

9. Pozhvanov G., Sharova E., Medvedev S. Microgravity modelling by two-axial clinorotation leads to scattered organization of cytoskeleton in *Arabidopsis* seedlings. *Funct. Plant Biol.* 2021. 48: 1062.
10. Pozhvanov G.A., Gobova A.E., Bankin M.P., Vissenberg K., Medvedev S.S. Ethylene is involved in the actin cytoskeleton rearrangement during the root gravitropic response of *Arabidopsis thaliana*. *Russ. J. Plant Physiol.* 2016. 63: 587–596.
11. Pozhvanov G.A., Klimenko N.S., Bilova T.E., Shavarda A.L., Medvedev S.S. Ethylene-dependent adjustment of metabolite profiles in *Arabidopsis thaliana* seedlings during gravitropic response. *Russ. J. Plant Physiol.* 2017. 64: 906–918.
12. Frolov A., Didio A., Ihling C., Chantzeva V., Grishina T., Hoehenwarter W., Sinz A., Smolikova G., Bilova T., Medvedev S. The effect of simulated microgravity on the *Brassica napus* seedling proteome. *Funct. Plant Biol.* 2018. 45: 440.
13. Chantseva V., Bilova T., Smolikov, G., Frolov A., Medvedev S. 3D-clinorotation induces specific alterations in metabolite profiles of germinating *Brassica napus* L. seeds. *Biol. Commun.* 2019. 64: 55–74.
14. Sharova E.I., Medvedev S.S. Redox reactions in apoplast of growing cells. *Russ. J. Plant Physiol.* 2017. 64: 1–14.
15. Sharova E.I., Medvedev S.S., Demidchik V.V. Ascorbate in the apoplast: Metabolism and functions. *Russ. J. Plant Physiol.* 2020. 67: 207–220.
16. Sharova E.I., Smolikova G.N., Medvedev S.S. Determining hydrogen peroxide content in plant tissue extracts. *Russ. J. Plant Physiol.* 2023. 70: 16–18.
17. Yoshida S., van der Schuren A., van Dop M., van Galen L., Saiga S., Adibi M., Möller B., ten Hov, C.A., Marhavy P., Smith R. et al. A SOSEKI-based coordinate system interprets global polarity cues in *Arabidopsis*. *Nat. Plants* 2019. 5: 160–166.
18. van Dop M., Fiedler M., Mutte S., de Keijzer J., Olijslager L., Albrecht C., Liao C.-Y., Janson M.E., Bienz M., Weijers D. DIX domain polymerization drives assembly of plant cell polarity complexes. *Cell*. 2020. 180: 427–439.

Метаболические “рыцари” древних лишайников:

анти- и прооксиданты

Минибаяева Ф. В.^{A*}, Beckett R. P.^B

^A Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия.

*E-mail: fminibayeva@gmail.com

^B School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, Scottsville, South Africa

Лишайники – симбиотические ассоциации, состоящие, в основном, из грибов аскомицетов (микобионт) и водорослей и/или цианобактерий (фотобионты). В действительности лишайники представляют собой миниатюрные экосистемы, поскольку, наряду с основными симбионтами, таллом лишайника содержит также весьма специфичную бактериальную микробиоту и паразитирующие лишайниковые грибы. Несмотря на то, что

эти древние ассоциации возникли около 450 миллионов лет назад, они являются нашими современниками. Одной из причин такого эволюционного долголетия является их уникальная устойчивость к действию неблагоприятных факторов и способность выживать в чрезвычайно суровых условиях окружающей среды, таких как засуха, низкие температуры, длительная темнота, избыточная радиация. Среди биохимических механизмов естественной селекции лишайников особое внимание привлекает синтез и накопление в талломе защитных метаболитов. Лишайники производят множество алифатических и ароматических соединений, которые синтезируются в результате первичного или вторичного метаболизма. Первичные метаболиты – это внутриклеточные молекулы, которые необходимы для выполнения основных функций жизни и относятся к различным химическим классам, включая аминокислоты, пептиды, белки, полиолы, моно-, олиго- и полисахариды, липиды, каротиноиды и витамины. Многие из этих первичных метаболитов не являются специфичными только для лишайников и могут быть легко обнаружены в свободноживущих грибах, водорослях, а также в высших растениях. В симбиозе лишайников оба партнера – микобионт и фотобионт – несут ответственность за производство этих первичных метаболитов. В отличие от этого, вторичные метаболиты синтезируются, в основном, лишенизированными грибами. Лишайники синтезируют огромное количество вторичных метаболитов, в том числе, так называемых «лишайниковых веществ». В настоящее время в лишайниках идентифицировано более 1 050 различных вторичных метаболитов, из них около 700 уникальны для лишайников. В лишайниках известны три основных пути биосинтеза вторичных метаболитов: ацетил-малонатный, шикиматный и мевалонатный путь. Вторичные метаболиты по биосинтетическому происхождению и химической структуре классифицируются по таким классам соединений, как дибензофураны, депсиды и депсидоны, нафтохиноны, антрахиноны, ксантоны и другие. Количество вторичных метаболитов варьирует обычно от 0,1 до 10%, а иногда достигает 30% от сухого веса таллома. Эти соединения широко используются в хемотаксономии и систематике лишайников. Кроме того, благодаря своим физико-химическим характеристикам, вторичные метаболиты обеспечивают фиксацию лишайников на определенных субстратах, в том числе чрезвычайно обедненных органическими веществами, таких как камни, скалы, лава. Наличие лишайниковых веществ позволяет лишайникам произрастать в разнообразных, зачастую стрессовых, экологических нишах. Лишайниковые вещества вовлечены в селективный выбор симбионтов, аллелопатию, они регулируют фотосинтез, дыхание, проявляют защитные свойства, в том числе защиту талломов от световой радиации, патогенных

бактерий и грибов. Эти соединения важны также для круговорота металлов и защиты таллома лишайников от химического загрязнения. Одними из интенсивно изучаемых свойств метаболитов лишайников являются их антиоксидантные свойства. Биосинтез разнообразных вторичных метаболитов – это компромисс, которым лишайники оплачивают защиту важных метаболических процессов, таких как фотосинтез и дыхание.

Изучение вторичных метаболитов лишайников затруднено из-за особенностей, присущих биологии лишайников. Чрезвычайно медленный рост лишайников (от 0,5 до 8 мм в год), тесное взаимодействие между симбионтами, сложности реконструкции симбиоза в лабораторных условиях и химическая сложность вторичных метаболитов затрудняют раскрытие генетических путей, участвующих в биосинтезе этих соединений. Задачи по расшифровке тонких механизмов биосинтеза вовлекают метагеномное секвенирование, культивирование *in vitro* и метаболомный анализ.

Как правило, лишайники устойчивы к световому стрессу, в том числе благодаря наличию фотозащитных вторичных метаболитов. Так, темно-коричневый пигмент меланин играет значительную роль в защите лишайников от УФ-Б стресса, однако ключевые драйверы меланизации остаются неизученными. Меланины – гидрофобные гетерогенные полимеры, образованные последовательными реакциями окисления фенольных/индольных предшественников и последующей полимеризации промежуточных фенолов и хинонов. Мы обнаружили, что УФ-Б индуцирует меланизацию таллома *Lobaria pulmonaria* и некоторых других лишайников и показали, что меланин обеспечивает защиту фотобионта от фотоингибирования, вызванного высокой освещенностью (Beckett et al., 2019). Транскриптомное профилирование лишайника *L. pulmonaria* продемонстрировало дифференциальную экспрессию генов синтеза нескольких типов меланина и других вторичных метаболитов. Воздействие УФ-Б вызывало значительное потемнение верхнего кортекса таллома, что коррелировало с повышенной экспрессией биосинтетических генных кластеров, участвующих в синтезе эу- и алломеланинов, а также предшественников меланинов (Leksin et al., 2024). Профили экспрессии общих стресс-ассоциированных генов, в частности, связанных с детоксикацией активных форм кислорода (АФК), защитой белков и восстановлением ДНК, указывают на то, что микобионт является более чувствительным к УФ-Б облучению и восприимчивым партнером в симбиозе лишайников.

С помощью комплекса биохимических и биофизических методов было продемонстрировано, что меланины лишайников обладают антиоксидантными, хелатирующими и парамагнитными свойствами. Выраженная антиоксидантная активность эумеланина, экстрагированного из *L. pulmonaria*, была подтверждена реакциями по тушению радикала DPPH и

эффективной способностью к хелатированию Fe^{2+} . Анализ парамагнитных характеристик меланинов лишайников продемонстрировал, что ЭПР спектр меланина из *L. pulmonaria* имеет типичную картину асимметричного синглета с концентрацией парамагнитных комплексов $0,64 \times 10^{17}$ спин g^{-1} (Minibayeva et al., 2024). Похожими антиоксидантными и парамагнитными характеристиками обладают и алломеланины, экстрагированные из лишайников *Cetraria islandica* и *Pseudevernia furfuracea* (Rassabina et al., 2020).

Кроме того, нами была обнаружена способность меланина, выделенного из лишайника *L. pulmonaria*, противостоять окислительному стрессу и связанным с ним повреждениям в модельных животных тканях – диафрагме мышцы, основной дыхательной мышце. Предварительная обработка мышц меланином заметно снижала УФ-индуцированное увеличение внутриклеточных и внеклеточных АФК, а также опосредованное митохондриальным ингибитором антимицином А увеличение продукции АФК в митохондриях, сопровождающееся перекисным окислением липидов и потерей асимметрии мембран. Кроме того, меланин ослаблял подавление нервно-мышечной передачи и изменения сократительных реакций, спровоцированные экзогенной H_2O_2 . Как известно, избыток АФК нарушает сокращение и нервно-мышечную передачу, вызывая дисфункцию скелетных мышц и утомляемость (Dogan et al., 2022). Окислительный стресс является одним из основных причинных факторов патологических изменений мышц при различных заболеваниях. Таким образом, полученные нами результаты проливают свет на перспективы применения меланина лишайника в качестве защитного компонента для лечения заболеваний скелетных мышц, которые сопровождаются повышенным производством АФК.

Известно, что меланины – универсальные темные пигменты и встречаются во многих организмах, в том числе и животных. Эндогенный меланин присутствует в коже, волосах, глазах, ушах и нервной системе млекопитающих, где он выполняет функции антиоксиданта, противовоспалительного вещества, светового сенсора и поглотителя токсичных соединений (Korytowski et al., 1995). Следует отметить, однако, что меланины также могут проявлять прооксидантные свойства и опосредовать фототоксичность. При УФ-облучении синтетические эумеланины и феомеланины, а также некоторые природные меланины могут генерировать АФК, включая H_2O_2 , супероксидный анион-радикал и даже синглетный кислород (Mokrzynski et al., 2023). Кроме того, фотореактивность меланина значительно возрастает по мере фотодеградации пигмента и образования интермедиатов радикальной природы, что приводит к снижению антиоксидантной способности меланина.

Еще одним пигментом, поглощающим УФ, является оранжевый пигмент париедин антрахиноновой природы. Париедин является доминирующим кортикальным пигментом лишайников *Caloplaca* и *Xanthoria* из семейства *Teloschistaceae*, он также синтезируется в органах покрытосеменных растений, например, в корнях *Rumex crispus*. Известно, что париедин из *X. parietina* обладает антиоксидантными свойствами, однако его основная защитная роль – это защита таллома от высокой фотосинтетически активной радиации и УФ излучения. Существуют данные о роли париедина в защите *X. parietina* от кадмиевой токсичности благодаря снижению Cd-индуцированного окислительного стресса. Интересно, что удаление париедина щадящим способом не влияет на интенсивность фотосинтеза, однако приводит к снижению стабильности мембран микобионта при обезвоживании, вероятно, вследствие повышения уровня перекисного окисления липидов. Биоинформатический анализ показал, что гены, вовлеченные в биосинтез париедина, организованы в биосинтетические генные кластеры. Обезвоживание приводит к повышению уровня экспрессии генов биосинтеза париедина, а также генов, кодирующих осмопротекторные, осмопротекторные и антиоксидантные белки. Анализ талломов *X. parietina* методами биохимии, биофизики и микроскопии свидетельствует о том, наличие париедина вносит вклад в защиту талломов лишайника от абиотических стрессов благодаря поддержанию стабильности мембран, обеспечению антиоксидантной защиты и формированию структурного барьера в кортексе талломов лишайника.

Различные вторичные метаболиты защищают лишайники от света разной длины волны и проявляют синергетические свойства в качестве антиоксидантов для защиты таллома лишайника и фотосистем фотобионта. Это было продемонстрировано для вульпиновой, пинастровой и усниновой кислот в лишайниках *Vulpicida pinastri* и *Letharia vulpina*. Интересно, в системе животных клеток усниновая кислота может проявлять как анти-, так и прооксидантное действие. Так, в высокой концентрации усниновая кислота, выделенная из лишайника *Xanthoparmelia farinosa*, вызывала повреждающий эффект на клеточные мембраны и снижала метаболизм в клеточной линии лимфоцитов человека при действии УФ-облучения. Однако в низких концентрациях и при физиологической интенсивности УФ-излучения усниновая кислота проявляла антиоксидантные свойства (Kohlhardt-Floehr et al., 2010).

Еще одним редокс-активным метаболитом лишайников является атранорин. Молекулярная структура этого депсида представляет собой ароматические кольца, связанные эфирной группой. Атранорин действует как антиоксидант, снижая уровень супероксида и перекисного окисления

липидов, однако в зависимости от концентрации он может проявлять токсичность, усиливая образование H_2O_2 и NO .

Таким образом, уникальные свойства метаболитов лишайников, в том числе разнообразие их редокс-свойств, делают эти естественные полимеры перспективными объектами для фундаментальных и прикладных исследований, в частности, для развития так называемой «зеленой электроники», применения в медицине, биотехнологии и ремедиации.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН и поддержана грантом РФФИ № 23-14-00327.

Библиографические ссылки

1. Beckett R.P., Solhaug K.A., Gauslaa Y., Minibayeva F. (2019) Improved photoprotection in melanized lichens is a result of fungal solar radiation screening rather than photobiont acclimation. *The Lichenologist*, 51(5): 483-491.
2. Leksin I., Shelyakin M., Zakhozhiy I., Kozlova O., Beckett R., Minibayeva F. (2024) Ultraviolet-induced melanisation in lichens: physiological traits and transcriptome profile. *Physiologia Plantarum* (submitted).
3. Minibayeva F.V., Rassabina A.E., Zakirjanova G.F., Fedorov N.S., Khabibrakhmanova V.R., Galeeva E.I., Kuznetsova E.A., Malomouzh A.I., Petrov A.M. (2024) Protective properties of melanin from lichen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. in models of oxidative stress in skeletal muscle. *Fitoterapia* (in press).
4. Rassabina, A.E., Gurjanov, O.P., Beckett, R.P., Minibayeva, F.V. (2020) Melanin from the lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: structural features and physicochemical properties. *Biochemistry (Moscow)*, 85: 623-628.
5. Dogan S.A., Giacchin G., Zito E., Viscomi C. (2022) Redox signaling and stress in inherited myopathies. *Antioxid. Redox Signal*, 37(4-6): 301-323.
6. Korytowski W., Sarna T., Zarba M. (1995) Antioxidant action of neuromelanin: the mechanism of inhibitory effect on lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 319(1): 142-148.
7. Mokrzynski K., Sarna M., Sarna T. (2023) Photoreactivity and phototoxicity of experimentally photodegraded hair melanosomes from individuals of different skin phototypes. *J. Photochem. Photobiol. B*, 243: 112704.
8. Kohlhardt-Floehr C., Boehm F., Troppens S., Lademann J., Truscott T.G. (2010) Prooxidant and antioxidant behaviour of usnic acid from lichens under UVB-light irradiation-studies on human cells. *J. Photochem. Photobiol. B*, 101(1): 97-102.