



**МИКРОБНЫЕ
БИОТЕХНОЛОГИИ:
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ**

том 17

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт микробиологии
ОБЩЕСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
«МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

МИКРОБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

*Сборник научных трудов
Основан в 2007 году*

том 17

Минск
«Беларуская навука»
2025

В сборнике представлены обзорные и экспериментальные статьи в области физиологии, биохимии и генетики микроорганизмов; генно-инженерного конструирования штаммов-продуцентов биологически активных соединений; разработку конкурентоспособных микробных технологий для сельского хозяйства, медицины, промышленности, охраны окружающей среды и их практического применения.

Издание представляет интерес для ученых-микробиологов, биотехнологов, биохимиков, работников биотехнологической промышленности и агропромышленного комплекса, студентов профильных высших учебных заведений.

Редакционная коллегия:

- член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук,
профессор *А. И. Зинченко* (главный редактор),
академик НАН Беларуси, доктор биологических наук,
профессор *А. Г. Лобанок* (заместитель главного редактора),
академик НАН Беларуси, доктор сельскохозяйственных наук,
профессор *И. М. Богдевич*,
академик НАН Беларуси, доктор сельскохозяйственных наук,
профессор *И. П. Шейко*,
академик РАН, доктор биологических наук, профессор *И. Б. Ившина*,
академик НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор *Э. И. Коломиец*,
член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук,
профессор *Е. И. Слобожанкина*,
доктор биологических наук, профессор *З. М. Алещенкова*,
доктор биологических наук *И. А. Архипченко*,
доктор биологических наук *А. А. Леонтьевский*,
доктор биологических наук, профессор *М. А. Титок*,
доктор химических наук, доцент *Н. М. Литвинко*,
доктор биологических наук, профессор *Н. П. Максимова*,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор *А. В. Свиридов*,
доктор ветеринарных и биологических наук, профессор *П. А. Красочко*,
кандидат технических наук, доцент *А. А. Шепицелев*,
кандидат сельскохозяйственных наук *А. Н. Никитин*,
кандидат биологических наук *Е. В. Болотник*,
кандидат биологических наук, доцент *И. А. Ровенская*,
кандидат биологических наук, доцент *Е. М. Глушень*,
кандидат биологических наук *Н. А. Головнева*,
кандидат биологических наук, доцент *А. В. Сидоренко*,
кандидат биологических наук, доцент *Л. И. Сапунова*,
кандидат биологических наук, доцент *Л. Н. Валентович*,
кандидат биологических наук, доцент *И. Н. Ананьева*,
кандидат биологических наук, доцент *Т. В. Семашко*,
кандидат биологических наук, доцент *В. А. Щетко*

УДК 577.19+547.96+579.222.7

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФЛАВОНОИДОВ
И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ С БЕЛКАМИ-ТРАНСПОРТЕРАМИ
АВС-СУПЕРСЕМЕЙСТВА У ДРОЖЖЕЙ
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

В. М. ГРЕЧКО, И. С. ЧЕРНЕЙ, В. Т. ЧЕЩЕВИК

*Полесский государственный университет, г. Пинск, Беларусь,
Violetta.korolevich@mail.ru*

Представлены эффекты флавоноидов (флаванона, 6-ОН-флаванона, гесперетина, комплекса гесперетина с медью, нарингенина, комплекса нарингенина с медью, оснований Шиффа гесперетина и их комплексов с медью (НАВН-Cu)) на активность АВС белков-транспортеров и жизнеспособность *Saccharomyces cerevisiae* в процессе брожения. У исследуемых дрожжей определены потенциальные сайты-мишени взаимодействия флавоноидов с молекулами белков АВС-суперсемейства. Флавоноиды оказывали как стимулирующее, так и ингибирующее действие на активность белков-транспортеров АВС-суперсемейства и на выживаемость дрожжей. Установлено, что участками взаимодействия флавоноидов и их производных с АВС-белками являются нуклеотидсвязывающие домены. У исследуемого микроорганизма флавоноиды и их производные обладали наибольшим сродством к белкам АВСГ-подсемейства. Таким образом, флавоноиды и их производные являются регуляторами белков-транспортеров АВС-суперсемейства, что может найти применение для модуляции устойчивости дрожжей *S. cerevisiae* к токсичным продуктам метаболизма в биотехнологических процессах, реализуемых с их использованием.

Ключевые слова: АВС-транспортеры, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, флавоноиды, основания Шиффа флавоноидов, молекулярный докинг, энергия связывания, нуклеотидсвязывающие домены.

Введение. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются востребованным объектом биотехнологических процессов благодаря ряду преимуществ, включая высокую скорость роста, устойчивость к повышенной кислотности среды и этанолу. В отличие от бактериальных культур дрожжи не подвержены заражению бактериофагами, обладают эффективной системой гомологичной рекомбинации, что упрощает стабильное геномное включение множественных экспрессионных кассет для решения задач метаболической инженерии [1, 2].

Тем не менее у *S. cerevisiae* есть ограничения, среди которых узкий спектр используемых субстратов, что не позволяет для культивирования дрожжей применять возобновляемое сырье сложного углеводного состава [3]. В частности, исследуемые дрожжи в качестве субстрата могут использовать только гексозы и не утилизируют другие углеводные составляющие (пентозы, сахарные кислоты) биополимеров в составе сельскохозяйственных культур, выращиваемых для энергетических нужд, или в отходах их переработки [4].

Более того, даже в аэробных условиях дрожжи *S. cerevisiae* переключаются с окислительного метаболизма на респираторно-броидильный при превышении концентрации глюкозы в среде культивирования свыше 0,5–1 г/л. Этот эффект, известный как эффект Крэбтри, приводит к перенаправлению углеродного потока на производство этанола и уксусной кислоты, что, в свою очередь, снижает выход биомассы [5]. Фактически переход к спиртовому брожению способствует потере углерода (путем образования этанола, ацетата), что, в свою очередь, приводит к существенному снижению выхода дрожжевой биомассы. Помимо переориентации метаболизма, брожение в аэробных условиях, вызванное избытком глюкозы, приводит также к этанольному стрессу, который подавляет рост дрожжевой культуры [6].

Этанольный стресс представляет собой ключевой фактор, ограничивающий брожение, поскольку этанол может достигать токсичных концентраций, ингибируя рост дрожжей и вызывая застойную и вялую ферментацию [7]. Высокие концентрации этанола нарушают организацию и проницаемость липидных мембран, приводят к снижению мембранного потенциала, увеличе-

нию текучести и потере целостности мембран, уменьшению биодоступности воды и денатурации клеточных белков. Кроме того, этанол ингибирует ключевые гликолитические ферменты и стимулирует образование активных форм кислорода [8]. Реакция дрожжей на стресс, вызванный этанолом, представляет собой временное перепрограммирование клеточной активности для обеспечения выживания в сложных условиях, защиты ключевых клеточных компонентов и возобновления «нормальной» жизнедеятельности [9].

Одним из механизмов, отвечающих за защиту клеток дрожжей от воздействия этанола, являются белки-транспортеры ABC-суперсемейства, которые распознают широкий спектр токсичных, как правило, соединений и активно удаляют их из цитоплазмы [10]. Данные белки имеют схожую молекулярную структуру и доменную организацию [11]. Типичный ABC-транспортер состоит из двух трансмембранных доменов, формирующих структуру в виде «поры», и нуклеотидсвязывающих доменов, входящих в структуру активного центра белка [12]. Главной функцией нуклеотидсвязывающего домена, который содержит в себе 200 аминокислотных остатков и отвечает за связывание и гидролиз молекулы АТФ, является снабжение энергией транспортных процессов, происходящих в клетке [13].

В настоящее время в литературе представлены малочисленные сведения о безопасных для использования в пищевой промышленности модуляторах ABC-транспортеров, которые повышают устойчивость дрожжей к этанолу без снижения качества пищевых продуктов [14]. Наиболее приемлемыми в этом контексте являются безопасные для человека природные соединения [15]. Перспективными биорегуляторами ABC-белков природного происхождения выступают флавоноиды из-за низкой токсичности и высокого содержания в различном растительном сырье, что делает привлекательным их использование в пищевой промышленности [16]. Способность флавоноидов взаимодействовать с клеточными мембранами, а также с локализованными в мембране ферментами и белками обуславливает их регуляторное влияние на активность ABC-транспортеров [17]. Направленность и эффективность этого влияния в значительной степени определяются химической структурой флавоноидов [18].

Несмотря на многочисленные данные литературы о флавоноидах как биологически активных соединениях, механизмы их взаимодействия с белками-транспортерами АВС-суперсемейства остаются относительно малоизученными [19]. Во многом это обусловлено проблематичностью определения участка белковой молекулы, с которой связывается флавоноид. Для решения этой задачи использован современный метод молекулярного докинга, который позволяет значительно сузить круг потенциальных участков взаимодействия лигандов с молекулами белков. Молекулярный докинг в исследованиях активности флавоноидов на АВС белки-транспортеры дрожжевых клеток предполагает использование специальных программ и параметров, разработанных для анализа взаимодействия флавоноидов, их оснований Шиффа и комплексов с металлами и белковыми мишенями клетки.

Цель исследования – изучение эффектов флавоноидов и их производных на активность АВС-транспортеров и жизнеспособность *S. cerevisiae* в условиях брожения. В рамках исследования предполагалось определить потенциальные сайты связывания флавоноидов, их оснований Шиффа и комплексов с металлами на молекулах АВС-транспортеров дрожжей.

Материалы и методы. В работе были использованы нативные флавоноиды чистотой не менее 97 % (Sigma Aldrich, Fisher scientific). Синтез флавоноидов проводили в соответствии с [26, 27]. Для получения модификаций флавоноидов по типу основания Шиффа соответствующие нативные флавоноиды (10 ммоль) и бензоилгидразин (ННСВ) (или тиосемикарбазид (НТСС), или изоиазид (НІН), или 2-аминобензоилгидразин (НАВН), в зависимости от типа синтезируемого основания Шиффа) в количестве 11 ммоль растворяли в метаноле (40 мл) [20]. Полученный раствор после добавления 1 мл ледяной уксусной кислоты (\approx рН 4,0) кипятили на масляной бане в течение 24 ч при постоянном перемешивании, после чего концентрировали и охлаждали с получением осадка. Осадок фильтровали, промывали водой и перекристаллизовывали в смеси N, N-диметилформамида и воды.

Структуру и физико-химические свойства синтезированных соединений флавоноидов определяли методами ВЭЖХ-масс-

спектроскопии, ядерного магнитного резонанса, инфракрасной спектроскопии и абсорбционной спектрофотометрии [21].

Дрожжи *S. cerevisiae* выращивали в жидкой питательной среде следующего состава (в %): глицерин – 2,0; дрожжевой экстракт – 1,0; пептон – 2,0. Глубинное культивирование дрожжей осуществляли на термостатируемой качалке при 30 °С до достижения логарифмической фазы роста (оптическая плотность $0,5 \pm 0,05$, $\lambda = 600$ нм) или стационарной фазы роста (оптическая плотность $1,5 \pm 0,05$, $\lambda = 600$ нм). Затем клетки осаждали центрифугированием при 1300 об/мин в течение 3 мин. Надосадочную жидкость удаляли, клетки дважды промывали и ресуспензировали (3×10^8 клеток/мл) в среде для инкубации, содержащей (в %): глутаминовая кислота – 0,1, сульфат аммония – 0,17; глицерин – 2,0; pH 7,0. Количество жизнеспособных клеток *S. cerevisiae* в суспензии определяли на приборе LUNA-II с использованием трипанового голубого (0,4 %).

Для определения в клетках дрожжей активности ABC-белков использовали ингибиторы ABCB, ABCC и ABCG-подсемейств – верапамил (20 мкМ), МК-571 (50 мкМ) и новобиоцин (100 мкМ), соответственно.

Активность ABC белков-транспортеров в клетках *S. cerevisiae* измеряли по [26]. Суспензию клеток *S. cerevisiae* инкубировали с флавоноидами (5 мкМ и 50 мкМ) и зондом кальцеин-AM (10 мкМ), который является субстратом для белков-транспортеров ABC-суперсемейства. Инкубацию проводили при 30 °С в течение 60 мин [22]. Жизнеспособность *S. cerevisiae* оценивали путем инкубирования клеток с пропидий иодидом (ПИИ, 30 мкМ) в течение 5 мин при 4 °С.

Измерение флуоресценции кальцеина и пропидий иодида осуществляли методом проточной цитофлуориметрии (BD FACSCanto™ II, США) с использованием лазера с длиной волны 488 нм. Для измерения флуоресценции кальцеина использовали канал детекции FITC, пропидий иодида – PerCP-Cy5-5. Количество измеряемых событий для каждой экспериментальной группы клеток составляло не менее 10000. Полученные файлы анализировали при помощи программного обеспечения BD FACSDiva™. Об активности ABC-белков судили по доле

клеток с кальцеинзависимой флуоресценцией от общего количества жизнеспособных клеток, выраженной в процентах. Количество погибших клеток выражали в виде доли клеток с ПИ-зависимой флуоресценцией от общего количества клеток.

Для статистической обработки результатов применяли *t*-критерий Стьюдента в случае нормального распределения выборки или непараметрический критерий Манна – Уитни. Нормальность распределения выборки определяли методом Шапиро – Уилка. Различия между средними арифметическими сравниваемых групп принимались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Для проведения молекулярного докинга структуры ABC белков-транспортеров (STE6, YCF1, YOR1, PDR5, PDR15, PDR18, SNQ2) были проанализированы с использованием UniProt (<http://www.uniprot.org>). Структуры флаванона, 2'-гидроксифлаванона, 6-гидроксифлаванона, гесперетина, нарингенина, кверцетина, фисетина, морина были загружены из базы данных Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) и сохранены в формате mol. Различные лиганды и другие гетероатомы, такие как вода, ионы и т. д., были удалены из молекулярных моделей белков для предсказания активных участков.

Минимизацию потенциальной энергии исследуемых молекул флавоноидов и их производных осуществляли с использованием программы SYBYL-X 2.0. Для проведения молекулярного докинга белковых молекул-мишеней с лигандами, исследуемыми флавоноидами и их производными, применяли расширение AutoDock Vina, в программе UCSF Chimera 1.11. В процессе молекулярного докинга было сгенерировано 20 различных положений лиганда в активном центре соответствующего белка-мишени. Для каждого белка-мишени ABC-суперсемейства подбирали свой размер области докинга, основанный на положении активного центра связывания, рассчитанном программным обеспечением AutoDockTools-1.5.7 (табл. 1). Параметры разницы в величине энергии связывания устанавливали на уровне -5 ккал/моль. Остальные параметры молекулярного докинга использовали по умолчанию.

Таблица 1. Размеры области поиска связывания лиганда с молекулами белков ABC-суперсемейства у *S. cerevisiae*

Белок-мишень	Центр связывания, (x; y; z), Å
STE6	-5,212; -0,602; -0,574
YOR1	5,62; 1,494; -0,943
YCF1	132,926; 151,568; 134,695
PDR5	-8,285; 2,802; -2,095
PDR15	-7,801; 8,948; -1,722
PDR18	0,657; -1,402; 0,366
SNQ2	-0,793; -1,628; 0,673

По результатам молекулярного докинга выбирали положение лиганда с наименьшей энергией связывания, который использовали для дальнейшего анализа. Визуализацию результатов докинга проводили с использованием программного обеспечения UCSF Chimera 1.11.

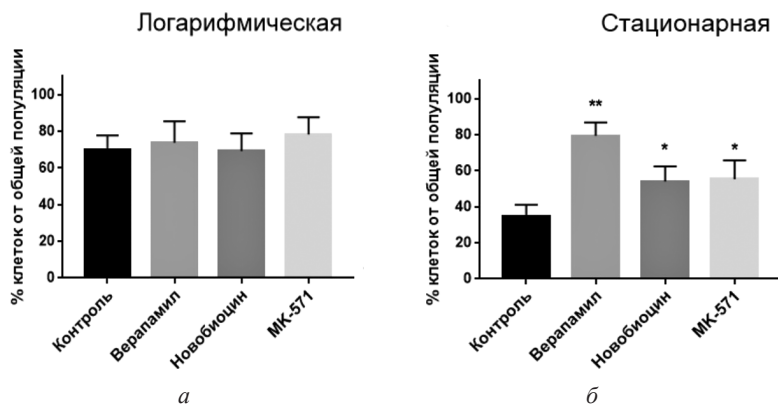
Результаты и обсуждение. Активность ABC белков-транспортеров изучали в клетках *S. cerevisiae*, находящихся в логарифмической и стационарной фазах роста в процессе брожения в средах, содержащих глюкозу в качестве субстрата. Ранее было установлено, что у дрожжей глюкоза стимулирует брожение [23]. Для исследований был использован дикий штамм дрожжей *S. cerevisiae*, который поддерживается в Полесском государственном университете.

Для выявления особенностей проявления активности ABC белков-транспортеров различных подсемейств в клетках *S. cerevisiae* при осуществлении процесса брожения на разных стадиях роста был применен ингибиторный анализ. В качестве ингибиторов активности ABC-транспортеров использовали верапамил (ингибитор P-gp, ABCB-подсемейство), новобиоцин (ингибитор MRP1, ABCC-подсемейство) и МК-571 (ингибитор BCRP, ABCG-подсемейство). Использование ингибиторов к данным МЛЮ-белкам человека обусловлено высокой степенью структурной гомологии ряда ABC-белков дрожжей и ABC белков-транспортеров человека [24]. Применение определенного ингибитора приводило к возрастанию доли клеток дрожжей, содержащих кальцеин, в результате подавления активности в присутствии в клетках чувствительного к нему ABC белка-транспортера.

Установлено, что при брожении в контрольной группе дрожжей *S. cerevisiae* процент клеток, удерживающих кальцеин, относительно низок (около 34,7 %). Это говорит о том, что в нормальных условиях (без добавления ингибиторов) ABC-транспортеры активно выкачивают Calcein AM из клеток дрожжей стационарной фазы роста при добавлении в качестве субстрата глюкозы (рисунок, б).

В результате ингибиторного анализа установлено, что при брожении в логарифмической фазе роста у дрожжей наблюдается слабая экспрессия ABC-транспортеров клеток, относящихся к ABCB, ABCC и ABCG-подсемействам (рисунок, а). В стационарной фазе роста дрожжей максимальная активность ABC-транспортеров наблюдалась для ABCB-подсемейства, что проявлялось резким возрастанием доли клеток с кальцеин-зависимой флуоресценцией в присутствии ингибитора верапамила (рисунок, б). При этом активность ABC-транспортеров, относящихся к другим подсемействам, также статистически достоверно проявлялась, но была выражена в меньшей степени (рисунок, б).

В логарифмической фазе роста клеток *S. cerevisiae* флаванон в концентрации 50 мкмоль значительно стимулировал активность ABC белков-транспортеров, что проявлялось двукратным



* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – статистически достоверно по отношению к контролю

Результаты ингибиторного анализа активности ABC белков-транспортеров *S. cerevisiae* в процессе брожения: а – логарифмическая фаза роста дрожжей; б – стационарная фаза роста дрожжей

снижением доли клеток с кальцеин-зависимой флуоресценцией по сравнению с контролем (табл. 2). Однако в стационарной фазе роста дрожжей гесперетин и нарингенин (5 и 50 мкМ) оказывали противоположный эффект, ингибируя АВС-транспорт и увеличивая долю флуоресцирующих клеток. В то же время флаванон в стационарной фазе не демонстрировал статистически значимого влияния на активность транспортеров.

Активность 6-ОН-флаванона (модифицированного флаванона с гидроксильной группой в 6-м положении) зависела от фазы роста *S. cerevisiae*. В логарифмической фазе существенного влияния не наблюдалось (табл. 2), в то время как в стационарной фазе 6-ОН-флаванон вызывал значительное (до 2,9 раз по сравнению с контролем) увеличение доли клеток с кальцеин-зависимой флуоресценцией, особенно в концентрации 50 мкМ.

Модификация гесперетина в основания Шиффа (HTSC, HIN) не влияла на активность АВС-транспортеров в логарифмической фазе роста дрожжей. Однако основание Шиффа гесперетина НАВН значительно (в 2 раза по сравнению с контролем) усиливало активность АВС-транспортеров как в логарифмической, так и в стационарной фазах (табл. 2).

Эффект исследуемых флавоноидов (5 и 50 мкМ) наблюдали в стационарной фазе роста *S. cerevisiae*. При концентрации оснований Шиффа гесперетина, составляющей 50 мкМ, значительное увеличение доли клеток с кальцеин-зависимой флуоресценцией наблюдали в ряду НАВН → ННСВ → Несп → HTSC → HIN (табл. 2).

С одной стороны, флавоноид ННСВ в данной концентрации слабо влиял на долю флуоресцирующих клеток, а с другой стороны, он в концентрации 5 мкмоль значительно повышал интенсивность флуоресценции кальцеина. В последнем случае доля клеток с кальцеинзависимой флуоресценцией повышалась в ряду НАВН → HTSC → Несп → HIN → ННСВ (табл. 2).

При исследовании эффектов гесперетина и нарингенина и их комплексов с медью было установлено, что стимулирующим эффектом на активность АВС-белков в процессе брожения в логарифмической фазе роста дрожжей обладал лишь комплекс гесперетина с медью при неэффективности остальных флавоноидов.

Таблица 2. Доля живых клеток *S. cerevisiae* с кальцеинзависимой флуоресценцией при действии флавоноидов и их производных

Флавоноиды	Концентрация флавоноидов, мкмоль	Доля живых клеток <i>S. cerevisiae</i> , %	
		логарифмическая фаза	стационарная фаза
Группа контроля		60,1 ± 2,7	34,75 ± 2,9
Верапамил		73,8 ± 6,8	60,4 ± 9,4*
Новобиоцин		69,3 ± 6,8	54,1 ± 6,0*
МК-571		78,4 ± 6,6	55,4 ± 7,4*
Флаванон и его гидроксипроизводные			
Флаванон	5	84 ± 5,1	22,2 ± 2,7
	50	33,1 ± 1,7*	30,1 ± 6,6
6-ОН- Флаванон	5	87,8 ± 2,1	40,8 ± 10,1
	50	88,9 ± 6,3	58,5 ± 3*
Комплексы с металлами нарингенина и гесперетина			
Нарингенин	5	71 ± 6,8	48,6 ± 10,3
	50	60,5 ± 3,4	53,4 ± 3,5*
Нарингенин-Cu	5	78,7 ± 7,2	68 ± 5,5*#
	50	65,1 ± 3,4	47,7 ± 2,1*
Гесперетин	5	68,6 ± 14,3	44,1 ± 14,3
	50	70,1 ± 10,4	58,7 ± 8,2*
Гесперетин-Cu	5	68,1 ± 7,2	40,5 ± 3,4
	50	26,8 ± 3,7**	42,6 ± 3,7*
Основания Шиффа гесперетина			
НАВН	5	72,5 ± 2,7	22,8 ± 6,5
	50	29,7 ± 1,0**	13,0 ± 0,4*
ННСВ	5	73,5 ± 5,7	55,7 ± 1,4*
	50	79,45 ± 7,1	30,25 ± 2,1
НИН	5	48,1 ± 4,3	47,4 ± 5,8*
	50	84,1 ± 7,7	70,6 ± 6,2*#
НТСС	5	85,6 ± 4,2	41,7 ± 2,3
	50	87 ± 3,5	59,3 ± 3,1*
Комплексы с металлами основания Шиффа гесперетина			
НАВН-Cu	5	69,8 ± 5,4	47,0 ± 5,1*#
	50	68,8 ± 0,2	43,1 ± 1,5*#

* $P < 0,05$ по отношению к контрольной группе.# $P < 0,05$ по отношению к группе нативных флавоноидов.

Комплекс гесперетина с медью в концентрации 50 мкМ повышал активность АВС-транспортеров по сравнению с его нативным флавоноидом гесперетином в 2,6 раза (табл. 2). При этом в стационарной фазе гесперетин, нарингенин и их комплексы с медью приводили к ингибированию активности АВС белков-транспортеров (табл. 2). Образование комплексов оснований Шиффа гесперетина с ионами меди (5 и 50 мкМ) приводило к увеличению доли дрожжевых клеток с кальцеин-зависимой флуоресценцией только в случае Cu-НАВН. Данный эффект наблюдался только в стационарной фазе роста *S. cerevisiae* (табл. 2).

В процессе ферментации дрожжами глюкозы доля погибших клеток в контрольных группах составила 20 и 37,7 % соответственно в логарифмической и стационарной фазах роста (табл. 3). Полученные результаты обусловлены развитием стресса в процессе брожения вследствие накопления этанола в культуральной среде [25]. Предполагается, что этанольный стресс является одним из факторов, ограничивающих жизнеспособность клеток дрожжей при ферментации.

Внесение в культуральную среду гидроксипроизводных флаванона (6-гидроксифлаванона) в концентрации 50 мкМ значительно по сравнению с контролем повышало долю погибших клеток в обеих фазах роста культуры, что свидетельствует о цитотоксическом действии данных производных на дрожжевые клетки (табл. 3).

Таблица 3. Доля мертвых клеток *S. cerevisiae* при воздействии флавоноидов и их производных

Флавоноиды	Концентрация флавоноидов, мкмоль	Доля мертвых клеток <i>S. cerevisiae</i> , %	
		логарифмическая фаза	стационарная фаза
Группа контроля		20,2 ± 1,10	39,7 ± 2,99
Верапамил		13,51 ± 0,64	37,83 ± 5,35
Новобиоцин		24,10 ± 8,80	37,53 ± 3,26
МК-571		23,2 ± 0,6	35,43 ± 7,01
Флаванон и его гидроксипроизводные			
Флаванон	5	22,87 ± 3,20	29,50 ± 3,29
	50	19,80 ± 2,10	37,57 ± 2,20
6-ОН- Флаванон	5	27,67 ± 5,72	28,30 ± 2,5
	50	48,73 ± 2,88*	66,10 ± 1,20**

Окончание табл. 3

Флавоноиды	Концентрация флавоноидов, мкмоль	Доля мертвых клеток <i>S. cerevisiae</i> , %	
		логарифмическая фаза	стационарная фаза
Нарингенин	5	18,47 ± 3,80	32,05 ± 2,15
	50	19,90 ± 4,16	31,25 ± 1,44
Нарингенин-Cu	5	18,70 ± 0,72	29,10 ± 2,67
	50	18,37 ± 3,14	31,50 ± 4,97
Гесперетин	5	18,73 ± 2,50	29,70 ± 2,90
	50	17,90 ± 0,20	31,83 ± 1,11
Гесперетин-Cu	5	22,03 ± 2,40	36,93 ± 3,79
	50	44,25 ± 7,00*#	48,55 ± 3,00*#
Основания Шиффа гесперетина			
НАВН	5	33,00 ± 1,40*#	34,20 ± 3,60
	50	32,35 ± 0,25*#	36,03 ± 2,92
НIN	5	34,35 ± 1,55*#	36,67 ± 3,70
	50	41,75 ± 2,55*#	51,35 ± 4,76*#
Комплексы с металлами основания Шиффа гесперетина			
НIN-Cu	5	25,5 ± 1,32	38,4 ± 1,80
	50	37,9 ± 2,50*	33,5 ± 3,16

* $P < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

$P < 0,05$ по отношению к группе нативных флавоноидов.

Модификация гесперетина по типу оснований Шиффа (НIN, НАВН) увеличивала, независимо от используемой концентрации, долю погибших клеток, находящихся в логарифмической фазе роста. Модификация гесперетина с изониазидом (НIN) в концентрации 50 мкмоль вызывала значительное увеличение гибели клеток лишь в стационарной фазе роста дрожжевой культуры (табл. 3).

Введение ионов меди (II) в структуру нативных молекул гесперетина и нарингенина, а также их модификаций по типу оснований Шиффа (НАВН-Cu) в целом существенно не влияло на жизнеспособность клеток *S. cerevisiae*. Исключение составил комплекс меди (II) с гесперетином (50 мкМ), который увеличивал долю погибших дрожжевых клеток в обеих фазах роста в 2 раза по сравнению с нативным гесперетином (табл. 3). Незначительное увеличение погибших дрожжевых клеток в логарифмической фазе роста вызывало также основание Шиффа гесперетина в комплексе с медью (НIN-Cu) в концентрации 50 мкМ.

Для определения потенциальных молекулярных мишеней в белках ABC (STE6, YCF1, YOR1, PDR5, PDR15, PDR18, SNQ2) были отобраны флавоноиды и их производные, продемонстрировавшие значимый эффект при краткосрочном воздействии на ABC белки-транспортеры в клетках дрожжей *S. cerevisiae*. В исследование было включено также основание Шиффа 6-гидроксифлаванона (6-OH-FTCH, 2 : 1), которое показало эффект при краткосрочном воздействии на ABC белки-транспортеры в клетках *S. cerevisiae* в процессе дыхания. Молекулярный докинг, проведенный с использованием Autodock Vina, показал, что энергии связывания для всех исследованных соединений с ABC-белками дрожжей имеют отрицательные значения, что свидетельствует о возможности образования стабильных комплексов. Для сравнения полученных результатов была также определена энергия связывания доксорубина – известного субстрата для белков P-gp, MRP1 и BCRP ABC-суперсемейства, которые, как отмечалось ранее, имеют высокую гомологию с исследуемыми ABC белками-транспортерами дрожжей *S. cerevisiae* (табл. 4).

При проведении молекулярного докинга было выявлено, что все испытанные ABC белки-транспортеры обладают достаточной энергией связывания ($> -6,5$ ккал/моль) со всеми изученными флавоноидами.

Результаты молекулярного докинга показали, что доксорубин лучше всего связывается с белками подсемейства ABCG (PDR5, PDR15, PDR18, SNQ2). Энергия связывания доксорубина составила $-9,1$ ккал/моль для PDR5, $-8,9$ ккал/моль для PDR15, $-9,2$ ккал/моль для PDR18 и SNQ2 (табл. 4)

Кроме того, установлено, что самой высокой энергией связывания с ABC белками-транспортерами дрожжей *S. cerevisiae* обладали основания Шиффа флавоноидов, а также их комплексы с металлами: 6-OH-FTCH (2 : 1), HIN, гесперетин-Cu, нарингенин-Cu ($-11,9$ ккал/моль; $-10,4$ ккал/моль; $-10,3$ ккал/моль; $-10,5$ ккал/моль, соответственно) с PDR5; 6HFTCH (2 : 1), Hesperetin-Cu, Naringenin-Cu ($-11,5$ ккал/моль; $-10,6$ ккал/моль; $-11,4$ ккал/моль, соответственно) с PDR15; 6-OH-FTCH (2 : 1), Hesperetin-Cu, Naringenin-Cu ($-11,3$ ккал/моль; $-10,6$ ккал/моль; $-11,0$ ккал/моль, соответственно) с PDR18; 6-OH-FTCH (2 : 1), Naringenin-Cu

Таблица 4. Результаты молекулярного докинга флавоноидов и ABC-транспортеров дрожжей *S. cerevisiae*

Флавоноиды	ABC-транспортеры	Энергия связывания (ккал/моль)	Ключевые аминокислоты	Места связывания
Флаванон	STE6	-6,6	LEU1 139	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-8,0	TYR939	-
	YOR1	-8,0	PHE363, PHE482, MET481	Трансмембранный домен 1
	PDR5	-7,6	ALA243, LYS587, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR15	-8,1	ALA253, SER255, ASN219	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR18	-7,8	THR660, SER524, PRO665	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-7,8	ALA595, PRO794, SER653	-
6-ОН-флаванон	STE6	-6,5	LEU1 139	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-8,7	TYR939	-
	YOR1	-8,0	PHE363, PHE482, MET481	Трансмембранный домен 1
	PDR5	-7,9	ALA243, LYS587, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR15	-8,5	ALA253, SER255, ASN219	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR18	-8,1	THR660, SER524, PRO665	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-8,0	ALA595, PRO794, SER653	-

Продолжение табл. 4

Флавоноиды	ABC-транспортеры	Энергия связывания (ккал/моль)	Ключевые аминокислоты	Места связывания
6-OH-FTCH (2 : 1)	STE6	-9,5	LEU1 190	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-11,4	ASN1 173	Трансмембранный домен 2
	YOR1	-11,6	PHE482, MET481, ASP511, GLU509	Трансмембранный домен 1
	PDR5	-11,9	ALA243, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR15	-11,5	VAL1 027, GLY206, GLY208, GLU1 019, SER273	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	PDR18	-11,3	GLY114, TYR112	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	SNQ2	-13,5	ARG514, SER573, SER653	-
Гесперетин	STE6	-7,1	LEU1 139	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-7,8	TYR939	Трансмембранный домен 1
	YOR1	-7,8	PHE363, PHE482, MET481	-
	PDR5	-8,0	ALA243, LYS587, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR15	-8,7	ALA253, SER255, ASN219	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR18	-8,6	THR660, SER524, PRO665	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-8,7	ALA595, PRO794, SER653	-

Продолжение табл. 4

Флавоноиды	ABC-транспортеры	Энергия связывания (ккал/моль)	Ключевые аминокислоты	Места связывания
Гесперетин-Cu	STE6	-9,4	GLN214, THR135	Трансмембранный домен 1
	YCF1	-10,4	SER533	Трансмембранный домен 1
	YOR1	-9,7	SER637	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR5	-10,3	LEU663	Трансмембранный домен 2
	PDR15	-10,6	GLY813, LYS972	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	PDR18	-10,6	LYS667, PRO665, ASP527, PHE445, GLY669, SER668	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-8,7	ASP246, ASP936	Нуклеотидсвязывающий домен 1,2
Нарингенин	STE6	-6,7	LEU1139	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-7,5	TYR939	-
	YOR1	-8,0	PHE363, PHE482, MET481	Трансмембранный домен 1
	PDR5	-8,1	ALA243, LYS587, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR15	-8,6	ALA253, SER255, ASN219	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	PDR18	-8,6	THR660, SER524, PRO665	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-8,5	ALA595, PRO794, SER653	-
Нарингенин-Cu	STE6	-8,7	GLN214, THR135	Трансмембранный домен 1
	YCF1	-9,8	SER533	Трансмембранный домен 1
	YOR1	-10,4	SER637	Нуклеотидсвязывающий домен 1

Продолжение табл. 4

Флавоноиды	ABC-транспортеры	Энергия связывания (ккал/моль)	Ключевые аминокислоты	Места связывания
	PDR5	-10,5	LEU663	Трансмембранный домен 2
	PDR15	-11,4	GLY813, LYS972	–
	PDR18	-11,0	LYS667, PRO665, ASP527, PHE445, GLY669, SER668	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-10,3	ASP246, ASP936	Нуклеотидсвязывающий домен 1,2
НАВН	STE6	-8,1	LEU1 190	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-8,1	ASN1 173	Трансмембранный домен 2
	YOR1	-8,8	PHE482, MET481, ASP511, GLU509	Трансмембранный домен 1
	PDR5	-9,6	ALA243, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR15	-9,1	VAL1 027, GLY206, GLY208, GLU1 019, SER273	Нуклеотидсвязывающий домен 1,2
	PDR18	-9,7	GLY114, TYR112	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	SNQ2	-9,7	ARG514, SER573, SER653	–
HIN	STE6	-7,6	LEU1 190	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	YCF1	-8,8	ASN1 173	Трансмембранный домен 2
	YOR1	-9,1	PHE482, MET481, ASP511, GLU509	Трансмембранный домен 1
	PDR5	-10,4	ALA243, ALA245	Нуклеотидсвязывающий домен 1

Продолжение табл. 4

Флавоноиды	ABC-транспортеры	Энергия связывания (ккал/моль)	Ключевые аминокислоты	Места связывания
	PDR15	-9,3	VAL1027, GLY206, GLY208, GLU1019, SER273	Нуклеотидсвязывающий домен 1,2
	PDR18	-9,0	GLY114, TYR112	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	SNQ2	-9,6	ARG514, SER573, SER653	-
НАВH-Cu	STE6	-7,8	GLN214, THR135	Трансмембранный домен 1
	YCF1	-9,0	SER533	Трансмембранный домен 1
	YOR1	-7,8	SER637	Нуклеотидсвязывающий домен 1
	PDR5	-9,0	LEU663	Трансмембранный домен 2
	PDR15	-9,5	GLY813, LYS972	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	PDR18	-9,5	LYS667, PRO665, ASP527, PHE445, GLY669, SER668	Трансмембранный домен 2
	SNQ2	-8,8	ASP246, ASP936	Нуклеотидсвязывающий домен 1,2
Доксорубицин	STE6	-7,6	GLU820 GLU814 GLU694	Трансмембранный домен 2
	YCF1	-7,6	ASN1173	Трансмембранный домен 2
	YOR1	-8,3	ALA872 GLU870 ASN1178 SER1179	-
	PDR5	-9,1	HIS211 ASN209 TYR241 ASN242 ALA243	Нуклеотидсвязывающий домен 1

Окончание табл. 4

Флавоноиды	ABC-транспортеры	Энергия связывания (ккал/моль)	Ключевые аминокислоты	Места связывания
	PDR15	-8,9	PHE586 AKA1367 VAL1366 GLU1365	-
	PDR18	-9,2	GLY886	Нуклеотидсвязывающий домен 2
	SNQ2	-9,2	ASP936 GLN935 HIS248 ASP246 VAL247	Нуклеотидсвязывающий домен 1,2

(-13,5 ккал/моль; -10,3 ккал/моль соответственно) с SNQ2 (табл. 4). Различия энергии связывания флавоноидов и доксорубина с ABC белками-транспортерами оказались незначительными – менее 2,75 ккал/моль, что соответствует погрешности скоринговой функции Autodock Vina.

Из изученных флавоноидов максимальной энергией связывания обладали основание Шиффа 6-гидроксифлаванона (-9,5 ккал/моль) и комплекс гесперетина с Cu(II) (-9,4 ккал/моль) с ABC-транспортером STE6. Аминокислотные остатки LEU1138, LEU1139 и LEU1190 были наиболее распространенными аминокислотами, взаимодействующими с флавоноидами, что указывает на предпочтительное связывание данных аминокислот со вторым нуклеотидсвязывающим доменом (табл. 4).

Самой высокой энергией связывания с ABC белками-транспортерами ABCC-подсемейства (YOR1 и YCF1) обладали основания Шиффа 6-гидроксифлаванона, а также комплексы с металлами нарингенина и гесперетина (Cu (II)). Стоит отметить, что в случае YOR1 ключевыми аминокислотами в активном центре для связывания данных соединений водородными связями являлись MET481, PHE482, GLU509, ASP511, SER637, в случае YCF1 – SER533 и ASN1173. Среди аминокислот только SER637 входит в первый нуклеотидсвязывающий домен ABC-транспортера YOR1, что указывает на возможное связывание комплекса гесперетина

с металлом, а также комплекса с металлом основания Шиффа гесперетина (НАВН-Cu) в NBD1 (табл. 4).

Как отмечено выше, доксорубин хорошо связывается с белками ABCG-подсемейства. Энергия его связывания составила $-9,1$ ккал/моль для PDR5, $-8,9$ ккал/моль для PDR15, $-9,2$ ккал/моль для PDR18 и SNQ2. Среди исследуемых флавоноидов были определены и соединения, обладающие высокой энергией связывания с этими белками. Белок SNQ2 продемонстрировал наилучшую энергию связывания с основанием Шиффа 6-гидроксифлаванона ($-13,5$ ккал/моль), а также с НАВН и HIN гесперетина ($-9,7$ и $-9,6$ ккал/моль соответственно). Комплекс нарингенина с Cu(II) также характеризовался хорошим показателем связывания ($-10,3$ ккал/моль). Связывание SNQ2 с Cu-нарингенином определено в первом нуклеотидсвязывающем домене, где ключевой аминокислотой является ASP246 (табл. 4).

Анализ других ABC-белков подсемейства ABCG (PDR5, PDR15 и PDR18) выявил высокие значения энергии связывания ($> -9,0$ ккал/моль) для большинства исследуемых флавоноидов, за исключением флаванона. В случае PDR5 ключевыми аминокислотами, участвующими в образовании водородных связей с основанием Шиффа 6-гидроксифлаванона и гесперетином НАВН и HIN, оказались ALA243 и ALA245, которые входят в нуклеотидсвязывающий домен 1. Взаимодействие оснований Шиффа гидроксифлаванона и гесперетина НАВН и HIN с PDR15 определялось аминокислотами GLY206, GLY208, GLU1019 и VAL1027, а для комплексов нарингенина, гесперетина и его основания Шиффа (Cu-НАВН) – GLY206 и LYS972. Причем эти флавоноиды взаимодействуют как с первым, так и со вторым нуклеотидсвязывающим доменами PDR15. Для ABC-белка PDR18, хотя и наблюдалась хорошая энергия связывания со всеми исследуемыми молекулами, только основания Шиффа флаванона и гесперетина (6-ОН-FTCH (2 : 1), НАВН, HIN) взаимодействовали с TYR112 и GLY114, находящимися в первом нуклеотидсвязывающем домене (табл. 4).

Сравнительный анализ выявил, что доксорубин и исследуемые флавоноиды образуют водородные связи с одинаковыми аминокислотами в сайтах связывания ABC-белков PDR5, PDR18,

SNQ2, но в разных положениях. Стоит отметить, что все ключевые аминокислоты входят в состав первого нуклеотидсвязывающего домена.

Заключение. Краткосрочные эффекты флавоноидов и их производных на активность ABC белков-транспортеров зависят от фазы роста дрожжевых клеток, а также структурных особенностей молекул флавоноидов. Влияние фазы роста дрожжевой культуры на кальцеин-зависимую флуоресценцию клеток, вероятно, обусловлена различным профилем и интенсивностью экспрессии ABC белков-транспортеров. Среди изученных флавоноидов (флаванон, 2'-ОН-флаванон, гесперетин, нарингенин, HTSC, HNSB, HIN, HAVH, HAVH-Cu, гесперетин-Cu, нарингенин-Cu) были обнаружены как стимуляторы, так и ингибиторы активности ABC белков-транспортеров.

В результате молекулярного докинга выявлено непосредственное связывание флавоноидов и их производных с нуклеотидсвязывающими доменами ABC белков-транспортеров. Особенно высокой энергией связывания с флавоноидами и их производными обладали белки ABCG-подсемейства.

Применение метода молекулярного докинга позволило идентифицировать флавоноиды и их производные, образующие водородные связи со специфическими аминокислотами в центрах связывания ABC-белков, что позволяет более точно предсказать их взаимодействие с целевыми белками и оптимизировать выбор соединений для дальнейших исследований. Производные флавоноидов являются перспективными биостимуляторами ABC белков-транспортеров у *S. cerevisiae*, применение которых в биотехнологических процессах может обеспечить увеличение выхода биомассы вследствие повышения устойчивости клеток дрожжей к токсическим продуктам метаболизма.

Литература

1. Higgins, C. F. ABC Transporters: From microorganisms to man / C. F. Higgins // Annual Review of Cell Biology. – 1992. – Vol. 8. – P. 67–113.
2. The yeast plasma membrane ATP binding cassette (ABC) transporter Aus1: Purification, characterization, and the effect of lipids on its activity / M. Marek, S. Milles, G. Schreiber [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 286. – P. 21835–21843.

3. Clomburg, J. M. Anaerobic fermentation of glycerol: A platform for renewable fuels and chemicals / J. M. Clomburg, R. Gonzalez // Trends in Biotechnology. – 2013. – Vol. 31, № 1. – P. 20–28.
4. Sonnleitner, B. Growth of *Saccharomyces cerevisiae* is controlled by its limited respiratory capacity: Formulation and verification of a hypothesis / B. Sonnleitner, O. Käppeli // Biotechnology and Bioengineering. – 1986. – Vol. 28, № 6. – P. 927–937.
5. Alexander, M. A. Respiratory efficiency and metabolite partitioning as regulatory phenomena in yeasts / M. A. Alexander, T. W. Jeffries // Enzyme and Microbial Technology. – 1990. – Vol. 12, № 1. – P. 2–19.
6. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling / B. R. Gibson, S. J. Lawrence, J. P. R. Leclaire [et al.] // FEMS Microbiology Reviews. – 2007. – Vol. 31, № 5. – P. 535–569.
7. The yeast ABC transporter Pdr18 (ORF YNR070w) controls plasma membrane sterol composition, playing a role in multidrug resistance / T. R. Cabrito, M. C. Teixeira, A. Singh [et al.] // Biochemical Journal. – 2011. – Vol. 440, № 2. – P. 195–202.
8. Acquisition of ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*: the key role of the mitochondrial superoxide dismutase / V. Costa, E. Reis, A. Quintanilha, P. Moradas-Ferreira // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1993. – Vol. 300, № 2. – P. 608–614.
9. Kinetic analysis of a *Saccharomyces cerevisiae* strain adapted for improved growth on glycerol: Implications for the development of yeast bioprocesses on glycerol / A. Ochoa-Estopier, J. Lesage, N. Gorret, S. E. Guillouet // Bioresource Technology. – 2011. – Vol. 102, № 2. – P. 1521–1527.
10. Pdr18 is involved in yeast response to acetic acid stress counteracting the decrease of plasma membrane ergosterol content and order / C. P. Godinho, C. S. Prata, S. N. Pinto [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8. – P. 1–13.
11. Higgins, C. F. The ATP switch model for ABC transporters / C. F. Higgins, K. J. Linton // Nature Structural & Molecular Biology. – 2004. – Vol. 11, № 10. – P. 918–926.
12. Kerr, I. D. Structure and association of ATP-binding cassette transporter nucleotide-binding domains / I. D. Kerr // Biochimica et Biophysica Acta. – 2002. – Vol. 1561, № 1. – P. 47–64.
13. Lewis, V. G. The role of ATP-binding cassette transporters in bacterial pathogenicity / V. G. Lewis, M. P. Ween, C. A. McDevitt // Protoplasma. – 2012. – Vol. 249, № 4. – P. 919–942.
14. Genome-wide identification of *Saccharomyces cerevisiae* genes required for tolerance to acetic acid / N. P. Mira, M. Palma, J. F. Guerreiro, I. Sá-Correia // Microbial Cell Factories. – 2010. – Vol. 79. – P. 1–13.
15. The role of dietary flavonoids for modulation of ATP binding cassette transporter mediated multidrug resistance / H. Teng, H. Deng, Y. He [et al.] // eFood. – 2021. – Vol. 2, № 5. – P. 234–246.
16. Structural and spectral investigation of a series of flavanone derivatives / A. Sykuła, A. Kowalska-Baron, K. Gałeczki [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26, № 5. – P. 1–19.

17. Wesołowska, O. Interaction of phenothiazines, stilbenes and flavonoids with multidrug resistance-associated transporters, P-glycoprotein and MRP1 / O. Wesołowska // *Acta Biochimica Polonica*. – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 433–448.
18. Olenichenko, N. A. Effect of cold hardening on the phenolic complex of winter wheat leaves / N. A. Olenichenko, V. I. Ossipov, N. V. Zagoskina // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2006. – Vol. 53, № 4. – P. 495–500.
19. Li, Y. The effects of flavonoids on the ABC transporters: Consequences for the pharmacokinetics of substrate drugs / Y. Li, J. W. Paxton // *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. – 2013. – Vol. 9, № 3. – P. 267–285.
20. Synthesis, cytotoxic activity, and DNA binding properties of copper (II) complexes with hesperetin, naringenin, and apigenin / H. Wang, M. Tan, J. Zhu [et al.] // *Bioinorganic Chemistry and Applications*. – 2009. – Vol. 2009, № 1. – P. 1–9.
21. Position impact of hydroxy groups on spectral, acid-base profiles and DNA interactions of several monohydroxy flavanones / E. Łodyga-Chruścińska, A. Kowalska-Baron, P. Błażińska [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, № 17. – P. 1–26.
22. Rapid detection of efflux pumps and their relation with drug resistance in yeast cells / C. Prudêncio, F. Sansonetty, M. J. Sousa [et al.] // *Cytometry*. – 2000. – Vol. 39, № 1. – P. 26–35.
23. Yeast “make-accumulate-consume” life strategy evolved as a multi-step process that predates the whole genome duplication / A. Hagman, T. Säll, C. Compagno, J. Piskur // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. 1–13.
24. Grechko, V. M. Identification new potential multidrug resistance proteins of *Saccharomyces cerevisiae* / V. M. Grechko, D. E. Podolsky, V. T. Cheshchevik // *Journal of Microbiological Methods*. – 2020. – Vol. 176. – P. 1–13.
25. *Saccharomyces cerevisiae* strains used industrially for bioethanol production / A. P. Jacobus, J. Gross, J. H. Evans [et al.] // *Essays in Biochemistry*. – 2021. – Vol. 65, № 2. – P. 147–161.
26. Влияние оснований Шиффа флаванона и гесперетина на активность ABC-транспортеров клеток *Saccharomyces cerevisiae* в процессе дыхания / В. М. Гречко, В. Т. Чещевик, А. Дзейкало [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты* : сб. науч. тр. – Минск, 2022. – Т. 14. – С. 76–84.

**INTERACTION OF FLAVONOIDS AND THEIR DERIVATIVES
WITH ABC-SUPERFAMILY TRANSPORTER PROTEINS
IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST**

V. M. GRECHKO, I. S. CHERNEI, V. T. CHESHCHEVIK

*Polessky State University, Pinsk, Belarus,
Violetta.korolevich@mail.ru*

This work presents the effects of flavonoids (flavanone, 6-OH-flavanone, hesperetin, hesperetin-copper complex, naringenin, naringenin-copper complex, hesperetin Schiff bases and their copper complexes (HABH-Cu)) on the activity of ABC transporter proteins and the viability of *S. cerevisiae* during fermentation. Potential

target sites for the interaction of flavonoids with molecules of ABC-superfamily proteins were identified in the studied yeast. Flavonoids exerted both stimulating and inhibiting effects on the activity of ABC-superfamily transporter proteins and on yeast survival. It was established that the nucleotide-binding domains are the interaction sites of flavonoids and their derivatives with ABC proteins. In the studied microorganism, flavonoids and their derivatives had the greatest affinity for ABCG-subfamily proteins. Thus, flavonoids and their derivatives are regulators of ABC-superfamily transporter proteins, which can be used to modulate the resistance of *S. cerevisiae* yeast to toxic metabolites in biotechnological processes implemented with their use.

Keywords: ABC transporters, *S. cerevisiae* yeast, flavonoids, flavonoid Schiff bases, molecular docking, binding energy, nucleotide-binding domains.

Поступила в редакцию 11.07.2025

СОДЕРЖАНИЕ

МИКРОБНЫЙ СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ. ГЕНО-ИНЖЕНЕРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ. КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Данилова Д. Ю., Кантор К. В., Сидоренко А. В. Видовое разнообразие и биологические свойства мицелиальных и дрожжевых грибов, ассоциированных с порчей молочных продуктов	3
Сафаревич А. И., Гринева И. А., Ломоносова В. А., Синчук О. В., Колбас А. П., Феклистова И. Н. Антагонистическая активность изолятов бактерий, выделенных из мест многолетнего произрастания лекарственных растений, в отношении фитопатогенных микроорганизмов	19
Шонина М. Ю., Лагодич А. В. Поиск природных термофильных бактерий рода <i>Bacillus</i> , обладающих протеолитической активностью....	34
Песоцкая К. Ю., Печникова Е. А., Лагоненко А. Л., Евтушенков А. Н. Регуляторная роль транскрипционного фактора <i>OhrR</i> у фитопатогенных бактерий <i>Erwinia amylovora</i>	42
Дайнеко А. В., Щеколова А. С., Зинченко А. И. Создание рекомбинантного штамма-продуцента 2'-дезоксирибозилтрансферазы бактерий <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	57
Чиндарева М. А., Зинченко А. И. Создание бактериального штамма-продуцента полиэтилентерефталатгидролазы	73
Приступа К. В., Кукулянская Т. А., Храмцова Е. А. Изучение влияния <i>acdS</i> -гена бактерий <i>Pseudomonas putida</i> В-37 на состояния антиоксидантной системы трансгенных растений <i>Nicotiana tabacum</i> , выращенных в условиях засухи	83
Шляхотко Е. А., Сапунова Л. И. Каротиноиды красных дрожжевых грибов рода <i>Rhodotorula</i>	99
Федоренчик А. А., Охремчук А. Э., Алещенкова З. М., Ананьева И. Н. Молекулярно-генетическая характеристика эндофитного штамма бактерий <i>Agrobacterium tumefaciens</i> БИМ В-441 Д	118

Гречко В. М., Черней И. С., Чещевик В. Т. **Взаимодействие флавоноидов и их производных с белками-транспортерами ABC-суперсемейства у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*** 139

Зверко В. В., Григорьева Е. Е., Фомина Е. Г. **Исследование клеточных культур на наличие контаминации пестивирусами: оптимизация метода полимеразной цепной реакции и опыт применения**..... 162

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Рупасова Ж. А., Коломиец Э. И., Мандрик-Литвинкович М. Н., Павловский Н. Б., Алещенкова З. М., Саян А. А., Ушакова А. В., Авраменко С. Н., Белый П. Н., Дрозд О. В. **Влияние биологических препаратов рострегулирующего действия на содержание органических кислот, углеводов и танинов в плодах голубики высокорослой в зависимости от уровня плодородия почвы**..... 176

Рупасова Ж. А., Привалов Ф. И., Павловский Н. Б., Саян А. С., Авраменко С. Н., Ушакова А. В., Шпитальная Т. В., Коломиец Э. И., Мандрик-Литвинкович М. Н., Алещенкова З. М. **Влияние эдафического фактора на биофлавоноидный комплекс плодов голубики высокорослой на фоне применения биологических препаратов фунгицидного и рострегулирующего действия**..... 193

Феклистова И. Н., Маслак Д. В., Скакун Т. Л., Ломоносова В. А., Гринева И. А. **Исследование фитотоксичности и биогенности почв в местах многолетнего произрастания дикорастущих лекарственных растений**..... 210

Титова А. Д., Прокулевич В. А. **Вакцины против цирковируса свиней 2-го типа: состояние в Беларуси и основные направления исследований** 224

Гирилович Н. И., Шмыга Е. Ю., Мандрик-Литвинкович М. Н., Шешко П. С., Коломиец Э. И. **Влияние различных вариантов мульчирования на продуктивность и состав микробоценоза почвы яблоневого сада**... 240

Сверчкова Н. В. **Ферментативная и антагонистическая активность пробиотических штаммов бактерий *Bacillus velezensis* – основы кормовых добавок и ветеринарных препаратов**..... 249

Дайнеко Н. М., Концевая И. И., Тимофеев С. Ф. **Повышение биогенности почв при использовании микробных препаратов в посевах озимой пшеницы**..... 263

Отейчук Е. В., Маслак Д. В., Феклистова И. Н., Гринева И. А., Скакун Т. Л., Ломоносова В. А. **Исследование свойств бактерий-азотфиксаторов, перспективных для использования в биопрепаратах для растениеводства** 279

<i>Казакевич А. С., Маслак Д. В., Гринева И. А., Феклистова И. Н., Ломоносова В. А., Скакун Т. Л.</i> Поиск микроскопических грибов, перспективных для включения в биопрепараты фитостимулирующего действия	296
<i>Сафронова Г. В., Ананьева И. Н., Алещенкова З. М., Федоренчик А. А.</i> Технологические аспекты получения препарата микробного «Граммисил» в лабораторных условиях.....	317
<i>Станчук А. Э., Войтка Д. В.</i> Видовое разнообразие патогенных микромитозов в условиях длительного хранения корнеплодов моркови столовой	328

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И ПРОМЫШЛЕННОСТИ

<i>Зинченко А. И., Щеколова А. С., Биричевская Л. Л.</i> Вклад нанотехнологий в иммунотерапию рака	342
<i>Кононович Я. П., Зинченко А. И., Биричевская Л. Л.</i> Терапия вирусного гепатита В: современные подходы к созданию противовирусных средств нового поколения.....	357
<i>Головач Т. Н., Курченко В. П., Янцевич А. В., Тарун Е. И., Дудчик Н. В., Ржепаковский И. В., Сизоненко М. Н., Лодыгин А. Д.</i> Комплексное цитопротекторное действие пептидов сывороточных белков коровьего молока	373
<i>Щетко В. А., Романова Л. В., Гапонова И. И., Макаревич О. В., Ананьева И. Н., Алещенкова З. М.</i> Оценка эффективности роста клубеньковых бактерий при масштабировании процессов их культивирования... ..	392
<i>Клишевич Н. Г., Картыжова Л. Е., Ананьева И. Н., Алещенкова З. М.</i> Физиолого-биохимические свойства эффективных азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих штаммов микроорганизмов, выделенных из ризосферы сахарной свеклы	401
<i>Сапунова Л. И., Левчук О. Д., Тамкович И. О.</i> Микробная липаза: характеристика, рынок, применение в пищевой промышленности	412
<i>Двоежённова Е. А., Головач О. С., Жабанос Н. К., Фурик Н. Н.</i> Изучение биотехнологических характеристик штаммов <i>Lactobacillus helveticus</i> как перспективных для использования в сыроделии	429
<i>Головнёва Н. А., Рябая Н. Е., Морозова А. Н., Самарцев А. А., Будевич А. И., Ермолицкий В. Н.</i> Влияние биоаналога лактоферрина человека на рост бактерий родов <i>Lactobacillus</i> и <i>Bifidobacterium</i>	446
<i>Курченко В. П., Галавач Т. М., Чудновская Е. В., Григорян Р. Э., Головнёва Н. А., Денисенко В. В., Найдено И. А., Шрамко М. И., Лодыгин А. Д.</i>	

Получение микрокапсул различных размеров с <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> и исследование их свойств	456
<i>Головнёва Н. А., Рябая Н. Е., Самарцев А. А. Экзополисахариды молочнокислых бактерий</i>	474

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

<i>Русевич А. С., Чирикова М. С., Шавела Ю. В., Наркевич Д. А., Глушень Е. М. Rhodococcus sp. RR3 – деструктор синтетических поверхностно-активных веществ</i>	489
<i>Шавела Ю. В., Губчик К. А., Наркевич Д. А., Глушень Е. М. Сравнительный анализ влияния биосурфактантов и синтетических эмульгаторов на процессы деструкции нефти аборигенной микробиотой почвы</i>	498
<i>Чирикова М. С., Машечко А. Г., Русевич А. С., Глушень Е. М. Формирование биоценоза активного ила, устойчивого к залповым сбросам высококонцентрированных сточных вод сахарного производства</i>	512
<i>Сапунова Л. И., Шетищев А. А., Лобанок А. Г. Послеспиртовая барда: состав, рынок, способы переработки, применение</i>	525
<i>Секирина А. П., Ровенская И. А. Биоценозы сооружений для очистки сточных вод в естественных условиях</i>	553
<i>Курченко В. П. Аккумуляция тяжелых металлов различными видами лишайников Земли Эндерби, Антарктиды (обзор)</i>	566
<i>Болотник Е. В., Глушень Е. М. Современные подходы к очистке сточных вод на основе анаэробных процессов</i>	592
Правила для авторов	614

CONTENTS

MICROBIAL SYNTHESIS OF BIOACTIVE COMPOUNDS. GENETIC ENGINEERING OF MICROORGANISMS. COLLECTIONS OF MICROBIAL CULTURES

<i>Danilova D. Y., Kantor K. V., Sidarenka A. V.</i> Species diversity and biological characteristics of fungi and yeasts associated with spoilage of dairy products	3
<i>Safarevich A. I., Grineva I. A., Lomonosova V. A., Sinchuk A. V., Kolbas A. P., Feklistova I. N.</i> Antagonistic activity of bacteria isolated from places of perennial growth of medicinal plants, against phytopathogenic microorganisms	19
<i>Shonina M. Y., Lahodzich A. V.</i> Search for natural thermophilic bacteria <i>Bacillus</i> genus with proteolytic activity	34
<i>Pesotskaya K. Yu., Pechnikova E. A., Lagonenko A. L., Evtushenkov A. N.</i> Regulatory role of transcription factor OhrR in phytopathogenic bacteria <i>Erwinia amylovora</i>	42
<i>Daineka H. V., Shchokalava N. S., Zinchenko A. I.</i> Constriction of a recombinant strain producing 2'-deoxyribosyltransferase from bacteria <i>Lactobacillus delbruckii</i>	57
<i>Chindareva M. A., Zinchenko A. I.</i> Creation of bacterial strain – producer of polyethylene terephthalate hydrolase	73
<i>Pristupa K. V., Kukulianskaya T. A., Khramtsova E. A.</i> The influence of bacteria <i>acdS</i>-gene f <i>Pseudomonas putida</i> B-37 on antioxidant system <i>Nicotiana tabacum</i> transgenic plants under drought conditions	83
<i>Shlachotko E. A., Sapunova L. I.</i> Carotenoids of red yeast fungi of <i>Rhodotorula</i> genus	99
<i>Fedorenchik A. A., Okhremchuk A. E., Aleshchenkova Z. M., Ananyeva I. N.</i> Molecular genetic characteristics of endophytic bacterial strain <i>Agrobacterium tumefaciens</i> BIM B-441 D	118
<i>Grechko V. M., Chernei I. S., Cheshchevik V. T.</i> Interaction of flavonoids and their derivatives with ABC-superfamily transporter roteins in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yeast	139

<i>Zverko V. V., Grigorieva E. E., Fomina E. G. Cell culture testing for pestivirus contamination: optimization of the polymerase chain reaction method and experience with its application</i>	162
---	-----

BIOTECHNOLOGIES FOR AGRICULTURE

<i>Rupasova Zh. A., Kolomiets E. I., Mandrik-Litvinkovich M. N., Pavlovsky N. B., Aleschenkova Z. M., Sayan A. A., Ushakova A. V., Avramenko S. N., Bely P. N., Drozd O. V. The effect of biological growth-regulating drugs on the content of organic acids, carbohydrates and tannins in the fruits of tall blueberries, depending on the level of soil fertility</i>	176
<i>Rupasova Zh. A., Privalov F. I., Pavlovsky N. B., Sayan A. S., Avramenko S. N., Ushakova A. V., Shpital'naya T. V., Kolomiets E. I., Mandrik-Litvinkovich M. N., Aleschenkova Z. M. The effect of the edaphic factor on the bioflavonoid complex of tall blueberry fruits against the background of the use of biologically preparations with fungicidal and growth-regulating effects</i>	193
<i>Feklistova I. N., Maslak D. V., Skakun T. L., Lomonosova V. A., Grineva I. A. Study of phytotoxicity and biogenicity of soils in places of perennial growth of wild medicinal plants</i>	210
<i>Titova A. D., Prokulevich V. A. Vaccines against porcine circovirus type 2: status in Belarus and prospective research areas</i>	224
<i>Girilovich N. I., Shmyga E. Y., Mandryk-Litvinkovich M. N., Shashko P. S., Kolomiets E. I. The influence of various mulching options on productivity and composition of the microbial cenosis of the apple garden soil</i>	240
<i>Sverchkova N. V. Enzymatic and antagonistic activity of probiotic strains of <i>Bacillus velezensis</i> bacteria – the basis of feed additives and veterinary drugs</i>	249
<i>Daineko N. M., Kontsevaya I. I., Timofeev S. F. Increasing soil biogenity using microbial preparations in winter wheat crops</i>	263
<i>Oteychuk E. V., Maslak D. V., Feklistova I. N., Grineva I. A., Skakun T. L., Lomonosova V. A. Study of properties of nitrogen-fixing bacteria, promising for use in biological products for plant growing</i>	279
<i>Kazakevich A. S., Maslak D. V., Grineva I. A., Feklistova I. N., Lomonosova V. A., Skakun T. L. Searching for microscopic fungi perspective for phytostimulating bioproducts</i>	296
<i>Safronava H. V., Ananyeva I. N., Aleschenkova Z. M., Fedorenchik A. A. Technological aspects of producing the microbial preparation “Gramisil” in laboratory conditions</i>	317
<i>Stanchuk A. E., Voitka D. V. Species diversity of pathogenic micromycetes in conditions of long-term storage of table carrots</i>	328

BIOTECHNOLOGIES FOR MEDICINE AND INDUSTRIES

<i>Zinchenko A. I., Shchokolova A. S., Birycheuskaya L. L.</i> Nanotechnology's contribution to cancer immunotherapy	342
<i>Kananovich Y. P., Zinchenko A. I., Birycheuskaya L. L.</i> Viral hepatitis b therapy: modern approaches to the development of new generation antiviral drugs	357
<i>Halavach T. M., Kurchenko V. P., Yantsevich A. V., Tarun E. I., Dudchik N. V., Rzhepakovsky I. V., Sizonenko M. N., Lodygin A. D.</i> Complex cytoprotective effect of peptides from bovine whey proteins	373
<i>Shchetko V. A., Romanova L. V., Gaponova I. I., Makarevich O. V., Ananyeva I. N., Aleschenkova Z. M.</i> Evaluation of growth efficiency of rodulating bacteria in scale-up of fermentation processes	392
<i>Klishevich N. G., Kartyzhova L. E., Ananyeva I. N., Aleschenkova Z. M.</i> Physiological and biochemical properties of effective nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing strains of microorganisms isolated from the rhizosphere of sugar beet	401
<i>Sapunova L. I., Leuchuk O. D., Tamkovich I. O.</i> Microbial lipase: characteristics, market, application in the food industry	412
<i>Dvoezhonova E. A., Golovach O. S., Zhabanos N. K., Furik N. N.</i> Study of biotechnological characteristics of <i>Lactobacillus helveticus</i> strains as potentially promising for cheesemaking	429
<i>Golovneva N. A., Ryabaya N. E., Morozova A. N., Samartsev A. A., Budevich A. I., Ermolitskiy V. N.</i> The effect of the human lactoferrin bioanalogue on the growth of bacteria of the genera <i>Lactobacillus</i> and <i>Bifidobacterium</i> ...	446
<i>Kurchenko V. P., T. M. Halavach, E. V. Chudnouskaya, R. E. Grigorian, Golovnyova N. A., Denisenko V. V., Naidenko I. A., Shramko M. I., Lodygin A. D.</i> Obtaining microcapsules of different sizes with <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> and studying their properties	456
<i>Golovneva N. A., Ryabaya N. E., Samartsev A. A.</i> Exopolysaccharides of lactic acid bacteria	474

BIOTECHNOLOGIES FOR ENVIRONMENTAL PROTECTION

<i>Rusevich H. S., Chyrykava M. S., Narkevich D. A., Shavela Y. V., Hlushen A. M.</i> <i>Rhodococcus</i> sp. RR3 – destructor of synthetic surface-active substances	489
<i>Shavela Y. V., Hubchik K. A., Narkevich D. A., Hlushen A. M.</i> Comparative analysis of the effects of biosurfactants and synthetic emulsifiers on the processes of oil degradation by native soil microbiota	498

<i>Chyrykava M. S., Mashachka A. H., Rusevich H. S., Hlushen A. M.</i> Formation of an activated sludge biocenosis resistant to vol-ley discharges of highly concentrated wastewater from sugar production	512
<i>Sapunova L. I., Shephaleu A. A., Lobanok A. G.</i> Distillery stillage: composition, market, processing methods, application	525
<i>Sekirina A. P., Rovenskaya I. A.</i> Biocenoses of wastewater treatment plants operating under natural conditions	553
<i>Kurchenko V. P.</i> Accumulation of heavy metals by various types of lichens in Enderby Land, Antarctica (review)	566
<i>Bolotnik A. V., Hlushen A. M.</i> Modern approaches to wastewater treatment based on anaerobic processes	592
Rules for authors	614

Научное издание

**МИКРОБНЫЕ BIOTEХНОЛОГИИ:
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ**

Сборник научных трудов

Основан в 2007 году

Том 17

Ответственный за выпуск *И. А. Ровенская*

Редактор *О. Н. Пручковская*

Художественный редактор *Ю. П. Барабанова*

Технический редактор *О. А. Ткачёва*

Компьютерная верстка *Н. И. Кашиба, Л. И. Кудерко*

Подписано в печать 30.12.2025. Формат 60×84 ¹/₁₆. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 36,5. Уч.-изд. л. 34,5.

Тираж 150 экз. Заказ 269.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом
«Беларуская навука». Свидетельства о государственной регистрации
издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18
от 02.08.2013, № 2/196 от 05.04.2017. Ул. Ф. Скорины, 40, 220084, г. Минск.