

**Название работы:** "Протеоеномный подход к анализу микроорганизмов"

**Тип работы:** научная работа молодых ученых

**Номинация:** физико-химическая биология

**Автор:** м.н.с. Казакова Елизавета Михайловна

**Персональные идентификаторы:** JSK-6801-2023 (WoS), 58019133300 (Scopus), 0000-0003-3324-2957 (ORCID)

Подаю на конкурс цикл из трех работ: 1. Proteomics-based scoring of cellular response to stimuli for improved characterization of signaling pathway activity, 2. Determinants of Antibiotic Resistance and Virulence Factors in the Genome of *Escherichia coli* APEC 36 Strain Isolated from a Broiler Chicken with Generalized Colibacillosis, 3. Ultrafast metaproteomics for quantitative assessment of strain isolates and microbiomes (основная).

Симбиотические микроорганизмы, населяющие организм человека оказывают существенное влияние на его состояние. Изменения состава микробиома и его функциональной активности может привести к целому ряду заболеваний. Современные подходы к анализу микробиоты включают в себя методики геномного анализа и функциональные тесты. Однако, эти методики не позволяют производить количественное сравнение различных микробиомов и производить панорамный анализ функциональной активности. Также огромную социальноэкономическую значимость имеет другая проблема, связанная с микроорганизмами - антибиотикорезистентность. Изучение механизмов антибиотикорезистентности и поиск новых антибиотиков требует огромного объема исследований и, соответственно, разработки более совершенных методик.

В данном цикле работ представлен новый метод протеоеномного анализа бактериальных культур и микробиомов, позволяющий исследовать видовой состав образцов, а также проводить анализ функциональной активности. В основе экспериментальной методики лежит уникальный подход, включающий в себя отказ от спектров фрагментации и существенное сокращение хроматографического разделения. При биоинформатическом анализе полученных спектров используются самые современные подходы, позволяющие эффективно извлекать наиболее полную информацию из больших массивов экспериментальных данных.

В основной работе данного цикла "*Ultrafast metaproteomics for quantitative assessment of strain isolates and microbiomes*" представлены новые биоинформатические алгоритмы для анализа данных MS1-протеомики. Они позволяют в рамках одного масс-спектрометрического анализа решить широкий класс задач: с высокой точностью (до 95%) определить видовой состав образца, количественно сравнить микробиомы, а также провести анализ изменения метаболической активности микроорганизмов под воздействием внешних условий. Анализ отклика на внешнее воздействие осуществлялся при помощи ранее опубликованного в рамках данного цикла работ алгоритма QRePS ("*Proteomics-based scoring of cellular response to stimuli for improved characterization of signaling pathway activity*"). Реализованный в QRePS подход позволяет определить основные ферменты, являющиеся молекулярной сигнатурой отклика на воздействие. В рамках основной работы были исследованы как организмы с известным геномным и протеоеномным составом, так и новые ранее не охарактеризованные штаммы. В третьей работе цикла "*Determinants of Antibiotic Resistance and Virulence Factors in the Genome of Escherichia coli* APEC 36 Strain Isolated from a Broiler Chicken with Generalized Colibacillosis", посвященной анализу патогенного для куриц штамма *Escherichia coli*, представлен подход к характеристике микроорганизма, обладающего множественной лекарственной устойчивостью, с использованием данных нанопорового секвенирования генома. В рамках этой работы была выполнена *de novo* сборка генома штамма и его аннотация. Анализ полученных данных выявил большое количество генов, кодирующих компоненты пяти из шести известных систем,

обеспечивающих резистентность бактерий к антибиотикам. Информация об этих генах легла в основу дизайна протеомного эксперимента с использованием метода MS1-протеомики для исследования механизмов антибиотикорезистентности штамма. Такой протеогеномный подход позволяет наиболее точно охарактеризовать изменение протеома в ответ на воздействие антибиотиками и описать наблюдаемые механизмы.

#### Гранты:

1. РФФ, 20-14-00229, "Поиск специфического отклика клеток человека на лекарственное воздействие: новые инструментальные и вычислительные методы химической протеомики", 2020 - 2022, 2024, исполнитель
2. РФФ, 22-26-00109, "Анализ механизмов биотического действия наночастиц железа методами функциональной протеомики на примере *Triticum aestivum* L.", 2022 - 2023, исполнитель
3. РФФ, 23-45-00012, "Создание общей карты модификаций белков ассоциированных с нейродегенеративными заболеваниями", 2023, исполнитель

#### Премии и награды:

1. Лучший устный доклад на III Международной конференции «Геномика, метагеномика и молекулярная биология микроорганизмов»
2. III место на конкурсе молодых ученых на X ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И ЕЕ ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ»
3. Победитель конкурса молодых ученых на III ОБЪЕДИНЕННОМ НАУЧНОМ ФОРУМЕ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ
4. Лучший стендовый доклад на Первой школе по медицинской химии для молодых ученых (MedChemSchool-2021)

#### Опубликованные научные работы:

1. **Elizaveta Kazakova**, Mark Ivanov, Tomiris Kusainova, Julia Bubis, Valentina Polivtseva, Kirill Petrikov, Vladimir Gorshkov, Frank Kjeldsen, Mikhail Gorshkov, Yanina Delean, Inna Solyanikova, Irina Tarasova, *Ultrafast metaproteomics for quantitative assessment of strain isolates and microbiomes*, *Microchemical Journal* 207 (2024) 111823, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111823>
2. Dmitry S. Karpov, **Elizaveta M. Kazakova**, Maxim A. Kovalev, Mikhail S. Shumkov, Tomiris Kusainova, Irina A. Tarasova, Pamila J. Osipova, Svetlana V. Poddubko, Vladimir A. Mitkevich, Marina V. Kuznetsova, Anna V. Goncharenko, *Determinants of Antibiotic Resistance and Virulence Factors in the Genome of Escherichia coli APEC 36 Strain Isolated from a Broiler Chicken with Generalized Colibacillosis*, *Antibiotics* 2024, 13, 945, <https://doi.org/10.3390/antibiotics13100945>
3. Ivan I. Fedorov, Julia A. Bubis, **Elizaveta M. Kazakova**, Anna A. Lobas, Mark V. Ivanov, Daria D. Emekeeva, Irina A. Tarasova, Alexey A. Nazarov, Mikhail V. Gorshkov, *On the utility of ultrafast MS1-only proteomics in drug target discovery studies based on thermal proteome profiling method*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2024) 416:4083–4089, <https://doi.org/10.1007/s00216-024-05330-9>

4. Tomiris T. Kusainova, Daria D. Emekeeva, **Elizaveta M. Kazakova**, Vladimir A. Gorshkov, Frank Kjeldsen, Mikhail L. Kuskov, Alexey N. Zhigach, Irina P. Olkhovskaya, Olga A. Bogoslovskaya, Natalia N. Glushchenko, Irina A. Tarasova, *Ultra-Fast Mass Spectrometry in Plant Biochemistry: Response of Winter Wheat Proteomics to Pre-Sowing Treatment with Iron Compounds*, ISSN 0006-2979, Biochemistry (Moscow), **2023**, Vol. 88, No. 9, pp. 1390-1403, <https://doi.org/10.1134/S0006297923090183>
5. Daria D. Emekeeva, Tomiris T. Kusainova, Lev I. Levitsky, **Elizaveta M. Kazakova**, Mark V. Ivanov, Irina P. Olkhovskaya, Mikhail L. Kuskov, Alexey N. Zhigach, Nataliya N. Glushchenko, Olga A. Bogoslovskaya, Irina A. Tarasova, *Morley: Image Analysis and Evaluation of Statistically Significant Differences in Geometric Sizes of Crop Seedlings in Response to Biotic Stimulation*, Agronomy **2023**, 13, 2134, <https://doi.org/10.3390/agronomy13082134>
6. Daria S. Spasskaya, Kirill A. Kulagin, Evgenia N. Grineva, Pamila J. Osipova, Svetlana V. Poddubko, Julia A. Bubis, **Elizaveta M. Kazakova**, Tomiris T. Kusainova, Vladimir A. Gorshkov, Frank Kjeldsen, Vadim L. Karpov, Irina A. Tarasova, Dmitry S. Karpov, *Yeast Ribonucleotide Reductase Is a Direct Target of the Proteasome and Provides Hyper Resistance to the Carcinogen 4-NQO*, J. Fungi **2023**, 9, 351, <https://doi.org/10.3390/jof9030351>
7. **Elizaveta M. Kazakova**, Elizaveta M. Solovyeva, Lev I. Levitsky, Julia A. Bubis, Daria D. Emekeeva, Anastasia A. Antonets, Alexey A. Nazarov, Mikhail V. Gorshkov, Irina A. Tarasova, *Proteomics-based scoring of cellular response to stimuli for improved characterization of signaling pathway activity*, Proteomics **2023**, 23:2200275, <https://doi.org/10.1002/pmic.202200275>

#### Выступление на конференциях:

1. III Международная конференция «Геномика, метагеномика и молекулярная биология микроорганизмов», 23 - 24 ноября **2024** года, *Анализ микробиомов методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Е.М. Казакова, М.В. Иванов, И.А. Тарасова, М.В. Горшков
2. VI Международная конференция ПОСТГЕНОМ'2024  
XI Российский симпозиум БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ Российско-китайский конгресс в области наук о жизни, 29 октября - 2 ноября **2024**, *Анализ микробиомов методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Е.М. Казакова, М.В. Иванов, И.А. Тарасова, М.В. Горшков
3. Всероссийская научная конференция с международным участием «Биохимия человека», 17 - 19 октября **2024**, *Анализ микробиомов методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Е.М. Казакова, М.В. Иванов, И.П. Соляникова, И.А. Тарасова, М.В. Горшков
4. ОДИННАДЦАТЫЙ СЪЕЗД ВМСО  
X ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И ЕЕ ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ», 30 октября -

- 03 ноября **2023** года, *Метапротеомный анализ микроорганизмов методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Казакова Е.М., Иванов М.В., Соляникова И.П., Тарасова И.А.
5. 11-я Московская конференция по вычислительной молекулярной биологии (МССМВ), 3 - 6 августа, **2023**, *Анализ бактериального метапротеома методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Е.М. Казакова, М.В. Иванов, Т. Кусаинова, Ю.А. Бубис, В. Горшков, Я.А. Делеган, И.П. Соляникова, Ф. Кьелдсен, М.В. Горшков, И.А. Тарасова
  6. RECOMB 2023: 27th Annual International Conference on Research in Computational Molecular Biology, April 16 - 19, **2023**, *Rapid quantitative characterization of microbial communities using ultrafast MS/MS-free proteomics*, Elizaveta M. Kazakova, Mark V. Ivanov, Tomiris T. Kusainova, Julia A. Bubis, Vladimir A. Gorshkov, Yanina A. Delegan, Inna P. Solyanikova, Frank Kjeldsen, Mikhail V. Gorshkov, Irina A. Tarasova
  7. 65-й Всероссийская научная конференция МФТИ в честь 115-летия Л. Д. Ландау, 3 - 8 апреля **2023** г., *Функциональный протеомный анализ бактерий и микробиомов методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Е.М. Казакова, М.В. Иванов, Т. Кусаинова, Ю.А. Бубис, В. Горшков, Я.А. Делеган, И.П. Соляникова, Ф. Кьелдсен, М.В. Горшков, И.А. Тарасова
  8. III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ  
VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ  
X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»  
VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ, 3 - 7 октября **2022**, «ОМИКСНЫЕ»  
МАРКЕРЫ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК К  
СТРЕССУ, Е.М. Казакова, Е.М. Соловьева, М.В. Горшков, И.А. Тарасова
  9. XIV Annual Congress of the European Proteomic Association, 3 - 7 April **2022**,  
*Rapid quantitative characterization of microbial communities using ultrafast MS/MS-free proteomics*, E. Kazakova, M. V. Ivanov, J. A. Bubis, V. Gorshkov, E. M. Solovyeva, Y. Delegan, I. Solyanikova, F. Kjeldsen, M. V. Gorshkov, I. A. Tarasova
  10. 64-й Всероссийской научной конференции МФТИ, 29 ноября - 03 декабря **2021** года, *Идентификация бактерий и состава микробиомов методом ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии*, Е.М. Казакова, М.В. Иванов, Е.М. Соловьева, Ю.А. Бубис, Я.А. Делеган, И.П. Соляникова, М.В. Горшков, И.А. Тарасова
  11. 20th Human Proteome Organization World Congress (HUPO ReConnect 2021), November 15 - 19, **2021**, *Assessment of bacterial metaproteome using ultra-fast MS/MS-free proteomics*, Elizaveta Kazakova, Mark Ivanov, Elizaveta Solovyeva, Julia Bubis, Yanina Delegan, Inna Solyanikova, Mikhail Gorshkov, Irina Tarasova
  12. Первая школа по медицинской химии для молодых ученых (MedChemSchool-2021), 4 - 9 июля **2021** г., *МЕТРИКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК К СТРЕСС-ФАКТОРУ НА ОСНОВЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ОМИКСОВ*, Е.М. Казакова, Е.М. Соловьева, М.В. Горшков, И.А. Тарасова