

III Международный симпозиум

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ
РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ**

Школа молодых учёных

**РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА
В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ**

Екатеринбург, 22–28 августа 2021



The III International Symposium

**MOLECULAR ASPECTS
OF PLANT REDOX METABOLISM**

The School for Young Scientists

**THE ROLE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES
IN PLANT LIFE**

Ekaterinburg, 22–28 August 2021

УДК 577.112

COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT STRATEGIES OF LIMITED PROTEOLYSIS FOR REDOX PROTEOME INVESTIGATION

Danko K.V.^{1*}, Lukasheva E.M.¹, Zgoda V.G.², Frolov A.A.^{1,3}

¹Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

²Orehovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

³Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle/Saale, Germany

*E-mail: danko_katerina@mail.ru

Keywords: bioinformatics, detergent, LC-MS/MS, mass-spectrometry, proteomics.

Biotic and abiotic stress conditions lead to production of reactive oxygen species (ROS) which readily oxidize DNA, proteins, lipids and resulting in development of oxidative stress damage. Redox proteomics aims characterization of oxidative post-translational modifications of proteins, i.e. assignment of alterations in their structure, functional activities and specific roles in regulatory and/or signaling pathways after interaction with ROS. Typically, redox proteomics relies on the bottom-up shotgun LC-MS-based approach as the main technology platform. However, it needs to be taken into account that the success of this technique is strongly dependent from the completeness of enzymatic digestion at the step of sample preparation. This is, however, a challenging task, as, from one hand, detergents and haotropic agents are necessary for efficient digestion, from another – their supplementation dramatically affects separation and detection of peptides. Therefore, multiple solutions, like the usage of degradable detergents or their post-sample preparation removal can be applied to overcome this limitation [1]. However, despite the large number of protocols and commercialized products, their comparative efficiency for a broad range of biological matrices is mostly unknown. Thus, in this study we provide a comprehensive comparison of diverse sample preparation protocols in terms of their efficiency for different sample types and applicability for the study of post-translational modifications.

For this, two plant objects were chosen for the research including green shoots of *Arabidopsis thaliana* and seeds of *Pisum sativum*. Our choice was explained by the several reasons: 1) proteomes of these plants are well characterized; 2) RuBisCo (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase) and storage proteins (legumin, vicilin and convicilin) are two prevalent protein fractions in *A. thaliana* and *P. sativum*, respectively. Thus, the effectiveness of the protocol of limited proteolysis may be estimated by the number of identified minor protein fractions. These plant derived matrices were compared with animal objects including HEK 293 (Human Embryonic Kidney 293) cell line, human blood plasma and brain tissues of *Danio rerio*.

For this, we compare altogether six protocols covering several sample preparation strategies. The first group was represented with FASP (filter aided sample preparation) protocol in which SDS (sodium dodecyl sulfate) detergent is replaced by urea that is compatible with mass-spectrometry. The second approach assumed the usage of acid-labile surfactants, which degrade at low pH (PPS-Silent, Protease-MAX, AALSII). Finally, the third strategy relied on the detergents yielding insoluble precipitates under low pH values (sodium deoxycholate and RapiGest). Supplementation of urea was used as a reference protocol. The proteolytic peptides were analyzed by nanoLC-MS/MS (Liquid chromatography–mass spectrometry) using Orbitrap Q-exactive. Based on the results of bioinformatics analysis of the LC-MS data, the most efficient (in the sense of sequence coverage and PTM recovery) proteomics sample preparation protocol will be chosen for the future works on plant redox proteome.

This work is supported by the Russian Foundation for Basic Research 20-54-00044.

References

1. Smolikova G., Gorbach D., Lukasheva E., *et al.* // Int J Mol Sci. 2020. 21(23), 9162.

НАУЧНАЯ ПРОГРАММА
III Международного симпозиума
«Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и
Школы молодых учёных
«Роль активных форм кислорода в жизни растений»

Место проведения симпозиума: г. Екатеринбург, ул. Куйбышева, 48
(Институт естественных наук и математики Уральского федерального университета)

Дата: 22.08.2021 (воскресенье)

Приезд участников в Екатеринбург. Заселение в гостиницы города

Дата: 23.08.2021 (понедельник)

Название секций:

1. Образование и детоксикация активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА)
2. Окислительные модификации макромолекул
3. Редокс-метаболизм и стресс
4. Физиологическая роль редокс-регуляторов в растениях

Время	Мероприятие <i>(Актный зал, 7 этаж, ауд. 700)</i>	ФИО докладчика, название доклада
09:00–13:00	Регистрация участников Симпозиума и Школы молодых учёных <i>(в центральном холле 7 этажа, рядом с ауд. 700)</i> Развешивание стендов на стойки <i>(коридор на 4 этаже, рядом с ауд. 460)</i>	
10:00–11:00	Открытие Симпозиума и Школы молодых учёных Председатель Киселева И.С.	Выступление членов программного и организационного комитетов: 1. Приветственное выступление директора ИЕНиМ Рогожина С.А. (Екатеринбург, Россия) 2. Киселева И.С. (Екатеринбург, Россия) Урал индустриальный: как выживают растения (пленарный доклад) 3. Минибаева Ф.В. (Казань, Россия) Краткий экскурс по Редокс-симпозиумам Казань/Уфа/Екатеринбург
11:00–12:20	Пленарные доклады (30 мин)	1. Демидчик В.В. (Минск, Республика Беларусь) L-аскорбиновая кислота как сигнальный и регуляторный агент у высших растений 2. Beckett R.P. (University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa) Photoprotection and signalling in lichens
12:20–14:00	Обед	Кафе Патриот (организованное питание, талоны при регистрации и перед обедом)
14:00–15:20	Пленарные доклады (продолжение)	1. Strzałka K. (Jagiellonian University, Krakow, Poland) Role of plastid-derived prenyllipids in oxidative stress in plants (<i>Online</i>)

	Председатели Beckett R.P., Минибаева Ф.В.	2. Gruszecki W.I. (Maria Curie-Sklodowska University, Lublin, Poland) Photoprotective strategies of a chloroplast (<i>Online</i>)
15:20–16:00	Устные доклады (10 мин)	1. Козулева М.А. (Пушино, Россия) Генерация супероксидного радикала в тилакоидах: фотосистема I, пул пластохинона, цитохромный b6f комплекс? 2. Миронов К.С. (Москва, Россия) Редокс регуляция экспрессии генов у цианобактерий
16:00–16:15	Кофе-брейк	В центральном холле перед актовым залом
16:15–17:15	Устные доклады участников Школы молодых ученых (10 мин) Председатель Емельянов В.В.	1. Горина С.С. (Казань, Россия) Cytochromes CYP74 and catalases involved in the biosynthesis of oxylipins 2. Вильянен Д.В. (Пушино, Россия) Окисление пула пластохинона в условиях образования супероксидного анион-радикала компонентами фотосистемы I высших растений 3. Мазина А.В. (Казань, Россия) Спермин-индуцированная аутофагия в корнях <i>Triticum aestivum</i> 4. Шумилина Ю.С. (Санкт-Петербург, Россия) Посттрансляционные модификации белков плазматической мембраны продуктами перекисного окисления липидов как эффект влияния засухи на <i>Brassica napus</i>
17:15–17:30	Доклад представителя Золотого спонсора ООО «Хеликон» (10 мин)	Колобов А.А. (Москва, Россия) Применение микропланшетного скрининга для оценки клеточного редокс потенциала
17:30–18:00	Флэш-презентации (5 мин)	1. Малева М.Г. (Екатеринбург, Россия) Содержание фенольных соединений в листьях орхидеи <i>Platanthera bifolia</i> из естественной и трансформированных экосистем на разных стадиях развития 2. Горбач Д.П. (Санкт-Петербург, Россия) Proteome changes accompanying the development of oxidative stress in <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>in vivo</i> 3. Климова В.Н. (Екатеринбург, Россия) Прооксидантные и антиоксидантные реакции <i>Pinus sylvestris</i> L. на зольных субстратах 4. Леонова Т.С. (Санкт-Петербург, Россия) Effects of short-term drought on metabolism and nutritional properties of pea (<i>Pisum sativum</i> L.) seeds

		5. Сундырева М.А. (Краснодар, Россия) Влияние прайминга микроорганизмами на окислительные процессы и антиоксидантные реакции у винограда при заражении милдью (<i>Online</i>) 6. Канвугу О.Н. (Екатеринбург, Россия) Production of carotenoids in algae and higher plants: An oxidative stress response mechanism (<i>Online</i>)
18:00–18:30	Общая фотография	Рядом со сценой в зале
18:30–21:00	Приветственный вечер (фуршет)	В центральном холле перед актовым залом

Дата: 24.08.2021 (вторник)

Время	Мероприятие (Ауд. 460)	ФИО докладчика, название доклада
09:00–13:00	Регистрация участников Симпозиума и Школы молодых учёных	В коридоре перед ауд. 460
09:00–11:00	Пленарные доклады (30 мин) Председатель Демидчик В.В.	1. Фролов А.А. (Санкт-Петербург, Россия) Гликоокислительные модификации растительных белков: новая глава в белковой редокс-химии растений – механизмы и возможные физиологические эффекты 2. Емельянов В.В. (Санкт-Петербург, Россия) Окислительный стресс в растениях при действии дефицита кислорода и последующей реэрации 3. Максимов И.В. (Уфа, Россия) Активные формы кислорода в защите растений от биотического стресса
11:00–11:20	Кофе-брейк / Стендовая сессия	Ауд. 462/Коридор перед ауд. 462 и 460
11:20–13:00	Устные доклады (15 мин) Председатель Гарипова С.В.	1. Билова Т.Е. (Санкт-Петербург, Россия) Анализ возрастных изменений протеома корневых клубеньков бобовых растений: Интегрированный мультиомиксный подход 2. Лукашева Е.М. (Санкт-Петербург, Россия) Редокс-протеом различных функциональных зон таллусов <i>Fucus vesiculosus</i> 3. Терехова Е.Н. (Петрозаводск, Россия) Активность каталазы и супероксиддисмутазы в талломах цианолишайника <i>Peltigera praetextata</i> на разных стадиях онтогенеза (<i>Online</i>)

		<p>4. Гарипова С.В. (Уфа, Россия) Пролин и МДА в инокулированных растениях фасоли как маркер эффективности симбиоза с эндофитными бактериями</p> <p>5. Rajkumar M. (Bharathiar University, Coimbatore, India) Effect of plant growth-promoting bacteria on <i>Zea mays</i> growth, photosynthetic and antioxidant response in chromium contaminated soils under drought stress (<i>Online</i>)</p>
13:00–14:00	Обед	Кафе Патриот (организованное питание)
14:00–15:15	<p>Устные доклады участников Школы молодых ученых (10 мин)</p> <p>Председатель Шибытко Н.Л.</p>	<p>1. Onele A.O. (Казань, Россия) Class III peroxidase genes in the moss <i>Dicranum scoparium</i>: Identification and analysis of expression in response to abiotic stresses</p> <p>2. Зюбанова Т.И. (Томск, Россия) Влияние бактериализации семян пшеницы <i>Pseudomonas extremorientalis</i> PhS1 на активность пероксидаз в моделируемых условиях пониженных температур</p> <p>3. Тугбаева А.С. (Екатеринбург, Россия) Активность апопластных и цитозольных пероксидаз в условиях последействия ионов меди в растениях <i>Nicotiana tabacum</i></p> <p>4. Блинова А.А. (Благовещенск, Россия) Активность супероксиддисмутазы семян сои при грибковом заболевании <i>Cercospora sojina</i> hara (<i>Online</i>)</p> <p>5. Любушкина И.В. (Иркутск, Россия) Высокие температуры вызывают образование АФК и нарушения дыхания в клетках суспензионной культуры <i>Saccharum officinarum</i> (<i>Online</i>)</p>
15:15–15:30	<p>Доклад представителя Золотого спонсора ООО «Хеликон» (10 мин)</p>	Худолеева О.А. (Москва, Россия) Исследование активных форм кислорода и анализ окислительного стресса методом проточной цитометрии
15:30–16:00	Флэш-презентации (5 мин)	<p>1. Соболева А.В. (Санкт-Петербург, Россия) Probing of drought-related changes in carbonyl metabolome of pea root nodules</p> <p>2. Масленников П.В. (Калининград, Россия) Редокс-изменения в коре различных видов деревьев при поражении омелой белой (<i>Viscum album</i> L.)</p> <p>3. Darkazanli M. (Екатеринбург, Россия) Endophytic bacteria (<i>Bacillus subtilis</i> and</p>

		<p><i>Methylobacterium sp.</i>) and their possible role in barley</p> <p>4. Бурейко К.М. (Санкт-Петербург, Россия) Integrated metabolomics and proteomics approach for analysis of desiccation tolerance in moss (<i>Dicranum scoparium</i>) (<i>Online</i>)</p> <p>5. Веселова С.В. (Уфа, Россия) Necrotrophic effectors SnTox of <i>Stagonospora nodorum</i> (Berk.) manipulate the redox metabolism of the host plant to hijack its defense pathways (<i>Online</i>)</p> <p>6. Богданова Е.С. (Тольятти, Россия) Особенности взаимосвязи редокс-метаболизма и структуры растений кальцефитов (<i>Online</i>)</p>
16:00–16:20	Кофе-брейк / Стендовая сессия	Ауд. 462/Коридор перед ауд. 462
16:20–16:30	Сбор на обзорную экскурсию (возле выхода из УрФУ)	
16:30–19:00	Обзорная экскурсия по Екатеринбургу (выезд на автобусе от главного входа)	

Дата: 25.08.2021 (среда)

Время	Мероприятие (Ауд. 460)	ФИО докладчика, название доклада
09:00–10:20	Пленарные доклады (30 мин) Председатель Максимов И.В.	1. Минибаева Ф.В. (Казань, Россия) Меланины: темная сторона редокс-метаболизма 2. Мошков И.Е. (Москва, Россия) Этилен: маленькая молекула – большие вопросы
10:20–11:00	Устные доклады (15 мин)	1. Пшибытко Н.Л. (Минск, Республика Беларусь) Редокс-состояние переносчиков электронов в хлоропластах при тепловом стрессе 2. Гармаш Е.В. (Сыктывкар, Россия) Роль альтернативной оксидазы в регуляции энергетического и редокс-баланса растений (<i>Online</i>)
11:00–11:20	Кофе-брейк / Стендовая сессия	Ауд. 462/Коридор перед ауд. 462
11:20–13:00	Устные доклады (15 мин) Председатель Фролов А.А.	1. Шишова М.Ф. (Санкт-Петербург, Россия) Окисление ауксина при нарушении рецепции (<i>Online</i>) 2. Сорокань А.В. (Уфа, Россия) Активные формы кислорода во взаимодействии растений картофеля с эндофитными микроорганизмами рода <i>Bacillus</i> 3. Ермошин А.А. (Екатеринбург, Россия) Влияние полярности растворителя на <i>in vitro</i> антиоксидантную активность экстрактов некоторых видов базидиомицетов

		<p>4. Федураев П.В. (Калининград, Россия) Субстратное стимулирование PAL, как подход к интенсификации накопления фенольных антиоксидантов в растениях <i>Triticum aestivum</i></p> <p>5. Жигачева И.В. (Москва, Россия) Функциональное состояние митохондрий проростков гороха в условиях недостаточного увлажнения и обработки тетранитрозильным комплексом железа с тиосульфатными лигандами (<i>Online</i>)</p>
13:00–14:00	Обед	Кафе Патриот (организованное питание)
14:00–15:30	<p>Устные доклады Школы молодых ученых (10 мин) Председатель Билова Т.Е.</p>	<p>1. Лексин И.Ю. (Казань, Россия) УФ индуцированный синтез меланина в лишайнике <i>Lobaria pulmonaria</i>: идентификация ключевых генов и транскриптомный анализ</p> <p>2. Рассабина А.Е. (Казань, Россия) Физико-химические свойства и биологическая активность меланина лишайника <i>Leptogium furfuraceum</i></p> <p>3. Мшенская Н.С. (Н. Новгород, Россия) Влияние электромагнитных полей шумановского диапазона на компоненты редокс-метаболизма растений пшеницы и гороха</p> <p>4. Tripti (Екатеринбург, Россия) Redox-reactions of sunflower inoculated with plant growth promoting endophyte <i>Pseudomonas lurida</i> strain EOO26 under copper and nickel stress</p> <p>5. Ширяев Г.И. (Екатеринбург, Россия) Редокс-реакции <i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L. в условиях техногенной нагрузки</p> <p>6. Шелякин М.А. (Сыктывкар, Россия) Влияние УФ-В радиации на функциональное состояние и компоненты антиоксидантной системы лишайников <i>Peltigera aphthosa</i> и <i>Peltigera rufescens</i> (<i>Online</i>)</p>
15:30–15:40	Доклад представителя Бронзового спонсора ООО «Диаэм»	Тазетдинова Р.Ф. (Москва, Россия) (<i>ауд. 460</i>)
15:40–15:50	Флэш-презентации (5 мин)	<p>1. Яруллина Л.Г. (Уфа, Россия) Редокс-опосредованное изменение протеома листьев картофеля при обработке бактериями рода <i>Bacillus</i> и иммуномодуляторами в стрессовых условиях (<i>Online</i>)</p> <p>2. Шималина Н.С. (Екатеринбург, Россия) Сравнительная оценка про- и антиоксидантного</p>

		статуса семенного потомства <i>Plantago major</i> L. из зон радиоактивного и химического загрязнения (<i>Online</i>)
15:50–16:30	Стендовая сессия. Конкурс стендовых докладов	Работа конкурсной комиссии. Коридор 4 этажа рядом с ауд. 462
16:15–16:30	Кофе-брейк / Стендовая сессия	Одновременно со стендовой сессией, ауд. 462.
16:30–16:40	Сбор на экскурсию на выходе из УрФУ	
16:40–19:00	Экскурсия в Музейно-выставочный комплекс Уральского федерального университета (главный корпус УрФУ, Мира, 19, выезд на автобусе от главного входа)	

Дата: 26.08.2021 (четверг)

Время	Мероприятие
08:00–21:00	«Полевой» выезд (экскурсионная программа на весь день)

Дата: 27.08.2021 (пятница)

Время	Мероприятие	ФИО докладчика, название доклада
09:00–10:30	Мастер-класс (ауд. 464–465)	Колобов А.А. (ООО «Хеликон», Москва, Россия) Мультимодальные планшетные ридеры: Технические особенности и Практические применения
10:30–11:00	Устные доклады Школы молодых ученых (10 мин) (ауд. 460) Председатель Мошков И.Е.	1. Кузнецова В.А. (Санкт-Петербург, Россия) Способность проантоцианидинов повышать устойчивость растений сои к биотическому стрессу (<i>Online</i>) 2. Силина Е.В. (Сыктывкар, Россия) Влияние условий обитания на активность ферментов и содержание метаболитов аскорбат-глутатионового цикла в листьях <i>Plantago media</i> (<i>Online</i>)
11:00–11:20	Кофе-брейк	Ауд. 462
11:20–13:00	Лекция (ауд. 460 и до закрытия)	Фролов А.А. (Санкт-Петербург, Россия) Введение в протеомику и метаболомику растений
13:00–14:00	Обед	Кафе Патриот (организованное питание)
14:00–16:00	Устные доклады (15 мин) Председатель Козулева М.А.	1. Осмоловская Н.Г. (Санкт-Петербург, Россия) Редокс модификации метаболизма органических кислот в ответах растений на стрессовое действие Zn и Cd (<i>Online</i>)

		2. Hanaka A. (Maria Curie-Sklodowska University, Lublin, Poland) Physiological response and the antioxidant status of <i>Phaseolus coccineus</i> under bacterial strain and exogenous copper (<i>Online</i>) 3. Холопцева Е.С. (Петрозаводск, Россия) Участие фотодыхания в адаптации проростков пшеницы к низкой температуре (<i>Online</i>)
16:00–16:20	Кофе-брейк	Ауд. 462
16:20–17:00	Закрытие Симпозиума и Школы	Награждение победителей конкурса молодых ученых
19:00–00:00	Заключительный банкет	Кафе «Калачи» (Красноармейская, 8), 20 мин от здания УрФУ

Дата: 28.08.2021 (суббота)

Отъезд участников симпозиума из Екатеринбурга

**СПИСОК СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ С НОМЕРАМИ
(включая дополнительные к флэш-презентациям):**

Номер	ФИО докладчика	Название доклада
С-1	Безрукова М. В. (Уфа, Россия)	Роль регуляции редокс-метаболизма в формировании засухоустойчивости сортов пшеницы с различной чувствительностью к обезвоживанию
Ф-1	Богданова Е. С. (Тольятти, Россия)	Особенности взаимосвязи редокс-метаболизма и структуры растений кальцефитов
Ф-2	Веселова С. В. (Уфа, Россия)	Necrotrophic effectors SnTox of <i>Stagonospora nodorum</i> (Berk.) manipulate the redox metabolism of the host plant to hijack its defense pathways
Ф-3	Горбач Д. П. (Санкт-Петербург, Россия)	Proteome changes accompanying the development of oxidative stress in <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>in vivo</i>
Ш-1	Гудилина А. С. (Екатеринбург, Россия)	Активность цитозольных и апопластных пероксидаз в проростках цинии при засолении
Ш-2	Данько К. В. (Санкт-Петербург, Россия)	Comparison of the effectiveness of different strategies of limited proteolysis for redox proteome investigation
Ф-4	Канвугу О. Н. (Екатеринбург, Россия)	Production of carotenoids in algae and higher plants: An oxidative stress response mechanism
Ш-3	Kysil E. V. (Halle, Germany)	Antioxidant properties of phenolics isolated from green parts of <i>Geum rivale</i>
Ф-5	Климова В. Н. (Екатеринбург, Россия)	Прооксидантные и антиоксидантные реакции <i>Pinus sylvestris</i> L. на зольных субстратах

Ф-6	Леонова Т. С. (Санкт-Петербург, Россия)	Effects of short-term drought on metabolism and nutritional properties of pea (<i>Pisum sativum</i> L.) seeds
Ф-7	Масленников П. В. (Калининград, Россия)	Редокс-изменения в коре различных видов деревьев при поражении омелой белой (<i>Viscum album</i> L.)
Ф-8	Соболева А. В. (Санкт-Петербург, Россия)	Probing of drought-related changes in carbonyl metabolome of pea root nodules
С-2	Фролова Н. В. (Санкт-Петербург, Россия)	Study of the glycation potential of sugars in an <i>in vitro</i> model system
Ш-4	Черевацкая М. А. (Санкт-Петербург, Россия)	Биохимическая характеристика потери устойчивости к обезвоживанию у прорастающих семян
Ф-9	Малева М. Г. (Екатеринбург, Россия)	Содержание фенольных соединений в листьях орхидеи <i>Platanthera bifolia</i> из естественной и трансформированных экосистем на разных стадиях развития
Ф-10	Шималина Н. С. (Екатеринбург, Россия)	Сравнительная оценка про- и антиоксидантного статуса семенного потомства <i>Plantago major</i> L. из зон радиоактивного и химического загрязнения
Ф-11	Бурейко К. М. (Санкт-Петербург, Россия)	Integrated metabolomics and proteomics approach for analysis of desiccation tolerance in moss (<i>Dicranum scoparium</i>)
Ф-12	Яруллина Л. Г. (Уфа, Россия)	Редокс-опосредованное изменение протеома листьев картофеля при обработке бактериями рода <i>Bacillus</i> и иммуномодуляторами в стрессовых условиях
Ш-5	Darkazanli M. (Екатеринбург, Россия)	The effect of cadmium toxicity in saline soil on the growth and photosynthetic pigments of spinach
С-3	Батова Ю. В. (Петрозаводск, Россия)	Влияние недостатка и избытка цинка на экспрессию гена <i>HvCAT2</i> , активность каталазы и окислительные процессы у ячменя
С-4	Холопцева Е.С. (Петрозаводск, Россия)	Участие фотодыхания в адаптации проростков пшеницы к низкой температуре