TTÜ Lep. 15028 (Signe Adamberg)

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

**TFTAK** - koostöö sisuliselt kõikidel ülal kirjeldatud uurimisteedadel (v.a. eesti rahvastiku toitumise uuring)

**Lallemand, Inc. (Kanada)** – pärmide ja bakterite kultiveerimisega seonduv koostöö

**TAI** - Eesti rahvastiku toitumise uuring

**Tartu Ülikool (TÜMRI)** – kiudainete ja mikroobikoosluste uuringud

**TÜ Lastekliinik, Tallinna Lastehaigla, TÜ Biomeedikum – Mikrobioloogia** osakond laste ülekaalu uuringud

**Koostöö Eesti toidutööstusettevõtete**ga toidu kvaliteedi, stabiilsuse, tootearenduse ja tehnoloogia vallas: AS Kalev, AS Põltsamaa Felix, AS Reval Kondiiter, AS Balsnac, Baltic Seaweed solution, AS Reval Kondiiter, AS Solbritt

**Heebrea ülikool, Iisrael** - ISP ja jää struktuuri uuringud

**Kansas State University, (Manhattan, USA)** – toidu sensoorne analüüs ja tarbijauuringud

**Turku University (Finland)** – õunte ja siidri koostise analüüs

### **Uurimisrühma liikmete kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit**

- Viiard, E; Bessmeltseva, M; Talve, T; Aaspollu, 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 Volume: 11 Issue: 2 DOI: 10.1371/journal.pone.0148325
- Kevvai, K, Kutt, Mary-Liis; 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. Volume: 122 Issue: 1 Pages: 110-115
- Seisonen, S; Vene, K; Koppel, K. (2016) The current practice in the application of chemometrics for correlation of sensory and gas chromatographic data FOOD CHEMISTRY Volume: 210 Pages: 530-540