

Keemia ja biotehnoloogia instituut, 2017. 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, +372 620 4388

Instituudi koosseisus on:

1.1 Geenitehnoloogia osakond

1.2 Keemia osakond

1.3 Toidutehnoloogia osakond

2. Teadus- ja arendustegevuse ülevaade uurimisrühmade¹ lõikes

Struktuuriüksusesse kuuluvad uurimisrühmad (koosõlastatult struktuuriüksuse direktoriga).

Instituudis tegutsevad järgmised uurimisrühmad:

- Molekulaarse neurobioloogia uurimisrühm
- E. Truve uurimisrühm
- Metalloproteoomika uurimisrühm
- Taimegeneetika uurimisrühm
- Neuronite surma ja eluspüsivuse mehhanismid ja nende kontroll neurotroofiliste faktorite poolt
- Immunoloogia
- Reproduktiivbioloogia uurimisrühm
- Allan Olsper'ti uurimisrühm
- Angiogeneesi uurimisrühm
- Ligniiini lagundamise biokeemia uurimisrühm
- Oksüdatsiooni uurimisrühm
- R.Vilu uurimisrühm
- Lipiidide ja lipoproteiinide metabolism
- Analüütiliste ja arvutuskeemiliste meetodite arendamine regulatiivotsuste formuleerimiseks
- Supramolekulaarse keemia uurimisrühm
- Katalüüsi uurimisrühm
- Rohelise keemia uurimisrühm
- Arvutuskeemia
- Toidugrupp

The Department conducts research within 24 research groups:

- Molecular Neurobiology
 - Plant-Microbe Interactions
 - Metalloproteomics
 - Plant Genetics
 - Mechanisms of Neuronal Death and Survival and their Control by Neurotrophic Factors
 - Immunology
 - Helicobacter Pylori-Induced Liver Damages
-

- Reproductive Biology
- Interaction between Plant Viruses and Their Hosts
- Angiogenesis
- The group for the study of lignin biodegradation
- Smart Synthesis with Small Cycles: Exploring Chemistry of the Activated Cyclopropanes
- Molecular Science
- Oxidation
- Systems Biology of Bacteria
- Metabolism of Lipids and Lipoproteins
- Advancing Analytical and Computational Chemistry Methods for Regulatory Decisions
- Supramolecular Chemistry
- Catalysis
- Green Chemistry
- Computational chemistry
- Food Research

2.1 Geenitehnoloogia osakond

2.1.1 Tõnis Timmuski Molekulaarse neurobioloogia uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus inglise keeles;

Molecular neurobiology research group

- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht: **Tõnis Timmusk**, professor

- uurimisrühma liikmed 2017 (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 ja teadur; Hanna Vihma, doktorant; Kaja Nurm, doktorant; Kati Taal, doktorant; Jürgen Tuvikene, doktorant; Laura Tamberg, doktorant; Helle Sadam, doktorant; Alex Sirp, doktorant; Epp Väli, insener; Kaisa Roots, magistrant ja insener; Mariliis Jaago, magistrant; Eli-Eelika Esvald, magistrant ja doktorant; Annela Avarlaid, magistrant; Nadezda Pupina, magistrant; Kaie Uustalu, magistrant; Annika Rähni, magistrant; Marilis Raud, magistrant.

- uurimisrühma teadustöö ülevaade 2017. A., sh:

teadustöö lühikirjeldus

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

Our studies focus on the molecular mechanisms of gene expression, including transcription, mRNA and

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

2017. aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist väärivad teadustulemused

Jätkasime närvisüsteemi haigustega ja neuraalse plastilisusega seotud geenide regulatsiooni ja funktsioneerimise uurimist närvirakkudes. (1) Kõige olulisema tulemusena võib välja tuua skisofreeniaga seotud TCF4 geeni poolt kodeeritud aluselise heeliks-ling-heeliks transkriptsiooniteguri uute regulatsioonimehhanismide väljaselgitamist närvirakkudes. Näitasime, et sünaptiline aktiivsus suurendab cAMP ja protein kinaas A vahendatud kindlate seriinide fosforüleerimist TCF4 valgus, mis omakorda suurendab TCF4 transkriptsioonilist aktiivsust. (2) Näitasime, et sumoleerimine reguleerib NFAT perekonna transkriptsioonifaktorite aktiivsust neuronites. (3) Tegime kindlaks, et äädikakärbses *Drosophila* osaleb MANF geen tiiva arengus ja omab olulisi funktsioone mitokondrite toimimises. (4) Avaldasime ülevaateartikli pikornoviiruste seostest neuroloogiliste haigustega. (5) Avaldati meie patenditaotlus Trk retseptori antagonistidest.

We continued our studies on regulation and functioning of genes associated with nervous system diseases and neuronal plasticity. (1) Our most important result was characterization of novel regulatory mechanisms of the basic helix loop helix transcription factor TCF4 in neurons. We showed that synaptic activity increases cAMP and protein kinase A mediated phosphorylation of specific serine residues in TCF4 protein that leads to increase of TCF4 transcriptional activity. (2) We showed that sumoylation regulates the transcriptional activity of NFAT family proteins in neurons. (3) Our *in vivo* screening revealed interactions between the neurotrophic factor Manf and genes involved in the mitochondria and the ubiquinone synthesis pathway in *Drosophila*. (4) A review paper was published on human picornaviruses associated with neurological diseases and their neutralization by antibodies. (5) Our patent application on novel Trk receptor antagonists was published.

2017. a. avaldati järgmised teaduslikud publikatsioonid:

1. Vihma H, Timmusk T. Sumoylation regulates the transcriptional activity of different human NFAT isoforms in neurons. *Neurosci. Lett.* 2017, 653, 302-307
2. Sepp M., Vihma H., Nurm K., Urb, M., Page S. C., Roots K., Hark A., Maher B. J., Pruunsild, P., Timmusk T. The intellectual disability and schizophrenia associated transcription factor TCF4 is regulated by neuronal activity and protein kinase A. *J. Neurosci.*, 2017, 37, 10516-10527.
3. Anastasina M, Domanska A, Palm K, Butcher S. Human picornaviruses associated with neurological diseases and their neutralization by antibodies. *J Gen Virol.* 2017 Jun;98(6):1145-1158.
4. Lindström R, Lindholm P, Palgi M, Saarma M, Heino TI. In vivo screening reveals interactions between *Drosophila* Manf and genes involved in the mitochondria and the ubiquinone synthesis pathway. *BMC Genet.* 2017 Jun 2;18(1):52.
5. Invention: Indole-like TRK receptor antagonists; Owners: Tallinna Tehnikaülikool, Tartu Ülikool; Authors: Tõnis Timmusk, Margus Lopp, Eero Vasar, Allen Kaasik, Mati Karelson; Priority number:

US15/249,390; Priority date: 27.08.2016. Publication No.: US2017/0057948; Publication date: March 2, 2017.

Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

- IUT19-18 "Geeniexpressiooni ja signaaliülekanne regulatsioon närvisüsteemis ja selle patoloogiates (1.01.2014–31.12.2019)", projekti juht Tõnis Timmusk.
- TAR16018 "Genoomika ja Siirdemeditsiini Tippkeskus (1.01.2016–1.03.2023)", projekti juht Tõnis Timmusk.
- VA16017 "TCF4 transkriptsioonilise aktiivsuse regulatsioon neuronites (1.01.2017–31.12.2017)", projekti juht Tõnis Timmusk.

Uurimisrühma liikmete koostöö² 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.

Dr. Tapio I. Heino, University of Helsinki, Finland, Characterization of TCF4 functions in Drosophila.

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

1. Sepp M., Vihma H., Nurm K., Urb, M., Page S. C., Roots K., Hark A., Maher B. J., Pruunsild, P., Timmusk T. The intellectual disability and schizophrenia associated transcription factor TCF4 is regulated by neuronal activity and protein kinase A. *J. Neurosci.*, 2017, 37, 10516-10527.

2. Anastasina M, Domanska A, Palm K, Butcher S. Human picornaviruses associated with neurological diseases and their neutralization by antibodies. *J Gen Virol.* 2017 Jun;98(6):1145-1158.

3. Lindström R, Lindholm P, Palgi M, Saarma M, Heino TI. In vivo screening reveals interactions between Drosophila Manf and genes involved in the mitochondria and the ubiquinone synthesis pathway. *BMC Genet.* 2017 Jun 2;18(1):52.

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

Ei ole.

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

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

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

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.

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

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

Uurimisgrupis osalenud 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).

Uurimisgrupis osalesid järeldoktorid **Mari Palgi**, PhD, **Mari Sepp**, PhD, **Kristi Luberg**, PhD ja **Kaur Jaanson**, PhD. 2017. a. aprillis suundus Mari Sepp järeldoktorantuuri Heidelbergi Ülikooli.

2.1.2 Erkki 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

Lenne Nigul – assistent, insener

Eve-Ly Ojangu – insener

Signe Nõu – insener

Jorgen Holm – magistrant

Jan Raidloo – magistrant

Tatjana Rodina – magistrant

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

teadustöö lühikirjeldus

Uurime taim-patogeen interaktsioonide geneetilisi, molekulaarseid ning rakubioloogilisi aspekte. Kontsentreerume ühele RNA viiruste perekonnale – sobemoviirustele, samuti uurime raku tsütoskeleti ning mõnede tolmuaspetsiifiliste 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. Sobemoviiruste 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.

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.

• **uurimisrühma liikmete 3 olulisemat 2017. a. ilmunud artiklit:**

- **Nummert, G., Sõmera, M., Uffert, G., Abner, E., Truve, E.** 2017. P1-independent replication and local movement of *Rice yellow mottle virus* in host and non-host plant species. *Virology* **502**: 28-32.
- **Sõmera, M., Truve, E.** 2017. Complete nucleotide sequence of *Solanum nodiflorum* mottle virus. *Arch. Virol.* **162**: 1731-1736.
- **Shchetynina, A., Budzanivska, I., Pereboychuk, O., Sõmera, M., Truve, E.** 2017. First report of *Hosta virus X* infecting hosta plants in Ukraine. *Acta Virol.* **61**: 498-499.

2.1.3 Peep Palumaa Metalloproteoomika uurimisrühm

Group of metalloproteomics

- juhi nimi, ametikoht ja allüksus: Peep Palumaa, proteoomika professor, Geenitehnoloogia osakond
- liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kas on doktorant, magistrant);
 - Vello Tõugu, dotsent 0,75/vanemteadur 0.25, Geenitehnoloogia osakond
 - Tiina Kirsipuu, vanemteadur 0,80, Geenitehnoloogia osakond
 - Olga Bragina, teadur, Geenitehnoloogia osakond
 - Julia Smirnova, teadur, Geenitehnoloogia osakond
 - Karin Valmsen, spetsialist, Geenitehnoloogia osakond
 - Andra Noormägi, spetsialist 0,75, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
 - Merlin Friedemann, spetsialist, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
 - Jekaterina Kristal, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
 - Kristel Metsla, Geenitehnoloogia osakond, doktorant
 - Ekaterina Kabin, Geenitehnoloogia osakond, doktorant

Teadustöö lühikirjeldus.

Metalloproteoomika uurimisgrupp on fokuseerunud järgmistele teadusvaldkondadele: (i) biometallide tsingi, vase ja raua homeostaasis osalevate metalloproteiinide struktuursete ja funktsionaalsete uuringutele kasutades erinevaid tehnoloogiaid nagu ESI MS, ICP MS, fluorestsents ja UV-VIS spektroskoopia, (ii) biometallide tsingi, vase ja raua roll amüloidsete peptiidide fibrillatsioonile ja rakulisele toksilisusele, mis on seotud Alzheimeri tõvega.

Metalloproteoomika uurimisgrupi 2017. aasta uurimisprojektid olid fokuseeritud rakuliste mudelsüsteemide testimisele amüloidsete peptiidide toksilisuse uurimiseks ning Wilsoni tõve ravimitena kasutatavate metalle kelateerivate ühendite vask(I) ionide sidumisomaduste määramisele.

Research group of metalloproteomics is focused on following topics: (i) structural and functional studies of metalloproteins participating in homeostasis of biometals zinc, copper and iron. (ii) role of biometals zinc, copper and iron on fibrillization and cellular toxicity of amyloidogenic peptides linked with Alzheimer's disease.

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 vääriavad teadustulemused.

Amüloid- β (A β) peptiidide deponeerumine ekstratsellulaarseteks amüloidseteks agregaatideks on Alzheimeri tõve kriitiliseks patoloogiliseks sündmuseks. Me viisime sisse uudse rakulise testsüsteemi A β 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 β 42, mis kattis rakud paksu A β fibrillide kihiga, mõjutas neuriitide morfoloogiat ja põhjustas apoptoosi.

Kasutades ESI TOF MS tehnoloogiat, määrati Wilsoni tõve ravimitena kasutatavate metalle kelateerivate ühendite vask(I) ionide sidumisomadused, mis on fundamentaalse tähtsusega nende ravitoime mõistmisele.

The amyloid deposition in the form of extracellular fibrillar aggregates of amyloid- β (A β) peptide is a critical pathological event in Alzheimer's disease. We have introduced novel cellular system for studies of toxicity of A β 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 β 42 was toxic in new model system by covering the cells with tight coat of fibrillar A β , causing beading of neurites and inducing apoptosis .

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 for understanding of their therapeutic action.

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 – 15.12.2017)

Uurimisrühma liikmete koostöö³ teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

2017. 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. Smirnova J, Kabin E, Järving I, Bragina O, Tõugu V, Plitz T, Palumaa P. Copper(I)-binding properties of de-coppering drugs for the treatment of Wilson disease. α -Lipoic acid as a potential anti-copper agent. *Sci. Rep.* 2018, 8(1):1463.
2. Krishtal J, Bragina O, Metsla K, Palumaa P, Tõugu V. In situ fibrillizing amyloid-beta 1-42 induces neurite degeneration and apoptosis of differentiated SH-SY5Y cells. *PLoS One.* 2017, 12(10):e0186636.

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

2.1.4 Kadri 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

Teadustöö lühikirjeldus

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.

2017. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:

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

- a) 4AL spetsiifilise BAC raamatukogu analüüsimise ('chromosome walking') teel lokaliseeriti *QPm.tut.4A* 480 kb pikkuses kromosoomipiirkonnas, mis kodeerib ca 12 erinevat valku.
- b) *QPm.tut.4A* on üle kantud Eesti suvinisudest suurima kasvupinnaga sordile 'Mooni', mille peamiseks puuduseks on seni olnud vastuvõtlikkus jahukastele. Saadud haiguskindlat 'Mooni' analoog testiti ETKI põldkatses ja paljundati sõrdivõrdlusesse andmiseks (uus sort).
- c) Tuvastasime 3 kartulisordi Ando lehemädanikukindluse tekkes osalevat geeni.

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 2017 were the following:

- a) we localized the *QPm.tut.4A* gene on a 480 kb fragment coding for appr. 12 candidate genes to be involved in resistance (by chromosome walking).
- b) *QPm.tut.4A* was carried over to the Estonian elite spring wheat variety 'Mooni' and the new line has been propagated to be acknowledged as a spring wheat variety.
- c) We identified a set of candidate genes involved in potato light blight resistance of the Estonian potato variety Ando.

Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

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

Uurimisrühma liikmete koostöö⁴ 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 Taimekasvatuse Instituut (ETKI) Mati Koppel, Eesti Taime_kasvatuse Instituut

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

1. **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. (2017) The *in silico* identification and characterization of a bread wheat/*Triticum militinae* introgression line. Plant Biotechnol. J. 15(2): 249–256**

⁴ Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

2.1.5 Urmas Arumäe uurimisrühm

Neuronite surma ja eluspüsimise mehhanismid ja nende kontroll neurotroofiliste faktorite poolt

Rühmajuh: **Urmas Arumäe**, dotsent, PhD

Rakkude programmeeritud surm on nii embrüonaalse arengu kui ka täiskasvanud kudede füsioloogia ja patoloogia oluline osa. Rakkudes on erilised molekulaarsed surmaprogrammid mis on nii rakusiseste kui ka rakuväliste (näiteks troofilised faktorid) mehhanismide range kontrolli all. Surmaprogrammide ja neid kontrollivate süsteemide tundmine on eriti oluline närvisüsteemis, sest kaotatud postmitootilised neuronid reeglina ei uuene. Meie rühm uurib sümpaatiliste neuronite apoptoosi mehhanisme. Nende neuronite arengus on nn. programmeeritud surma periood kus sisemine surmaprogramm on kontrolli alt vaba ja nad vajavad eluspüsimiseks väljastpoolt neurotroofilist faktorit (närvikasvufaktor, NGF). Selle perioodi lõppedes on apoptoos jälle kontrolli all ja neuronid püsivad elus ilma NGF'ga. Oleme mikrokiipanalüüsil leidnud mitmeid huvitavaid gene millede avaldumine muutub drastiliselt sümpaatiliste neuronite programmeeritud surmaperioodi lõppedes. Uurimise all on FAIM2 (Lifeguard) ja Tnfrsf10b (TRAIL retseptor), aga ka muid. Uurime nende valkude rolli neuronite apoptoosis ja selle kontrollis. Selleks kasutame nende geenide vaigistamist vastavate shRNA konstruktidega ja üleavaldamist lentiviirusvektoritega transdutseeritud neuronikultuurides. Kasutame ka teisi neuronimudeleid (kortikaalsed, sensoorsed, hippokampuse neuronid).

Teine teema, mis toimub koostöös Helsingi Ülikooli Biotehnoloogia Instituudiga, on seotud uute neurotroofiliste faktorite MANF ja CDFN toimemehhanismide uurimisega. Need faktorid takistavad neuronite surma ja on praegu esimesed molekulid mis ravivad loomamudelitel Parkinsoni haiguse ja ajurabanduse sümptome. Mõlemad faktorid toimivad nii rakusiseselt kui ka sekreteeritud faktoritena, aga kumbki toimemehhanism on praegu veel ebaselge. Oleme varem näidanud et MANF'is (aga ka CDFN'is) on CXXC motiiv mille muteerimine inaktiveerib MANFi. See motiiv peptiidina läbib rakumembraane ja on samuti anti-apoptootiline. Uurime selle CXXC-peptiidi toimemehhanismi nii neuronitel kui ka lümfotsüütidel. Meil on kasutada ka *Drosophila* mutant kus CXXC motiiv on inaktiveeritud. Uurime selle mutandi fenotüüpi neuronites ja gliiarakkudes. Need uuringud võivad olla olulised ka meditsiinilisest aspektist, sest MANF ja CDFN on praegu kõige perspektiivsemad ravimikandidaadid Parkinsoni haiguse, aga tõenäoliselt ka muude neuroloogiliste haiguste raviks.

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

Group leader: **Urmas Arumäe**, associate professor

Programmed cell death is an essential part of the embryonic development, but also the physiology and pathology of adult tissues. The cells have special molecular programs for death, and these are under strict control by cell-intrinsic and -extrinsic (e.g. trophic factors) mechanisms. Understanding the cell death programs and their control mechanisms is especially important in the nervous system, because, as a rule, the lost postmitotic neurons are not replaced. Our group studies the mechanisms of apoptosis of sympathetic neurons. There is a programmed cell death period in the development of sympathetic neurons, when the intrinsic apoptotic program is free of control and the neurons require external neurotrophic factors (nerve growth factor, NGF) to survive. By the end of this period, the apoptosis is under strict control again and the neurons survive without NGF. By microarray system we have identified several interesting genes whose expression drastically changes by the end of the programmed death period of sympathetic neurons. E.g. FAIM2 (Lifeguard) and Tnfrsf10b, but also other genes are of interest. We are studying the role of these proteins in the neuronal apoptosis and its control. To that end we use overexpression in the primary sympathetic cultures by lentiviral vectors, and silencing by respective shRNA constructs. Also other primary neurons, including cortical, sensory and hippocampal, are in use.

Another research topic, in collaboration with the Institute of Biotechnology, University of Helsinki, is related to the mechanism of action of novel neurotrophic factors MANF and CDFN. These survival-promoting factors are the first ones that cure the symptoms of Parkinson's disease and stroke in the animal models. Both factors can act as intracellular factors and as secreted factors, but both modes of action are very poorly understood. We have earlier shown that mutation of a CXXC motif on MANF leads to its inactivation and is thus essential for its activity. Moreover, this motif, as a tetrapeptide, can penetrate the cell membrane and promote survival, most probably via antioxidative mechanism. We study the mechanism of action of this peptide in the neurons and lymphocytes. We also have a mutant *Drosophila* line where this CXXC motif is mutated. We study the neuronal and glial phenotype of this mutant. These studies can be essential in the medical point of view, as MANF and CDFN are currently the most promising candidate molecules for the treatment of Parkinsonian patients, but most probably also other neurological conditions.

2.1.6 Sirje Rüütel Boudinot Immunoloogia uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus inglise keeles; Immunology
- uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; **Sirje Rüütel Boudinot, TTÜ GTI MD van.teadur, dots**
- uurimisrühma liikmed

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

Triin Oja, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm, magistant

Helen Aitai, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm, magistant

Airi Rump, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm, magistant

Jaanus End, Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm, magistant

Teadustöö lühikirjeldus

Meie uurimisgrupp on keskendunud Ge valgu regulaatorvalgu 16 (RGS16) osaluse välja selgitamisele autoimmuunsetes patoloogiates, kasutades hulgiskleroosi (MS) patsientidelt saadud proove ning MS'i hiire mudelit EAE. Hiljutised uuringud näitavad, et RGS16 osaleb nii viiruslikus kui ka neuroinflammatoonis. Nii geneetiline link kui nende haiguste otsene mõju inflamatoorsetele signaaliradadelen näitab, et RGS16 on oluline regulaatorvalk selliste patoloogiate progressioonis.

- Meil on vivaariumis RGS16 KO hiirte koloonia ja meie 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 ja kannabinoidretseptorite signaaliülekanedes.
- 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 töödes seotud MSiga. Meie tulemustest järeldub, et IFN- β ravimite ja kopaksoonil (Copaxone) on erinev mõju geenidele: IFN β ravi alandab RGS1, VAV1 ekspressiooni CXCR4 kuid kopaksooni ravi mitte.

- Puriinergilised kanalid ja immuunsus
- Inimese ja hiire uuringud on näidanud et puriinergiline ioonkanal P2X4 on oluline nii neuropaatilise valu tekkes kui ka ajus tekkivate põletikukollete regeneratsioonil. Et seda seda MS kontekstis uurida tegime inimese kõige tundlikuma puriinergilise mkanali-P2X4 vastased antikehad ja meie esialgsed andmed näitavad et P2X4 retseptor ekspresseerub nii inimese kui hiire myeloidsetel rakkudel soospetsiifiliselt. See töö meil jätkub. Paralleelselt sellega kirjutasime ja publitseerisime ülevaate artikli P2X4 retseptorist nii terves kui patoloogilises füsioloogias.
- Originaalartikkel P2X4 vastastest antikehadest on valmimas, samuti artikkel , mis iseloomustab RGS16 osa nii MS-is kui EAE-s.

Overview

- **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 regulator 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 grender 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 β treatment significantly down regulates RGS1, VAV1 and CXCR4 expression while Copaxone treatment did not cause different expression of RGS1, VAV1 and CXCR4 compared to healthy controls.
- Purinergic receptors and immunity:
- Ion channels are involved in several biological processes and have been implicated in many disease states. P2X4 receptors (P2X4) are important for activation of many immune cells by extracellular ATP. We recently developed a panel of monoclonal antibodies (Mab) against the

most sensitive of purinergic receptor P2X4 and we undertook the characterization of those reagents against human and mouse P2X4. Using our Mabs, we could show to our knowledge for the first time that expression of P2X4 was higher in peripheral blood leucocytes of men. Although blood and spleen leucocytes of male mice express more P2X4 on the surface compared to female mice. This work is still on going. In parallel we have written and published a review on structure and function of P2X4 receptors in healthy and pathological physiology. An article about those Mab-s is in preparation and an article about MS is in preparation

- **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 koostöö⁵ 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) Suurväli J, Boudinot P, Kanellouopoulos J, Rüütel Boudinot S, (2017) P2X4: a fast and sensitive purinergic receptor. Biomed. J. 40:245-256.

(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

Triin Oja Master Thesis, Department of Chemistry and Biotechnology, Tallinn University of Technology, Estonia 2018: Isolation and characterization of exosomes with alternative applications. Supervisors: Pablo Guazzi and Sirje Rüütel Boudinot

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

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

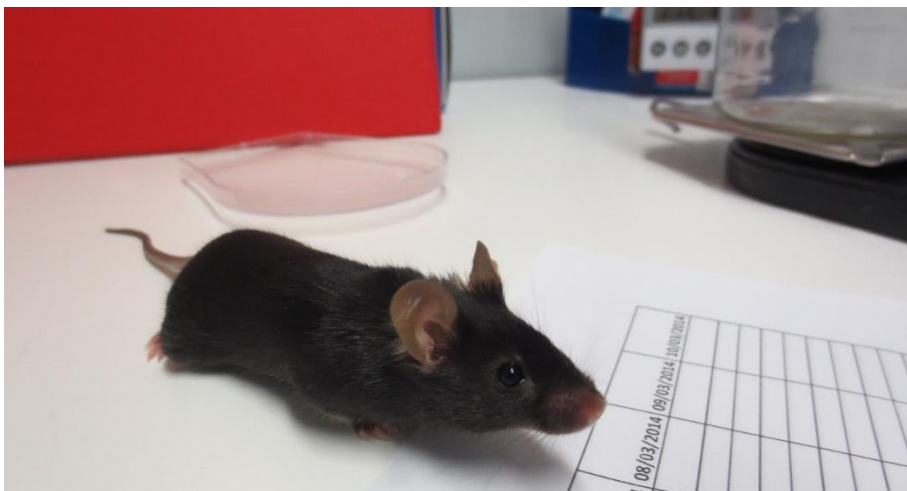
Soovi korral esitatakse **muu informatsioon aruandeaasta T&A kohta**, sh saadud T&A-ga seotud tunnustused (va punktis 2.2 nimetatud), ülevaade teaduskorralduslikust tegevusest, teadlasmobiilsusest vmt.

Erasmus + Stuff Mobility for Training (Sirje Rùutel Boudinot)

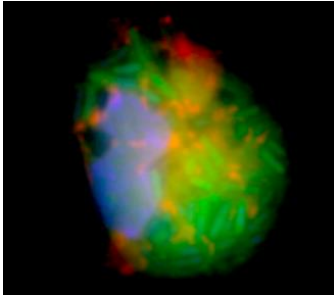
Campus France fellowship nr 885510B (Sirje Rùutel Boudinot)



EAE indutseerimine RGS16 KO hiirtel. Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm.



EAE induksioon järgne hiirte käimise test. Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm



Bakteritest pungil makrofaag: Keemia ja biotehnoloogia instituut, Molekulaardiagnostika õppetool, Immunoloogia uurimisrühm



Doktorikraadi kaitsmine on väga tähtis sündmus elus mis väärib tähistamist . Jaanus Suurväli

2.1.7 Pirjo Spuuli uurimisrühm: Helicobacter pylori-põhjustatud maksakahjustused

Helicobacter pylori-induced liver damages

Uurimisrühma juht: Pirjo Spuul, teadur, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

Uurimisrühma liikmed:

Elina Rukavitsõna: magistrant, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

Lagle Kasak: insener, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

Kertu Kadastik: insener, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

2017 kaitsnud üliõpilased:

Kertu Kadastik: bakalaureuse kraad, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

Kersti Sadul: bakalaureuse kraad, TTÜ KBI geenitehnoloogia osakond

Uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisemad projektid/lepingud:

PUT1130 (Pirjo Spuul)

B61 (Pirjo Spuul)

G.F.Parrot Eesti-Prantsuse koostööprogrammi reisigrant 2017-2018 (Pirjo Spuul)

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

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

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

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

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

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

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

2.1.8 Agne Velthut-Meikase Reproduktiivbioloogia uurimisrühm

uurimisrühma nimetus inglise keele:; **Research group of reproductive biology of Agne Velthut-Meikas**

- uurimisrühma liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kui on doktorant, magistrant);
Ilmatar Rooda, MSc. Doktorant.

Teadustöö lühikirjeldus

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

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

2017. 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). 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 2017 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.

- **uurimisrühma liikmete koostöö⁶ teiste T&A asutuste ja ettevõtetega** (sh välisriikidest);

Koostöö Tervisetehnoloogiarenduskeskusega. Agne Velthut-Meikas osales Tervisetehnoloogiarenduskeskuse teadlastega kahe publikatsiooni loomises, mis on avaldatud 1.1 kategooria teadusajakirjades:

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. *Sci Rep.* 2017 Aug 30;7(1):10077. doi: 10.1038/s41598-017-10098-3.
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. *Sci Rep.* 2017 Jun 20;7(1):3916. doi: 10.1038/s41598-017-03682-0.

2017. aastal oli Agne Velthut-Meikasel tööleping Tervisetehnoloogiarenduskeskusega teaduri ametikohal ning Ilmatar Roodal laborandi ametikohal.

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

Ilmusid ülalpool täpsustatud koostööartiklid Tervisetehnoloogiarenduskeskusega.

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.

2.1.9 Allan Olsperit'i uurimisrühm

- uurimisrühma nimetus inglise keeles; Olsperit group

uurimisrühma juhi nimi, ametikoht; Allan Olsperit, sihtrahastusega vanemteadur

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

⁶ Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

Teadustöö ülevaade

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

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

2017 tulemused

- Määrati insertioone või asendusmutatsioone tekitava libisemise efektiivsust mõjutavad ümbritsevate nukleotiidide võtmepositsioonid
- Kinnitati, et vastavate positsioonide mõju sõltub ka ümbritsevast kontekstist
- Leiti, et potyviiirustele sarnaste loomaviiruste puhul võib küll toimuda replikaasi libisemine, kuid üldjuhul on vastava protsessi karakteristikud teistsugused ning libisemiseks on sobilikum pigem pikem kui kuue järjestikuse A (või U) nukleotiidiga järjestus
- Töötati välja rangelt ahelaspetsiifiline ja kvantitatiivne viraalse RNA detektsiooni meetodika
- Avastati, et libisemisega seotud insertioonid ja asendusmutatsioonid ei jaotu ühtlaselt positiivse ja negatiivse polaarsustega RNA populatsioonide vahel
- Arendati potyviiiruste *in vitro* ja *in planta* replikatsioonisüsteeme

Overview

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

The research may have an impact beyond agriculture and plant science, as a number of medically important human pathogens such as measles, mumps, and Ebola virus also utilize transcriptional slippage. Therefore, in depth understanding of viral polymerase slippage, polymerase error rates,

frequencies and destinations of modified genomes may improve our understanding of and ability to fight against viral diseases in general.

Research results in 2017

- Determination of key surrounding nucleotide positions that modulate insertional or to-from form of replicase slippage
 - Confirmation that the impact of the key positions is context dependent
 - Analysis of related animal viruses revealed that insertional slippage does occur in some extent, however the characteristics are different from potyviruses and homopolymeric tracts longer than six A (or U) are favored
 - A strict strand specific and quantitative analysis methodology of viral RNA was developed
 - High-throughput sequencing of strand-specific libraries revealed that slippage derived insertions and point mutations do not distribute evenly between sense and anti-sense RNA populations
 - Development of *in vitro* and *in planta* potyviral replication assays
- **loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;**
 - 1) TTÜ noorteadlase baasfinantseerimine „Transkriptsiooniline libisemine positiivse polaarsusega RNA viirustel”
 - 2) ETAG personaalne uurimustoetus, stardigrant „RNA alampopulatsioonide erinevad rajad viirusinfektsioonides”
 - **uurimisrühma liikmete koostöö teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);**

Dr. Andrew E. Firth, University of Cambridge, UK

2.1.10 Andres Valkna Angiogeneesi uurimisrühm

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

Teadustöö lühikirjeldus

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 esinevaid funktsionaalgenoomika ja traskriptomika 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.

2017. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:

Eelmisel aastal publitseerisime tulemused, kus näitasime, et CD44 KO hiirtes on veresoonte areng vastuseks pro-angiogeneetiliste 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 rekombinantset 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 2017 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 koostöö⁷ teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);**

Prof. Andres Salumets, Tartu Ülikool, Meditsiiniteaduste valdkond, Bio- ja siirdemeditsiini instituut, IB Genetics OÜ, Personaalsete tervisekäitumisjuhiste koostamiseks vajalike geenitestide arendus

⁷ Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

2.1.11 Tiit Lukk'i Ligniini lagundamise biokeemia uurimisrühm

The group for the study of lignin biodegradation

- juhi nimi, ametikoht ja allüksus: Tiit Lukk, vanemteadur, Geenitehnoloogia osakond
- liikmed (nimi, ametikoht ja allüksus; täpsustatakse, kas on doktorant, magistrant);
 - Kairit Zovo, teadur 0,75, Geenitehnoloogia osakond
 - Epp Väli, insener, 1,0, Geenitehnoloogia osakond
 - Melissa Ingela Bramanis, magistrant, insener, 0,25, Geenitehnoloogia osakond
 - Merli Jõemaa, magistrant, insener, 0.25, Geenitehnoloogia osakond

Teadustöö lühikirjeldus.

Ligniini lagundamise biokeemia uurimisgrupi tegemised aastal 2017 olid põhiliselt seotud uue labori sisseseadmisega, kuid algust tehti ka mullabakteritest pärinevate ligniini lagundamisega seotud kandidaatgeenide kloonimisega, kandidaat-valkude isoleerimisega ning nende valkude kristallimise sõeluuringutega. Uurimisgrupi üks põhisuundi keskendub struktuuribioloogiale ning ensüümide ratsionaalsele disainile punktmutatsioonide abil. Mutageneesiga plaanitakse tõsta nende ensüümide redokspotentsiaale, häälestada aktiivsuseks vajalikku pH vahemikku ja temperatuuri stabiilsust, ning anda neile võime siduda alternatiivseid siirdemetalli-ioone.

Although the majority of activities in the lignin biodegradation research group in 2017 dealt with setting up the new lab, the group also got started with the cloning of soil bacterial gene candidates implicated in lignin degradation. In addition to that, several of the candidate enzymes were isolated and screened for crystallization. One of the major directions of the research group focuses on the structural biology and rational design of enzymes utilizing point mutations. Site-directed mutagenesis in the near vicinity of the catalytic metal sites of those enzymes will allow the enzymes to be tuned to higher redox potentials, altered pH activity ranges, enhanced temperature stability as well as the ability to bind to alternative transition metal ions.

Uurimisgrupi T&A ühiskondlik mõjukus.

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

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

Aruandeaastal saadud kõige olulisemad märkimist vääriavad teadustulemused.

Kuigi siiani on enamuse 2017. aasta sügisel alanud projektist ajaliselt kulunud labori sisseseadmisele ja ettevalmistustöödele, koguti juba detsembris esimesi difraktsioonimustreid käputäielt kandidaatensüümide kristallidelt kasutades selleks loodusteaduste majas asuvat difraktomeetrit. Esialgset difraktsioonandmed võimaldasid optimeerida kristalliseerimise tingimusi nõnda, et oleks võimalik 2018. aasta varakevadel sünkrotroni kiirekanalites kõrgresolutsiooni difraktsioonimustreid üles võtta.

Although most effort from the beginning of the project that started in the fall of 2017 went towards preparative work and setting up the lab, utilizing our in-house diffractometer we were able to collect the first diffraction images from the crystals of a handful of candidate enzymes already in December. This enabled the optimization of the crystallization conditions that will be used to collect high resolution X-ray diffraction data at synchrotron beamlines in early spring of 2018.

Loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;

MOBTT60 Aktinomütsetide metalloproteiinide roll ligniini depolümeerimisel ja mulla keemias (01.08.2017 – 31.07.2022)

Uurimisrühma liikmete koostöö⁸ teiste T&A asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest);

2017 aastal alustati koostööd Estonian Cell aktsiaseltsiga, et uurida aktinomütsetide ensüümide kasutamise võimalikkust haava puitmassi pleegitamise hõlbustamisel ning puitmassi jahvatamise energiakulude vähendamisel.

The research group started a collaboration in 2017 with Estonian Cell AS, to study the feasibility of using actinomycete enzymes in enhancing the efficiency of aspen wood paper pulp bleaching and reducing the energy consumption of mechanical pulping processes via enzymatic routes.

2.2 KEEMIA OSAKOND

2.2.1 D. Kananovich'i uurimisrühm Chemistry of small ring compounds

Head of the research group:

Senior Research Scientist DZMITRY KANANOVICH, dzmitry.kananovich@ttu.ee

Our research interests are centered on the chemistry of small carbo- and heterocyclic compounds, such as cyclopropanes, epoxides, aziridines and highly reactive titanacyclopropane species. Owing to their unique reactivity, small ring compounds have multiple applications in organic synthesis. Ring strain facilitate ring opening reactions, while increased s-character of C-H bonds allows to perform C-H functionalization with retention of the strained cycle. Our efforts are focused on the development of novel methods for the synthesis of small cycles and their applications in organic synthesis; employing early transition metals for the construction of C-C and C-X bonds; investigation of cyclopropane C-H activation reactions; synthesis of natural and bioactive compounds; development of novel catalytic systems for asymmetric transformations.

IN 2017:

We have developed new methods for the synthesis of distally fluorinated ketones and γ -keto sulfones from carboxylic esters via ring cleavage of tertiary cyclopropanol intermediates;

We have shown that cyclopropanols can be easily transformed into chiral epoxy ketones, versatile building blocks in organic synthesis, using atmospheric oxygen as environmentally friendly and sustainable oxidant;

A new method for remote C-H functionalization of cyclopropylamides has been developed in our group, using directed metalation strategy.

SELECTED PUBLICATIONS

Konik, Y.A.; Kudrjashova, M.; Konrad, N.; Kaabel, S.; Järving, I.; Lopp, M.; Kananovich, D.G. (2017). Two-step conversion of carboxylic esters into distally fluorinated ketones via ring cleavage of cyclopropanol intermediates: Application of sulfinate salts as fluoroalkylating reagents. Organic and Biomolecular Chemistry, 15, 4635–4643.

⁸ Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

Konik, Y.A.; Elek, G.Z.; Kaabel, S.; Järving, I.; Lopp, M.; Kananovich, D.G. (2017). Synthesis of γ -keto sulfones by copper-catalyzed oxidative sulfonylation of tertiary cyclopropanols. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 15, 8334–8340.

Elek, G.Z.; Borovkov, V.; Lopp, M.; Kananovich, D.G. (2017). Enantioselective One-Pot Synthesis of α,β -Epoxy Ketones via Aerobic Oxidation of Cyclopropanols. *Organic Letters*, 19, 3544–3547.

2.2.2 Molecular Science

PI: Pavel Starkov, PhD Senior Research Scientist

Group Website <http://ttu.ee/starkov>

Group Members

1. Pavel Starkov, PhD (UCL) PI
2. Rohit Bhadoria, MSc (IIT Gandhinagar) Y2 PhD student
3. Kefeng Ping, MSc (NUI Galway) Y1 PhD student
4. Christer Lohk Y2 BSc student

The focus of my research group is on **translating** advances in **synthetic chemistry and materials** to adjacent fields of catalysis, chemical biology and materials science by delivering alternative and/or significantly improved solutions. This is achieved by answering a simple question of how we can improve complex molecular processes, systems and architectures by altering them on a single-molecule-level.

The work we have embarked on, focusses on development of

1. in-cell screening platform for identifying biofunctional interactions using small molecule chemistry in combination with light microscopy within the context of a living cell;
2. extending the pool of organic linker design for crystalline and amorphous metal–organic frameworks/coordination network-based porous materials for their applications in energy storage and conversion;
3. chemobiological approaches using expansion microscopy, i.e. the physical expansion of a fixed sample using water-swallowable polymerisation/hydrogel formation.

Publications

[1] Bhadoria, R.; Ping, K.; Järving, I.; Starkov, P. Bile acid conjugation as a tool for enhancing intracellular delivery of the linker-extended constructs. *Manuscript in prep. Submission in Feb 2018*.

[2] Starkov, P.; Bhadoria, R.; Ping, K. Conjugation with bile acids and their derivatives, and uses thereof. *U.S. Prov. Pat. Appl.* No. 62/594,778. Priority date Dec 05, **2017**.

[3] Starkov, P.; Moore, J. T.; Duquette, D.; Stoltz, B. M.; Marek, I. Enantioselective construction of acyclic quaternary carbon stereocenters: palladium-catalyzed decarboxylative allylic alkylation using fully-substituted amide enolates. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 9615. DOI:10.1021/jacs.7b04086

2.2.3 Margus Loppi uurimisrühm

Account of the Asymmetric Synthesis group

Prof. Margus Lopp

1. Together with Green Chemistry Group it was found that oligopeptides as asymmetric catalysts behave between enzymes and small organocatalyst molecules [1]

2. Together with Green Chemistry Group methods to synthesize gamma-keto sulfones, molecules of interest in medicinal chemistry was developed [2] (
3. Asymmetric transformations of 1,2-cyclopentanediones open new possibilities to synthesize chiral building blocks and intermediates of different valuable compounds. Asymmetric Organocatalytic Michael addition-cyclization cascade of Cyclopentane-1,2-dione with substituted alpha,beta-unsaturated aldehydes leads to asymmetric substituted dioxane derivatives [3].

Selected articles

[1] Elek, Gabor Zoltan; Borovkov, Victor; Lopp, Margus; Kananovich, Dzmitry G. Enantioselective One-Pot Synthesis of alpha,beta-Epoxy Ketones via Aerobic Oxidation of Cyclopropanols. *Organic Lett.*, **2017**, v. 19, p. 3544-3547.

[2] Konik, Yulia; Elek, Gabor Zoltan; Kaabel, Sandra; Järving, Ivar; Lopp, Margus; Kananovich, Dzmitry. Synthesis of gamma-keto sulfones by copper-catalyzed oxidative sulfonylation of tertiary cyclopropanols *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2017**, v. 15, p. 8334-8340.

[3] Preegel, Gert; Silm, Estelle; Kaabel, Sandra; Järving, Ivar; Rissanen, Kari; Lopp, Margus. Asymmetric Organocatalytic Michael Addition-Cyclization Cascade of Cyclopentane-1,2-dione with Substituted alpha,beta-Unsaturated Aldehydes. *Synthesis*, **2017**, v.49, p. 3118-3125. Preegel, Gert; Silm, Estelle; Kaabel, Sandra; Järving, Ivar; Rissanen, Kari; Lopp, Margus.

2.2 Raivo 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);
Andrus Seiman – insener
Taivo Lints – insener
Henri Ingelman – nooremteadur, doktorant
Kätrin Karu – nooremteadur, doktorant
Georg Arju – nooremteadur, doktorant
Olga Gavrilova – teadur
Reimo Priidik – insener, magistrant
- uurimisrühma teadustöö ülevaade (kokku kuni 1,5 lehekülge eesti ja inglise keeles), sh:

Teadustöö lühikirjeldus

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

2017. a. olulisimad teadustulemused olid järgmised:

1. Täiustati tarkvarakeskkonna prototüüp bakterirakkude uut tüüpi mudelite kasutamiseks. Arendustöö tarkvarakeskkonna loomisel jätkub.
2. Võeti kasutusele ja arendati isothermilise 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. Eelnevalt loodud MS-põhiseid proteoomika meetodeid kasutati termofiilsete juuretistega valmistatud juustude kaseiini hüdrolüüsi kirjeldamiseks. Arendati edasi arvutusmeetodeid valkude hüdrolüüsi kvantitatiivseks uurimiseks ja kirjeldamiseks.

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 further developed and tested in laboratory practice.
2. Isothermal microcalorimetry method was further 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 developed was published. Computational methods for the quantitative description of protein hydrolysis processes were further developed.

- **loetelu uurimisrühma liikmete aruandeaastal juhitud olulisematest projektidest/lepingutest;** IUT19-27A „Süsteemibioloogia rakendused toiduteaduses ja -tehnoloogias“

- **uurimisrühma liikmete koostöö⁹ 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 Soini, 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);

⁹ Koostöö all peetakse silmas ühiseid teadusuuringuid, tulemuste publitseerimist jmt, mitte ainult lepingulise tellimustöö täitmist.

Publikatsioonid on eraldi Excel'i failis.

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

Peatükk raamatus "Continuous Biomanufacturing: Innovative Technologies and Methods"

edited by Ganapathy Subramanian, John Wiley, 2017 (vt.

<https://books.google.de/books?id=VLg1DwAAQBAJ&lr=>)

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

Raivo Vilu – Valge tähe IV järgu orden

Raivo Vilu – DuPont'i medal innovaatiliste toitumisalaste uuringute eest

Loetelu uurimisrühma 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)

2.2.5 Nigulas Samel'i uurimisrühm Lipiidide ja lipoproteiinide metabolism

nimetus inglise keeles – Metabolism of lipids and lipoproteins

juhi nimi, ametikoht ja allüksus – Nigulas Samel, professor

liikmed:

Aivar Lõokene, juhtivateadur

Ly Villo, dotsent

Ivar Järving, vanemteadur

Gennadi Kobzar, vanemteadur

Helike Lõhelaid, teadur

Kaia Kukk, teadur

Priit Eek, nooremteadur/ doktorant

Mart Reimund, nooremteadur/ doktorant

Tarvi Teder, nooremteadur/ doktorant

Kaspar Põldemaa, nooremteadur/ doktorant

Robert Risti, nooremteadur/ doktorant

Annamaria Rahumeel, magistrant

Mari Västra, magistrant

Robert Uibu, magistrant

Uurimistöö kirjeldus

Lipiididel ja lipoproteiinidel on oluline reguleeriv 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 lipiidreguleerivad metaboolsed kaskaadid on sihtmärkideks ravimiarenduses. Uurimisrühma teadustöö põhieesmärkideks ongi

lipiidmediaatorite sünteesis osalevate ensüümide struktuursete, katalüütiliste ja reguleerivate aspektide väljaselgitamine ning lipoproteiinide metabolismi ja endoteeliale lipolüüsi reguleerivate 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 olulisemad teadustulemused (eesti ja inglise keeles)

1. Lipoksügenaasid (LOX), osaledes mitmetes patoloogilistes protsessides nagu põletikud, allergia ja vähkkasvajad, on perspektiivsed märklaudmolekulid ravimiarenduses. Paraku puudub tänaseni ühtne arusaam nende ensüümide reguleerimisest. Kombineerides oma varasemaid röntgen-kristallograafia andmeid väikese nurga röntgenhajumise, keemilise ristsidumise ja mutatsioonanalüüsiga tegime kindlaks 11R-LOX dimerisatsiooni liidese. Leid, et PDZ-domeen vahendab 11R-LOX dimerisatsiooni, viitab LOX allosteerilisele reguleerimisele oligomerisatsiooni kaudu.

Lipoxygenases (LOXs), participating in inflammatory processes and cancer, are a family of enzymes with high potential as drug targets. Yet there is a lot of uncertainty concerning the regulation of these enzymes. By combining our previous crystallographic data with small-angle X-ray scattering, chemical cross-linking, and site-directed mutagenesis of potential contacting residues we determined the dimerization interface of 11R-LOX. The finding that a PDZ-like domain mediates 11R-LOX dimerization further implicates this subdomain in the allosteric regulation of LOXs.

2. Oma varasemates uuringutes näitasime, et vaatamata kõrgele kõrgele struktuuri identsusele katalüüsivad koralli alleenoksiidi süntaas (cAOS) ja hüdroperoksiidi lüaas (cHPL) erinevaid reaktsioone. Käesolevas töös, kasutades võrdlevat järjestuste ja struktuuranalüüsi ning mutatsioonanalüüsi määrasime kindlaks katalüüsi spetsiifilisust mõjutavad aminohappejäägid substraadikanalis ja heemi ümbruses. Me oletame, et cHPL Phe150 ja Ser177 asendused tagavad epoksüallüülradikaalse vaheühendi õige lokaliseerimise aldehydi tekkeks hüdroperoksiidi lüaasi reaktsioonis.

Our previous studies show that in spite of very high structural identity coral allene oxide synthase (cAOS) and hydroperoxide lyase (cHPL) differ by catalytic specificity. Now, the possible determinants of the reaction specificity were determined via comparative sequence and structural analysis of the substrate channel and the heme region of cAOS and cHPL. We suggest that the residues in cHPL, Phe150 and Ser177, are involved in a proper coordination of the epoxy allylic radical intermediate necessary for aldehyde formation in the hydroperoxide lyase reaction.

Koostöö¹⁰ teiste TA asutuste ja ettevõtetega (sh välisriikidest)

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

Prof. Gunilla Olivecrona (Umea Ülikool, Rootsi)

Sergo Kasvandik (Tartu Ülikool)

Kuni 3 olulisemat aruandeaastal ilmunud artiklit

Eek, P.; Põldemaa, K.; Kasvandik, S.; Järving, I.; Samel, N. (2017). A PDZ-like domain mediates the dimerization of 11R-lipoxygenase. *BBA Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1862, 1121–1128.

Teder, T.; Löhelaid, H.; Samel, N. (2017). Structural and functional insights into the reaction specificity of catalase-related hydroperoxide lyase: A shift from lyase activity to allene oxide synthase by site-directed mutagenesis. *PLoS ONE*, 12 (9), e0185291.

2.2.6 Merike Vaher'i uurimisrühm Analüütiliste ja arvutuskeemiliste meetodite arendamine regulatiivotsuste formuleerimiseks (IUT 3320)

Advancing analytical and computational chemistry methods for regulatory decisions;

Merike Vaher, vanemteadur; Loodusteaduskond, Keemia ja biotehnoloogia instituut;

Liikmed:

Mihkel Kaljurand, sihtfinantseerimisega vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Maria Kuhtinskaja, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Maria Kulp, vanemteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Mihkel Koel, juhtivteadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

Jekaterina Mazina, teadur, Keemia ja biotehnoloogia instituut

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

Anastassia Tretjakova, Kristiina Leiman, Kristjan Siilak, Lüüli Keskküla, Dmitri Pismennõi - magistrandid, Keemia ja biotehnoloogia instituut;

Teadustöö ülevaade

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

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

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

1. 2017. aastal jätkati sinepigaasi (HD) laguproduktide analüüsiks sobivate meetodikate arendamist. Töötati välja ja valideeriti 2 meetodikat tsükliliste HD laguproduktide määramiseks mere- ja poorivees. HPLC meetodikat kasutati sõjamürkide uputuskohtadest kogutud proovide analüüsiks laboris. Kuigi HPLC meetodika võimaldab detekteerida madalamaid kontsentratsioone kui mitsellaarse elektrokineetilise kromatograafia meetodika on viimase eeliseks võimalus miniaturiseerida aparatuuri ja viia läbi mõõtmisi *on site*.

2. Tuvastamaks γ -hüdroksüvõihappe (GHB, korgijook), psilotsübiini (sisaldub hallutsinogeenseses seentes *Psilocybe*) ja iboteenhappe (sisaldub punanses kärbseseenes) kuritarvitamist optimeeriti ja valideeriti meetodika nende analüüsiks inimese sülgjes kasutades KE koos mahtuvuslikult ühendatud kontaktivaba juhtivusdetektoriga. Käesolev uuring näitas, et sülg, mida on lihtne koguda, on sobiv proovi maatriks analüüsiks kaasaskantava KE-seadmega, võimaldades kiiret ja tõhusat psühhoaktiivsete ainete mürgistuse määramist.
3. Pikaajaliselt on olnud grupi üks olulisemaid uurimissuundi ravim- ja toidutaimedes leiduvate bioaktiivsete komponentide analüüs ning nende antioksidatiivsuse hindamine. Selleks on aastate jooksul arendatud rida erinevaid instrumentaalseid meetodeid. Käesoleval aastal uuriti võimalusi luua analüüsimeetodika lähtudes rohelise keemia printsiipidest. Arendatud mikrotsoonanalüüsil paberil kasutades värvireaktsioone (üldfenoolid – Folin-Ciocalteu, antioksidatiivsus - DPPH) ja mobiiltelefoniga pildistamist saadi kokkulangevad (korreleeruvad) tulemused klassikalise spektrofotomeetrilise meetodiga ravimtaimede ekstraktide ja erinevate šokolaadide puhul.
4. Tähelepanu all olid poorsed komposiit-matejalid - resortsinool-formaldhüüd orgaanilised aerogeelid ja nende baasil valmistatud süsinik aerogeelid. Räni aerogeelide puhul kasutati tselluloosi siduva polümeerina, kusjuures lahustina kasutati ioonseid vedelikke. Koostöös TTÜ Keskkonnatehnoloogia teaduslaboriga arendati orgaaniliste aerogeelide kasutamist fotokatalüsaatoritena veepuhastusel.

Koostööpartnerid:

Füsioloogia ja Biokeemia Instituut, Malta Ülikool, Msida, Malta

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

Politsei- ja Piirivalveamet, EV Siseministeerium, Tallinn, Eesti

EV Kaitseministeerium, Tallinn, Eesti

Okeanoloogia Instituut, Poola Teaduste Akadeemia, Sopot, Poola

Biokeemia Instituut, Tartu Ülikool, Tartu, Eesti

Omic OÜ, Tartu, Eesti

Metsatoodete Keemiatööstuse Instituut, Hiina Metsanduse Akadeemia, Nanjing, Hiina

Scientific work of the group

Members of the group have competence on development of analytical methods and procedures and use of these on analysis of different compounds and mixtures in complicated matrices. Group has good specialist on separation methods: gas and liquid chromatography and especially on capillary electrophoresis where they use wide variety of detectors: electrical, optical and mass spectrometrical. Group has also competence and means for supercritical extraction for wide range of extraction parameters. Group has recognised results on development of porous materials – aerogels and these are taken into the use as adsorbents in analytical separation and catalyst in electrochemistry and water purification.

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

1. This year, the development of methodologies suitable for the analysis of sulfur mustard (HD) degradation products was continued. HPLC and micellar electrokinetic chromatography (MEKC) methods with UV detection for the determination of five cyclic HD degradation products were developed and validated. Two water matrices (seawater and pore water from the Baltic Sea) were

employed in the method development. The developed HPLC method was applied to the analysis of real samples from the chemical warfare dumpsite. HPLC method with sample concentration step is sensitive while MEKC method could easily be made portable and adapted to onsite analysis. Furthermore, the developed MEKC method requires no sample purification step (only filtration) and shows excellent efficiency. Being rapid and simple, the developed methods offer a good alternative to the commonly used GC-MS method.

2. A methodology for the determination of γ -hydroxybutyric acid (GHB), ibotenic acid (IBO) and psilocybin (PY) abuse in human saliva was optimised and validated. Capillary electrophoresis with a capacitively coupled contactless conductivity detector (CE-C4D) was used with an optimized background electrolyte. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) in the saliva were 1.5 and 5.0 mg/L for GHB, 2.1 and 7.9 mg/L for IBO and 3.6 and 12.0 mg/L for PY. The present study demonstrates that the use of oral fluid as an alternative sample matrix which is easy and fast to collect and prepare, and in combination with a portable CE instrument built in-house, provides rapid and efficient determination of psychoactive substance intoxication. Due to the nature of the use of these substances as recreational drugs or hallucinogens, their detection is of interest and importance.
3. One important direction in studies is analysis of bioactive components in medicinal plants with different instrumental methods and assessment of their antioxidativity. Now main attention is on development of simple, effective and economical methods following the principles of green chemistry. The micro-zone analysis of colour reactions on paper (total phenols - Folin-Ciocalteu, antioxidativity – DPPH) with smart-phone detection is taken into use for analysis of extracts of medicinal plants. Very good correlation with common spectrophotometric methods was obtained for analysis of chocolates.
4. Under the study were porous composite materials – resorcinol-formaldehyde organic aerogels and based on them carbon aerogels. In case of silica aerogels cellulose was used as binding material to overcome the fragility of silica, and ionic liquids were used as solvents. In cooperation with TTU Laboratory of Environmental technology were developing organic aerogels as photocatalysts for degradation of pollutants in water.

Cooperation:

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

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

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

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

Ministry of Defence Republic of Estonia

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

Omic OÜ, Tartu, Estonia

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

Ilmunud publikatsioonid:

1. H. Lees, M. Vaher, M. Kaljurand. Development and comparison of HPLC and MEKC methods for the analysis of cyclic sulfur mustard degradation products. *Electrophoresis*, 2017, **38**, 1075-1082. DOI: 10.1002/elps.201600418.
2. P. Saar-Reismaa, M. Kulp, M. Vaher, M. Kaljurand, J. Mazina-Šinkar. Simultaneous determination of γ -hydroxybutyric acid, ibotenic acid and psilocybin in saliva samples by

capillary electrophoresis coupled with contactless conductivity detector. *Analytical Methods*, 2017, **9**, 3128-3133.

3. P. Jõul, M. Kuhtinskaja, M. Vaher, M. Koel. Green Chemistry and reconsidering simple analytical methods, *Chimica Oggi-Chemistry Today*, 2017, **35**(2), 32-34.
4. *Chemical Analysis of dumped chemical warfare agents during the MODUM project*, In: MODUM Book, 2018. Söderström, M.; Östin, A.; Qvarnström, J.; Magnusson, R.; Rattfelt-Nyholm J.; Vaher, M.; Jõul, P.; Lees, H.; Kaljurand, M.; Szubska, M.; Vanninen, P.; Bełdowski, J. (2018). Chemical Analysis of Dumped Chemical Warfare Agents During the MODUM Project. In: Bełdowski J., Been R., Turmus E. (Ed.). Towards the Monitoring of Dumped Munitions Threat (MODUM). NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security. (71–103). Dordrecht: Springer.10.1007/978-94-024-1153-9_4.
5. A. Sarapuu, K. Kreek, K. Kisand, M. Kook, M. Uibu, M. Koel, K. Tammeveski. Electrocatalysis of oxygen reduction by iron-containing nitrogen-doped carbon aerogels in alkaline solution. *Electrochimica Acta*, 2017, **230**, 81-88.

Presentations on conferences:

1. M. Kuhtinskaja, M. Vaher. *Extraction and analysis of bioactive compounds from Dipsacus fullonum and Galium verum*. 19th International Symposium on Advances in Extraction Technologies. Santiago de Compostela, Spain, June 27-30, 2017.
2. P. Jõul, M. Vaher, M. Kuhtinskaja. *Evaluation of carbon aerogel based SPE sorbent for the extraction of sulfur mustard degradation products from environmental water samples*. 19th International Symposium on Advances in Extraction Technologies, Santiago de Compostela, Spain, June 27-30, 2017.
3. M. Kulp, M. Kaljurand, M. Vaher, J. Mazina-Šinkar, P. Saar-Reismaa, A. Špiljova. *Portable capillary electrophoresis system for rapid on-site determination of drug abuse*. 10th International Conference on Instrumental Methods of Analysis, Heraklion, Greece, September 17-21, 2017.
4. M. Koel, K. Kreek, M. Kuhtinskaja. *Carbon aerogels - smart materials*. European Advanced Materials Congress, Stockholm, Sweden, August 22-24, 2017.

2.2.7 Riina Aava Supramolekulaarse keemia uurimisrühm



Uurimisrühma juht on dotsent Riina Aav, riina.aav@ttu.ee

Supramolekulaarse keemia grupp tegeleb uute käeliste urea-põhiste ja aromaatsete molekulaarsete mahutite uurimisega. Täpsemalt nende sünteesi, molekulaarsete ja supramolekulaarsete struktuuride

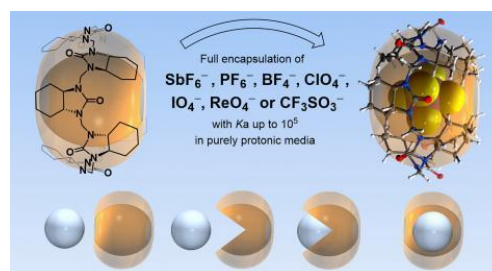
ning molekulidevaheliste vastasmõjude uurimisega. Supramolekulaarne keemia läheneb ainete uurimisele komplekselt, hõlmates nii analüütilise, orgaanilise kui ka füüsikalise keemia valdkondi. Meie poolt uuritavaid ühendeid võib vaadelda kui põhjata ja kaaneta tünnikesi, milles väikesed molekulid püsivad sees elektrostaatiliselt ja geomeetriliselt sobivuse tõttu ning ei ole kovalentselt seotud. Uurime kukurbituriilide perekonda kuuluvaid makrotsükleid – poolkukurbituriile ja kaliksareenide perekonda kuuluvaid resortsiareene. Makrotsüklilise võõrustaja-molekulid on rakendatavad materjalitehnoloogias uute omadustega materjalide, hüdrogeelide ja kapslite valmistamisel, samuti on näidatud nende sobivust selektiivsel ravimite transpordil meie otsime nendele rakendust uute sensorite loomisel. Uute mahutite disaini abil on võimalik välja töötada uusi rakendusi materjali- ja keskkonnateaduses ning ka meditsiinis.

- uurimisrühma liikmed:

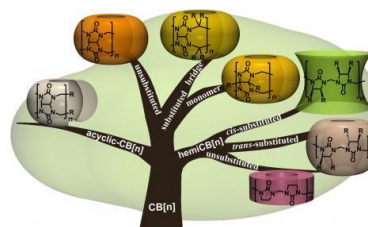
- Lukaš Ustrnul, teadur, KBI;
- Omar Parve, vanemteadur, KBI, ERA - roheline keemia õppetool;
- Elena Prigorchenko, doktorant, KBI (lapsehoolduspuhkusel);
- Sandra Kaabel, doktorant, KBI;
- Anna Peterson, doktorant, KBI, KBFI nooremteadur
- Kamini Antindrakumar Mishra, doktorant, nooremteadur KBI;
- Mari-Liis Ludvig, magistrant, KBI; KBFI

Olulisemad teadustööd:

Kaabel, S.; Adamson, J.; Topic, F.; Kiesilä, A.; Kalenius, E.; Öeren, M.; Reimund, M. Prigorchenko, E.; Löökene, A.; Reich, H. J.; Rissanen, K.; Aav, R. **Chiral hemicucurbit[8]uril as an anion receptor: selectivity to size, shape and charge distribution** *Chem. Sci.*, **2017**, *8*, 2184. DOI:10.1039/C6SC05058A



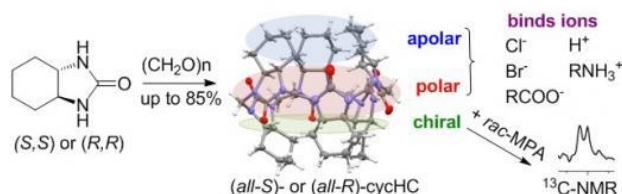
Book chapter in *Comprehensive Supramolecular Chemistry II* (Atwood, J. L., (ed.), vol. 3 (volume ed. Rissanen, K.): Aav, R.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M. Cucurbiturils: Synthesis, Structures, Formation Mechanisms, and Nomenclature. pp. 203–220.



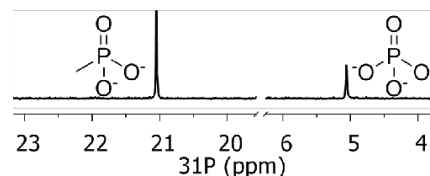
Prigorchenko, E.; Öeren, M.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M.; Reile, I.; Jarving, I.; Tamm, T.; Topic, F.; Rissanen, K.; Aav, R. Template-controlled synthesis of chiral cyclohexylhemicucurbit[8]uril *Chemical Communications*, **2015**, 51(54), 10921-10924



Aav, R.; Shmatova, E.; Reile, I.; Borissova, M.; Topić, F.; Rissanen, K. **New Chiral Cyclohexylhemicucurbit[6]uril.** *Organic Letters*, **2013**, 15(14), 3786-3789 .



Kõllo, M.; Kudrjašova, M.; Kulp, M.; Aav, R.
**Methylphosphonic acid as a ^{31}P -NMR
standard for the quantitative determination
of phosphorus in carbonated
beverages.** *Anal. Methods*, **2013**, *5*, 4005 .



Olulisemad projektid:

B25. Development of New Chiral Hemicucurbiturils (2013-2016); PI Riina Aav (77 000 EUR)

ETF8698. Synthesis, Characterization and Application of New Asymmetric Iminophosphoranes (2011-2014); PI Riina Aav (28 800 EUR)

PUT692. Development of new molecular containers (2015-2018); PI Riina Aav (187 200 EUR)

Supramolecular chemistry group



Head of the research group: Associate Professor Riina Aav, riina.aav@ttu.ee

Supramolecular chemistry research group is interested in study of chiral urea-based and aromatic molecular containers. More specifically we are studying their synthesis, molecular and supramolecular structure and their interactions. Supramolecular chemistry unites approaches of analytical, organic and physical chemistry to study matter in a broader way. Molecular containers are able to form host-guest complexes with other molecules and in a special case of inclusion complexes, small molecule is fully encapsulated by the macrocycle. These complexes are held together by non-covalent interactions. We are mainly interested in macrocycles that belong to cucurbituril family, the hemicucurbiturils and calixarene derivatives. These type of macrocycles have been applied in material science for example in molecular Velcro, hydrogels and -capsules as well as in biomedical applications for selective drug-delivery. The first enantiomerically pure members of cucurbituril family were prepared by our group. We explore the potential of new molecular containers in material science for sensing.

- Group members:

- Dr. Lukaš Ustrnul, post. doc., KBI;
- Dr. Omar Parve, senior researcher, KBI, ERA – Cheer of green chemistry;
- Elena Prigorchenko, PhD. St., KBI (maternity leave);
- Sandra Kaabel, PhD. St., KBI;
- Anna Peterson, PhD. St., KBI, KBFI;
- Kamini Antindrakumar Mishra, PhD. St., KBI;
- Mari-Liis Ludvig, MSt, KBI; KBFI

Selected publications:

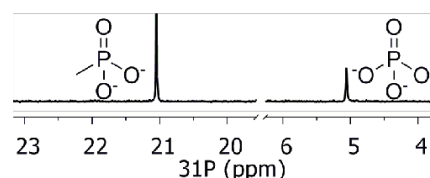
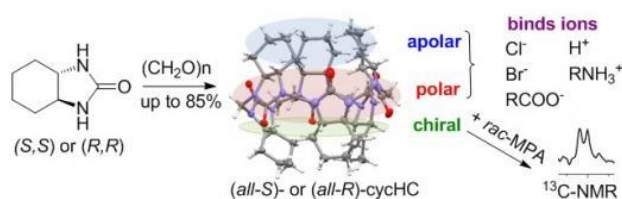
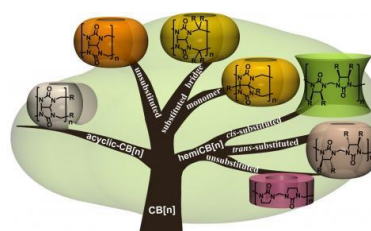
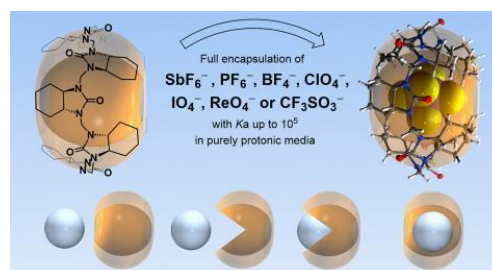
Kaabel, S.; Adamson, J.; Topic, F.; Kiesilä, A.; Kalenius, E.; Öeren, M.; Reimund, M. Prigorchenko, E.; Lõokene, A.; Reich, H. J.; Rissanen, K.; Aav, R. **Chiral hemicucurbit[8]uril as an anion receptor: selectivity to size, shape and charge distribution** *Chem. Sci.*, **2017**, *8*, 2184. DOI:10.1039/C6SC05058A

Book chapter in *Comprehensive Supramolecular Chemistry II* (Atwood, J. L., (ed.), vol. 3 (volume ed. Rissanen, K.): Aav, R.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M. Cucurbiturils: Synthesis, Structures, Formation Mechanisms, and Nomenclature. pp. 203–220.

Prigorchenko, E.; Öeren, M.; Kaabel, S.; Fomitšenko, M.; Reile, I.; Jarving, I.; Tamm, T.; Topic, F.; Rissanen, K.; Aav, R. Template-controlled synthesis of chiral cyclohexylhemicucurbit[8]uril *Chemical Communications*, **2015**, 51(54), 10921-10924

Aav, R.; Shmatova, E.; Reile, I.; Borissova, M.; Topić, F.; Rissanen, K. **New Chiral Cyclohexylhemicucurbit[6]uril.** *Organic Letters*, **2013**, 15(14), 3786-3789 .

Kõllo, M.; Kudrjašova, M.; Kulp, M.; Aav, R. **Methylphosphonic acid as a ^{31}P -NMR standard for the quantitative determination of phosphorus in carbonated beverages.** *Anal. Methods*, **2013**, *5*, 4005 .



Selected projects:

B25. Development of New Chiral Hemicucurbiturils (2013-2016); PI Riina Aav (77 000 EUR)

ETF8698. Synthesis, Characterization and Application of New Asymmetric Iminophosphoranes (2011-2014); PI Riina Aav (28 800 EUR)

PUT692. Development of new molecular containers (2015-2018); PI Riina Aav (187 200 EUR)

2.2.8 Professor Kangeri uurimisrühm (katalüüsi uurimisrühm)

Uurimisrühma laiem tegevusala on asümmeetriline orgaaniline süntees. Tegeldakse nii bioaktiivsete ühendite totaalsünteesi kui ka kitsamalt eri liiki asümmeetriliste kaskaad- ja katalüütiliste reaktsioonide uurimisega. Seejuures keskendutakse asümmeetrilistele organokatalüütilistele reaktsioonidele, pöörates tähelepanu nii kovalentsetel sidemetel põhinevale aminokatalüüsile kui ka mittekovalentsetel interaktsioonidel baseeruvale vesiniksideme katalüüsile. Mitmed uuritud

reaktsioonidest on kaskaadreaktsioonid, st järjestikku toimub mitu reaktsiooni ja ühes sünteesietapis tekib mitu uut keemilist sidet. See tõstab reaktsioonide aatomefektiivsust, vähendab läbiviidavate etappide arvu ja muudab meetodi keskkonnasõbralikumaks (väheneb vahetöötluste arv ja solvendikulu). Metallkatalüüsi korral eelistatakse kasutada laialtlevinud ja vähetoksilist metalli kaltsiumi. Sünteetilist uurimistööd toetavad nii spektroskoopilised, kristallograafilised ja kromatograafilised eksperimendid kui ka teoreetilised kvantkeemilised arvutused.

Uue teemana alustati hiljuti halogeensideme katalüütiliste reaktsioonide uurimist. Halogeenside on mittekovalentne interaktsioon halogeeniaatomi (peamiselt joodiaatomi) ja vaba elektronpaariga aktseptori vahel, sarnanedes teatud aspektides vesiniksidemele. Vesiniksideme katalüüsi alast kogemust saab rakendada uute halogeensideme katalüsaatorite disainil ja erinevates reaktsioonides.

Läbiva teemana iseloomustab uurimistööd jätkusuutliku ja rohelise keemia printsiipide rakendamine asümmeetrilises sünteesis. Uurimine on suunatud reaktsioonide efektiivsuse ja selektiivsuse tõstmisele eelkõige katalüüsi, kaskaadreaktsioonide, 100%-lise aatomefektiivsusega ümberasetusreaktsioonide ja vähetoksiliste metallkatalüsaatorite kasutamise läbi.

Olulisemad publikatsioonid:

Ošek, M.; Kimm, M.; Järving, I.; Lippur, K.; Kanger, T. Two Catalytic Methods of an Asymmetric Wittig [2,3]-Rearrangement. *Journal of Organic Chemistry*, **2017**, *82*, 2889–2897.

Kaasik, M.; Kaabel, S.; Kriis, K.; Järving, I.; Aav, R.; Rissanen, K.; Kanger, T. Synthesis and Characterisation of Chiral Triazole-Based Halogen-Bond Donors: Halogen Bonds in the Solid State and in Solution. *Chemistry - A European Journal*, **2017**, *23*, 7337–7344.10.

Ošek, M.; Kimm, M.; Kaabel, S.; Järving, I.; Rissanen, K.; Kanger, T. Asymmetric Organocatalytic Wittig [2,3]-Rearrangement of Oxindoles. *Organic Letters*, **2016**, *18*, 1358–1361.

Metsala, A.; Žari, S.; Kanger, T. Aza-Michael Reactions of Isatin Imines: Deeper Insight and Origin of the Stereoselectivity. *ChemCatChem*, **2016**, *8*, 2961–2967.

Research group of Professor Kanger (group of catalysis)

The main research object of the group is asymmetric organic synthesis. The research includes a total synthesis of bioactive compounds and specific investigations of cascade and catalytic reactions. Studies of asymmetric organocatalytic reactions are of importance. Aminocatalysis based on covalently bound compounds as well as hydrogen-bond catalysis based on noncovalent interactions are the main topics. Several reactions under the study are cascade reactions providing several new chemical bonds in one step. It increases atom-efficiency, decreases the number of steps needed and makes the whole process environmentally more benign (the number of work-up steps and amount of solvent is diminished). In the case of metal catalysis a widely spread and non-toxic calcium salts are used as a metal source. The synthesis is supported by spectroscopic and crystallographic experiments, chromatography and quantum chemical calculations.

The investigation of halogen bond catalysis was started recently as a new topic. Halogen bond is a noncovalent interaction between halogen atom (mainly iodine) and acceptor with lone pair. In some aspects halogen bond resembles hydrogen bond. Experience obtained in hydrogen bond catalysis is applied in the design of novel halogen bond catalysts and in their reactions.

The characteristic feature of the research is the application of the principles of sustainable and green chemistry in asymmetric synthesis.

Recent main publications:

Ošek, M.; Kimm, M.; Järving, I.; Lippur, K.; Kanger, T. Two Catalytic Methods of an Asymmetric Wittig [2,3]-Rearrangement. *Journal of Organic Chemistry*, **2017**, *82*, 2889–2897.

Kaasik, M.; Kaabel, S.; Kriis, K.; Järving, I.; Aav, R.; Rissanen, K.; Kanger, T. Synthesis and Characterisation of Chiral Triazole-Based Halogen-Bond Donors: Halogen Bonds in the Solid State and in Solution. *Chemistry - A European Journal*, **2017**, *23*, 7337–7344.10.

Ošek, M.; Kimm, M.; Kaabel, S.; Järving, I.; Rissanen, K.; Kanger, T. Asymmetric Organocatalytic Wittig [2,3]-Rearrangement of Oxindoles. *Organic Letters*, **2016**, *18*, 1358–1361.

Metsala, A.; Žari, S.; Kanger, T. Aza-Michael Reactions of Isatin Imines: Deeper Insight and Origin of the Stereoselectivity. *ChemCatChem*, **2016**, *8*, 2961–2967.

2.2.9 Research group of Green Chemistry

HEAD OF RESEARCH GROUP: Professor NICHOLAS GATHERGOOD, nicholas.gathergood@ttu.ee

- 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). Recruitment of 6 senior researchers was completed in 2017. Three small chemistry 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 secured for new group members arriving in 2017. While some space was secured for new Phd students cosupervised with other groups (for example, Organic Chemistry, Catalysis, Biotechnology and KBFI), there still however remains a need for additional fumehood space 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, γ -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 2017
 - (1) Investigations to identify low toxicity and mineralisable transformation products formed during aminoacid and dipeptide based ionic liquid biodegradation (Closed Bottle Test) studies was performed. Synthesis of authentic samples to assist transformation product identification and toxicity assessment was undertaken.

- (2) Establishing a method for stereoselective synthesis of acylated gamma-hydroxy carboxylic acids.
- (3) Development of cleaner synthetic methods to prepare ionic liquids and surfactant compounds was achieved using green chemistry metrics
- (4) Characterisation and applications of surfactants in green chemistry projects
- (5) Synthesis of opiate derivatives for study in host guest applications and catalysis, DNA binding studies and as analgesics.
- (6) Host-guest chemistry underpinning chirality sensors and small molecule recognition.
- (7) High throughput screening of opiate receptor signalling based on a Luciferase reporter assay in development.
- (8) Catalysis projects directed by principles of green chemistry and sustainability.

- R&D relation to doctoral studies in the corresponding field
The R&D effort was supported by 6 PhD students doctoral studies during 2017.
- R&D outcomes with highest impact (assessment by the institution)
A high atom economy and efficient green synthesis of ionic liquids based on dipeptides was demonstrated. Fully mineralisable pyridinium ionic liquids were discovered. Low microbial toxicity ionic liquids from phenylalanine and alanine were synthesised. C2- and C3-symmetry chiral hosts successfully prepared by a short and efficient synthesis from sustainable natural alkaloids.
Significant papers published in 2017 were;
 - 1 McStay, N.; Molphy, Z.; Coughlan, A.; Caolla, A.; McKee, V.; Gathergood, N.; Kellett, A. (2017). C3-symmetric opioid scaffolds are pH-responsive DNA condensation agents. *Nucleic Acids Research*, 45 (2), 527–540. (IF=10.2)
 2. Tripathi, V.; Edrisi, S. A.; Chen, B.; Gupta, V. K.; Vilu, R.; Gathergood, N.; Abhilash, P. C. (2017). Biotechnological Advances for Restoring Degraded Land for Sustainable Development. *Trends in Biotechnology*, 35 (9), 847–859. (IF=11.1)
- Highest societal impact of research (assessment by the institution)
The words green, sustainable, toxicity and biodegradable are often poorly defined or incorreccted 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. Also in 2017, Prof. Gathergood as Series Editor started a new Sustainable Chemistry book series with World Scientific Publishing Ltd.
- 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 PhD students undertaking research in biodegradation, toxicity, catalysis and biorenewables, with anticipated completion dates in 2020, are progressing well.

2.2.10 Toomas Tamme uurimisrühm: Arvutuskeemia

COMPUTATIONAL CHEMISTRY

Head of group: prof. Toomas Tamm

Research in the computational chemistry group is focused on study of reaction mechanisms and weak (host-guest) interactions using modern electronic structure methods (ab initio, DFT). We have competence in modelling of both organic and organometallic reaction complexes as well as weakly bound systems. We use quantum-chemistry software such as Gaussian, Turbomole and Orca. Besides small in-house computational facilities we have access to the ETAIS research computing infrastructure, a part of which is located on TTÜ campus.

In collaboration with the supramolecular chemistry group (R. Aav), a specific group of target systems is hemicucurbiturils, in particular the cyclohexyl variety. Binding modes of neutral and ionic guests, formation of the host molecules around a template, reaction mechanisms of the synthesis reactions, have all been subjects of recent computational efforts.

In collaboration with KTH of Sweden, the structure and functioning of iridium-based catalysts for carbon dioxide reduction were studied. Ways to make use of carbon dioxide as a raw material for chemical industry is an area of potentially wide applicability. In our studies, several reaction mechanisms were studied and improved versions proposed.

ARVUTUSKEEMIA

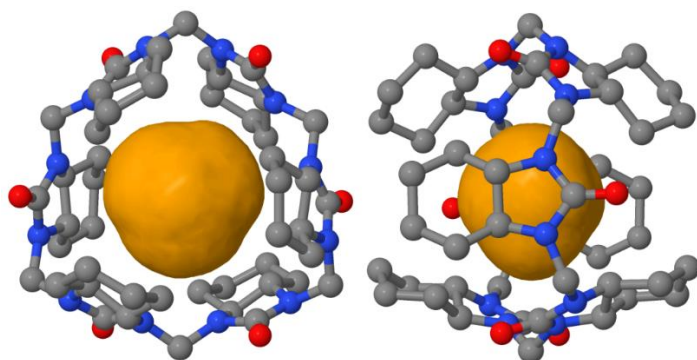
Grupijuht: prof. Toomas Tamm

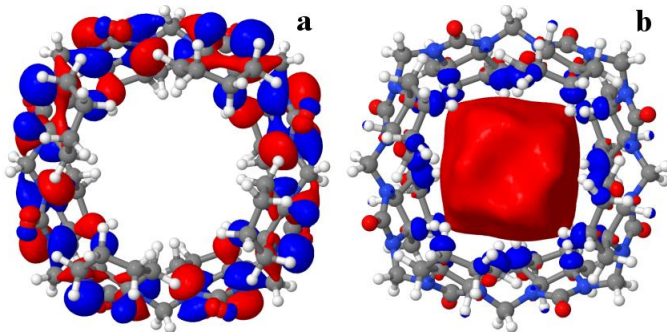
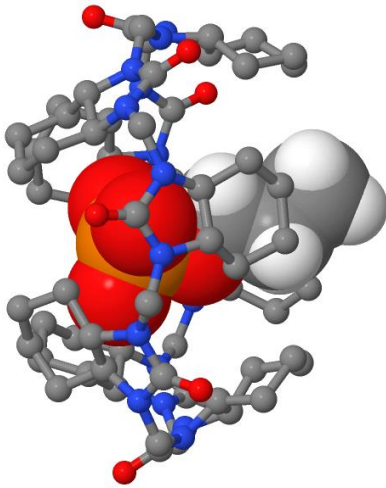
Arvutuskeemia grupi uuringud keskenduvad reaktsioonimehhanismide ja nõrkade (võõrustaja-külaline) vastasmõjude uurimisele kaasaegsete elektronstruktuuri modelleerimise meetodite (ab initio, DFT) kasutamisega. Omame kompetentsi modelleerimaks nii orgaanilisi kui metallorgaanilisi reaktsioonikomplekse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

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

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

Mõned pildid meie teadustööst:





2.3 TOIDUTEHNOLOGIA OSAKOND

2.3.1 Toomas Paalme uurimisrühm Toidugrupp

(Food research group)

Uurimisrühma juht: Toomas Paalme, professor

Uurimisrühma liikmed:

Kaarel Adamberg, van. teadur (0.5)

Signe Adamberg, van.teadur 1

Katrin Laos, dotsent 1

Anna Traksmäe, 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, Julia Rosend, Anastassia Taivosalo, Evelin Kivima, Madis Jaagura

Teadustöö lühiülevaade

Grupp viib läbi toidualaseid 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, 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 hüdrolyüsile ning selle kasutusvõimalusi bioloogiliselt kättesaadavate B rühma üldvitamiinide kontsentratsiooni määramiseks toidus. Postuleeriti, et absorbeeritavate vitamiinide määramise olulisuses dieedi koostamisel. Uurimistöö toimub koostöös TFTAK töötajatega Dr. K. Kevvai ja Dr. K. Hälvin-Tanilas

Mikroobide poolt lagundatavad kiudained toidus ja nende ainevahetus soolebakterite kooslustes (*Dr. K. Adamberg, Dr. S. Adamberg, doktorandid 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 soolemikroobikoosluste dünaamikas, polüsahhariidide ainevahetuses ning energeetikas koostöös Tartu lastekliiniku ja TÜ-ga. Uuritakse rafinoosi levaani, selle substraatide ja sünteesisegu ainevahetust nii fekaalide mikroobikooslustes kui ka *B. thetaiotaomicron*'i kultuuris. Uuritakse kasvukiiruse mõju soolekoosluste dünaamikale ja ainevahetusele läbivoolukultuuris erinevatel substraatidel koos mutsiiniga.

Toidu mikroobikooslused ja nende evolutsioon (*Dr. I. Sarand, doktorandid Kärt Kontram ja Marianna Surženko*). Antud uuringute eesmärgiks on arendada meetodeid ja strateegiaid 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 ja juuretisebakterite happekindluse selekteerimisele. Rakkude ainevahetuse ja kasvu analüüsimiseks ja ennustamiseks töötatakse välja metabolismivõrgustikku, raku geomeetriat ja rakutsükli arvestavaid rakumudeleid. Välja töötamisel on üleüldiselt metabolismivõrgustikul baseeruv mudel bakterite saagiste ennustamiseks, arvestades prootontransporti, mis võimaldab simuleerida happestressi mõju bakterite kasvule.

Toidu struktuur ja reoloogia (*Dr. Laos, Dr. Traksmäe, doktorandid Tiina Klesment, Aleksei Kaleda, Kristi Kõrge, Evelin Kivima*). Uuritakse kuidas toidutoore, tehnoloogia ja säilitamine mõjutavad toidu struktuuri ja kvaliteeti. Näidati jääd struktureerivate valkude (ISP) mõju jäätise mikrostruktuurile: kuigi ISP lisamine pidurdab jää rekristallisatsiooni, põhjustab see jää kristallide agregatsiooni ning jäätise kvaliteedi languse. Jätkatakse ISP valkude jää rekristallisatsiooni aeglustavate mehhanismide uurimist, samuti uuritakse Eesti kaladest ekstraheeritud ISP valke ja nende omadusi. Aruande perioodil viidi läbi mitmeid koostööprojekte Eesti toidutööstuse ettevõtetega. Koostöös AS Leiburiga töötati välja lihtpagaritoodete pehmuse analüüsimeetodid ning uuriti erinevate gluteenide kvaliteediomadusi ning sobivust teraviljatoodete küpsetamiseks. AS Kalevile näidati tehnoloogiliste protsesside mõju šokolaadi bioaktiivsete komponentide sisaldusele. Koostöös TFTA Kiga viidi läbi Eesti erinevate piirkondade meeproovide füüsikalise-keemiliste omaduste ja antibakteriaalsete, bioaktiivsete ja

antioksidantsete ühendite uuring. Jätkatakse B rühma vitamiinide ja antioksidantsete ühendite uurimist õietolmus, suiras ja mees.

Toidu sensoorne ja instrumentaalanalüüs (Dr. K. Vene, Dr. L. Timberg, doktorandid Rain Kuldjärv, Sirli Rosenvald, Julia Rosend). Arendatakse meetodeid toidu sensoorsete kujunemise ja püsivuse uurimiseks. Uuritakse maitse ja aroomi kujunemist siidri, veini kalja valmistamise protsessis; kõrvalmaitsetele 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. Veise seerumalbumiinist kontrollitud proteolüüsil saadud peptiidisegu lisamisel naturaalsel viinamarjamahla maatriksit simuleerivasse sünteetilisse kasvukeskkonda uuriti veinipärmi *S. cerevisiae* erinevate tüvede puhul vabade aminohapete ja peptiidide assimilatsioonikineetikat ning peptiidide transportvalkude avaldumist, kasutades qPCR meetodit. Siiani saadud katsetulemused on näidanud järgmist: i) kõik testitud veinipärmi tüved (4 tk) on võimelised kiiresti assimileerima 2-3 aminohappest koosnevaid peptiide, hoolimata nende peptiidide aminohappelisest koostisest ja järjestusest; suuremate peptiidide (4+ aminohapet) assimilatsioon toimub märksa aeglasemalt ning mittetäielikult; ii) mõningate uuritud tüvede puhul täheldasime, et peptiidide lisamine intensiivistab vabade aminohapete tarbimiskiirust; iii) peptiidide assimilatsioonil toimus kõikide uuritud peptiiditransporterite geenidest (*PTR2*, *DAL5*, *OPT1*, *OPT2* ja *FOT*) ainult kahe geeni (*OPT1* ja *PTR2*) tugev ülesregulatsioon. Järgnevates katsetes on plaanis jätkata peptiidide transporterite geenide avaldumiskineetika uurimist täiendavalt kahe veinipärmi tüvega, uurida pärmi autolüsaatidest pärinevate peptiidide mõju alkoholoolse fermentatsiooni kineetikale ning samuti ka nende mõju veini aroomikomponentide tekkele.

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 vitamins (AVs) occurs in great extent already during processing. The brush boarder membrane fraction was isolated from porcine duodenum and perspectives of using it for determination of bioavailable vitamins was analyzed. It was concluded that rather AVs measurement in food should be introduced for nutritional analysis. The research is carried out in cooperation with Dr. K. Kevvai and Dr. K. Hälvin-Tanilas from CCFIT (Tallinn).*

Study on factors affecting metabolism and dynamics of gut microbiota (Dr. K. Adamberg, Dr. S. Adamberg, PhD students Madis Jaagura, Anastassia Taivosalo). *Metabolism of dietary fibers and mucin, including raffinose-family oligo- and polysaccharides by gut microbiota from overweight and normalweight children were studied in cooperation with UT. The effect of growth rate on growth and metabolism of the colon microbiota were studied in continuous cultures model system.*

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. Genome-based whole cell models will be developed to calculate yields of biomass in acid stress environments. 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. The experiments have demonstrated the following: i) di- and tripeptides are generally consumed in parallel with free amino acids and ammonia, regardless of their amino acid composition and sequence. Peptides comprising four or more amino acids are consumed more slowly and the extent of their consumption depends more on the overall YAN level of the must; ii) in most experiments peptides have a fermentation rate-enhancing effect. Moreover, consumption of certain free amino acids and ammonia is enhanced in the presence of peptides; iii) the analysis of differential expression pattern of peptide transporters (PTR2, DAL5, OPT1, OPT2 ja FOT) suggested that transient induction occurred only in case of PTR2 and OPT1. In the upcoming experiments we intend to continue with studying the peptide and amino acid co-consumption and peptide transporters gene expression in case of other wine strains, by including also yeast autolysates as the sources of peptides, as well as gain more insights into the effect of peptide consumption on wine aroma compounds formation.

Food structure and rheology (Dr. Laos, Dr. Traksmaa, PhD students Tiina Klesment, Aleksei Kaleda Kristi Kõrge, Evelin Kivima). The effects of raw materials, technology and preservation methods on food structure and quality are studied. The effect of Ice Structural Proteins (ISP) on the ice-cream microstructure was demonstrated: although the addition of ISP inhibits the recrystallization of ice, it results ice crystals aggregation and ice cream quality decline. Investigations of the ice recrystallization inhibition mechanisms of ISP will be continued, as well as the ISP extracted from Estonian fish and their properties are investigated. During the reporting period, several cooperation projects were carried out with Estonian food companies. In cooperation with AS Leibur, the softness analysis methods of bread were developed. Also the quality characteristics of different gluten and their suitability for baking of cereal products were studied. The effect of technological processes on the content of chocolate bioactive components were shown to AS Kalev. A study of the physico-chemical properties and antibacterial, bioactive and antioxidant compounds of honey samples from different regions of Estonia was carried out in cooperation with CCFIT.

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.