



LIETUVOS MOKSLŲ AKADEMIJOS
BIOLOGIJOS, MEDICINOS
IR GEOMOKSLŲ SKYRIUS

10-oji jaunųjų mokslininkų konferencija

BIOATEITIS:

gamtos ir gyvybės mokslų
perspektyvos

Pranešimų santraukos*

2017 m. gruodžio 7 d.

RĖMĖJAS

ThermoFisher
SCIENTIFIC

* Pranešimų santraukų kalba netaisyta



Konferencijos organizacinis komitetas:

akad. Virginijus Šikšnys (VU Biotechnologijos institutas) –
pirmininkas

akad. Vytautas Basys (LMA Biologijos, medicinos ir geomokslų
skyrius) – pirmininko pavaduotojas

dr. Jadvyga Olechnovičienė (LMA Biologijos, medicinos ir
geomokslų skyrius) – mokslinė sekretorė

akad. Zita Aušrelė Kučinskienė (Vilniaus universitetas)

akad. Robert Mokrik (Vilniaus universitetas)

akad. Vytas Antanas Tamošiūnas (VMTI Inovatyvios medicinos
centras)

akad. Mečislovas Žalakevičius (VMTI Gamtos tyrimų centras)

Leidinį sudarė dr. Jadvyga Olechnovičienė
Apipavidalino Miglė Datkūnaitė



Holoceno augalijos istorija ir paleoaplinkos dinamika pietryčių Lietuvoje: tarpdalykiniai Čepkelių pelkės nuosėdų tyrimai

Laura Gedminienė

Gamtos tyrimų centro Geologijos ir geografijos institutas

Bendrijų sudėties ir augalų įvairovės kaitos priklausomybė aplinkos veiksniams yra neišvengiama ekologijos dalis. Todėl dažnai augalijos kaita yra biotinės ir abiotinės aplinkos sąryšio atspindys. Pelkėse esančiuose durpių ir kt. nuosėdų kloduose, kaip holoceno geologinės epochos archyve, slypintys duomenys geba atskleisti kertines vykusių ir vykstančių procesų savybes. Detaliai ištirtų pelkių skaičius didina supratimą apie Lietuvos augaliją veikusius, veikiančius ir prognozuojamus mechanizmus.

Atlikus kompleksinius Čepkelių pelkės nuosėdų tyrimus, buvo surasti statistiškai reikšmingi ryšiai tarp biotinių ir abiotinių aplinką apibūdinančių parametų. Nuosėdų datavimai leidžia įvertinti sedimentacijos greitį ir atskleisti vykusių procesų laikotarpį. Tyrimai parodo, jog fiksuojama paleoaugalijos dinamika visumoje cikliška. Svarbiausi veiksniai lemę augalinį sluoksnį – temperatūros ir vandens lygio svyravimai. Klimatinio nestabilumo laikotarpis užsitęsia iki maždaug 8.5–8 tūkst. m cal BP. Tam galimai turi įtakos ir tarptautiniu mastu fiksuojami taip vadinami „Preborealiai laikotarpio svyravimai“, „10.2“ ir „8.2“ įvykiai. Augalijos bendrijos kinta, kol nusistovi pusiausvyra, tarp klimatinės sąlygų ir jas mėgstančių bendrijų. Biotinių elementų atsakas nuosėdose truputi vėluoja lyginant su abiotiniais. Patekusios į vis dar gan gausiai prisotintą deguonimi vandens aplinką organinės dalelės greitai mineralizuojamos. Klimatinio stabilumo laikotarpiu (iki maždaug 3 tūkst. m cal BP) ežero sistema gauna pastovų maitinimą. Cheminių elementų koncentracijų organikos atžvilgiu sumažėjimas byloja ežero kranto apaugimą: aplink įsivyravę miškai sumažina paviršinį nuotėkį, ežero prisotinimas maistinėmis medžiagomis sąlygoja pelkėjimo procesus. Atvirkštiniai procesai yra fiksuojami atsiradus klimatiniam nestabilumams arba žmogaus įsikišimui: staigus vandens lygio svyravimas, žemesnė temperatūra, sausra ar kt. įvykiai keičiantys natūralią ekosistemos vystymosi eigą.

Trispyglių dyglių ekologinė reikšmė Baltijos jūroje: mityba ir išteklių grupių identifikavimas

Eglė Jakubavičiūtė

Gamtos tyrimų centras

Trispyglė dyglė (*Gasterosteus aculeatus*) yra gerai ištyrinėta evoliucinės ekologijos prasme žuvų rūšis, tačiau jų funkcinis vaidmuo, ypač jūrinėse ekosistemose menkai žinomas. Sparčiau išaugus t. dyglių populiacijai Baltijos jūroje, į jų galimą įtaką mitybiniais tinklams turėtų būti atsižvelgta rengiant populiacijų valdymo planus bei norint užtikrinti gerą aplinkos būklę Baltijos jūroje. Šiame darbe tirti mitybiniai ryšiai bei populiacijos diferenciacija, siekiant nustatyti t. dyglių išteklių grupes.

Nustatytas reikšmingas t. dyglių, strimelių bei brėtlingių mitybos persidengimas Baltijos jūros pelagialėje, kas rodo potencialią konkurenciją tarp t. dyglių bei komerciškai svarbių planktofagių. Taip pat atskleista itin įvairi (> 100 taksonų), selektyvi t. dyglių mityba Baltijos jūros priekrantėje. Atlikti išteklių valdymo planų parengimui būtini dyglių populiacijos diferenciacijos tyrimai, nustatyti morfologiniai skirtumai. T. dyglės iš rytinės Baltijos jūros (Kuršių marių) turi reikšmingai daugiau kaulinių plokštelių bei platesnius kūnus palyginus su individualiais iš kitų Baltijos jūros dalių (Botnijos jūros, centrinės Baltijos, bei Kalmar sąsiaurio). Bendrai, šio darbo rezultatai pabrėžia būtinybę įtraukti gausėjančią t. dyglių populiaciją į išteklių valdymo planus, kadangi t. dyglės gali paveikti daugelį mitybinio tinklo dalių, tiek Baltijos jūros pelagialėje, tiek priekrantėje.

Biogeografijos įtaka obuolių ir juodųjų serbentų mikrobiotai

Iglė Vepškaitė-Monstavičė¹, Juliana Lukša¹, Ramunė Stanevičienė¹, Živilė Strazdaitė-Žieliienė¹, Antanas Žilakauskis¹, Daniel Naumov¹, Vyacheslav Yurchenko^{2,3}, Saulius Serva^{4,5}, Elena Servienė^{1,5}

¹ Gamtos tyrimų centras, Vilnius, Lietuva

² Ostravos gyvybės mokslų centras, Ostrava, Čekija

³ Čekijos mokslo akademija, Česke Budejovicai, Čekija

⁴ Jungtinis gyvybės mokslų centras, Vilnius, Lietuva

⁵ Vilniaus Gedimino technikos universitetas, Vilnius, Lietuva

Mikroorganizmų įvairovė augalų paviršiuje priklauso nuo klimato sąlygų, geografinės padėties, augalo rūšies, brendimo etapo ir kitų veiksnių. Siekiant nustatyti mikroorganizmų įvairovę ant Lietuvoje ir Čekijoje užaugintų obuolių ir juodųjų serbentų, pritaikėme naujos kartos sekoskaitą ir atlikome metagenominę analizę. Pagrindiniai skirtumai taksonomiame eukariotinių ir prokariotinių mikroorganizmų lygmenyje nustatyti palyginus skirtingų augalų mikrobiotas. Nustatyta, kad bakterijų ir grybų bendrijų skirtumai ant obuolių paviršiaus menkai priklauso nuo augalo geografinės padėties. Priešingai, ant skirtinguose regionuose užaugintų juodųjų serbentų paviršiaus randama didelė bakterinės ir grybinės mikrobiotos įvairovė. Mes identifikavome potencialiai naudingus (*Cryptococcus*, *Hanseniopsis*, *Massilia*, *Rhodotorula*, *Sphingomonas*) ir fitopatogeniškus mikroorganizmus (*Cladosporium*, *Pantoea*, *Phoma*, *Pseudomonas*, *Septoria*, *Taphrina*), kurių įtaka svarbi ekologiniams ir evoliuciniams procesams.

Rickettsia spp. bakterijų nustatymas migruojančius paukščius parazituojančiose erkėse

Vesta Matulaitytė*, Jana Radzijevska, Algimantas Paulauskas

Vytauto Didžiojo universiteto Gamtos mokslų fakultetas

Pasaulyje kiekvienų metų pavasarį ir rudenį tiek tarp žemynų, tiek žemynų viduje migruoja šimtai milijonų paukščių. Migracijos kelių įvairovę lemia netik skirtingos paukščių rūšys, bet ir skirtingos migracijos kryptys. Migruojantys paukščiai poilsio ir maitinimosi vietose užsikrėčia įvairių rūšių erkėmis, jas perneša dideliais atstumais, o kartu su jomis ir erkių platinamą infek-

cinių ligų sukėlėjas. *Rickettsia* spp bakterijos sukelti susirgimai yra dažni pietų Europoje, tačiau kiekvienais metais erkių pernešamos *Rickettsia* spp. bakterijos aptinkamos naujuose regionuose. Pavasarinės ir rudeninės migracijos metu Ventės ornitologinėje stotyje nuo migruojančių paukščių 2013, 2014 ir 2016 metais surinktos 532 *Ixodes ricinus* erkės. Kaune ir Kauno rajone 2013 ir 2015 metais 2767 *Ixodes lividus* erkės surinktos iš urvinių kregždžių (*Riparia riparia*) lizdų. *Rickettsia* spp. nustatymui buvo panaudojami molekuliniai tyrimo metodai. Atlikus PGR analizę *Rickettsia* spp. aptiktos 10.2 proc *I. ricinus* erkių bei 89 proc *I. lividus* erkėse. *I. ricinus* erkėse identifikuotos žmogui patogeniškos *R. helvetica* ir *R. monacensis* rūšys, o *I. lividus* erkėse – nauja riketsijų rūšis *R. vini*, kurios patogeniškumas dar neištirtas. Tai pirmas *R. vini* nustatymas Baltijos regione. Tyrimo rezultatai parodo, kad Lietuvos teritorijoje yra paplitusios žmogui patogeniškos *Rickettsia* rūšys, kurios gali sukelti demėtosios karštinės susirgimus.

Sunkiųjų metalų kaupimosi žuvų kūno audiniuose dėsningumai, veikiant daugianariais metalų mišiniais

Gintarė Sauliutė

Gamtos tyrimų centras

Pastaruoju metu vis daugiau dėmesio skiriama įvairių cheminių medžiagų mišinių (įskaitant ir metalų mišinius) poveikiui žmonių sveikatai ir aplinkai, kadangi jie atspindį realų poveikio scenarijų gamtoje. Tiek toksiškumo, tiek akumuliacijos atveju, mišinyje tarp sunkiųjų metalų (SM) vyksta sąveikos, kurios dažniausiai būna konkurencinio ar kooperatinio pobūdžio.

Eksperimentinių tyrimų tikslas – ištirti šešių metalų (Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd) kaupimosi dėsningumus skirtingų žuvų rūšių kūno audiniuose (žiaunose, kepenyse, inkstuose ir raumenyse), esant didžiausių leistinių koncentracijų neviršijančioms (DLK) (gamtinei aplinkai artimoms) metalų koncentracijoms vandenyje. Šio tyrimų rezultatai parodė, kad eksponuojant žuvis daugianariais metalų mišiniais, SM akumuliacijos kūno audiniuose dėsningumai pakinta, t. y., tie patys SM daugianariuose mišiniuose elgiasi kitaip nei binariniuose mišiniuose. Be to, eksponuojant skirtingas žuvų rūšis daugianariais SM mišiniais, kuriuose vieno konkretaus metalo DLK mišinyje buvo sumažinta 10 kartų nustatyta, kad padidėja kai kurių kitų SM kaupimasis žuvų audiniuose. Atitinkamai, metalo koncentracijos sumažinimas mišinyje nebūtinai yra lydimas to paties metalo reikšmingo kaupimosi audiniuose sumažėjimo. Šio darbo rezultatai įrodo, kad viso mišinio toksiškumas, kuris tiesiogiai susijęs su SM tarpusavio sąveika, negali būti prognozuojamas (testuojamas) pagal vieno ar kelių metalų keliamą toksinį poveikį, pagrįsta vien tik to metalo DLK. Metalų DLK gamtinėje aplinkoje turėtų būti nustatomos atsižvelgiant į kitų metalų buvimą aplinkoje.

MEDICINOS SEKCIJA

Atrankinės mamografinės patikros programa Lietuvoje. Programos eiga ir įtaka epidemiologinei situacijai

L. Steponavičienė^{1,2}, G. Smailytė^{1,2}, R. Briedienė³

¹ VU MF, Sveikatos mokslų institutas, Visuomenės sveikatos katedra

² Nacionalinis vėžio institutas, Mokslinių tyrimų centras

³ Nacionalinis vėžio institutas, Radiologijos skyrius

Įvadas: Pagrindinis atrankinės mamografinės patikros programos (AMPP) tikslas – sumažinti mirtingumą nuo krūties vėžio (KV). Siekiant įvertinti, ar šalyje vykdoma AMPP yra efektyvi, yra naudojama keletas rodiklių. Šio darbo tikslas apžvelgti AMPP vykdymą Lietuvoje bei jos įtaką KV epidemiologiniams rodikliams.

Metodai: Tyrimo metu vertinta AMPP eiga, sergamumo, mirtingumo bei KV stadijų pokyčiai iki AMPP vykdymo pradžios (1998–2005 m.) bei jos vykdymo metu (2006–2012 m.). Analizė atlikta trijose amžiaus grupėse: 0–49 m., 50–69 m. (tikslinė populiacija), 70+. Taikytas lūžio taškų regresijos modelis, siekiant apskaičiuoti metinį procentinį pokytį (MPP).

Rezultatai: Tyrimo metu 1998–2012 m. laikotarpyje nustatytas reikšmingas sergamumo KV padidėjimas nuo 61,7/100 000 gyventojų iki 95,2/100 000 (MPP 3,0; 95% PI 2,3;3,5). Tikslinėje populiacijoje tiriamuoju laikotarpiu sergamumas I stadijos KV reikšmingai padidėjo (MPP 10,6; 95% PI 9,0;12,2), tačiau šiam didėjimui AMPP įdiegimas įtakos neturėjo, – sergamumas I stadijos KV ženkliau didėjo iki AMPP įdiegimo nei po įdiegimo. Sergamumo pažengusių KV rodikliai buvo stabilūs viso tiriamojo periodo metu (MPP -0,6; 95% PI -1,3;0,0). Panašios tendencijos stebėtos ir kitose dviejose amžiaus grupėse, kurios programoje nedalyvauja.

Išvados: AMPP Lietuvoje vykdoma neorganizuotai. AMPP įdiegimas nebuvo susijęs su sergamumo I stadijos KV padidėjimu bei pažengusių stadijų sumažėjimu. Stebėti pokyčiai labiau atspindi bendras teigiamas tendencijas KV diagnostikoje ir gydyme.

Genetinių žymenų sąsajos su amžinės geltonosios dėmės degeneracijos pasireiškimu

Alvita Vilkevičiūtė

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Amžinė geltonosios dėmės degeneracija (AGDD) yra progresuojanti, centrinės tinklainės dalies, geltonosios dėmės (makulos), liga, kurios etiologija ir patogenezė iki šiol nėra visiškai aiški. Kadangi yra žinoma, jog pagrindiniai patologiniai procesai ligos metu yra drūzų formavimasis, kurį lemia lipidų metabolizmo pokyčiai bei uždegimas, ieškoma AGDD ir genų, atsakingų už šiuos procesus, sąsajų. Tyrimo tikslas – nustatyti genetinių žymenų sąsajas su AGDD pasireiškimu.

Tiriamieji ir tyrimo metodai. Ištirti 284 pradine ir 213 eksudacine AGDD sergantys bei 800 sveikų asmenų. DNR buvo išskirta iš periferinio kraujo leukocitų naudojant druskų nusodinimo

metodą. Genotipavimas atliktas naudojant tikro laiko polimerazės grandinės reakcijos (TL-PGR) metodą.

Rezultatai. *CETP* rs5882 AG ir GG genotipai didina pradinės AGDD pasireiškimo galimybę vyrams. *SIRT1* rs12778366 CC genotipas didina galimybę susirgti eksudacine AGDD vyrams. *FGFR2* rs2981582 GA genotipas galimybę susirgti pradine AGDD vyrams didina, o AA genotipas, šią galimybę mažina tiek vyrams, tiek vyresnio amžiaus asmenims. *STAT3* rs744166 AG ir GG genotipai bei kiekvienas G alelis mažina galimybę susirgti pradine AGDD moterims, GG genotipas mažina galimybę susirgti pradine AGDD tiek jaunesniame, tiek vyresniame amžiuje, o eksudacinės AGDD pasireiškimo galimybę GG genotipas ir kiekvienas G alelis mažina tik vyresniame amžiuje.

Išvados. *CETP* rs5882, *SIRT1* rs12778366, *FGFR2* rs2981582 ir *STAT3* rs744166 yra susiję su AGDD pasireiškimu.

Ūminis pankreatitas: ar identifikuojame sunkiausius pacientus?

Povilas Ignatavičius

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Ūminis pankreatitas (ŪP) – sudėtinga liga, sukeliama skirtingų veiksnių ir turinti skirtingo sunkumo eigą. Priklausomai nuo šių veiksnių, ūminis pankreatitas gali būti gydomas tiek konservatyviai, tiek atliekant įvairios apimties operacijas. Norint taikyti efektyviausią gydymą, būtina tinkamai identifikuoti ir suskirstyti šia liga sergančius pacientus. Pagal sukeliančią priežastį ūminis pankreatitas skirstomas į dvi pagrindines grupes – biliarinį ir alkoholinį. Tačiau ligonių skirstymas tik pagal etiologinį veiksnių nėra pakankamas, todėl 2013 metais pristatyta atnaujinta ūminio pankreatito sunkumo klasifikacinė sistema „Atlanta 2012“, kurią rekomenduota taikyti kasdieninėje praktikoje. Ši klasifikacinė sistema remiasi lokaliomis ir sisteminėmis ūminio pankreatito komplikacijomis. Išskiriamos trys ligos sunkumo klasės: lengvas ŪP, vidutinio sunkumo ir sunkus ŪP. Sunkaus ŪP grupėje stebimas didžiausias pacientų mirštamumas, todėl būtinas greitas ir efektyvus šių pacientų identifikavimas ir gydymas. Norint efektyviai taikyti naująją sistemą, būtina įvertinti jos pritaikomumą netik vienoje ligoninėje, bet ir palyginti tarp skirtingų centrų, įvertinti šios sistemos efektyvumą identifikuojant sunkiausius pacientus.

Plyšinių jungčių vartų valdymas ir jo poveikis sužadavimo sklaidimui širdyje ir neuronų tinkluose

Kęstutis Maciūnas¹, Mindaugas Šnipas^{1,2}, Tadas Kraujalis^{1,3}, Lina Rimkutė¹, Lukas Gudaitis¹

¹ LSMU, Medicinos Akademinė, Kardiologijos institutas

² KTU, Matematikos ir gamtos mokslų fakultetas, Matematinio modeliavimo katedra

³ KTU, Informatikos fakultetas, Taikomosios informatikos katedra

Plyšinės jungtys (PJ-ys), sudarytos iš koneksino baltymo kanalų, užtikrina metabolinę ir elektrinę komunikaciją tarp ląstelių. Viena svarbiausių jų funkcijų yra elektrinio signalo perdavimas širdies audinyje.

PJ-ių laidumas (g_j) priklauso nuo elektrinės įtampos ar cheminio poveikio (pvz., dėl išemijos sukeltų viduląstelinio pH ar Mg^{2+} jonų koncentracijos pokyčių). Siekdami įvertinti tokį reguliuojamą PJ-ių poveikį elektrinio signalo sklidimui širdies audinyje, sukūrėme 2-D kardiomiocitų tinklo modelį. Šis modelis apjungia Noble lygtis, aprašančias ląstelių membranos sužadimą, su mūsų anksčiau publikuotu 36-ių būsenų PJ-ių varinių savybių modeliu. Atlikti tyrimai parodė, kad sužadimo sklidimo sukelti aukštos amplitudės tarpląstelinės įtampos impulsai gali ženkliai sumažinti g_j . Tokie g_j pokyčiai gali pakeisti širdies audinio elektrinę anizotropiją, taip padidindami aritmijų ir fibriliacijos susidarymo riziką.

PJ-ių kanalai taip pat formuoja elektrines sinapses neuronų tinkluose. Paprastai jos pasižymi pastoviu laidumu, tačiau elektrofiziologiniai eksperimentai parodė, kad PJ-ims būdinga momentinė srovės ir įtampos (I–V) rektifikacija. I–V rektifikacijos sukelta laidumo asimetrija dažniausiai yra stebima heterotipinėse, bet gali atsirasti ir homotipinėse PJ-yse (pvz., dėl Mg^{2+} gradientų). Modeliavimo rezultatai parodė, kad PJ-ių I–V rektifikacija gali sudaryti sąlygas signalo sklidimo reverberacijai neuronų tinkle, sujungtame didelio laidumo elektrinėmis sinapsėmis. Šie procesai gali sietis su mažos Mg^{2+} jonų koncentracijos sukeltu elektrinių sinapsių laidumo padidėjimu ir epilepsijos metu stebimu spiralinių bangų formavimusi.

Kylančiosios aortos dilatacija: biomechanikos ir histologinių rodiklių įvertinimas ir jų tarpusavio sąsajų nustatymas

Monika Biesevičienė¹, Vaiva Lesauskaitė², Vaida Mizarienė¹,
Kristina Vasiljevaitė¹, Jolanta Justina Vaškelytė¹

¹ Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, Kardiologijos klinika, Kaunas, Lietuva

² Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Kardiologijos institutas, Kaunas, Lietuva

Kylančiosios aortos dilatacija (KAD) yra sunkiai kliniškai diagnozuojama patologija, dažniausiai ilgai būna besimptomė, kol neatsiranda gyvybei pavojingų komplikacijų – aortos atsisluoksniavimas arba plyšimas.

Šio mokslinio darbo tikslas – ištirti kylančiosios aortos dilataciją turinčių pacientų biomechanikos ir histologinius rodiklius ir jų tarpusavio sąsajas, klinikinėje praktikoje pritaikyti naują metodiką – taškelių žymėjimo echokardiografiją – kylančiosios aortos biomechanikai tirti.

Pranešime pateikiamos įprastinių ir naujų echokardiografijos rodiklių sąsajos su aortos biomechanikos rodikliais. Analizuojamas kylančiosios aortos dydžių, biomechanikos rodiklių kitimas/ryšiai esant genotipų deriniams, didinantiems kylančiosios aortos dilatacijos riziką (AKF D/D ar I/D ir MMP-3 5A/5A) ir mažinantiems kylančiosios aortos dilatacijos riziką (AKF I/I ir MMP-3 (-1171) 6A6A). Pateikiamos kylančiosios aortos dydžių sąsajos su įprastine ir taškelių žymėjimo echokardiografija įvertintais biomechanikos bei histologiniais rodikliais. Analizuojama aortos vožtuvo anatomijos įtaka anksčiau pateiktiems rodikliams.

BRAF V600E mutacijos ir citomorfologinių požymių reikšmė papilinio skydliaukės vėžio chirurginiam gydymui optimizuoti

Augustas Beiša¹, Mindaugas Kvietkauskas¹, Virgilijus Beiša¹, Mindaugas Stoškus², Elvyra Ostanevičiūtė³, Eugenijus Jasiūnas⁴, Laimonas Griškevičius², Kęstutis Strupas¹

¹ *Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Klinikinės medicinos instituto*

Gastroenterologijos, nefrourologijos ir chirurgijos klinikos Pilvo chirurgijos centras

² *Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Klinikinės medicinos instituto Vidaus ligų, šeimos medicinos ir onkologijos klinikos Hematologijos, onkologijos ir transfuziologijos centras*

³ *Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Laboratorinės medicinos centras*

⁴ *Mykolo Romerio universitetas*

UG kontroliuojama plonos adatos biopsija ir citologinis tyrimas laikomi „auksiniu standartu“ skydliaukės piktybinių susirgimų diagnostikoje. Tačiau iki 30% atvejų nustatomi neapibrėžtos reikšmės citologiniai pokyčiai. Šiems pacientams rekomenduojama diagnostinė operacija. Tačiau tik 30% atvejų nustatomas skydliaukės vėžys. Tyrimo užduotis buvo įvertinti BRAF V600E mutacijos ir citomorfologinių požymių reikšmę papilinio skydliaukės vėžio diagnostikai.

Į tyrimą įtraukti pacientai, kuriems UG metu buvo nustatyti įtartini skydliaukės mazgai, atlikta mazgo plonos adatos biopsija ir citologinio tyrimo metu pokyčiai priskirti III–V Bethesda grupėms. Pacientams atliktas BRAF V600E mutacijos tyrimas ir įvertinti 22 citomorfologiniai pokyčiai. Visi pacientai operuoti, jiems atliktas pašalintų audinių histologinis tyrimas.

Į studiją įtraukta 219 pacientų. 77 (35,2%) pacientams buvo nustatytas papilinis skydliaukės vėžys, 142 (64,8%) – gerybiniai mazginiai pokyčiai. Binarinės logistinės regresijos analizė išskyrė BRAF V600E mutaciją ir tris citomorfologinius pokyčius (vandeningą koloido konsistenciją, papilines struktūras, rožinius koloido rutulius) kaip svarbiausius papilinio skydliaukės vėžio diagnostikai. Remiantis modeliu, 156 (71.2%) atvejai priskirti mažos, 63 (28.8%) – didelės rizikos grupei. Sudaryto modelio jautrumas papilinio skydliaukės vėžio diagnostikoje – 80.5% (95% PI: 69.9–88.7), specifiskumas – 99.3% (95% PI: 96.1–100), teigiama prognostinė vertė – 98.4% (95% PI: 89.8–99.8), neigiama prognostinė vertė – 90.4% (95% PI: 85.7–93.7).

BRAF V600E mutacijos ir citomorfologinių pokyčių kompleksinis vertinimas leidžia patikslinti priešoperacinę papilinio skydliaukės vėžio diagnostiką.

Internetinė rizikos skaičiuoklė: <http://ptc-calc.we2host.lt/>

Limfoproliferacinių ligų genominių veiksnių ir jų evoliucijos tyrimas

^{1,2}Vaidas Dirsė, ¹Eglė Gineikienė, ¹Tadas Žvirblis, ¹Rūta Bertašiūtė, ¹Agne Bertašiūtė, ³Julius Drachneris, ³Ugnius Mickys, ¹Mindaugas Stoškus, ⁴Kajsa Paulsson, ^{1,2}Laimonas Griškevičius

¹Hematology, Oncology and Transfusion Medicine Center, Vilnius University Hospital Santaros Klinikos, Vilnius, Lithuania

²Department of Internal, Family Medicine and Oncology, Faculty of Medicine, Vilnius University, Vilnius, Lithuania

³National Center of Pathology, Vilnius, Lithuania

⁴Division of Clinical Genetics, Department of Laboratory Medicine, Lund University, Lund, Sweden

Ūminė limfoleukemija (ŪLL) ir difuzinė didelių B ląstelių limfoma (DDBLL) yra vienos iš intensyviausiai tyrinėjamų agresyvių ligų, turinčių neigiamą įtaką pacientų išgyvenamumui. Viena iš priežasčių, lemiančių ligų atsiradimą, eiga ir progresiją yra genominės aberacijos, kurios suaugusiųjų ŪLL ir DDBLL grupėje nustatomos 60–80% pacientų. Ligos progresijos biologiniams mechanizms įvertinti yra svarbu nustatyti genominių aberacijų kloninę evoliuciją tarp diagnostinių ir ligos atkryčio mėginių. Aukštos skiriamosios gebos molekulinis kariotipavimas leidžia tiksliai identifikuoti dažniausius aberacijų tipus, įvertinti jų pasiskirstymą genome bei kloninę evoliuciją.

Molekulinio kariotipavimo analizė nustatė 192 ir 329 aberacijas diagnostiniuose ŪLL ir DDBLL mėginiuose (vidut.: 3,6 ir 5 aberacijos atvejui). Dažniausios ŪLL aberacijos buvo 9p, 6q, 13q ir 17 chromosomose, o DDBLL – 1p, 1q, 6q ir 3q chromosomose. Dažniausi aberantiniai genai, susiję su ŪLL buvo – *CDKN2A/B*, *MLL*, *IKZF1*, *PAX5*, *RB1*, *TP53*. Identifikuoti trys nauji genai kandidatai, galimai būdingi Lietuvos ŪLL populiacijai. Statistinė analizė parodė, jog ligos išgyvenamumui kliniškai reikšmingos yra *RB1*, *CDKN2A/B* genų bei 13 chromosomos aberacijos. Buvo aptikti aberacijų skirtumai tarp dviejų DDBLL histologinių subtipų. Aberacijų kompleksškumo ir *MYC* onkogeno pokyčių sąsajos nustatė galimus inicijuojančius genetinius įvykius DDBLL ligoje. Kloninės evoliucijos tyrimas identifikavo genus (*CDKN2A/B*, *PAX5*, *TP53*), kurių pokyčiai gali turėti įtakos ligos progresavimui. Nustatytos trys genominės evoliucijos kryptys ŪLL.

De novo mutacijų ir jų intensyvumo analizė lietuvių triadų grupėje

Laura Pranckėnienė*, A. Jakaitienė*, L. Ambrozaitytė*, V. Kučinskas*

*Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Žmogaus ir medicininės genetikos katedra

De novo mutacijos yra svarbiausias evoliucijos šaltinis, todėl žinios apie jų savybes, dažnį bei susidarymo mechanizmus turi daug įtakos mūsų gebėjimui suprasti demografijos ir evoliucijos fenomenus. Nepaisant tikslų DNR replikacijos ir reparacijos mechanizmų, kiekvienas žmogus turi vidutiniškai 60 (25–60) vieno nukleotido iš tėvų nepaveldėtų (*de novo*) mutacijų. Tiesioginis jų lygio nustatymas pagrįstas triadų viso geno ar viso egzomo sekoskaita. Remiantis olandų, danų ir islandų genomų projektų duomenimis, *de novo* vieno nukleotidų (DNV) lygis yra apie $1,2 \times 10^{-8}$ – $1,5 \times 10^{-8}$ per nukleotidą vienoje kartoje. Taškinųjų mutacijų lygis ir pasekmės priklauso

nuo tėvų amžiaus pastojimo metu ir genomo vietos, kurioje susidarė. Šio tyrimo tikslas buvo nustatyti ir įvertinti *de novo* vieno nukleotido mutacijas ir jų lygį lietuvių triadų viso egzomo duomenyse.

Tiriamųjų grupę sudarė 48 tėvų-vaikų triados iš bendrosios Lietuvos populiacijos. Triadų egzomai nusekvenuoti 5500 SOLiD™ genetinių analizatorių. Nustatytas DNV lygis yra $5,5 \times 10^{-8}$ su 95% PI [$4,4 \times 10^{-8}$; $6,8 \times 10^{-8}$] VarSeq™ ir $6,2 \times 10^{-8}$ su 95% PI [$5,1 \times 10^{-8}$; $7,6 \times 10^{-8}$] VarScan algoritmui. Nustatytas DNV lygis yra didesnis nei kituose minėtuose tyrimuose, todėl tai kelia klausimą ar nustatytas didesnis DNV lygis priklauso nuo genomino konteksto ir/ar galimos natūralios atrankos egzomui. Taigi, tebevykstant tyrimui, analizuojami galimi DNV klasteriai ir genomo konteksto įtaka DNV formavimuisi.

Tai yra Visuotinės dotacijos projekto LITGEN (VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-013) dalis.

Doktorantūros studijos yra finansuojamos iš Europos sąjungos struktūrinių fondų projekto „Doktorantūros studijų plėtra“ (Nr. 09.3.3-ESFA-V-711-01-0001) lėšų.

Žmonių skrandžio priešvėžinio ir vėžinio audinio mikro RNR profilis

Violeta Šaltenienė¹, J. Skievecičienė¹; S. Juzėnas¹; R. Steponaitienė¹; G.

Kiudelis²; L.V. Jonaitis²; L. Venslauskas³; A. Ivanauskas²; A. Tamelis³; G. Hemmrich-Stanisak⁴; M. Hubenthal⁴; A. Franke⁴; L. Kupčinskas^{1,2}; J. Kupčinskas^{1,2}

1) Virškinimo Sitemos Tyrimų Institutas, Lietuvos Sveikatos Mokslų Universitetas, Kaunas

2) Gastroenterologijos skyrius, Lietuvos Sveikatos Mokslų Universiteto Ligoninė Kauno Klinikos, Kaunas

3) Chirurginis skyrius, Lietuvos Sveikatos Mokslų Universiteto Ligoninė Kauno Klinikos, Kaunas

4) Klinikinės ir molekulinės Biologijos Institutas, Kylio Kristiano Albrechto Universitetas, Vokietija

Skrandžio vėžys yra visuotinė sveikatos problema pasaulyje, nes mirštamumas nuo šios ligos išlieka didelis. Mikro RNR – tai audiniams specifiniai biožymenys, kuriuos tikimasi panaudoti ankstyvai ligų diagnostikai.

Šio darbo tikslas nustatyti mikro RNR raiškos profilį žmonių skrandžio vėžio (SV) ir atrofino gastrito (AG) pažeistame audinyje ir sergančiųjų plazmoje.

Mikro RNR profilis buvo nustatytas naudojant du skirtingus (kiekybinės tikrojo laiko polimerazės grandininės reakcijos (kTL-PGR) ir naujos kartos sekoskaitos) metodus.

Naudojant kTL-PGR ir mažo tankio plokštelę SV audinyje (n=13), palyginti su kontrole (n=12) buvo nustatyta pakitusi 15-os mikro RNR raiška (iš 377-ių), kai raiškos pokytis >2, p<0,01. Validacija atlikta kTL-PGR metodu, naudojant mikro RNR *TaqMan* pradmenis. Nustatyta, kad SV audinyje (n=38), palyginti su kontrole (n=39) buvo pakitusi 4-ių mikro RNR raiška (iš 6-ių). Tų pačių mikro RNR (*hsa-miR-148a-3p*, *hsa-miR-375*, *hsa-miR-223-3p*) raiška buvo pakitusi sergančiųjų SV kraujo plazmoje ta pačia kryptimi kaip ir audinyje (p<0,05).

Naudojant naujos kartos sekoskaitą (*HiSeq2500*, *Illumina*) SV audinyje (n=20) ir AG audinyje (n=18), palyginti su kontrole (n=26), nustatytas 110-ies ir 17-kos mikro RNR raiškos pokytis, atitinkamai. Validacija atlikta naudojant kTL-PGR ir mažo tankio plokštelę. Nustatyta, kad SV audinyje (n=39) ir AG (n=40), palyginti su kontrole (n=40), buvo pakitusi 8-ių ir 2-jų (iš 21-os) mikro RNR raiška, atitinkamai.

Perkutaninės endoskopinės gastrostomijos įtaka svorio priaugui ir išgyvenamumui vaikams po alogeninės kraujodaros kamieninių ląstelių transplantacijos

Mantas Vaišvilas¹, Giedrius Šėmys², Božena Mackevič¹, Audronė Jakaitienė², Jelena Rascon^{1,2}

1. *Vilniaus universiteto vaikų ligoninė;*

2. *Vilniaus universitetas, medicinos fakultetas;*

Mažesnė kūno masė ir kūno masės indeksas yra sietini su blogesne prognoze vaikams, kuriems atliekama alogeninė kaulų čiulpų transplantacija. Perkutaninė endoskopinė gastrostomija (PEG) yra pigi, saugi ir efektyvi alternatyva enteriniam maitinimui, stengiantis palaikyti optimalų kūno svorį ūmiu peritransplantaciniu laikotarpiu. Atlikome retrospektyvinę palyginamąją analizę, į kurią įtraukėme 71 pacientą ir suskirstėme į dvi lyginamąsias grupes (PEG n = 34) pagal tai, ar jiems suformuota gastrostomija. Lyginant dviejų grupių svorius praėjus 100 dienų po alogeninės kaulų čiulpų transplantacijos, perkutaninės endoskopinės gastrostomijos grupėje stebimas statistiškai reikšmingas svorio priaugis nuo 32,8 iki 34,2 kilogramų ($p = 0,011$), tuo tarpu kontrolinėje grupėje svoris sumažėjo nuo 41,5 iki 37,3 kilogramų ($p = 0,006$). Išgyvenamumas po 100 dienų nuo transplantacijos buvo geresnis PEG grupėje (94 proc. vs. 69 proc., $p = 0,014$). 5 metų išgyvenamumas taip pat geresnis PEG grupėje (83 proc. vs. 29 proc. $p = 0,000097$). PEG implantavimas statistiškai reikšmingai susijęs su geresniu išgyvenamumu vienveiksniėje "Cox" regresinėje analizėje (HR 0.183 CI95% 0.07–0.478 $p = 0.001$) ir išlieka svarbiausiu veiksniumi gerai prognozei pritaikius daugiaveiksni modelį (HR 0.179 CI95% 0.055–0.585 $p = 0.004$).

Genominių veiksnių įtaka epilepsijos genetinei etiologinei struktūrai ir diagnostikai

Birutė Tumienė^{1,2}, Aleš Maver³, Borut Peterlin³, Vaidutis Kučinskas^{1,2}, Algirdas Utkus^{1,2}

¹ *Žmogaus ir medicininės genetikos katedra, Biomedicinos mokslų institutas, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva*

² *Medicininės genetikos centras, Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos, Vilnius, Lietuva*

³ *Medicininės genetikos klinikinis institutas, Liubljanos universiteto medicinos centras, Liublijana, Slovėnija*

Tikslas: įvertinti monogeninių ir chromosominių ligų, pasireiškiančių epilepsija ar traukuliais, genetinę struktūrą ir diagnostikos galimybes, pasitelkiant bioinformacines priemones ir genominius tyrimų metodus.

Pasitelkiant bioinformacines priemones, sudaryta ir anotuota didžiausia mūsų žiniomis genų ir monogeninių ligų, pasireiškiančių epilepsija ar traukuliais, duomenų bazė EpiGene (versija 3.0, 985 genai, <http://kimg.eu/en/tools/epigene-database>), įskaitant funkcinių genų kategorijų nustatymą, molekulinės patologijos, funkcinės įvairovės netoleravimo (FIN), fenotipinės įvairovės, paveldėjimo pobūdžio įvertinimą. Įvertintos didžiausios monogeninių ligų grupės, paveldimų medžiagų apykaitos ligų, diagnostinės galimybės, sudarytas 97 taikant specifinį gydymą gydomų ligų sąrašas. Sukurta papildomų įrankių genominei diagnostikai ir kandidatinių genų paieškai: virtuali genų panelė, genolapiai, sudėtinis genų funkcinės įvairovės netoleravimo indeksas

Tscore. Lyginant su kitais FIN įverčiais, *Tscore* pasižymėjo didesniu jautrumu identifikuojant žinomus epilepsijos genus. Įrankiai pritaikyti 309 pacientų su epilepsija ar traukuliais genominei diagnostikai: 87 pacientams atlikus išsamų diagnostinės egzomo sekoskaitos metodą, gautas aukštas diagnostikos veiksmingumas (49%), nustatyti nauji kandidatiniai monogeninių epilepsijų genai (*UBA5*, *SOX5*, *SCN3A*). Atlikus 222 pacientams molekulinio kariotipavimo tyrimu nustatytų patogeninių/ tikėtina patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių genų sudėties analizę, 50,48% pacientų nustatytas bent vienas epilepsijos genas, sudarytas ir išanalizuotas didžiausią *Tscore* turinčių genų kandidatų sąrašas.

Išvada: išsamūs bioinformaciniai tyrimai leidžia atlikti epilepsijos genetinės struktūros analizę ir sukurti veiksmingus genominių tyrimų metodus diagnostikai ir kandidatinių genų paieškai.

Hsa-miR-20b-5p, hsa-miR-451a-5p ir hsa-miR-1468-5p vaidmuo skrandžio vėžio patogenezėje

Greta Streleckienė

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Skrandžio vėžys – vienas dažniausių vėžinių susirgimų, ankstyva diagnostika yra būtina dėl prastos šios ligos prognozės, kuomet liga nustatoma vėlyvoje stadijoje. Mikro RNR yra mažos nekoduojančios RNR molekulės, svarbios reguliuojant genų raišką per posttranskripcinius mechanizmus.

Tyrimo tikslas ištirti mikro RNR (hsa-miR-20b-5p, hsa-miR-451a-5p ir hsa-miR-1468-5p) funkciją skrandžio vėžio patogenezėje eksperimentiškai nustatant tiriamųjų mikro RNR genus taikinius.

Tyrimo rezultatai parodė, kad hsa-miR-451a-5p ir hsa-miR-1468-5p raiška buvo statistiškai reikšmingai mažesnė komercinėse AGS ir MKN28 ląstelių linijose nei normaliame skrandžio audinyje, tuo tarpu hsa-miR-20b-5p raiška buvo reikšmingai didesnė palyginus normalų skrandžio audinį ir vėžines skrandžio ląstelių linijas. Atlikus kiekybinės tikro laiko polimerazės grandininės reakcijos (kTL-PGR) rezultatų analizę, nustatyta kad *IRF1*, *TXNIP*, *PTEN* genai yra galimi hsa-miR-20b-5p taikiniai, *CAV1* – hsa-miR-451a-5p taikinytis, o *CITED2* – hsa-miR-1468-5p genas taikinytis. Tolimesnė baltymų raiškos analizė parodė *TXNIP* baltymo raiškos padidėjimą paveikus ląsteles hsa-miR-20b-5p inhibitoriumi ir *CAV1* baltymo raiškos sumažėjimą paveikus ląsteles hsa-miR-451a-5p imitatoriumi.

Antioksidanto vitamino E įtaka žiurkių embrionų vystymuisi

Aistė Audickaitė¹, Jolita Stankevičė², Violeta Žalgevičienė¹

¹ *VU MF Biomedicinos instituto Anatomijos, histologijos ir antropologijos katedra*

² *VU MF Klinikinės medicinos instituto Anesteziologijos ir reanimatologijos klinika*

Antioksidantai – medžiagos, kurios apsaugo organizmo ląsteles nuo žalingų laisvųjų radikalų poveikio. Teigiama, kad vartojant juos, apsisaugoma nuo daugybės ligų, stiprėja organizmo imuninė sistema, tačiau ar per didelis jų vartojimas neturi neigiamo poveikio

organizmui? Šiuo tyrimu siekėme išsiaiškinti antioksidanto vitamino E įtaką žiurkių embrionams bei jų vystymuisi.

Tyrimas atliktas naudojant *Wistar* klonu baltąsias laboratorines žiurkes ir jų embrionus. Žiurkės suskirstytos į 3 eksperimentines grupes (EG). Pirmosios EG žiurkėms skirta 50 mg vitamino E (6-10 embriogenezės parą), antrosios EG – 9-13 parą, trečioji grupė – kontrolinė. Tyrimo pabaigoje žiurkės užmigdytos, išimta gimda su embrionais. Embrionai sverti, matuoti, skaičiuotos gimdoje aptiktos rezorbcijos, analizuoti kaulėjimo sutrikimai, išorinės ir vidinės ydos.

Palyginus embrionų svorį ir ilgį, nustatyta, kad I ir II EG embrionai trumpesni ir lengvesni už kontrolinius ($p < 0,05$). Išmatavus embrionų ilguosius galūnių kaulus nustatyta, kad I ir II EG embrionų priekinės (žastikaulis, alkūnkaulis, stipinkaulis) bei užpakalinės (šlaunikaulis, blauzdi-kaulis, šėivikaulis) galūnės kaulai yra trumpesni už kontrolinių ($p < 0,05$). I EG rezorbcijos sudarė 8,06% visų embrionų, II EG jų buvo 7,25%, o kontrolinėje grupėje rezorbcijų buvo tik 2,17% iš visų embrionų. Išorinių ir vidaus organų vystymosi ydų nė vienos grupės embrionams nenustatyta.

BIOCHEMIJOS IR BIOTECHNOLOGIJOS SEKCIJA

Pavienių ląstelių transkriptomika vėžio metastazės modelio tyrimuose

Juozas Nainys

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

Pavienių ląstelių transkriptomika leidžia atlikti detalius genų raiškos tyrimus, identifikuoti ląstelių tipus mišrioje populiacijoje. Per pastaruosius metus lašelių mikroskysčių technologija, pasižyminti itin dideliu našumu, tapo nepakeičiamu įrankiu pavienių ląstelių transkriptomos ir genomo tyrimuose. Ši naujos kartos technologija leido ženkliai sumažinti tyrimų kaštus bei darbo sąnaudas ir atvėrė naujas galimybes analizuoti genų raišką tūkstančiuose pavienių ląstelių.

Šio darbo metu mes pritaikėme mikroskysčių technologiją modeliniam vėžio vystymuisi iširti. Epitelinų ląstelių virsmas mezenchiminėmis (*EMT – Epithelial to mesenchymal transition*) ląstelėmis yra vienas iš vėžio metastazių susidarymo mechanizmų. Manoma, jog šis virsmas yra nuoseklus procesas, kurio metu susidaro įvairios tarpinės ląstelių būsenos, o jų tarpe ir vėžio kamieninės ląstelės. Siekiant detalai iširti EMT transformaciją, buvo išanalizuota virš 20,000 pavienių ląstelių 12-os dienų virsmo periode. Gautiems duomenims apdoroti sukurtas naujas algoritmas MAGIC (*Markov Affinity-based Graph Imputation of Cells*), leidžiantis analizuoti genų raišką ir sąveikų tinklus. Suformuotos hipotezės buvo patvirtintos, atliekant nepriklausomus biologinius eksperimentus. Papildomai išanalizuota 10,000 pavienių ląstelių padidintos *Zeb1* transkripcijos faktoriaus raiškos sąlygomis. Gauti rezultatai patvirtino suformuotas hipotezes apie genų sąveikos tinklus.

Atlikti darbai parodo, jog naujos kartos mikroskysčių barkodavimo technologija kartu su inovatyviais bioinformatiniais metodais leidžia statistiškai patikimai ir objektyviai analizuoti sudėtingus ląstelių populiacijų virsmus ir genų raiškos sąveikas pavienių ląstelių lygyje.

Potencialių virulentinių genų svarba klinikinių *Acinetobacter baumannii* padermių patogenezėi

Juratė Skerniškytė¹, Emilija Karazijaitė¹, Renatas Krasauskas¹, Julija Armalytė¹, Edita Sužiedėlienė¹

¹ Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biomokslų institutas

Ligoninėse įgyjamos infekcijos pacientams sukelia komplikacijas, kurias sunku išgydyti dėl tarp bakterijų paplitusio atsparumo antibiotikams. Oportunistinė bakterija *Acinetobacter baumannii* yra vienas iš ESCAPE grupės patogenų, kurie sukelia didžiąją dalį hospitalinių infekcijų. *A. baumannii* dažniausiai sukelia kvėpavimo takų ligas, pneumoniją, sepsį. Taip pat ši bakterija pasižymi ypatingu prisitaikymu išlikti ligoninės aplinkoje ant abiotinių paviršių (medicininės aparatūros, kateterių ir kt.) formuojant bioplėveles. Nors *A. baumannii* infekcijos yra paplitusios viso pasaulio ligoninėse, tačiau apie molekulinis šios bakterijos patogenezės mechanizmus vis dar yra sukaupta mažai duomenų.

Darbo metu buvo tirtos skirtingos *A. baumannii* padermės, išskirtos iš Vilniaus, Kauno ir Šaulių ligoninių. Kadangi ši bakterija pasižymi dideliu genomo plastiškumu, kuris, manoma, susijęs su gebėjimu prisitaikyti prie klinikinės aplinkos ir žmogaus imuninės sistemos, tirtos padermės buvo patikrintos dėl 10 skirtingų su virulentiškumu siejamų genų. Reprezentatyvios padermės tirtos dėl išreikštų virulentiškumo požymių: bioplėvelės formavimo, ląstelės paviršiaus hidrofobiškumo, atsparumo serumui, adhezijos ant mucino ir plaučių epitelio ląstelių, atsako į makrofaugų fagocitozę. Nustatytas skirtingas virulentiškumo potencialo pasiskirstymas tarp atskirų padermių, priklausančių skirtingiems pandeminiams klonams. Atrinkus svarbiausius virulentiškumo veiksnius, buvo sukonstruoti šių genų iškritų mutantai. Mutantų virulentiškumo potencialas buvo įvertintas lyginant su laukinio tipo paderme naudojant *Caenorhabditis elegans* modelinį infekcijos organizmą.

Oportunistinio patogeno *A. baumannii* dvikomponentės sistemos BfmRS rolė klinikoje svarbiuose fiziologiniuose procesuose

Krasauskas R.¹, Skerniškytė J.¹, Armalytė J.¹, Sužiedėlienė E.¹

¹ Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biomokslų institutas

Įvadas

Oportunistinis patogenas *Acinetobacter baumannii* pastarąjį dešimtmetį išplito viso pasaulio ligoninėse, kur sukelia vadinamąsias hospitalines infekcijas, kurios itin pavojingos ligoniams su nusilpusia imunine sistema. Gydomo įstaigose cirkuliuojančios *A. baumannii* yra įgijusios atsparumą naujų kartų antibiotikams, dezinfekuojančioms medžiagoms, išdžiūvimui, o ant medicininės įrangos bei kitų paviršių sudaro sunkiai naikinamas bioplėveles. Yra nustatyta, kad patogeno bioplėvelių formavimas yra reguliuojamas dvikomponentės sistemos BfmRS regulatoriaus BfmR. Iškelta hipotezė, kad jis reguliuoja ir grupę *A. baumannii* genų, susijusių ir su jos virulentiškumu – t. y. gebėjimui sukelti infekciją žmogaus organizme. Tiesa, kol kas nėra žinoma, kokius dar genus jis reguliuoja.

Darbo tikslas

Pasitelkiant mutantinius *bfmR* alelius įvertinti reguliatoriaus rolę *A. baumannii* fiziologiniuose procesuose

Metodai

Įvairūs *bfmRS* operono mutantai buvo komplementuojami mutantiniais *bfmR* aleliais, patalpinti po indukuojamu promotoriumi. Svarbūs virulentiškumo fenotipai, tokie, kaip judėjimas, bioplėvelių ir pelikulių formavimas, buvo vertinami keičiant induktoriaus koncentraciją aplinkoje.

Rezultatai

Nustatyta, kad mutantų komplementacija laukinio tipo *bfmR* aleliu (wt) lemė nepriklausomą nuo indukcijos laipsnio bioplėvelių formavimo ant paviršiaus fenotipo atstatymą. Šis alelis taip pat demonstravo tokią pačią tendenciją indukuoti pelikules – kitą bioplėvelių formą, kuri apibūdinama kaip užlašteliniu matriksu padengtų ląstelių sankaupa, laisvai plaukiojanti tarp paviršiuje. Taip pat nustatyta, kad vienas iš mutantinių *bfmR* alelių (D58E) elgėsi, kaip susilpninta *bfmR*(wt) versija – bioplėvelių fenotipas buvo atstatytas tik geną indukavus. Vertinant bioplėvelių fenotipą su išveiklinta *bfmR* geno versija (D58A), parodyta, kad naudotose indukcijos ribose šis variantas nesugebėjo perjungti fenotipo pasikeitimo. Tyrimai taip pat parodė, kad *bfmR*(wt) indukcija lemė visišką judėjimo paviršiumi slopinimą. Tuo tarpu neindukuotas *bfmR*(wt) ir indukuotas *bfmR*(D58E) aleliai šį fenotipą silpnai aktyvino. Mūsų rezultatai rodo, kad *BfmR* tikriausiai lemia ne tik bioplėvelių formavimo indukciją, bet ir tam tikrą jų brendimo laipsnį. Jie taip pat rodo, kad reguliatorius bent iš dalies prisideda prie skirtingų *A. baumannii* fiziologinių procesų. Tolesnis šio reguliatoriaus tyrimas leis geriau suprasti, kaip patogenas funkcionuoja molekuliniam lygmenyje ir kiek svarbi yra *bfmR* koduojamo produkto funkcija *A. baumannii* virulentiškumui.

Parvoviruso B19 kapsidės baltymo VP1 unikalaus regiono vaidmuo dilatacinės kardiomiopatijos patogenezėje

Leva Rinkūnaitė¹, Egidijus Šimoliūnas¹, Virginija Bukelskienė¹, Julijus Bogomolovas^{2,3}

¹ Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biochemijos institutas

² Kalifornijos universiteto San Diego Medicinos mokykla, La Jolla, JAV

³ Heidelbergo universiteto Manheimo medicinos fakultetas, Manheimas, Vokietija

Dilatacinė kardiomiopatija (DKMP) – viena dažniausių neišeminių širdies ligų, pasireiškianti struktūriniais ir funkciniais miokardo pakitimais, kurie lemia širdies veiklos nepakankamumo išsivystymą. Net ir taikant šiuolaikinį gydymą, daugeliui pacientų prireikia širdies transplantacijos, todėl būtina ieškoti naujų diagnostikos, terapijos ir prevencijos metodų, kurie padėtų to išvengti. DKMP gali sukelti įvairūs veiksniai: genų mutacijos, infekciniai susirgimai ir pan., tačiau apie 14 % ligos atvejų vis dar lieka idiopatinės kilmės. Šiuo metu vis didesnis dėmesys skiriamas širdies uždegimui – miokarditui (MK). Klinikiniai tyrimai parodė, kad net 21 % ūminio MK atvejų progresuoja į DKMP [1]. Parvovirusas B19 (PV-B19) – vienas dažniausių MK ir DKMP sergančių pacientų endomiokardo biopsijose randamų virusų. Manoma, kad šis virusas gali sukelti MK, todėl taip gali prisidėti ir prie DKMP vystymosi. Nustatyta, kad šių patologinių procesų pradžiai

užtenka vien PV-B19 kapsidės baltymo VP1 unikalaus regiono (VP1u), kuris gali autonomiškai patekti į PV-B19 specifines ląsteles bei sukelti imuninį organizmo atsaką [2]. Tačiau, tikslus šio antigeno vaidmuo vystantis DKMP išlieka neaiškus. Kol kas yra atlikta tik keletas *in vivo* tyrimų, kurie parodo, kad bandomųjų pelių imunizacija PV-B19 VP1u joms sukelia MK progresuojantį į DKMP [3,4]. Visgi, nei vienas iš šių tyrimų neparodo, kokie miokardo funkcijos ir struktūros pokyčiai vyksta progresuojant šiems širdies pažeidimams. Taigi šiame darbe, panaudojant bandomąsias peles kaip sistemą *in vivo*, ištirtas PV-B19 VP1u regiono vaidmuo vystantis DKMP [5].

Literatūra:

- [1] Pankuweit S., Klingel K. (2013) Viral myocarditis: from experimental models to molecular diagnosis in patients, *Heart Failure*, 18(6):683–702.
- [2] Leisi R. Tommaso C., Kempf C., Ros C. (2016) The Receptor-Binding Domain in the VP1u Region of Parvovirus B19, *Viruses*, 8(3):61.
- [3] Tzang B. S., Lin T. M., Tsai C.C *et al.* (2011) Increased cardiac injury in NZB/W F1 mice received antibody against human parvovirus B19 VP1 unique region protein, *Molecular Immunology*, 48(12–13):1518–1524.
- [4] Nie X., Zhang G., Xu D. (2010) The VP1-unique region of parvovirus B19 induces myocardial injury in mice, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 42(2):121–128.
- [5] Bogomolovas J., Šimoliūnas E., Rinkūnaitė I., Smalinskaitė L., Podkopajev A., Bironaitė D., Weis C. A., Marx A., Bukelskienė V., Gretz N., Grabauskienė V., Labeit D., Labeit S. (2016) A Novel Murine Model of Parvovirus Associated Dilated Cardiomyopathy Induced by Immunization with VP1-Unique Region of Parvovirus B19, *Biomed Research International*. Article Number: 1627184.

Hepatito E virusų kapsidės baltymų antigeninės struktūros tyrimai ir juos atpažįstančių monokloninių antikūnų apibūdinimas

Martynas Simanavičius¹, Paulius Lukas Tamošiūnas¹, Rasa Petraitytė-Burneckienė¹, Reimar Johné², Rainer G. Ulrich^{3,4}, Aurelija Žvirblienė¹ and Indrė Kučinskaitė-Kodžė¹

¹ Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

² Federal Institute for Risk Assessment

³ Friedrich-Loeffler-Institut, Federal Research Institute for Animal Health, Institute of Novel and Emerging Infectious Diseases

⁴ German Center for Infection Research (DZIF)

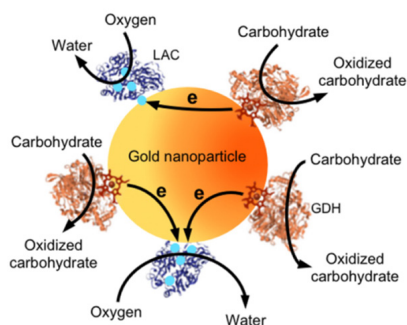
Santrauka: Hepatitas E yra liga būdinga žmogui, kurią sukelia hepatito E virusas (HEV). HEV turi teigiamos orientacijos viengrandės RNR genomą ir yra priskiriamas *Hepeviridae* šeimai. HEV genotipai 1, 2, 3, 4 ir 7 gali infekuoti žmones. Trečias HEV genotipas (HEV-3) yra zoonotinis – gali infekuoti ne tik žmones, bet ir kiaules, šernus, elnius, kt. *Hepeviridae* šeimai priskiriamas į HEV panašus žiurkių HEV identifiкуotas 2010 metais Vokietijoje ir nustatytas daugelyje kitų valstybių. Šio viruso zoonotinis potencialas yra neišaiškintas. Šio tyrimo metu mielėse susintetinti ir apibūdinti HEV-3 ir žiurkių HEV kapsidės baltymai, formuojantys virusus primenančias daleles (VPD). Rekombinantinius HEV kapsidės baltymus atpažino antikūnai susidarę laukinių šernų ir žiurkių kraujyje natūralios HEV infekcijos metu. Panaudojant mielėse susintetintus HEV kapsidės baltymus sukurta 18 pelės monokloninių antikūnų (MAK). Apibūdinus šiuos MAK buvo nustatyta, kad dalis šių antikūnų kryžmiškai reaguoja su HEV-3 ir žiurkių HEV kapsidės baltymais, dalis jų –

reaguoja specifiskai su konkretaus viruso genotipo kapsidės baltymu. Devyni MAK atpažįsta natūralų HEV-3. Gauti rezultatai rodo, kad mielėse susintetintos HEV virusą primenančios dalelės, atkartojančios natūralaus HEV kapsidės struktūrą, ir MAK, reaguojantys su natūraliu virusu, yra potencialūs reagentai naujoms HEV nustatymo ir tyrimo sistemoms.

Redokso fermentų ir nanodalelių sistemos: dirbtiniai nanokatalizatoriai oksiduojantys angliavandenius tiesiogiai molekulinio deguonimi

Dalius Ratautas*, Eimantas Ramonas, prof. Juozas Kulys

Vilniaus Gedimino technikos universiteto Chemijos ir bioinžinerijos katedra



Paveikslas 1. Dirbtinis nanokatalizatorius sudarytas iš gliukozės dehidrogenazės (GDH), lakazės (LAC) ir aukso nanodalelių (10 nm). Elektronai perduodami iš GDH į LAC.

Dirbtinių nanokatalizatorių sintezė ir tobulinimas yra greitai besivystanti nanokatalizės ir nanomedžiagų mokslo sritis. Ypač patrauklūs ir dominantys nanokatalizatoriai yra tie, kuriuos kuriant panaudojami gamtoje randami biokatalizatoriai – fermentai. Nanokatalizatorių kūrimui itin patrauklūs dehidrogenazių klasei priklausantys fermentai, nes jie geba katalizuoti pigių ir dideliais kiekiais gamtoje randamų substratų oksidaciją gaminant didesnės ekonominės vertės produktus: iš laktozės – laktobiono rūgštį, glicerolio – glicerolio rūgštį ir kt. Deja, šių fermentų panaudojimas arba inkorporavimas į pažangias medžiagas pasižyminčias katalizinėmis funkcijomis yra ribotas dėl didelės problemos, kurią galima išreikšti klausimu: kaip atsikratyti elektronais gautais iš substrato jo oksidacijos metu? Šiame darbe pademonstravome šios problemos sprendimą. Sėkmingai sukūrėme unikalų nanokatalizatorių sudarytą iš dviejų redokso fermentų (nespecifinės gliukozės dehidrogenazės ir deguonį redukuojančio fermento – lakazės) ir aukso nanodalelių. Abu fermentai buvo surišti naudojant dideliu elektriniu laidumu pasižyminčias aukso nanodaleles ir buvo pademonstruotas tiesioginis elektrocheminis kontaktas tarp dviejų fermentų: elektronų pernaša vyko iš gliukozės dehidrogenazės redokso centro į lakazės vario centrą. To pasekoje pirmą kartą buvo sukurti dirbtiniai nanokatalizatoriai (~12 nm), kurie katalizavo įvairių angliavandenių oksidaciją tiesiogiai molekulinio deguonimi.

Dalis šio tyrimo rezultatų publikuota:

1. D. Ratautas, E. Ramonas, L. Marcinkevičienė, R. Meškys, J. Kulyš. ChemCatChem, 2018, DOI: 10.1002/cctc.201701738 (Priimtas spausdinti 2017 11 23).
2. D. Ratautas, L. Tetianec, L. Marcinkevičienė, R. Meškys, J. Kulyš. Biosensors and Bioelectronics 98, 2017, 215–221.
3. M. Dagsy, A. Laurynėnas, D. Ratautas, J. Kulyš, R. Vidžiūnaitė, M. Talaiškis, G. Niaura, L. Marcinkevičienė, R. Meškys, S. Shleev. Energy & Environmental Science 10, 2017, 498–502.

Netipinės restrikcijos endonukleazės CgII H-baltymo kristalinimas

Donata Tuminauskaitė, Giedrė Tamulaitienė

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

Restrikcijos-modifikacijos (RM) sistemos – prokariotų apsaugos būdas nuo svetimų genetinės medžiagos. RM sistemoms būdingi du fermentiniai aktyvumai – endonukleazinis ir metiltransferazinis. Endonukleaziniu aktyvumu pasižymi restrikcijos endonukleazė, atpažįstanti trumpas (4-8 bp) DNR sekas ir perkerpanti dgDNR. Metiltransferazės metilina atitinkamas atpažinimo sekas ir metilinimo žymė leidžia atskirti savą DNR nuo svetimų. CgII RM sistema iš *Corynebacterium glutamicum* yra stresui jautri netipinė RM sistema, sudaryta iš trijų polipeptidų: DNR metiltransferazės, endonukleaziniu aktyvumu pasižyminčio R-baltymo ir DEAD šeimos helikazės/ATPazės (H-baltymo). Veikli CgII RM sistemos restrikcijos endonukleazė yra H ir R baltymų formuojamas kompleksas R_2H_2 . Mūsų skyriuje buvo nustatyta homologiškos RM sistemos R-baltymo kristalinė struktūra, tačiau H-baltymo tretinė struktūra ir tikslus komplekso veikimo principas dar nėra žinomi. Šio darbo metu buvo išsikeltas tikslas gauti rentgenostruktūrinei analizei tinkamus H.CgII baltymo kristalus. Wt H.CgII kristalų, difraguojančių rentgeno spindulius aukšta skiriamąja geba, gauti nepavyko. Optimizuojant kristalizacijos sąlygas, buvo atlikta H.CgII paviršinių aminorūgščių mutagenėzė. Buvo gauti trijų mutantinių H.CgII baltymų kristalai, kurie buvo tiriami rentgenostruktūrinės analizės metodu. Taip pat buvo įvertinti H-baltymo mutantų R_2H_2 kompleksų ATPazinis ir nukleazinis aktyvumai. Nustatyta, kad H.CgII paviršinių aminorūgščių mutantų formuojamų kompleksų tiek ATPazinis, tiek nukleazinis aktyvumai yra mažesni nei wt baltymo. Manome, kad šios paviršinės aminorūgštys gali būti svarbios H-baltymo dimerizacijai arba sąveikai su R-baltymu.

Baltymų erdvinės struktūros modelių analizė ir vertinimas naudojant tarpatominių kontaktų plotus

Kliment Olechnovič, Česlovas Venclovas

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

Norint visapusiškai suprasti kaip veikia baltymai, būtina žinoti jų erdvinę struktūrą. Baltymų struktūrų sprendimas eksperimentiniais metodais dažnai nepavyksta, todėl struktūrų modeliavimui gyvybės mokslai pasitelkia bioinformatikos metodus. Baltymų erdvinės struktūrų nusakymas pagal jų sekas toli gražu nėra išspręsta problema, tačiau kai kurie sukurti metodai jau yra efektyviai taikomi praktikoje. Dauguma šiuolaikinių struktūros nusakymo metodų veikia dviem etapais: 1) sugeneruojama aibė modelių-kandidatų; 2) išrenkamas geriausias modelis.

Pristatomas metodas, VoronMQA (angl. "Voronoi tessellation-based Model Quality Assessment"), yra skirtas baltymų struktūrų modelių kokybei vertinti nežinant atitinkamos eksperimentiškai nustatytos struktūros. VoronMQA remiasi empirinio statistinio potencialo idėja, bet jame, užuot tradiciškai naudojant atstumus tarp atomų, yra naudojami Voronojaus diagramos pagrindu sukonstruotų tarpatominių kontaktų paviršių plotai. VoronMQA galima naudoti ne tik pasirenkant geriausią modelį, bet ir modelį priskiriant realistiškų ar nerealistiškų struktūrų klasei. VoronMQA lokalūs įverčiai gali būti naudojami patikimiems regionams modelio struktūroje išskirti. VoronMQA pagrindu sukurtas modelių parinkimo protokolas buvo akluoju būdu ištestuotas per 2016 metų CASP12 eksperimentą (12th Community Wide Experiment on the Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction): pasiekti aukšti rezultatai, kurių nepralenkė kiti modelių atranka pagrįsti metodai. VoronMQA taip pat atliko svarbų vaidmenį pasiekiant geriausius rezultatus baltymų kompleksų struktūrų modeliavimo eksperimente CAPRI 2016 metais.

Archėjų RNR metiltransferazinio C/D RNP komplekso tyrimai ir taikymai

Miglė Tomkuvienė¹, Janina Ličytė¹, Ingrida Olendraitė^{1,2}, Béatrice Clouet-d'Orval³, and Saulius Klimašauskas¹

¹ Vilniaus Universitetas, Gyvybės mokslų centras, Biotechnologijos institutas, Vilnius, Lietuva

² Division of Virology, Department of Pathology, University of Cambridge, Kembridžas, Jungtinė Karalystė

³ Université de Toulouse, CNRS, Le Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaires, Tulūza, Prancūzija

Ribozės 2'-O-metilimas yra universalus ir kritiškai svarbus RNR modifikacija, sutinkama visuose trijuose gyvybės domenuose bei ypatingai gausi rRNR ir tRNR molekulėse. Eukariotuose ir archėjose šią RNR modifikaciją dažniausiai katalizuoja vadinamieji C/D ribonukleoproteininiai (RNP) kompleksai. Archėjose jie sudaryti iš fibrilarino (aFib) – nuo S-adenozilmetionino (SAM) priklausomos RNR metiltransferazės, ir struktūrinių Nop5 bei L7Ae baltymų. Taip pat komplekse būtina C/D kreipiančioji RNR. Panašiai kaip plačiai žinomos CRISPR sistemose, C/D RNP komplekso specifiskumas ir konkretus metilinimo taikinio pasirinkimas yra apsprendžiamas komplementarumo sąveikos (10-12 bp) tarp kreipiančiosios ir substratinės RNR. Pakeitus kreipiančiąją seką, komplekso aktyvumas gali būti nukreiptas į atitinkamai kitą RNR taikinį. Mes parodėme, kad C/D RNP iš *Pyrococcus abyssi* gali vietoje SAM naudoti sintetinį kofaktorių AdoSeYn ir pernešti nuo jo reaktyvią propinilgrupę, kuri, savo ruožtu, gali būti panaudojama kovalentiniam reporterinių molekulių prikabinimui. Taip sukūrėme molekulinį įrankį programuojamam sekai-specifiniam RNR žymėjimui (1). Šių tyrimų metu taip pat pastebėjome, kad *Pyrococcus abyssi* aFib-Nop5 heterodimeras gali 2'-O-metilinti 16S ir 23S ribosominę RNR *in vitro* nepriklausomai nuo L7Ae ir C/D kreipiančiosios RNR, bei nustatėme konkrečius šio aktyvumo taikinius 16S ribosominėje RNR. Pasirodė, kad šie nukleotidai yra išsidėstę centrinėje ribosomos mažojo subvieneto ašyje, arba netoli jos. Darome išvadą, kad šis naujai atrastas nuo RNR nepriklausomas aFib-Nop5 aktyvumas yra reliktinis ir buvęs svarbus prieš šiems baltymams

įsitraukiant į C/D RNP veiklą. Šie rezultatai suteikė žinių apie sudėtingų fermentinių kompleksų susidarymą evoliucijos eigoje (2).

1. Tomkuvienė, M., Clouet-d'Orval, B., Černiauskas, I., Weinhold, E., Klimašauskas, S. (2012) Programmable sequence-specific click-labeling of RNA using archaeal box C/D RNP methyltransferases. *Nucleic Acids Res.* 40(14):6765–73.
2. Tomkuvienė M., Ličytė J., Olendraitė I., Liutkevičiūtė Z., Clouet-d'Orval B., and Klimašauskas S. (2017) Archaeal Fibrillarin-Nop5 heterodimer 2'-O-methylates rRNA independently of the C/D guide RNP particle. *RNA.* 2017. 23(9):1329–1337.

Naujų CRISPR-Cas9 baltymų PAM sekos charakterizavimas

Greta Bigelytė, Arūnas Šilanskas, Tautvydas Karvelis, Giedrius Gasiūnas

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

Vienas pagrindinių šių dienų gyvybės mokslų iššūkių – efektyvus, tikslus ir greitas genomų redagavimas. Sukurtų sekoskaitos metodų pagalba galima nustatyti geno seką vos per kelias dienas, tačiau norint nustatytoms sekoms priskirti atliekamą funkciją reikalingi tikslūs geno redagavimo įrankiai. Pastaraisiais metais, vienas iš plačiausiai pritaikytų ir perspektyviausių įrankių tapo Cas9 nukleazė. Cas9 yra pagrindinis II tipo CRISPR-Cas (angl.k. clustered regularly interspaced short palindromic repeats-CRISPR associated) sistemų baltymas, reikalingas bakterijų atsparumo užtikrinimui prieš svetimą nukleorūgštį. Cas9 kompleksas, panaudodamas nukreipiančiąją RNR molekulę DNR taikinio atpažinimui, veikia kaip DNR endonukleazė, specifinėje vietoje kerpanti taikinio seką. Teoriškai toks kompleksas, keičiant RNR seką, gali būti nukreiptas į bet kurį DNR taikinį, tačiau Cas9 baltymo specifiskai atpažįstama papildoma PAM (angl. k. protospacer adjacent motif) seka riboja taikinio pasirinkimo galimybes. Viena iš galimų strategijų išspręsti šią problemą yra naujų Cas9 baltymų paremtų įrankių, atpažįstančių skirtingas PAM sekas paieška ir charakterizavimas. Šiam tikslui pasiekti būtinas greitas ir tikslus Cas9 atpažįstamų PAM sekų nustatymo metodas. Šio darbo metu buvo kuriamas bei optimizuojamas universalus PAM nustatymo metodas, leidęs charakterizuoti naujus ortologinius Cas9 baltymus, pasižyminčius unikaliomis atpažįstamos PAM sekos savybėmis.

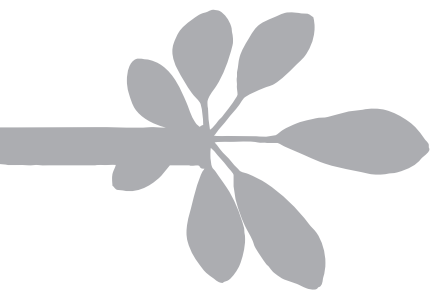
Ciklinių oligoadenilatų signalinis kelias

Miglė Kazlauskienė, Georgij Kostiuik, Česlovas Venclovas, Gintautas Tamulaitis, Virginijus Šikšnys

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

CRISPR-Cas sistemos apsaugo prokariotus nuo virusų ir kitų svetimų nukleorūgščių. Ši apsauga yra sekai specifinė ir adaptyvi. Taikinius atpažįsta crRNR molekulės, nukreipiančius efektorinio komplekso baltymus į reikiamą vietą. Yra žinoma, kad I, II ir V tipo efektoriniai kompleksai (atitinkamai Cascade, Cas9-RNR ir Cpf1-RNR) kerpa svetimą DNR, o III ir VI tipo kompleksai (Csm/Cmr ir Cas13) degradouoja svetimą RNR. Be to, taikinio RNR skatina III tipo kompleksus degraduoti DNR. Tačiau *in vivo* eksperimentai rodo, kad apsaugoje svarbų vaidmenį turi ir Csm/Cmr komplekso Cas10 subvieneto GGDD motyvas bei į komplekso sudėtį neįeinantis Csm6 baltymas, kurių funkcijos nebuvo aiškios.

Mes siekėme išsiaiškinti GGDD motyvo ir Csm6 baltymo vaidmenį III-A tipo CRISPR-Cas sistemos iš *Streptococcus thermophilus* apsaugoje nuo svetimų nukleorūgščių. Atradome, kad taikinio RNR skatina šį Csm kompleksą sintetinti ciklinius oligoadenilatus iš ATP. Parodėme, kad tam reikalingas GGDD aktyvusis centras, ir išsiaiškinome šios reakcijos mechanizmą. Be to, nustatėme, kad cikliniai oligoadenilatai aktyvuoja Csm6 nespecifiškai karpyti RNR. Kartu Csm kompleksas ir Csm6 sudaro signalinį kelią, kuriame svetima RNR aktyvuoja ciklinių oligoadenilatų sintezę, kurie tarnauja kaip signalinė molekulė Csm6 nukleazei. Tokiu būdu papildėme biologijos žinias nauja nukleotidine signaline molekule.



10